



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**ROMATİZMAL KAPAK HASTALIĞI PATOGENEZİNDE
T HELPER 17 VE T REGÜLATÖR
HÜCRELERİNİN YERİ**

Dr. H. Duygu Başer

KARDİYOLOJİ UZMANLIK TEZİ

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. M. Rıdvan Yalçın**

ANKARA-2012

TEŞEKKÜR

Tüm hayatım boyunca her türlü fedakârlığı gösteren canım annem ve babama, desteğini hep yanımda hissettiğim hayat arkadaşım, sevgili eşim Kâzım'a; eğitim sürecimin 5,5 yılını geçirdiğim Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma, sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. H. Duygu BAŞER

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 AKUT ROMATİZMAL ATEŞ (ARA).....	3
2.2. AKUT ROMATİZMAL ATEŞ VE ROMATİZMAL	
KAPAK HASTALIĞINDA İMMÜNOPATOGENEZ.....	6
2.2.1 T lenfositler	7
2.2.2. T helper 17(Th17) ve T regülatör(Treg) hücreleri	9
2.3. AKIM SİTOMETRİ	11
2.4. MİTRAL DARLIĞI	12
2.4.1. Giriş.....	12
2.4.2. Epidemiyoloji	12
2.4.3. Etyoloji.....	13
2.4.4 Patoloji	14
2.4.5 Patofizyoloji	15
2.4.6.Klinik Prezantasyon	17
2.4.7. Fizik Muayene	18
2.4.8. Laboratuar ve Diagnostik Testler	19

2.4.9 Mitral Darlığında Tedavi.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1 HASTA GRUBU	30
EKOKARDİYOĞRAFİK İNCELEME	30
3.3 AKIM SİTOMETRİ İLE TH17 VE TREG HÜCRE	
ANALİZİ.....	31
İSTATİSTİKSEL ANALİZ	32
4. BULGULAR	34
4.1. KLİNİK VE EKOKARDİYOĞRAFİK BULGULAR.....	34
4.2 AKIM SİTOMETRİ ANALİZLERİ	36
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	41
6. KAYNAKLAR.....	49
ÖZET	57
ABSTRACT	59
ÖZGEÇMİŞ.....	61

KISALTMALAR

ACC/ AHA	: American College of Cardiology / American Heart Association
AGBHS	: A grubu Beta Hemolitik Streptokok
AF	: Atrial Fibrilasyon
AKM	: Akım sitometri
ARA	: Akut Romatizmal Ateş
CD	: Cluster of differentiation
EF	: Ejeksiyon Fraksiyonu
EKG	: Elektrokardiyografi
HsCRP	: high sensitif C-reaktif protein
IL-17	: İnterlökin 17
İVS	: İnterventriküler Septum
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
MD	: Mitral darlığı
MKA	: Mitral kapak alanı
MY	: Mitral yetmezliği
NYHA	: New York Kalp Cemiyeti
PAB	: Pulmoner Arteryal Basınç
LA	: Sol atriyum
LAVI	: Sol atriyum volüm indeksi
LV	: Sol Ventrikül
MVR	: Mitral Kapak Replasmanı
PND	: Paroksizmal Noktürnal Dispne

PHT	: Pulmoner Hipertansiyon
PMBV	: Perkutan Mitral Balon Valvuloplasti
RKH	: Romatizmal Kalp Hastalığı
RV	: Sağ ventrikül
SVAD	: Sol Ventrikül Arka Duvarı
SVDSÇ	: Sol Ventrikül Diyastol Sonu Çapı
SVEF	: Sol Ventrikül Ejeksiyon Fraksiyonu
SVSSÇ	: Sol Ventrikül Sistol Sonu Çapı
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
Th17	: Interlökin 17 salgılayan yardımcı T hücresi
Treg	: Regulatuar T hücre
TTE	: Transtorasik Ekokardiyografi
TY	: Triküspid Yetmezliği

TABLO LİSTESİ

Sayfa No:

Tablo 1.	Günümüzde akut romatizmal ateş atağının tanısında kullanılan modifiye Jones kriterleri	4
Tablo 2.	Mitral darlığı nedenleri	14
Tablo 3.	ACC/AHA'ya göre mitral darlığın sınıflandırılması	16
Tablo 4.	Mitral kapağın Wilkins skorlaması	26
Tablo 5.	Klinik bulgular	35
Tablo 6.	Ekokardiyografik bulgular	35
Tablo 7.	Treg ve Th17 yüzdesi	38

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No:

Şekil 1. Romatizmal mitral darlığının transtorasik eko ile apikal görüntüsü	22
Şekil 2. M-Mod ekokardiyografi ile mitral ön kapakta E-F eğimini düzleşmesi.....	23
Şekil 3. Basınç yarılanma zamanının (PHT) ile mitral kapak alanı ölçülmesi.....	24
Şekil 4. MD’da 2-D ekokardiyografi ile kısa aksta mitral kapak orifisi	25
Şekil 5. Mitral darlığı olan hastada dolaşımdaki Th17 sıklığı artmıştır.....	36
Şekil 6. Mitral darlığı olan hastada dolaşımdaki Treg sıklığı azalmıştır.	37
Şekil 7. Th17 ve Treg hücre yüzdeleri	38
Şekil 8. Çalışma gruplarındaki Th17/Treg oranları	39
Şekil 9. Çalışma gruplarındaki ortalama serum hsCRP düzeyleri	40
Şekil 10. Th17/ Treg oranı ile hsCRP arasındaki ilişki gösterilmiştir (r=0,672; p=0,0001).....	40

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut romatizmal ateş A grubu β hemolitik streptokoklara bağlı üst solunum yolları enfeksiyonunun geç komplikasyonu olarak ortaya çıkan otoimmün bir hastalıktır. Tedavi edilmemiş ya da yetersiz tedavi edilmiş bireylerin %3'ünde akut romatizmal ateş atağı gelişmektedir. Başlıca kalp, eklem, merkezi sinir sistemi, deri ve deri altı dokularını tutar. Kalp dışındaki organ tutulumları geçici ve rezidü bırakmaksızın iyileşirken romatizmal kardit kronik romatizmal kalp hastalığına yol açabilir. Kronik romatizmal kapak hastalığı romatizmal ateş geçiren hastaların %30-45'inde gelişir. Romatizmal kapak hastalığı halen ülkemizde önemli morbidite ve mortalite nedenidir.

Grup A streptokokların virulans mekanizmaları ayrıntılı olarak araştırılmış olsa da bu mikroorganizmaya karşı gelişen immün cevabın moleküler ve hücresel temeli yeterince bilinmemektedir. Bu nedenle A grubu β hemolitik streptokok enfeksiyonları ile ilişkili otoimmün cevaba karşı etkili tedavi henüz tam geliştirilememiştir.

İmmünoloji alanında hızla yeni bilgilere ulaşılmaktadır. Yüzey antijeni CD4+ (CD; cluster of differentiation) olan T lenfositleri içerisinde, Treg (T regülatör) ve Th 17 (T helper) olmak üzere 2 yeni hücre grubu tanımlanmıştır. Th17 hücreleri, IL-17 gibi proinflamatuvar sitokinler salgılayarak hücre dışı patojenlere karşı gelişen immün yanıtta görev alırlar. Fare çalışmaları grup A streptokokların vücuttan eradikasyonu için gerekli immün yanıtta Th17

hücrelerinin başrolde olduğunu göstermiştir. Treg hücreleri ise immun yanıtın kontrolsüz olarak artması ile normal dokulara hasar vermesini engelleyen düzenleyici hücrelerdir.

Pek çok otoimmün hastalık patogeneğinde de Th17 ve Treg hücrelerinin önemli olduğu düşünülmektedir. Bu hastalıklarda Th17 hücrelerinin artarken, Treg hücrelerinin azaldığı gösterilmiştir. Th17/Treg oranının artması spesifik antijene verilen inflamatuvar yanıtın kontrolsüz olarak artmasına yol açarak otoimmüniteyi tetikler.

Hipotezimiz; akut eklem romatizması otoimmün bir hastalıktır ve inflamasyonun devamı kapaklardaki hasarın artmasına neden olacaktır. Çalışmadaki amacımız romatizmal kapak hastalığının en sık formu olan mitral darlığında hastalığın ilerleme derecesi (hafif-orta) ile; inflamasyon belirteci hs-CRP; otoimmünite belirteçleri Th17, Treg hücre sayıları ve Th17/Treg oranı arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 AKUT ROMATİZMAL ATEŞ (ARA)

ARA halk arasında "**beta mikrobu**" da denilen A grubu beta hemolitik streptokok bakterisinin (AGBHS) neden olduğu üst solunum yolu enfeksiyonlarının geç komplikasyonları olarak ortaya çıkan inflamatuvar bir hastalıktır. ARA kalbi, eklemleri, beyni, deri ve deri altı dokularını tutan multisistemik bir hastalıktır. Ancak kalıcı hasarlar sadece kalp tutulumuna bağlı olarak ortaya çıkar. Bu durum 1884 yılında **Laseque** isimli bir bilim adamı tarafından "akut romatizmal ateş eklemleri yalar, kalbi ısıtır" sözleri ile ifade edilmiştir.

Hastalığın tanısının kolay konulmasını sağlamak ve aşırı tanı olasılığını en aza indirmek için ilk kez 1944'te geliştirilmiş ve 1992 yılında modifiye edilmiş olan 'Jones kriterleri' kullanılmaktadır. Bu kriterleri, hastalık için spesifikliğinin yüksek olduğu kabul edilen 5 major bulgu ve daha az spesifik olan 4 minör kriter oluşturur. ARA tanısının konulması için en azından 2 major kriter ya da 1 major+2 minör kriter olmalıdır. Ayrıca geçirilmiş AGBHS'ik boğaz enfeksiyonu delillerinin de mutlaka gösterilmesi gerekmektedir. (Tablo 1)

ARA tedavisi 3 bölümden oluşur.

1. **AGBHS eradikasyonu:** Antibiyotik tedavisi ile immun sistemin streptokok antijenleri ile kronik tekrarlayan temasının önlenmesi amaçlanır.

2. **Anti-inflamatuvar tedavi:** Artrit ve hafif kardit olgularında asetilsalisilat 4 ya da 5'e bölünmüş 100 mg/kg/gün dozunda önerilir. Ağır kardit vakalarında ise steroid kullanımı tercih edilir. Antiinflamatuvar tedavi semptomları azaltır ancak kapak hasarını engellendiğine dair kanıt yoktur ve kronik tedavide kullanılmamaktadır.
3. **Destek tedavisi:** Yatak istirahati, kalp yetmezliği gelişen vakalarda diüretik, digoksin

Tablo 1. Günümüzde akut romatizmal ateş atağının tanısında kullanılan modifiye Jones kriterleri

Major belirtiler: Poliartrit Kardit Kore Eritema marginatum Subkutan nodüller
Minör belirtiler: Klinik bulgular: Artralji ve ateş Laboratuvar bulguları Akut faz reaktanlarında artış (ESH'da ve CRP'de artış) PR intervalinde uzama
Ek olarak: Beta hemolitik streptokok enfeksiyonu geçirildiğini destekleyen bulgu (boğaz kültürü pozitifliği, hızlı antijen testi, antikor titresinde yükselme)

Romatizmal kalp hastalıklarının(RKH) ciddi bir kardiyovasküler morbidite ve mortalite sebebi olduğu ülkemizde, ARA'nın primer ve sekonder profilaksisine gereken önem verilmelidir. İlk romatizmal atağın önlenmesine primer profilaksi, önceden ARA geçirenlerde tekrarlamaların önlenmesine sekonder profilaksi denir.

Primer profilaksi AGBHS farenjitinin zamanında doğru tanısı ile yeterli doz ve sürede uygun antibiyotik tedavisiyle sağlanabilir. Streptokoksik boğaz ağrısının başlangıcından itibaren 7 - 9 gün sonrasına kadar tedavi başlatılırsa ARA'nın primer atağı etkin bir şekilde önlenir. Sekonder profilakside sürekli olarak kullanılan antibiyotikler, AGBHS 'ların üst solunum yollarında kolonizasyonunu ve enfeksiyonunu önleyerek ARA'lı hastayı rekürrensten korur. Bu ilaçlardan en güvenilir olanı 4 haftada bir İM uygulanan 1,2 milyon ünite benzatin penisilin G'dir. Yüksek risk grubunda olanlara 3 haftada bir verilmelidir.

Genel olarak karditsiz (artrit veya koreli) olgularda profilaksi 21 yaşına kadar ya da son ataktan itibaren 5 yıl süreyle yapılır. Bunlardan uzun olanı tercih edilir. Klinik ve ekokardiyografik olarak kalıcı kapak hastalığı olmayan karditli hastalarda profilaksiye 10 yıl süreyle veya 25 yaşına kadar devam edilir. Buna karşılık kalıcı kapak hastalığı olan karditli hastalarda profilaksi son ataktan itibaren en az 10 yıl süreyle ve en azından 40 -45 yaşına kadar, bazen ömür boyu uygulanır.

2.2. AKUT ROMATİZMAL ATEŞ VE ROMATİZMAL KAPAK HASTALIĞINDA İMMÜNOPATOGENEZ

Tedavi edilmemiş ya da yetersiz tedavi edilmiş, AG β HS'a bağlı boğaz enfeksiyonu geçiren bireylerin %3'ünde ARA atağı gelişmektedir. Kronik RKH ise ARA geçiren hastaların %30-45'inde gelişir. Bu durumun yalnızca virulansı yüksek, romatojenik potansiyele sahip streptokokların sıklığı ile açıklanması zordur. AG β HS bakterisinin virulans mekanizmaları ayrıntılı olarak araştırılmış olsa da bu mikroorganizmaya karşı gelişen immun cevabın moleküler ve hücresel temeli yeterince bilinmemektedir. Bu da ARA, RKH ve poststreptokoksik glomerulonefrit gibi AG β HS enfeksiyonları ile ilişkili otoimmun hastalıklara karşı etkili tedavi gelişimini engellemektedir.

RKH immunopatogenezinde en çok üzerinde durulan 'moleküler benzerlik' mekanizmasıdır. AG β HS bakterisinin M proteini; kardiyak miyozin, tropomiyozin, keratin, laminin ve diğer birçok kapak proteini ile yapısal olarak benzerdir. AG β HS bakterisi ile kendi antijen/leri arasındaki farkı algılayamayan immun sistem sağlıklı dokulara zarar verir. Toplumda AG β HS boğaz enfeksiyonları çok sık izlenmesine rağmen ARA ve kronik RKH ancak immun sistemi bakteriye karşı orantısız ya da aşırı yanıt veren duyarlı bireylerde görülür. Kardiyat ataklarının tekrarlanması kapak hasarını artırarak hastalığın progresyonuna neden olur. Ancak bu otoimmun yanıtta hangi hücreler ve sitokinlerin yer aldığı net değildir.

