

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK KARDİYOLOJİ BİLİM DALI**

**FİBRİLLİN-1 GEN POLİMORFİZMİ VE
MİTRAL KAPAK HASTALIĞI RİSKİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
UZMAN DR. OSMAN ÖZDEMİR**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. RANA OLGUNTÜRK**

ANKARA-2006

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK KARDİYOLOJİ BİLİM DALI**

**FİBRİLLİN-1 GEN POLİMORFİZMİ VE
MİTRAL KAPAK HASTALIĞI RİSKİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
UZMAN DR. OSMAN ÖZDEMİR**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. RANA OLGUNTÜRK**

ANKARA-2006

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ARA	: Akut romatizmal ateş
AV	: Atrioventriküler
AY	: Aort kapak yetmezliği
bp	: Baz çifti
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDNF	: Ehlers-Danlos National Foundation
EDS	: Ehlers-Danlos sendromu
EDTA	: Etilendiamintetraasetikasit
EE	: Enfektif endokardit
EKG	: Elektrokardiyografi
EKO	: Ekokardiyografi
FBN	: Fibrillin
FBN1	: Fibrillin-1
FBN2	: Fibrillin-2
FBN3	: Fibrillin-3
KKY	: Konjestif kalp yetmezliği
LA	: Sol atrium
LV	: Sol ventrikül
MFS	: Marfan sendromu
MVP	: Mitral kapak prolapsusu
MY	: Mitral yetmezlik
OD	: Otozomal dominant
OR	: Otozomal resesif
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RKH	: Romatizmal kalp hastalığı
SD	: Standart deviasyon
TGF-β	: Transforming büyüme faktörü-β
TVP	: Triküspit kapak prolapsusu
XR	: X-resesif

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
MİTRAL KAPAK.....	3
MİTRAL KAPAK PROLAPSUSU	7
Patofizyoloji	8
Klinik.....	9
Tanı.....	11
Tedavi.....	14
Prognoz.....	15
MARFAN SENDROMU.....	15
Etyoloji	16
Patofizyoloji	16
Klinik.....	18
Tanı.....	21
Tedavi.....	24
EHLERS-DANLOS SENDROMU	25
Klinik.....	26
Tanı.....	29
Tedavi.....	31
ROMATİZMAL MİTRAL KAPAK HASTALIĞI.....	32
POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU	36
GEREÇ ve YÖNTEM	38
HASTALAR.....	38
EKOKARDİYOĞRAFİ	39
GENETİK ÇALIŞMA.....	40
Kullanılan Cihazlar.....	40
Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	41
Kullanılan Tamponlar.....	42
Genetik Yöntem.....	44
İSTATİSTİKSEL YÖNTEM	48
BULGULAR	49
KLİNİK ve EKOKARDİYOĞRAFİK ÖZELLİKLER.....	49
FBN1 GEN POLİMORFİZMİ ve ALLELİK SIKLIĞI	51
Exon 50’de Yerleşik Olan C2099W Mutasyonu.....	51
İntron 52 (exon 52+128A/G) Polimorfizmi	52
İntron 56 (exon 56+17G>C) Polimorfizmi.....	54
MVP Grubunun İntron 56 Polimorfizmi Açısından İncelenmesi.....	56
Kardit Grubunun İntron 56 Polimorfizmi Açısından İncelenmesi	57
TARTIŞMA.....	58
SONUÇ ve ÖNERİLER	68
ÖZET	70
İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY).....	71
KAYNAKLAR.....	72

GİRİŞ

Mitral kapak, annulus, leafletler, kommissürler, korda tendinealar ve papiller kaslar olmak üzere beş yapıdan oluşmaktadır. Mitral kapak kompleksi olarak adlandırılan bu yapı sol ventrikül (LV), sol atrium (LA) ve aorta duvarını desteklemektedir. Bu beş yapının birbirleriyle uyumlu bir şekilde çalışması, yani mitral kapağın normal fonksiyonunu yerine getirebilmesi için yeterli sol atrial ve sol ventriküler işleve gerek vardır. Bu bileşenlerden herhangi biri veya birkaçını etkileyen hastalıklar, kapak kompleksinin fonksiyon kaybına ve sistol sırasında LV basıncı LA basıncını aştığı zaman, mitral kapak leafletlerinin LA'ya doğru bombeleşmesine neden olmaktadır (1,27,28).

Oldukça karmaşık bir yapıya sahip olan mitral kapak kompleksi bir çok hastalık veya bozukluktan etkilenir, böylece mitral kapak prolapsusu (MVP) ve/veya mitral yetmezlik (MY) ortaya çıkar (12). Çocukluk yaş grubunda mitral kapak leafletlerinde işlev kaybına yol açarak prolapsus ve/veya yetmezliğe neden hastalıklardan en sık karşılaşılanları ailesel olan (otozomal dominant) veya idiyopatik MVP, romatizmal kalp hastalığı (RKH), Marfan sendromu (MFS) ve Ehlers-Danlos sendromu (EDS) gibi kalıtsal bağ dokusu hastalıklarıdır (4,12,29,43,54,68,71).

Başta MVP olmak üzere mitral kapağı tutan bir çok hastalıkta, kapaktaki kollajen ve elastin kompozisyonunun bozulmasıyla; miksomatöz değişiklikler, fibröz çatıda anormallikler, proteoglikan birikimi ve böylece leafletlerin kalınlaştığı gösterilmiştir (1,38). Fibrillin (FBN), mitral kapakta bulunan elastin ilişkili mikrofibrillerin yapı taşlarından biridir (38). FBN üzerinde genetik çalışmaların artması ile en ciddi formu MFS olan “genetik fibrillinopatiler” adı altında yeni patolojiler tanımlanmıştır (50). Özellikle fibrillin-1 (FBN1)’in genetik varyasyonlarının MFS’ye neden olduğu bilindiği için MVP’deki rolü de

çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarla araştırılmaktadır (17,17,50,62). Ancak bu çalışmalarda, FBN1'deki mutasyonların çok farklı fenotiplerle ortaya çıktığı bildirilmesine rağmen, RKH gibi mitral kapakta sıklıkla patolojiye yol açan bazı hastalıklarda FBN'nin genetik çalışmaları henüz yapılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda, MVP'li hastalara ek olarak, romatizmal kardit ve MFS gibi bağ dokusu hastalıklarında da, FBN1 gen polimorfizmi ile mitral kapak patolojisi riski arasındaki ilişkinin araştırılması ve genotip-fenotip korelasyonunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Atrioventriküler (AV) kapaklar hem tek yönlü kan akımını sağlamakta, hem de atrium ile ventrikülleri elektriksel olarak birbirlerinden ayırmaktadırlar. Her iki AV kapak da beş yapıdan oluşmaktadır. Bu yapılar valvüler aparatı oluşturan annulus, leafletler ve kommissürler ile tensor aparatı oluşturan korda tendinea (tendinöz kordlar) ve papiller kaslardır (28).

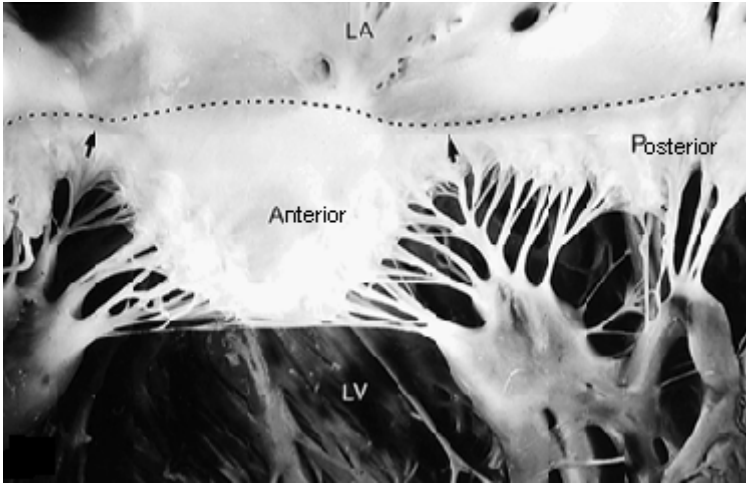
Mitral annulusta kollajen devamlılığı varken triküspit annulusta bu devamlılık olmayıp annuler kesinti bölgesinde bağ dokusu yoktur. Böylece ventriküler dilatasyona bağlı annuler genişleme triküspit kapakta mitral kapağa göre daha belirgin olur (28). Hayatın ilk 20 yılı boyunca, kapakta olan büyüme, boy, ağırlık veya vücut alanından ziyade yaş ile daha uyumludur (28,43,104).

Mikroskopik olarak her leaflet iki temel tabakadan oluşmaktadır. Fibroza kapağın güçlü yapısal belkemiğidir. Spongioza ise süngerimsi bir yapı olup her leafletin temas yüzeyleri boyunca yer alır. Her leaflet iki temel kommissüre sahiptir (28).

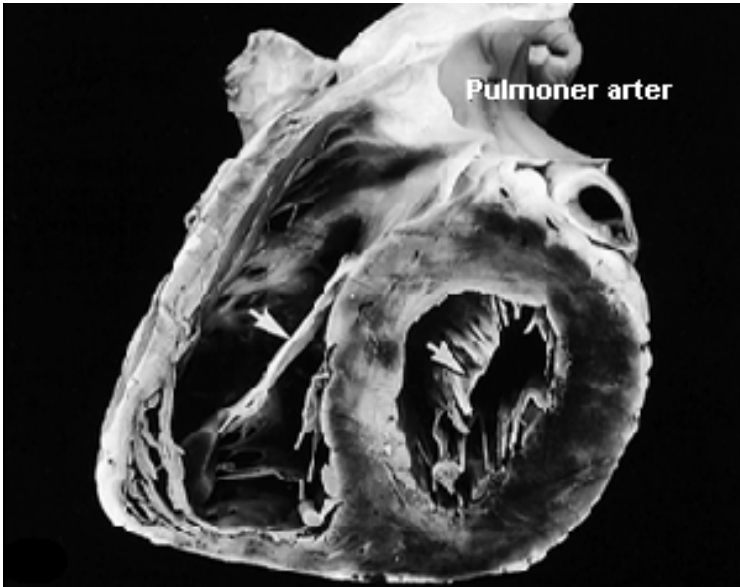
MİTRAL KAPAK

Mitral kapak annulusu asimetriktir, aortanın annulusu ile ortak olan sabit bölüm (anterior leaflete karşılık gelir) ve annulus çevresinin büyük bir bölümünü oluşturan dinamik bölüm (posterior leaflete karşılık gelir) yapısındadır (1,27). Mitral annulus kalp dönemlerinde şekil değiştirir, diastolde sirküler, sistolde ise eliptik yapı alır. Ventriküler sistol boyunca annuler yüzey ve alan yaklaşık olarak % 15- % 25 oranında azalır (73).

Mitral kapakta diğer kalp kapaklarının aksine iki leaflet bulunmaktadır (28). Her iki mitral leafletinin alanı aynıdır, ancak asimetric olarak yer almaktadırlar (Şekil 1). Anterior leafletinin boyu posterior leafletinin boyunun iki katı olmasına rağmen anterior leafletinin anuler uzunluğu posterior leafletinin anuler uzunluğunun yarısı kadardır (1,27,28). İlerleyen yaşla beraber mitral leafletlerin özellikle kapanma kenarlarında kalınlaşmalar başlar (43).



Mitral kapakta her kommissürün (siyah oklar) altında papiller kaslarla iki leaflet yer almaktadır (kesikli çizgi mitral kapağın annulusudur).



AV kapakların anterior leafletleri (beyaz oklar) ventrikülleri ortasından girim ve çıkım olarak iki bölüme ayırmaktadır.

Şekil 1. Mitral kapağın yapısı

Anterior leaflet yarım daire şeklinde olup daha büyüktür. LV giriş yolu ile çıkış yolunu birbirinden kısmen ayırır. Mitral kapak, triküspit kapaktan farklı olarak, aynı zamanda LV çıkış yolunu oluşturan yapılardan biridir. Hipertrofik obstruktif kardiyomyopatisi olan hastalarda, mitral aparat ve özellikle anterior mitral leaflet, “sistolik anterior hareket” ile, sistol ortasında çıkış yolu darlığına ve MY’ye neden olur (28).

Posterior leaflet dikdörtgen şeklindedir ve midyeye benzemesi nedeniyle “scallop” adı verilen üç yarı dairesel bölüme ayrılır. Normal kişilerin % 90’ında orta “scallop” en büyük olanıdır ve nadir olarak da aksesuar “scallop”a rastlanılabilir (27,28).

Kommissürler leafletlerin birbirlerinden ayrılma bölgelerinde bulunan girintilerdir. Mitral kapak iki temel kommissüre sahiptir. LV serbest duvarından çıkan anterolateral ve posteromedial papiller kaslar her iki mitral kommissürün altında bulunurlar. Her papiller kastan çıkan korda tendinealar yelpaze şeklinde uzanarak kommissürlerin hemen yanında bulunan her iki leafletin serbest kenarına ya da posterior leafletin yan yana olan iki “scallop”una yapışırlar. Doğumsal girintilerin aksine gerçek bir kommissürün altında her zaman bir papiller kas ve korda tendinea yelpazesi bulunur. Kommissüral kordaların yapıştığı yerler kommissürün yerini kesin olarak gösterdiği için cerrahi işlemler sırasında bir referans noktası olarak kullanılabilirler (1,27).

Her iki papiller kas da LV serbest duvarından köken alır ve ventrikül duvarına benzer kalınlıkta olabilirler. Papiller kaslar sol ventriküler taban-apeks uzunluğunun orta üçte birlik kısmında tutunurlar. Anterolateral papiller kas genelde bir tane olup sol koroner dolaşımdan çift taraflı olarak beslenir. Posteromedial papiller kasın ise bir çok başı vardır ve sıklıkla sadece sağ koroner arterden beslenir (28). Küçük sol atrial dallar da mitral leafletlerin bazal kesimlerini besler (27).

Papiller kasların kasılması her iki leafleti birbirine doğru çekerek kapak kapanmasına yardımcı olur. Kapağın kapanmasıyla mitral leafletlerin birbirlerine temas eden kısımları (kapanma kenarları) serbest kenarları değildir. Kapanma kenarı ince ve pürüzsüz bir alanla, daha kalın ve pürüzlü bir alanın kesişmesiyle oluşan sınırları belirsiz bir hattır. Bir leafleti destekleyen ana korda tendinea leafletin serbest kenarı ve pürüzlü yüzeyine yapışarak ventrikül sistolü sırasında leafletlerin çökmesini engeller. Çok belirgin olan iki pürüzlü yüzey korda tendineası anterior mitral leafletin ventriküler yüzeydeki her iki yarısına yapışarak ek kapak desteği sağlar. Bu korda tendinealara “strut korda” ismi verilir. Bunlar kalp kası içerirler ve yaş ilerledikçe kalsifiye olma eğilimindedirler (1,27,28,43).

Sistol sırasındaki mitral yeterlilik normal şartlarda iki basamakta sağlanır: İlk olarak anormal kapak hareketine karşı yüksek bir direnç oluşmasına imkan veren geniş bir koaptasyon alanı ve ikinci olarak anterior leafletin sistolde kan akımının yönüne paralel bir pozisyon alması (28).

Mitral kapak prolapsusunda kalınlaşmış ve işlevi bozulmuş leafletler, annulus genişlemesi ile kalınlaşmış ve uzamış korda tendinealar görülür (12,38,68). Romatizmal mitral kapak tutulumunda ise korda tendinealar kısalıp kalınlaşırken annulus genişlemesi olmaz. Romatizmal mitral darlık sıklıkla kalsifikasyonun eşlik ettiği kordal ve kommissüral füzyon sonucunda meydana gelirken romatizmal MY oluşan skar dokusunun korda tendinealar ve leafletleri çekmesi ile ortaya çıkar (4).

Sol sirkumfleks arter anterolateral kommissürün yakınındaki sol AV olukta ilerlerken koroner sinüs posterior mitral leafletin hemen yanındaki sol AV olukta uzanmaktadır. Bu önemli anatomik yapıların yerleştikleri yerler nedeniyle mitral kapak cerrahisi esnasında dikkat edilmesi gerekmektedir (1).

Sonuç olarak mitral kapak ile triküspit kapak arasında belirgin farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıklar Tablo I’de özetlenmektedir (28).

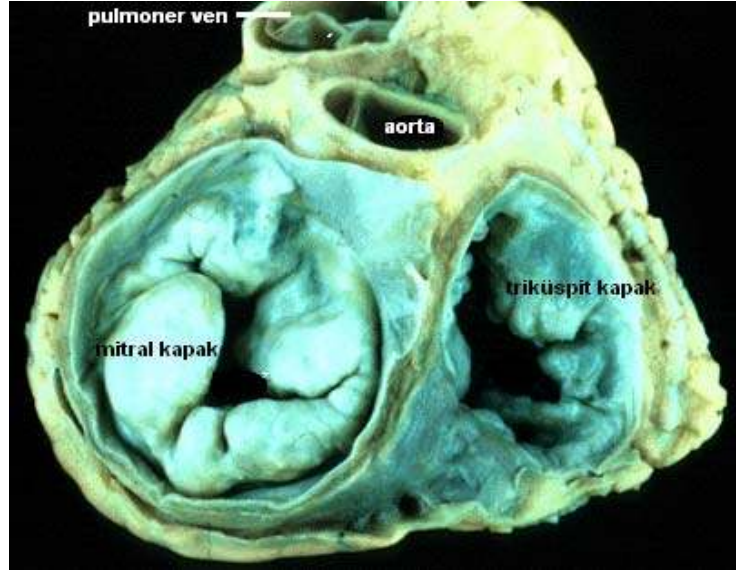
Tablo I. Triküspit kapak ile mitral kapağın karşılaştırılması

Triküspit kapak	Mitral kapak
◆ Düşük septal annuler yerleşim ◆ Septal kordal bağlantı var ◆ Orta leaflet bölümünde üç köşeli yapı ◆ Üç leaflet ve kommissür ◆ Üç papiller kas ◆ Sağ ventriküle açılım	◆ Yüksek septal annuler yerleşim ◆ Septal kordal bağlantı yok ◆ Orta leaflet bölümünde eliptik yapı ◆ İki leaflet ve kommissür ◆ İki büyük papiller kas ◆ Sol ventriküle açılım

MİTRAL KAPAK PROLAPSUSU

Mitral kapak prolapsusu, mitral kapak kompleksinin en sık görülen bozukluğudur ve sistol sonuna doğru bir veya her iki mitral leafletin LA’ya kubbeleşmesi-bombeleşmesi veya çökmesi olarak tanımlanır (Şekil 2). Beraberinde bazı hastalarda MY olabilir (12). Daha önceki yıllarda ince vücut yapılı genç askerlerde tarif edilmiş olmasına rağmen, 1963 yılında, bugün bilinen şekliyle ilk klinik tanısı konulmuş ve 10 yıl içerisinde de MVP tanımı ortaya çıkmıştır (6). Kullanılan tanısal tekniklerin sınırlılıkları nedeniyle görülme sıklığı tam olarak belirlenememiş olmasına rağmen, çocuklardaki prevalansının % 2-4 arasında ve insidansının % 5 civarında olduğu kabul edilmektedir (12,34). MVP’nin görülme sıklığı yaşla birlikte artmakta olup genel toplumdaki insidansı % 3-8 arasındadır. Kızlarda daha sık görüldüğü de bilinmektedir (38). Ancak yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada prevalans % 1.1-1.3 olarak

daha düşük bulunurken hasta grup ile kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet farkı olmadığı da belirtilmiştir (32).



Şekil 2. Mitral kapağın diğer kardiyak yapılarla ilişkisi ve gros olarak MVP görüntüsü

Patofizyoloji

Heterojen bir bozukluk olan MVP, mitral kapak kompleksinin bir veya daha fazla parçasını etkileyen altta yatan farklı nedenlerden kaynaklanabilir. Böylece mitral kapakta fonksiyon bozukluğu ve sistol sırasında, LV basıncı LA basıncını aştığı zaman, mitral leafletler LA'ya doğru bombeleşir. MFS ve EDS gibi bağ doku bozuklukları, akut romatizmal ateş (ARA) veya enfektif endokardit (EE) gibi enflamatuvar hastalıklar ile bozulmuş LV duvar hareketine yol açan miyokardiyal iskemi ve/veya primer miyokard hastalığı MVP'ye neden olabilmektedir (12).

Etkilenen kapak leafletlerinin elektron mikroskopik incelemelerinde kollajen fibril yapısında bozulma ile mitral kapağın özellikle orta spongios tabakasında miksomatöz

proliferasyon gösterilmiştir (1). Korda tendinea yapısındaki kollajende bozulma ile oluşan kordal yırtık ARA ve miyokard infarktüsünde MVP'ye neden olur (12).

Mitral kapak prolapsusu olan hastaların yarısından fazlası idiyopatiktir. Bu hastalarda sadece mitral kapak leafletleri etkilenir ve miksomatöz dejenerasyon olur. Olguların çoğu sporadiktir, ancak ailesel formun otozomal dominant (OD) kalıtım ile aktarıldığı gösterilmiştir (12). İlk lokus kromozom 16p11.2-p.12.1 ve 2. lokus kromozom 11p15.4 olarak belirlenmiştir (25,30). Son yıllarda yapılan çalışmalar, mitral kapakta bulunan elastin ilişkili mikrofibrillerin yapı taşlarından biri olan FBN'nin genetik ve fenotipik varyasyonlarının, en ciddi formu MFS ve en hafif formu MVP olan "genetik fibrillinopatiler" adı altında birleşebileceğini desteklemektedir. Özellikle FBN1 gen mutasyonlarının MFS'ye neden olduğu bilindiği için MVP'deki rolü de çeşitli ülkelerde yapılan yerel çalışmalarla araştırılmaktadır (1,16,17,50,62).

