



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**İDİYOPATİK DİLATE KARDİYOMİYOPATİLİ
ÇOCUKLARDA PLAZMADA MİKRO RNA
PROFİLLEMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr.M. Enes Coşkun**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet KERVANCIOĞLU**

Mayıs 2012

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**İDİYOPATİK DİLATE KARDİYOMİYOPATİLİ
ÇOCUKLARDA PLAZMADA MİKRO RNA
PROFİLLEMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.M. Enes Coşkun

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet KERVANCIOĞLU**

Mayıs 2012

I. ÖNSÖZ

Uzun ve yorucu çalışmanın ardından tezin başlangıcına yazdığımız bu cümleleler bir önsözden çok sonsözdürler. Ortaya çıkardığımız bu bilimsel ve sanatsal eserler belki de yeryüzünde kalıcı birşeyler bırakmak adına içimizdeki ölümsüzlük duygusunun yansımalarıdır. Tabiki her eserde birçok kişinin emeği vardır. Bir birey yetiştirmek ise dünyada gerçekleştirilmesi en zor eserlerden biri olarak kabul edilebilir. Bu bağlamda bütün hayatım boyunca bilgi, destek, ilgi ve şefkatlerini benden esirgemeyen canım anneme ve babama en derin duygularıyla teşekkür ediyorum. Evimizin en önemli neşe kaynağı, sıcacık kişiliğiyle uzakta olduğu zamanlarda bile en zor anlarımda desteğini esirgemeyen biricik kardeşim Rana'ya da teşekkürü bir borç bilirim.

O olmasa bu tez olmazdı diyebileceğim, sevgi dolu kişiliğiyle bu yorucu süreçte daima yanımda olan, tıkağım noktalarla kıvrak zekasıyla çözüm yolları bulan, sıkıntıları hafifleten ve sevinçlerimin kaynağı olan, tanışmamızı hayatımda başıma gelen en güzel şey olarak nitelendirdiğim hayat arkadaşım Fatma'ya yürekten sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışmamın başından sonuna kadar her aşamasında eşsiz katkıları olan ve çalışmayı yöneten değerli hocam Prof.Dr.Mehmet Kervancıoğlu'na özellikle çok teşekkür ediyorum.

Gece gündüz demeden bütün sorularımı yanıtlayan, bana motivasyon ve ilham veren, çalışmada son derece büyük katkıları olan, çalışmanın omurgasının mimarına değerli ağabeyimiz Yrd. Doç. Dr. Serdar Öztuzcu'ya ve genetik bölümünün bütün öğretim üyelerine teşekkür ederim.

İşin mutfak kısmında büyük emeği olan Esma Özkara'ya ve onun nezdinde bütün genetik laboratuvarı çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Pediatric eğitimimde katkıları olan başta bölüm başkanımız Prof. Dr. Ayşe Balat'a ve beraberinde değerli hocalarıma teşekkür ediyorum. Aynı zamanda deniz aşırı bize destek veren değerli hocamız Kahraman Tanrıverdi'ye de çok teşekkür ederim. Ayrıca verilerin istatistiksel analizindeki katkılarından dolayı değerli hocamız Yrd. Doç Dr. Seval Kul'a da teşekkür ediyorum.

Değerli çalışma arkadaşlarımdan öncelikle bütün pediatri asistanlarına, pediatri hemşirelerine, sekreterlerine ve personellerine en içten duygularıyla teşekkür ediyorum.

Çalışmanın finansal boyutunu gerçekleştiren bilimsel araştırmalar projeler komisyon üyelerine ve kurul çalışanlarına teşekkür ediyorum. Bu bağlamda üniversitemizin bilimsel platformda dünya çapında sözü geçen bir kurum olma yolunda önayıcı ve destekleyici olan, bu amaçla bilimsel faaliyetlere özel ve büyük bir ilgi gösteren değerli rektörümüz sayın Prof. Dr. M. Yavuz Coşkun'a özellikle teşekkür ederim.

Dr. M. Enes Coşkun

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ.....	I
II. İÇİNDEKİLER.....	II
III. ÖZET.....	III
IV. ABSTRACT	IV
V. KISALTMALAR.....	V
VI. TABLOLAR LİSTESİ.....	VI
VII. ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 KARDİYOMİYOPATİLER.....	3
2.1.1 Dilate Kardiyomiyopati.....	5
2.1.1.1 Epidemiyoloji	5
2.1.1.2 Etiyoloji	5
2.1.1.2.1 Otozomal Dominant Dilate Kardiyomiyopati	6
2.1.1.2.2 X'e bağlı Dilate Kardiyomiyopati	7
2.1.1.2.3 Sekonder Dilate Kardiyomiyopati Nedenleri	8
2.1.1.2.3.1 Miyokarditler.....	8
2.1.1.2.3.2 Diğer Dilate Kardiyomiyopati Nedenleri	9
2.1.1.3 Patofizyoloji.....	9
2.1.1.4 Klinik Özellikler	10
2.1.1.5 Tanı Testleri.....	10
2.1.1.6 Tedavi	11
2.2 MİKRO RNA.....	13
2.2.1 Mikro RNA ve Kalp	14
2.2.2 Serumda mikro RNA.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1 ÇALIŞMA GRUPLARI	17
3.2 EKOKARDİYOGRAFİK ÇALIŞMA	17
3.3 KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI VE SAKLANMASI.....	18
3.4 ÖRNEKLERİN MOLEKÜLER ÇALIŞMASI VE VERİ ANALİZİ	18
3.5 İSTATİSTİKSEL YÖNTEM	21
4. BULGULAR	22
5. TARTIŞMA	28
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	33
7. KAYNAKLAR.....	34

III. ÖZET

İdiyopatik Dilate Kardiyomiyopati Çocuklarda Plazmada mikro RNA Profillemesi

Dr. M. Enes Coşkun

Uzmanlık Tezi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet KERVANCIOĞLU

Mayıs-2012, 51 Sayfa

Giriş ve Amaç: Dilate kardiyomiyopati (DKMP) çocukluk çağında en sık görülen kardiyomiyopati tipidir. Büyük kısmının etyolojisi ise idiyopatiktir. MikroRNA'lar (miRNA) proteinlerin sentezinin regülasyonunda rol alan hem hücre içinde hem de dolaşımda bulunabilen RNA'lardır. Bu çalışma çocukluk çağındaki DKMP hastalarının plazmadaki miRNA ekspresyonlarını sağlıklı çocuklarınkilerle kıyaslayarak çocukluk çağı DKMP'si için plazmada bir biyomarker belirleyebilmek amacıyla yapıldı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya Ocak-Eylül 2011 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniklerine başvuran 23 DKMP'li hasta ve 26 sağlıklı çocuk alındı. Bütün çocukların ekokardiyografik ölçümleri yapıldı. Kan örnekleri alınıp plazmalarındaki 379 tane miRNA'nın ekspresyon seviyeleri RT-PCR yöntemiyle araştırıldı. miRNA ekspresyon seviyeleri DKMP ve kontrol grubu arasında kıyaslandı.

Bulgular: Çalışma gruplarında bakılan 379 miRNA'dan 4 tanesinde tam ekspresyon tespit edildi. Ekspresyonu bütün çalışma gruplarında toplam %20'nin üstünde olan 35 miRNA'dan 12 tanesinin ekspresyonunda DKMP ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. DKMP grubunda kontrol grubuna kıyasla miR-518f, miR-454'ün ekspresyon seviyelerinde artma ve miR-618, miR-857-3p, miR-205, miR-194, miR-302a, miR-147, miR-544, hsa-miR-99b, miR-155, miR-218'in ekspresyon seviyelerinde azalma tespit edildi ($p<0,05$).

Sonuç: miR-618, miR-857-3p ve miR-205 çalışmada kontrol grubuna kıyasla DKMP grubunda anlamlı fark bulunan ve ekspresyonu en fazla tespit edilen miRNA'lardır. Bu veriler daha sonra bu konuda yapılacak çalışmalar için seçilecek miRNA havuzunun belirlenmesinde ve araştırma sonuçlarının yorumlanmasında faydalı olacaktır.

Anahtar kelimeler: dilate kardiyomiyopati, mikroRNA

IV. ABSTRACT

Micro RNA Profiling Study in Plasma of Children with Idiopathic Dilated Cardiomyopathy

Dr. M. Enes Coşkun

Recidency Thesis, Department of Pediatrics

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet KERVANCIOĞLU

May-2012, 51 Pages

Introduction and Aim: Dilated cardiomyopathy (DCMP) is the commonest cardiomyopathy in children, and most of its etiology is idiopathic. Micro RNAs have a role in the regulation of protein synthesis. They are found both in cells and circulation. In this study we aimed to define a biomarker for childhood DCMP by comparing the plasma expression levels of microRNAs between children with DCMP and controls.

Materials and Methods: This study was performed on 23 children with DCMP and 26 healthy children who were admitted to pediatric outpatient clinic of University of Gaziantep between January and September 2011. Echocardiographic measurements of all children were done. Blood samples were taken, and expression levels of 379 microRNAs were searched in each plasma. The miRNA expression levels of DCMP group and control group were compared.

Results: Four miRNAs out of 379, which were studied, showed complete expression in all children. The expression levels of 12 miRNAs out of 35 whose expression levels were higher than %20 in whole study group (DCMP and control groups) were significantly different in the DCMP group compared to the controls. The expression levels of miR-518f and miR-454 were higher, and miR-618, miR-857-3p, miR-205, miR-194, miR-302a, miR-147, miR-544, hsa-miR-99b, miR-155, miR-218 were lower in the DCMP group compared to the controls.

Conclusion: This study showed that miR-618, miR-875-3p, and miR-205 are miRNAs that show expression the most, and are significantly different in the DCMP group compared to the controls. These findings could be useful for further studies in determining the miRNA pool and in interpretation of resultant data.

Keywords: dilated cardiomyopathy, microRNA,

V. KISALTMALAR

ASVKMP	: Aritmojenik Sağ Ventrikül Kardiyomiyopatisi
AUC	: Area Under Curve (Eğri altında kalan alan)
cDNA	: Siklik DNA
CK	: Kreatin Kinaz
CMV	: Sitomegalovirus
Ct	: Cycle of treshold
DKMP	: Dilate Kardiyomiyopati
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EBV	: Ebstein Bar Virüs
EF	: Ejeksiyon Fraksiyonu
FS	: Fraksiyonel shortening (kısılma)
HKMP	: Hipertrofik Kardiyomiyopati
LVIDD	: Sol ventrikül diastol sonu çapı
LVIDS	: Sol ventrikül sistol sonu çapı
MI	: Miyokard Enfarktüsü
miRNA	: Mikro RNA
mRNA	: Mesenger RNA
PCR	: Polimeraz Chain Reaksiyon
RISC	: RNA induced silencing complex
RNA	: Ribonükleik asit
ROC	: receiver operating characteristic

VI. TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Kardiyomiyopatilerin Etiyolojisi ve Sınıflandırması.....	4
Tablo 2. Kromozom Lokasyonuna göre Dilate Kardiyomiyopatinin Genetik Nedenleri	6
Tablo 3. Miyokarditin Yaygın Sebepleri	8
Tablo 4. Çalışılan miRNA Listesi.....	19
Tablo 5. Yaş Dağılımları.....	22
Tablo 6. Gruplar Arası Cinsiyet Dağılımı.....	22
Tablo 7. DKMP Grubuyla Kontrol Grubu EKO Ölçümleri Karşılaştırması.....	23
Tablo 8. DKMP Grubunun İlk Tanı Anındaki EKO Ölçümleri.....	23
Tablo 9. Hasta ve Kontrol Gruplarında Ekspresyon Yüzdesine Göre miRNA Sıralaması	24
Tablo 10. Ekspresyonu Anlamlı Azalan miRNA'ların Eksp. Yüzdesine göre Sıralaması	25
Tablo 11. Ekspresyonu Anlamlı Artan miRNA'ların Eksp. Yüzdesine göre Sıralaması.....	25

VII. ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1	Anlamlı Ekspresyon farkı Gösteren miRNA'ların “fold change” Değerine göre Grafiği	25
---------	---	----

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İdiyopatik dilate kardiyomiyopati, (DKMP) miyokard fonksiyon bozukluğuna yol açabilecek herhangi bir sistemik hastalık, koroner arter hastalığı, konjenital veya valvüler hastalık olmaksızın ventriküllerin dilatasyonuna eşlik eden sistolik fonksiyon bozukluğu ve kalp yetmezliğiyle seyreden bir hastalıktır. DKMP çocukluk çağında en sık görülen kalp kası hastalığıdır (1). DKMP'li hastalarda miyokardiyal hasara yol açabilecek çok çeşitli sebepler gösterilmekle birlikte hastaların büyük çoğunluğunda etyoloji saptanamamaktadır.

Mikro RNA'lar (miRNA); genlerle kodlanan, reglatuvar özellikleri bulunan, yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda küçük RNA'lardır. Genellikle gen ekspresyonunun negatif regülatörü olarak bilinirler. Bu fonksiyonlarını ilgili mRNA'nın tamamlayıcı bölgesine bağlanarak translasyon inhibisyonu ve/veya mRNA yıkımını artırarak gerçekleştirirler (2-5). Farelerde yapılan çalışmalar kalbin gelişiminde mikro RNA'ların çok önemli rolleri olduğunu göstermiştir. Chen ve arkadaşları (6) farelerde kalp dokusunda bütün mikro RNA'ların üretimi için gerekli olan bir endonükleazı (dicer) delesyona uğratmışlar ve farelerde ciddi DKMP ve kalp yetmezliğine bağlı ölüm gözlemişlerdir. Thum ve arkadaşları (7) DKMP'ye ikincil kalp yetmezliği nedeniyle kalp transplantasyonu planlanan hastaların kalp dokularındaki miRNA düzeyleriyle sağlıklı kalplerinkini kıyaslamışlar ve miR-129, miR-212 gibi miRNA düzeylerinde artma; miR-182, miR-107 gibi mikro RNA düzeylerinde düşme tespit etmişlerdir. Liu ve arkadaşları (8) farelerde yaptıkları çalışmada miR-133a'eksikliğinin DKMP'ye yol açtığını göstermişlerdir.

2008 yılında Lawrie ve arkadaşları (9) tarafından yapılan bir çalışmada mikro RNA'lar B hücreli bir lenfoma için yeni bir biyomarker olarak tanıtılmıştır. Chen ve arkadaşları (10) küçük hücre dışı akciğer kanseri, kolorektal kanser ve tip 2 diyabetli hastaların serum mikro RNA profillerinin sağlıklı insanlarınkilerden anlamlı farklılıklar gösterdiğini tespit etmiştir. Başka bir çalışma da D'Alessandra ve arkadaşları (11) tarafından yapılmıştır; bu çalışmada da kas dokusunda çok bulunduğu tespit edilen miR-1, miR-133a, miR-133b ve miR-499-5p gibi mikro RNA'ların plazma seviyelerinin akut

miyokard enfarktüsü olan insanlarda ve deneysel fare modellerinde arttığını tespit etmişlerdir.

Mikro RNA profillemeye çalışmaları daha çok kanserler üzerine yapılmaktadır fakat birçok hastalık için bu profillemeye çalışmaları sürmektedir. Mikro RNA'lar yeni birer biyomarker olarak düşünülmektedir. Mikro RNA'lar fizyolojik olarak genetik bilginin ekspresyonunda posttranslasyonel aşamada görev alan önemli RNA'lardır. Patolojik durumlarda ise bazılarının seviyelerinde değişimler tespit edilmiştir. Mikro RNA'ların dokulardaki düzeylerinin yanı sıra dolaşımdaki tiplerinin ve düzeylerinin de farklılık gösterdiği çalışmalarda tespit edilmiştir. Mikro RNA'ların kalp embriyogenez ve hastalıkları üzerinde etkisi olduğu yapılan doku çalışmalarında gösterilmiştir. İdiyopatik DKMP'de mikro RNA lardaki değişimler doku düzeyindeki çalışmalarda gösterilmiştir fakat dolaşımdaki mikro RNA düzeyleriyle ilgili bir çalışma mevcut değildir. İdiyopatik DKMP'li hastalarda miyokard doku örnekleme ciddi riskler taşıyan bir tanısal yöntemdir. Mikro RNA profillemeye çalışmasının miyokard dokusunda yapılması hastalığın doğası hakkında plazmadan yapılacak bir çalışmaya göre daha fazla bilgi verecektir; fakat bu hemodinamisi zaten stabil olmayan DKMP'li çocuklarda son derece riskli bir işlemdir, dolayısıyla rutin uygulanabilecek pratik bir yöntem olarak düşünülemez. Böylece serumda yapacağımız bir profillemeye çalışması idiyopatik DKMP'nin etyopatogenezi ve aktif hastalık durumundaki genetik bilginin işlenmesiyle ilgili değişiklikler açısından önemli bir fikir verecektir. Aynı zamanda bu çalışmadan elde edilecek bilgiler ilgili hastalık için bir biyomarker geliştirilmesi açısından da önemli bir veri sağlayacaktır. Gelecekte miRNA benzeri moleküller kullanarak ya da miRNA baskılayıcı moleküller (antagomir) kullanılarak hastalıkların tedavisi sağlanabilecektir (12,13). Bütün bu çalışmaların yapılabilmesi için her hastalık için bir kimlik kartı özelliğindeki mikro RNA profillemeye çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Bu bilgilerden yola çıkarak idiyopatik DKMP 'li çocukların plazma mikro RNA düzeyleriyle sağlıklı çocukların plazma mikro RNA düzeylerini karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kardiyomiyopatiler

Kardiyomiyopatiler heterojen bir grup hastalıktır. Kardiyomiyopatiler kalp kasını tutan, kalp boşluklarında ve duvar kalınlıklarında değişikliklerle veya fonksiyonel kontraktile bozukluklarıyla seyreden hastalıklardır. Genellikle sadece sistolik olmak üzere diyastolik bozukluğun da eşlik edebildiği; koroner arter hastalığı, hipertansiyon, valvuler hastalık veya konjenital kalp hastalığının olmadığı durumlarda görülen kalp kası hastalığıdır (14).