Kronik RKH'nin progresif özelliği, devam eden inflamatuvar aktivite ve/veya ilk oluşan patoloji ile ortaya çıkan türbölün akımın neden olduğu mikro-travmalarla açıklanmaktaydı. Fakat son araştırmalar, devam eden inflamasyon hipotezi lehinedir (1).

Mayo Klinik'te yapılan, 452 MD hastasının kapak preparatlarının histopatolojik olarak incelendiği bir çalışmada, cerrahi olarak çıkarılan kapakların %99'unda inflamasyon bulguları izlenmiştir (2). Son 25 yıldır yapılan histopatolojik çalışmalarda, RKH olan hastaların, kapaklarındaki otoimmün reaksiyondan sorumlu en önemli hücre grubunun CD4+ T lenfositler olduğu ortaya konulmuştur (3-5). Sadece histopatolojik çalışmalarda da değil kronik RKH olan hastaların serumlarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında proinflamatuvar sitokinlerin yüksek olduğu izlenmiştir (6-8).

2.2.1 T lenfositler

Lenfosit, bir lökosit (akyuvar) tipidir. T lenfositler, kanda dolaşan bütün lenfositlerin % 80'ini oluştururlar. Hücresel bağışıklıktan sorumludurlar. T lenfositler yüzeylerinde taşıdıkları T hücre reseptörü (TCR) ile diğer lenfositlerden (B lenfosit ve doğal öldürücü hücreler) ayrılırlar. 'T' kısaltması timüsten gelmektedir ki timüs bu hücrelerin son olgunlaşma evrelerinin geçtiği organdır. T lenfositlerin farklı görevleri olan subgrupları vardır. Bugüne kadar keşfedilmiş subgruplar; sitotoksik T lenfositler, yardımcı T lenfositler (Th), hafıza

T lenfositler, düzenleyici T lenfositler (Treg), doğal öldürücü T (NK) lenfositlerdir.

Yardımcı T hücreleri (Thelper, Th), immunolojik yanıtta diğer immun sistem hücrelerine yardımcı olan hücrelerdir. B hücrelerinin, hafıza B ve plazma hücrelerine matürasyonun, ayrıca sitotoksik T lenfositlerin ve makrofajların aktivasyonuna yardımcı olur. Bu hücreler CD4+ T lenfositler olarak da bilinir çünkü hücre yüzeylerinde CD4 (CD: cluster of differentiation, yüzey farklılaşma antijeni) antijenini taşırlar. CD4+ T lenfositin aktive olması için protein yapısındaki antijenin antijen sunan hücre (makrofaj gibi) tarafından işlenerek, MHC (doku uygunluk antijenleri) sınıf II molekülü ile birlikte CD4+ T lenfosit sunulması gerekir. Antijene özgü CD4+ T lenfositlerin aktive olması ile, bu hücreler hızlıca çoğalmaya ve sitokin denilen immun sistem cevabını regüle eden veya güçlendiren küçük proteinler salgılamaya başlarlar. Th hücreleri, değişik sinyal ve sitokinlerin etkisi ile Th1, Th2, Th3, Th17 gibi farklı özelliklere sahip hücrelere diferansiye olabilirler.

Düzenleyici T hücreleri (Treg), eskiden *supresör T hücreleri* olarak da bilinirlerdi. Bu hücrelerin görevi, T hücre aracılı hücrel immun cevabı azaltarak sonlandırmak ve oto antijenlere karşı gelişebilecek immun cevabı engellemektir. Böylece immun sistemin aşırı ve/veya yanlış cevabına engel olarak immunolojik toleransın gelişiminde rol alırlar.

2.2.2. T helper 17(Th17) ve T regülatör(Treg) hücreleri

Treg hücreleri ilk kez 2003'te, T hücre aracılı hücrel immun yanıtı düzenleyen T hücre subgrubu olarak tanımlanmıştır (9). Treg hücreleri CD4, CD25 hücre yüzey antijenlerini taşıyan ve hücre içinde transkripsiyon faktörü FoxP3 eksprese eden hücrelerdir.

IL-10, TGF β gibi immunsupresif etkileri olan sitokinler salarak, T hücre aracılı hücrel immun yanıtın kontrolsüz artarak doku hasarına yol açmasına engel olur. Ayrıca otoantijenlere karşı gelişebilecek immun yanıtı baskılayarak otoimmun hastalıkların gelişimine engel olduğu düşünülmektedir.

Treg hücrelerinin transkripsiyon faktörü FoxP3'ün fonksiyonunun bozulduğu, X'e bağlı genetik geçiş gösteren IPEX (poliendokrinopati, enteropati, X'e bağlı sendrom) sendromu, çok sayıda otoimmun hastalık, poliendokrinopati, immun disregülasyon ve enteropati ile karakterizedir (10). Treg hücre fonksiyonlarındaki azalmanın ise romatoid artrit, psöriasis gibi otoimmun hastalıklara neden olduğu gösterilmiştir (11-13).

Otoimmun hastalıklarda, Treg hücre sayı ve fonksiyon azalışı daha ayrıntılı araştırılırken, bu hastalıklarda başka bir T hücre alt grubunun arttığı farkedilmiştir (14, 15). IL-17 başta olmak üzere proinflamatuvar sitokinler salgılayan bu hücre grubuna 'Th17' ismi verilmiştir. Th17 hücrelerinin multiple skleroz, psöriasis, romatoid artrit, ankilozan spondilit, Crohn hastalığı gibi pek çok otoimmun hastalıkta periferik kanda arttığı gösterilmiştir (16- 21). Th17 ve

Treg hücreleri, birbirlerinin gelişim ve fonksiyonlarını ters yönde etkilemektedirler (22). Bugünkü bilgilerle, Th17/Treg oranının, inflamasyon ve otoimmunitenin gelişimini belirlediği düşünülmektedir (22-24).

Yapılan hayvan ve insan hücre kültürü çalışmalarında, AGBHS enfeksiyonuyla tetiklenen TGF- β 1 indüksiyonunun, Th17 hücreleri aracılı immun yanıtı neden olduğu, bu yanıtla AGBHS'a karşı etkili koruma sağlanabildiği gösterilmiştir (25). Bu nedenle, kontrolsüz ya da artmış Th17 cevabı, AGBHS enfeksiyonları ile ilişkili destrüktif otoimmun yanıtın nedeni olabilir.

Periferik kandaki Th17 ve Treg hücrelerinin tanınması ve sayılarının belirlenmesi, hücre membranlarında taşıdıkları yüzey antijenlerinin “Cluster of Differentiation, CD” ve hücre içindeki hücreye özgü RNA ya da proteinlerin akım sitometride belirlenmesi ile mümkündür. Treg hücresi, hücre yüzey belirteçleri CD4, CD 25 yüksek pozitif olan ve hücre içinde transkripsiyon faktörü FoxP3 pozitif olan hücre olarak tanımlanmıştır. Th17 hücre ise, hücre dışı CD4 ve hücre içi IL-17 belirteçlerinin pozitif olduğu hücre olarak tanımlanmıştır. Th17 analizi için, hücre içindeki IL-17'nin gösterilmesi gerekli olduğundan hücre boyamasına geçilmeden önce, IL-17 sentezini artırmak için periferik kan mononükleer hücrelerinin (PBMCs) lenfositleri non-spesifik olarak uyaran ajanlar ile kültüre edilmesi önerilir.

2.3. AKIM SİTOMETRİ

Akım sitometri, lösemik hücrelerin immunfenotiplemesi, hematopoetik kök hücrelerin sayılması ve alt gruplarının belirlenmesi, hücre canlılığının tespit edilmesi, apoptoz ile ilgili araştırmalar ve hücresel immun yanıtın belirlenmesinde hematoloji ve immünoloji alanlarında sık kullanılan bir hücre analiz yöntemidir.

Akım sitometresindeki analizler için hücrelerin sıvı içinde süspansiyon halinde bulunması gerektiğinden kan hücreleri, akım sitometride en çok incelenen hücreler olmuşlardır. Solid dokular ise hücreler disaggrege edilip hücre süspansiyonu hazırlanarak akım sitometrik analizde kullanılmaktadır. Hücreler, yüzeylerindeki veya hücre içindeki proteinlere özgün antikorlarla inkübe edilerek antijen-antikor bağlanmaları sağlanır. Her spesifik antikor FITC, PE, PerCP gibi floresan boyalarla işaretlenmiştir. Böylece belirli antijene sahip hücrelerin laser ışını ile karşılaştığında verdiği floresan sinyalleri değerlendirilerek o hücrenin hangi spesifik antijeni taşıdığı belirlenebilir. Hücrelerin taşıdıkları antijenler yanı sıra hücre içi enzimlerin, DNA, RNA miktarlarının da uygun florokromlar ile işaretlenerek belirlenmesi mümkündür. Akım sitometrik incelemede farklı florokromlar ile işaretlenen hücreler, basınç altında “flow cell” denilen kısımdan geçerler ve burada laser ışınına maruz kalırlar. Hücrelerin üzerine bağlanan monoklonal antikorlar laser ışınını absorbe ederek üzerlerindeki florokromun özelliğine göre farklı dalga boylarında ışın saçarlar, her hücreden saçılan ışınlar çoklu dedektörler yardımı ile her hücre için ayrı ayrı belirlenir ve bu bilgiler bilgisayar ortamına aktarılır. Florokromların saçtığı ışınlar yanı sıra, hücreye çarpıp ileri doğru saçılan ve hücrenin büyüklüğü ile ilgili olan laser ışınları (FSC)

hücreden 90 ° açıyla yana saçılan ve hücrenin granülaritesi/kompleks yapısı ile ilgili olan ışınlarla (SSC) ilgili veriler de aktarılmaktadır. Her hücre ile ilgili depolanan tüm bilgiler, analiz için hazırlanmış programlar yardımı birçok parametreyi bir arada değerlendirecek şekilde analiz edilir.

2.4. MİTRAL DARLIĞI

2.4.1. Giriş

Romatizmal mitral darlığı (MD), ARA atağı/ atakları sonucunda kapakçıkların kalınlaşması ve kalsifikasyonu, komissür ve kordaların füzyonu gibi mitral aparatta meydana gelen yapısal değişikliklerin; sol ventrikül (LV) girişinde yaptığı obstrüksiyon ile LV diyastolik doluşuna engel oluşturan bir kalp kapağı hastalığıdır. MD transtorasik ekokardiyografi (TTE) ile tanısı konulan, cerrahi veya perkütan yolla tedavi edilen ilk kapak hastalığıdır (26-29). Fakat tanı ve tedavisinde elde edilen ilerlemelere karşın dünya nüfusunun yaklaşık 2/3'nün yaşadığı gelişmekte olan toplumlarda hala morbiditenin önde gelen nedenlerindendir.

2.4.2. Epidemiyoloji

MD, ARA prevalansının yüksek olduğu gelişmekte olan ülkelerin sorunudur. Hindistan'da okullarda yapılan kesitsel bir çalışmada, ARA ve/veya romatizmal kapak hastalığı (RKH) prevalansı 1000 öğrencide 6 iken, gelişmiş batı ülkelerinde 0,5'dir (30). Davutoğlu ve arkadaşları Güneydoğu Anadolu'da yaşayan 43,900

hastanın transtorasik ekokardiyografi (TTE) kayıtlarını tarayarak yaptıkları retrospektif çalışmada, RKH prevalansını %4.3 bulmuşlardır (31). Ülkemizin batısından bildirilen raporlar da ise RKH prevalansı, batılı ülkelerde izlenen prevalansa benzer şekilde %0,2-0,3 civarındadır (32, 33).

2.4.3. Etyoloji

MD'nın en sık nedeni ARA olmasına karşın ancak hastaların yarısından azı ARA öyküsü verebilir. Devam eden inflamasyon ve hemodinamik hasar kapak patolojisinin progresyonuna neden olur (1). ARA epizodlarının sıklığı ile kapak hasarının ilerlemesi arasında güçlü, doğrusal bir ilişki vardır. Bu durum MD'nın doğal seyrinin bireyler arasındaki ve dünya çapındaki değişkenliğini açıklayabilir (34). ARA seyrinde gelişebilen akut karditte sıklıkla mitral yetmezliği (MY) izlenirken; kronik RKH'nda en sık mitral darlığı (MY de eşlik edebilir) görülür. MD hastalarının % 38'inde aort ve triküspid kapaklarının da eşlik ettiği çoklu kapak hastalığı, %35'inde aort, %6'sında ise sadece triküspid kapağın ilave tutulumu vardır. MD hastalarının çoğu kadındır. Tablo 2'de mitral darlığının nedenleri özetlenmiştir.

Tablo 2. Mitral darlığı nedenleri**1-En sık neden**

- a.Akut romatizmal ateş

2-Nadir nedenler

- a.Romatoid artrit
- b.Sistemik Lupus Eritamatosus
- c.Metiserjit tedavisi
- d.Akut İnfektif Endokardit
- e.Sol atrial mikzoma
- f.Büyük trombüs ('ball valve')
- g.Karsinoid Sendrom
- h.Annüler kalsifikasyon (daha çok MY yapar)
- i.Amiloid birikimi
- j.Hunter-Hurley Sendromu (mukopolisakkarid birikmesi)
- k.Fabry hastalığı
- l.Whipple hastalığı (PAS pozitif makrofaj depolanması)
- m.Konjenital mitral darlığı:
 - *Kortriatriatum (sol atriumda konjenital membran)
 - *tek papillar kas (paraşüt deformitesi)

2.4.4 Patoloji

Mitral kapak aparatı; ön ve arka kapakçıklar, kapakları kalbin fibröz iskeletine bağlayan annulus, kapakların uçlarından papiller kaslara uzanan korda tendinealar ve papiller kaslardan oluşur. Kapaklar makroskopik olarak ince, yarı saydam, düzgün ve parlak görünümlüdür. Kapakçıklar aynı özelliklere sahip

kordalar ile anterolateral ve posteromediyal papiller kaslara tutunur. Mikroskobik olarak fibröz yapının üzeri endokard ile kaplıdır.