Belirtilerin ortaya çıkışı LA ve LV genişlemesine neden olan ilerleyici mitral kapak disfonksiyonuna (özellikle MY) ve nöroendokrin/otonomik bozukluğa bağlıdır. Nöroendokrin/otonomik bozukluk; anormal otonomik fonksiyon, dolaşan katekolaminlerde artış, artmış β -reseptör duyarlılığı, artmış vazokonstriktör tonus, azalmış plazma hacmi ve vagal cevapta azalma şeklinde olmaktadır (38,41).

Yenidoğanlarda klinik ve ekokardiyografik olarak MVP'nin çok nadir görülmesi, ya genetik değişimin yaş bağımlı olabileceğini ya da MVP gelişiminde çevresel faktörlerin rolü olduğunu desteklemektedir (38,46,62).

Klinik

Mitral kapak prolapsuslu hastalarda tipik olmayan göğüs ağrısı, çarpıntı, çabuk yorulma, bayılma, nefes darlığı ve halsizlik gibi farklı belirtiler olabilir, ancak hastaların

önemli bir kısmında herhangi bir şikayet yoktur. MVP tanısı konulan hastada, MVP ile ilişkili bu farklı şikayetler varsa, hastalığa “MVP sendromu” adı verilir (12,23,32,38,41,78)

Bu hastalarda % 10 sıklıkta olan göğüs ağrısı şikayeti egzersizle ilişkili değildir, muhtemelen korda tendinealarda aşırı gerilmeye, papiller kaslar ile ventrikül duvarında artmış basınca, koroner mikroembolilere, koroner arterlerdeki spazma veya fiziksel ve duygusal gerginliklere bağlıdır. MVP’li hastalarda yaklaşık % 7 sıklıkta olan çarpıntı şikayeti çoğunlukla gösterilemese de muhtemelen kalpte olan ritim bozukluğu ile ilişkilidir. Çabuk yorulma, nefes darlığı ve halsizlik bu hastalarda sıklıkla efor ile ortaya çıkar. Bu şikayetler presenkop ve bayılmada olduğu gibi tromboemboli, ritim bozukluğu veya vazodepressör-vazovagal problemlerle ilişkili olabilir (38,41).

Yetişkinlerde yapılan çalışmalarda panik bozukluğu olanlarda MVP’nin sık olduğu gösterilmesine rağmen çocuklarda böyle bir ilişki ortaya konulamamıştır (38,89,90)

Hastaların üçte ikisinde iskelet bozuklukları vardır, çoğu normalden daha ince ve zayıf vücut yapısına sahiptir. MVP’li hastalarda normalden küçük meme dokusu, boy-ağırlık oranında artma, araknodaktili, skolyoz, gövdeye kıyasla uzun ekstremiteler (dolikostenomeli), ön-arka göğüs çapında daralma (düz sırt yapısı), pektus ekskavatum veya pektus karinatum, yüksek damak, dişlerde düzensizlik ve artmış eklem hareketliliği gibi iskelet bozuklukları olabilir (12,38).

Mitral kapak prolapsusu olan hastalarda genel toplumdan sık gözlenen bozukluklar; atrial septal defekt, hipertrofik obstruktif kardiyomyopati, Ebstein anomalisi, aortik kapak prolapsusu, triküspit kapak prolapsusu (TVP), Wolff-Parkinson-White sendromu, koroner arter hastalığı, MFS ve EDS gibi bağ doku hastalıkları, osteogenezis imperfekta, psödoksantoma elastikum, Graves’ hastalığı ve muskuler distrofidir (12,51,52).

Tanı

Klasik muayene bulguları, herhangi bir nedenle yapılan ekokardiyografi (EKO) ve ortaya çıkan komplikasyon nedeniyle MVP tanısı konulmaktadır (38).

Klasik Muayene Bulguları

Mid-sistolik non-ejeksiyon kliği ile beraber apekte geç sistolik üfürüm duyulması MVP için tanısal kabul edilmektedir (12,38).

Sistolün erken döneminde oluşan prolapsusta 1. kalp sesi sert duyulabilir, ancak MVP'li hastalarda kalp sesleri genellikle normaldir. Farklı leafletlerdeki prolapsus sistol boyunca farklı zamanlarda olursa birden fazla klik sesi duyulabilir. Belirgin MY'si olan hastalarda üfürüm pansistolik olup klik sesi de kaybolur. Posterior mitral leaflet prolabe oluyorsa üfürüm sternumun sol kenarından aort odağına doğru yayılabilir ve böylece LV çıkım yolu üfürümlerini taklit edebilir. Anterior mitral leaflet prolabe oluyorsa üfürüm koltuk altı ve sırta doğru yayılım gösterir (12).

Dinamik oskultasyonda postural farklılıkla sistolik klik veya üfürümde oluşan tipik değişiklikler MVP tanısında en spesifik muayene bulgusudur. Midsistolik klik ve geç sistolik üfürüm, venöz dönüş, dolayısıyla LV hacmini azaltan durumlarda; yatarken oturmakla, otururken ayağa kalkmakla, bacakları yükseltmekle, izometrik el sıkma egzersiziyle, valsälva manevrasıyla, kalp hızının artmasıyla veya inspirasyonla belirgin hale gelerek daha kolay duyulabilir. Hasta ayakta dururken çömelir pozisyona gelirse, klik sesi ve üfürüm geç sistolde duyulur, oskultasyona devam edilirken hasta tekrar ayağa kalkarsa klik ve üfürüm erken sistole doğru yayılır ve daha belirgin olur (12,23,38).

Ekokardiyografik prolapsus olmaksızın sistolik kliğe (yalancı pozitif muayene bulgusu) neden olan durumlar; korda veya leaflet fazlalığı, TVP, dinamik LV çıkım yolu

gradientine yol açan hipertrofik kardiyomyopati, biküspit aort darlığı, atrial miksoma ve perikardittir (12,38).

Akciğer Radyografisi ve Elektrokardiyografi

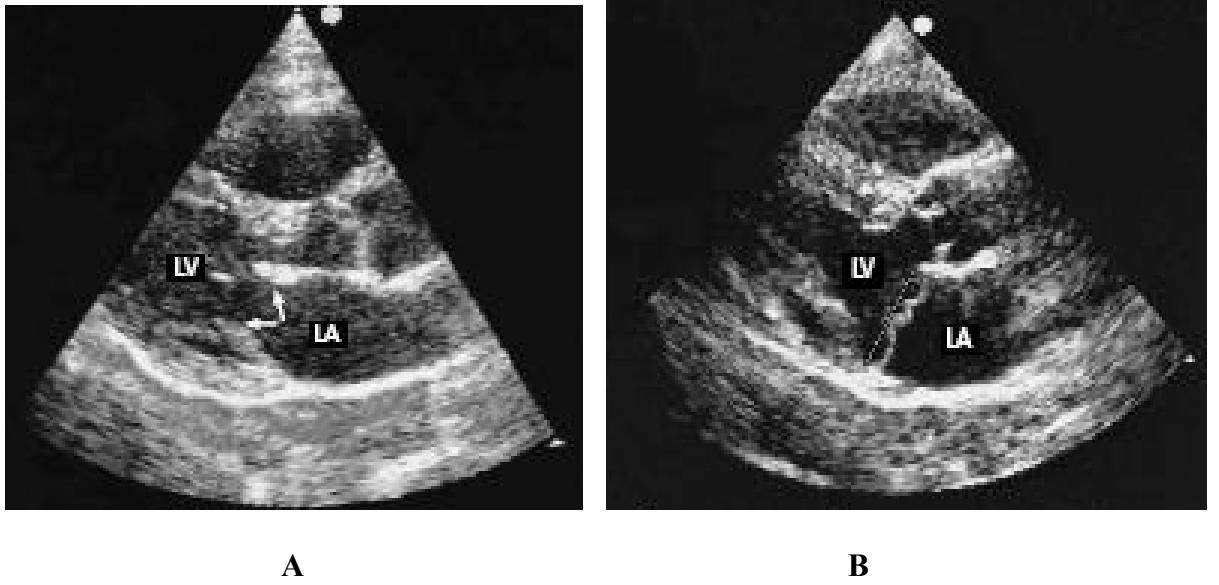
Akciğer grafisinde genellikle normal kalp ve akciğer bulguları vardır, ciddi MY varlığında ise kardiyomegali ve pulmoner venöz konjesyon görülebilir (12).

Elektrokardiyografi (EKG) çoğunlukla normal olmasına rağmen MVP'li çocuk ve adolesanların yaklaşık yarısında özellikle DII, DIII, aVF ve/veya V₅ ve V₆ derivasyonlarında ters veya bifazik T dalgası görülebilir. T dalgasındaki bu bulgular MVP için tanısız olmayıp aynı hastada farklı zamanlarda değişiklikler gösterebilir ve egzersiz veya β -blokör tedavi ile düzelebilir. Ayrıca EKG ile hastalardaki ritim bozuklukları tespit edilebilir (9,12,41).

Ekokardiyografi

Ekokardiyografi kullanımının tanıda % 87 oranında hassas ve % 97 oranında özgül sonuçlar verdiği gösterilmiştir (3,41). M-mod EKO'da ultrason dalgaları yetersiz kalabilir ve tanıda yanıltıcı olabilir. Bu nedenle 2-boyutlu EKO'da özellikle parasternal uzun eksen ve apikal 4-boşluk pozisyonu olmak üzere birden fazla pozisyonda, mitral kapak hareketleri değerlendirilmelidir. İncelemede mitral kapakta yapısal değişiklik (özellikle leafletlerde kalınlaşma ve miksomatöz değişiklikler), leaflet yetersizliği, kapak yüzey alanında artış, annuler genişleme, korda tendinealarda uzama ve MVP ile ilişkili diğer kalp hastalıkları görülebilir (12,23,41,78). Mitral kapak posterior leafletinin lateral scallop'u sadece apikal 4-boşluk pozisyonunda, anterior leaflet ve posterior leaflet diğer parçaları ise parasternal uzun eksen de değerlendirilmelidir (12,38,41,78). Bir veya her iki leaflet 2 mm'den daha fazla LA'ya doğru çökmesi prolapsus olarak tanımlanmaktadır (Şekil 3). Komplikasyon prevelansındaki artış nedeniyle 2 mm cutoff değeri kabul edilmektedir. Leaflet kalınlığı 5 mm

altında ise klasik olmayan, 5 mm üzerinde ise klasik prolapsus olarak adlandırılmaktadır (31,41,56,78). Doppler ve renkli Doppler EKO MY'nin aranması ve varsa derecesinin belirlenmesinde faydalıdır. Son yıllarda 3-boyutlu EKO'nun MVP ve/veya MY tanısında daha yardımcı olduğu bildirilmektedir (12,78).



Şekil 3. EKO'da parasternal uzun eksen incelemede MVP'nin değerlendirilmesi.

A: Diastolde mitral kapak leafletlerinde olan kalınlaşma

B: Sistol boyunca mitral kapak leafletlerinin LA'ya doğru prolabe olması

Ambulatuvar 24 saatlik EKG, ritim bozukluğu varsa bunun sıklığını ortaya koyar. Egzersiz testi, çarpıntısı olan ve egzersiz ilişkili şikayeti olan hastalarda faydalıdır. Kalp kateterizasyonu ve anjiyografi, kapak tamiri veya değiştirilmesi planlanan ciddi MY ve MVP'si olan hastalarda gerekebilir. LV anjiyografisinde sağ anterior oblik pozisyon posterior leafleti, sol anterior oblik pozisyon anterior leafleti daha iyi görüntüler. MVP'li hastalarda elektrofizyolojik çalışma endikasyonları genel klinik uygulama ile benzerdir. Ayrıca presenkop veya bayılması olan hastalarda Tilt testinin yapılması değerli olabilir (12).

Komplikasyonlar

Erkek cinsiyet, ileri yaş, sistolik üfürümün varlığı, leafletlerde kalınlaşma ve LV büyümesi olan hastalar yüksek riskli grubu oluşturmaktadır. Bu faktörlerden iki veya daha fazlası birlikteyse komplikasyon ihtimali artar. Tersine bu özellikleri olmayan hastalarda komplikasyon riski oldukça düşüktür (12,38,41).

Enfektif endokardit, tromboemboli, ritim bozukluğu, korda rüptürü, MY, konjestif kalp yetmezliği (KKY) ve ani ölüm MVP komplikasyonlarıdır. MY MVP'nin en sık görülen komplikasyonudur ve dört yıllık takipte yaklaşık % 14 sıklıkta ortaya çıkar. MY ve kalınlaşan kapaklardan kaynaklanan türbülant akım, bu hastalardaki EE'den sorumludur. Yapılan çalışmalarda, MY'si olmayan MVP'li hastaların EE sıklığı genel toplum ile aynı bulunmuştur. Bu nedenlerle MY, MVP'li hastalarda EE profilaksisini belirler. MVP'li çocuklarda ritim bozuklukları % 50'lere varan sıklıkta olabilmektedir, ancak çoğu iyi huylu ventriküler ekstrasistollerdir (12,23,32,38,41,78).

Tedavi

Mitral kapak prolapsusu bulunan hastada ek olarak MY de tespit edildiyse ortalama risk grubundan EE profilaksisi önerilir. Eforla bayılma veya çarpıntısı olan hastalar en az altı ay süreyle yarışmalı sporları yapmamalıdır. Şikayeti olan hastada volüm azlığı ve katekolamin stimülasyonu önlenmeli ve egzersiz programları verilmelidir. KKY'de antikonjestif tedavi (furosemid, spironolakton, digoksin), şikayete yol açan ritim bozukluğunda β -blokör tedavi (özellikle propranolol), tromboembolide düşük doz aspirin ve/veya antikoagülan tedavi (dipridamol, warfarin) ve belirgin MY varlığında anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri kullanılabilir (38,41).

Şikayetlere yol açan ağır MY'si olan hastalar, asemptomatik ancak genişlemiş LV veya azalmış sistolik fonksiyonu olan hastalar, ciddi MY'ye bağlı atrial fibrilasyon veya pulmoner hipertansiyonu olan hastalara mitral kapak ameliyatı yapılmalıdır. Mitral kapak tamiri düşük mortalite, daha iyi uzun dönem yaşam süresi, düşük tromboemboli veya kanama riski, ameliyat sonrası artmış LV sistolik fonksiyon gibi önemli avantajları nedeniyle mitral kapak değişimine tercih edilmelidir (38,41,74,86).

Prognoz

Mitral kapak prolapsusu olan çocuklarda prognoz yetişkin hastaların prognozundan çok daha iyidir ve ölüm nadirdir (10). Ani ölüm, tekrarlayan bayılma, sustained supraventriküler taşikardi veya kompleks ventriküler taşikardi hikayesi olan genç bayanlarda daha sık görülebilir. Aile hikayesinde kalp kaynaklı ani ölümün olması da mortalite riski açısından önemli bir işarettir (12).

MARFAN SENDROMU

Marfan sendromu, kalp-damar sistemi, iskelet sistemi, göz ve akciğeri etkileyen, bağ doku bozukluğu sonucu ortaya çıkan, OD geçişli bir hastalıktır. İnsidansı yaklaşık olarak 1/9.800'dir ve hastaların % 26'sında aile hikayesi olmayıp yeni bir mutasyon söz konusudur. Aorta diseksiyonu ve rüptürüne neden olan çıkan aortanın ilerleyen genişlemesi ile aort kapak yetmezliği (AY), MVP ve MY, lens dislokasyonu ve miyopi, uzun ekstremiteli ince vücut yapısı, araknodaktili, göğüs kafesi bozuklukları ve skolyoz hastalığın tipik özellikleridir (20).

İlk olarak 1896 yılında, Fransız pediatrist Antoine Marfan tarafından, 5 yaşında olan Gabriella adında bir kız hastada, uzun kemikler ve parmaklardaki dikkat çekici uzunluk ile

tanımlanmış, daha sonra 1914 yılında araknodaktili ve ilişkili lens dislokasyonunun bildirilmesiyle önem kazanmıştır. MFS'ye eşlik eden kalp-damar sistemine ait komplikasyonlar, Helen Taussig'in 1943 yılında iki hastanın aorta rüptürü nedeniyle kaybedildiğini bildiren yazısından sonra 1955 yılında McKusick tarafından açıklanmıştır (92).

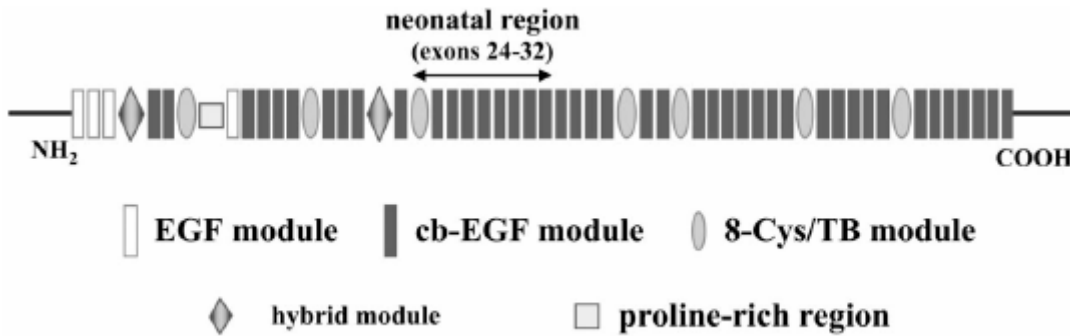
Etyoloji

Hastalık FBN sentezinin bozulmasına yol açan bir mutasyonla ilişkilidir. 1991 yılında, 15. kromozomda mutasyon saptanmış ve takip eden yıllarda ilişkili FBN1 genini etkileyen 562 mutasyon bildirilmiştir. Bu mutasyonların yaklaşık % 74'ü kalıtsal iken, % 26'sı sporadik olarak oluşmaktadır (11,14,20,50,64,66,80). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, transforming büyüme faktörü- β (TGF- β)'nın, FBN1 ile hücre içi matrikste fonksiyonel olarak yakın ilişkide olduğu bildirilmiştir. Buradan yola çıkarak, 2004 yılında, özellikle etkilenen bazı organlar dikkate alındığında, MFS patogenezinde bozulmuş TGF- β sinyalizasyonunun da önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda uzun kemiklerin büyüme ve mineralizasyonu ile kondrogenezinde TGF- β 'nın önemli bir role sahip olduğu ve TGF- β aktivasyon ve sinyalizasyon bozukluğunun MFS'de iskelet sistemindeki değişikliklerden sorumlu olabileceği tartışılmaktadır (11,80). Hastalık genel olarak 15q21.1 kromozomundaki FBN1 geni mutasyonu ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen, bir ailede 3. kromozomda bilinmeyen bir gen ile ilgili MFS de bildirilmiştir (20,66).

Patofizyoloji

Mikrofibriller, dokularda hücre dışı matriksin önemli parçalarındandır ve elastinle ilişkileri vardır. Mikrofibrillinlerin çapı 10-14 nm'dir ve elektron mikroskopide karakteristik

bir dizi şeklinde görüntülenirler. Mikrofibriller temel olarak FBN'den oluşmaktadır. FBN, 350 kDa ağırlığında, birbirine benzer üç formdan oluşan ve sisteinden zengin bir glikoproteindir (Şekil 4). Yapısındaki sistein sayesinde kalsiyum bağlama kapasitesi fazladır. FBN polimerleri birleşerek oluşturdukları mikrofibriller yapı sayesinde elastik liflerin oluşmasına katkıda bulunur. Elastinin aksine, mikrofibrillerin esnek bir yapısı vardır. Bu nedenle, elastik lamellanın mikrofibrilleri aortanın genişlemesini sınırlar. Elastinden yoksun bu mikrofibriller yapı, oluşturdukları lamellar yapıları birbirine bağlayarak tek bir kasılma ünitesi şeklinde hareket etmelerini sağladığı gibi, intimanın endotel tabakasını altındaki elastik tabakaya da bağlar (50).



Şekil 4. FBN1 proteininin yapısı

En iyi bilinen FBN'ler olan FBN1 geni 15q21 ve Fibrillin-2 (FBN2) geni 5q23 kromozom tarafından kodlanmaktadır. FBN1 ve FBN2 benzer yapıda olup 65 exon içerirler (24,39,40,50,57,66,75,80,84). Son zamanlarda FBN ailesinin üçüncü üyesi olarak bulunan Fibrillin-3 (FBN3) geni 19p13.3 kromozom tarafından kodlanmakta olup diğer FBN genlerine benzer yapı göstermektedir. FBN genlerinin oluşumu embriyogenezis döneminde başlar. FBN2 kalp-damar sistemi hariç daha erken oluşur ve özellikle elastogeneze önemli gibi görünmektedir. Mikrofibrillerde baskın olan FBN1 elastik liflerle ilişkili değildir. Aorta gibi

elastik arterlerde arteriyel duvarın üç tabakasında da FBN1 bulunurken, FBN2 orta tabakada yoğunlaşmaktadır (50).

Mikrofibriller yapı ve işlevinin bütün hastalıkları FBN1 ve FBN2 genlerindeki mutasyonlar nedeniyle meydana gelmektedir. Henüz FBN3'teki mutasyonlarla ilişkili fenotip yoktur. MFS'deki fenotip-genotip ilişkisi tam olarak anlaşılamamasına rağmen, FBN1 mutasyonlarının, baskın olarak mikrofibrillerin birleşmesini etkiledikleri düşünülmektedir. FBN1 mutasyonu ile MFS dışında, Marfan benzeri diğer hastalık fenotipleri de açığa çıkmaktadır. Bu hastalıklar ailesel MVP, MASS fenotipi, ailesel torasik aort anevrizması/diseksiyonu, ailesel ektopik lens, kifoskolyoz, ailesel Marfanoid vücut yapısı, ailesel araknodaktili, Shprintzen-Goldberg sendromu ve Weill-Marchesani sendromudur. MFS ve neonatal MFS dahil FBN1 mutasyonu ile ortaya çıkan bu hastalıklar “tip 1 fibrillinopatiler” olarak adlandırılmaktadır. Doğumsal kontraktürel araknodaktiliden ise FBN2 mutasyonu sorumlu tutulmaktadır (24,39,40,50,57,75,80).

