

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**BİKÜSPİT AORT KAPAK HASTALIĞI OLAN TÜRK ÇOCUKLARINDA
BMP-2, BMP-4 VE SMAD6 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. GİZEM TÜKENMEZ SABIRLI

DANIŞMAN

PROF.DR. DOLUNAY GÜRSES

DENİZLİ – 2020

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**BİKÜSPİT AORT KAPAK HASTALIĞI OLAN TÜRK ÇOCUKLARINDA
BMP-2, BMP-4 VE SMAD6 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
BELİRLENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. GİZEM TÜKENMEZ SABIRLI**

**DANIŞMAN
PROF.DR. DOLUNAY GÜRSES**

Bu tez, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Ofisi tarafından
2019TIPF013 proje numarası ile desteklenmiştir.

DENİZLİ – 2020

Prof.Dr.Dolunay GÜRSES danışmanlığında Dr.Gizem TÜKENMEZ SABIRLI tarafından yapılan “Biküspit Aort Kapak Hastalığı Olan Türk Çocuklarında BMP-2, BMP-4 ve SMAD6 Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi” başlıklı tez çalışması 28/12/2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Prof.Dr. Dolunay GÜRSES

ÜYE: Prof.Dr. Gülendiram KOÇAK

ÜYE: Dr.Öğr.Üyesi Münevver YILMAZ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. .../.../....

**Prof. Dr.
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı**

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimimde ve tez yazım sürecinde bana büyük katkıları olan, hoşgörü ve desteğini esirgemeyen, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Dolunay GÜRSES'e,

Asistanlığım boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, bana pediatriyi sevdiren saygıdeğer Pediatri Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine,

Tez hazırlık aşamasında büyük desteğini gördüğüm Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Aylin KÖSELER'e, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Hande ŐENOL'a,

Asistanlığım süresince çalışma ortamını güzelleştiren, acı tatlı anılarımızı paylaştığımız tüm asistan arkadaşlarıma, hemşirelere,

Sevgiyle, özveriyle bana büyük destek olan, her zaman arkamda olduklarını bildiğim, beni yetiştiren anne ve babama, can dostum kardeşime,

Hayatımın her anında ve özellikle asistanlığım süresince yanımda olarak bana destek veren, hayat arkadaşım Dr. Ramazan SABIRLI'ya çok teşekkür ederim.

Dr. Gizem TÜKENMEZ SABIRLI

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
ÖZET	XII
İNGİLİZCE ÖZET	XIV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 DOĞUMSAL KALP HASTALIKLARI	3
2.2 BİKÜSPİT AORT KAPAĞI	4
2.2.1 Aort Kapağının Anatomi ve Morfolojisi	4
2.2.2 Epidemiyolojisi	5
2.2.3 Aort Kapağının Gelişimi	5
2.2.4 Patogenezi	10
2.2.5 Biküspit Aort Kapak Hastalığında Klinik	10
2.2.6 Tanı	11
2.2.7 Tedavi ve İzlem	12
2.3 BİKÜSPİT AORT KAPAĞINA EŞLİK EDEN ANOMALİLER VE DOĞUMSAL KARDİYOvASKÜLER HASTALIKLAR	13
2.3.1 Aort Stenozi (AS)	13
2.3.2 Aort Yetmezliği (AY)	14
2.3.3 Aort Koarktasyonu (AK)	14
2.3.4 Aortopati ve Aort Dilatasyonu	15
2.3.5 Shone sendromu	16
2.3.6 Patent Duktus Arteriyosus	16
2.3.7 Ventriküler Septal Defekt	16
2.3.8 Enfektif Endokardit (EE)	16
2.4 DOĞUMSAL KALP HASTALIKLARI VE GENETİK	17