Kardiyomiyopatiler primer ve sekonder olarak öncelikle ikiye ayrılırlar. Primer kardiyomiyopatiler genellikle sadece kalp kasını tutan veya ağırlıklı olarak tutan, genetik, genetik olmayan veya kazanılmış nedenleri olan hastalıklardır. Sekonder kardiyomiyopatiler ise sistemik hastalık veya çoklu organ hasarı sonucunda oluşan kalp hasarı hastalıklarıdır (15).

Kardiyomiyopatiler morfolojik ve patofizyolojik olarak dilate, hipertrofik, restriktif ve aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi olmak üzere 4 gruba ayrılırlar (16). Bu sınıflamalara uymayan kardiyomiyopatiler ise sınıflandırılmayanlar grubunda yer alırlar. Bu sınıflamada kardiyomiyopatiler bütün olarak ailesel ve ailesel olmayan nedenler olarak iki grupta değerlendirilirler. (Tablo 1)

Tablo 1. Kardiyomiyopatilerin Etiyolojisi ve Sınıflandırması

Hipertrofik Kardiyomiyopati (HKMP)	Dilate Kardiyomiyopati (DKMP)	Aritmojenik Sağ Ventrikül Kardiyomiyopatisi (ASVKMP)	Restriktif Kardiyomiyopati (RKM)	Sınıflandırılmamış
ÂİLESEL OLMAYAN				
Obezite Diyabetik anne çocuğu Atletik antrenman Amiloid (aL/prealbumin)	Myokardit (enfektif toksik/immün) Kawasaki hastalığı Eosinofili (Churg-Strauss sendromu) Viral İlaçlar Gebelik Endokrin Nutrisyonel Tiamin, karnitin, selenyum, hipofosfatem, hipokalsemi Alkol Taşikardiyomiyopati	İnflamasyon?	Amiloid (aL/prealbumin) Skleroderma Endomiyokardiyal fibrosis Hipereuzinofilik sendrom İdiyopatik Kromozomal nedenler İlaçlar: serotonin, metiserjid, er-gotamin, mercuriyel ajanlar, busulfan İlaçlar: antrasiklinler Karsinoid kalp hastalığı Metastatik kanser Radyasyon tedavisi	Tako-tsubo kardiomyopati
ÂİLESEL				
Ailesel, bilinmeyen gen Sarkomerik protein hastalığı β-Miyozinyozin ağır zincir Kardiyak miyozin bağlayan protein C Cardiac troponin I Troponin-t α-tropomyozin Essansiyel miyozin hafif zincir Regulatuar miyozin hafif zincir Kardiyak aktin α-Miyozin ağır zincir Titin Troponin C Kas LIM protein Glikojen depo hastalığı (örn: GSD II [pompe hastalığı]; GSD III [Forbes hastalığı], aMp kinaz [WpW, HCM, iletim hastalığı]) Danon hastalığı Lizozomal depo hastalıkları (Örn: Anderson-Fabry hastalığı, Hurler sendromu) Yağ asit metabolizması bozuklukları Karnitin eksikliği Fosforilaz B kinaz eksikliği Mitokondriyal Sitopatiler (örn: MeLaS, MerFF, LhON) Sendromik HKMP Noonan's sendromu LEOPARD sendromu Friedreich's ataksisi Beckwith-Wiedemann sendromu Swyer's sendromu (saf gonadal disgenезis) Diğerleri Fosfolamban promoter Ailesel amiloid	Ailesel, bilinmeyen gen Sarkomerik protein mutasyonları (HKMP'ye bakınız) Zbandı ZASPP Kas LIM protein TCAP Sitoskelatal genler Distrofin Desmin Metavinkulin Sarkoglikan kompleks CRYAB Epikardin Nükleer membran Lamin a/C emerin Hafif dilate KMP Interkalat disk protein mutasyonları (ARVKMP'ye bakınız) Mitokondriyal sitopati	Ailesel, bilinmeyen gen Interkalat disk protein mutasyonları Plakoglobin Desmoplakin Plakofilin 2 Desmoglein 2 Desmocollin 2 Kardiyak ryanodine receptor (RyR2) Transforming growth factor-β3 (tGFβ3)	Ailesel, bilinmeyen gen Sarkomerik protein mutasyonları Troponin I (rCM ± hCM) Essansiyel miyozin hafif zincir Familial amyloidosis Transthyretin (rCM + nöropati) Apolipoprotein (rCM + nefropati) Desminopati Pseudoksantoma elasticum Hemakromatozis Anderson-Fabry hastalığı Glikojen depo hastalığı	Sol ventrikül non-compaction Barth sendromu Lamin A/C ZASP α-Dystrobrevin
Elliott P, Andersson B, Arbustini E, et al: Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. Eur Heart J 2008;29:270–276.				

2.1.1 Dilate Kardiyomiyopati

Dilate kardiyomiyopati (DKMP), koroner arter hastalığı, valvuler hastalık veya perikardiyal hastalık olmadığı bir durumda sol ventrikül veya her iki ventrikülün sistolik fonksiyon bozukluğuyla sonuçlanan miyokardiyal hastalık olarak tanımlanır (16). Birçok sistemik ve kardiyak hastalık sol ventrikül dilatasyonu ve kontraktilitede bozulmayla seyredebilir fakat birçok hastada belirli bir neden bulunamaz (17).

2.1.1.1 Epidemiyoloji

Genel popülasyondaki prevalansı halen bilinmemektedir (18). Bu hastalık herhangi bir yaş, cinsiyet veya etnik köken ayırt etmeksizin görülebilir (15,19-21). DKMP çocukluk çağının en sık görülen kardiyomiyopatisidir, tüm vakaların yaklaşık 3/5' ni oluşturur (22,23). DKMP'nin çocuklardaki yıllık insidansı 0,57/100000' dir (19). Erkek ve kız çocuklar yaklaşık olarak eşit etkilenirken konjenital metabolik hastalıklara ve nöromusküler hastalıklara bağlı gelişen DKMP'ler de hesaba katıldığında erkek insidansında artış görülmektedir (100 000 olguda 0,66 ile 0,47 $p \leq 0,006$)(19). DKMP vakalarının çoğu 1 yaş altında görülmektedir ancak; altta yatan nöromusküler hastalığa bağlı olanlarda adolesan dönemde hastalık ortaya çıkmaktadır (19).

2.1.1.2 Etiyoloji

Etiyolojide konjenital metabolik hastalılardan nöromusküler hastalıklara kadar bir çok hastalık yer alabilir. Fakat çocukların 3'de 2'sinde hastalık idiyopatiktir (19). DKMP'li bireylerin üçte birinde hastalık ailesel geçiş gösterir, birinci derece akraba en az bir birey etkilenmiştir (24). Bu bilgilere binayen dilate kardiyomiyopatiler genel olarak öncelikle ailesel ve ailesel olmayan şeklinde ikiye ayrılarak değerlendirilir. Ailesel geçişli DKMP'ler vakaların %30 - 48'inde tespit edilmiştir, büyük çoğunluğu otozomal dominant paternde olmak üzere X'e bağlı, otozomal resessif ve mitokondrial geçişli formlar da görülür (25). Ailesel geçişli olmayan grup içerisinde miyokarditler (infektif, toksik veya immün nedenli), Kawasaki hastalığı, diğer vaskülitler, ilaçlar, gebelik, endokrin nedenler, nutrisyonel nedenler, alkol ve taşikardiyomiyopatiler yer almaktadır.

2.1.1.2.1 Otozomal Dominant Dilate Kardiyomiyopati

Otozomal dominant kalıtım vakaların yaklaşık 1/4' ünde görülür (26). Otozomal dominant DKMP'ler, izole DKMP ve kardiyak iletim sistemi bozukluğunun eşlik ettiği DKMP olmak üzere iki ana şekilde görülürler. Birçok vakada hücre iskeleti (sitoskelatal) ve sarkomerik proteinlerde sorunlar görülmektedir. İzole DKMP'de sitoskelatal protein genlerinden δ -sarkoglikan, β -sarkoglikan, desmin, ve sarkomerik protein genlerinden α -kardiyak aktin, troponin T, β -myosin ağır zincir, troponin C, α -tropomiyosin tespit edilmiştir (27-34). İzole veya iletim sistemiyle birlikte olan DKMP'ler ayırım yapılmadan değerlendirildiğinde sitoskelatal olarak distrofin, lamin A/C, metavinkulin, sarkomerik protein genlerinden troponin T ve yeni bir sarkomerik gen grubu olarak; Z-disk proteinlerini kodlayan ZASP, muscle-LIM (lin11, isl-1, and mec-3) protein, α -aktinin-2, myopallidin, kardiyak anikyrin repeat protein ve telethonin sayılabilir (32,35-47). Bunlarla birlikte phospholamban, tafazzin, ve sodyum-kanal geni SCN5A'de bildirilen tespit edilen genler arasında sayılabilir (Tablo 2) (18,48- 50).

Tablo 2. Kromozom Lokasyonuna göre Dilate Kardiyomiyopatinin Genetik Nedenleri

Kromozom	Gen	Protein	Protein lokasyonu
Xp21.2	DMD	Distrofin	Sitoskeleton/SL
Xq28	G4.5	Tafazzin	Fosfolipit
1q12	TNNI1	Kardiyak troponin I	Sarkomer
1q32	TNNT2	Kardiyak troponin tip 2	Sarkomer
2q31	TTN	Titin	Sarkomer
2q35	DES	Desmin	Sitoskeleton
5q34	SGCD	δ -sarcoglycan	Sitoskeleton/SL
6q12-q16	CMD1K	Bilinmiyor	Bilinmiyor
6q22.1	PLN	Fosfolamban	Kalsiyum
9q13-q22	CMD1B	Bilinmiyor	Bilinmiyor
9q22-q31	SEMA4D	Bilinmiyor	Bilinmiyor
10q22.1	MYPN	Myopalladin	Sarkomer
10q22.3-23.2	ZASP/Cypher (LDB3)	LIM domain binding protein 3	Sarkomer
1q42-q43	α 2-actinin	ACTN	Sarkomer
10q22.1-q23	VCL	Metavinculin	Sitoskeleton
10q23.22	ANKRD1	CARP	Sarkomer
10q25.3	RBM20	RNA binding motif protein 20	Bilinmiyor
11p11.2	MYBPC3	Myosin binding protein C	Sarkomer
11p15.1	CSRP3	Muscle-LIM protein	Sarkomer
14q11.2-q13	MYH7	β -myosin heavy chain	Sarkomer
15q11-q14	ACTC1	Kardiyak aktin	Sarkomer
15q22.1	TPM1	α -tropomyosin	Sarkomer

2.1.1.2.2 X'e bağı Dilate Kardiyomiyopati

Ailesel DKMP'lerin yirmide biri X' e bağı kalıtım gösterir (19,51-53). Kuzey Amerikada yapılan bir çalışmaya göre nöromüsküler bozukluklar DKMP olgularının ¼'nü oluşturmaktadır ve bunların 9/10'unda da Duchenne, Becker, and Emery-Dreifuss müsküler distrofi tespit edilmiştir (19). X'e bağı kalıtım gösteren DKMP'lerin iki tanesinin karakteristik özellikleri bulunmaktadır. Bir tanesi adolesanlarda ve genç erişkinlerde görülür diğeri ise çocuklarda ve bebeklerde görülür ve Barth sendromu olarak adlandırılır. 1987 yılında Berko ve Swift (54) ikinci ve üçüncü dekatta erkeklerde görülen kalp yetmezliğinden ölüme doğru hızlı ilerleyen X'e bağı DKMP tanımladılar. Yine aynı çalışmada hastaların serumlarında artmış kreatin kinaz seviyeleri tespit edildi ve kadın taşıyıcılarda (annelerde) beşinci dekatta görülen hafif-orta derecede, yavaş seyirli DKMP tespit edildi (54). Towbin ve arkadaşları (52) ilk defa bu klinik bulgulara yol açan hastalıkla ilişkili geni ve distrofin proteinindeki fonksiyonel bozukluğu tespit ettiler. Yaptıkları çalışmada kalpte distrofin proteinin azaldığını veya yokluğunu gösterdiler. Bu bulgular daha sonra Muntoni ve arkadaşları (53) tarafında da doğrulandı. Sonuç olarak bu durum distrofin genindeki bozukluktan ileri gelir, X'e bağı geçiş gösterir fakat Duchenne veya Becker müsküler distrofisindeki klinik bulgu veya semptomlar görülmez, kız taşıyıcılarda ise DKMP beşinci dekatta gelişir, hastalığın seyri daha yavaştır (55).

X'e bağı geçiş gösteren diğ bir DKMP'de Barth sendromudur. Barth sendromu erkek yenidoğanlarda veya küçük süt çocuklarında görülen DKMP skelatal miyopati, nötropeni ve 3-methylgutakonik asidüri ile karakterize, tafazzin proteinini kodlayan G4.5 genindeki mutasyondan kaynaklanan bir hastalıktır (56-,58). Çocukların bir kısmı süt çocukluğu döneminde ağır kalp yetmezliği, sepsis veya ani ölüm nedeniyle kaybedilse de büyük çoğunluğu süt çocukluğu dönemini geçirirler fakat DKMP'leri devam eder. G4.5 genideki mutasyonlar aynı zamanda izole DKMP'ye veya Barth sendromun diğ bulgularıyla birlikte veya olmaksızın endokardiyal fibroelastozis ve sol ventrikül non-compaction'a yol açabilir (59).

2.1.1.2.3 Sekonder Dilate Kardiyomiyopati Nedenleri

2.1.1.2.3.1 Miyokarditler

Miyokardit terimi ilk olarak 19. yüzyılda valvüler bozukluk olmayan miyokardiyal hastalıklar için kullanılmışsa da günümüzde miyokardiyal inflamasyonu ifade eder (60,61). Miyokarditlerin birçok enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan nedenleri mevcuttur. Miyokarditler olgu bazlı çalışmalarda 1/6 ila 1/3 oranında değişmekle birlikte DKMP'lerin önemli nedenleri arasında yer almaktadır (19,62). Miyokarditler enfeksiyöz, immün aracılıklı ve toksik olarak üç ana grupta sınıflandırılabilir. (Tablo 3)

Tablo 3. Miyokarditin Yaygın Sebepleri

Enfeksiyöz		İmmün aracılıklı		Toksik
Viral	Adenovirus Coxsackievirus Hepatits C virusü human immunodeficiency virus	Otoantijenler	Churg-Strauss sendromu İnflamatuvar barsak hastalığı Dev hücre miyokarditi Diabetes mellitus	Antrasiklinler Kokain Interleukin-2 Etanol Ağır metaller
Bakteriyel Fungal	Mycobacteria Streptococcus sp. Mycoplasma pneumoniae Treponema pallidum Aspergillus Candida Coccidioides Cryptococcus Histoplasma	Hipersensitivite	Sarkoidoz Sistemik lupus eritematosus Tirotoksikoz Takayasu arteriti Wegener's granulomatozisi Sulfonimidler Sefalosporinler Diuretikler Trisiklik antidepresanlar Dobutamin	
Protozoal	<i>Trypanosoma cruzi</i>			
Parazitik	Schistosomiasis Larva migrans			
Feldman AM, McNamara D: Myocarditis. N Engl J Med 2000;343:1388–1398; and Magnani JW, Dec GW: Myocarditis: Current trends in diagnosis and treatment. Circulation 2006;113:876–990.				

Miyokarditlerde klinik seyir değişkenlik gösterir. Birçok hasta tamamiyle iyileşir. Klinik olarak kalp yetmezliği semptomları ve hafif sol ventrikül fonksiyon bozukluğuyla giden olgular genellikle birkaç hafta veya ay içerisinde iyileşirler; fakat ejeksiyon fraksiyonu %35'in altında ve sol ventrikül diastol sonu çapı 60mm'nin üzerinde olup ağır sol ventrikül fonksiyon bozukluğu olan hastaların yaklaşık ¼'ü transplantasyona ihtiyaç duyar, yarısında kronik DKMP gelişir, geri kalan kısmı da spontan olarak iyileşir (63,64). Çocukluk çağında sağkalım %70 - 100 arasında değişir, yaklaşık olarak 2/3'ü tam olarak iyileşir ama yenidoğan döneminde enterovirüs miyokarditinde yüksek ölüm oranları bildirilmiştir (65-69).