Romatizmal kalp hastalığında mitral kapak tutulumu hastaların yaklaşık %90'ında izlenmektedir. Kapakçıklardaki inflamatuvar olayın streptokokal antijenler ile kapak dokusu arasındaki çapraz reaksiyon sonucu başladığı düşünülmektedir. ARA seyrinde kapakçıklardaki inflamasyon ve ödemle kapakçıklar kalınlaşır ve şişer. Kapak uçlarında ve koaptasyon bölgelerinde 'verrü' olarak adlandırılan bir milimetre çapında inci tanesi gibi çıkıntılar oluşur. Uzun dönemde ise fibrozis, neovaskülarizasyon ve kollajen artışı sonucu kapakçıklar uçlarından başlayıp bazale doğru kalınlaşır ve komissürler birbirlerine yapışır. Kordalar da aynı şekilde kalınlaşır, kısalır ve birbirlerine yapışır. Zamanla kapak yapılarında distrofik kalsifikasyonlar meydana gelir ve kapak hareketleri iyice kısıtlanır. Böylece diyastol sırasında mitral apparatus; en dar yerini çoğu zaman kapak uçlarının, tabanını ise mitral anulusun oluşturduğu huni şeklinde izlenir.

2.4.5 Patofizyoloji

Mitral kapak normalde sistol sırasında tam koapte olarak sol atriyumda kanın geri kaçmasını engeller. Diyastol sırasında ise ventrikül içerisine doğru serbestçe açılarak 4-6 cm²'lik geçiş alanı oluşturur. Böylece kısıtlama olmaksızın kanın sol atriyumdan LV doluşuna izin verir.

MD'nin primer hemodinamik sonucu, diyastolde sol atriyum ile sol ventrikül arasında basınç gradiyentinin oluşmasıdır. Özellikle mitral kapak alanı (MKA) 2 cm^2 'nin altına inince, diyastolde atriumdan ventriküle kan akımının idamesini sağlayan transmitral basınç farkı oluşmaya başlar. MKA 1 cm^2 olduğunda istirahat kardiyak outputunun sağlanması için gerekli olan transmitral gradient yaklaşık 20 mmHg 'dır. Bu durumda sol ventrikül (LV) diyastol sonu basıncının normal olduğu varsayılırsa, ortalama sol atrium (LA) basıncı 25 mmHg olacaktır. LA basınç artışı LA'da yeniden şekillenmeye katkıda bulunarak atriyal fibrilasyon (AF) gelişimine zemin hazırlar. Ayrıca yüksek LA basıncının geriye doğru yansması zamanla pulmoner vasküler yatakta basınç ve rezistans artışı ile pulmoner hipertansiyon (PHT) gelişimine neden olur. ACC/AHA'ya göre mitral darlığın sınıflandırılması Tablo 3'de özetlenmiştir (35).

Tablo 3. ACC/AHA'ya göre mitral darlığın sınıflandırılması

	Hafif MD	Orta MD	Ciddi MD
Kapak alanı cm^2	>1.5	1.0-1.5	<1.0
Ortalama transmitral gradiyent mmHg	<5	5-10	>10
Pulmonar arter sistolik basıncı mmHg	<30	30-50	>50

2.4.6.Klinik Prezantasyon

İlk romatizmal kardit epizodu ile semptomatik MD ortaya çıkması arasında, ortalama 10 ile 20 yıllık bir süre vardır. Hastalar genellikle 30-40 yaşlarında semptomatik olurlar. Gelişmekte olan ülkelerde daha sık ARA ataklarının olması nedeniyle latent period daha kısadır. Hastalar sıklıkla çocukluk veya adolesan çağında semptomatik hale gelirler.

Hastalar genellikle kalp hızının ve/veya mitral kapaktan geçen kan akımının arttığı egzersiz, emosyonel stres, gebelik, enfeksiyon, yüksek ventrikül yanıtı AF ve tirotoksikoz gibi durumlarda nefes darlığı ile başvururlar. Genellikle efor dispnesi olarak başlayan nefes darlığı, pulmoner venöz basınç arttıkça paroksizmal nokturnal dispne (PND) ve ortopneye ilerler. PHT gelişen vakalarda, sağ ventrikül yetmezliği bulguları ön planda olabilir.

MD hastalarında ister paroksizmal isterse persistan olsun özellikle AF varlığında emboli riski belirgin olarak artmaktadır. Hatta MD hastalarının ilk başvuruları embolik bir olay ile olabilir. Malforme mitral kapak aynı zamanda endokardit oluşumu için zemin hazırlamaktadır. Sinüs ritmindeki MD hastasında embolik olay izleniyorsa, paroksizmal AF veya infektif endokardit açısından değerlendirme yapılmalıdır.

2.4.7. Fizik Muayene

2.4.7.1. İnspeksiyon ve Palpasyon

Ciddi mitral darlığı olan hastalarda, düşük kardiyak debi ve sistemik vazokonstriksiyon nedeniyle pembe-mor renkli yüz (al yanak, mor dudak) görünümü (*Facies mitrale*) oluşabilir. Sağ ventrikül yetmezliği olduğu durumlarda juguler venöz basınç artarak, boyun venlerinin dolgun görünmesine neden olur. Sinüs ritminde ve PHT olanlarda juguler venlerde belirgin ‘a’ dalgası izlenebilir. Kalp tepe atımı değişmemiştir, lateral dekubit pozisyonunda apikal diyastolik tril palpe edilebilir. Sağ ventrikül hipertrofisi gelişmiş ise parasternal sağ ventriküler lift; PHT varlığında P2 palpe edilebilir.

2.4.7.2. Oskültasyon

Mitral darlığında dikkatli bir oskültasyon tanısall olabilir. Ancak gebelikte ve hızlı AF durumunda fark edilmesi güçtür. Birinci kalp sesi şiddetlenmiştir. Fakat mitral kapakta fibrozis ve kalsifikasyon fazla ise birinci kalp sesinin şiddeti azalır. Birinci kalp sesinin şiddetli olması kapakların mobil olduğunun da bir göstergesidir. PHT gelişmiş ise P2 sertleşir ve PHT daha çok artınca A2-P2 aralığı daralır. PHT çok ciddi ise, bunun neden olduğu diğer bulgular; pulmoner arter dilatasyonuna bağlı sistolik klik, triküspid yetmezliği üfürümü, pulmoner yetmezliğe bağlı diyastolik üfürüm (Graham-Steell üfürümü) ve sağ ventrikül hipertrofisine bağlı oluşan S4’dür.

Mitral darlığında en karakteristik dinleme bulgusu mitral kapağın açılma sesidir, A2'den 0.04-0.12 sn sonra gelir ve daralmış mitral kapakların ani gerilmesine bağlanır. S1'in sertliği gibi bu bulgu da kapakların fazla sert ve kalsifik olmayıp, hareketlerini koruduğunun bir belirtisidir ve aşırı fibrotik, kalsifik kapaklarda duyulmaz. Steteskopun çan kısmı ile apekte en iyi duyulan '*açılma sesi*' S2'yi izler ve sol atrial basınç arttıkça S2'ye yaklaşır. Mitral açılma sesinden hemen sonra MD için tipik olan düşük frekanslı alçak perdeli mid-diastolik rulman başlar. Üfürüm en iyi steteskopun çan kısmı ile apekten duyulur; hastayı sol yanına çevirmek, öksürtmek ve efor yaptırmakla şiddeti artar. Diyastolik üfürümün süresi mitral darlığının derecesini tahmin etmede iyi bir kriterdir. Hafif darlıkta üfürüm erken diyastolde duyulup kaybolur ve diyastol sonunda sol atrial kontraksiyon ile tekrar işitilir. Sıkı mitral darlığında ise diyastolik üfürüm, bütün diyastol süresince işitilir. Sinüs ritminde olan hastalarda atriyal kontraksiyon sonucu atriyal basınç artışı nedeniyle presistolik şiddetlenme işitilir. Çok ciddi darlıkta, düşük debide, ciddi PHT ve sağ kalp hipertrofisinde, üfürüm duyulamayabilir ve bu durum sessiz MD olarak ifade edilir.

2.4.8. Laboratuvar ve Diagnostik Testler

2.4.8.1. Elektrokardiyografi

Sol atriyal hipertrofi ve genişleme sonucunda P dalgası genişler (derivasyon II de >0.12 sn) ve çentiklenir(P mitrale) . Pulmoner hipertansiyon ve

sağ ventrikül hipertrofisi durumunda sağ aks deviyasyonu, V1 ve V2’de uzun R dalgası ($R>S$ veya $R/S >1$) gözlenir.

2.4.8.2. Telekardiyogram

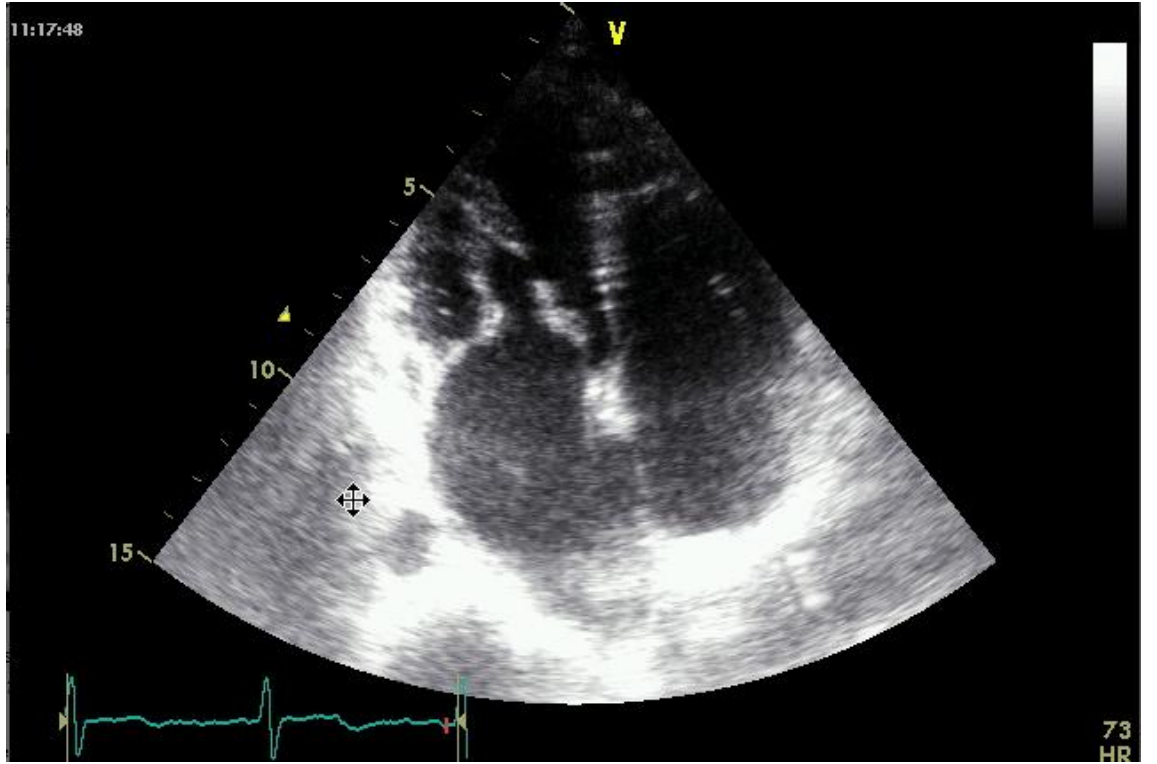
Hafif mitral darlığında telekardiyogram normal olabilir. Sol atrium büyümesi ön-arka pozisyonda kalbin sol kenarının düzleşmesi veya konveks bir hal alması ile kendini gösterir. Bazen sağ tarafta ikinci bir kenar olarak da (çift kontür) görülebilir.

Pulmoner hipertansiyon hilustaki arter gölgelerinin genişlemesine neden olur. Sol atriumdaki basınç yüksekliği üst zonlarda pulmoner venlerin genişlemiş olarak görülmesine sebep olur (geyik boynuzu görünümü). Pulmoner venöz basıncın çok arttığı hallerde oluşan intersitisyel ödem, buzlu cam manzarasına ve alt zonlarda, kostofrenik açılar hizasında, kısa sert horizontal Kerley B çizgilerinin oluşmasına neden olur. Bu bulgular mitral darlığının önemli olduğunu gösteren verilerdir.

2.4.8.3. Transtorasik Ekokardiyografi(TTE)

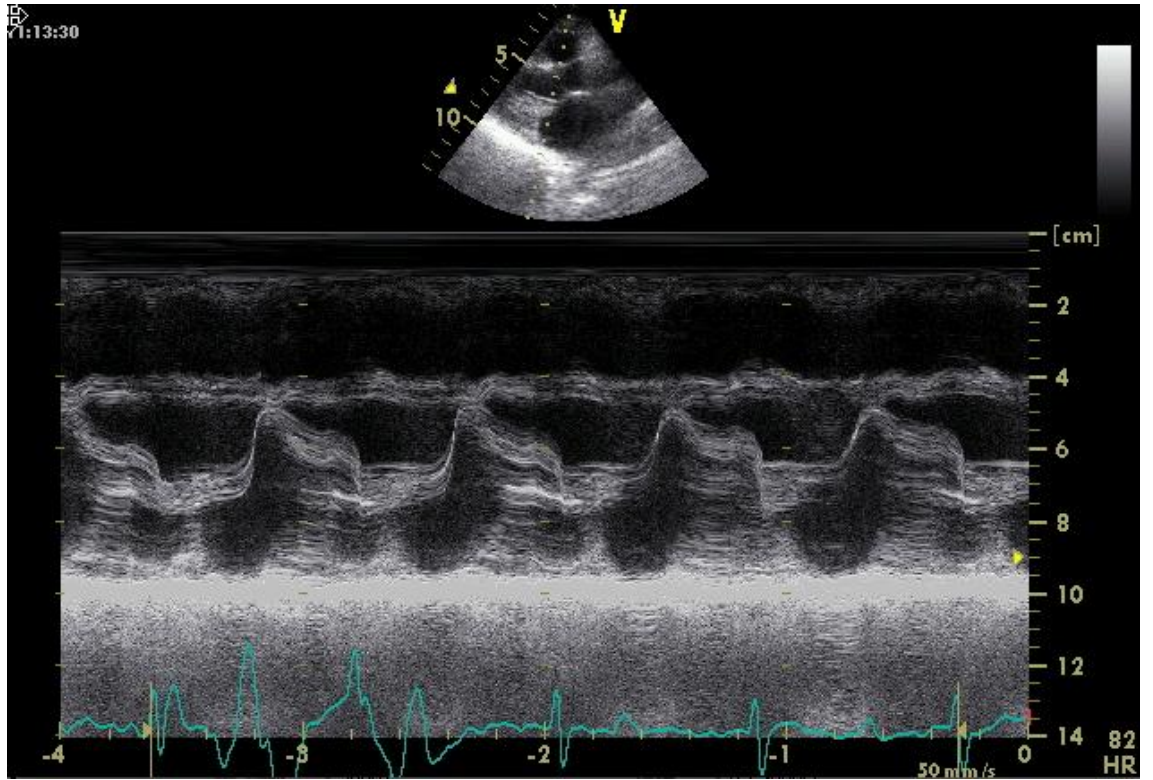
Mitral darlığın değerlendirilmesinde TTE tanı, ciddiyetin belirlenmesi, progresyon takibi, perkutan mitral balon valvuloplastiye uygunluk ve eşlik eden diğer kapak lezyonların tanımlanmasında önemli yer tutar.