Çok çeşitli mutasyonlar ile fenotip arasındaki ilişki yetersiz olup, kliniği hastaya özel başka risk faktörleri belirler. Genotip ile fenotip arasındaki zayıf korelasyona tek istisna, ölümcül seyreden neonatal MFS'dir. Neonatal MFS'de klasik MFS özelliklerine ek olarak gevşek deri, eklem kontraktürleri, buruşuk kulaklar, iskelet kası hipoplazisi, göz bozuklukları, akciğer amfizemi ve erken ölüme yol açan KKY olabilir. Neonatal MFS'de FBN1 mutasyonları exon 24-32 arasındadır. Bu nedenle neonatal MFS şüphesi olan bebeklerde FBN geninin bu bölgedeki mutasyonları gösterilirse tanı desteklenir (11,51,66,76,80).

Klinik

Tedavi edilmemiş kalp-damar sistemi bozuklukları, bu hastalıkta hayatın ilk 40 yılındaki ölüm nedenidir. Yaşam süresinin uzaması kalp-damar sistemine ait

komplikasyonların kontrol edilmesi veya önlenmesine bağlıdır. MFS'deki kalp-damar sistemi komplikasyonları; MVP ve MY, LV'de genişleme ve KKY ile pulmoner arter dilatasyonudur, ancak hastalardaki morbidite ve mortalitenin başlıca sebebi aort kökü genişlemesidir (20,35,36,82,94). Bebeklerde ise morbiditenin en önemli sebebi MVP ve MY'de ilerlemeye ek olarak TVP ve triküspit kapak yetmezliği olmasıdır (94).

Aorta duvarının tamamında zayıflık olmasına rağmen genişleme genellikle sinüs Valsalva'da ortaya çıkar. Sinüs Valsalva'yı içine alan bu aort kökü genişlemesi MFS'li hastaların yaklaşık % 70-80'inde olmaktadır. Bu durum küçük yaşlarda ortaya çıkıp erkeklerde daha yaygın olma eğilimindedir. Genel olarak aort kökü genişliği, 5 cm'ye ulaştıktan sonra genişleme hızı da artar (20,35,36,66,82,94). Bu aşamadan sonra çıkan aortayı içeren diseksiyon ve rüptür riski arttığı için profilaktik cerrahi girişim önerilmektedir (20,92,66,33). Aort kökünde olan ilerleyici genişleme ile kapak leafletleri tam kapanmayı sağlayamaz ve böylece AY meydana gelir (20,33,35,36,66,82,92,94).

Aorta patolojilerine ek olarak en sık görülen kalp tutulumu mitral kapakta olmaktadır. MFS hastalarının yaklaşık % 60-80'inde mitral kapak hastalığı olup çocuklarda aortanın tutulumundan önce ortaya çıktığı ve ilerleme gösterdiği bildirilmiştir. Mitral kapaktaki başlıca bulgular; annüler genişleme, leaflet ve kordalarda fibromiksomatöz değişiklikler, kordalarda uzama, rüptür ve kalsiyum birikimidir (20,33,66,94).

MFS'li hastalarda diğer sebepler olmaksızın proksimal pulmoner arterde genişleme ile koroner, aksiller veya subklaviyan arter anevrizmaları da bildirilmiştir (20,66).

Etkilenen hastalar diğer aile bireylerine göre daha uzun ve ince yapıdadırlar. Hastaların ekstremiteleri gövdeleriyle karşılaştırıldığında uyumsuz uzunlukları dikkat çeker. Araknodaktili tanısı için Steinberg baş parmak bulgusu (başparmak avuç içinde sıkıştırıldığında tırnağının elin ulnar sınırının dışında kalması) ve Walker-Murdoch el bileği

bulgusunun (başparmak ve serçe parmağın el bileği etrafında üst üste binmesi) her ikisinin de olması şarttır (20,88). MFS’de iskelet sistemine ait bazı bulgular Şekil 5’te gösterilmektedir.

Manyetik rezonans görüntüleme ile tanısı konulan dural ektazi, MFS için diğer klinik bulgulara kıyasla, oldukça yüksek oranlarda (% 95 ve % 98) hassas ve özgüldür (66).

Diğer sistemlere ait bulgular başlangıç ve şiddetleri itibarıyla, özellikle çocukluk yaş grubunda değişkenlik gösterebilirler. Bulgular doğumda görülmeyip sıklıkla çocukluk yaş grubunda ve adölesan döneminde gelişirler (20,66).



Steinberg bulgusu



Walker-Murdoch bulgusu



Parmaklarda hipermobilité



Pectus carinatum



Pectus ekskavatum



Pes planus

Şekil 5. MFS’de iskelet sistemi bulguları

Tanı

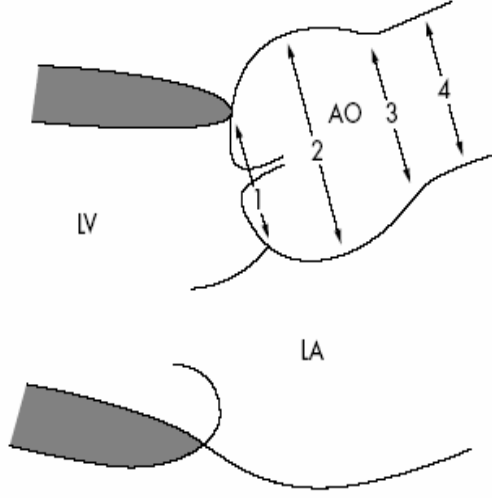
Marfan sendromunda FBN1 gen mutasyonu belirlenmiş olmasına rağmen tanı hala klinik değerlendirme ve aile hikayesi ile konulmaktadır (50,51,88,94). Hastalığın tanısı için 1986 yılından 1996'ya kadar olan dönemde “bağ dokusu hastalıkları Berlin tanı kriterleri” kullanılmış, 1996 yılında kriterler gözden geçirilerek bugün de kullanılan Ghent kriterleri oluşturulmuştur (20,92,21). Ghent kriterleri Tablo II’de özetlenmiştir (20,50,66,88). Marfan sendromu tanısı için en azından iki sistemde majör bulgu olmalı ve üçüncü sistem de tutulmuş olmalıdır (20).

Hasta değerlendirilirken ilk aşamada ayrıntılı hikaye, aile öyküsü, göz muayenesi dahil fizik inceleme ve EKO yapılmalıdır. MFS tanısı almamış şüpheli vakalarda da, özellikle fizik muayene bulgusu olmayan MVP açısından, EKO yapılmalıdır (94). Hastalarda skolyoz ve asetabuler protrüzyon gelişmesi yaşla ilişkili olup MFS tanısı için gerekliyse ayrıntılı radyolojik inceleme yapılabilir (20).

Ekokardiyografide aort kökü ölçümünün normal üst sınırı $1.9 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ olarak vücut yüzey alanıdır ve bu değer hastanın cinsiyetinden bağımsızdır (Şekil 6). Aortanın annuler çapı ile yaş, vücut yüzey alanı, boy ve ağırlık arasında doğrusal ilişkili bulunmuştur. Doğumda sadece birkaç milimetre olan annulus 60 yaşında 25 mm’ye ulaşır (35,66). MFS nedeniyle şüphelenilen çocuklarda aort kökü genişliği değişkenliği normal toplumdan daha farklı olup, farklı bir nomogram ile değerlendirilmeleri daha uygundur (36,82).

Tablo II. MFS tanısında Ghent kriterleri

Sistem	Majör kriter	Minör kriter
İskelet sistemi	▪ Pektus karinatum ▪ Cerrahi gerektiren pektus ekskavatum ▪ Üst segment/alt segment < 0.86 veya kulaç boyu/vücut boyu > 1.05 ▪ 20° skolyoz veya spondilolistezis ▪ Azalmış dirsek ekstansiyonu (< 170°) ▪ Pes planus ▪ Asetabuler protrüzyon	▪ Pektus ekskavatum ▪ Aşırı hareketli eklemler ▪ Diş düzensizliğiyle yüksek damak ▪ Karakteristik yüz
Göz	▪ Lens dislokasyonu (ektopik lens)	▪ Düz kornea ▪ Miyopi nedeniyle küre uzunluğunda artma ▪ Azalmış miyozis nedeniyle iris veya silier kas hipoplazisi
Kalp-damar sistemi	▪ Aort kökünde genişleme ▪ Çıkan aortada diseksiyon	▪ MVP ▪ Pulmoner arterde genişleme (< 40 yaş) ▪ Mitral annulusta kalsifikasyon (< 40 yaş) ▪ Diğer aortik bölgelerde genişleme veya diseksiyon
Akciğer	-	▪ Spontan pnömotoraks ▪ Apikal blebler
Cilt	-	▪ Atrofik çizgilenmeler ▪ Tekrarlayan insizyonel fitiklar
Dura	▪ Lumbosakral dural ektazi	-
Genetik bulgular	▪ Anne-baba, çocuk veya kardeşte MFS tanı kriterlerinin olması ▪ MFS'ye sebep olduğu bilinen FBN1 mutasyonu ▪ Ailede MFS ile ilişkili FBN1 haplotipi	-



- (1): aortik annulus
- (2): sinüs Valsalva
- (3): supraaortik ridge
- (4): proksimal çıkan aorta

MFS'de genişleme genellikle sinüs Valsalva'da başladığı için bu ölçüm erken değerlendirmede çok önemlidir. Ölçülen değerlerin yaş ve vücut yüzey alanına göre normalleri kullanılmalıdır.

Şekil 6. EKO'da sol uzun aks incelemede aort kökü görünümü ve ölçümü

Genç yaştaki MFS hastaları ayrı bir önem göstermektedirler. Bu hastalığın tanısı erken yaşta konulabilirse, takip altına alınacak kişinin en uygun zamanlama ile yapılacak bir operasyondan en fazla faydayı sağlayacağı çalışmalarla gösterilmiştir (33,92). Ancak çocuklarda MFS tanısı için bazı zorluklar vardır. Hastalığın patolojisinde de belirtildiği gibi, hastalık protein yapısında olan fonksiyonel bir bozukluktur. Dolayısıyla hastalar bu bozukluğun açtığı problemler sonrasında doktora başvurumaktadırlar. Hastalar, bazen aorta rüptürüne kadar tamamen şikayetsiz olabilirler. Bu nedenle çocuk hastalarda tanı için Ghent kriterleri yetersiz kalmaktadır (20,36,82). Bu tip şüpheli hastalar okul öncesi dönem, puberte öncesi dönem ve 18 yaşında tekrar değerlendirilerek tanı için karar verilmelidir (20). Aile hikayesi, iskelet sistemi bozuklukları ve göz bulguları ile danışılan 250 hastayı inceleyen bir merkez, bunlardan yalnızca 71'ine kesin olarak MFS tanısının konduğunu, 104'ünde ise kesin olarak MFS tanısının dışlandığını bildirmiştir (36).

Bazı hastalıkları MFS'den ayırmak zordur, bunların içerisinde en iyi bilineni MASS sendromudur. MASS sendromunda miyopi, MVP, aortik genişleme, cilt ve iskelet sistemi

tutulumu vardır. MASS sendromunun cilt ve iskelet bulguları MFS ile benzer olmasına rağmen belirgin değildir. FBN1 mutasyonu ile ilişkili olabilen MASS sendromunda aortik genişleme hafif olup aortik anevrizma rüptür riski düşüktür (20,50).

Tedavi

Gelişebilecek komplikasyonların önlenmesinde hastalığın tanısı ilk aşamadır. MFS tanısı konulmuş hastaların organ tutulumu yönünden araştırılması, kalp-damar sistemi komplikasyonlarının önlenmesi ve yaşam süresinin uzatılması için mutlak şarttır. Hastalarda aile taraması yapılması zorunludur. Tanı konulan hastalarda en önemli durum hastanın takip edilmesi olup böylece gelişebilecek komplikasyonlar erken tanı ve tedavi ile önlenabilmektedir (20,36,82).

Marfan sendromlu hastaların takibinde, ameliyat öncesi ve gerekirse sonrasında da devam edecek şekilde β -blokör kullanımı önerilmektedir (20,92). Propranolol, atenolol veya metoprololün aorta gerginliğini artırarak genişleme hızını düşürdüğü, aorta sertliğini ve nabız dalga hızını azalttığı bildirilmiştir. Genç MFS hastaları veya 4 cm'den küçük çaplı aortası olan hastalar β -blokör tedavisinden en fazla fayda gören hastalardır (20,36).

Aorta diseksiyonu ile sonuçlanabilen aort kökü genişlemesi, sıklıkla sinüs Valsalvada başlar. Bu bulgu, erken ve radikal cerrahi ile daha iyi bir yaşam süresi sağlanabileceğini düşündürmektedir (20,92). Aort kökü genişliği 5.5-6 cm'ye ulaştığında cerrahi önerilmektedir (20,35,66,92). Çocuklarda veya ailesinde AD ya da rüptürü hikayesi olan hastalarda ise daha erken bir dönemde, aort kökü 5 cm iken, ameliyat yapılmalıdır (20,33,36,66,92).

Marfan sendromu hastalarında tespit edilen MVP, MY'nin diğer sebeplerinden biri gibi değerlendirilir. Aort kapak ya da kök hastalığı ile beraber görüldüğünde ameliyat için

uygun zamanı belirlemek güçtür. Cerrahiyi gerektirecek MY varlığında mitral kapak ameliyatı aort cerrahisi ile eş zamanlı planlanabilir (33,92).

EHLERS-DANLOS SENDROMU

Ehlers-Danlos sendromu, büyük eklemlerde aşırı hareketlilik ile ciltte gevşeklik ve kırılabilirlik olarak, ilk kez 1892 yılında, Moskova’da, Tschernogobow tarafından, kapsamlı olarak tanımlanmıştır (93). Ancak tıp tarihinde EDS, 1901 yılında Danimarkalı dermatolog Edward Ehlers ve 1908 yılında Fransız dermatolog Henri-Alexandre Danlos’un birbirlerinden bağımsız olarak bildirdikleri vakalarla anılmaktadır (17,19). Ardından yaklaşık 30 yıl sonra bu hastalık EDS olarak adlandırılmaya başlamıştır (101). İlk tanımlanan hastalarda eklemlerde aşırı hareketlilik, bağ dokularında gevşeklik ile cilt esnekliğinde artış bildirilmiştir (17,19). Ardından hastalarda yara iyileşmesinde gecikme olduğu da gösterilmiştir (101). Daha önceleri 10’den fazla alt gruba ayrılarak sınıflandırılan EDS’nin günümüzde altı alt tipinin olduğu kabul edilmektedir (7,13,37,53,54,79,101). Bunlardan vasküler tipin (eski adı EDS tip IV) en ciddi seyirli alt grup olduğu bilinmektedir (26,69,77).

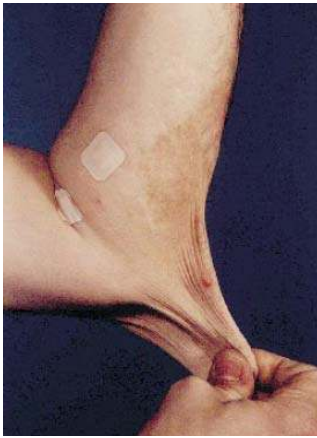
Genel olarak EDS prevalansı, son yıllarda yapılan çalışmalarda yüksek bulunarak, 1/5.000 olarak bildirilmiştir (13,37,53,54,79,101). Prevelanstaki bu artış hastalığın daha kolay tanınarak alt tiplerinin daha iyi ayırt edilebilmesine bağlanmaktadır. Hastaların yaklaşık % 90’ı klasik veya hiper mobil tiptir (37). EDS’nin vasküler formu olan tip IV dışında hastaların yaşam süresi etkilenmemektedir. EDS’li vakaların yaklaşık % 10’unu oluşturan tip IV’te ise gastrointestinal sistem ve uterus gibi organların orta çaplı arterlerinde olan spontan rüptürler nedeniyle ortalama yaşam süresi 50 yıldır (7,26,69,77,79).

Ehlers-Danlos sendromu kollajen ve diğer bağ doku proteinlerinin sentez ve metabolizmasında oluşan bozukluklardan kaynaklanmaktadır (7,13,37,53,79). Herediter bir

bozukluk olan EDS’de doğumda hastalık vardır, ancak hayatın ilerleyen dönemlerine kadar belirti vermeyebilir (7,13,26,54,101).

Klinik

Ehlers-Danlos sendromunun bütün formlarında değişen derecelerde olan bulgular (Şekil 7) ciltte yumuşak-hamur kıvamında esneklik artışı, yaralanmaya karşı hassas dokuya kolay yaralanma, yara iyileşmesinde bozukluk ile ince yara izi oluşumu (“sigara kağıdı skarları”), eklem hareketliliğinde artma ve eklem çıkıkları ile kronik eklem ve ekstremitte ağrılarıdır (5,7,13,37,79,101).



cilt enseliğinde artış



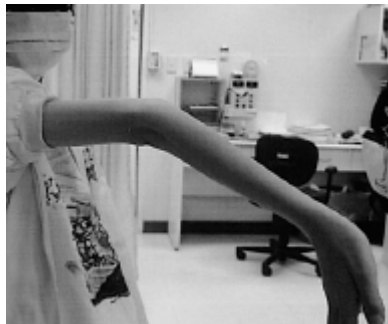
dizde atrofik yara izi



serçe parmakta bükülme



baş parmakta bükülme



dirsekte hiperekstansiyon



gövdede esneme

Şekil 7. EDS’de klinik özelliklere ait örnekler

Mitral kapak prolapsusu ve proksimal aortik genişleme, EKO, tomografi veya manyetik rezonans görüntüleme ile tanı almaktadır. MVP daha sık görülmesine rağmen, aortik genişleme nadirdir ve EDS'li hastaların çok az bir kısmında ilerleyici olabilir (7). Ancak tanıda sadece EKO'nun kullanıldığı bazı çalışmalarda kalp-damar sistemi yapısal bozuklukları prevalansı düşük bulunmuştur (26,54). Sadece erişkin EDS'li hastaların alındığı ve MVP tanısının 2-boyutlu EKO ile konulduğu bir çalışmada, MVP'nin bu hastalarda sık olmadığı, kontrol grubu veya genel toplumla aynı sıklıkta bulunduğu bildirilmiştir. Kalbe ait bozuklukların daha önceki çalışmalarda yüksek bulunması da söz konusu çalışmaların vaka takdimi olması veya hastaların önyargılı seçilmesine bağlanmıştır. Aynı çalışmada aort kökü genişlemesi sıklığının da EDS'li hastalarda artmadığı bildirilerek bu hastalığın inanılan aksine daha iyi huylu olabileceği vurgulanmıştır (26). Aort kökü genişlemesi, sinüs Valsalva hizasından yapılan en geniş ölçümün, yaş ve vücut yüzey alanına göre normal üst sınırın veya + 2 standart deviasyonun (SD) üzerinde olmasıyla tanı almalıdır (7,101). Yapılan çalışmalar karşılaştırıldığında aort kökü genişlemesinin daha genç olan hastalarda ortaya çıktığı görülmüştür. Bu durum daha küçük vücut yüzey alanı olan hastalarda aort çapı ölçümlerindeki ufak hatalara bağlanabileceği gibi, gençlerde aortanın daha fazla gerilme kabiliyeti olmasıyla da açıklanmaktadır (54). Çoğu çocuk yaş grubunda olan 16 hastanın yer aldığı bir çalışmada, EKO ile değerlendirilen hastalarda kalp-damar sistemi bozuklukları % 43 oranında bulunmuş. Bu nedenle EDS tanısı alan hastalar MFS'de olduğu gibi EKO ile değerlendirilmelidir. İlk değerlendirmede EKO'su normal olan EDS'li hastalara üç yıllık aralarla EKO yapılması yeterli olabilir. Eğer bu hastalar spor yapıyorlarsa daha sık aralarla değerlendirilmelidirler. Ancak takipte özellikle aortik ölçümlerde genişleme bulunan EDS'li hastalar, bozukluğun ortaya çıkış hızına bağlı olarak, altı ay veya bir yıl aralarla kontrol

edilmelidir (69,101). Aortik genişlemesi olan hastalarda annuloaortik ektazi ayırıcı tanıda düşünölmelidir (7).

Ehlers-Danlos sendromu ile ilişkili primer veya sekonder pulmoner hipertansiyon daha önce bildirilmemiş olmasına rağmen, 38 hastanın yer aldığı bir çalışmada, ikisi erişkin, biri çocuk üç hastada, pulmoner arter basıncının hafif de olsa yükseldiğı bulunmuştur. Aynı çalışmada erişkin EDS'li hastalarda anlamlı sıklıkta diastolik fonksiyon bozukluğu tespit edilmiştir. EDS'li hastalarda sıklıkla olan otonomik fonksiyon bozukluğu nedeniyle günün farklı saatlerinde sistemik tansiyonda yüksek ve düşük sistolik basınçlarla karşılaşılabilir. Bu durum hipertansiyonun tanı ve tedavisinde güçlük meydana getirebilir (54).

Biyokimyasal ve moleküler çalışmalardaki gelişmeler sonucu kalıtım şekilleri, klinik bulguları, biyokimyasal ve histopatolojik özellikleri birbirinden farklı 10'dan fazla kollajen sentez bozukluğu tipi belirlenmiştir (7). Bunların dışında hiçbir tipe uymayan EDS'li hastalar da tanımlanmıştır (72). Son olarak kabul edilen, Ehlers-Danlos National Foundation (EDNF) tarafından 1997 yılında bildirilen ve hala kullanılmakta olan sınıflandırma Tablo III'te verilmiştir (7,13,37,83). Bu sınıflandırmada EDS'nin her tipi için çeşitli klinik bulgular üzerine tanı kriterleri ile tanımlama yapılmıştır (7).