Dünya çapında en yaygın enfektif miyokardit nedeni Chagas hastalığıdır (70-72). Batı dünyasında en sık inflamatuvar miyokardit nedeni virüslerdir (55). Miyokarditlerde endomiyokardiyal biyopsi yöntemiyle en çok izole edilen ajanlar parvovirus B19, adenovirus, coxsackievirus B ve diğer enterovirusler, influenza A, human herpes virus 6, cytomegalovirus, Epstein-Barr virüs, herpes simplex virus tip 1 ve hepatit C'dir (73,74). Yıllara göre yaygın viral etken değişkenlik göstermektedir (1980'lerde coksakivirus, 1990'larda adenovirus ve 2000 yılından beri parvovirus B19) (18). Patofizyolojisi virüslerin direk distofin proteinine etkileri ve akabinde gelişen immun yanıt şeklinde özetlenebilir. Hastalığın klinik özellikleri basit halsizlik semptomlarından akut dekompanze kalp yetmezliği, göğüs ağrısı, miyokard enfarktüsü veya ani kardiyak arreste kadar değişen bir yelpazede yer alır (75).

Çocuklarda görülen diğer nadir miyokardit nedenleri arasında; miyosit nekrozuyla seyreden dev hücreli miyokardit, sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, ülseratif kolit gibi otoimmün hastalıklarda görülen miyokarditler, adolesanlarda görülebilen kokain kullanımına bağlı miyokardit sayılabilir.

Doksorubisin ve daunorubisin gibi antineoplastik olarak kullanılan antrasiklinlerin de DKMP'ye yol açtığı gösterilmiştir (18).

2.1.1.2.3.2 Diğer Dilate Kardiyomiyopati Nedenleri

Konjenital metabolik hastalıklar DKMP etyolojisinde 1/20' den daha az yer tutar, olguların yaklaşık yarısını mitokondiriyal hastalıklar oluştururken daha sonrası, Barth sendromu, primer veya sekonder karnitin eksikliği şeklinde sıralanır (19). Metabolik hastalığı olan çocuklarda DKMP genellikle süt çocukluğu döneminde gelişir ve olguların $\frac{3}{4}$ 'ü erkektir. Malformasyon sendromlarına eşlik eden DKMP nadiren %1 oranında görülür (19). Hipokalsemik rikets süt çocukluğu döneminde izole DKMP ile seyredebilir (76-80).

2.1.1.3 Patofizyoloji

Miyositlerdeki sitoskelatal ve kontraktıl sarkomerik proteinleri kodlayan birçok genin tanımlanması dilate kardiyomiyopatinin patogenezinin çok heterojen olduğunu göstermiştir (55). Böylelikle ventriküler remodelinge yol açan iki tane model önerilmiştir (81). Birinci hipotezde genetik mutasyonlar, viral enfeksiyonlar, toksinler

ve volüm yükü gibi çeşitli nedenlerin ortak bir son yolak kullanarak non spesifik dejeneratif durum olarak tanımlanan kardiyomyopatiye yol açtığı öne sürülmektedir (26, 81). Ortak son yolağın mekanizması halen tartışmalı olup miyositin enerji transferi veya iletimindeki ve kalsiyum kullanımındaki bozukluktan kaynaklandığı üzerinde durulmaktadır. Bu tartışmalı durum ikinci hipotezi destekler niteliktedir. İkinci hipoteze göre de birçok farklı bağımsız yolak benzer histopatolojiye fakat ayrı moleküler biyolojik karakteristiğe sahip dilate kardiyomyopati durumuna yol açabilir (81).

2.1.1.4 Klinik Özellikler

DKMP'nin klinik bulgu ve semptomları sol ventrikül fonksiyon bozukluğunun derecesine ve yaşa göre değişkenlik gösterir. Hastalar ani kardiyak ölümle veya aile taramalarında tesadüfen tespit edilebilirler. Süt çocukluğu döneminde beslenme bozukluğu, terleme, takipne, solunum güçlüğü, büyüme geriliği gibi semptomlar görülebilir (55). Daha büyük çocuklarda azalmış egzersiz toleransı ve egzersiz dispnesi, sol ventrikül fonksiyon bozukluğu ilerledikçe istirahat dispnesi, ortopne, paroksizmal nokturnal dispne, periferik ödem ve asit bulgu ve semptomları görülebilir. Bazı çocuklarda yetersiz kardiyak outputa bağlı mesenterik iskemi nedeniyle öğünlerden sonra karın ağrısı, bulantı, kusma ve anoreksi de görülebilir (55). Aritmiye bağlı çarpıntı, presenkop ve senkop ise her yaşta görülebilecek semptomlardır.

Fizik muayenede sinus taşikardisi, zayıf periferik nabız solunum sıkıntısı bulguları, konjesyona bağlı akciğerlerde oskültasyonda raller ve asit tespit edilebilir. Kalp oskültasyonunda 3. ve 4. kalp sesleri duyulabilir. Sistemik fizik muayenenin yapılması etyolojinin tespit edilmesi açısından önem taşımaktadır. Özellikle mitokondriyal hastalık düşünülen hastalarda oftalmolojik muayene mutlaka yapılmalıdır.

2.1.1.5 Tanı Testleri

DKMP'lerde EKG normal olabilir fakat tipik olarak sinüs taşikardisi ve sıklıkla inferior, lateral derivasyonlarda non spesifik ST ve T dalga değişiklikleri görülebilir (17). Bunların yanında biventriküler hipertrofi voltaj değişiklikleri, supraventriküler, ventriküler aritmiler ve bütün atrioventriküler blok çeşitleri de görülebilir. Telekardiyografide artmış kardiyotorasik oran sıklıkla tespit edilir.

Ekokardiyografide genel olarak diyastol sonu ventrikül çaplarının vücut yüzey alanına göre düzeltilmiş ortancadan iki standart deviasyon üzerinde olması veya beklenen çap değerinden %112 fazla olması ve fraksiyonel kısalmanın %25'den daha düşük olması tanı için yeterlidir (16,17,82). Bu kriterler bazen yeterli olmayabilir bu sebepten dolayı ek olarak sol ventrikül fonksiyonunu değerlendirmek amacıyla, ejeksiyon fraksiyonu, miyokardiyal performans indeksi ve Dopplerle aorta ve sol ventrikül çıkışındaki hızlar kullanılarak kardiyak output değerlendirmesi gibi ölçümler de yapılır (55).

Serumda kreatinin kinaz bakılması etyolojinin belirlenmesi açısından önem taşımaktadır. Troponin I ve T gibi kardiyak biyomarkırlar inflamatuvar veya iskemik durumlarda artmış olarak tespit edilebilir. Bunun yanında serumda bakılan brain natriüretik peptit düzeylerinin kronik kalp yetmezliği olan çocuklarda artmış olarak tespit edildiği ve hastaların hospitalizasyon gereksiniminin, tahmini sağkalımının belirlenmesi, transplantasyon planlaması açısından faydalı olabileceği bildirilmiştir (83).

Bazı hastalarda endomiyokardiyal biyopsi yapılabilir (84). Biyopsi miyokardit etyolojisinin aydınlatılmasında aynı zamanda olası mitokondriyel veya metabolik hastalık konusunda bilgiler verebilir (55).

2.1.1.6 Tedavi

DKMP'li hastaların birçoğunda spesifik bir tedavi bulunmamaktadır. Tedavinin esas amacı semptomları iyileştirmek, hastalığın progresyonunu durdurmak ve ilerleyici kalp yetmezliği, ani kardiyak ölüm ve tromboembolizm gibi komplikasyonları engellemektir (55). Çocuklarda kalp yetmezliğinde farmakolojik tedaviyle ilgili bilgi yetersiz olduğu için erişkin verileri üzerinden geliştirilen kılavuzlar kullanılmaktadır (85). Diüretiklerin çocuklarda kalp yetmezliğinde mortaliteyi azalttığına veya semptomları iyileştirdiğine dair bir bilgi olmamakla birlikte loop ve tiazid diüretikler sıvı retansiyonunu engellemek amacıyla kullanılmalıdır fakat nörohumoral aktivasyonu engellemek amacıyla monoterapi şeklinde verilmemelidir (17,85).

Renin anjiyotensin sisteminin aktivasyonu kalp yetmezliğinin patofizyolojisinde etiyolojiden bağımsız olarak önemli bir rol oynar (17,85). Kalp yetmezliği olan erişkinlerde yapılan geniş klinik çalışmalar anjiyotensin konverting enzim inhibisyonunun semptomları iyileştirdiğini, hospitalizasyonu azalttığını ve

kardiyovasküler mortaliteyi azalttığını göstermiştir (86-89). Kalp yetmezlikli çocuklarda anjiyotensin konverting enzim (ACE) inhibitörü kullanımının faydalı olduğuna dair birkaç gözlemsel çalışma bulunmaktadır (85,90,91). Yapılan bir retrospektif çalışma ACE inhibitörü kullanımının tedavinin sadece ilk yılında sağ kalımı arttırdığını göstermiştir (92). DKMP’li çocuklarda ACE inhibitörü kullanımı için güncel öneri; orta ve ciddi sol ventrikül fonksiyon bozukluğu olanlarda semptomların varlığına bakılmaksızın rutin olarak kullanılmalıdır şeklindedir (55).

Yetişkinlerde beta bloker (bisaprolol, karvedilol, metaprolol) tedavisiyle mortalite ve hastaneye yatışın azaldığı gösterilmiştir (93). DKMP’li çocuklarda karvedilol kullanımıyla ilgili yapılan çok merkezli bir çalışmanın sonucuna göre karvedilolun kardiyovasküler mortaliteyi ve kalp yetmezliği nedeniyle hospitalizasyonu azaltma yönünde faydası var olarak görünse de bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (94). Bu nedenlerden ötürü çocuklarda beta bloker kullanımıyla ilgili mevcut bir öneri olmamakla birlikte kullanımı giderek artmaktadır.

Dijital için mevcut kılavuzlar semptomatik kalp yetmezli çocuklarda düşük doz kullanımını önermektedir.

Antikoagülan kullanımı açısından çocuklarda yeterli bilgi olmayıp ağır ventriküler dilatasyonu ve sistolik fonksiyon bozukluğu olan hastalarda faydalı olabileceği düşünülmektedir (55).

DKMP’lerde görülen aritmilerin tedavisinde amiodaron’un sağ kalım üzerine etkisi tartışmalı olup yine de kullanımı güvenli ve atriyal aritmilerin tedavisinde etkindir (95,96). İmplantıbl kardiyoverter ve defibrilatör kullanımının mortaliteyi azalttığı erişkinlerde gösterilmiştir fakat çocuklarda henüz yaygın olarak kullanılmamaktadır (55,97).

Erişkinlerde kullanılabilecek bir diğer tedavi metodu kardiyak resenkrenizasyon terapisi olup bu konuda çocuklarla ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Son dönem DKMP’li çocuklarda ventriküler asist device kullanımının başarılı sonuçları görülmüştür (98). Genel durumu kötü olan, inotropik desteğe ihtiyaç duyan, genellikle mekanik ventilatöre bağlı, device ihtiyacı olan hastalar için son tedavi şansı olarak transplantasyon düşünülmektedir.

2.2 Mikro RNA

Mikro RNA'lar endojen olarak sentezlenen, kodlama yapmayan sekansa özgül biçimde hedef gen ekspresyonunda regülasyon yapan, 18-22 nukleotid uzunluğunda tek sarmallı RNA'lardır (99). miRNA'lar DNA'dan uzun premiRNA olarak transkripte edildikten sonra Drosha RNAaz III enzimiyle daha küçük parçalara ayrılıp nukleusun dışına taşınırlar (100). Daha sonra pre- miRNA ribonukleaz Dicer tarafından kesilip olgun çift sarmallı miRNA elde edilir (100). Bu olgun miRNA'dan oluşan tek sarmallı miRNA, RNA-induced silencing complex (RISC)' e katılır; RISC hedef mRNA transkriptleriyle ilişkiye girmeyi sağlayan komplekstir (99). miRNA'lar intron genlerinden kodlanırlar (101,102). RISC hedef mRNA'nın tranlasyon yapılmamış 3' veya 5' komplementer bölgesine bağlanıp okunma çerçeveleri ve promoter bölgeleri açar (103-106). mRNA kesilmesi veya translasyonel represyon aracılığıyla miRNA'lar gen ekspresyonunun negatif regülasyonunu gerçekleştirirler de çalışmalar upregülasyon yaptıklarını da göstermiştir (107-109). Bu arada bir gen birçok miRNA tarafından regüle edilebilir (110).

İnsan genomunda çok yaygın olarak bulunmaları nedeniyle miRNA'lar transkripsiyon, hücre siklus regülasyonu, sinyal transdüksiyonu, hücre çoğalması, hücre büyümesi, apoptozis, yağ metabolizması ve nöroenezis gibi birçok farklı biyolojik olayda yer alırlar (111). Bu sebepten dolayı miRNA regülasyonundaki bir bozukluk otoimmün, kardiyovasküler, enfeksiyöz, metabolik, nörolojik ve onkolojik hastalıklara yol açabilir (112).

Mikro RNA profillemeye çalışmaları daha çok kanserler üzerine yapılmaktadır fakat birçok hastalık için bu profillemeye çalışmaları sürmektedir. Mikro RNA'lar yeni birer biyomarker olarak düşünülmektedir. Mikro RNA'lar fizyolojik olarak genetik bilginin ekspresyonunda posttranslasyonel aşamada görev alan önemli RNA'lardır. Patolojik durumlarda ise bazılarının seviyelerinde değişimler tespit edilmiştir. Mikro RNA'ların dokudaki düzeylerinin yanı sıra dolaşımdaki tiplerinin ve düzeylerinin de farklılık gösterdiği çalışmalarda tespit edilmiştir.

2.2.1 Mikro RNA ve Kalp

Kalbin gelişiminde ve patolojisinde birçok kompleks genetik mekanizmalar rol almaktadır. Mikro RNA'lar kardiyak gen ekspresyonunu posttranslasyonel aşamada etkilemektedir. Farelerde yapılan çalışmalar kalbin gelişiminde mikro RNA'ların çok önemli rolleri olduğunu göstermiştir. Chen ve arkadaşları (6) farelerde kalp dokusunda bütün mikro RNA'ların üretimi için gerekli olan bir endonükleazı (dicer) delesyona uğratmışlar ve farelerde ciddi DKMP'li ve kalp yetmezliğine bağlı ölüm gözlemişlerdir. Yong Zaho ve arkadaşlarının farelerde yaptıkları diğer bir çalışmada ise kas spesifik miRNA'ların (mir-1-2) kalpte sinyal iletimi, kardiyak morfogenez ve hücre siklusunda önemli rolleri olduğunu göstermiştir (113). İnsanlarda yapılan miRNA profillemeye çalışmalarında hastalıklı kalplerde kardiyomyopatilerle ilişkili olan belirli miRNA ekspresyonlarında değişiklikler tespit edilmiştir (114). Thum ve arkadaşları (7) DKMP 'ye ikincil kalp yetmezliği nedeniyle kalp transplantasyonu planlanan hastaların kalp dokularındaki miRNA düzeyleriyle sağlıklı kalplerinkini kıyaslamışlar, hsa-miR-1, hsa-miR-130a, miR-212 ve hsa-miR-20 gibi miRNA düzeylerinde artma; miR-182, hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-452-AS ve hsa-miR-494 gibi mikro RNA düzeylerinde düşme tespit etmişlerdir. Daha sonraları belirli miRNA'lar üzerinde yapılan çalışmalar; miRNA'ların kalbin gelişiminde ve patolojik durumlarda anahtar rol oynadığını göstermiştir (115). Liu ve arkadaşları (8) farelerde yaptıkları çalışmada miR-133a'eksikliğinin DKMP'ye yol açtığını göstermişlerdir. Yapılan başka bir hayvan çalışmasında da mir-208'in kardiyak hipertrofiyle ilgili olduğu gösterilmiştir (116). Kalbin anatomik gelişimiyle ilgili olarak da miR-138'in önemli olduğu tespit edilmiştir (117). Ikeda ve arkadaşları (118) ise üç farklı nedene bağlı (iskemik, dilate ve aortik stenoz) kalp yetmezliğindeki miRNA ekspresyonunu normal kalplerinkiyle kıyaslamışlardır. Tespit edilen 87 miRNA içerisinde yaklaşık %50'sinin en az bir grupta farklı olduğunu göstermişlerdir. Prasad ve arkadaşları da (119) DKMP'ye bağlı kalp yetmezliği gelişen hastaların kalp dokularından transplantasyon öncesi örnekleme yapıp sağlıklı olan kalplerle mikro RNA ekspresyonu açısından kıyaslama yapmıştır. Çalışmada miRNA-1, 7, 29b, 378 seviyelerinde anlamlı azalma ve miRNA 214, 342, 125b, 181b seviyelerinde anlamlı artma tespit edilmiştir.