İki boyutlu ekokardiyografide MD kapakçıklarda anormal kısıtlanmış diyastolik hareket, komissürlerin füzyonu, daralmış olan kapak alanı, kalınlaşmış, deforme olmuş, yer yer kalsifik yaprakçık yapısı ile karakterizedir. Deforme kapağın artmış ekojenitesi komissural füzyon hattında en belirgindir. Ekojenite artışının kapak uçlarından annulusa doğru ilerlemesi romatizmal MD'nı mitral annuler kalsifikasyondan ayırır. Daha çok anterior yaprakçıkta izlenen anormal hareket; yaprakçık uçlarındaki hareket kısıtlılığı, anterior yaprakçığın sol ventrikül çıkış yolu yönüne kubbeleşmesi (*doming, Hokey sopası görünümü*), diyastolik ilk kapanma hareketinin kısmen veya tamamen kaybı ile karakterizedir (Şekil 1). Diyastolde hızla açılan posterior yaprakçık hareketi kısıtlanmıştır. Diyastolik doming, MD dışında, mitral kapak prolapsusu, mitral kapak anterior yaprakçık ucunda vejetasyon veya kitle olması durumunda da görülebilir. Ancak mitral kapak prolapsusunda hareket kısıtlılığı yoktur.



Şekil 1. Romatizmal mitral darlığının transtorasik eko ile apikal görüntüsü

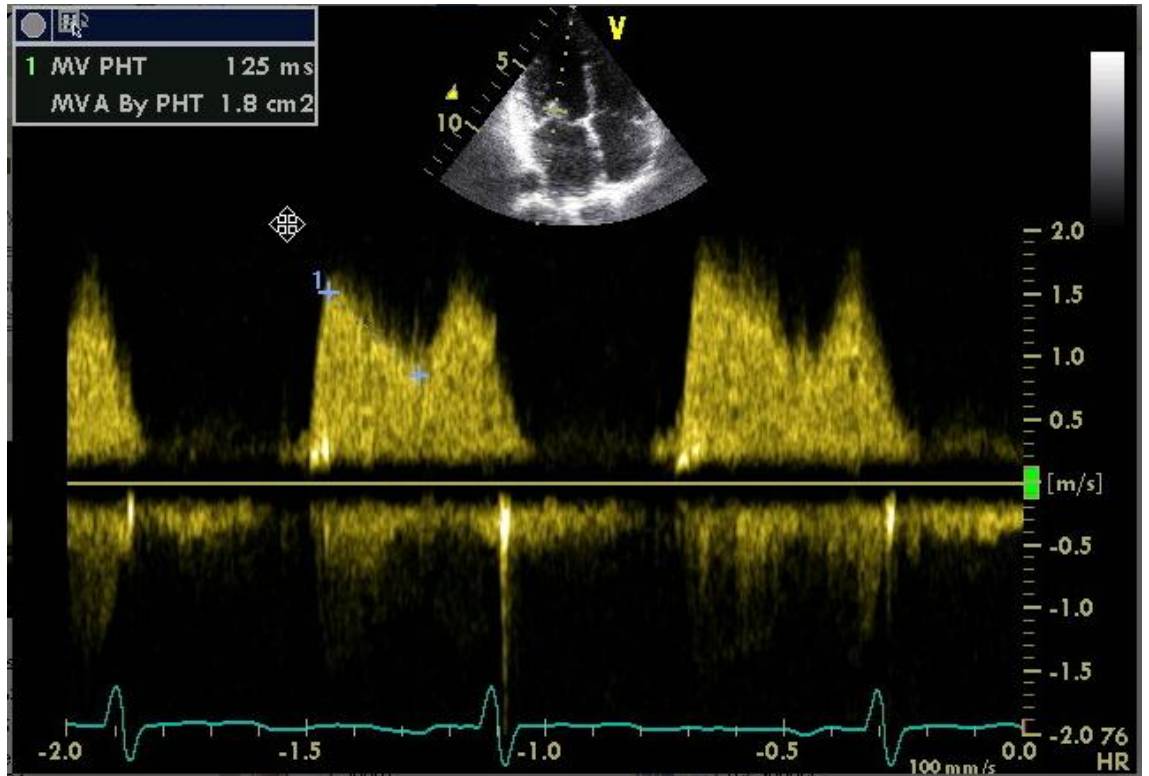
M-mode ekokardiyografide stenotik olan mitral kapak, kalın, deforme ve kalsifiye görünür, ekojenitesi artmıştır. Kapağın açılım amplitüdü azalmıştır, posterior yaprakçığın anterior hareketi ve anterior yaprakçığın diyastolik E-F eğiliminin azaldığı izlenir (Şekil 2).



Şekil 2. M-Mod ekokardiyografi ile mitral ön kapakta E-F eğimini düzleşmesi

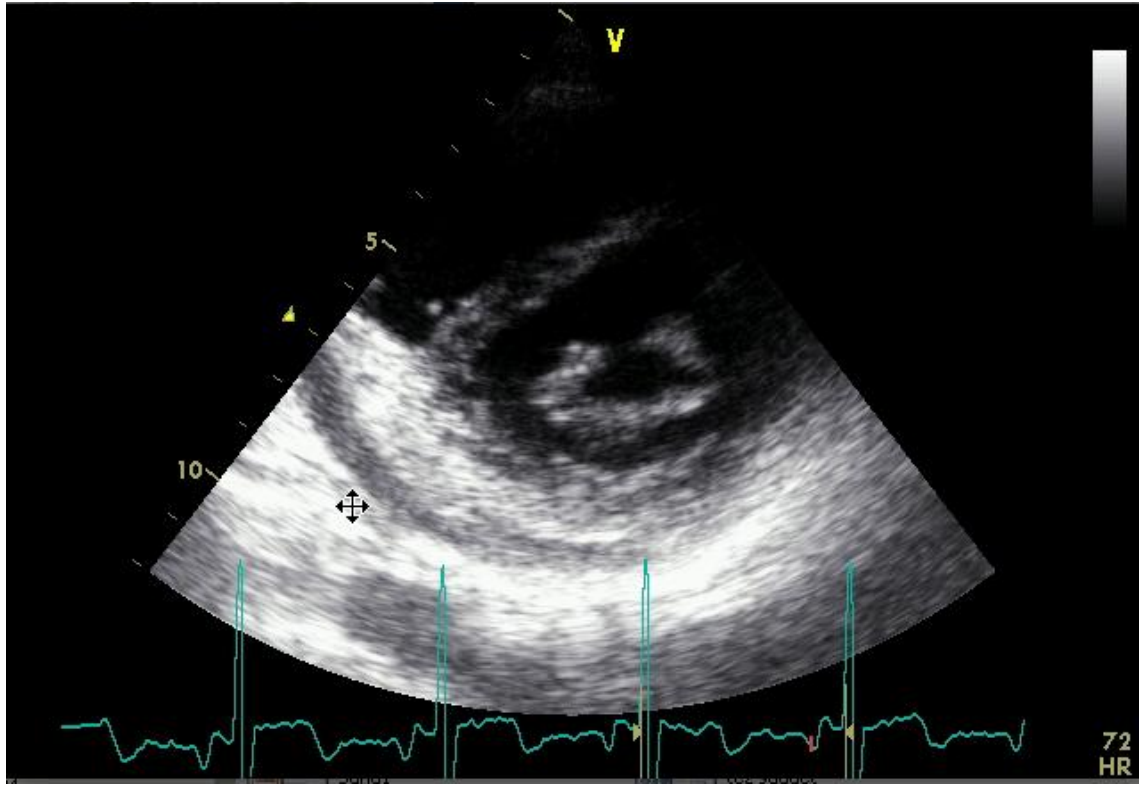
Doppler ekokardiyografiyle, MD'nin ciddiyetinin belirlenmesinde en önemli faktör olan LA ve LV arasındaki transmitral basınç farkı (gradiyent) noninvaziv olarak ölçülebilir. Doppler metodları ile ölçülen mitral giriş akımları normalde 1 m/sn altında iken MD'de 1 m/sn üzerine çıkmaktadır. Doppler akım hızlarından Bernoulli denklemi ile basınç gradiyentleri hesaplanabilmektedir ($\Delta P = 4 \times V^2$). Ortalama gradiyent, mitral E ve A dalgaları eğrisi altındaki alanın hesaplanmasıyla bulunabilmektedir. Ciddi mitral darlığı, ortalama basınç gradiyentinin >10 mmHg olması olarak tanımlanır. Doppler ekokardiyografide ölçülen transmitral basınç gradiyentinin MKA dışında hastanın volüm durumundan, kalbin atım volümünden ve diyastol süresini etkileyen kalp hızından etkilenebileceği unutulmamalıdır.

MKA, Doppler ekokardiyografi kullanılarak basınç yarılanma zamanı, devamlılık denklemi ve PISA yöntemleri ile hesaplanabilir. MKA değerlendirilmesinde kullanılan en sık yöntem basınç yarılanma zamanıdır (Şekil 3). Basınç yarılanma zamanının 220 msn olması, 1 cm²'lik mitral kapak alanına eşittir. Darlık dışındaki nedenlere bağlı ani transmitral gradiyent değişikliği yaratan durumlarda MKA'nın basınç yarılanma yöntemi ile ölçülmesi hatalı sonuçlar doğurabilir. Aort yetersizliği veya sol ventrikül hipertrofisi bu duruma örnektir.



Şekil 3. Basınç yarılanma zamanının (PHT) ile mitral kapak alanı ölçülmesi

Perkutan mitral balon valvuloplastiden(PMBV) hemen sonra da MKA ölçümü için bu yöntem uygun değildir. MD ciddiyeti değerlendirilmesinde en doğru yöntem, doğru uygulandığında, darlığın direk planimetrik olarak ölçülmesidir. (Şekil 4)



Şekil 4. MD’da 2-D ekokardiyografi ile kısa aksta mitral kapak orifisi

Ekokardiyografi, MD olan hastalarda tedavi seçiminde özellikle valvuloplasti için uygun olan hastaların belirlenmesinde kullanılır. Kapak mobilitesi, kalınlık, kalsifikasyon ve subvalvuler tutulum kriterleri perkutan mitral balon valvuloplasti (PMBV) prosedüründen fayda görecektir hastaları belirlemede

kritik öneme sahiptir. Bu faktörlerin etkilediği valvüler tutulum Abascal, Wilkins ve arkadaşları tarafından 1’den 4’e kadar derecelendirilmiştir (36). Bu ekokardiyografik skorumda 8 ve daha az skora sahip hastaların valvuloplasti sonuçları daha iyi saptanmıştır. 10 ve daha üzeri skoru olan hastalarda daha yüksek komplikasyon oranı saptanmıştır (37). (Tablo 4)

Tablo 4. Mitral kapağın Wilkins skoruması

Derece (0=normal)	Hareketlilik	Subvalvüler yapı	Yaprakçık kalınlığı	Kalsifikasyon
1	Kapak ileri derecede hareketli, yalnız kapakçık uçları kısıtlı	Kapakçıkların altında minimal kalınlaşma	Kalınlık normale yakın (4-5 mm)	İzole, tek bölgede eko kontrastı artmıştır
2	Kapakçığın orta kısmının hareketi kısıtlı, bazal kısmı normal	Kordaların üçte birini kapsayan kalınlaşma	Kapakçık kenarlarında 5-8 mm’lik kalınlaşma mevcut, orta kısım normal	Kapakçık uçlarında sınırlı dağınık parlaklık artışı
3	Kapakçıkta diastolde bazalden kaynaklanan öne doğru hareket mevcut	Kalınlaşma kordaların distal üçte birine kadar uzanmakta	Tüm yaprakçıkta 5-8 mm’lik kalınlaşma	Kapakçık orta kısmına kadar yayılan parlaklık artışı
4	Diastolde minimal hareket mevcut veya hareket yok	Kordalarda papillar kaslara kadar ulaşan yaygın kalınlaşma	Tüm yaprakçıkta >8-10 mm’lik kalınlaşma	Kapakçık dokusunun çoğunu kapsayan parlaklık artışı

2.4.9 Mitral Darlığında Tedavi

MD'nin doğal seyrinde, semptomlar arttıkça mortalitenin arttığı bilinmektedir. Bu nedenle semptomatik MD hastaları (NYHA göre fonksiyonel sınıfı 2 veya daha fazla olanlar) perkütan veya cerrahi tedavi açısından değerlendirilmelidir. Ayrıca asemptomatik ancak orta veya ciddi MD olan hastalar, istirahat veya egzersizdeki pulmoner arter basınçları göz önünde bulundurularak perkütan veya cerrahi tedavi açısından değerlendirilmelidir.

PMBV, mitral kapağa müdahale endikasyonu olan, mitral kapak Wilkins skoru 8 veya altında olan hastalarda, sol atrial trombüs ve orta-ileri MY yok ise ilk tedavi seçeneği olarak düşünülmelidir.

Cerrahi tedavi, mitral kapağa müdahale endikasyonu olan ancak mitral kapağı PMBV'ye uygun olmayan ya da cerrahi olarak diğer kapaklara da müdahale gereken hastalarda düşünülür. Açık ya da kapalı cerrahi mitral valvuloplasti ve mitral kapak replasmanı(MVR) cerrahi tedavi seçenekleridir. Yoğun fibrozis ve kalsifikasyon olması ve eşlik eden MY nedeniyle çoğu hasta cerrahi valvuloplasti yapılmasına uygun değildir; bu nedenle çoğu hastaya MVR yapılır.

MVR'de mitral aparatın tamamı çıkarılır yerine yapay kapaklar konur. Mitral aparatın çıkarılması ventrikül geometrisini bozup ejeksiyon fraksiyonunda düşmeye neden olur. Bu nedenle kordal yapı ve arka yaprak gözden geçirilerek, mümkün ise kordalar kesilmeden korumalı MVR yapılmalıdır. Ancak yoğun

kalsifikasyon, fibrotik kalınlaşma ayrıca kapak altı füzyon ile sekonder orifis oluşması durumunda kordal yapıların korunması mümkün olmaz.