Ehlers-Danlos sendromunun her bir alt grubu için klinik bulgular da belirlenerek majör ve minör olarak ayrılmıştır. EDS alt gruplarının tanı kriterleri Tablo IV'te verilmektedir (7,13). Majör tanı kriterleri oldukça spesifik olup en azından birinin olması tanı için gereklidir. Minör tanı kriterleri tanı için gerekli olmayıp tanıyı destekler (7).

Tablo III. EDNF tarafından kabul edilen EDS sınıflandırması

Yeni isim	Eski isim (Kalıtım şekli)
Klasik tip	◆ Gravis = tip I (OD) ◆ Mitis = tip II (OD)
Hipermobil tip	◆ Hipermobil = tip III (OD)
Vasküler tip	◆ Arteriyel ekimotik = tip IV A, B ve C (OD)
Kifoskolyoz tipi	◆ Oküler-skolyotik = tip VI A ve B (Otozomal resesif, OR)
Artrokalazya tipi	◆ Artrokalazis multiplex konjenita = tip VII A ve B (OD)
Dermatosparaksis tipi	◆ Dermatosparaksis = tip VII C (OR)
Diğer	◆ X-resesif (XR) geçişli = tip V* (XR) ◆ Periodontal = tip VIII (OD) ◆ Menkes sendromunun allelik bir formu ? = tip IX (XR) ◆ Fibronektin bozukluğu = tip X** (OR) ◆ Ailesel hipermobilite sendromu = tip XI ◆ Tenascin-X yetmezliği (OR)

* Tip V sadece iki ailede tanımlanmıştır.

** Tip X sadece bir ailede tanımlanmıştır.

Tanı

Moleküler genetik üzerinde artan çalışmalarla EDS'nin moleküler temeli hakkında daha fazla bilgiye sahip olunmuştur. Gen pozisyonları ve kromozomal haritadaki yerleri Tablo V'te verilmektedir (7,13,37,53,69,77,79).

Ehlers-Danlos sendromu olan hastaların yaklaşık yarısında klinik yardımıyla herhangi bir tip adı konulamamaktadır (53,72,79). Bu durumda eğer mümkünse spesifik moleküler tanı yapılmalıdır (53,79).

Tablo IV. EDS alt gruplarının klinik özellikleri ve tanı kriterleri

Alt grup	Majör tanı kriterleri	Minör tanı kriterleri
Klasik tip	- cilt esnekliğinde artış - doku hassasiyetini gösteren geniş atrofik yara izleri - eklem hareketliliğinde artma	- yumuşak-hamur kıvamında cilt - yumuşak psödotümörler - cilt altı nodüller (bazen kalsifiye) - çıkık veya pes planus - kolay yaralanma - hiatal fıtık, anal prolapsus veya servikal yetersizlik - postoperatif fıtıklar - pozitif aile hikayesi
Hipermobil tip	- hafif cilt değişiklikleri (atrofik yara izi olmaz) - eklem hareketliliğinde artış	- tekrarlayan eklem çıkıkları - kronik eklem/ekstremitte ağrıları - pozitif aile hikayesi
Vasküler tip	- ince ve şeffaf deri - arter/barsak/uterus hassasiyeti veya rüptürü - kolay yaralanma - karakteristik yüz görünümü	- el ve ayak derilerinde buruşukluk - küçük eklemlerin hareketliliğinde artış - tendon ve kas rüptürü - clubfoot - erken başlangıçlı varisler - arteriovenöz, karotid-kavernöz sinüs fistülü - pnömotoraks/pnömohe motoraks - diş eti girintileri - pozitif aile hikayesi
Kifoskolyoz tipi	- eklem hareketliliğinde artış - doğumda ciddi kas hipotonisi - doğumda skolyoz (ilerleyici) - skleral hassasiyet ve rüptür	- doku hassasiyeti ve atrofik yara izleri - kolay yaralanma - arteriyel rüptür - marfanoid vücut yapısı - mikrokornea - osteopeni - aile hikayesi

Alt grup	Majör tanı kriterleri	Minör tanı kriterleri
Artrokalazya tipi	- tekrarlayan çıkıklara yol açan eklem hareketliliğinde ciddi artış - doğumsal iki taraflı kalça çıkığı	- cilt esnekliğinde artış - doku hassasiyeti ve atrofik yara izleri - kolay yaralanma - kas hipotonisi - kifoskolyoz - hafif osteopeni
Dermatosparaksis tipi	- ciddi cilt hassasiyeti - deride sarkma	- yumuşak deri - kolay yaralanma - fetal zarlarda erken rüptür - büyük fıtıklar

Tablo V. EDS’de moleküler temel

EDS tipi	Protein bozukluğu	Gen bozukluğu	Kromozom yeri
Klasik tip	Tip V kollajen	COL5A1 COL5A2	9q34.2-34.3 2q31
Hipermobil tip	?	?, ?TNXB?	?
Vasküler tip	Tip III kollajen	COL3A1	2q31
Kifoskolyoz tipi	Lizil hidroksilaz	PLOD1	1p36.3-36.2
Artrokalazya tipi	Tip I kollajen	COL1A1 COL1A2	17q31-22.5 7q22.1
Dermatosparaksis tipi	Prokollajen I N-proteinaz	ADAMT2	5q23-24

Tedavi

Doğru tanının konulması oldukça önemlidir. Cilt yaralanmaları veya diğer kazalarda dikkatli bir bakım yapılmalıdır. EDS’li hastalardaki aşırı hareketli eklemlere gerginlik veya ağırlık yapan şiddetli ya da tekrarlayıcı yük kaldırma gibi hareketler yasaklanmalı ve ağır travmalardan korunmaları önerilmelidir. Bununla beraber hafif düzeyde ağırlık egzersizlerinin dikkatli olarak yapılması tedavi edici olabilir. Skolyozu olan hastalar da yakın takip edilmeli

ve aktiviteleri kısıtlanmalıdır. Hastalarda MVP ve MY tespit edilirse EE profilaksisi önerilmelidir (37).

Vasküler EDS'li yetişkinlerde arteriyel anevrizma ve rüptür nedeniyle arteriyel yapının invaziv olmayan tekniklerle görüntülenmesi gerekebilir. Bu hastalarda aşırı kanama olursa acil ameliyat veya kateter yoluyla embolizasyon yapılması gerekir (69).

Günde 1-4 gram gibi yüksek dozda askorbik asit kullanımı teorik olarak etkili kabul edilmekte ve hastalarda denenmektedir. Bu dozlarda C vitamini kullanımı ile yara iyileşmesinin düzeldiği bilinmektedir. Yüksek doz C vitamini kullanımı tedavide bir standart olmamakla beraber EDS tip VI'lı hastalarda kanama zamanı, yara iyileşmesi ve kas kuvvetinin bir yıllık tedaviden sonra düzeldiği görülmüştür (8).

ROMATİZMAL MİTRAL KAPAK HASTALIĞI

Akut romatizmal ateş bir çok sistemi tutan postenfeksiyöz otoimmün bir bağ dokusu hastalığıdır. Gelişmiş ülkelerde hastalığın prevelansındaki azalmaya karşın gelişmekte olan ülkelerde hala önemini sürdürmektedir. 5-30 yaş grubunda en sık görülen kalp hastalığı nedenidir. 45 yaş altında kalp kaynaklı ölümler sıralamasında RKH en sık görülen nedendir (4,99). Ülkemizde son yıllarda yapılan çalışmalarda RKH prevelansı 3,7/1000 olarak bulunmuştur. Bu oran 30 yıl öncesine göre hastalığın 9-10 kat azaldığını göstermekte ise de ARA halen ülkemiz için önemli bir sağlık sorunudur (71,99). Zaman zaman epidemiler yapmaktadır, bu nedenle hekimler hastalığın klinik ve epidemiyolojik farklılıklarına karşı dikkatli olmalıdırlar (4,99).

Akut romatizmal ateş etyolojisinde rol oynayan üç önemli faktör; ajan (A grubu β -hemolitik streptokok), konakçı (5-15 yaş arasında genetik yatkınlığı olan çocuklar) ve çevresel şartlardır (4,99).

ARA patogenezindeki en uygun hipotez otoimmün çapraz reaksiyon teorisidir. İlgili ajanın yapısında bulunan M proteininin bazı epitoplarının insandaki kalp miyozini, sarkolemmal membran proteini, sinovyum ve eklem kıkırdağı, subtalamik ve kaudat nükleuslar ile ortak antijenik determinantları vardır. Böylece streptokok enfeksiyonlarında oluşan immün yanıt, yalnız streptokok antijenlerine değil, aynı zamanda benzer antijenik yapı gösteren konakçının bu dokularına da zarar vermektedir (4,99).

Genetik olarak HLA-DR4, DR-2, DR-1, DR-3, DR-7 veya HLA-DRw53 bulunan kişilerde ARA'ya yatkınlık olduğu bilinmektedir (4,99). Ancak günümüze kadar yapılan çalışmalarda, her hastada kalp tutulumunun olmaması ya da kalp tutulumu olanlarda sıklıkla mitral kapağın etkilenmesi veya MY'si olan hastalarda korda rüptürü, MVP gibi farklı patolojilerin tespit edilmesi hakkında herhangi bir genetik temel bulunamamıştır.

ARA'nın klinik bulguları grup A streptokok farenjitini takip eden yaklaşık üç haftalık latent periyottan sonra ortaya çıkmaktadır. Bu periyot boyunca hastada herhangi bir şikayet olmaz. Bu hastalıkta eklem ve beyin gibi organlardaki iltihabi olay kendi kendini sınırlandırmasına rağmen kalp tutulumu, ciddi ve hayatı tehdit eden akut enflamasyon veya kalpte kalıcı skarlaşma ile fonksiyon bozukluğuna yol açan kronik kalp hastalığına neden olabilir. Bu nedenle kardit ARA'nın en ciddi klinik bulgusudur ve günümüzde hala ölüme neden olabilmektedir (4,99). Son yıllarda yapılan çalışmalarda kardit sıklığı; fizik muayene bulguları ile % 75, kardit tanısında muayeneye ek olarak EKO'nun kullanılmaya başlanmasıyla Utah'daki epidemide % 91, hastanemizde 425 hastalık çalışmada % 42 ve romatizma çalışma grubu verilerinde % 75 olarak bulunmuştur (4,15,29,61,71,96,97,99).

Akut romatizmal ateşin tanısında, özgüllüğü yüksek, hassasiyeti düşük olan ve 1944-1992 yılları arasında dört kez düzenlenen Jones kriterleri (Tablo VI) kullanılmaktadır (4,15,61,99).

Tablo VI. ARA tanısında kullanılan modifiye Jones kriterleri (1992)

Majör bulgular	Minör bulgular	Geçirilmiş grup A streptokok enfeksiyonunu destekleyen bulgular
Kardit Poliartrit Sydenham's korea Eritema marginatum Subkütan nodüller	Klinik ♦ Ateş ♦ Eklem ağrısı Laboratuvar ♦ Eritrosit sedimentasyon hızı ve C-reaktif proteinde artma ♦ Uzamış PR süresi	♦ Streptokokkal antikor titrelerinde yükselme ♦ Pozitif boğaz kültürü ♦ Pozitif hızlı streptokokkal antijen testi

Geçirilmiş streptokok enfeksiyonu kanıtlandığında, iki majör bulgu ya da bir majör ve iki minör bulgunun olması ARA tanısı için yeterli kabul edilmektedir. Ancak tabloda belirtilen Jones kriterleri, tekrarlayan ataklar, tipik olmayan eklem tutulumları, Sydenham's korea ve sessiz kardit durumlarında yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle başta EKO olmak üzere bazı kriterlerin bu sınıflamaya eklenmesi üzerine tartışmalar yapılmaktadır (61,99). Ayrıca bu hastalarda görülebilen akut apandisit, 2. veya 3. derece AV bloklar ya da glomerulonefrit birlikteliği gibi durumlar tanıda karışıklığa yol açabilmektedir (15,44,45).

Karditin klinik tanısı, kalp hızının (hasta uykudayken, ateş veya KKY olmaksızın) yaşa göre olması gerekenden fazla olması (taşikardi), patolojik üfürüm/ses duyulması (MY ve/veya AY'ye ait üfürüm ya da perikardiyal sürtünme sesi), kalp büyümesi veya KKY'ye ait bulguların olması ile konulmaktadır. ARA'daki kalp tutulumu, kalbi etkileyen diğer bir çok hastalıktan farklı olarak, tüm katmanları aynı anda (pankardit) etkileyebilmektedir (4,15,99).

Bu hastalıkta en sık tutulan kapak mitral kapaktır. İlk oluşan bulgu da MY'dir. Tek başına MY sıklığı yaklaşık % 60'dır, ancak beraberinde diğer kapak tutulumları da olabilmektedir (4,15,42,58,95,99,103).

Akut romatizmal ateş tanı kriterleri içerisinde henüz yer almasa da günümüzde EKO kullanımı temel bir kural olmuştur. ARA'da en sık gözlenen kapak lezyonu olan MY; ventriküler genişleme, leaflet hareketliliğinde kısıtlanma, MVP ve/veya annuler genişleme sonucunda meydana gelmektedir (4,15,61,99).

Patolojik MY kriterlerine ek olarak renkli MY jetinin direk olarak LA arka duvarına yönelmesi ARA tanısında çok önemlidir. Bu bulgularla EKO'nun tanındaki özgüllüğü ve pozitif prediktif değeri % 100'e yaklaşmaktadır (58).

Son yıllarda EKO'nun yaygın kullanımı ve cerrahi bilgiler ile romatizmal MY'si olan hastalarda % 30-97 gibi yüksek oranlarda MVP olduğu gösterilmiştir. Böylece ARA'nın MVP'nin önemli bir sebebi olduğu açıktır (4,42,103). ARA nedeniyle meydana gelen MVP'de sıklıkla anterior leaflet etkilenmektedir. Burada sorumlu tutulan en önemli patoloji kordalarda olan uzamadır (4,95). Annuler genişleme ve leaflet hareketliliğindeki kısıtlanma ise kötü prognoza yol açan posterior leaflette prolapsusa neden olmaktadır (58,95,103).

Hastalıktaki prognozu, kalıcı kalp hastalığının olması veya olmaması belirlemektedir. Kalıcı kalp kapak hastalığının gelişmesi de şu üç faktöre bağlanmaktadır:

- Tedavinin başlangıcındaki kalp etkilenim düzeyi: Hasta ilk görüldüğünde kalp etkilenimi daha ciddiye kalıcı kapak hastalığı da daha fazla olmaktadır.
- Tekrarlayan ataklar: Her atak ile kapak tutulumunun ciddiyeti artmaktadır. İlk ataktan sonra tekrarlama olasılığı en sık ilk beş yılda olmaktadır.
- Kalp hastalığında gerileme: Başlangıçtan sonraki 10 yılda hastaların % 10-25'inde ilk atakta meydana gelen kalp bulguları kaybolabilir. Profilaksi kurallarına uyulması ile kapak hastalığı tamamen kaybolmaktadır (4,15,61,70,99).

POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) bulunan Cetus şirketine bağlı olarak çalışan, Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki tarafından geliştirilmiştir. Basit olarak bu yöntem, tüp içerisinde nükleik asitlerin uygun koşullarda çoğaltılması esasına dayanmaktadır. Hem araştırmada, hem de klinik laboratuvar tanısındaki uygulama alanlarıyla büyük öneme sahip olan PCR'nin geliştirilmesindeki çalışmaları nedeniyle, Dr. Kary B. Mullis 1993 yılında Kimya alanında Nobel ödülü almıştır (67).

Deoksiribonükleik asit (DNA) içerisinde yer alan, dizisi bilinen iki segment arasındaki özgün bir bölgeyi enzimatik olarak çoğaltmak için uygulanan tepkimelere verilen ortak bir isim olan PCR, bir çeşit “in vitro klonlama” olarak da tanımlanmaktadır. 94 °C-98 °C aralığında gerçekleştirilen denatürasyon (DNA'nın iki zincirinin yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılması), 37 °C-65 °C aralığında gerçekleştirilen annealing (sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanması) ve 72 °C'de gerçekleştirilen ekstansiyon (zincirin yeni çift zincirli DNA'lar oluşturacak şekilde uzaması) aşamalarından oluşur ve bu siklusların belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır (67,87).

Polimeraz zincir reaksiyonu, tek veya çift sarmallı DNA ya da RNA için kullanılabilir. Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerine tamamlayıcı olan, 18-20 baz uzunluğunda bir çift sentetik oligonükleotid primer kullanılarak, bu iki primer ile sınırlandırılan bölgenin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanmaktadır. PCR ile bir hedef DNA parçasından milyonlarca çoğaltmak mümkündür. PCR'ın en önemli özelliği çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlamasıdır (67,87).

Hedef diziler, amplimer adı verilen ve hedef diziye özgü primerler aracılığıyla çoğaltılmaktadır. Denature olmuş DNA'ya primerlerin eklenmesini takiben, primerler hedefe

bağlanmaktadır. Reaksiyonun oluşması ve devamı için gerekli bileşenlerin (yüksek ısıya dayanıklı Taq DNA polimeraz enzimi, deoksi nükleotid trifosfatlar, uygun pH ve Mg^{++} koşullarını sağlayan tampon karışımı olarak $MgCl_2$) varlığında, hedef bölgenin sentezi başlar ve devam eder. Oluşan yeni DNA'lar bir sonraki reaksiyon için kalıp görevi görmektedirler. Yaklaşık 25 döngü sonrası hedef DNA 10^5 kez çoğaltılmış olmaktadır. Restriksiyon enzimleri DNA'da spesifik tanıma bölgelerine sahiptirler. Genomik DNA'daki dizi değişimleri belli tanıma bölgelerinin oluşmasına ya da yok olmasına yol açmaktadır. Bu sayede oluşan bir ya da daha fazla DNA parçasının boyutu değişik olmaktadır. Bu parçaların agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi bireyin genotipinin belirlenmesini sağlamaktadır (67,87).

Bu yöntem geniş oranda tek nükleotid polimorfizmlerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Ancak kolay uygulanabilir olması ve hızlı sonuç vermesi nedeniyle bir çok farklı alanda da kullanılabilmektedir (67,87).

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Kardiyoloji Bilim dalı kliniğinde izlenen hastalarda yapılmış olup Çocuk Kardiyoloji Bilim dalı ve Tıbbi Genetik Anabilim dalı tarafından yürütülmüştür. Bu çalışma 01/2005-56 numarası ile Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projesi Birimi tarafından desteklenmiştir. Çalışmaya başlanılmadan önce Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'undan da onay alınmıştır.

HASTALAR

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Kardiyoloji Bilim dalı kliniğinde takip edilen, yaşları 3-18 yıl arasında değişen, 72'si kız, 64'ü erkek olan 136 çocuk alınmıştır.

Hastalarda MVP tanısı EKO ile konulmuştur (31,41,56,78). MVP tanısı konulan hastalardan bir kısmı daha önceden MFS veya EDS tanıları ile takip edilmekteydi. Bu hastalarda Ghent kriterlerinden en azından iki sistemde majör bulgu olması ve üçüncü sistemin de etkilenmiş olması ile MFS tanısı konulmuştur (20,50,66,88). EDS tanısı için EDNF tarafından bildirilen sınıflandırma rehberliğinde minör tanı kriterleri ile desteklenmiş majör tanı kriterlerinden en az birinin olması esas alınmıştır (7,13,37,83). ARA tanısı için ayrıntılı öykü ve fizik muayene, EKG, telekardiyografi ve EKO ile değerlendirilen hastalarda modifiye Jones kriterleri kullanılmıştır (4,99).

Çocuk kardiyoloji polikliniğine üfürüm duyulması, çarpıntı, göğüs ağrısı ya da baş dönmesi gibi şikayetlerle başvuran, EKO'su normal olup yapılan değerlendirme sonucunda normal kalp bulguları olarak kabul edilen çocuklar bu çalışmadaki kontrol grubu olmuştur.

Çalışma kapsamına giren çocuklardan 3 ml kan alınarak etilendiamintetraasetikasitli (EDTA) tüplere konulmuş ve hasta sayısı tamamlanıncaya kadar bu kan örnekleri -20 °C'de bekletilmiştir.

Çalışmaya alınan hastalar üç temel gruba ayrılmıştır. Bu gruplar:

- Kontrol grubu: Nonspesifik bir şikayetle polikliniğe başvuran ve EKO'su normal olan çocuklar.
- MVP grubu: Herhangi bir nedenle polikliniğe başvuran ve MVP tanısı alan hastalar. Bu hastalar iki alt gruba bölünmüştür:
 - ◆ MVP₁ alt grubu: Nonspesifik şikayetleri nedeniyle sadece ekokardiyografik bulgusu olan hastalar.
 - ◆ MVP₂ alt grubu: EKO bulguları yanında belirgin şikayetleri nedeniyle propranolol veya carvedilol gibi tedavi alan hastalar.
- Kardit grubu: Romatizmal kardit tanısıyla takip edilen hastalar. Bu hastalar da iki alt gruba bölünmüştür:
 - ◆ Kardit₁ alt grubu: Romatizmal MVP'si olan hastalar.
 - ◆ Kardit₂ alt grubu: Romatizmal MVP'si olmayan hastalar.

EKOKARDİYOĞRAFI

Hastaların ekokardiyografik incelemelerinde General Electric Medical Systems firmasının (Amerika Birleşik Devletleri) ViVid 3 Expert ve ViVid 7 Pro EKO cihazları ve 7 ile 3 MHz'lik probalar kullanılmıştır.

Çalışmaya alınan hastalarda sistematik ekokardiyografik incelemenin yanında 2-boyutlu EKO'da özellikle parasternal uzun eksen ve apikal 4-boşluk pozisyonu olmak üzere birden fazla pozisyonda, mitral kapak yapısı ve hareketleri değerlendirilmiştir. Mitral kapağın anterior ve/veya posterior leafletinin 2 mm'den daha fazla LA'ya doğru çökmesi ve bu leafletin kalınlığının 5 mm üzerinde ölçülmesi MVP olarak kabul edilmiştir (31,41,56,78).