2.2.2 Serumda mikro RNA

Memelilerin kan dolaşımında bulunan DNA parçacıklarına verilen önem, keşfedildiklerinden bu yana lupus eritematozus, β talasemi gibi hastalıklarda ve prenatal tanıda faydalı birer marker olarak kullanıldıklarından dolayı artmıştır (120-124). Son çalışmalarda dolaşımda kodlama yapan ve yapmayan plasental mikro RNA gibi RNA parçacıkları tespit edilmiştir (125). 2008 yılında Lawrie ve arkadaşları (9) tarafından yapılan bir çalışmada mikro RNA'lar B hücreli bir lenfoma için yeni bir biyomarker olarak tanıtılmıştır. Chen ve arkadaşları (10) küçük hücre dışı akciğer kanseri, kolorektal kanser ve tip 2 diyabetli hastaların serum mikro RNA profillerinin sağlıklı insanlarınkilerden anlamlı farklılıklar gösterdiğini tespit etmiştir. Daha sonraları peşi sıra sepsis, akut miyokart enfarktüsü, gibi birçok patolojik durum için serum mikroRNA profillemeye çalışmaları yapılmıştır. Sepsis ile ilgili olarak Wang JF ve arkadaşları (126) çalışmalarında inflamasyonla ilgili olduğu tespit edilen yedi miRNA'yı serumda çalışmışlardır ve miR-146a ve miR-223 düzeylerini sepsiste anlamlı olarak düşük tespit etmişlerdir. Başka bir çalışma da D'Alessandra ve arkadaşları (11) tarafından yapılmıştır; bu çalışmada da kas dokusunda çok bulunduğu tespit edilen miR-1, miR-133a, miR-133b ve miR-499-5p gibi mikro RNA'ların plazma seviyelerinin akut miyokard enfarktüsü olan insanlarda ve deneysel fare modellerinde arttığını tespit etmişlerdir. Fukushima ve arkadaşları (127) iskemik kalp hastalığına bağlı kalp yetmezliği bulunan hastalarda yaptıkları bir çalışmada plazma miR-126 seviyesiyle kalp yetmezliği sınıfı arasında negatif korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Benzer başka bir çalışmada da kronik stabil, sistolik kalp yetmezlikli, klas C 30 hastayla 30 sağlıklı gönüllünün serum mikro RNA düzeyleri kıyaslanmış ve miR-423-5p, miR-320a, miR-22, ve miR-92b mikro RNA düzeylerinde anlamlı yükselme tespit edilmiştir (128).

Mikro RNA'ların dolaşıma nasıl salındıkları bilinmemektedir. Bununla beraber fiziksel koşullara çok dayanıklı oldukları RNaz aktivitesinden etkilenmedikleri saptanmıştır (129,130). Bu özelliklerin nasıl sağlandığı yönündeki çalışmalar ise mikro RNA'ların dolaşıma mikroveziküller içinde veya ekzozomlar şeklinde salındığı yönünde fikirler vermiştir (131,132). Ayrıca dolaşımdaki mikro RNA'ların birer sitokin gibi taşıyıp biyolojik fonksiyonları olabileceğine dair hipotezler de mevcuttur (133). Bununla birlikte yakın zamanda yapılan bir çalışmada dolaşımdaki mikroRNA'ların az bir kısmının veziküller içinde taşındığı büyük bir kısmının ise Argonaute 2'yle ilişkili

olarak taşındığı bulunmuştur. Argounate 2 ise RNA-induced silencing complex (RISC)'in etkin bileşeni olup miRNA'ları direkt olarak bağlar ve hücrelerde messenger RNA represyonunu gerçekleştirir (134).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışma grupları

Bu çalışmaya Ocak 2011-Eylül 2011 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda idiyopatik dilate kardiyomiyopati tanısıyla takip edilen 23 çocuk alındı. Yine aynı dönemde üfürüm nedeniyle başvurup kardiyak patoloji saptanmayan ve diğer yönlerden de fizik muayene ve öyküyle sağlıklı olduğu tespit edilen 26 çocuk da kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Hasta grubuna DKMP dışında ek kardiyak veya ekstra kardiyak rahatsızlığı bulunan çocuklar alınmadı. Çalışmaya 0 – 16 yaş aralığındaki çocuklar alındı. Çalışmaya alınanan bütün çocukların velilerine yazılı bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı. Etik kuruldan 12/2010-22 karar no ile 16.12.2010 tarihinde çalışma için onay alındı.

3.2 Ekokardiyografik Çalışma

Çalışmaya alınan bütün çocukların ekokardiyografik ölçümleri Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Kardiyoloji bilim dalındaki 3 öğretim üyesi tarafından yapıldı. Hastaların Ekokardiyografik değerlendirmeleri, Vivid 3 Expert veya Vivid S-6 (General Electric, Vingmed Ultrasound, Horten, Norway) cihazları kullanılarak yapıldı. İki boyutlu, Doppler ve M-mode EKO kullanılarak değerlendirmeler yapıldı. İki boyutlu EKO ile standart parasternal, apikal, subkostal ve suprasternal pencereleri içeren pozisyonlarda inceleme yapılarak önemli kalp yapıları ve büyük damarların görüntüleri incelendi. Ayrıca modifiye transdüser pozisyonları ve farklı açılanmalarla başka görüntüler de iki boyutlu EKO ile değerlendirildi. Parasternal uzun aks görüntülerde, LVIDD (sol ventrikül diyastol sonu çapı), LVIDS (sol ventrikül sistol sonu çapı), ölçüldü. Bu değerler kullanılarak EF (ejeksiyon fraksiyonu) ve FS (fraksiyonel kısalma) değerleri ekokardiyografî cihazı tarafından otomatik olarak hesaplandı. Ayrıca DKMP tanısını daha önceden almış hastaların önceki ölçümleri de kaydedildi. FS değeri %25 altında olan ve sol ventrikül diyastol sonu çapı yaşına göre büyük olan hastalar DKMP olarak kabul edildi. Kontrolde tedavi soucu FS değeri %25'in üstünde olan 6 DKMP tanılı hasta da çalışmaya alındı.

3.3 Kan örneklerinin alınması ve saklanması

Çalışmaya alınan her çocuktan viral çalışmalar için 3cc jelli tüpe ve genetik çalışma için 2'şer cc 2 EDTA'lı tüpe kan örneği alındı. Çalışma grubunun Hepatit A, B, C, CMV, EBV ve Parovirus B19 markerlarına, serum karnitin düzeylerine bakıldı. Hem kontrol hem de çalışma grubundan genetik çalışma için alınan kan örneklerinden plazma ayrımı yapıldı ve çalışma yapılincaya kadar -80 C derecede saklandı.

3.4 Örneklerin moleküler çalışması ve veri analizi

Eksi 80 C derecede bekletilen plazma örneklerinden miRNA örnekleri revers transkriptaz enzimi kullanılarak cDNA ya dönüştürüldü ve daha sonra real-time PCR reaksiyonuna sokularak Tablo 4'de belirtilen miRNA ifadeleri araştırıldı. Çalışmada, DKMP ile ilişkili olduğu doku çalışmalarında tespit edilen mikro RNA'ların, kardiyovasküler sistemle ilişkili miRNA'ların ve daha iyi bilinen 379 mikro RNA'nın düzeylerine bakıldı. Ct (cycle of threshold) değeri 40'dan büyük olanlar çalışmaya alınmadı. Çalışmada bütün hasta gruplarında ekspresyon gösteren 4 mikroRNA'nın Ct değerlerinin ortalaması hasta ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldı; bu iki grup arasında fark tespit edilmeyen ve standart deviasyonu en küçük olan mikroRNA referans gen (housekeeping gen) olarak kabul edildi (miR-483-5p). Her bireyin ekspresyon gösteren her mikroRNA'sının Ct değeri yine o bireyin referans gen Ct değerinden çıkarılarak değerler normalize edildi. İstatistiksel değerlendirmelerde bu değerler kullanıldı. $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metodu kullanılarak fold change (kat değişimi veya kat) hesaplandı. $\Delta\Delta Ct$ her mikroRNA'nın hasta grubundaki normalize edilmiş Ct değerlerinin ortalamasından kontrol grubundaki normalize edilmiş Ct değerlerini ortalaması çıkarılarak hesaplandı. Ekspresyonu azalan yani $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metoduyla 1'in altında fold change hesaplanan değerler kolay anlaşılması için 1^{-1} ile çarpılarak 1'in üzerinde değerler elde edildi, yazılı olarak azaldıkları belirtildi ve tabloda negatif (-) olarak gösterildi. Çalışmada toplam ekspresyon yüzdesi %20'nin altında olan mikroRNAlar için istatistiksel hesaplama yapılmadı.

Çalışmada sistolik fonksiyonların miRNA üzerine etkisini ayırtetmek amacıyla, sol ventrikül sistolik fonksiyon göstergelerinden FS (fraksiyonel kısalma)'ye göre DKMP'li hastalar $FS \leq \%25$ ve $FS > \%25$ olacak şekildi 2 grubu ayrıldı ve miRNA ekspresyon seviyeleri birbirleriyle kıyaslandı.

Tablo 4. Çalışılan miRNA listesi

No	miRNA Sembol	No	miRNA Sembol	No	miRNA Sembol	No	miRNA Sembol
1	ath-miR159a	61	hsa-miR-181a	121	hsa-miR-24	181	hsa-miR-372
2	hsa-let-7a	62	hsa-miR-181c	122	hsa-miR-25	182	hsa-miR-373
3	hsa-let-7b	63	hsa-miR-182	123	hsa-miR-26a	183	hsa-miR-374
4	hsa-let-7c	64	hsa-miR-183	124	hsa-miR-26b	184	hsa-miR-375
5	hsa-let-7d	65	hsa-miR-184	125	hsa-miR-27a	185	hsa-miR-376a
6	hsa-let-7e	66	hsa-miR-185	126	hsa-miR-27b	186	hsa-miR-376b
7	hsa-let-7f	67	hsa-miR-186	127	hsa-miR-28	187	hsa-miR-376c
8	hsa-let-7g	68	hsa-miR-188-3p	128	hsa-miR-28-3p	188	hsa-miR-377
9	hsa-miR-1	69	hsa-miR-18a	129	hsa-miR-296	189	hsa-miR-380-3p
10	hsa-miR-100	70	hsa-miR-18b	130	hsa-miR-296-3p	190	hsa-miR-381
11	hsa-miR-101	71	hsa-miR-190	131	hsa-miR-298	191	hsa-miR-382
12	hsa-miR-103	72	hsa-miR-191	132	hsa-miR-299-3p	192	hsa-miR-383
13	hsa-miR-105	73	hsa-miR-192	133	hsa-miR-299-5p	193	hsa-miR-384
14	hsa-miR-106a	74	hsa-miR-193a-3p	134	hsa-miR-29a	194	hsa-miR-409-5p
15	hsa-miR-106b	75	hsa-miR-193a-5p	135	hsa-miR-29b	195	hsa-miR-410
16	hsa-miR-107	76	hsa-miR-193b	136	hsa-miR-29c	196	hsa-miR-411
17	hsa-miR-10a	77	hsa-miR-194	137	hsa-miR-301	197	hsa-miR-412
18	hsa-miR-10b	78	hsa-miR-195	138	hsa-miR-301b	198	hsa-miR-422a
19	hsa-miR-122	79	hsa-miR-196b	139	hsa-miR-302a	199	hsa-miR-423-5p
20	hsa-miR-125a-3p	80	hsa-miR-197	140	hsa-miR-302b	200	hsa-miR-424
21	hsa-miR-125a-5p	81	hsa-miR-198	141	hsa-miR-302c	201	hsa-miR-425-5p
22	hsa-miR-125b	82	hsa-miR-199a	142	hsa-miR-30b	202	hsa-miR-429
23	hsa-miR-126	83	hsa-miR-199a-3p	143	hsa-miR-30c	203	hsa-miR-431
24	hsa-miR-127	84	hsa-miR-199b	144	hsa-miR-31	204	hsa-miR-433
25	hsa-miR-127-5p	85	hsa-miR-19a	145	hsa-miR-32	205	hsa-miR-448
26	hsa-miR-128a	86	hsa-miR-19b	146	hsa-miR-320	206	hsa-miR-449
27	hsa-miR-129	87	hsa-miR-200a	147	hsa-miR-323-3p	207	hsa-miR-449b
28	hsa-miR-130a	88	hsa-miR-200b	148	hsa-miR-324-3p	208	hsa-miR-450a
29	hsa-miR-130b	89	hsa-miR-200c	149	hsa-miR-324-5p	209	hsa-miR-450b-3p
30	hsa-miR-132	90	hsa-miR-202	150	hsa-miR-325	210	hsa-miR-450b-5p
31	hsa-miR-133a	91	hsa-miR-203	151	hsa-miR-326	211	hsa-miR-452
32	hsa-miR-133b	92	hsa-miR-204	152	hsa-miR-328	212	hsa-miR-453
33	hsa-miR-135a	93	hsa-miR-205	153	hsa-miR-329	213	hsa-miR-454
34	hsa-miR-135b	94	hsa-miR-208	154	hsa-miR-330	214	hsa-miR-455
35	hsa-miR-136	95	hsa-miR-208b	155	hsa-miR-330-5p	215	hsa-miR-455-3p
36	hsa-miR-138	96	hsa-miR-20a	156	hsa-miR-331	216	hsa-miR-483-5p
37	hsa-miR-139-3p	97	hsa-miR-20b	157	hsa-miR-331-5p	217	hsa-miR-484
38	hsa-miR-139-5p	98	hsa-miR-21	158	hsa-miR-335	218	hsa-miR-485-3p
39	hsa-miR-140-3p	99	hsa-miR-210	159	hsa-miR-337-5p	219	hsa-miR-485-5p
40	hsa-miR-141	100	hsa-miR-211	160	hsa-miR-338-3p	220	hsa-miR-486
41	hsa-miR-142-3p	101	hsa-miR-212	161	hsa-miR-339-3p	221	hsa-miR-486-3p
42	hsa-miR-142-5p	102	hsa-miR-214	162	hsa-miR-339-5p	222	hsa-miR-487a
43	hsa-miR-143	103	hsa-miR-215	163	hsa-miR-33b	223	hsa-miR-487b
44	hsa-miR-145	104	hsa-miR-216a	164	hsa-miR-340	224	hsa-miR-488
45	hsa-miR-146a	105	hsa-miR-216b	165	hsa-miR-342-3p	225	hsa-miR-489
46	hsa-miR-146b	106	hsa-miR-217	166	hsa-miR-342-5p	226	hsa-miR-490
47	hsa-miR-146b-3p	107	hsa-miR-218	167	hsa-miR-345	227	hsa-miR-491-3p
48	hsa-miR-147	108	hsa-miR-219	168	hsa-miR-346	228	hsa-miR-492
49	hsa-miR-147b	109	hsa-miR-219-1-3p	169	hsa-miR-34a	229	hsa-miR-493
50	hsa-miR-148a	110	hsa-miR-219-2-3p	170	hsa-miR-34c	230	hsa-miR-494
51	hsa-miR-148b	111	hsa-miR-22	171	hsa-miR-361	231	hsa-miR-499-3p
52	hsa-miR-149	112	hsa-miR-220	172	hsa-miR-362	232	hsa-miR-500
53	hsa-miR-150	113	hsa-miR-220b	173	hsa-miR-362-3p	233	hsa-miR-501
54	hsa-miR-152	114	hsa-miR-220c	174	hsa-miR-363	234	hsa-miR-501-3p
55	hsa-miR-154	115	hsa-miR-221	175	hsa-miR-365	235	hsa-miR-502
56	hsa-miR-155	116	hsa-miR-222	176	hsa-miR-367	236	hsa-miR-502-3p
57	hsa-miR-15a	117	hsa-miR-223	177	hsa-miR-369-3p	237	hsa-miR-503
58	hsa-miR-15b	118	hsa-miR-224	178	hsa-miR-369-5p	238	hsa-miR-504
59	hsa-miR-16	119	hsa-miR-23a	179	hsa-miR-370	239	hsa-miR-505
60	hsa-miR-17	120	hsa-miR-23b	180	hsa-miR-371-3p	240	hsa-miR-506

Tablo 4'ün devamı.