MVR sonucunda mitral aparatın çıkarılmasının LV geometrisi ve fonksiyonlarını bozması dışında takılan metalik ya da biyoprotez kapaklar da bazı sorunları beraberinde getirir. Yapay kapakların başlıca komplikasyonları; hasta-kapak uyumsuzluğu, protez kapak disfonksiyonu, pannus oluşumu, trombüs oluşumu ve embolik olaylar, infektif endokardit, kapak ayrışması, biyoprotezlerde görülebilen kapak yırtılması, flail kapak ve ciddi derecelere varan akut MY'dir. Antikoagülan tedavi devamlılığı da bir takım zorluk ve komplikasyonları beraberinde getirmektedir. Bütün bu olasılıklardan sonra “en iyi kapak hastanın kendi kapağıdır ve takılan her kapak yeni bir hastalığın başlangıcıdır” sözünü unutmaksızın risk-fayda oranı iyi hesaplanarak kapak değişimine karar verilmelidir.

Egzersiz dispnesi şeklinde hafif semptomları olan hastalarda sol atrium basıncını düşürmek amacıyla tuz kısıtlaması ve diüretik tedavisi önerilmekte; beta-blokerler bu grupta egzersiz kapasitesini iyileştirebilmektedir.

AF semptomları arttırdığından, beta blokerler, kalsiyum kanal blokörleri ve digital ile hız kontrolü sağlanmalıdır. Tromboemboli MD'de korkulan bir komplikasyondur; hastaların %20'sinde ortaya çıkmakta, sıklığı yaş ve atrial fibrilasyon varlığı ile artmaktadır. AHA/ACC kılavuzu, MD olup AF'si (paroksizmal, persistan veya kronik) veya embolik olay öyküsü ya da sol atrial

trombüsü olan tüm hastalarda varfarin ile antikoagulasyonu sınıf 1 endikasyonla önermektedir (35). Tavsiye edilen İNR düzeyi 2.0-3.0'dır.

Son kılavuzlar MD hastalarında infektif endokardit profilaksisini önermemektedir (38). ARA için ikincil koruma profilaksisi uygulanmalıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 HASTA GRUBU

Ocak 2012-Nisan 2012 tarihleri arasında hastanemiz ve Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Kardiyoloji polikliniklerine başvuran romatizmal MD olan 50 hasta ve ekokardiyografi ile RKH dışlanmış kontrol grubu çalışmaya dahil edilmiştir. Hasta grubu; hafif MD ($MKA > 1,5$; $n=25$) ve orta MD ($MKA = 1-1,5$ veya PMBV öyküsü olan; $n=25$) olarak 2 gruba ayrılmıştır. Çalışmada dışlama kriterleri; sinüs ritmi dışında ritmi olan hastalar, bilinen otoimmün hastalık, diabetes mellitus, koroner arter hastalığı varlığı; NSAID, kortikosteroid ve statin kullanımı; ARA atağı, akut infeksiyon, malignite, RKH dışında başka kapak patolojisi ve orta-ileri derecede kapak yetmezliği olarak belirlenmiştir.

EKOKARDİYOĞRAFİK İNCELEME

Çalışmaya alınan hastalar ve kontrol grubu konvansiyonel 2-D ekokardiyografi ve renkli Doppler ekokardiyografi yapılmıştır. Ekokardiyografik incelemede aynı ekokardiyografi cihazı kullanılmıştır (GE Vivid 7 Pro Ultrasound, Horten, Norway). Kullanılan ekokardiyografi probu 1,5-3,6megaHertzlik multi-frekansli transdüserdir.

Amerikan Ekokardiyografi Cemiyeti önerilerine göre M-mod, 2-Boyutlu inceleme ve Doppler ekokardiyografi ile parasternal görüntülerden sol ventrikül sistolik ve diyastolik çapları, sol atrium volüm indeksi, mitral kapağın planimetrik alanı, apikal görüntülerden PHT'ye göre mitral kapak alanı, Wilkin's skoru hesaplandı, ayrıca diğer kapaklardaki romatizmal tutulum değerlendirildi.

3.3 AKIM SİTOMETRİ İLE TH17 VE TREG HÜCRE ANALİZİ

Hastalardan alınan 15-20 cc miktarındaki periferik kan örnekleri heparinli tüplere alındı ve 2 saat içerisinde akım sitometri analizi için hazırlıklara başlandı. Periferik kan mononükleer hücreler (PBMCs), ficol dansite gradyenti kullanılarak periferik kanın santrifüjü ile elde edildi.

Th17 hücre, hücre dışı CD4 ve hücre içi IL-17 belirteçlerinin pozitif olduğu hücre olarak tanımlanmıştır. IL-17, Th17 hücrelerinin antijenik uyarımı sonucunda hücre içinde sentezlenir. Bu nedenle Th17 analizinde hücre belirteçlerinin boyamasına geçilmeden önce hücre içi IL-17 sentezini artırmak için, PBMCs, phorbol myristate(PMA) ve ionomycin ile 6 saat ex vivo uyarıldı. Hücre kültürüne, son 3 saatte hücre içinde sentezlenen IL-17'nin hücre dışına salgılanmasını engellemek için golgi aparatı fonksiyonlarını bozan monensin eklendi. Hücre kültürü aşaması bittikten sonra hücre yüzey belirteci CD4 boyaması için Fluorescein isothiocyanate (FITC) anti-human CD4 (ebioscience) ile +4°C'de 20 dk inkübe edildi. CD4 boyasının hücre membranına sabitlenmesi

(fiksasyon aşaması) ve sonrasında hücre içi antikorun hücre zarından geçişini sağlamak için zarda porlar açan permeabilizasyon işleminden sonra, IL-17 boyaması için hücreler phycoerythrin(PE) anti-human IL-17 (R&D Systems) ile oda ısısında 1 saat inkübe edildi.

Treg hücreleri, hücre yüzey belirteçleri CD4+, CD 25 yüksek+ ve hücre içinde transkripsiyon faktörü FoxP3+ olan hücreler olarak tanımlanmıştır. Treg analizi için, ficol ile ayırma sonucunda elde edilen PBMCs önce FITC anti-human CD4 (ebioscience) ve PE anti-human CD25 (ebioscience) boyaarı ile +4°C’de 20 dk inkübe edildi. Fiksasyon ve permeabilizasyon aşamalarından sonra hücre içi FoxP3 boyaması için APC- anti-human FoxP3 (ebioscience) boyaması ile oda ısısında 1 saat inkübe edildi. İzotipik kontroller için uygun florasan boyaarı ile konjuge IgG antikorları kullanıldı. Akım sitometri analizleri Beckman Coulter cihazı ile yapıldı.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin analizi *SPSS 17* paket programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma biçiminde, nominal değişkenler ise olgu sayısı ve (%) olarak ifade edildi. Gruplardaki kategorik değişkenler arasındaki fark Ki Kare testi ile belirlenmiştir. Her 3 grup arasındaki nominal değişkenler arasındaki fark için ise Kruskal Wallis testi kullanıldı. Gruplar arasındaki, Th17 ve Treg yüzdeleri, Th17/Treg oranı ve serum hsCRP düzeyi arasındaki farka Mann-Whitney U testi ile bakılmıştır. 2 değişken değer

arasındaki ilişki Spearman korelasyonu ile araştırılmıştır. Elde edilen verilerin istatistiksel olarak anlamlılık düzeyi “ p ” değeri ile yorumlandı. $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. KLİNİK VE EKOKARDİYOĞRAFİK BULGULAR

Hasta grubu; hafif MD (MVA>1,5; n=25) ve orta MD (MVA=1-1,5 veya PMBV öyküsü; n=25) olarak 2 gruba ayrılmıştır. Gruplar arasında yaş, cinsiyet; sol ventrikül duvar kalınlıkları, sol ventrikül sistol ve diyastol sonu çapları ve ejeksiyon fraksiyonları açısından fark saptanmamıştır. Çoklu kapak tutulumu açısından hasta grupları arasında fark yoktu. Wilkins skoru açısından hafif ve orta mitral darlık grupları arasında anlamlı fark saptanmıştır (p=0,016). LAVI (sol atrium volüm indeksi) açısından, hafif ve orta MD grupları arasında anlamlı fark izlenmedi (p=0,31). Kontrol grubu ile hafif ve orta MD grupları arasında LAVI, anlamlı fark gösterdi (her iki grup için p=0,0001).

Hasta gruplarının ve kontrol grubunun klinik ve ekokardiyografik verileri tablo 5-6'de özetlenmiştir.

Tablo 5. Klinik bulgular

	Normal grup n=25	Hafif MD n=25	Orta MD n=25
Yaş	39,7 ± 8	40,8 ± 4	40,2 ± 7
Cinsiyet Kadın / Erkek	23 / 2	23 / 2	22 / 3
Kalp hızı Vuru/dakika	77 +/- 11	76 +/- 13	78 +/- 8
Sistolik kan basıncı mmHg	112 +/- 12	114 +/- 16	106 +/- 12
Diastolik kan basıncı mmHg	73 +/- 7	71 +/- 10	68 +/- 9
Medikal tedavi			
Asetilsalisilik asid-100 mg	0	17 (%68)	19 (%76)
Beta-bloker	0	17 (%68)	19 (%76)
Diüretik	0	5 (%20)	10 (%40)
Kalsiyum kanal blokeri	0	0	1 (%4)

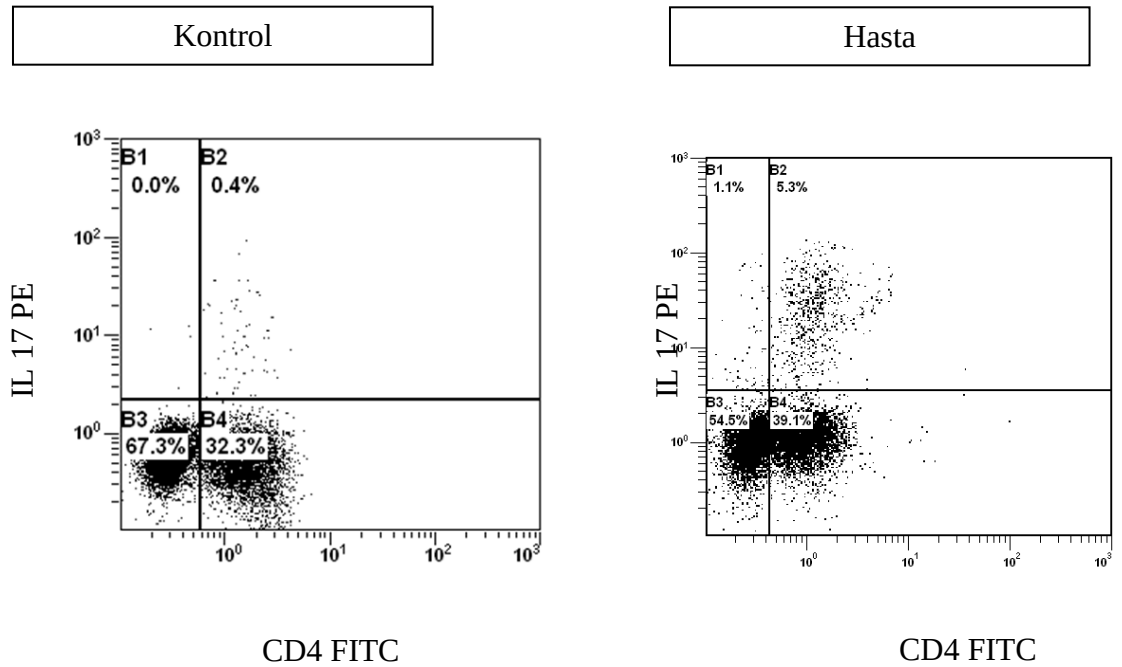
Tablo 6. Ekokardiyografik bulgular

	Normal grup N=25	Hafif mitral darlığı N=25	Orta mitral darlığı N=25
Mitral kapak alanı(mm ²)	Normal	2,0 ± 0,4	1,3 ± 0,3
Ort. Mitral Gradyent (mmHg)	-	4,4 ± 2,5	6,9 ± 2,1
İVS (mm)	8,4 ± 0,7	9,6 ± 0,9	9,4 ± 1,1
SVAD (mm)	8,6 ± 0,6	9,6 ± 0,94	9,0 ± 1,2
SVSSÇ (mm)	28 ± 3	29 ± 4	28 ± 3
SVDSC (mm)	44 ± 2	46 ± 3	43 ± 10
EF (%)	65 ± 3	65 ± 6	65 ± 5
Wilkins skoru*	-	5,6 ± 1,2	7,0 ± 1,6
LAVI (mL/m ²)	28,9 ± 5,5	46,4 ± 14,5	52,9 ± 17,3
Çoklu kapak tutulumu (+triküspit ve aort kapak)	-	17 (%68)	19 (%76)