Ekokardiyografik incelemede patolojik MY tanısı için şu kurallar uygulanmıştır (58):

- Renkli Doppler'de mozaik jet akımının en az iki EKO planında görülmesi ve yetmezlik jetinin kapak seviyesini 1 cm'den fazla geçmesi,
- Devamlı veya pulse Doppler incelemede yetmezlik akımı pik hızının 2.5 m/sn'den yüksek ve romatizmal MY için sistol boyunca, MVP kaynaklı MY için sistol boyunca veya geç sistolde olması,
- Bernoulli denklemiyle yetmezlik akım hızından LV ile LA arasında basınç gradienti elde edilmesi,
- Romatizmal MY için renkli yetmezlik jetinin direk olarak LA arka duvarına yönelmesi.

GENETİK ÇALIŞMA

Hastalarda yapılan genetik çalışmalar için aşağıda adı geçen cihazlar, kimyasal maddeler ve tamponlar kullanılmıştır.

Kullanılan Cihazlar

- Soğutmalı santrifüj (Heraeus, Varifuge 20RS)
- DNA termal döngü cihazı 480 (Perkin-Elmer Cetus)
- Mikrofüj (Nüve DT 024)

- Elektroforez tankı ve güç kaynağı (Sigma ve LKB)
- Ultraviyole ışık kaynağı (LKB)
- Sıcak su banyosu (Nüve SB 100)
- Hassas terazi (AND-ER-182A)
- Vorteks (Assistent)
- Etüv (Nüve)
- Mikrodalga fırın (Arçelik-Türkiye)
- Mikropipetler (Biohit, Proline)

Kullanılan Kimyasal Maddeler

- EZ-DNA DNA izolasyon kiti (Dr. Zeydanlı-Türkiye)
- Primer sentezleri (Biotech-Almanya)
- PCR tamponu (Bioron-Almanya)
- dNTP karışımı (Bioron-Almanya)
- Taq DNA polimeraz (Bioron-Almanya)
- $MgCl_2$ (Bioron-Almanya)
- Hae III restriksiyon enzim ve tamponu (Bioron-Almanya)
- Aci I restriksiyon enzim ve tamponu (Bioron-Almanya)
- Tai I restriksiyon enzim ve tamponu (Bioron-Almanya)
- Agaroz (Sigma-ABD)
- Trisma baz (Sigma-ABD)
- Borik asit (Sigma-ABD)
- EDTA (Sigma-ABD)
- Sükroz (Sigma-ABD)

- Brom fenol mavisi (Sigma-ABD)
- PBR322 Moleküler ağırlık belirteci (AMRESCO-Almanya)
- DMSO (Dimetilsülfoksit) (Sigma-ABD)

Kullanılan Tamponlar

PCR

- Tepkime Tamponu (10X)
 - 1000 mM Tris-HCl, pH 8.3
 - 500 mM KCl
 - 15 mM MgCl₂
- % 0.01 (w/v) jelatin
- Taq Polimeraz (5 ünite/ml) Tampon
 - % 50 Gliserol (v/v)
 - 100 mM KCl
 - 20 mM Tris-HCl, pH 8
 - 0.1 mM DTT
 - % 0.5 Tween 20
 - % 0.5 Nonidet p 40
 - mineral yağı
- dNTP (10X) = Her bir deoksiribonükleotidden (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 10 mM

Agaroz jel elektroforezi

- Agaroz % 2'lik = 0.8 gr agaroz
40 ml 0.5X TBE

- TBE tamponu (10X) = 108 gr Tris baz
55 gr Borik asit
9.3 gr EDTA

Toplam hacim distile su ile 1 000 ml'ye tamamlanır.

- TBE tamponu (0.5X) = 14 ml 10X TBE tamponu
13.5 µl etidyum bromür

Toplam hacim distile su ile 280 ml'ye tamamlanır.

- Yükleme tamponu = % 0.25 bromfenol mavisi
% 40 (w/v) süktroz
➤ Etidyum bromür = 10 mg etidyum bromür
1 ml distile su

Primerler

Hedef bölgeleri çoğaltmak için kullanılan primer dizileri aşağıda belirtildiği gibidir.

- Exon 50'de yerleşik olan C2099W mutasyonu belirlemek için;

İleri primer 5' ACGGACTCAGTAGGAAAGC 3'

Geri primer 5' CAGTCTGCACCCTGCATG 3' primerleri ortak olarak kullanılmıştır.

- İntron 52'de yerleşik olan Exon 52+128A/G polimorfizmini belirlemek için;

İleri primer 5' GGTACCAAGATGGCACTGAAA 3'

Geri primer 5' TGTCCAGTGTCTGCCTTCAC 3' primerleri ortak olarak kullanılmıştır.

- İntron 56'da yerleşik olan Exon 56+17G>C polimorfizmini belirlemek için;

İleri primer 5' CGAGTGCCTTGGTGAGTACA 3'

Geri Primer 5' AATTTAGCTGCAGGGTGGTG 5' primerleri kullanılmıştır.

Fotoğraf çekimi

Syngene yazılım sistemi olan Canon powershot G5 kamera ile yapılmıştır.

Genetik Yöntem

DNA saflaştırılması

Çalışma kapsamına giren çocuklardan 3 ml kan alınarak EDTA'lı tüplere konulmuştur. Kan örneklerinden hemen izolasyon yapılmayacak ise -20 °C'de bekletilmiştir. DNA örnekleri bekletilmiş ya da taze kandan test kitinin öngördüğü şekilde izole edilmiştir (EZ DNA). Alınan tüm kanlar genetik laboratuvarında kör olarak çalışılmıştır.

PCR ve restriksiyon enzimleri ile kesim

Fibrillin-1'in hedef bölgelerinin çoğaltılması için seçilen primerlere göre PCR şartları aşağıda belirtilmiştir:

- Exon 50'de yerleşik olan C2099W mutasyonuna spesifik primer çifti için PCR tüpündeki son hacim 50 µl olup içeriği; her iki primerden 0.8 µl (0.3 µM), MgCl₂ 0.8 µl (100 mM), dNTP 1 µl (10 mM), PCR tamponu 5 µl (10 X), Taq DNA polimeraz 0.3µl (5 U / 50 µl), DNA 4 µl (250 ng), 37.3 µl distile sudur. PCR işlemini gerçekleştirmek için, otomatik ısı döngü cihazı aşağıda belirtilen sıcaklık ve sürelerle göre ayarlanmıştır:

- | | | |
|----------------------------|----------------|--------------|
| ○ Başlangıç denatürasyonu; | 94 °C'de 5 dk | (1 Döngü) |
| ○ Denatürasyon aşaması; | 94 °C'de 15 sn | — (30 Döngü) |
| ○ Hibridizasyon aşaması; | 58 °C'de 30 sn | |
| ○ Sentez (uzama) aşaması; | 72 °C'de 30 sn | |
| ○ Son sentez aşaması; | 72 °C'de 5 dk | (1 Döngü) |

- İtron 52’de yerleşik olan Exon 52+128A/G polimorfizmine spesifik primer çifti için PCR tüpündeki son hacim 50 µl olup içeriği; her iki primerden 0.8 µl (0.3 µM), MgCl₂ 0.8 µl (100 mM), dNTP 1 µl (10 mM), PCR tamponu 5 µl (10 X), Taq DNA polimeraz 0.3µl (5 U / 50 µl), DNA 4 µl (250 ng), 37.3 µl distile sudur. PCR işlemini gerçekleştirmek için, otomatik ısı döngü cihazı aşağıda belirtilen sıcaklık ve sürelerle göre ayarlanmıştır:

- | | | |
|----------------------------|----------------|--------------|
| ○ Başlangıç denatürasyonu; | 94 °C’de 5 dk | (1 Döngü) |
| ○ Denatürasyon aşaması; | 94 °C’de 15 sn | — (35 Döngü) |
| ○ Hibridizasyon aşaması; | 60 °C’de 30 sn | |
| ○ Sentez (uzama) aşaması; | 72 °C’de 30 sn | |
| ○ Son sentez aşaması; | 72 °C’de 5 dk | (1 Döngü) |

- İtron 56’da yerleşik olan Exon 56+17G>C polimorfizmine spesifik primer çifti için PCR tüpündeki son hacim 50 µl olup içeriği; her iki primerden 0.8 µl (0.3 µM), MgCl₂ 0.8 µl (100 mM), dNTP 1 µl (10 mM), PCR tamponu 5 µl (10 X), Taq DNA polimeraz 0.3µl (5 U / 50 µl), DNA 4 µl (250 ng), 37.3 µl distile sudur. PCR işlemini gerçekleştirmek için, otomatik ısı döngü cihazı aşağıda belirtilen sıcaklık ve sürelerle göre ayarlanmıştır:

- | | | |
|----------------------------|-----------------|--------------|
| ○ Başlangıç denatürasyonu; | 94 °C’ de 5 dk | (1 Döngü) |
| ○ Denatürasyon aşaması; | 94 °C’ de 15 sn | — (30 Döngü) |
| ○ Hibridizasyon aşaması; | 60 °C’ de 30 sn | |
| ○ Sentez (uzama) aşaması; | 72 °C’ de 30 sn | |
| ○ Son sentez aşaması; | 72 °C’ de 5 dk | (1 Döngü) |

Her üç tepkime için karışımlar 0.5 ml’lik tüplere dağıtılarak üzerine saflaştırılan genomik DNA eklenmiştir. Tüm işlemler tepkimenin doğru gerçekleşmesi için buz üstünde yapılmıştır. Bu şekilde elde edilen tepkime karışımı, 3000-4000 devir/dk’da 10-12 sn santrifüj

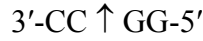
edildikten sonra otomatik ısı döngü cihazına yerleştirilerek tepkime gerçekleştirilmiştir. Tüm PCR'lerde negatif kontrol olarak DNA içermeyen distile su kullanılmıştır.

Çoğaltılmış DNA'ların elektroforezde değerlendirilmesi: PCR sonucu oluşan DNA'ları yürütmek için % 2'lik agaroz jel hazırlanmıştır. 10 µl PCR ürünü 2 µl yükleme tamponuyla karıştırılarak kuyucuklara yüklenmiştir. Jel 90 voltta 90 dakika elektroforeze tabi tutulmuştur. Ultraviyole lamba altında PCR'de kullanılan primer çiftlerine göre oluşan DNA bantları incelenmiştir.

PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesimi

- C2099W mutasyonunu tanımlamak için, spesifik primerler kullanılarak çoğaltılan 249 baz çiftinin (bp) olduğu hedef gen bölgesi Hae III restriksiyon enzimi ile muamele edilmiştir.

Hae III restriksiyon enziminin tanıma bölgesi şu şekildedir:



Deneyin yapılışı: 0.5 ml'lik ependorf tüpünün içine 15 µl PCR ürünü, 1.6 µl tampon, 10 ünite Hae III enzimi eklenmiştir. Karışım 37 °C'lik etüvde bir gece inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrası tüplerden alınan 8 µl kesim ürünü 3 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak % 2'lik agaroz jele yüklenmiştir. % 2'lik agaroz jelde PBR322 moleküler ağırlık belirteci ve enzim kesimi yapılmamış PCR ürünü eşliğinde 45 dakika 90 V sabit akımda yürütülmüştür. Ultraviyole altında incelenip fotoğrafı çekilmiştir.

- Exon 52+128A/G polimorfizmini tanımlamak için, spesifik primerler kullanılarak çoğaltılan 186 bp'lik hedef gen bölgesi Tai I restriksiyon enzimi ile muamele edilmiştir.

Tai I restriksiyon enziminin tanıma bölgesi şu şekildedir:

ACGT/

5'-A ↓ CGT-3'

3'-TGC ↑ A-5'

Deneyin yapılışı: 0.5 ml'lik ependorf tüpünün içine 15 µl PCR ürünü, 1.6 µl tampon, 10 ünite Tai I enzimi eklenmiştir. Karışım 37 °C'lik etüvde bir gece inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası tüplerden alınan 8 µl kesim ürünü 3 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak % 2'lik agoroz jelle yüklenmiştir. % 2'lik agoroz jelde PBR322 bp'lik moleküler ağırlık belirteci ve enzim kesimi yapılmamış PCR ürünü eşliğinde 45 dakika 90 V sabit akımda yürütülmüştür. Ultraviole altında incelenip fotoğrafı çekilmiştir.

➤ Exon 56+17G>C polimorfizmini tanımlamak için, spesifik primerler kullanılarak çoğaltılan 198 bp'lik hedef gen bölgesi Aci I restriksiyon enzimi ile muamele edilmiştir.

Aci I restriksiyon enziminin tanıma bölgesi şu şekildedir:

5'-C ↓ CGC-3'

3'-CGC ↑ C-5'

Deneyin yapılışı: 0.5 ml'lik ependorf tüpünün içine 15 µl PCR ürünü, 1.6 µl tampon, 10 ünite Aci II enzimi ve buharlaşmayı engellemek için mineral yağı eklenmiştir. Karışım 37 °C'lik etüvde bir gece inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası tüplerden alınan 8 µl kesim ürünü 3 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak % 2'lik agoroz jelle yüklenmiştir. % 2'lik agoroz jelde 100 bp'lik moleküler ağırlık belirteci ve enzim kesimi yapılmamış PCR ürünü eşliğinde 45 dakika 90 V sabit akımda yürütülmüştür. Ultraviole altında incelenip fotoğrafı çekilmiştir.

İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Kardit, MVP ve kontrol gruplarındaki yaş ortalamaları “Student t testi” kullanılarak karşılaştırılmıştır. Gruplardaki cinsiyet dağılımlarında ise “ χ^2 testi” kullanılmıştır.

Kardit, MVP ve kontrol gruplarında yer alan hastalar arasındaki genotipik farklılıklar ile intron 52 ve intron 56 allelik sıklıkları “ χ^2 testi” kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca MVP ve kardit grupları ikiye alt gruba ayrılmıştır ve bu alt gruplar arasındaki genotipik farklılıklar ile intron 52 ve intron 56 allelik sıklıkları da “ χ^2 testi” kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Hardy-Weinberg yasasının genetik çıkarımlara temel teşkil etmesi bakımından populasyon genetiği alanında önemli bir yeri vardır. Hardy-Weinberg yasasına göre seleksiyon, mutasyon, göç olmayan ve rastgele çiftleşen bir populasyonda gen ve genotip frekansları nesilden nesile değişmez. Belirli bir örneğin Hardy-Weinberg dengesindeki bir populasyondan rastgele alınan örneklerden biri olup olmadığını test etmek amacıyla değişik yöntemler geliştirilmiştir. Çalışmamızda FBN1 geninin intron 52 ve intron 56 polimorfizmlerinin Hardy-Weinberg dengesine uygunluğu “ χ^2 testi” ile kontrol edilmiştir.

İstatistiksel değerlendirmede p değeri < 0.05 olan sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.

Çalışmada yapılan tüm istatistiksel analizlerde “SPSS for Windows” programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya alınan bütün hastalar ile kontrol grubundaki çocukların cinsiyet ve yaş dağılımları Tablo VII’de verilmiştir. Kontrol grubu ile MVP ve kardit grupları karşılaştırıldığında cinsiyet ve yaş dağılımlarının benzer olduğu bulunmuştur.

Tablo VII. Çalışmaya alınan çocukların cinsiyet ve yaş dağılımları

Parametreler	MVP grubu	Kardit grubu	Kontrol grubu
Çocuk sayısı (n)	37	40	59
Cinsiyet (K/E)	21/16	23/17	28/31
Yaş aralıkları (yıl)	3-18	6-16	3.5-17
Ortanca (yıl) $\pm$ SD	11.29 $\pm$ 4.15	11.58 $\pm$ 2.70	11.34 $\pm$ 3.39

KLİNİK ve EKOKARDİYOĞRAFİK ÖZELLİKLER

Hastaların klinik ve ekokardiyografik özellikleri Tablo VIII’de verilmiştir. MVP grubunda MVP, TVP ve aort kökü dilatasyonu, kardit grubunda ise MY ve AY istatistiksel olarak fazla bulunmuştur ($p < 0.05$).

Tablo VIII’de MVP grubunda görülen TVP, MFS tanısıyla takip edilen sekiz hastaya aittir. MFS’li hastaların tamamında MVP görülmüş olup, iki hastada anterior leaflette MVP ve diğer altı hastada hem anterior, hem de posterior leaflette MVP bulunmuştur. Bu hastalardan biri hariç hepsinde MY saptanmıştır. Çalışmada tanı alan MFS’li hastalardan beşinde aort kökü dilatasyonu ve bunlardan da dört yaşında olan bir hastada AY bulunmuştur.

Çalışmada MVP grubunda yer alan ve EDS tanısı alan üç hastadan dört ve 15 yaşlarındaki iki hastada iki leafleti de ilgilendiren MVP ve MY, 11 yaşındaki diğer hastada anterior leaflette MVP bulunmuştur. Bu hastalardan 15 yaşında olanda ek olarak aort kökü dilatasyonu ve AY tespit edilmiştir.

Tablo VIII. Hastaların klinik ve ekokardiyografik özellikleri

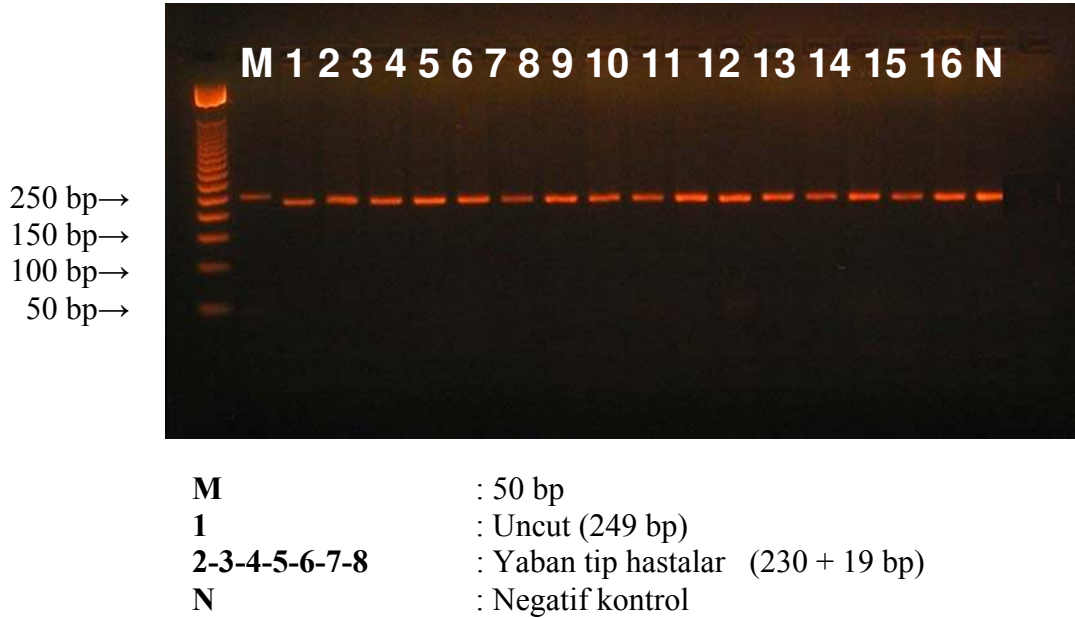
Parametreler	MVP grubu		Kardit grubu	
	sayı	%	sayı	%
Hasta sayısı (n)	37	100	40	100
(anterior leaflette)	24	64.8*	8	20
MVP (bilateral leaflette)	9	24.4*	3	7.5
(posterior leaflete)	4	10.8*	1	2.5
MY	26	70.3	38	95*
TVP	8	21.6*	0	0
Aort kökü dilatasyonu	6	16.2*	0	0
AY	2	5.4	21	52.5*

*: p değeri = 0.01

FBN1 GEN POLİMORFİZMİ ve ALLELİK SIKLIĞI

Exon 50'de Yerleşik Olan C2099W Mutasyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında 249 bp uzunluğunda amplifikasyon ürünü elde edildi. PCR ürünü Hae III restriksiyon enzimi ile kesildi. Hem yaban tip hem de mutant genotipe sahip olan bireyler enzim için tanıma bölgesine sahipti. Enzimle kesim sonrası oluşan ürün agaroz jele yüklenerek elektroforeze tabi tutuldu. Elektroforez sonrası jelin fotoğrafı çekildi. Enzim kesim ürünlerini jelde yürütülmesini takiben oluşan bantlar incelendiğinde yaban tip genotipe sahip olan bireylerde yaklaşık 230 + 19 bp büyüklükte bant izlendi. Heterozigot genotipe sahip bireylerde ise 184 + 46 + 19 bp büyüklüğünde üç bant izlendi (Şekil 8).