No	miRNA Sembol
241	hsa-miR-507
242	hsa-miR-508
243	hsa-miR-508-5p
244	hsa-miR-509-3-5p
245	hsa-miR-509-5p
246	hsa-miR-510
247	hsa-miR-511
248	hsa-miR-512-3p
249	hsa-miR-512-5p
250	hsa-miR-513-5p
251	hsa-miR-515-3p
252	hsa-miR-515-5p
253	hsa-miR-516a-5p
254	hsa-miR-516b
255	hsa-miR-517a
256	hsa-miR-517b
257	hsa-miR-517c
258	hsa-miR-518a-3p
259	hsa-miR-518a-5p
260	hsa-miR-518b
261	hsa-miR-518c
262	hsa-miR-518d
263	hsa-miR-518d-5p
264	hsa-miR-518e
265	hsa-miR-518f
266	hsa-miR-519a
267	hsa-miR-519c
268	hsa-miR-519d
269	hsa-miR-519e
270	hsa-miR-520a
271	hsa-miR-520a#
272	hsa-miR-520b
273	hsa-miR-520d-5p
274	hsa-miR-520e
275	hsa-miR-520f
276	hsa-miR-520g
277	hsa-miR-521
278	hsa-miR-522
279	hsa-miR-523
280	hsa-miR-524-5p
281	hsa-miR-525
282	hsa-miR-525-3p
283	hsa-miR-526b
284	hsa-miR-532
285	hsa-miR-532-3p
286	hsa-miR-539
287	hsa-miR-541
288	hsa-miR-542-3p
289	hsa-miR-542-5p
290	hsa-miR-544
291	hsa-miR-545
292	hsa-miR-548a
293	hsa-miR-548a-5p
294	hsa-miR-548b
295	hsa-miR-548b-5p
296	hsa-miR-548c
297	hsa-miR-548c-5p
298	hsa-miR-548d
299	hsa-miR-548d-5p
300	hsa-miR-551b

No	miRNA Sembol
301	hsa-miR-556-3p
302	hsa-miR-556-5p
303	hsa-miR-561
304	hsa-miR-570
305	hsa-miR-574-3p
306	hsa-miR-576-3p
307	hsa-miR-576-5p
308	hsa-miR-579
309	hsa-miR-582-3p
310	hsa-miR-582-5p
311	hsa-miR-589
312	hsa-miR-590-5p
313	hsa-miR-597
314	hsa-miR-598
315	hsa-miR-615-5p
316	hsa-miR-616
317	hsa-miR-618
318	hsa-miR-624
319	hsa-miR-625
320	hsa-miR-627
321	hsa-miR-628-5p
322	hsa-miR-629
323	hsa-miR-636
324	hsa-miR-642
325	hsa-miR-651
326	hsa-miR-652
327	hsa-miR-653
328	hsa-miR-654
329	hsa-miR-654-3p
330	hsa-miR-655
331	hsa-miR-660
332	hsa-miR-671-3p
333	hsa-miR-672
334	hsa-miR-674
335	hsa-miR-708
336	hsa-miR-744
337	hsa-miR-758
338	hsa-miR-871
339	hsa-miR-872
340	hsa-miR-873
341	hsa-miR-874
342	hsa-miR-875-3p
343	hsa-miR-876-3p
344	hsa-miR-876-5p
345	hsa-miR-885-3p
346	hsa-miR-885-5p
347	hsa-miR-886-3p
348	hsa-miR-886-5p
349	hsa-miR-887
350	hsa-miR-888
351	hsa-miR-889
352	hsa-miR-890
353	hsa-miR-891a
354	hsa-miR-891b
355	hsa-miR-892a
356	hsa-miR-9
357	hsa-miR-92a
358	hsa-miR-95
359	hsa-miR-98
360	hsa-miR-99a

No	miRNA Sembol
361	hsa-miR-99b
362	mmu-miR-124a
363	mmu-miR-129-3p
364	mmu-miR-134
365	mmu-miR-137
366	mmu-miR-140
367	mmu-miR-153
368	mmu-miR-187
369	mmu-miR-374-5p
370	mmu-miR-379
371	mmu-miR-451
372	mmu-miR-491
373	mmu-miR-495
374	mmu-miR-496
375	mmu-miR-499
376	mmu-miR-615
377	mmu-miR-93
378	RNU44
379	RNU48

Tablonun ilk kısmı önceki sayfadadır.

3.5 İstatistiksel Yöntem

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluk kontrolünde Kolmogorov Smirnov testi kullanıldı. Normal dağılıma sahip değişkenlerin 2 bağımsız grup karşılaştırılmasında Student t testi, normal dağılıma sahip olmayan değişkenler için Mann Whitney U Testi kullanıldı. Ekpresyonların tanı koyma yeteneği ROC eğrisi altında kalan alan yardımıyla test edildi. Tanıtıcı istatistik olarak frekans, yüzde ve ortalama $\pm$ std. sapma değerleri verildi. İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 11,5 paket programı kullanıldı ve $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 23 DKMP'li çocuğun yaş ortalaması $48,78 \pm 40,08$ ay ve 26 sağlıklı çocuğun yaş ortalaması ise $48,78 \pm 43,05$ ay olarak hesaplandı. Yaş dağılımları açısından bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,773$) (Tablo 5). Çalışmaya alınan bütün çocukların %55,1'i erkek ve %44,9'u kızdı. Cinsiyet dağılımları açısından da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,851$). Cinsiyet dağılımları daha detaylı biçimde Tablo 6'da görülebilir. Ayrıca hastaların bakılan viral taramalarında (hepatit A ,B, C, CMV, EBV, parovovirus B-19) akut enfeksiyon bulgusu tespit edilmedi ve bütün hastaların karnitin düzeyleri normal seviyede tespit edildi.

Tablo 5. Yaş Dağılımları

	Grup	Sayı	Ortalama (ay)	Std. Deviasyon	P
Yaş	Kontrol	26	52,23	40,08	0,773
	DKMP	23	48,78	43,05	

Tablo 6. Gruplar Arası Cinsiyet Dağılımı

			Gruplar		Total
			Kontrol	DKMP	
*Cinsiyet	E	Sayı	14	13	27
		%	53,8%	56,5%	55,1%
	K	Sayı	12	10	22
		%	46,2%	43,5%	44,9%
Total		Sayı	26	23	49

*Cinsiyet dağılımları açısından iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi. ($p=0,851$)

Çalışmada bakılan ekokardiyografik ölçümlerden LVIDS, LVIDD, FS ve EF değerleri DKMP ve kontrol grubu arasında kıyaslandı ve bu parametrelerin her birinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p=0,001$) (Tablo 7). Çalışmaya alınan hastaların ilk tanı anındaki ekokardiyografik ölçümleri ise Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 7. DKMP Grubuyla Kontrol Grubu EKO Ölçümleri Karşılaştırması

		Sayı	Ortalama (cm)	Std. Deviasyon	p
LVIDD	Kontrol	26	2,9	0,7	0,001*
	DKMP	23	3,9	0,9	
LVIDS	Kontrol	26	1,7	0,4	0,001*
	DKMP	23	2,9	0,8	
EF	Kontrol	26	73,5	6,3	0,001*
	DKMP	23	49,8	12,3	
FS	Kontrol	26	41,2	5,4	0,001*
	DKMP	23	24,7	7,5	

LVIDD:Sol ventrikül diastol sonu çapı, LVIDS:Sol ventrikül sistol sonu çapı, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, FS: Fraksiyonel kısalma (shortening)

Tablo 8. DKMP Grubunun İlk Tanı Anındaki EKO Ölçümleri

	Sayı (n)	Ortalama	Std. Deviasyon
LVIDD-0 (cm)	23	3,4	1,6
LVIDS-0 (cm)	23	2,7	1,4
EF-0 (%)	23	34,4	17,9
FS-0 (%)	23	16,3	8,8

LVIDD:Sol ventrikül diastol sonu çapı, LVIDS:Sol ventrikül sistol sonu çapı, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, FS: Fraksiyonel kısalma (shortening)

Çalışmada 379 mikroRNA'ya bakıldı; miR-374b, miR34a, miR-208 ve miR-483-5p bütün çalışma gruplarında tam ekspresyon gösterdi. MiR-483-5p normalizasyon için referans gen olarak kullanıldı. miR-374b, miR-34a ve miR-208 plazma ekspresyonlarında DKMP ve kontrol grubu arasında fark tespit edilmedi ($p=0,263$, $p=0,689$, $p=0,773$). Toplam ekspresyon yüzdesine göre mikroRNA'ların sıralaması ve anlamlılık değerleri Tablo 9'da görülmektedir.

Tablo 9. Hasta ve Kontrol Gruplarında Ekspresyon Yüzdesine Göre miRNA Sıralaması

miRNA	Kontrol	DKMP	Toplam Eksp. Yüzdesi	P
miR-374b	26	23	100	0,263
miR-34a	26	23	100	0,689
miR-208	26	23	100	0,773
miR-483-5p*	26	23	100	Ref.gen
miR-618	26	22	97,9	0,034
miR-203	25	23	97,9	0,26
miR-652	25	21	93,8	0,7
miR-875-3p	25	20	91,8	0,017
miR-410	20	23	87,7	0,163
miR-205	26	16	85,7	0,002
miR-194	25	16	83,6	0,002
miR-302a	25	16	83,6	0,004
miR-27b	22	19	83,6	0,494
miR-544	24	16	81,6	0,042
miR-147	23	17	81,6	0,052
miR-590-5p	24	16	81,6	0,061
miR-302c	24	16	81,6	0,264
miR-523	19	16	71,4	0,337
miR-628-5p	19	15	69,3	0,188
miR-374	18	16	69,3	0,945
miR-125b	14	17	63,2	0,57
miR-381	14	17	63,2	0,874
miR-518f	14	16	61,2	0,004
miR-136	13	16	59,1	0,784
hsa-miR-99b	12	15	55,1	0,025
miR-542-3p	12	11	46,9	0,456
miR-155	11	10	42,8	0,003
miR-454	8	10	36,7	0,016
miR-651	9	7	32,6	0,101
miR-218	10	5	30,6	0,05
miR-597	4	7	22,4	0,648
miR-30c	4	6	20,4	0,395
miR-92a	4	5	18,3	0,069
miR-25	3	6	18,3	0,241
miR-551b	6	3	18,3	0,796

*miR-483-5p normalizasyon için referans miRNA olarak kullanıldı.

On mikroRNA'nın ekspresyon düzeyi DKMP grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmış tespit edildi (miR-618, miR-875-3p, miR-205, miR-194, miR-302a, miR-544, hsa-miR-99b, miR-155, miR-218) ($p < 0,05$) (miR-147; $p = 0,052$) (Tablo 10).

Tablo 10. Ekspresyonu Anlamlı Azalan miRNA'ların Eksp. Yüzdesine göre Sıralaması

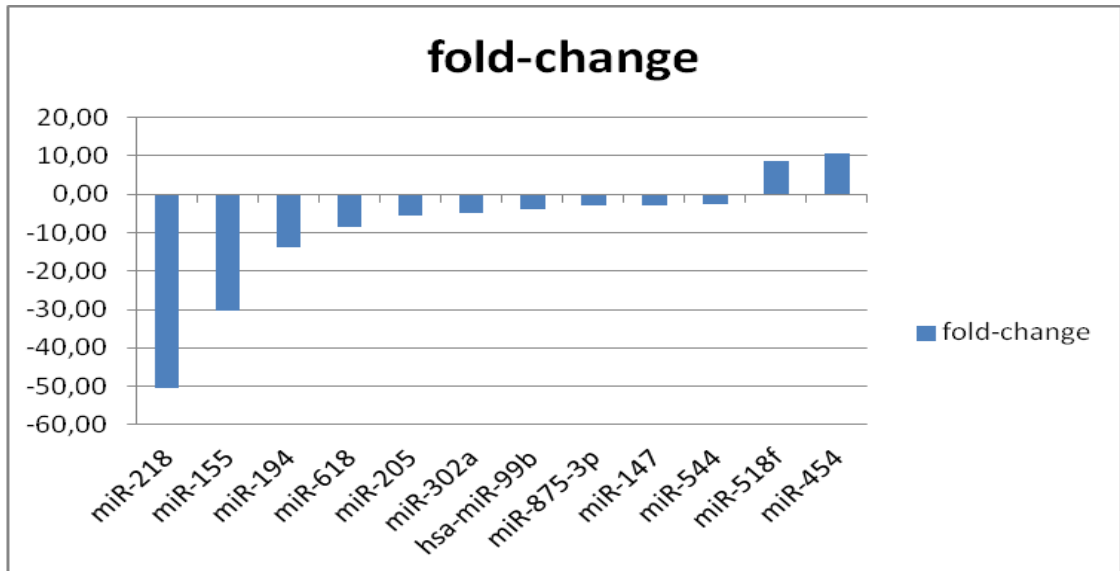
miRNA	Eksp. %	fold change	P	AUC
miR-618	97,96	8,38(-)	0,034	0,67
miR-875-3p	91,84	2,85(-)	0,017	0,72
miR-205	85,71	5,45(-)	0,002	0,78
miR-194	83,67	13,64(-)	0,002	0,79
miR-302a	83,67	4,96(-)	0,004	0,76
miR-147	81,63	2,76(-)	0,052	0,68
miR-544	81,63	2,65(-)	0,042	0,68
hsa-miR-99b	55,10	3,76(-)	0,025	0,75
miR-155	42,86	30,23(-)	0,003	0,84
miR-218	30,61	50,58(-)	0,050	0,82

fold change: kat değişimi, AUC: area under curve

İki mikroRNA'nın (miR-518f, miR-454) ekspresyon düzeyi ise kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak artmış olarak tespit edildi ($p < 0,05$) (Tablo 11). Ekspresyon düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı artan veya azalan miRNA'ların kat değişimleri (fold change) Şekil 1'de gösterilmiştir.

Tablo 11 Ekspresyonu Anlamlı Artan miRNA'ların Eksp. Yüzdesine göre Sıralaması

miRNA	Eksp. %	fold change	P	AUC
miR-518f	61,22	8,58(+)	0,004	0,79
miR-454	36,73	10,66(+)	0,016	0,84

**Şekil 1 Anlamlı Ekspresyon farkı Gösteren miRNA'ların "fold change" Değerine göre Grafiği**

Bu çalışmada hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla miR-454 ve miR-518f' in ekspresyonunda sırasıyla istatistiksel olarak anlamlı 10,6 ve 8,5 kat artış tespit ettik ($p=0,016$, $p=0,004$). Hasta grubunda 10 (%43) çocukta ve kontrol grubunda, 8 (%30) çocukta miR-454 ekspresyonu gözlemlendi. miR-454 için AUC değeri 0,83 olarak bulundu. Hastalar $FS>\%25$ ve $FS\leq\%25$ olmak üzere iki grup olarak karşılaştırıldıklarında miR-454 ekspresyon düzeyi açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,43$).

miR-518f, 16 (%70) hastanın plazmasında, kontrol grubunda 14 (%53) çocuğun plazmasında ekspresyon gösterdi. Bu çalışmada, hasta grubunda miR-518f'in ekspresyonunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı 8,5 kat artış tespit edildi ($p=0,004$). Yine $FS\leq\%25$ ile $FS>\%25$ olan hasta grupları birbirleriyle kıyaslandıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,78$). Analizlerde miR-518f'in AUC değeri 0,76 olarak hesaplandı.

miR-218 çalışmamızda sınırda bir istatistiksel anlamlılıkla ($p=0,05$) en çok azalma gösteren (50,57 kat) mikro RNA olarak tespit edildi. Hasta grubundan 5 (%21) çocukta kontrol grubundan da 10 (%38) çocukta ekspresyon tespit edilebildi. AUC değeri de 0,84 olarak hesaplandı.

Çalışmada miR-155, 10 (%43) hasta ve 11(%42) sağlıklı çocukta ekspresyon gösterdi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olup DKPM grubunda 30,22 kat azalma gözlemlendi ($p=0,003$). miR-155 için AUC 0,84 olarak hesaplandı. $FS>\%25$ ile $FS\leq\%25$ olan gruplar arasında ise miR-155 seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,287$).

miR-194 16 (%70) hastada ve 25 (%96) sağlıklı çocukta ekspresyon gösterdi. Hasta grubunda miR-194'ün ekspresyon seviyesi 13,64 kat azalma ile istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdi ($p=0,002$). AUC değeri 0,79 olarak hesaplandı. Hastalar $FS>\%25$ ve $FS\leq\%25$ olarak iki gruba ayrılarak incelendiklerinde iki grup arasında miR-194 ekspresyon seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,141$).