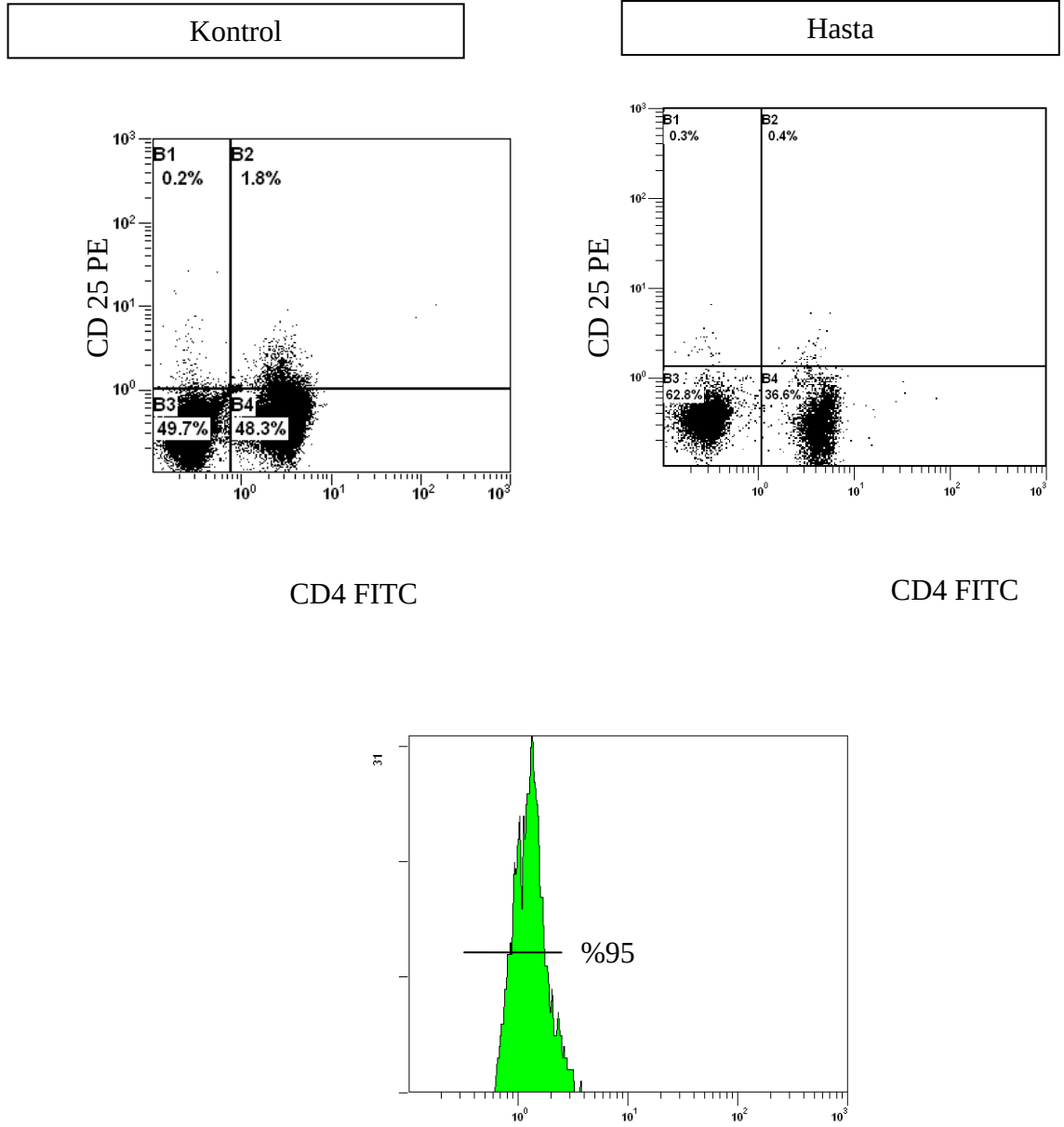
İVS: İnterventriküler Septum; **SAÇ:** Sol atrium çapı; **SVAD:** Sol Ventrikül Arka Duvarı; **SVDSC:** Sol Ventrikül Diyastol Sonu Çapı; **SVEF:** Sol Ventrikül Ejeksiyon Fraksiyonu; **SVSSÇ:** Sol Ventrikül Sistol Sonu Çapı; **EF:** Ejeksiyon Fraksiyonu. **LAVI:** Sol atrium volüm indeksi.

4.2 AKIM SİTOMETRİ ANALİZLERİ

Treg hücrelerinin yüzdesi, gruplar içerisinde en fazla kontrol grubunda izlendi. Hafif MD ile orta MD grupları arasında, Treg yüzdeleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,88$). Ancak kontrol grubu ile hafif MD ve orta MD grupları arasında anlamlı fark saptandı (sırasıyla p değerleri; 0,0001 ve 0,0001).



Şekil 5. Mitral darlığı olan hastada dolaşımdaki Th17 sıklığı artmıştır.



Şekil 6. Mitral darlığı olan hastada dolaşımdaki Treg sıklığı azalmıştır.

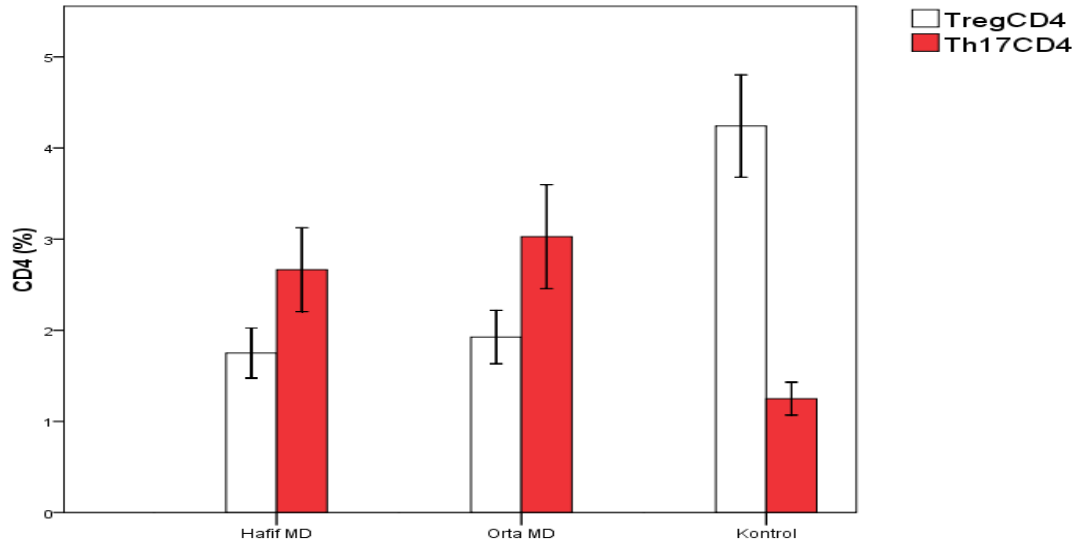
Kontrol analizinde B2 kapısında bulunan CD4(+)CD25(+)

hücrelerin %95'inin FoxP3 (+) olduğu izlendi.

Th17 hücrelerinin yüzdesi, hasta gruplarında, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (hafif MD grubu ile kontrol grubu arasında, $p=0,001$ orta MD ile kontrol grubu arasında; $p=0,006$). Ancak, her iki hasta grubu arasında Th17 hücre yüzdeleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,98$). (Bakınız Tablo 7, Şekil 7).

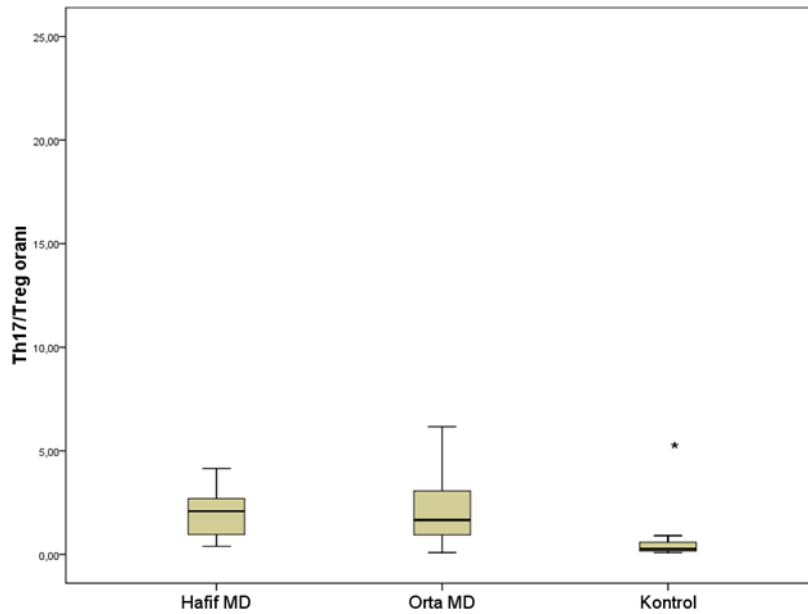
Tablo 7. Treg ve Th17 yüzdesi

	Normal grup n:25	Hafif MD n:25	Orta MD n: 25
Treg/CD4+T lenfosit(%)	4.24±2.69	1.75±0.98	1.92±1.52
Th17/ CD4+T lenfosit(%)	1.2±0.86	2.66±1.65	3.02±1.96



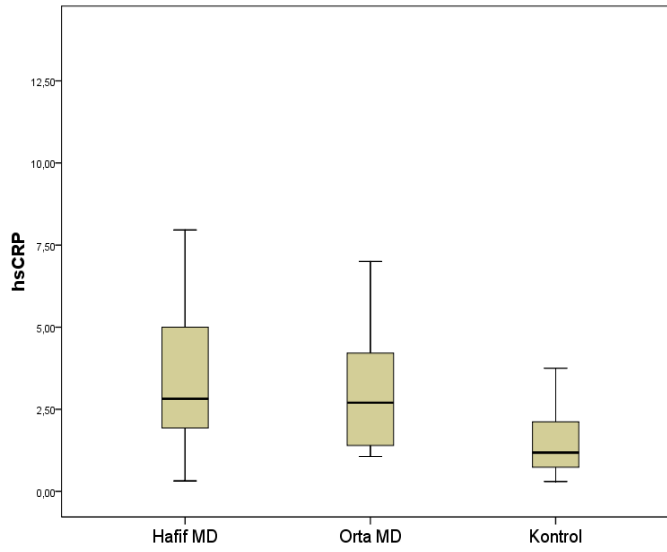
Şekil 7. Th17 ve Treg hücre yüzdeleri
(İnce çizgiler ± 1 standard hataları göstermektedir.)

Th17 / Treg oranı ortalaması, hafif MD grubunda 1.94, orta MD grubunda 2.93 ve kontrol grubunda 0.41 olup; Th17/Treg oranı, hasta grupları arasında anlamlı fark göstermez iken ($p=0,9$), hafif ve orta MD hasta gruplarında, kontrol grubuna oranla yüksek saptanmıştır. (sırasıyla $p=0,0001$ ve $p=0,0001$) (şekil 8).

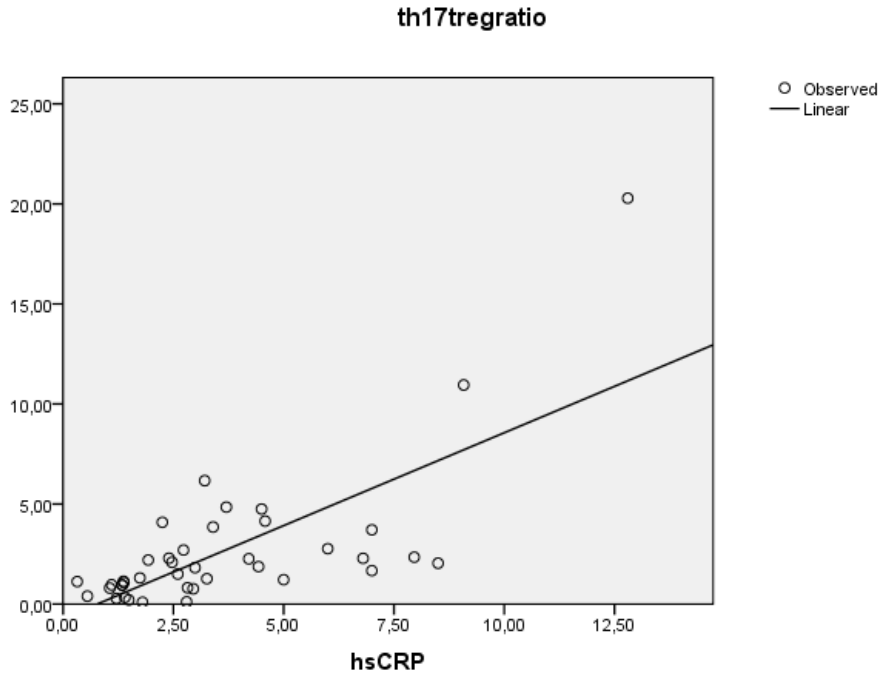


Şekil 8. Çalışma gruplarındaki Th17/Treg oranları

Serum hsCRP düzeyleri ortalaması, hasta gruplarında farklı bulunmazken hasta gruplarında kontrol grubuna oranla anlamlı yüksek bulunmuştur (şekil 9). hsCRP açısından hafif ve orta MD grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla; $p=0.01$, $p=0.001$). hsCRP açısından hafif ve orta MD grupları arasında anlamlı fark izlenmedi ($p=0.95$). hsCRP ile Th17/Treg oranı arasında Spearman analizi yapıldığında pozitif korelasyon izlendi (şekil 10).



Şekil 9. Çalışma gruplarındaki ortalama serum hsCRP düzeyleri



Şekil 10. Th17/ Treg oranı ile hsCRP arasındaki ilişki gösterilmiştir ($r=0,672$; $p=0,0001$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

RKH, %0,6 prevalansla görüldüğü gelişmekte olan ülkelerde mortalite ve morbiditenin önde gelen nedenlerindendir. Dünya nüfusunun $\frac{3}{4}$ 'ünün gelişmekte olan ülkelerde yaşadığı düşünülürse RKH olan insan sayısı küçümsenemez.

ARA ve RKH'na neden olan patoloji aslında bakterinin **doğrudan kendisi değil; ona karşı** immun sistemin orantısız artmış yanıtıdır. ARA sırasında aspirin ve/veya kortikosteroidle yapılan antiinflamatuvar tedavi idame tedavisi olarak sürdürülmemektedir. Çünkü kronik süreçte inflamasyonun etkinliği ve hastalığın ilerlemesi üzerine olan etkisi tam bilinmemektedir. Bu nedenle günümüzde hala RKH'da tedavi hedefi hastalığa neden olan immunopatogenez olmayıp hastalığın hemodinamik sonuçlarıdır. Cerrahi veya perkutan tedavi ile semptom ve bulgulara neden olan hemodinamik patolojiler düzeltilse de; bu tedavi yöntemleri ile diğer nativ kapaklarda veya valvüloplasti yapılan kapakta romatizmal aktivite gelişimi ve/veya progresyonu engellenememektedir. Ayrıca nihai tedavi seçeneği olarak görülen cerrahi tedavi, 'protez kapak hastalığı' ve risklerini de beraberinde getirmektedir. PBMV ise cerrahi tedaviyi bir süre daha erteletir. Halbuki romatoid artrit, sistemik lupus eritematozis gibi pek çok otoimmun hastalıkta, hastalık progresyonunu ve organ tutulumlarını engelleyen immunomodülatör tedaviler başarı ile kullanılmaktadır.

RKH gelişimi ve/veya progresyonunu engellemek için elimizdeki tek silah, primer ve sekonder antibiyotik profilaksisi gibi görünmektedir. Primer

profilaksi, gelişmiş ülkelerde ARA ve RKH sıklığında belirgin azalma sağlamış olsa da, asemptomatik ya da subklinik geçirilen enfeksiyonlar bu tür korunmanın önündeki en büyük engeldir. Nitekim ARA'lı hastaların 1/3-1/2 gibi önemli bir bölümünde atağa neden olan boğaz enfeksiyonu asemptomatik seyretmektedir. Sekonder profilakside ise antibiyotikler düzenli kullanıldığında antijenik maruziyet engellenebilir. Ancak RKH bireylerinin büyük çoğunluğu ikincil korunmaya özen göstermemektedir. Bu nedenle ARA ve/veya RKH gelişimi ve/veya progresyonunu engelleyen etkili yeni tedavi ajanlarına ihtiyaç vardır. RKH immunopatogenezinde rol oynayan immunojik mekanizmalar anlaşılabilir ve rol oynayan hücre ve sitokinler tanımlanırsa, bu mekanizmaları hedefleyen immunomodülatör tedaviler geliştirilebilir.