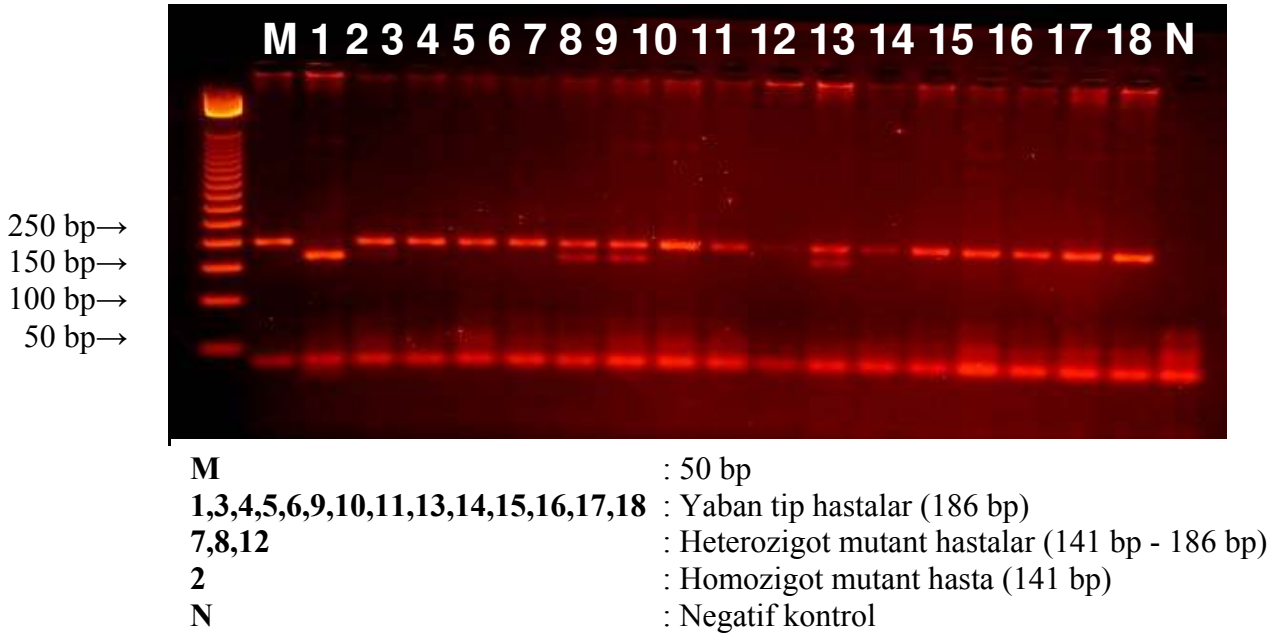


Şekil 8. Exon 50 (C2099W) fotoğrafı

Çalışmaya alınan 77 hasta ve 59 kontrol grubundaki çocukların tamamında yaban tip saptandı. Hardy-Weinberg yöntemiyle bu mutasyon açısından toplumdaki C alleli sıklığı % 100, W alleli sıklığı % 0 olarak hesaplandı.

İntron 52 (exon 52+128A/G) Polimorfizmi

Polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında 186 bp uzunluğunda amplifikasyon ürünü elde edildi. PCR ürünü Tai I restriksiyon enzimi ile kesildi. Sadece mutant tip genotipe sahip olan bireyler enzim için tanıma bölgesine sahipti. Enzimle kesim sonrası oluşan ürün agaroz jele yüklenerek elektroforeze tabi tutuldu. Elektroforez sonrası jelin fotoğrafı çekildi. Enzim kesim ürünlerinin jelde yürütülmesini takiben oluşan bantlar incelendiğinde; yaban tip genotipe sahip olan bireylerde 186 bp'lik bant görüldü. Mutant genotipe sahip olan bireylerde ise 141 + 45 bp büyüklükte iki adet bant izlendi (Şekil 9).



Şekil 9. İntron 52 (exon 52+128A/G) fotoğrafı

Çalışmada MVP grubundaki hastaların % 29.7'sinde, kardit grubundaki hastaların % 17.5'inde ve kontrol grubundaki çocukların % 16.4'ünde heterozigot genotip belirlenmiştir. Gruplar arasında intron 52 polimorfizmi açısından istatistiksel olarak fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). Hardy-Weinberg yöntemiyle exon 52+128A/G polimorfizmi açısından allel sıklıkları;

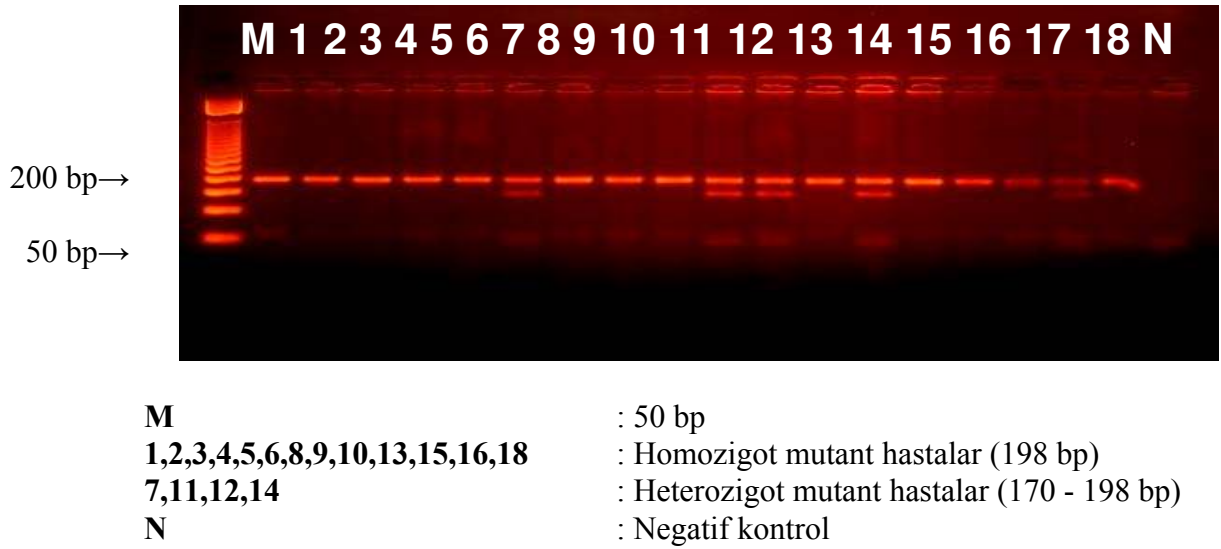
MVP grubunda A alleli % 85, G alleli % 15, kardit grubunda A alleli % 91, G alleli % 9, kontrol grubunda A alleli % 92, G alleli % 8 olarak bulunmuştur (Tablo IX).

Tablo IX. İntron 52 (exon 52+128A/G) polimorfizmi ve allelik sıklığı

Genotip	MVP grubu		Kardit grubu		Kontrol grubu		χ^2	p değeri
	n	%	n	%	n	%		
AA	26	70.3	33	82.5	56	83.6	1.657	0.198
AG	11	29.7	7	17.5	11	16.4		
GG	0	0	0	0	0	0		
A / G	0.85 / 0.15		0.91 / 0.09		0.92 / 0.08		0.112	0.738

İntron 56 (exon 56+17G>C) Polimorfizmi

Polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında 198 bp uzunluğunda amplifikasyon ürünü elde edildi. PCR ürünü Aci I restriksiyon enzimi ile kesildi. Sadece yaban genotipe sahip olan bireyler enzim için tanıma bölgesine sahipti. Enzimle kesim sonrası oluşan ürün agaroz jele yüklenerek elektroforeze tabi tutuldu. Elektroforez sonrası jelin fotoğrafı çekildi. Elektroforez sonrası oluşan bantlar incelendiğinde yaban tip genotipe sahip olan bireylerde 170 + 28 bp büyüklüğünde bir bant izlendi. Mutant genotipe sahip bireylerde ise kesim saptanmadı (Şekil 10).



Şekil 10. İntron 56 (exon 56+17G>C) fotoğrafı

Tablo X’da verildiği gibi, çalışmada MVP grubundaki hastaların % 43.2’sinde, kardit grubundaki hastaların % 47.5’inde ve kontrol grubundaki çocukların % 72.9’unda homozigot genotip belirlenmiştir. Sonuç olarak gruplar arasında intron 56 polimorfizmi açısından istatistiksel olarak fark saptanmıştır ($p = 0.001$). Hardy-Weinberg yöntemiyle exon 56+17G>C polimorfizmi açısından allel sıklıkları; MVP grubunda G alleli % 28, C alleli % 72, kardit grubunda G alleli % 26, C alleli % 74, kontrol grubunda G alleli % 14, C alleli

sıklığı % 86 olarak bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel açıdan fark saptanmıştır (p = 0.021).

Tablo X. İntron 56 (exon 56+17G>C) polimorfizmi ve allelik sıklığı

Genotip	MVP grubu		Kardit grubu		Kontrol grubu		χ^2	p değeri
	n	%	n	%	n	%		
GG	0	0	0	0	0	0	10.241	0.001
GC	21	56.8	21	52.5	16	27.1		
CC	16	43.2	19	47.5	43	72.9		
G / C	0.28 / 0.72		0.26 / 0.74		0.14 / 0.86		5.291	0.021

MVP Grubunun İntron 56 Polimorfizmi Açısından İncelenmesi

İntron 56 polimorfizmi anlamlı bulunduğu için, MVP₁ ve MVP₂ alt grupları kendi aralarında karşılaştırılmıştır (Tablo XI). MVP₁ alt grubundaki hastaların % 61.5'inde ve MVP₂ alt grubundaki hastaların % 45.5'inde heterozigot genotip belirlenmiştir. Bu alt gruplar arasında intron 56 polimorfizmi heterozigot genotipi açısından istatistiksel olarak fark saptanmamıştır (p = 0.475). Hardy-Weinberg yöntemiyle exon 56+17G>C polimorfizmi açısından allel sıklıkları; MVP₁ alt grubunda G alleli % 31, C alleli % 69 ve MVP₂ alt grubunda G alleli % 23, C alleli % 77 olarak bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır (p = 0.675).

Tablo XI. MVP grubunun intron 56 (exon 56+17G>C) polimorfizmi ve allelik sıklığının karşılaştırılması

Genotip	MVP ₁ alt grubu		MVP ₂ alt grubu		χ^2	p değeri
	n	%	n	%		
GG	0	0	0	0	0.793	0.475
GC	16	61.5	5	45.5		
CC	10	38.5	6	54.5		
G / C	0.31 / 0.69		0.23 / 0.77		0.176	0.675

Kardit Grubunun İntron 56 Polimorfizmi Açısından İncelenmesi

Kardit₁ ve kardit₂ alt grupları, intron 56 polimorfizmi açısından kendi aralarında karşılaştırılmıştır (Tablo XII). Kardit₁ alt grubundaki hastaların % 50'sinde ve kardit₂ alt grubundaki hastaların % 53.6'sında heterozigot genotip belirlenmiştir. Bu alt gruplar arasında intron 56 polimorfizmi heterozigot genotipi açısından istatistiksel fark bulunmamıştır (p = 1.000). Hardy-Weinberg yöntemiyle exon 56+17G>C polimorfizmi açısından allel sıklıkları; kardit₁ alt grubunda G alleli % 25, C alleli % 75 ve MVP₂ alt grubunda G alleli % 27, C alleli % 73 olarak bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel açıdan fark saptanmamıştır (p = 1.000).

Tablo XII. Kardit grubunun intron 56 (exon 56+17G>C) polimorfizmi ve allelik sıklığının karşılaştırılması

Genotip	Kardit ₁ alt grubu		Kardit ₂ alt grubu		χ^2	p değeri
	n	%	n	%		
GG	0	0	0	0	0.000	1.000
GC	6	50	15	53.6		
CC	6	50	13	46.4		
G / C	0.25 / 0.75		0.27 / 0.73		0.000	1.000

TARTIŞMA

Bu çalışmada, FBN1 geni intron 56 (exon 56+17G>C) polimorfizmi açısından değerlendirilerek, intron 56 heterozigot genotipi olan kişilerin mitral kapak hastalığı açısından daha fazla risk altında olduğu ve bu genotipte G alleli sıklığı arttıkça mitral kapak patoloji riskinin de arttığı bulunmuştur. İntron 56 homozigot ve heterozigot genotiplerinin MVP, kardit ve kontrol gruplardaki dağılımları Tablo X’da verilmiştir. Gruplardaki hastalar içerisinde intron 56 açısından yaban tip saptanmamıştır. Gruplar arasında intron 56 polimorfizmi açısından istatistiksel fark önemli bulunmuştur ($p = 0.001$). Kontrol grubunda intron 56 homozigot genotipi, hasta gruplarına göre, MVP ve kardit gruplarında ise intron 56 heterozigot genotipi, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak fazla saptanmıştır. Böylece intron 56 genotipi heterozigot olanlarda, mitral kapak bozukluğunun daha sık olduğu ve intron 56 homozigot genotipi olan kişilerin, mitral kapak hastalığı açısından, daha az risk altında olduğu görülmüştür. Hardy-Weinberg yöntemiyle intron 56 polimorfizmi açısından allel sıklıkları da Tablo X’da verilmiştir ve yapılan karşılaştırmada gruplar arasında istatistiksel açıdan fark saptanmıştır ($p = 0.021$). İntron 56 polimorfizminde G alleli sıklığı arttıkça mitral kapak patoloji riskinin de arttığı görülmüştür. İntron 56 ile ilgili olarak daha önce yapılmış tek bir çalışma bulunmaktadır ve o çalışmada da MFS ile intron 56 polimorfizmi arasında ilişki olduğu belirlenmiştir (65).

Literatürde MVP ile ilgili polimorfizm çalışmaları yerel ve oldukça sınırlıdır (17). Ayrıca ailesel MVP’deki OD kalıtıma ait genler ancak son yıllarda yapılan çalışmalarla belirlenebilmiştir (25,30). Ek olarak son yıllarda mitral kapak tutulumu yapan MFS’nin fenotipi ile genotipi arasında ilişki kurulmaya çalışılmış, FBN1 gen mutasyonları araştırılmış, fakat beklenen sonuçlar elde edilememiştir. Bu çalışmalarda bulunan tek farklı sonuç,

ölümcül seyreden neonatal MFS ile ilgili olmuştur. Neonatal MFS’de FBN1 mutasyonlarının exon 24-32 arasında yerleştiği kesinleşmiştir (11,24,50,51,66,75,76,80). Bu güncel yaklaşımlar nedeniyle çalışmamızda aşağıdaki değerlendirme yapılmıştır.

Çalışmamızda MVP₁ alt grubundaki 26 hastanın (idiyopatik MVP’li hastalar) tamamında, yapılan değerlendirme ve tetkikler sonucunda, MVP’ye neden olabilecek herhangi bir bozukluk saptanmamıştır. Tedavi başlanılan ve MVP₂ alt grubunda yer alan 11 hastanın, sekizine MFS, üçüne EDS tanıları konulmuştur. Bu şekilde idiyopatik MVP’li çocuklar (MVP₁ alt grubu) ile bağ doku bozukluğuna bağlı MVP’si olan hastalar (MVP₂ alt grubu) karşılaştırılmıştır (Tablo XI). Bu alt gruplar arasında intron 56 (exon 56+17G>C) polimorfizmi açısından istatistiksel olarak fark saptanmamıştır (p = 0.475). Hardy-Weinberg yöntemiyle intron 56 polimorfizmi açısından allel sıklıkları da gruplar arasında istatistiksel açıdan farklı bulunmamıştır (p = 0.675). Sonuçta mitral kapak bozukluğu olan hastalarda daha sık olduğu gösterilmiş olan intron 56 polimorfizmi heterozigot genotipinin, MVP’nin şiddeti veya bağ doku hastalıkları gibi altta yatan bozukluğu açısından farka neden olmadığı saptanmıştır. Özellikle MVP₂ alt grubundaki hasta sayısı kısıtlı olmasına rağmen, literatürde şimdiye kadar yapılmış benzeri bir çalışma olmadığı için, bu sonuç daha ileri çalışmaların gerekliliğini düşündürmektedir.

Romatizmal karditi olan çocukların mitral kapaklarında prolapsus oluşumunda, intron 56 polimorfizminin bir risk faktörü olup olmadığını ortaya koyabilmek amacıyla kardit₁ ve kardit₂ alt grupları kendi aralarında karşılaştırılmıştır (Tablo XII). Bu alt gruplar arasında intron 56 (exon 56+17G>C) polimorfizmi açısından istatistiksel olarak fark saptanmamıştır (p = 1.000). Hardy-Weinberg yöntemiyle, kardit alt grupları arasında yapılan değerlendirmede, intron 56’nın allel sıklıkları açısından istatistiksel olarak fark bulunmamıştır (p = 1.000). Şimdiye kadar yapılmış olan çalışmalarda, ARA’nın mitral kapak üzerine olan farklı

etkilerinde genetiğin rolü üzerinde durulmamıştır. Çalışmamızda grubumuz sınırlı olmasına rağmen, bu düşüncenin gelecekte daha ayrıntılı çalışmalar yapılmasına yol göstereceğine inanmaktayız.

Fibrillin-1 gen polimorfizmi açısından intron 52 (exon 52+128A/G) ile ilgili olarak daha önce yalnızca bir çalışma yapılmış ve MFS ile ilişkisi ortaya konulmuştur (81,102). Çalışmamızda yer alan hastaların intron 52 açısından yaban tip ve heterozigot genotipi Tablo IX'da verilmiştir. MVP ve kardit gruplarımız içerisinde homozigot genotipe rastlanmamıştır. Çalışmamızdaki hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında, intron 52 polimorfizminin heterozigot genotip sıklığı açısından istatistiksel farkının olmadığı görülmüştür ($p = 0.198$). Hardy-Weinberg yöntemiyle de intron 52 polimorfizmi açısından allel sıklıklarında fark saptanmamıştır ($p = 0.738$). Daha önce yapılmış olan çalışmada intron 52 ile MFS arasında ilişki ortaya konulmuş olmasına rağmen, çalışmamızda intron 52 polimorfizminin mitral kapak hastalığı açısından risk faktörü olmadığı sonucuna varılmıştır (102).

Çalışmamızda FBN1 gen polimorfizmi açısından exon 50'de yerleşik olan C2099W mutasyonu da değerlendirilmiştir. MVP grubunda yer alan 37 hasta, kardit grubundaki 40 hasta ve kontrol grubundaki 59 çocuğun tamamında, exon 50 açısından yaban tip saptanmıştır. Hardy-Weinberg yöntemiyle de, exon 50 polimorfizminin, çalışma popülasyonundaki C alleli sıklığı % 100 olarak bulunmuştur. Diğer bir deyişle, hasta ve sağlıklı çocuklardan oluşan tüm çalışma gruplarımızda, exon 50 heterozigot veya homozigot genotipe sahip olan birey yoktu. Daha önce yapılmış bir çalışmada exon 50 polimorfizmi ile MFS arasında ilişki bulunmuş olmasına rağmen, çalışmamızda MFS'li hastalar dahil tüm çocuklarda exon 50'nin heterozigot veya homozigot genotipine rastlanmamıştır (40). Bu nedenle mitral kapak bozuklukları açısından, exon 50 polimorfizminin önemli olmadığı sonucuna varılmıştır.

Mitral kapak kompleksi olarak adlandırılan annulus, leafletler, kommissürler, korda tendinealar ve papiller kaslar LV, LA ve aorta duvarını desteklemektedir. Bu yapılardan herhangi biri veya birkaçını etkileyen hastalıklar kapak kompleksinin fonksiyon bozukluğuna yol açmaktadır (1,27,28). Oldukça karmaşık bir yapıya sahip olan mitral kapak kompleksi bir çok hastalık veya bozukluktan etkilenmektedir. Çocukluk yaş grubunda bu hastalıklardan en sık karşılaşılanları MVP, RKH ile MFS ve EDS gibi kalıtsal bağ dokusu hastalıklarıdır (4,12,29,71).

Intrauterin hayatta, mitral kapağın farklılaşması ile göğüs boşluğu ve vertebralardaki kemik yapılarının oluşması, gebeliğin 5-6. haftalarında olmaktadır. Bu nedenle mitral kapak ile bağ dokusu bozukluklarının yakın ilişkide olduğu kabul edilmektedir (43,68). Ailesel MVP ve MFS'nin OD kalıtımla gelecek nesillere aktarılması nedeniyle, MVP'nin genetik incelemeleri, son yıllarda özellikle MFS üzerinden ("genetik fibrillinopatiler" veya "tip 1 fibrillinopatiler") yapılmaktadır (12,17,50,64,91,98). ARA'da ağır enflamasyon sonrasında olan değişiklikleri takiben mitral kapakta sıklıkla MVP gelişmektedir (4,42,54). Böylece bu hastalıkların klinik ve genetik düzeydeki yakınlıkları güncel araştırmalara ışık tutmaktadır.

Mitral kapak kompleksinin en sık görülen bozukluğu olan MVP, ilk olarak tanımlanmasından bu yana "Reid-Barlow's sendromu", "midsistolik klik-geç sistolik üfürüm sendromu", "floppy mitral kapak sendromu", "balon mitral kapak sendromu" ve "miksamatöz mitral kapak" olarak farklı isimlerle adlandırılmıştır. MVP, hastaların yarısından fazlasında idiyopatik ve sporadiktir. Bu hastalarda sadece mitral kapak leafletleri etkilenir ve miksomatöz dejenerasyon olur. Ailesel MVP'nin ise OD kalıtım ile aktarıldığı gösterilmiştir (12). İlk lokus kromozom 16p11.2-p.12.1 ve 2. lokus kromozom 11p15.4 olarak belirlenmiştir (25,30,91). Ayrıca XR kalıtımla aktarılan ve yeri kromozom Xq28'de belirlenen, "ciddi

miksomatöz valvüler distrofi” olarak adlandırılan farklı MVP formları da bildirilmiştir (46,91,98). Mitral kapak bozuklukları ile ilişkili bağ doku hastalıklarında, bağ doku proteinlerini kodlayan genlerde mutasyon olduğu bulunmuştur. Bu nedenle aynı genlerle MVP’nin ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir (91,98). Özellikle FBN1 gen mutasyonlarının, mitral kapak tutulumu sık olan MFS’ye yol açtığı bilindiği için, idiyopatik MVP’deki rolü, çeşitli ülkelerde yapılan yerel çalışmalarla araştırılmaktadır (1,16,17,50,62,91,98). Ayrıca bağ dokularında TGF- β disregülasyonunun MFS’deki MVP gelişiminde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir, bu nedenle de idiyopatik MVP dahil MVP’nin diğer formlarında bu sitokin etkili olabileceği tartışılmaktadır. TGF- β ’nın akciğerlerdeki aktivasyonu da yüksek olasılıkla FBN1 tarafından gerçekleştirilmektedir (14,64,98).