Bu çalışmada miR-618, hasta ve kontrol grubunda ekspresyonun en fazla görüldüğü mikro RNA'lar içerisinde anlamlı fark tespit ettiğimiz bir mikro RNA'dır. 22 (%95) hastada ve 26 (%100) sağlıklı çocukta ekspresyon gözlemlendi ve DKMP grubunda istatistiksel olarak anlamlı 8,38 kat azalma tespit edildi ($p=0,034$). AUC değeri 0,65

olarak hesaplandı. $FS \leq \%25$ (n:12) olan grup, miR-618 ekspresyon düzeyi açısından $FS > \%25$ (n:10) olan grupla karşılaştırıldığında anlamlı fark tespit edilmedi.

miR-205 hasta grubundan 16 (%69) çocukta, kontrol grubunun ise hepsinde ekspresyon gösterdi. Hasta grubunun ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı 5,45 kat azalma tespit edildi ($p=0,002$). Yine $FS > \%25$ (n=6) olan grupla $FS \leq \%25$ olan grup karşılaştırıldığında $FS > \%25$ olan grupta istatistiksel olarak anlamlı 2,28 kat azalma ($p=0,031$) tespit edildi. AUC 0,78 olarak hesaplandı.

miR-302a 16 (%69) hastada ve 25 (%96) sağlıklı çocukta ekspresyon gösterdi. DKMP grubunda, kontrol grubuna kıyasla 4,96 kat istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi ($p=0,004$). $FS > \%25$ ile $FS \leq \%25$ arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,27$). AUC 0,76 olarak hesaplandı.

hsa-miR-99b 15(%65) hastada ve 12 (%46) kontrol grubunda ekspresyon gösterdi. Hasta grubunda 3,76 kat azalmayla istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p=0,025$). $FS \leq \%25$ 'in altında olan grupta, kontrol grubuna göre 4,95 kat azalmayla istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p=0,043$). Diğer alt grup karşılaştırmalarında anlamlı fark tespit edilmedi. AUC 0,75 olarak hesaplandı.

mir-875-3p bizim çalışmamızda 20 (%87) hastada ve 25 (%96) sağlıklı çocukta ekspresyon gösterdi. mir-875-3p'nin ekspresyonu hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı şekilde 2,85 kat azalmış olarak tespit edildi ($p=0,017$). AUC değeri 0,72 olarak hesaplandı. Hasta grubu $FS \leq \%25$ ve $> \%25$ olarak iki grubu ayrıldığında bu iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi.

miR-147, 17 (%74) hastada ve 23 (%88) sağlıklı çocukta ekspresyon gösterdi. Hastalarda ekspresyon seviyesinde sağlıklı çocuklara kıyasla 2,76 kat azalma tespit edildi fakat bu istatistiksel olarak sınırda anlamlı bulundu ($p=0,052$). AUC değeri 0,68 olarak hesaplandı. Hastalar $FS \leq \%25$ ve $FS > \%25$ olarak iki gruba ayrılarak değerlendirildiğinde miR-147 seviyesinde anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,184$).

miR-544'ün 16 (%70) DKMP'li çocukta ve 24 (%92) sağlıklı çocukta ekspresyonu tespit edildi. Hasta grubunda miR-544'ün ekspresyon seviyesinde kontrol grubuna kıyasla 2,65 kat istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi ($p=0,042$). Hastalar $FS \leq \%25$ ve $FS > \%25$ olarak iki gruba ayrılarak incelendiğinde iki grup arasında miR-544 ekspresyon seviyelerinde anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,618$). AUC 0,68 olarak hesaplandı.

5. TARTIŞMA

Birçok farklı canlı türünde mikroRNA'lar tanımlanmıştır ve yaklaşık olarak 1400 tanesi de insanlarda bulunmaktadır (135). İnsanlarda protein kodlayan genlerin %60'dan fazlasının miRNA'larla düzenlendiği tahmin edilmektedir, dolayısıyla bu da hastalıkların oluşumunda mikroRNA'ların rol alma ihtimalini arttırmaktadır (136). MikroRNA'ların vücut sıvılarında bulunduğu keşfedilmesi, biyomarker olarak kullanılabileceği fikrini doğurmuştur (129,130,137-139). Bu konuda yoğun çalışmalar yapılmaktadır ve birçok hastalık ve tıbbi durum için biyomarker adayları belirlenmektedir.

Bu çalışmada DKMP tanılı çocuklarla sağlam çocukların plazma mikro RNA seviyelerini karşılaştırdık. Literatürde bu konuyla ilişkili yapılmış çalışma bulunmamakla birlikte kardiyovasküler hastalıklar ve kalp yetmezliğiyle ilgili bazı çalışmalar mevcuttur.

Bizim araştırmamızda miR-374b, miR-34a, miR-208 bütün çalışma grubunda ekspresyon göstermesine rağmen ekspresyon düzeyleri açısından DKMP ve kontrol grubu arasında fark tespit edilmedi. Bütün çalışma grubunda ekspresyon gösteren diğer mikroRNA miR-483-5p ise normalizasyon için referans gen olarak kullanıldı.

Bu çalışmada biz hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla miR-454'ün ekspresyonunda artış tespit ettik . Nair ve arkadaşları (140) diyastolik kalp yetmezliği olan fakat sistolik fonksiyonları korunmuş bir hasta grubunda yaptıkları çalışmada dolaşımdaki miR-454 ekspresyonunda 50 kat azalma tespit etmişlerdir. Bizim hasta grubumuzda ise sistolik fonksiyon bozukluğu ön plandadır. Bu bağlamda bakıldığında bir tutarsızlık görülmemektedir. Tijssen ve arkadaşları kalp yetmezliği bulunan 12 hasta ve 12 kontrol grubunun plazmalarında yaptıkları çalışmada ise miR-454'de anlamlı bir değişme tespit etmemişlerdir (141). Fakat o çalışmada hasta grubu erişkin olup kalp yetmezliğinin etyolojileri çocukluk yaş grubundakilerden farklıdır. Çalışmamızda hasta grubunda 10 (%43) çocukta ve kontrol grubunda, 8 (%30) çocukta miR-454 ekspresyonu gözlemlendi. Bütün hasta grubunda ekspresyon görülmemesi gruptaki hastaların farklı evrelerde ve farklı yaşlarda bulunmasından kaynaklanabilir. Yine benzer şekilde kontrol grubunda ekspresyonun tam olmaması; çocukların yaşlarının farklı olmasından veya henüz açıklayamadığımız fizyolojik düzeyde ekspresyon varyasyonundan

kaynaklanabilir. Bu elde edilen sonuçlara göre miR-454 dilate kardiyomiyopatilerde artan bir mikro RNA olabilir. Verilerin küçük gruplardan elde edilmiş olması çalışmanın zayıf yanını oluşturmaktadır. miR-454'ün çocukluk çağında bir DKMP belirteci olarak kabul edilebilmesi için geniş gruplarda yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

miR-518f daha önce Liang ve arkadaşları (142) tarafından yapılan bir çalışmada plazental kaynaklı bir miRNA olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda miR-518f'nin ekspresyonu hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla artmış olarak tespit edildi. Tijssen ve arkadaşları (141) ise çalışmalarında miR-518f'nin plazma düzeyinde anlamlı değişme tespit etmemişlerdir. Kalple ilişkili hastalıklarda yapılan miRNA çalışmalarında miR-518f ile ilgili bir veri tespit edilmemiştir. Bu konuda yeterli veri bulunmaması nedeniyle miR-518f'nin çocukluk çağı DKMP'siyle ilintili bir miRNA olduğunu söylemek hayli güçtür fakat ileride yapılacak çalışmalarda bizim elde ettiğimiz veriyi destekler nitelikte sonuçlar elde edilmesi halinde, bu veri daha çok anlam kazanabilir.

miR-218 bu çalışmada sınırda bir istatistiksel anlamlılıkla ($p=0,05$) en çok azalma gösteren (50,58 kat) mikro RNA olarak tespit edildi. Hasta grubundan 5 (%21) çocukta kontrol grubundan da 10 (%38) çocukta ekspresyon tespit edilebildi. Yapılan bazı araştırmalarda miR-218'in seviyelerinin glioblastom dereceleriyle korelasyon gösterdiği, prostat kanseriyle ve skuamöz hücreli akciğer kanseriyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir (143-145). Daha çok kanserlerle ilgili çalışmalar mevcuttur. Kardiyovasküler alanla ilgili olarak miR-218'in hücre kültür çalışmasında damar oluşumunda ve hayvan deneyinde kalp gelişiminde rolü olduğunu gösteren iki çalışma dikkat çekicidir (146,147). Bununla birlikte serum veya plazmada yapılan miRNA çalışmalarında kalp veya damar hastalıklarıyla ilgili tespit edilmiş veri bulunmamaktadır. Hasta sayımızın az olması nedeniyle miR-218 ile DKMP arasında ilişki olduğunu söylemek zordur fakat ileride daha geniş serilerde yapılacak araştırmalarda bu bağlantı gösterilebilir.

miR-155'in ekspresyonu DKMP grubunda kontrol grubuna kıyasla azalmış olarak tespit edildi. Hematopoezde, immun sistemde neoplazide miR-155'in rolü olduğu gösterilmiştir (148-152). Kardiyovasküler alanda yapılan çalışmalarda da miR-155'in AT II reseptörleriyle ilişkisi tespit edilmiştir ve miR-155'in eksikliğinin kardiyovasküler hastalıklara ve hipertansiyona yol açabileceği öne sürülmektedir (153-

155). Fichtlscherer ve arkadaşları (156) koroner arter hastalığı olan bireylerin plazma miR-155 seviyelerinin sağlıklı bireylerinkine kıyasla azaldığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucu bizimkiyle benzerdir fakat bu çalışmadaki hastaların yaş ortalamasının büyük olması, sistolik fonksiyonlarının normal olması ve özellikle tanılarının farklı olması nedeniyle birebir örtüşmemektedir. miR-155 aktive olmuş T/B hücrelerinde ve monosit/makrofaj hücrelerinde büyük oranda eksprese olmaktadır ve hematopoezde, immun sistemde önemli fonksiyonları mevcuttur (157). Miyokard enfarktüsü (MI) sonrası ventrikül rüptüründe immun sistemin rolü olduğu bilgisinden yola çıkılarak MI nedeniyle kaybedilmiş 50 hastanın kalpleri ventrikül rüptürü (VR) olan (n=23) ve olmayan (n=27) olarak iki gruba ayrılmış ve VR grubunda miR-155 seviyesinde azalma tespit edilmiştir (158). Dolaşımda bulunan bu mikroRNA'ların kaynağı konusundaki tartışmalar halen devam etmektedir. Akut koroner sendromlu, stabil koroner arter hastalıklı ve sağlıklı olan bireylerin aort ve koroner sinustaki kanları karşılaştırılmış ve mir-155'in seviyesinde değişim tespit edilmemiştir (159). Bu veri miR-155'in kalp kaynaklı olmadığını düşündürmektedir. Bununla birlikte 103 DKMP'li ve 37 sağlıklı bireyin miyokardiyal biyopsilerinden yapılan çalışmada miR-155'in DKMP grubunda seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir (160). Bu çalışma da doku kaynaklı olmakla birlikte bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Sonuç olarak bütün bu veriler ışığında miR-155'in DKMP patofizyolojisi üzerindeki etkisi henüz tam olarak belirlenememiştir. Fakat bizim bulduğumuz sonuçlar ve literatürdeki veriler birleştirildiğinde miR-155'in DKMP'de rolü olabileceği kanısına varılabilir. Bu konuda yapılacak başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada hasta grubunda miR-194'ün ekspresyonu, kontrol grubuna kıyasla azalmış olarak tespit edildi. miR-194'ün gastrointestinal sistemde ve böbreklerde diğer dokulara göre daha fazla ekspresyon gösterdiği tespit edilmiştir (136). Yine başka bir çalışmada intestinal epitel hücre farklılaşmasında rolü olduğu gösterilmiştir (161). Son yapılan bir çalışmadaysa çocukluk çağı nefroblastomasında tümörlü dokuda miR-194 ekspresyonunun sağlıklı dokulara kıyasla azaldığı tespit edilmiştir (162). Literatürde kardiyolojik alanda yapılan çalışmalarda miR-194 ile ilgili veri tespit edilmemiştir. miR-194 ekspresyon düşüklüğünün DKMP ile bağlantısının doğrulanması için geniş gruplarda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

miR-618 hasta ve kontrol grubunda ekspresyonun en fazla görüldüğü mikro RNA'lar içerisinde anlamlı fark tespit ettiğimiz bir mikro RNA'dır. miR-618'in ekspresyon seviyesi DKMP grubunda azalmış olarak tespit edildi. Literatürde miR-618'nin östrojen reseptörüyle ve HCV'ye sekonder hepatoselüler karsinomla ilişkisini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (163,164). Kardiyolojik alanda yapılan çalışmalarda miR-618 ile ilgili anlamlı tespit edilen veri bildirilmemiştir. Bizim çalışmamıza göre miR-618 çocukluk çağı DKMP'sinde öne çıkan daha fazla araştırılması gereken bir mikroRNA'dır.

miR-205, ekspresyonu hasta grubunda kontrol grubuna göre azalma gösteren miRNA'lardan biridir. Literatürde dolaşımdaki miR-205 ile ilgili olarak akciğer ve mesane kanserinde ekspresyonunun arttığı, yine diğer medikal durumlardan; hipertansif nefrosklerozda arttığı ve SLE de azaldığı tespit edilmiştir (165-168). Ayrıca miR-205'in timusta diğer dokulara nazaran daha fazla ekspresyon gösterdiği tespit edilmiştir (136,169). Kardiyolojik alanda yapılan çalışmalarda henüz elde edilmiş veri bulunmamaktadır. Çalışmamızda miR-205 seviyeleri FS>%25 olan alt grupta FS≤%25 olan alt gruba kıyasla daha düşük olarak saptandı. Yani sistolik fonksiyonları daha iyi olan hastalarda daha düşük ekspresyon tespit edildi. Oysaki miR-205'in ekspresyon düşüklüğünü hastalık durumuyla ilişkilendirmişken klinik olarak durumu daha iyi olan hastalarda miR-205'in seviyesinin anlamlı olarak klinik durumu daha kötü olanlara göre daha düşük tespit etmemiz, mantık süzgecinde birbiriyle uyumsuz iki veri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu sebeple miR-205 ile ilgili bir hipotez öne sürebilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kardiyolojik alanda yapılan çalışmalarda miR-302a ile ilgili veri tespit edilmemiş olmakla birlikte bir çalışmada sadece kalp dokusunda düşük değerde ekspresyon bulunmuştur (136). Embriyonik kök hücrelerinde, hücre farklılaşması ve hücre siklusunda miR-302a'nın rolü olduğu gösterilmiştir (170). miR-302a 16 (%69) hastada ve 25 (%96) sağlıklı çocukta ekspresyon gösterdi. DKMP grubunda kontrol grubuna kıyasla 4,96 kat azalma tespit edildi (p=0,004). miR-302a'nın ekspresyonunun her iki grupta da yaygın ekspresyon göstermesi, hücre siklusundaki rolü göz önünde bulundurularak, bizim çalışmamızın henüz gelişimini tamamlamamış bireylerde (çocuklarda) yapılmış olmasından kaynaklanabilir. miR-302a ekspresyonundaki azalma DKMP ile ilişkili olabilir fakat bu konuda daha geniş çaplı arştırmalara ihtiyacı vardır.

Kardiyolojik alanda dolaşımdaki mikroRNA'larla ilgili çalışmalarda miR-99b ile ilgili veri bulunmamıştır. Bu çalışmada ise biz hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit ettik ($p=0,025$). Yeni yapılan bir araştırmada insan embriyonik kök hücrelerinin vasküler endotele farklılaşma aşamasında miR-99b'nin rolü olduğu gösterilmiştir (171). Bu araştırmada miR-99b upregülasyonunun vaskülarizasyonu arttırdığı fakat bloke edilmesinin endotelyal farklılaşmayı etkilemediği görülmüştür. Bu noktadan hareketle miR-99b kalbin normal embriyonik oluşumunda ve gelişiminde rol alıyor olabilir dolayısıyla DKMP, miR-99b'nin ekspresyonundaki düzensizlikten kaynaklanabilir. Bu konuda daha geniş gruplarda yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Literatürde erişkinlerde kalp yetmezliği olan hastalarla kontrol grubunun dolaşımındaki miRNA düzeyleri kıyaslanmış ve miR-875-3p'nin ekspresyon seviyesinde anlamlı fark tespit edilmemiştir (135). Başka bir çalışmada ise miR-875-3p'nin ekspresyonunun pankreatik kanser dokusunda sağlıklı dokuya göre azaldığı tespit edilmiştir (172). Biz bu çalışmada miR-875-3p'yi DKMP grubunda azalmış bir mikroRNA olarak tespit ettik ancak aradaki ilintinin doğrulanması için başka çalışmalara da ihtiyaç vardır. Bu veri ileride yapılacak çalışmalar için yol gösterici niteliktedir.

Yapılan bir çalışmada stabil ve anstabil angina pectorisli hastaların periferik kan mononükleer hücrelerindeki miRNA seviyeleri sağlıklı kontrollerinkilerle kıyaslanmış ve her iki hasta grubunda da sağlıklı kontrol grubundakilere kıyasla miR-147 seviyesinde 4 kat azalma tespit edilmiştir (173). Bu çalışmada bulunan veriyle miR-147'nin daha önce yapılan çalışmalarda bulunan immün sistemdeki rolü ilişkilendirilerek; düşük miR-147 seviyesinin koroner arter hastalarının kanındaki mononükleer hücreleri daha fazla pro-imflamatuvar yönde uyararak imflamasyona katkıda bulunduğu önermesinde bulunulmuştur (174). Bu bilgiler ışığında bizim tespit ettiğimiz plazmadaki miR-147 düşüklüğü de, artmış imflamatuvar yanıtı sebep olarak DKMP gelişiminde rol oynuyor olabilir.

Literatür taramasında kardiyolojik alanda yapılmış çalışmalarda miR-544 ile ilgili tespit edilmiş veri bulunamadı. Tespit ettiğimiz miR-544 ekspresyon düşüklüğünün hastaların yaş aralığıyla ya da direkt DKMP ile ilişkili olduğunu söylemek mümkün değildir. Dolayısıyla bu veri ancak ileride bu konuda yapılacak araştırmalar neticesinde daha sağlam bir zemine oturabilir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak miR-618, miR-875-3p, miR-205 çalışmada ekspresyonu en fazla olup DKMP grubunda plazma ekspresyonları kontrol grubuna göre belirgin azalma gösteren mikroRNA'lardır. Bu üç mikroRNA özellikle miR-618 çocukluk çağı DKMP'sinde birer biyomarker olarak kullanılabilirler. Araştırmamızda DKMP grubunda kontrol grubuna göre artış gösteren iki mikroRNA'dan biri olan miR-518f'nin ise her iki çalışma grubunda ekspresyon yüzdesi düşüktür. Bu sebeple bu verinin güvenilirliği tartışılabilir.