RKH'nın büyük bir kısmında mitral kapak tutulumu vardır, en sık da MD izlenir. Çalışmamızda özellikle MD olgularını alınmasının nedeni hem görülme sıklığının fazlalığı hem de TTE ile tanısının konulması ve kapaktaki hasarın romatizmal kaynaklı olduğunun rahatlıkla söylenebilmesidir. Hastalığın ilerlemesini hafif ve orta MD ile sınırlı tuttuk. Çünkü ciddi MD olguları hem az sayıda (çoğuna MVR yapılmış) olmaları hem de sonuçlarımızı etkileyecek atrial fibrilasyonun bu hastalardaki sıklığıdır. AF ile inflamasyon arasındaki bağımsız ilişki bilindiğinden, AF olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

MD hastalarında, kronik, düşük düzeyde inflamasyonun devam ettiği, serum inflamasyon belirteçleri ve inflamatuvar sitokin düzeylerinin yüksek izlenmesi ile kanıtlanmıştı (1). RKH'da izlenen kronik inflamasyon, akut

enfeksiyona ya da ARA tablosuna yol açmayan ancak immun sistemi uyaran düşük düzeyde AGBHS antijenlerine maruziyet ile açıklanabilir. Kronik düşük düzeyde inflamasyon yanıtında hangi hücrelerin, sitokinlerin veya yolakların rol oynadığı bilinmemektedir. Gölbaşı ve arkadaşları, hsCRP düzeylerinin RKH olanlarda sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (1). Ayrıca aynı çalışmada çok kapak tutulumu olan hastalarda tek kapak tutulumu olanlara göre daha yüksek hsCRP düzeylerine rastlanmıştır. Çalışmamızda serum hsCRP düzeyinin hasta gruplarında, kontrol grubuna göre daha yüksek izlenmesi MD'da (RKH'da) inflamasyonun devam ettiğini göstermektedir. Ayrıca serum hsCRP düzeyleri ile Th17/Treg oranı arasındaki pozitif korelasyon; RKH'nda izlenen düşük düzeydeki kronik inflamasyon yanıtında Th17 ve Treg hücrelerinin de rol alabileceğini düşündürmektedir.

Th17 (CD4+IL-17+) hücreleri, hücre dışı patojenlere karşı konak savunmasında önemli rol alırlar. Son yapılan çalışmalar, kontrolsüz Th17 yanıtının multiple sklerosis, romatoid artrit ve psöriasis gibi pek çok otoimmun hastalık patogeneğinde rol aldığını göstermiştir (39-41). Ayrıca hayvanlarda, otoimmun hastalık modellerinde Th17 hücrelerinin hastalığın hem başlangıç hem de gelişim aşamalarında kritik olduğu gösterilmiştir. AGBHS bakterisinin eradikasyonunda da Th17 hücre cevabının gerekli olduğu fare ve insan tonsil dokusunun kullanıldığı deneysel çalışmalarda gösterildi (25). Wang ve arkadaşlarının yaptığı fare çalışmasında, AGBHS enfeksiyonu eradikasyonunda, TGF- β 1 indüksiyonu ve TGF- β 1 bağımlı Th17 hücre cevabının, dominant savunma mekanizması olduğu in vivo olarak gösterilmiştir. Naive fareye

(tamamen steril şartlarda yaşadığı için daha önce hiçbir antijenle karşılaşmamış bu nedenle immun sistemi gelişmemiş fare), AG β HS'a bağışık fareden alınan IL-17A genleri korunmuş CD4⁺ T lenfosit transfer edildiğinde, naive fare AG β HS'a karşı etkin savunma göstermiş. Ancak IL-17 genleri silinmiş CD4⁺ lenfositler transfer edildiğinde naive fare AG β HS eradikasyonunu başaramamıştır (25). Bu nedenle AG β HS infeksiyonlarına verilen yanıtta Th17 hücre cevabı önemli görünmektedir. AG β HS ilişkili aşırı immun cevabın oluşturduğu otoimmun hastalıkların patogeneğinde de Th17 hücre yanıtının orantısız fazla olması doku hasarına yol açıyor olabilir. Çalışmamızda MD olan hasta gruplarında, Th17 hücre yüzdesi kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur (hafif MD grubu ile kontrol grubu arasında $p=0,001$; orta MD ile kontrol grubu arasında; $p=0,006$)

Treg (CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺) hücreleri, inflamasyon yanıtını kontrol ederler. Doku hasarına yol açabilecek orantısız yüksek inflamasyonu baskıladıkları gibi, konağı otoagresif T lenfositlerden de korurlar. Kabaca Treg hücreleri fazla çalıştığında infeksiyonlara, az çalıştığında ise otoimmun hastalıklara yatkınlık geliştiği söylenebilir. Nitekim pek çok otoimmun hastalıkta Treg hücre sayısının azaldığı gösterilmiştir (11-13). MD hastalarında CD4⁺CD25⁺ hücrelerinin azaldığı Yıldız ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gösterilmişti (42). Ancak bu çalışmanın en büyük kısıtlılığı tanımlanan hücrelerin bugünkü Treg tanımına uymamasıdır. Çünkü periferik kanda bulunan CD4⁺CD25⁺ hücrelerinin, yüksek düzeyde CD25 eksprese eden küçük bir bölümü Treg hücrelerdir. Ayrıca bir hücrenin Treg olarak tanımlanabilmesi için FoxP3 pozitif olması gereklidir. FoxP3, Treg hücrelerinde bulunan bir

transkripsiyon faktörüdür. Treg hücreleri için en özgül hücre belirleyicisi olduğu gibi Treg hücre fonksiyonları için de kritiktir. Hayvanlarda yapılan çalışmalarda, Treg hücrelerinde FoxP3 ekspresyonu azaldığında, otoimmün cevabın arttığı ve Treg hücrelerinin baskılayıcı özelliklerini yitirip efektör hücre gibi davrandıkları gösterilmiştir (43). Çalışmamızda, hasta grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, hasta grubunda CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücre yüzdesinin anlamlı olarak az olduğu izlenmişti (kontrol ile hafif MD grupları arasında p değeri: 0,0001; kontrol ve orta MD grupları arasında p: 0,0001).

Th17 ve Treg hücrelerinin birbiri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Farelerde yapılan çalışmalar bu iki hücre grubunun farklılaşması ve çoğalmasının resiprokal olarak kontrol edildiğini göstermiştir (44). Th17, Treg hücre sayı ve fonksiyonları arasındaki bu ters ilişki pek çok otoimmün hastalıkta izlenmiştir. Nitekim Th17 hücrelerinin keşfi, otoimmün hastalıklarda Treg hücrelerinin yeri araştırılırken olmuştur. Otoimmün hastalıklarda Treg hücreleri azalırken, çoğalan bu lenfositlere IL-17 salgıladıkları için Th17 ismi verilmiştir (14,15). Th17 hücre sayısının artarken, Treg hücre sayısının azalması pek çok otoimmün hastalığı ya da transplant rejeksiyonunu tetikleyebilir (45). Bu ilişki nedeniyle, literatürde ‘Th17/ Treg oranı’ tanımlanmıştır. Literatür tarandığında otoimmün hastalıkların patogenezinin sorumlu olduğu düşünülen Th1/Th2 paradigması yerini Th17/Treg oranına bırakmış gibi görünmektedir. Çalışmamızda Th17/ Treg oranı, RKH’ndaki otoimmün patogenezi destekler şekilde hasta grubunda yüksek bulunmuştur. (kontrol ile hafif MD grupları arasında p değeri: 0,0001; kontrol ve orta MD grupları arasında p: 0,0001)

RKH patogenezinde en çok kabul edilen hipotez, streptokok antijenleri ile insan antijenleri arasındaki ‘moleküler benzerlik’ hipotezidir. Th17 ve Treg hücreleri bu antijenik benzerliğin tetiklediği immun yanıtta rol oynuyor olabileceği gibi, belki de Th17/Teg oranının uzun süre yüksek kalması immun toleransı bozarak otoimmun yanıtı yol açıyor olabilir. Otoimmun ve romatizmal hastalıklarının nedeni otoimmun regülasyon ve tolerans mekanizmalarının iyi çalışmamasıdır. Son yıllarda, bu konuda yapılan araştırmalarda Treg, Th17 gibi yeni hücreler, sitokinler ve yolaklar keşfedilmiştir. Böylece hem patogeneze daha iyi anlaşılmış hem de yeni tedavi hedefleri oluşmuştur. Treg ve Th17 hücre fonksiyonlarını düzenleyen pek çok immunmodülatör molekül üretilmiştir, bu ajanların test edildiği klinik çalışmalar halen sürmektedir.

Treg hücre sayı ve fonksiyonlarını artırmak otoimmun hastalıklarda bir tedavi hedefi olabilir. Nitekim, SLE’de tedavisinde önemli ajanlarından biri olan anti-TNF’nin, Treg hücrelerinde FoxP3 mRNA ve protein ekspresyonunu artırarak Treg hücrelerinin supresif etkilerini artırdığı gösterilmiştir (46). Son yapılan bir çalışmada ise, retinoik asidin, nükleer retinoik asit reseptörüne bağlanarak, T hücreleri içinde Foxp3 ekspresyonunu artırdığı, Th17 hücre artışını ise inhibe ettiği gösterilmiştir (47). Bu nedenle retinoik asid, otoimmun hastalıklarda yeni bir tedavi seçeneği olabilir.

Literatürde romatoid artrit, Crohn hastalığı, psöriazis, multiple skleroz gibi hastalıkların Th17 ilişkili hastalıklar olarak tanımlanması ile, IL-17 ve Th17’i hedef alan pek çok molekül geliştirilmiştir. Klinik çalışmaları devam eden

moleküllerden bazıları anti-IL-17A antikorları, anti-IL-17 reseptör ve anti-IL-17A/F reseptörüdür (48-50). Th17 hücrelerinin aktivasyonlarını regüle eden IL-12 ve IL-23 sitokinlerini hedef alan Anti-IL- 12/23p40 ajanı faz 3 çalışmaları devam eden popüler bir ajandır (51,52).

ARA'de artrit ve hafif kardit ataklarında yüksek doz asetilsalisilat, daha ciddi karditlerde ise steroid kullanılmaktadır. Bu non-spesifik immunsupresif tedavi daha çok semptom kontrolünde işe yarar. Kapak hasarını engellediğine dair bilgi ise yoktur. Kalıcı kalp hasarının nedeni tekrarlayıcı kardit ataklarıdır ve ne yazık ki bu ataklar çoğu vakada asemptomatik ya da subklinik enfeksiyonlara bağlıdır. Bu nedenle non-spesifik immunsupresif tedavi ajanların yan etkileri de düşünüldüğünde uzun süre profilaktik kullanımları uygun değildir. Bu nedenle yan etkisi az, hastalık gelişimini ve/veya progresyonunu engelleyen daha özgül immunmodülatör tedavilere ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda hafif ve orta MD hastaları kendi içlerinde karşılaştırıldığında hücre sayıları, hücre oranı ve serum hsCRP düzeyleri arasında fark tespit edilmemiştir. Hasta grupları arasında fark çıkmaması birkaç faktöre bağlı olabilir. Hasta grupları, TTE ile MKA'na göre ayrıldığı için romatizmal aktivitenin değerlendirilmesinde yetersiz kalmış olabilir. Çünkü bu hastaların romatizmal aktiviteleri ancak geçirdikleri atak sayısı, en son atağın ne zaman geçirildiği gibi bilgiler ışığında değerlendirilebilir. Diğer bir faktör ise, klinik ve ekokardiyografik olarak daha ciddi RKH olan hastaların çalışmaya dahil edilememesidir.

Hasta grupları arasında asetilsalisilat(ASA, 1x100 mg) kullanımı arasında fark yoktu. Anti-trombotik amaçla verilen ASA'yı hastaların yaklaşık %70'i kullanıyordu. Yapılan analizlerde, anti-inflamatuvar etkisini daha yüksek dozlarda gösteren ASA'nın inflamatuvar belirteç ve hücre sayıları ile ilişkisi gösterilemedi.

Ayrıca hasta sayısının az oluşu ve çalışmanın kesitsel olması çalışmanın kısıtlılıkları olarak görüldü.

Sonuç olarak, Th17/Treg oranının inflamasyon cevabını kontrol ederek pek çok otoimmün hastalığın patogenezinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu çalışmada RKH'nın en sık izlenen formu olan mitral darlığında, normal kontroller ile karşılaştırıldığında periferik Th17 hücresinin artarken Treg hücrelerinin azaldığı, Th17/Treg oranının ise belirgin arttığı izlenmiştir. Çalışma verilerinin ARA ve RKH patogenezinde ışık tutması, hastalığın ilerlemesinde ve tedavi yaklaşımında yeni görüşler sunması nedeniyle önemli olduğunu düşünüyoruz. Çalışmamızın Th17 ve Treg hücrelerinin RKH progresyonuna etkisini araştıran prospektif çalışmalara ve ARA ataklarını ya da kalıcı kalp hasarını engelleyen immünomodülatör tedavilerin keşfine ilham vereceğini umuyoruz.

6. KAYNAKLAR

1. Gölbasi Z, Uçar O, Keles T, Sahin A, Cagli K, Camsari A, Diker E, Aydogdu S. Increased levels of high sensitive C-reactive protein in patients with chronic rheumatic valve disease: evidence of ongoing inflammation. *Eur J Heart Fail.* 2002 Oct;4(5):593-5.
2. Olson LJ, Subramanian R, Ackermann DM, Orszulak TA, Edwards WD. Surgical pathology of the mitral valve: A study of 712 cases spanning 21 years. *Mayo Clin Proc* 1987; 62: 22-34
3. Raizada V, Williams RC Jr, Chopra P, et al. Tissue distribution of lymphocytes in rheumatic heart valves as defined by monoclonal anti-T cell antibodies. *Am J Med.* 1983; 74:90–6.
4. Kemeny E, Grieve T, Marcus R, Sareli P, Zabriskie JB. Identification of mononuclear cells and T cell subsets in rheumatic valvulitis. *Clin Immunol Immunopathol.* 1989; 52: 225–37.
5. Guilherme L, Cury P, Demarchi LM, Coelho V, Abel L, Lopez AP, Oshiro SE, Aliotti S, Cunha-Neto E, Pomerantzeff PM, Tanaka AC, Kalil J. Rheumatic heart disease: proinflammatory cytokines play a role in the progression and maintenance of valvular lesions. *Am J Pathol.* 2004 Nov;165(5):1583-91.
6. Chen MC, Chang HW, Wu CJ, Yang CH, Yu TH, Chen CJ, Hung WC. Balance between plasma levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 in rheumatic mitral stenosis. *Cardiology* 2005; 104: 171-5

7. Y.Y. Chiu-Braga, S.Y. Hayashi. Further evidence of inflammation in chronic rheumatic valve disease (CRVD): high levels of advanced oxidation protein products (AOPP) and high sensitive C-reactive protein (hs-CRP). *International Journal of Cardiology* 2006
8. Davutoglu V, Celik A, Aksoy M. Contribution of selected serum inflammatory mediators to the progression of chronic rheumatic valve disease, subsequent valve calcification and NYHA functional class. *J Heart Valve Dis* 2005; 14: 251-6.
9. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003;299:1057–61
10. Bennett CL, Christie J, Ramsdell F et al. The immune dysregulation, polyendocrino-pathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet* 2001;27: 20–1
11. Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNFalpha therapy. *J Exp Med* 2004;200: 277–85.
12. Sugiyama H, Gyulai R, Toichi E et al. Dysfunctional blood and target tissue CD4⁺CD25^{high} regulatory T cells in psoriasis: mechanism underlying unrestrained pathogenic effector T cell proliferation. *J Immunol* 2005;174:164–73.
13. Abdulahad WH, Stegeman CA, van der Geld YM, Doornbos-van der Meer B, Limburg PC, Kallenberg CG. Functional defect of circulating regulatory CD4⁺ T cells in patients with Wegener's granulomatosis in remission. *Arthritis Rheum* 2007;56: 2080–91.

14. Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006; 24: 179–89.
15. Bettelli E, Carrier Y, Gao W et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441:235–8
16. Shen H, Goodall JC, Hill Gaston JS. Frequency and phenotype of peripheral blood Th17 cells in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009 Jun;60(6):1647-56.
17. Kebir H, Kreymborg K, Ifergan I, Dodelet-Devillers A, Cayrol R, Bernard M, et al. Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nat Med* 2007; 13: 1173–5.
18. Fitch E, Harper E, Skorcheva I, Kurtz SE, Blauvelt A. Pathophysiology of psoriasis: recent advances on IL-23 and Th17 cytokines. *Curr Rheumatol Rep* 2007; 9: 461–7.
19. Schmechel S, Konrad A, Diegelmann J, Glas J, Wetzke M, Paschos E, et al. Linking genetic susceptibility to Crohn's disease with Th17 cell function: IL-22 serum levels are increased in Crohn's disease and correlate with disease activity and IL23R genotype status. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 204–12.
20. Miossec P. Interleukin-17 in fashion, at last: ten years after its description, its cellular source has been identified. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 2111–5
21. Gaston JS. Cytokines in arthritis: the 'big numbers' move centre stage. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47: 8 –12

22. Nistala K, Wedderburn LR. Th17 and regulatory T cells: rebalancing pro- and anti-inflammatory forces in autoimmune arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2009 Jun;48(6):602-6.
23. After TH1/TH2 now comes Treg/TH17: significance of T helper cells in immune response organization *Hautarzt*. 2006 Aug;57(8):730-2
24. Mai J, Wang H, Yang X. Th 17 cells interplay with Foxp3⁺ Tregs in regulation of inflammation and autoimmunity. *Frontiers in Bioscience* 15, 986-1006, June 1, 2010
25. Wang B, Dileepan T, Briscoe S, Hyland KA, Kang J, Khoruts A, Cleary PP. Induction of TGF-beta1 and TGF-beta1-dependent predominant Th17 differentiation by group A streptococcal infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Mar 30;107(13):5937-42.
26. Chandrashekhar Y, Westaby S, Narula J. *Lancet*. 2009 Oct 10;374(9697):1271-83. Mitral stenosis.
27. Zaky A, Nasser WK, Feigenbaum H. A study of mitral valve action recorded by reflected ultrasound and its application in the diagnosis of mitral stenosis. *Circulation* 1968; 37: 789–99.
28. Cutler EC, Levine SA. Cardiotomy and valvulotomy for mitral stenosis. *Boston Med Surg J* 1923; 188: 1023.
29. Inoue K, Owaki T, Nakamura T, Kitamura F, Miyamoto N. Clinical application of transvenous mitral commissurotomy by a new balloon catheter. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1984; 87: 394–402.
30. Padmavati S. Rheumatic fever and rheumatic heart disease in India at the turn of the century. *Indian Heart J* 2001; 53: 35–37.

31. Ozer O, Davutoglu V, Sari I, Akkoyun DC, Sucu M. The spectrum of rheumatic heart disease in the southeastern Anatolia endemic region: results from 1900 patients. *J Heart Valve Dis.* 2009 Jan;18(1):68-72.
32. Yuksel H, Akinci T, Yaldiran A, et al. Investigations prevalence of rheumatic heart disease in rural areas of Istanbul, Turkey. *Turk Kardiyol Dern Arş* 1992; 20: 1-3
33. Olgunturk R, Aydin GB, Tunaoglu FS, Akalın N. Rheumatic heart disease prevalence among school-children in Ankara, Turkey. *Turk J Pediatr* 1999; 41: 201-206
34. Chandrashekhar Y. Secondary prevention in rheumatic fever and rheumatic heart disease: theory, practice and meta-analysis of available trials. In: Narula J, Virmani R, Reddy KS, Tandon RK, eds. *A textbook of rheumatic fever.* Washington, DC: Armed Forces Institute Press, 1999; 299–342.
35. Bonow RO, Carabello BA, Chatterjee K, de Leon AC Jr, Faxon DP, Freed MD, Gaasch WH, Lytle BW, Nishimura RA, O'Gara PT, O'Rourke RA, Otto CM, Shah PM, Shanewise JS. Focused update incorporated into the ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. (Writing Committee to Revise the 1998 Guidelines for the Management of Patients With Valvular Heart Disease) *Circulation.* 2008 Oct 7; 118(15): e523-661.
36. Wilkins GT, Weyman AE, Abascal VM. Percutaneous Balon Dilation of the mitral valve: An analysis of echocardiographic variables related to outcome and the mechanism of dilatation *Br Heart J*:1998 Oct; 60 (4): 299-308

37. Vahanian A, Baumgartner H. Guidelines on the management of valvular heart disease The Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology 2007
38. Nishimura RA, Carabello BA, Faxon DP, Freed MD, Lytle BW, O'Gara PT, O'Rourke RA, Shah PM, Bonow RO, Chatterjee K, de Leon AC Jr, Faxon DP, Gaasch WH, Otto CM, Shanewise JS, Smith SC Jr, Jacobs AK, Buller CE, Creager MA, Ettinger SM, Krumholz HM, Kushner FG, Page RL, Tarkington LG, Yancy CW Jr. ACC/AHA 2008 guideline update on valvular heart disease: focused update on infective endocarditis: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: endorsed by the Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *Circulation*. 2008 Aug 19;118(8):887-96.
39. Stockinger B, Veldhoen M, Martin B. Th17 T cells: Linking innate and adaptive immunity. *Semin Immunol* 2007; 19: 353 –361.
40. Bettelli E, Korn T, Oukka M, Kuchroo VK. Induction and effector functions of T(H)17 cells. *Nature* 2008; 453: 1051 –1057.
41. Steinman L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med* 2007; 13: 139-145.
42. Yildiz A, Ozeke O, Aras D, Balci M, Deveci B, Ergun K, Topaloglu S, Dogan M, Ozcan F, Sokmen Y, Sasmaz A, Korkmaz S. Circulating CD4+CD25+ T cells in rheumatic mitral stenosis. *J Heart Valve Dis*. 2007 Sep; 16(5): 461-7.

43. Roberts S, Kosanke S, Dun TS, et al. Pathogenic mechanism in rheumatic carditis: focus on valvular endothelium. *J Infect Diseases*. 2001; 183: 507–11
44. Lehmann PV, Forsthuber T, Miller A, Sercarz EE. Spreading of T cell autoimmunity to cryptic determinants of an autoantigen. *Nature*. 1992;359:155–7.
45. Raizada V, Williams RC Jr, Chopra P, et al. Tissue distribution of lymphocytes in rheumatic heart valves as defined by monoclonal anti-T cell antibodies. *Am J Med*. 1983; 74: 90–6.
46. X. Valencia, G. Stephens, R. Goldbach-Mansky, M. Wilson, E. M. Shevach, P. E. Lipsky. TNF down modulates the function of human CD4⁺ CD25^{hi} T-regulatory cells. *Blood*. 2006; 108:1, 253–261.
47. S. Xiao, H. Jin, T. Korn et al. Retinoic acid increases Foxp3⁺ regulatory T cells and inhibits development of Th17 cells by enhancing TGF- β -driven Smad3 signaling and inhibiting IL-6 and IL-23 receptor expression. *Journal of Immunology* 2008; 181:4, 2277–2284.
48. T. Korn, E. Bette lli, M. Oukka, V. K. Kuchroo. IL- 17 and Th17 cells. *Annual Review of Immunology* 2009; 27: 485–517.
49. C. K. Wong, L.C. Lit, L. S. Tam, E. K. Li, P. T. Wong, and C. W. Lam. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in autoimmunity. *Clinical Immunology*. 2008; 127:3, 385–393.

50. M. C. Genovese, F. van den Bosch, S. A. Roberson et al. LY2439821, a humanized anti-interleukin-17 monoclonal antibody, in the treatment of patients with rheumatoid arthritis: a phase I randomized, double-blind, placebo-controlled, proof of concept study. *Arthritis and Rheumatism*.2010; 62: 4, 929–939.
51. D. A. Young, M. Hegen, H. L. Ma et al. Blockade of the interleukin-21/interleukin-21 receptor pathway ameliorates disease in animal models of rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*.2007; 56: 4, 1152–1163.
52. M. Kurzeja, L. Rudnicka, and M. Olszewska. New interleukin-23 pathway inhibitors in dermatology: ustekinumab, briakinumab, and secukinumab. *American Journal of Clinical Dermatology*. 2011; 12: 2, 113–125.

ÖZET

Akut romatizmal ateş A grubu β hemolitik streptokoklara bağlı üst solunum yolları enfeksiyonunun geç komplikasyonu olarak ortaya çıkan otoimmün bir hastalıktır. Tedavi edilmemiş ya da yetersiz tedavi edilmiş bireylerin %3'ünde akut romatizmal ateş atağı gelişmektedir. Başlıca kalp, eklem, merkezi sinir sistemi, deri ve deri altı dokularını tutar. Kalp dışındaki organ tutulumları geçici ve rezidü bırakmaksızın iyileşirken romatizmal kardit kronik romatizmal kalp hastalığına yol açabilir. Kronik romatizmal kapak hastalığı romatizmal ateş geçiren hastaların %30-45'inde gelişir. Romatizmal kapak hastalığı halen ülkemizde önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Grup A streptokokların virulans mekanizmaları ayrıntılı olarak araştırılmış olsa da bu mikroorganizmaya karşı gelişen immün cevabın moleküler ve hücresel temeli yeterince bilinmemektedir. Bu nedenle A grubu β hemolitik streptokok enfeksiyonları ile ilişkili otoimmün cevaba karşı etkili tedavi henüz tam geliştirilememiştir.

Pek çok otoimmün hastalık patogenezinde Th17 ve Treg hücrelerinin önemli olduğu düşünülmektedir. Bu hastalıklarda Th17 hücrelerinin artarken, Treg hücrelerinin azaldığı gösterilmiştir. Th17/Treg oranının artması spesifik antijene verilen inflamatuvar yanıtın kontrolsüz olarak artmasına yol açarak otoimmunitiyi tetikler. Çalışmada amacımız bu hücrelerin romatizmal kalp hastalığı immunopatogenezindeki yerini araştırmaktır.

RKH'nın en sık izlenen formu olan mitral darlığında, normal kontroller ile karşılaştırıldığında periferik Th17 hücrelerinin artarken Treg hücrelerinin azaldığı, Th17/Treg oranının ise belirgin arttığı izlenmiştir. Hasta gruplarında serum hsCRP düzeyinin, kontrol grubuna göre daha yüksek izlenmesi romatizmal kalp hastalığında inflamasyonun devam ettiğini göstermektedir. Ayrıca serum hsCRP düzeyleri ile Th17/Treg oranı arasındaki pozitif korelasyon; RKH'nda izlenen düşük düzeydeki kronik inflamasyon yanıtında Th17 ve Treg hücrelerinin de rol alabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Romatizmal Kalp Hastalığı, Mitral Stenoz, Th17/Treg ratio.

ABSTRACT

Rheumatic fever is an autoimmune disease which is the late complication of infection of the upper respiratory tract by group A β hemolytic streptococci. It's main targets are heart, joints, central nervous system, skin and subdermal tissues. Involvement of the organs other than heart is temporary and resolves without a residue, however, rheumatic carditis may cause chronic rheumatic heart disease. Chronic rheumatic valve disease is a considerable cause of mortality and morbidity in our country. Pharyngitis caused by group A β hemolytic streptococci, when not treated or undertreated, may cause acute rheumatic fever in 3% of the subjects. It is difficult to explain "this" by only the high virulence or frequency of streptococci that are potentially rheumatogenic. Although the virulence mechanisms of the group A streptococcus bacteria is investigated in detail, humoral and cellular basis of the immune response directed against this organism is not "known" sufficiently. "This" averts the effective therapy being developed against the autoimmune response associated with group A β hemolytic streptococci.

Th17 and Treg cells are considered important in the pathogenesis of many autoimmune disease. It has been showed that Th17 cells are being increased while Treg cells are decreased in diseases with an autoimmune etiology. Increased Th17/Treg ratio triggers an uncontrolled inflammatory reaction to a specific antigen which ends up in autoimmunity. Our aim in this study is to investigate the role of these cells in the immunopathogenesis of rheumatic heart disease.

In mitral stenosis, which is the most frequent form of rheumatic heart disease, it is shown that peripheral Th17 cells are increased while Treg cells are decreased and the ratio of Th17/Treg ratio is significantly increased, when compared to healthy individuals. High hsCRP levels seen in patients with rheumatic heart disease points to the ongoing inflammation. Besides, positive correlation seen between serum hsCRP levels and Th17/Treg ratio points out that Th17 and Treg cells may play a role on the ongoing low level inflammation in rheumatic heart disease.

Key words: Rheumatic heart disease, mitral stenosis, Th17/Treg ratio.

ÖZGEÇMİŞ

Adı : Hatice Duygu

Soyadı : Başer

Doğum Yeri ve Tarihi : Zile, 17.03.1982

Eğitimi : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji ABD. 2006

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi 2000-2006

Sivas Fen Lisesi

Zile Anadolu Lisesi

Mehmet Akif İlköğretim İlkokulu Zile

Yabancı Dili : İngilizce