Marfan sendromu, kalp-damar sistemi tutulumu ön planda olan, OD geçişli bir bağ dokusu hastalığıdır (20). MFS hastalarının yaklaşık % 60-80’inde mitral kapak hastalığı olup çocuklarda aortanın tutulumundan önce ortaya çıktığı ve ilerleme gösterdiği bildirilmiştir (20,33,66,94). MFS’de 15. kromozom ile ilişkili FBN1 genini etkileyen 562 mutasyon bildirilmiştir. Bu mutasyonların yaklaşık 3/4’ünün kalıtsal olduğu gösterilmiştir (11,14,20,50,64,66,80). MFS’li hastaların yaklaşık % 80’inde Marfan fenotipinden FBN1 bozuklukları sorumlu tutulmasına rağmen, 3p24.2-p25’te yerleşmiş olan, TGF- β reseptör 2’deki inaktif mutasyonların da MFS’ye neden olduğu bilinmektedir (59,98). Ancak genotip-fenotip korelasyonun belirlenmesi ve aynı mutasyona sahip hastalardaki klinik farklılığın açıklanabilmesi oldukça zordur. Ayrıca Ghent kriterlerine göre MFS tanısı konulan hastalarda FBN1 genindeki mutasyon sıklığı yüksek bulunamamıştır (81). Özellikle aile hikayesi olmayan çocuklarda, ilk değerlendirmede sendromun tipik fenotipi de gelişmediği için, klinik incelemede MFS tanısını koymak oldukça güçtür. Halbuki hastanın yakınlarından birinde MFS’ye sebep olduğu bilinen bir mutasyon gösterilirse, bir sistemi tutan bir major bulgu ile

ikinci sistemin etkilenmesi tanı için yeterli olacaktır (22,49). Çocuklardaki bu tanı zorluğu göz önüne alındığında, genetik alanda ileri düzeyde çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Kollajen ve diğer bağ doku proteinlerinin sentez ve metabolizmasındaki bozukluklardan kaynaklanan EDS'nin, özellikle klasik tipinde, hastaların yaklaşık yarısında gen (özellikle kollajen genleri) mutasyonları gösterilmiştir (7,13,37,53,79). EDS'deki kalp tutulumunda, mitral kapak etkilenimi ve MVP, aortik genişlemeden daha sık görülmektedir. Nadir olan aortik genişleme çok az hastada ilerleyici olabilmektedir (7).

Marfan sendromu ve EDS dışında, kalp-damar sistemini etkileyen ve bağ doku bozukluğu olarak kabul edilen diğer hastalıklar; Williams sendromu (elastin mutasyonu ile ilişkili zihinsel gerilik, dismorfik yüz görünümü ve supralvuler aort darlığı), ailesel supralvuler aortik darlık (Williams sendromu ile ilgili gende mutasyon ve sadece kalp-damar sistemi tutulumu) ve osteogenezis imperfekta (kollajen geni mutasyonu sonucu iskelet ve damar sistemlerinin etkilenmesi)'dir (60,100). Tüm bu hastalıklar göz önüne alındığında, bağ doku bozuklukları ile ilişkili aortik ve mitral kapak etkilenimlerinin, temel olarak bağ doku proteinlerini kodlayan genlerden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (91,98).

Gelişmekte olan ülkelerde hala önemli bir sağlık problemi olan ARA, 5-30 yaş grubunda en sık görülen kalp hastalığı nedenidir. ARA'da en sık gözlenen kapak lezyonu olan MY; ventriküler genişleme, leaflet hareketliliğinde kısıtlanma, MVP ve/veya annuler genişleme sonucunda meydana gelmektedir (4,15,61). Son yıllarda EKO'nun yaygın kullanımı ve cerrahi bilgiler ile romatizmal MY'si olan hastalarda % 30-97 gibi yüksek oranlarda MVP olduğu gösterilmiştir. Böylece ARA'nın MVP'nin önemli bir sebebi olduğu açıktır (4,42,103). Genetik olarak bazı doku antiijenlerine sahip kişilerde ARA'ya yatkınlık olduğu bilinmektedir (4,99). Ancak günümüze kadar yapılan çalışmalarda, her hastada kalp tutulumunun olmaması ya da kalp tutulumu olanlarda sıklıkla mitral kapağın etkilenmesi veya

MY'si olan hastalarda korda rüptürü, MVP gibi farklı patolojilerin tespit edilmesi hakkında herhangi bir genetik temel bulunamamıştır.

Hücre dışı matriksin önemli bir parçası olan mikrofibrillerin çapı 10-14 nm'dir. Mikrofibriller temel olarak FBN'den oluşmaktadır. FBN polimerleri, birleşerek meydana getirdikleri mikrofibriller yapı sayesinde, elastik liflerin oluşmasına katkıda bulunmaktadırlar (50). En iyi bilinen ve 65'er exon içeren FBN'ler olan, FBN1 geni 15q21 ve FBN2 geni 5q23 kromozom tarafından kodlanmaktadır (24,39,40,50,57,66,75,80,81,84). FBN3 geni de 19p13.3 kromozom tarafından kodlanmakta olup diğer FBN genlerine benzer yapı göstermektedir. FBN genlerinin oluşumu embriyogenezis döneminde başlamaktadır (50). Mikrofibriller yapı ve işlevinin bütün hastalıkları FBN1 ve FBN2 genlerindeki mutasyonlar nedeniyle meydana gelmektedir. MFS'deki fenotip-genotip ilişkisi tam olarak anlaşılamamasına rağmen, FBN1 mutasyonlarının, baskın olarak mikrofibrillerin birleşmesini etkiledikleri düşünülmektedir. FBN1 mutasyonu ile MFS dışında, Marfan benzeri diğer hastalık fenotipleri de açığa çıkmaktadır. Ailesel MVP, ailesel torasik anevrizma/diseksiyon, MASS fenotipi, ailesel ektopik lens, ailesel araknodaktili, MFS ve neonatal MFS dahil FBN1 mutasyonu ile ortaya çıkan bu hastalıklar "genetik fibrillinopatiler" olarak adlandırılmaktadır (24,39,40,57,57,75,80). Bu hastalıklarda çok çeşitli mutasyonlar ile fenotip arasındaki ilişki yetersiz olup, kliniği hastaya özel başka risk faktörleri belirlemektedir. Genotip ile fenotip arasındaki zayıf korelasyona tek istisna, ölümcül seyreden neonatal MFS'dir. Neonatal MFS'deki FBN1 mutasyonları exon 24-32 arasında yer almaktadır (11,51,66,76,80).

Çalışmamızda yer alan hastaların cinsiyet dağılımlarının gruplar arasında birbirine benzediği görülmüştür (Tablo VII). Ancak MVP grubunda yer alan, MFS ve EDS hastaları çıkarılıp geriye kalan idiyopatik MVP'li çocuklar değerlendirildiğinde, kızların erkeklerden daha fazla olduğu görülmüştür (K/E: 17/9 = 1.88/1). Daha önceki bazı yayınlarda bu farklılık

gösterilememiştir, bu durum sadece M-mod EKO ile geçmiş yıllarda tanı konulması ve bayanlardaki meme dokusunun M-mod kayıtlarını etkileyerek kızlarda yalancı pozitif sonuçlara neden olmasına bağlanmıştır (32). Fakat günümüzde yapılan çalışmalarda, ayrıntılı ekokardiyografik incelemeye rağmen tanı alan kızların erkeklerden fazla olduğu gerçeği devam etmektedir. Çalışmamızda bulunduğu gibi, idiyopatik MVP'nin kızlarda daha sık karşılaşılan bir problem olması, daha önce yapılan çalışmaların çoğundaki sonuçlarla benzer olarak değerlendirilmiştir (10,12,17,17,34,38,78).

Kontrol grubu ile hasta grupları karşılaştırıldığında yaş açısından istatistiksel fark saptanmamıştır (Tablo VII). Ayrıca hastaların genetik incelemeleri ve karşılaştırılmalarında, yaş dağılımları genotipi etkilemediğinden önemli değildir (67,87).

Çalışmamızdaki MVP grubunda kardit grubuna oranla MVP, TVP ve aort kökü dilatasyonu, kardit grubunda ise MVP grubuna göre MY ve AY istatistiksel olarak fazla bulunmuştur (Tablo VIII). MVP grubunda görülen sekiz TVP'li çocuk, MFS tanısıyla takip edilen hastalardır. MFS'li hastalarımızın tamamında MVP görülmüş olup, iki hastada anterior leaflette MVP ve diğer altı hastada hem anterior, hem de posterior leaflette MVP bulunmuştur. Bu hastalardan biri hariç hepsinde MY saptanmıştır. MFS'li hastalarımızda MVP (% 100), MY (% 87.5) ve TVP (% 100)'nin literatüre oranla bu kadar sık olması, hastalarımızın fenotipik özellikleri belirginleştikten sonra tanı alması ve bu nedenle hastalara daha geç dönemde EKO yapılmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (20,94). Ayrıca MFS'li hastalarımızdan beşinde aort kökü dilatasyonu ve bunlardan da dört yaşında olan bir hastada AY bulunmuştur. MFS'de aortik tutulum mitral kapak etkileniminden daha geç ortaya çıktığı için hastalarımızdaki sıklığı (% 62.5) mitral kapak tutulumundan daha düşüktür ve bu literatürle uyumlu olarak değerlendirilmiştir (20,35,36,66,82,94). MFS'li çocuklarda nadiren görülen pulmoner arterde genişleme veya çeşitli arterlerde olabilen anevrizmalar çalışmaya

alınan hastalarımızda saptanmamıştır (20,66). Ancak hastalarımız bu problemlerin gelişme riski açısından da düzenli olarak takip edileceklerdir.

Çalışmada MVP grubunda yer alan ve EDS tanısı alan üç hastadan dört ve 15 yaşlarındaki iki hastada iki leafleti de ilgilendiren MVP ve MY, 11 yaşındaki diğer hastada anterior leaflette MVP bulunmuştur. Bu hastalardan 15 yaşındaki çocukta ek olarak aort kökü dilatasyonu ve AY tespit edilmiştir (Tablo VIII). Bu bulgular, literatürde belirtildiği gibi, EDS’de karşılaşılan kalp tutulumlarıdır (7,26,54,101). Çalışmada yer alan üç EDS’li hastamızda da kalp tutulumu bulunmuştur. Çalışmamızdaki sık kalp etkilenimi, literatürde de belirtildiği gibi, çocuklarda erişkinlere göre kalp yapılarının daha fazla gerilme kabiliyeti olmasıyla açıklanmaktadır (54). Ancak EDS’li hastalarımızın tanısı klinik fenotipik özellikleri ile konulmuştur ve ardından bu hastalara yapılan EKO ile kalp tutulumları belirlenmiştir. Çalışmamızda da görüldüğü gibi kalp tutulumunun belirti vermemesi, daha önce yapılan çalışmalarda, kalp tutulumunun klinik seyre etki etmemesi ve hastalarda belirgin şikayete yol açmaması ile açıklanmaktadır (26,69).

Çalışmadaki kardit grubunda % 95 sıklıkta MY ve % 52.5 oranında AY tespit edilmiştir. Hastalardan 19’unda MY ve AY birlikteliği (% 47.5), 19’unda MY (% 47.5) ve sadece ikisinde AY (% 5) bulunmuştur. Kapak tutulumlarına ait bu oranlar daha önce yapılan çalışmalarla benzer olarak değerlendirilmiştir (4,15,42,58,95,99,103). Son yıllarda EKO’nun yaygın kullanımı ve cerrahi bilgiler ile romatizmal karditli hastalarda % 30’un üzerinde MVP olduğu gösterilmiştir. Ayrıca ARA ülkemizde hala sık görülmektedir. Bu nedenle özellikle ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde ARA MVP’nin çok önemli bir sebebidir (4,42,103). ARA nedeniyle meydana gelen MVP’de sıklıkla anterior leaflet etkilenmektedir. Bu bilgilerle uyumlu olarak, kardit grubundaki hastalarımızın % 30’unda MVP tespit edilmiştir ve bu hastaların da çoğunda etkilenen leaflet anterior leaflet olmuştur (Tablo VIII).

Bizim çalışmamızda genel olarak mitral kapak hastalığı olan çocuklar ile değerlendirme yapılmasına rağmen, exon 50, intron 52 ve intron 56 polimorfizmleri ile MFS ilişkilerini gösteren üç çalışmadan farklı sonuçlar elde edilmiştir (39,40,65,81,102). Çalışmamızda exon 50 ve intron 52 ile mitral kapak hastalığı arasında ilişki bulunamamıştır. Ancak intron 56 ile mitral kapak hastalık riski açısından daha önce yapılmış olan çalışmadan tamamen zıt bir sonuca ulaşılmıştır (G alleli sıklığı arttıkça mitral kapak patoloji riski de artıyor, o halde intron 56 polimorfizmi mitral kapak patolojisi için koruyucu mu?). Sadece MFS fenotipi değerlendirilen üç çalışma ile hasta grupları oldukça heterojen olan bizim çalışmamızın bu şekilde karşılaştırılması yeterli görülmemektedir. Ancak bu sonuçlar her iki çalışma popülasyonunun ırk ve etnik özellikler açısından birbirinden tamamen farklı olması ile açıklanabilmektedir. Bu farklılıklar da göz önüne alınarak, çok daha fazla hastayı içeren çalışmalara ihtiyaç olduğu unutulmamalıdır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

- Çalışmamızda yaşları 3-18 yıl arasında değişen 72'si kız, 64'ü erkek 136 çocuk değerlendirilmiştir.
- Kontrol grubunda 59 (28 kız, 31 erkek), MVP grubunda 37 (21 kız, 16 erkek) ve kardit grubunda 40 (23 kız, 17 erkek) hasta yer almıştır.
- İdiyopatik MVP'nin, daha önce yapılan çalışmalarda gösterildiği gibi, kızlarda daha sık karşılaşılan bir problem olduğu bulunmuştur.
- Marfan sendromu olan hastalarımızın hemen tamamında MVP, MY ve TVP bulunmuştur. Bu patolojilerin literatüre oranla daha sık olması, fenotipik özellikleri belirginleştikten sonra MFS'li hastalarımıza tanı konulabilmesine ve yaşı ilerleyen bu çocuklarda kalp tutulumlarının yerleşmiş olmasına bağlanmıştır.
- Marfan sendromu olan hastalarımızda % 62.5 oranında aortik tutulum bulunmuştur. Hastalarımızdaki aort etkilenimi literatürle uyumlu olarak mitral kapak tutulumundan daha az bulunmuştur ve bu durum mitral kapak bozukluklarının çocukluk yaş grubunda ortaya çıkmasına bağlanmıştır.
- Marfan sendromu olan hastalarımızda kalp tutulumunun diğer bulguları saptanmamıştır.
- Literatürdeki gibi, EDS'li hastalarımızda kalp tutulumları MVP, MY, aort kökü genişlemesi ve AY olmuştur.
- Romatizmal karditli hastalarımızda % 47.5 oranında MY ve AY birlikteliği, % 47.5 oranında MY ve % 5 oranında AY bulunmuş olup bu değerler daha önceki yayınlarla benzerdir.
- Literatürle uyumlu olarak, kardit grubundaki hastalarımızın % 30'unda MVP tespit edilmiştir ve bu hastaların çoğunda anterior leaflet etkilenmiştir.

- Çalışmamızda MFS'li hastalar dahil hiçbir grupta exon 50'nin heterozigot veya homozigot genotipi bulunmamıştır.
- Çalışmamızda yer alan hastalarda, intron 52 polimorfizminin, mitral kapak hastalığı açısından risk faktörü olmadığı gösterilmiştir.
- Çalışmamızda, intron 56 homozigot genotipi olan kişilerin mitral kapak hastalığı açısından daha az risk altında olduğu ve intron 56 heterozigot genotipli çocuklarda mitral kapak bozukluğunun daha sık olduğu görülmüştür.
- Hastalarımızın intron 56 polimorfizminde G alleli sıklığı arttıkça mitral kapak patoloji riskinin de arttığı bulunmuştur.
- İtron 56 polimorfizminin, MVP'nin şiddeti veya etyolojisi açısından hastalarımız arasında farka neden olmadığı gösterilmiştir.
- Romatizmal karditi olan hastalarımız MVP varlığına göre iki gruba ayrılarak intron 56 polimorfizmi açısından karşılaştırıldığında sonuçların iki grupta da çok yakın olduğu bulunmuştur.
- Sonuç olarak bu çalışma, genetik çalışmaların ve FBN1 gen polimorfizminin, mitral kapak hastalıklarında ve özellikle romatizmal ateşteki mitral kapak tutulumunda daha büyük gruplarda araştırılması gerekliliğini göstermiştir.

ÖZET

FİBRİLLİN-1 GEN POLİMORFİZMİ VE MİTRAL KAPAK HASTALIĞI RİSKİ

GİRİŞ: Çocukluk çağında mitral kapak kompleksinin en sık bozuklukları; MVP (ailesel vakalarda OD kalıtım, MVP’de FBN geninin rolü hakkındaki çalışmalar sınırlıdır), RKH (mitral kapak endokardiyal tutulumun ilk hedefidir, fakat romatizmal karditte mitral kapağın farklı tutulumları hakkında genetik bilgi yoktur) ile MFS (OD kalıtım, kromozom 15’te FBN1 geninde mutasyon) ve EDS (kollajen gen mutasyonları) gibi bağ doku hastalıklarıdır. FBN mitral kapakta bulunan elastin ilişkili mikrofibrillerin yapısal birleşenlerinden biridir.

AMAÇ: Bu vaka-kontrol çalışmasında, FBN1 gen polimorfizmi ve mitral kapak hastalığı riski arasında olan ilişkinin araştırılması ile hastalardaki genotip-fenotip korelasyonunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Klinik değerlendirme ve EKO ile tanı konulan MVP’li 17 hasta, RKH’lı 40 hasta veyaş ve cinsiyet olarak karşılaştırılmış 59 normal çocuk çalışmaya alınmıştır. FBN1’de exon 50, intron 52 ve intron 56 polimorfizmleri restriksiyon analizli PCR tekniğiyle değerlendirilmiştir.

SONUÇLAR: FBN1 intron 56 genotip dağılımında ($p = 0.001$) ve allelik sıklıkta ($p = 0.021$) hastalar ile kontrol grubu arasında, sağlıklı çocuklar lehine, belirgin farklılık bulunmuştur. FBN1 exon 50 ile intron 52 polimorfizminin genotip dağılımı ve allelik sıklığı ($p = 0.198$ ve 0.738) açısından hastalar ile kontrol grubundaki çocuklar arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir. Mitral kapak hastalığı hafif/orta şiddette olan hastalar ile ağır kapak etkilenimi olan hastalar arasında, FBN1 exon 50, intron 52 veya intron 56 polimorfizmleri açısından, genotip-fenotip korelasyonu bulunmamıştır.

TARTIŞMA: Mitral kapak patolojisi olan hastalarda (MVP, bağ doku hastalıkları veya RKH) FBN1 intron 56 GC genotipi daha sık saptanmıştır. Sağlıklı çocuklarda ise FBN1 intron 56 CC genotipi daha sık bulunmuştur. FBN1 intron 56 G allel sıklığı arttıkça mitral kapak hastalık riskinin de arttığını ileri sürmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Mitral kapak hastalığı, fibrillin-1, mitral kapak prolapsusu

İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)

FIBRILLIN-1 GENE POLYMORPHISM AND RISK OF MITRAL VALVE DISEASE

BACKGROUND: MVP (OD pattern for familiar cases, the role of FBN genetic variant in the MVP has locally been studied), rheumatic carditis (the mitral valve is the primary focus of endocardial involvement, but genetic data isn't found about different involvements of mitral valve in the rheumatic carditis), and connective tissue diseases such as MFS (OD pattern, mutation in the FBN1 gene on chromosome 15) and EDS (mutations in collagen gene), the most common anomalies of the mitral valve apparatus throughout childhood. FBN is one of the structural components of the elastin-associated microfibrils found in the mitral valve.

AIM: A case-controlled study has performed to investigate the relationship between FBN1 gene polymorphisms and risk of mitral valve disease and evaluate of genotype and phenotype correlation in the patients.

METHODS: Thirtyseven patients with MVP, 40 patients with rheumatic carditis diagnosed by clinically evaluation and echocardiography and 59 age- and sex-matched normal controls were studied. Polymorphisms of exon 50, intron 52 and 56 of the FBN1 were identified by PCR-based restriction analysis.

RESULTS: There was significant difference in the distribution of FBN1 intron 56 genotypes ($p = 0.001$) and allelic frequency ($p = 0.021$) between the cases and controls in favor of healthy children. A significant difference was not seen in genotype distribution or allelic frequency between the cases and controls for neither FBN1 exon 50 polymorphism nor intron 52 polymorphism ($p = 0.198$ and 0.738 , respectively). There was not genotype and phenotype correlation between mild/moderate cases and severe cases with mitral valve disease for FBN1 exon 50, intron 52 or intron 56 polymorphisms.

CONCLUSION: Patients with mitral valve disease (MVP, connective tissue diseases or rheumatic carditis) have higher frequencies of FBN1 intron 56 GC genotypes. Healthy children have higher frequencies of FBN1 intron 56 CC genotypes. We speculate that the higher frequency FBN1 intron 56 G allele, the more increase in the risk of mitral valve disease.