Bu çalışma daha sonra yapılacak çalışmalarda seçilecek mikroRNA havuzunun belirlenmesinde ve araştırma sonuçlarının yorumlanmasında faydalı olacaktır. Bulduğumuz bu verilerin teyit edilmesi için çok sayıda ve geniş gruplarda yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

-
- 1 <http://emedicine.medscape.com/article/895187> Poothirikovil Venugopalan, Cardiomyopathy, Dilated, 2010
 - 2 Wang DZ. MicroRNAs in Cardiac Development and Remodeling. *Pediatr Cardiol.* 2010;31:357-362.
 - 3 Bagga S, Bracht J, Hunter S, Massirer K, Holtz J, Eachus R, et al. Regulation by let-7 and lin-4 miRNAs results in target mRNA degradation. *Cell.* 2005;122:553–563.
 - 4 Humphreys DT, Westman BJ, Martin DI, Preiss T. MicroRNAs control translation initiation by inhibiting eukaryotic initiation factor 4E/cap and poly(A) tail function. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:16961–16966.
 - 5 Kiriakidou M, Tan GS, Lamprinaki S, De Planell-Saguer M, Nelson PT, Mourelatos Z. An mRNA m7G cap binding-like motif within human Ago2 represses translation. *Cell.* 2007;129:1141-1151.
 - 6 Chen JF, Murchison EP, Tang R, Callis TE, Tatsuguchi M, Deng Z, et al. Targeted deletion of Dicer in the heart leads to dilated cardiomyopathy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:211-216.
 - 7 Thum T, Galuppo P, Wolf C, Fiedler J, Kneitz S, van Laake LW, et al. MicroRNAs in the human heart: a clue to fetal gene reprogramming in heart failure. *Circulation.* 2007;116:258–267.
 - 8 Liu N, Bezprozvannaya S, Williams AH, Qi X, Richardson JA, Bassel-Duby R, et al. microRNA-133a regulates cardiomyocyte proliferation and suppresses smooth muscle gene expression in the heart. *Genes & Development.* 2008;22:3242–3254.
 - 9 Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2008;141:672–675.
 - 10 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Research* 2008;18:997-1006.
 - 11 D'Alessandra Y, Devanna P, Limana F, Straino S, Di Carlo A, Brambilla PG, et al. Circulating microRNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2010;31:2765-2773.
 - 12 Jackson AL, Burchard J, Leake D, Reynolds A, Schelter J, Guo J, et al. Position-specific chemical modification of siRNAs reduces “off-target” transcript silencing. *RNA.* 2006;12:1197–1205.
 - 13 Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, et al. Silencing of microRNAs in vivo with ‘antagomirs’. *Nature.* 2005;438:685–689.
 - 14 Elliott P, Andersson B, Arbustini E, Bilinska Z, Cecchi F, Charron P, et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J.* 2008;29:270–276.
 - 15 Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation.* 2006;113:1807–1816.

-
- 16 Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, et al. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of Cardiomyopathies. *Circulation*. 1996;93:841-842.
 - 17 Elliott P. Cardiomyopathy : Diagnosis and management of dilated cardiomyopathy. *Heart*. 2000; 84:106-112.
 - 18 Jefferies JL, Towbin JA. Dilated cardiomyopathy, *Lancet*. 2010;375:752–762.
 - 19 Towbin JA, Lowe AM, Colan SD, Sleeper LA, Orav EJ, Clunie S, et al. Incidence, causes, and outcomes of dilated cardiomyopathy in children. *JAMA*. 2006;296:1867–1876.
 - 20 Taylor MR, Carniel E, Mestroni L. Cardiomyopathy, familial dilated. *Orphanet J Rare Dis*. 2006;1:27.
 - 21 Rosamond W, Flegal K, Furie K, Go A, Greenlund K, Haase N et al. Heart disease and stroke statistics–2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2008;117: e25–146.
 - 22 Nugent AW, Daubeney PE, Chondros P, Carlin JB, Cheung M, Wilkinson LC, et al. The epidemiology of childhood cardiomyopathy in Australia. *N Engl J Med*. 2003;348:1639-1646.
 - 23 Lipshultz SE, Sleeper LA, Towbin JA, Lowe AM, Orav EJ, Cox GF, et al. The incidence of pediatric cardiomyopathy in two regions of the United States. *N Engl J Med*. 2003;348:1647-1655.
 - 24 Grünig E, Tasman JA, Kücherer H, Franz W, Kübler W, Katus HA. Frequency and phenotypes of familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:186-194.
 - 25 Towbin JA, Bowles NE. The failing heart. *Nature*. 2002;415:227–233.
 - 26 Bowles NE, Bowles KR, Towbin JA. The "final common pathway" hypothesis and inherited cardiovascular disease: The role of cytoskeletal proteins in dilated cardiomyopathy. *Herz*. 2000; 25:168-175.
 - 27 Tsubata S, Bowles KR, Vatta M, Zintz C, Titus J, Muhonen L, et al. Mutations in the human delta-sarcoglycan gene in familial and sporadic dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest*. 2000;106:655-662.
 - 28 Barresi R, Di Blasi C, Negri T, Brugnoli R, Vitali A, Felisari G et al. Disruption of heart sarcoglycan complex and severe cardiomyopathy caused by beta sarcoglycan mutations. *J Med Genet*. 2000;37:102-107.
 - 29 Goldfarb LG, Park KY, Cervenáková L, Gorokhova S, Lee HS, Vasconcelos O, et al. Missense mutations in desmin associated with familial cardiac and skeletal myopathy. *Nat Genet*. 1998;19:402-403.
 - 30 Li D, Tapscoft T, Gonzalez O, Burch PE, Quiñones MA, Zoghbi WA, et al. Desmin mutation responsible for idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 1999;100:461-464.
 - 31 Olson TM, Michels VV, Thibodeau SN, Tai YS, Keating MT. Actin mutations in dilated cardiomyopathy, a heritable form of heart failure. *Science*. 1998;280:750-752.
 - 32 Kamisago M, Sharma SD, DePalma SR, Solomon S, Sharma P, McDonough B, et al. Mutations in sarcomere protein genes as a cause of dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2000;343:1688-1696.
 - 33 Kaski JP, Burch M, Elliott PM. Mutations in the cardiac troponin C gene are a cause of idiopathic dilated cardiomyopathy in childhood. *Cardiol Young*. 2007;17:675-677.
 - 34 Olson TM, Kishimoto NY, Whitby FG, Michels VV. Mutations that alter the surface charge of alpha-tropomyosin are associated with dilated cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol*. 2001;33:723-732.

-
- 35 Feng J, Yan J, Buzin CH, Towbin JA, Sommer SS. Mutations in the dystrophin gene are associated with sporadic dilated cardiomyopathy. *Mol Genet Metab*. 2002;77:119–126.
- 36 Cox GF, Kunkel LM. Dystrophies and heart disease. *Curr Opin Cardiol*. 1997;12:329–343.
- 37 van Tintelen JP, Hofstra RM, Katerberg H, Rossenbacker T, Wiesfeld AC, du Marchie Sarvaas GJ, et al. High yield of LMNA mutations in patients with dilated cardiomyopathy and/or conduction disease referred to cardiogenetics outpatient clinics. *Am Heart J*. 2007;154:1130–1139.
- 38 Olson TM, Illenberger S, Kishimoto NY, Huttelmaier S, Keating MT, Jockusch BM. Metavinculin mutations alter actin interaction in dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 2002;105:431–437.
- 39 Baryshnikova OK, Robertson IM, Mercier P, Sykes BD. The dilated cardiomyopathy G159D mutation in cardiac troponin C weakens the anchoring interaction with troponin I. *Biochemistry*. 2008;47:10950–10960.
- 40 Chang AN, Potter JD. Sarcomeric protein mutations in dilated cardiomyopathy. *Heart Fail Rev*. 2005;10:225–235.
- 41 Karkkainen S, Peuhkurinen K. Genetics of dilated cardiomyopathy. *Ann Med*. 2007;39:91–107.
- 42 Pyle WG, Solaro RJ. At the crossroads of myocardial signaling: the role of Z-discs in intracellular signaling and cardiac function. *Circ Res*. 2004;94:296–305.
- 43 Vatta M, Mohapatra B, Jimenez S, Sanchez X, Faulkner G, Perles Z et al. Mutations in Cypher/ZASP in patients with dilated cardiomyopathy and left ventricular non-compaction. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42:2014–27.
- 44 Mohapatra B, Jimenez S, Lin JH, Bowles KR, Coveler KJ, Marx JG, et al. Mutations in the muscle LIM protein and alpha-actinin-2 genes in dilated cardiomyopathy and endocardial fibroelastosis. *Mol Genet Metab*. 2003;80:207–215.
- 45 Duboscq-Bidot L, Xu P, Charron P, Neyroud N, Dilanian G, Millaire A, et al. Mutations in the Z-band protein myopalladin gene and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Cardiovasc Res*. 2008;77:118–125.
- 46 Moulik M, Vatta M, Witt SH, Arola AM, Murphy RT, McKenna WJ, et al. ANKRD1, the gene encoding cardiac ankyrin repeat protein, is a novel dilated cardiomyopathy gene. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:325–333.
- 47 Hayashi T, Arimura T, Itoh-Satoh M, Ueda K, Hohda S, Inagaki N, et al. Tcap gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:2192–2201.
- 48 Schmitt JP, Kamisago M, Asahi M, Li GH, Ahmad F, Mende U, et al. Dilated cardiomyopathy and heart failure caused by a mutation in phospholamban. *Science*. 2003;299:1410–1413.
- 49 Bione S, D’Adamo P, Maestrini E, Gedeon AK, Bolhuis PA, Toniolo D. A novel X-linked gene, G4.5, is responsible for Barth syndrome. *Nat Genet*. 1996;12:385–389.
- 50 Olson TM, Michels VV, Ballew JD, Reyna SP, Karst ML, Herron KJ, et al. Sodium channel mutations and susceptibility to heart failure and atrial fibrillation. *JAMA*. 2005;293:447–454.
- 51 Cohen N, Muntoni F. Multiple pathogenetic mechanisms in X linked dilated cardiomyopathy. *Heart*. 2004;90:835–841.

-
- 52 Towbin JA, Hejtmancik JF, Brink P, Gelb B, Zhu XM, Chamberlain JS, et al. X-linked dilated cardiomyopathy: Molecular genetic evidence of linkage to the Duchenne muscular dystrophy (dystrophin) gene at the Xp21 locus. *Circulation*. 1993;87:1854-1865.
 - 53 Muntoni F, Cau M, Ganau A, Congiu R, Arvedi G, Mateddu A, et al. Brief report: Deletion of the dystrophin muscle-promoter region associated with X-linked dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 1993;329:921-925.
 - 54 Berko BA, Swift M. X-linked dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 1987;316:1186-91.
 - 55 Anderson Paediatric Cardiology (3rd edi). Churchill Livingstone, WB Saunders, 2009;1003-1034.
 - 56 Barth PG, Scholte HR, Berden JA, Van der Klei-Van Moorsel JM, Luyt-Houwen IE, Van 't Veer-Korthof ET, et al. An X-linked mitochondrial disease affecting cardiac muscle, skeletal muscle and neutrophil leucocytes. *J Neurol Sci*. 1983;62:327-355.
 - 57 Kelley RI, Cheatham JP, Clark BJ, Nigro MA, Powell BR, Sherwood GW, et al. X-linked dilated cardiomyopathy with neutropenia, growth retardation, and 3-methylglutaconic aciduria. *J Pediatr*. 1991;119:738-747.
 - 58 D'Adamo P, Fassone L, Gedeon A, Janssen EA, Bione S, Bolhuis PA, et al. The X-linked gene G4.5 is responsible for different infantile dilated cardiomyopathies. *Am J Hum Genet*. 1997;61:862-867.
 - 59 Bleyl SB, Mumford BR, Thompson V, Carey JC, Pysker TJ, Chin TK, et al. Neonatal, lethal noncompaction of the left ventricular myocardium is allelic with Barth syndrome. *Am J Hum Genet*. 1997;61:868-872.
 - 60 Mattingly TW. Changing concepts of myocardial diseases. *JAMA*. 1965;191:33-37.
 - 61 Feldman AM, McNamara D. Myocarditis. *N Engl J Med*. 2000;343:1388-1398.
 - 62 Daubeney PE, Nugent AW, Chondros P, Carlin JB, Colan SD, Cheung M, et al.. Clinical features and outcomes of childhood dilated cardiomyopathy: Results from a national population-based study. *Circulation*. 2006;114:2671-2678.
 - 63 Magnani JW, Dec GW. Myocarditis: Current trends in diagnosis and treatment. *Circulation*. 2006;113:876-890.
 - 64 Herskowitz A, Campbell S, Deckers J, Kasper EK, Boehmer J, Hadian D, et al. Demographic features and prevalence of idiopathic myocarditis in patients undergoing endomyocardial biopsy. *Am J Cardiol*. 1993;71:982-986.
 - 65 Kleinert S, Weintraub RG, Wilkinson JL, Chow CW. Myocarditis in children with dilated cardiomyopathy: Incidence and outcome after dual therapy immunosuppression. *J Heart Lung Transplant*. 1997;16:1248-1254.
 - 66 English RF, Janosky JE, Ettedgui JA, Webber SA. Outcomes for children with acute myocarditis. *Cardiol Young*. 2004;14:488-493.
 - 67 Gagliardi MG, Bevilacqua M, Squitieri C, Boldrini R, Di Julio DP, Marcelletti C. Dilated cardiomyopathy caused by acute myocarditis in pediatric patients: Evolution of myocardial damage in a group of potential heart transplant candidates. *J Heart Lung Transplant*. 1993;12:S224-S229.
 - 68 Lee KJ, McCrindle BW, Bohn DJ, Wilson GJ, Taylor GP, Freedom RM, et al. Clinical outcomes of acute myocarditis in childhood. *Heart*. 1999;82:226-233.

-
- 69 Inwald D, Franklin O, Cubitt D, Peters M, Goldman A, Burch M. Enterovirus myocarditis as a cause of neonatal collapse. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2004;89:F461-F462.
- 70 Florián Sanz F, Gómez Navarro C, Castrillo García N, Pedrote Martínez A, Lage Gallé E. [Chagasic cardiomyopathy in Spain: A diagnosis to bear in mind]. *An Med Interna* 2005;22:538-540.
- 71 Hagar JM, Rahimtoola SH. Chagas' heart disease in the United States. *N Engl J Med.* 1991;325:763-768.
- 72 Sztajzel J, Cox J, Pache JC, Badaoui E, Lerch R, Rutishauser W. Chagas' disease may also be encountered in Europe. *Eur Heart J.* 1996;17:1289.
- 73 Bowles NE, Ni J, Kearney DL, Pauschinger M, Schultheiss HP, McCarthy R, et al. Detection of viruses in myocardial tissues by polymerase chain reaction. evidence of adenovirus as a common cause of myocarditis in children and adults. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42:466-472.
- 74 Bowles NE, Bowles KR, Towbin JA. Viral genomic detection and outcome in myocarditis. *Heart Fail Clin.* 2005;1:407-417.
- 75 Ellis CR, Di Salvo T. Myocarditis: basic and clinical aspects. *Cardiol Rev* 2007;15:170-177.
- 76 Abdullah M, Bigras JL, McCrindle BW. Dilated cardiomyopathy as a first sign of nutritional vitamin D deficiency rickets in infancy. *Can J Cardiol.* 1999;15:699-701.
- 77 Gulati S, Bajpai A, Juneja R, Kabra M, Bagga A, Kalra V. Hypocalcemic heart failure masquerading as dilated cardiomyopathy. *Indian J Pediatr.* 2001;68:287-290.
- 78 Labrune P, Bader B, Devictor D, Madelin JC, Huault G. [Hypocalcemia, cardiac failure and ventricular tachycardia in an infant with rickets]. *Arch Fr Pediatr.* 1986;43:413-415.
- 79 Yaseen H, Maragnes P, Gandon-Laloum S, Bensaid P, N'Guyen B, Ricaud D, et al. [A severe form of vitamin D deficiency with hypocalcemic cardiomyopathy]. *Pediatric.* 1993;48:547-549.
- 80 Price DI, Stanford LC Jr, Braden DS, Ebeid MR, Smith JC. Hypocalcemic rickets: An unusual cause of dilated cardiomyopathy. *Pediatr Cardiol.* 2003;24:510-512.
- 81 Ahmad F, Seidman JG, Seidman CE. The genetic basis for cardiac remodeling. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2005;6:185-216.
- 82 Henry WL, Gardin JM, Ware JH. Echocardiographic measurements in normal subjects from infancy to old age. *Circulation.* 1980;62:1054-1061.
- 83 Price JF, Thomas AK, Grenier M, Eidem BW, O'Brian Smith E, Denfield SW, et al. B-type natriuretic peptide predicts adverse cardiovascular events in pediatric outpatients with chronic left ventricular systolic dysfunction. *Circulation.* 2006;114:1063-1069.
- 84 Cooper LT, Baughman KL, Feldman AM, Frustaci A, Jessup M, Kuhl U, et al. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology. Endorsed by the Heart Failure Society of America and the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:1914-31.
- 85 Rosenthal D, Chrisant MR, Edens E, Mahony L, Canter C, Colan S, et al. International Society for Heart and Lung Transplantation: Practice guidelines for management of heart failure in children. *J Heart Lung Transplant.* 2004;23:1313-1333.

-
- 86 Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure : Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). The CONSENSUS Trial Study Group. *N Engl J Med*. 1987;316:1429-1435.
 - 87 Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. The SOLVD Investigators. *N Engl J Med*. 1991;325:293-302.
 - 88 Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. The SOLVD Investigators. *N Engl J Med* 1992; 327:685-691.
 - 89 Cohn J.N., Johnson G., Ziesche S., et al: A comparison of enalapril with hydralazine–isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure. *N Engl J Med*. 1991;325:303-310.
 - 90 Bengur AR, Beekman RH, Rocchini AP, Crowley DC, Schork MA, Rosenthal A. Acute hemodynamic effects of captopril in children with a congestive or restrictive cardiomyopathy. *Circulation*. 1991; 83:523-527.
 - 91 Leversha AM, Wilson NJ, Clarkson PM, Calder AL, Ramage MC, Neutze JM. Efficacy and dosage of enalapril in congenital and acquired heart disease. *Arch Dis Child*. 1994;70:35-39.
 - 92 Lewis AB, Chabot M. The effect of treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors on survival of pediatric patients with dilated cardiomyopathy. *Pediatr Cardiol*. 1993;14:9-12.
 - 93 Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, McMurray JJ, Ponikowski P, Poole-Wilson PA, et al; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG): ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur J Heart Fail*. 2008;10:933-989.
 - 94 Shaddy RE, Boucek MM, Hsu DT, Boucek RJ, Canter CE, Mahony L, et al. Carvedilol for children and adolescents with heart failure: A randomized controlled trial. *JAMA* 2007;298:1171-1179.
 - 95 Doval HC, Nul DR, Grancelli HO, Perrone SV, Bortman GR, Curiel R. Randomised trial of low-dose amiodarone in severe congestive heart failure. Grupo de Estudio de la Sobrevida en la Insuficiencia Cardiaca en Argentina (GESICA). *Lancet*. 1994;344:493-498.
 - 96 Massie BM, Fisher SG, Radford M, Deedwania PC, Singh BN, Fletcher RD et al. Effect of amiodarone on clinical status and left ventricular function in patients with congestive heart failure. CHF-STAT Investigators. *Circulation*. 1996;93:2128-2134.
 - 97 Bardy GH, Lee KL, Mark DB, Poole JE, Packer DL, Boineau R, et al. Amiodarone or an implantable cardioverter-defibrillator for congestive heart failure. *N Engl J Med*. 2005;352:225-237.
 - 98 McMahon AM, van Doorn C, Burch M, Whitmore P, Neligan S, Rees P, et al. Improved early outcome for end-stage dilated cardiomyopathy in children. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003;126:1781-1787.
 - 99 Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004;116:281–297.
 - 100 Hammond SM. Dicing and slicing: The core machinery of the RNA interference pathway. *FEBS Letters*. 2005;579:5822–5829.
 - 101 Okamura K, Hagen JW, Duan H, Tyler DM, Lai EC. The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in *Drosophila*. *Cell*. 2007;130:89–100.

-
- 102 Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature*. 2007;448:83–86.
- 103 Gregory RI, Chendrimada TP, Shiekhattar R. MicroRNA biogenesis: isolation and characterization of the microprocessor complex. *Methods Mol. Biol.* 2006;342:33–47.
- 104 Kloosterman WP, Wienholds E, Ketting RF, Plasterk RH. Substrate requirements for let 7 function in the developing zebrafish embryo. *Nucleic Acids Res.* 2004;32: 6284–6291.
- 105 Lytle JR, Yario TA, Steitz JA. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA binding sites in the 5' UTR as in the 3' UTR. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2007;104:9667–9672.
- 106 Lee I, Ajay SS, Yook JI, Kim HS, Hong SH, Kim NH, et al. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3'-UTR interaction sites. *Genome Res.* 2009;19:1175–1183.
- 107 He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat. Rev. Genet.* 2004;5:522–531.
- 108 Bohnsack MT, Czaplinski K, Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *RNA.* 2004;10:185–191.
- 109 Vasudevan S, Tong Y, Steitz JA. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science.* 2007;318:1931–1934.
- 110 Wu S, Huang S, Ding J, Zhao Y, Liang L, Liu T, et al. Multiple microRNAs modulate p21 Cip1/Waf1 expression by directly targeting its 3' untranslated region. *Oncogene.* 2010;29:2302–2308.
- 111 Shah PP, Hutchinson LE, Kakar SS. Emerging role of microRNAs in diagnosis and treatment of various diseases including ovarian cancer. *J Ovarian Res.* 2009;2:11.
- 112 Lundstrom K. Micro-RNA in Disease and Gene Therapy. *Current Drug Discovery Technologies.* 2011;8:76-86.
- 113 Zhao Y, Ransom JF, Li A, Vedantham V, von Drehle M, Muth AN et al. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1–2. *Cell.* 2007;129:303–317.
- 114 van Rooij E, Sutherland LB, Liu N, Williams AH, McAnally J, Gerard RD et al. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:18255–18260.
- 115 Zhao Y, Samal E, Srivastava D. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets Hand2 during cardiogenesis. *Nature.* 2005;436:214–220.
- 116 van Rooij E, Sutherland LB, Qi X, Richardson JA, Hill J, Olson EN. Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA. *Science.* 2007;316:575–579.
- 117 Morton SU, Scherz PJ, Cordes KR, Ivey KN, Stainier DY, Srivastava D. MicroRNA-138 modulates cardiac patterning during embryonic development. *Proc Natl Acad Sci USA .* 2008;105:17830–17835.
- 118 Ikeda S, Kong SW, Lu J, Bisping E, Zhang H, Allen PD, et al. Altered microRNA expression in human heart disease. *Physiological Genomics.* 2007;31:367–373.
- 119 Naga Prasad SV, Duan ZH, Gupta MK, Surampudi VS, Volinia S, Calin GA, et al. Unique microRNA profile in end-stage heart failure indicates alterations in specific cardiovascular signaling networks. *Journal of Biological Chemistry.* 2009;284:27487–27499.

-
- 120 Mandel P, Metais P. Les acides nucleiques du plasma sanguin chez l'homme. *C R Seances Soc Biol Fil.* 1948;142:241–243.
 - 121 Koffler D, Agnello V, Winchester R, Kunkel HG. The occurrence of single-stranded DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus and other diseases. *J Clin Invest.* 1973;52:198–204.
 - 122 Tan EM, Schur PH, Carr RI, Kunkel HG. Deoxybonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest.* 1966;45:1732–1740.
 - 123 Lo YM, Hjelm NM, Fidler C, Sargent IL, Murphy MF, Chamberlain PF, et al. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. *N Engl J Med.* 1998;339:1734–1738.
 - 124 Chiu RW, Lau TK, Leung TN, Chow KC, Chui DH, Lo YM. Prenatal exclusion of beta thalassaemia major by examination of maternal plasma. *Lancet.* 2002;360:998–1000.
 - 125 Chim SS, Shing TK, Hung EC, Leung TY, Lau TK, Chiu RW, et al. Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma. *Clin Chem.* 2008;54:482–490.
 - 126 Wang JF, Yu ML, Yu G, Bian JJ, Deng XM, Wan XJ, et al. Serum miR-146a and miR-223 as potential new biomarkers for sepsis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;394:184–188.
 - 127 Fukushima Y, Nakanishi M, Nonogi H, Goto Y, Iwai N. Assessment of Plasma miRNAs in Congestive Heart Failure. *Circ J.* 2011;75: 336 – 340.
 - 128 Goren Y, Kushnir M, Zafrir B, Tabak S, Lewis BS, Amir O. Serum levels of microRNAs in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2012;14:147-154.
 - 129 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:10513–10518.
 - 130 Gilad S, Meiri E, Yogev Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS ONE* 2008;3:e3148.
 - 131 Skog J, Wurdinger T, van Rijn S, Meijer DH, Gainche L, Sena-Esteves M, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol* 2008;10:1470–1476.
 - 132 Hunter MP, Ismail N, Zhang X, Aguda BD, Lee EJ, Yu L, et al. Detection of microRNA expression in human peripheral blood microvesicles. *PLoS ONE* 2008;3:pe3694.
 - 133 Zerneck A, Bidzhekov K, Noels H, Shagdarsuren E, Gan L, Denecke B, et al. Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12- dependent vascular protection. *Sci Signal.* 2009;2:ra81.
 - 134 Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, Ruf IK, Pritchard CC, Gibson DF, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108:5003-5008.
 - 135 Steer CJ, Subramanian S. Circulating MicroRNAs as Biomarkers: A New Frontier in Diagnostics. *Liver Transpl.* 2012;18:265-269.
 - 136 Sayed D, Abdellatif M. MicroRNAs in development and disease. *Physiol Rev* 2011;91:827-887.
 - 137 Cortez MA, Calin GA. MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and monitor diseases. *Expert Opin Biol Ther.* 2009;9:703-711.

-
- 138 Schöler N, Langer C, Döhner H, Buske C, Kuchenbauer F. Serum microRNAs as a novel class of biomarkers: a comprehensive review of the literature. *Exp Hematol* 2010;38:1126-1130.
 - 139 Etheridge A, Lee I, Hood L, Galas D, Wang K. Extracellular microRNA: a new source of biomarkers. *Mutat Res* 2011;717:85-90.
 - 140 Nair N, Kumar S, Gupta S, Dehmer G, MicroRNA profiling in diastolic dysfunction, *J. Am. Coll. Cardiol.* 2011;57:E245.
 - 141 Tijssen AJ, Creemers EE, Moerland PD, de Windt LJ, van der Wal AC, Kok WE, et al. MiR423-5p As a Circulating Biomarker for Heart Failure, *Circ Res.* 2010;106:1035-1039.
 - 142 Liang Y, Ridzon D, Wong L, Chen C. Characterization of microRNA expression profiles in normal human tissues, *BMC Genomics.* 2007;8:166.
 - 143 Zhang JM, Sun CY, Yu SZ, Wang Q, An TL, Li YY, et al. Relationship between miR-218 and CDK6 expression and their biological impact on glioma cell proliferation and apoptosis. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2011;40:454-459.
 - 144 Leite KR, Tomiyama A, Reis ST, Sousa-Canavez JM, Sañudo A, Camara-Lopes LH, et al MicroRNA expression profiles in the progression of prostate cancer-from high-grade prostate intraepithelial neoplasia to metastasis. *Urol Oncol.* 2011 Aug 29. [Epub ahead of print]
 - 145 Davidson MR, Larsen JE, Yang IA, Hayward NK, Clarke BE, Duhig EE, et al. MicroRNA-218 is deleted and downregulated in lung squamous cell carcinoma. *PLoS One.* 2010;5:e12560.
 - 146 Small EM, Sutherland LB, Rajagopalan KN, Wang S, Olson EN, MicroRNA-218 regulates vascular patterning by modulation of Slit-Robo signaling. *Circ Res.* 2010;107:1336-1344.
 - 147 Fish JE, Wythe JD, Xiao T, Bruneau BG, Stainier DY, Srivastava D, et al. A Slit/miR-218/Robo regulatory loop is required during heart tube formation in zebrafish. *Development.* 2011;138:1409-1419.
 - 148 Masaki S, Ohtsuka R, Abe Y, Muta K, Umemura T. Expression patterns of microRNAs 155 and 451 during normal human erythropoiesis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007;364:509–514.
 - 149 Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006;103:12481–12486.
 - 150 Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, Warren MV, Couttet P, Soond DR, et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function, *Science.* 2007;316:608–611.
 - 151 Gironella M, Seux M, Xie MJ, Cano C, Tomasini R, Gommeaux J, et al. Tumor protein 53-induced nuclear protein 1 expression is repressed by miR-155, and its restoration inhibits pancreatic tumor development. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104:16170-16175.
 - 152 Metzler M, Wilda M, Busch K, Viehmann S, Borkhardt A. High expression of precursor microRNA-155/BIC RNA in children with Burkitt lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer.* 2004;39:167-169.
 - 153 Martin MM, Lee EJ, Buckenberger JA, Schmittgen TD, Elton TS. MicroRNA-155 regulates human angiotensin II type 1 receptor expression in fibroblasts. *J Biol Chem.* 2006;281:18277-18284.
 - 154 Sethupathy P, Borel C, Gagnebin M, Grant GR, Deutsch S, Elton TS, et al. Human microRNA-155 on chromosome 21 differentially interacts with its polymorphic target in the AGTR1 3' untranslated region: a mechanism for functional single-nucleotide polymorphisms related to phenotypes. *Am J Hum Genet.* 2007;81:405-413.

-
- 155 Faraoni I, Antonetti FR, Cardone J, Bonmassar E. miR-155 gene: A typical multifunctional microRNA. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1792:497-505.
- 156 Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, Schwietz T, Fischer A, Liebetrau C, et al. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease. *Circ Res*. 2010;107:677– 684.
- 157 Tili E, Croce CM, Michaille JJ. miR-155: on the crosstalk between inflammation and cancer. *Int Rev Immunol*. 2009;28:264 –284.
- 158 Zidar N, Boštjančič E, Glavač D, Stajer D. MicroRNAs, innate immunity and ventricular rupture in human myocardial infarction. *Dis Markers*. 2011;31:259-265.
- 159 De Rosa S, Fichtlscherer S, Lehmann R, Assmus B, Dimmeler S, Zeiher AM. Transcoronary concentration gradients of circulating microRNAs. *Circulation*. 2011;124:1908-1910.
- 160 Satoh M, Minami Y, Takahashi Y, Tabuchi T, Nakamura M. Cellular MicroRNA, let-7i, Is a Novel Biomarker for Clinical Outcome in Patients With Dilated Cardiomyopathy. *J Cardiac Fail*. 2011;17:923-929.
- 161 Hino K, Fukao T, Watanabe M. Regulatory interaction of HNF1-alpha to microRNA-194 gene during intestinal epithelial cell differentiation. *Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)*. 2007;51:415-416.
- 162 Senanayake U, Das S, Vesely P, Alzoughbi W, Fröhlich LF, Chowdhury P, et al. miR-192, miR-194, miR-215, miR-200c and miR-141 are downregulated and their common target ACVR2B is strongly expressed in renal childhood neoplasms, *Carcinogenesis*. 2012 May;33(5):1014-21. Epub 2012 Mar 19.
- 163 Cicatiello L, Mutarelli M, Grober OM, Paris O, Ferraro L, Ravo M, et al. Estrogen receptor alpha controls a gene network in luminal-like breast cancer cells comprising multiple transcription factors and microRNAs, *Am J Pathol*. 2010;176:2113-2130.
- 164 Abdalla MA, Haj-Ahmad Y. Promising Candidate Urinary MicroRNA Biomarkers for the Early Detection of Hepatocellular Carcinoma among High-Risk Hepatitis C Virus Egyptian Patients. *J Cancer*. 2012;3:19-31.
- 165 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*. 2008;18:997–1006.
- 166 Gottardo F, Liu CG, Ferracin M, Calin GA, Fassin M, Bassi P, et al. Micro-RNA profiling in kidney and bladder cancers. *Urol Oncol*. 2007;25:387-392.
- 167 Wang G, Kwan BC, Lai FM, Choi PC, Chow KM, Li PK, et al. Intrarenal Expression of miRNAs in Patients with Hypertensive Nephrosclerosis. *Am J Hypertens*. 2010;23:78-84.
- 168 Wang G, Tam LS, Li EK, Kwan BC, Chow KM, Luk CC, et al. Serum and urinary free microRNA level in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 2011;20:493-500.
- 169 <http://www.mirnamap.mbc.nctu.edu.tw>
- 170 Card DA, Hebbbar PB, Li L, Trotter KW, Komatsu Y, Mishina et al. Oct4/Sox2-regulated miR-302 targets cyclin D1 in human embryonic stem cells. *Mol Cell Biol*. 2008;28:6426-6438.
- 171 Kane NM, Howard L, Descamps B, Meloni M, McClure JD, Lu R, et al. Role of microRNAs 99b, 181a and 181b in the differentiation of human embryonic stem cells to vascular endothelial cells. *Stem Cells*. 2012;30:643-654.
- 172 Hao J, Zhang S, Zhou Y, Hu X, Shao C. MicroRNA 483-3p suppresses the expression of DPC4/Smad4 in pancreatic cancer. *FEBS Lett*. 2011;585:207-213.

173 Hoekstra M, van der Lans CA, Halvorsen B, Gullestad L, Kuiper J, Aukrust P, et al. The peripheral blood mononuclear cell microRNA signature of coronary artery disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;394:792–797.

174 Liu G, Friggeri A, Yang Y, Park YJ, Tsuruta Y, Abraham E. MiR-147, a microRNA that is induced upon Toll-like receptor stimulation, regulates murine macrophage inflammatory responses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:15819-15824.