Key words: Mitral valve disease, fibrillin-1, mitral valve prolapse

KAYNAKLAR

1. Ackermann DM, Edwards WD: Anatomic basis for tomographic analysis of the pediatric heart at autopsy. *Perspect Pediatr Pathol* 12: 44-68, 1988
2. Akhtar S, Meek KM, James V: Ultrastructure abnormalities in proteoglycans, collagen fibrils, and elastic fibers in normal and myxomatous mitral valve chordae tendineae. *Cardiovasc Pathol* 8: 191-201, 1999
3. Alpert MA, Carney RJ, Flaker GC, Sanfelippo JF, Webel RR, Kelly DL: Sensitivity and specificity of two-dimensional echocardiographic signs of mitral valve prolapse. *Am J Cardiol* 54: 792-796, 1984
4. Ayaoub EM: Acute rheumatic fever: Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children, and Adolescents (including the fetus and young adult). Altıncı baskı. İkinci cilt. Allen HD, Gutgesell HP, Clark EB, Driscoll DJ (eds) Williams & Wilkins, Baltimore 2000, S. 1226-1241
5. Badelon O: Congenital dislocation of the hip in Ehlers-Danlos syndrome. *Clin Orthop* 255: 138-143, 1990
6. Barlow JB, Bosman CK: Aneurysmal protrusion of the posterior leaflet of the mitral valve: An auscultatory-electrocardiographic syndrome. *Am Heart J* 71: 166-178, 1966
7. Beighton P, De Paepe A, Steinmann B, Tsipouras P, Wenstrup RJ : Ehlers-Danlos syndromes: Revised nosology, Villefranche, 1997. Ehlers-Danlos National Foundation (USA) and Ehlers-Danlos Support Group (UK). *Am J Med Genet* 77: 31-37, 1998
8. Beighton P: The Ehlers-Danlos syndrome: McKusick's Heritable Disorders of Connective Tissue. Beşinci baskı. Beighton P (ed) Mosby, St. Louis 1993, S. 189-251

9. Bhutto ZR, Barron JT, Liebson PR, Uretz EF, Parrillo JE: Electrocardiographic abnormalities in mitral valve prolapse. *Am J Cardiol* 70: 265-266, 1992
10. Bisset GS 3rd, Schwartz DC, Meyer RA, James FW, Kaplan S: Clinical spectrum and long-term follow-up of isolated mitral valve prolapse in 119 children. *Circulation* 62(2): 423-429, 1980
11. Boileau C, Jondeau G, Mizuguchi T, Matsumoto N: Molecular genetics of Marfan syndrome. *Curr Opin Cardiol* 20: 194-200, 2005
12. Boudoulas H, Wooley CF: The floppy mitral valve, mitral valve prolapse, and mitral valvular regurgitation: Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children, and Adolescents (including the fetus and young adult). Altıncı baskı. İkinci cilt. Allen HD, Gutgesell HP, Clark EB, Driscoll DJ (eds) Williams & Wilkins, Baltimore 2000, S. 947-969
13. Burrows NP: The molecular genetics of the Ehlers-Danlos syndrome. *Clin Exp Dermatol* 24(2): 99-106, 1999
14. Byers PH: Determination of the molecular basis of Marfan syndrome: a growth industry. *J Clin Invest* 114(2): 161-163, 2004
15. Carapetis JR, McDonald M, Wilson NJ: Acute rheumatic fever. *Lancet* 366: 155–168, 2005
16. Chou HT, Chen YT, Wu JY, Tsai FJ: Association between urokinase-plasminogen activator gene T4065C polymorphism and risk of mitral valve prolapse. *Int J Cardiol* 96(2): 165-170, 2004
17. Chou HT, Shi YR, Hsu Y, Tsai FJ: Association between fibrillin-1 gene exon 15 and 27 polymorphisms and risk of mitral valve prolapse. *J Heart Valve Dis* 12(4): 475-481, 2003

18. Danische dermatologische Gesellschaft: 15. Sitzung vom 15. Dezember 1900. *Dermatol Z* 8: 173-175, 1901
19. Danlos M : Un cas de cutis laxa avec tumeurs par contusion chronique des coudes et des genoux. *Bull Soc Fr Dermatol Syphiligr* 19: 70-72, 1908
20. Dean JCS: Management of Marfan syndrome. *Heart* 88: 97-103, 2002
21. De Paepe A, Devereux RB, Dietz HC, Hennekam RCM, Pyeritz RE: Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome. *Am J Med Genet* 62(4): 417-426, 1996
22. Desposito F, Cho S, Frias JL, Sherman J: Health supervision for children with Marfan syndrome. American Academy of Pediatrics Committee on Genetics. *Pediatrics* 98(5): 978-982, 1996
23. Devereux RB, Kramer-Fox R, Kligfield P: Mitral valve prolapse: causes, clinical manifestations, and management. *Ann Intern Med* 111(4): 305-317, 1989
24. Dietz HC, Pyeritz RE: Mutations in the human gene for fibrillin-1 (FBN1) in the Marfan syndrome and related disorders. *Hum Mol Genet* 4(1): 1799-1809, 1995
25. Disse S, Abergel E, Berrebi A, Houot AM, Le Heuzey JY, Diebold B, Guize L, Carpentier A, Corvol P, Jeunemaitre X: Mapping of a first locus for autosomal dominant myxomatous mitral valve prolapse to chromosome 16p11.2-p12.1. *Am J Hum Genet* 65(5): 1242-1251, 1999
26. Dolan AL, Mishra MB, Chambers JB, Grahame R: Clinical and echocardiographic survey of the Ehlers-Danlos syndrome. *Br J Rheumatol* 36(4): 459-462, 1997
27. Edwards WD: Applied anatomy of the heart: Cardiology Fundamentals and Practise. İkinci baskı. Giuliani ER, Fuster V, Gersh BJ (eds) Mosby-year Book 1991, S. 47-112
28. Edwards WD: Cardiac anatomy and examination of cardiac specimens: Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children, and Adolescents (including the fetus and

- young adult). Altıncı baskı. Birinci cilt. Allen HD, Gutgesell HP, Clark EB, Driscoll DJ (eds) Williams & Wilkins, Baltimore 2000, S. 80-117
29. Eisenberg MJ: Rheumatic heart disease in the developing world: prevalence, prevention, and control. *Eur Heart J* 14(1): 122-128, 1993
 30. Freed LA, Acierno JS Jr, Dai D, Leyne M, Marshall JE, Nesta F, Levine RA, Slaugenhaupt SA: A locus for autosomal dominant mitral valve prolapse on chromosome 11p15.4. *Am J Hum Genet* 72(6): 1551-1559, 2003
 31. Freed LA, Benjamin EJ, Levy D, Larson MG, Evans JC, Fuller DL, Lehman B, Levine RA: Mitral valve prolapse in the general population: the benign nature of echocardiographic features in the Framingham Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 40(7): 1298-1304, 2002
 32. Freed LA, Levy D, Levine RA, Larson MG, Evans JC, Fuller DL, Lehman B, Benjamin EJ : Prevalence and clinical outcome of mitral valve prolapse. *N Eng J Med* 341(1): 1-7, 1999
 33. Gillinov AM, Zehr KJ, Redmond JM, Gott VL, Deitz HC, Reitz BA, Laschinger JC, Cameron DE: Cardiac operations in children with Marfan's syndrome: indications and results. *Ann Thorac Surg* 64(4): 1140-1145, 1997
 34. Greenwood RD: Mitral valve prolapse: incidence and clinical course in a pediatric population. *Clin Pediatr (Phila)* 23(6): 318-320, 1984
 35. Groenink M, Lohuis TAJ, Tijssen JGP, Naeff MSJ, Hennekam RCM, van der Wall EE, Mulder BJ: Survival and complication free survival in Marfan's syndrome: implications of the current guidelines. *Heart* 82(4): 499-504, 1999
 36. Groenink M, Rozendaal L, Naeff MSJ, Hennekam RCM, Hart AA, van der Wall EE, Mulder BJ: Marfan syndrome in children and adolescents: predictive and prognostic

- value of aortic root growth for screening for aortic complications. *Heart* 80(2): 163-169, 1998
37. Hamel BCJ: Ehlers-Danlos syndrome. *Neth J Med* 62(5): 140-142, 2004
 38. Hayek E, Gring CN, Griffin BP: Mitral valve prolapse. *Lancet* 365: 507-518, 2005
 39. Hayward C, Brock DJH: Fibrillin-1 mutations in Marfan syndrome and other type-1 fibrillinopathies. *Hum Mutat* 10: 415-423, 1997
 40. Hayward C, Porteous ME, Brock DJH: Mutation screening of all 65 exons of the fibrillin-1 gene in 60 patients with Marfan syndrome: report of 12 novel mutations. *Hum Mutat* 10: 280-289, 1997
 41. Jacobs W, Chamoun A, Stouffer GA: Mitral valve prolapse: a review of the literature. *Am J Med Sci* 321(6): 401-410, 2001
 42. Kalangos A, Beghetti M, Vala D, Jaeggi E, Kaya G, Karpuz V, Murith N, Faidutti B: Anterior mitral leaflet prolapse as a primary cause of pure rheumatic mitral insufficiency. *Ann Thorac Surg* 69(3): 755-761, 2000
 43. Kitzman DW, Edwards WD: Minireview: Age-related changes in the anatomy of the normal human heart. *J Gerontol Med Sci* 45: 33-39, 1990
 44. Kula S, Olgunturk R, Ozdemir O: Two unusual presentations of acute rheumatic fever. *Cardiol Young* 15(5): 514-516, 2005
 45. Kula S, Saygili A, Tunaoglu FS, Olgunturk R. Acute poststreptococcal glomerulonephritis and acute rheumatic fever in the same patient: a case report and review of the literature. *Anadolu Kardiyol Derg* 3: 272–274, 2003
 46. Kumar PD: Is mitral valve prolapse a manifestation of adolescent growth spurt? *Medical Hypotheses* 54(2): 189-192, 2000

47. Kyndt F, Schott JJ, Trochu JN, Baranger F, Herbert O, Scott V, Fressinaud E, David A, Moisan JP, Bouhour JB, Le Marec H, Benichou B. Mapping of X-linked myxomatous valvular dystrophy to chromosome Xq28. *Am J Hum Genet* 62(3): 627-632, 1998
48. Lind J, Wallenburg HCS: The Marfan syndrome and pregnancy: a retrospective study in a Dutch population. *Eur J Obstet Gynaecol Reprod Biol* 98: 28–35, 2001
49. Lipscomb KJ, Clayton-Smith J, Harris R: Evolving phenotype of Marfan's syndrome. *Arch Dis Child* 76: 41-46, 1997
50. Loeys BL, Matthys DM, De Paepe AM: Genetic fibrillinopathies: New insights in molecular diagnosis and clinical management. *Acta Clinica Belgica* 58(1): 233-241, 2002
51. Loeys BL, Nuytinck L, Deivaux I, De Bie S, De Paepe A: Genotype and phenotype analysis of the 171 patients referred for molecular study of the fibrillin-1 gene *FBN1* because of suspected Marfan syndrome. *Arch Intern Med* 161(20): 2447-2454, 2001
52. Malcolm AD: Mitral valve prolapse associated with other disorders: casual coincidence, common link, or fundamental genetic disturbance? *Br Heart J* 53: 353-362, 1985
53. Malfait F, De Paepe A: Molecular genetics in classic Ehlers-Danlos syndrome. *Am J Med Genet Part C (Semin Med Genet)* 139C: 17-23, 2005
54. Marcus RH, Sareli P, Pocock WA, Meyer TE, Magalhaes MP, Grieve T, Antunes MJ, Barlow JB: Functional anatomy of severe mitral regurgitation in active rheumatic carditis. *Am J Cardiol* 63(9): 577-584, 1986

55. McDonnell NB, Gorman BL, Mandel KW, Schurman SH, Assanah-Carroll A, Mayer SA, Najjar SS, Francomano CA: Echocardiographic findings in classical and hypermobile Ehlers-Danlos syndromes. *Am J Med Genet* 140(2): 129-136, 2006
56. Mechleb BK, Kasasbeh ES, Iskandar SB, Schoondyke JW, Garcia ID: Mitral valve prolapse: relationship of echocardiography characteristics to natural history. *Echocardiography* 23(5): 434-437, 2006
57. Milewicz DM, Michael K, Fisher N, Coselli JS, Markello T, Biddinger A. Fibrillin-1 (FBN1) mutations in patients with thoracic aortic aneurysms. *Circulation* 94(11): 2708-2711, 1996
58. Minich LL, Tani LY, Pagotto LT, Shaddy RE, Veasy LG: Doppler echocardiography distinguishes between physiologic and pathologic “silent” mitral regurgitation in patients with rheumatic fever. *Clin Cardiol* 20(11): 924-926, 1997
59. Mizuguchi T, Collod-Beroud G, Akiyama T, Abifadel M, Harada N, Morisaki T, Allard D, Varret M, Claustres M, Morisaki H, Ihara M, Kinoshita A, Yoshiura K, Junien C, Kajii T, Jondeau G, Ohta T, Kishino T, Furukawa Y, Nakamura Y, Niikawa N, Boileau C, Matsumoto N: Heterozygous TGFBR2 mutations in Marfan syndrome. *Nat Genet* 36(8): 855-860, 2004
60. Morris CA: Genetic aspects of supraaortic stenosis. *Curr Opin Cardiol* 13: 214-219, 1998
61. Narula J, Chandrasekhar Y, Rahimtoola S: Diagnosis of active rheumatic carditis: the echoes of change. *Circulation* 100: 1576-1581, 1999
62. Nascimento R, Freitas A, Teixeira F, Pereira D, Cardoso A, Dinis M, Mendonca I: Is mitral valve prolapse a congenital or acquired disease? *Am J Cardiol* 79(2): 226-227, 1997

63. Nasuti JF, Zhang PJ, Feldman MD, Pasha T, Khurana JS, Gorman JH 3rd, Gorman RC, Narula J, Narula N: Fibrillin and other matrix proteins in mitral valve prolapse syndrome. *Ann Thorac Surg* 77(2): 532-536, 2004
64. Ng CM, Cheng A, Myers LA, Martinez-Murillo F, Jie C, Bedja D, Gabrielson KL, Hausladen JM, Mecham RP, Judge DP, Dietz HC: TGF- β -dependent pathogenesis of mitral valve prolapse in a mouse model of Marfan syndrome. *J Clin Invest* 114(11): 1586-1592, 2004
65. Nijbroek G, Sood S, McIntosh I, Francomano CA, Bull E, Pereira L, Ramirez F, Pyeritz RE, Dietz HC: Fifteen novel FBN1 mutations causing Marfan syndrome detected by heteroduplex analysis of genomic amplicons. *Am J Hum Genet* 57(1): 8-21, 1995
66. Nollen GJ, Mulder BJM: What is new in the Marfan syndrome? *Int J Cardiol* 97(1): 103-108, 2004
67. Nussbaum RL, Mcinnes RR, Willard HFW: *Genetics in Medicine*. Altıncı baskı. Pennsylvania 2001, S. 87-90
68. O'Rourke RA: The syndrome of mitral valve prolapse: Valvular Heart Disease. Albert JA (ed) Lippincott-Raven, New York 1999, S. 157-182
69. Oderich GS, Panneton JM, Bower TC, Lindor NM, Cherry KJ, Noel AA, Kalra M, Sullivan T, Gloviczki P: The spectrum, management and clinical outcome of Ehlers-Danlos syndrome type IV: A 30-year experience. *J Vasc Surg* 42(1): 98-106, 2005
70. Olgunturk R, Canter B, Tunaoglu FS, Kula S: Review of 609 patients with rheumatic fever in terms of revised and updated Jones criteria. *Int J Cardiol* 112(1): 91-98, 2006
71. Olgunturk R, Aydın GB, Tunaoglu FS: Rheumatic heart disease prevalence among school children in Ankara, Turkey. *Turk J Pediatr* 41: 201-206, 1999

72. Olgunturk FR, Tunaoglu FS, Gumus H, Beyazova U, Turkeyilmaz C: Diffuse arterial aneurysms in a case of Ehlers-Danlos syndrome--a case report. *Angiology* 44(11): 909-913, 1993
73. Ormiston JA, Shah PM, Tei C, Wong M: Size and motion of the mitral valve annulus in man. I. A two-dimensional echocardiographic method and findings in normal subjects. *Circulation* 64(1): 113-120, 1981
74. Pellerin D, Brecker S, Veyrot C: Degenerative mitral valve disease with emphasis on mitral valve prolapse. *Heart* 88(Suppl IV): 20-28, 2002
75. Pepe G, Giusti B, Evangelisti L, Porciani MC: Fibrillin-1 (FBN1) gene frameshift mutations in Marfan patients: genotype-phenotype correlation. *Clin Genet* 59: 444-450, 2001
76. Pepe G, Giusti B, Attanasio M, Comeglio P: A major involvement of the cardiovascular system in patients affected by Marfan syndrome: novel mutations in fibrillin 1 gene. *J Mol Cell Cardiol* 29: 1877-1884, 1997
77. Pepin M, Schwarze U, Superti-Furga A, Byers PH: Clinical and genetic features of Ehlers-Danlos syndrome type IV, the vascular type. *N Eng J Med* 342(10): 673-680, 2000
78. Playford D, Weyman AE: Mitral valve prolapse: time for a fresh look. *Rev Cardiovasc Med* 2(2): 73-81, 2001
79. Pyeritz RE: Ehlers-Danlos syndrome. *N Eng J Med* 342(10): 730-732, 2000
80. Robinson PN, Arteaga-Solis E, Baldock C, Collod-Bérout G, Booms P, De Paepe A, Dietz HC, Guo G, Handford PA, Judge DP, Kielty CM, Loeys B, Milewicz DM, Ney A, Ramirez F, Reinhardt DP, Tiedemann K, Whiteman P, Godfrey M: The molecular

- genetics of Marfan syndrome and related disorders. *J Med Genet* 43(10): 769-787, 2006
81. Rommel K, Karck M, Haverich A, Schmidtke J, Arslan-Kirchner M: Mutation screening of the fibrillin-1 (FBN1) gene in 76 unrelated patients with Marfan syndrome or marfanoid features leads to the identification of 11 novel and three previously reported mutations. *Hum Mutat* 20(5): 406-407, 2002
 82. Rozendaal L, Groenink M, Naeff MSJ, Hennekam RCM, Hart AA, van der Wall EE, Mulder BJ: Marfan syndrome in children and adolescents: an adjusted nomogram for screening aortic root dilatation. *Heart* 79(1): 69-72, 1998
 83. Schalkwijk J, Zweers MC, Steijlen PM, Dean WB, Taylor G, van Vlijmen IM, van Haren B, Miller WL, Bristow J: A recessive form of the Ehlers-Danlos syndrome caused by tenascin-X deficiency. *N Engl J Med* 345(16): 1167-1175, 2001
 84. Schrijver I, Liu W, Odom R, Brenn T, Oefner P, Furthmayr H, Francke U: Premature termination mutations in FBN1: distinct effects on differential allelic expression and on protein and clinical phenotypes. *Am J Hum Genet* 71(2): 223-237, 2002
 85. Seliem MA, Duffy CE, Gidding SS, Berdusis K, Benson DW Jr: Echocardiographic evaluation of the aortic root and mitral valve in children and adolescents with isolated pectus excavatum: comparison with Marfan patients. *Pediatr Cardiol* 13(1): 20-23, 1992
 86. Singh RG, Cappucci R, Kramer-Fox R, Roman MJ, Kligfield P, Borer JS, Hochreiter C, Isom OW, Devereux RB: Severe mitral regurgitation due to mitral valve prolapse: risk factors for development, progression, and need for mitral valve surgery. *Am J Cardiol* 85(2): 193-198, 2000

87. Strachan T, Read AP: Human Molecular Genetics. İkinci baskı. Bath press, Bath 1999, S. 119
88. Summers KM, West JA, Peterson MM, Stark D, McGill JJ, West MJ: Challenges in the diagnosis of Marfan syndrome. Med J Aust 184(12): 627-631, 2006
89. Tamam L, Ozpoyraz N, Bozkurt MS: Association between idiopathic mitral valve prolapse and panic disorder. Croat Med J 41(4): 410-416, 2000
90. Toren P, Eldar S, Cendorf D, Wolmer L: The prevalence of mitral valve prolapse in children with anxiety disorders. Journal of Psychiatric Research 33: 357-361, 1999
91. Towbin JA: Toward an understanding of the cause of mitral valve prolapse. Am J Hum Genet 65: 1238-1241, 1999
92. Treasure T: Cardiovascular surgery for Marfan syndrome. Heart 84: 674-678, 2000
93. Tschernogobow AN: Cutis laxa (presentation at the First Meeting of the Moscow Dermatological and Venereologic Society, November 13, 1891). Mscht Prakt Derm 14: 76, 1892
94. van Karnebeek CDM, Naeff MSJ, Mulder BJM, Hennekam RCM, Offringa M: Natural history of cardiovascular manifestations in Marfan syndrome. Arch Dis Child 84(2): 129-137, 2001
95. Vasan RS, Shrivastava S, Vijayakumar M, Narang R, Lister BC, Narula J: Echocardiographic evaluation of patients with acute rheumatic fever and rheumatic carditis. Circulation 94(1): 73-82, 1996
96. Veasy LG, Tani LY, Hill HR: Persistence of acute rheumatic fever in the intermountain area of the United States. J Pediatr 125: 673-674, 1994

97. Veasy LG, Wiedmeier SE, Orsmond GS, Ruttenberg HD, Boucek MM, Roth SJ, Tait VF, Thompson JA, Daly JA, Kaplan EL: Resurgence of acute rheumatic fever in the intermountain area of the United States. *N Eng J Med* 316(8): 421-427, 1987
98. Weyman AE, Scherrer-Crosbie M: Marfan syndrome and mitral valve prolapse. *J Clin Invest* 114(11): 1543-1546, 2004
99. WHO: Rheumatic Fever and Rheumatic Heart Disease. WHO technical report series 923, 2004
100. Willing MC, Deschenes SP, Scott DA, Byers PH, Slayton RL, Pitts SH, Arikat H, Roberts EJ: Osteogenesis imperfecta type I: molecular heterogeneity for COL1A1 null alleles of type I collagen. *Am J Hum Genet* 55(4): 638-647, 1994
101. Yen JL, Lin SP, Chen MR, Niu DM: Clinical features of Ehlers-Danlos syndrome. *J Formos Med Assoc* 105(6): 475-480, 2006
102. Yuan B, Thomas JP, von Kodolitsch Y, Pyeritz RE: Comparison of heteroduplex analysis, direct sequencing, and enzyme mismatch cleavage for detecting mutations in a large gene, FBN1. *Hum Mutat* 14: 440-446, 1999
103. Zhou L, Lu K: Inflammatory valvular prolapse produced by acute rheumatic carditis: echocardiographic analysis of 66 cases of acute rheumatic carditis. *Int J Cardiol* 58: 175-178, 1997
104. Zimmerman KG, Paplanus SH, Dong S, Nagle RB: Congenital blood cysts of the heart valves. *Hum Pathol* 14(8): 699-703, 1983