2.5 BAK VE GENETİK	18
2.5.1 Sendromik BAK ile ilişkili genler	19
2.5.1.1 FBN1	19
2.5.1.2 TGFBR1-TGFBR2	19
2.5.1.3 ACTA-2	20
2.5.1.4 HOXA1	20
2.5.1.5 KCJN2	20
2.5.1.6 MYH7	20
2.5.2 Sendromik olmayan BAK ile ilişkili genler	20
2.5.2.1 NOTCH1	20
2.5.2.2 Nkx2.5	22
2.5.2.3 NOS3	22
2.5.2.4 GATA5, GATA6	22
2.5.3 BMP-2 geni ve özellikleri	23
2.5.4 BMP-4 geni ve özellikleri	23
2.5.5 SMAD-6 geni ve özellikleri	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1 Çalışmaya Alınma Kriterleri	25
3.2 Çalışma Dışı Bırakma Kriterleri	26
3.3 Çalışmanın Düzeni	26
3.3.1 Vücut kitle indeksi hesaplanması (VKİ)	26
3.3.2 Arteriyel kan basıncı ölçümü	26
3.3.3 Elektrokardiyografi (EKG)	27
3.4 Transtorasik Ekokardiyografik Değerlendirme (TTE)	27
3.5 Aort Kapağının Değerlendirilmesi	28
3.6 Kan Örneklerinin Elde Edilmesi	31
3.7 DNA İzolasyonu	31
3.7.1 PCR ve Polimorfizm Analizi	32
3.7.2 Kullanılan Cihazlar	32
3.7.3 Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler	33
3.7.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	34
3.7.4.1 DNA Analizi	34

3.7.4.2 DNA'nın Spektrofotometrik Analizi	36
3.7.4.3 DNA Derişimi ($\mu\text{g/ml}$) = O.Y.260 nm x Seyreltme Faktörü	36
3.7.4.4 DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi İle Saflık Kontrolü	36
3.7.5 PCR İşlemi	38
3.8. İstatistiksel Analiz	39
4. BULGULAR	40
4.1 Demografik Verilerin Değerlendirilmesi	40
4.2 Biküspit Aortik Kapak Tipleri	41
4.3 Ekokardiyografik Verilerin Değerlendirilmesi	43
4.4 Biküspit Aortik Kapağa Eşlik Eden Doğumsal Kalp Hastalıkları	44
4.5 Biküspit Aort Kapaklı Hastalarda Kapak Fonksiyonu	45
4.6 Aort Koarktasyonu	56
4.7 Aort Dilatasyonu	58
4.8 Genetik verilerin değerlendirilmesi	59
4.8.1 SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu	59
4.8.2. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu	65
5. TARTIŞMA	72
6. SONUÇLAR	85
7. KAYNAKLAR	90

SİMGELER VE KISALTMALAR

BAK	Biküspit aort kapak
MFS	Marfan sendromu
LDS	Loeys-Dietz sendromu
TGF-β	Transforming growth factor
DKH	Doğumsal kalp hastalıkları
VSD	Ventriküler septal defekt
PDA	Patent duktus arteriyosus
ASD	Atriyal septal defekt
FT	Fallot tetralojisi
EYD	Endokardiyal yastık defekti
BAT	Büyük arter transpozisyonu
TPVDA	Total pulmoner venöz dönüş anomalisi
ACC	American College of Cardiology
AHA	American Heart Association
EMT	Endokardiyal-mezenkimal transformasyon
BMP	Kemik morfogenetik protein
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
EE	Enfektif Endokardit
MLPA	<i>“Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification”</i>
TAA	Torasik aort anevrizması
LOD	Logarithm of the odds
VKİ	Vücut kitle indeksi

EKG	Elektrokardiyografi
TTE	Transtorasik ekokardiyografi
AS	Aort stenozu
AY	Aort yetmezliği
2D	İki boyutlu
EF	Ejeksiyon fraksiyonu
LVADed	Sol ventrikül arka duvarı diyastol sonu kalınlığı
LVed	Sol ventrikül kavitesinin diyastol sonu kalınlığı
LVes	Sol ventrikül kavitesinin sistol sonu kalınlığı
FS	Kısalma fraksiyonu
V	Velosite
ΔP	Aort kapak basınç gradiyenti
ΔP_{ort}	Ortalama aort kapak basınç gradiyenti
V_{max}	Maksimum aort velositesi
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
PCR	Polymerase chain reaction
TBE	Tris-Borat-EDTA
UV	Ultraviyole
SPSS	<i>“Statistical Package for Social Sciences”</i>
KB	Kan basıncı
IVSed	End diyastolin interventriküler septum kalınlığı
RVed	Sağ ventrikül enddiyastolik çapı
AA	Aortik anulusu
LA	Sol atrium çapı
ΔP_{max}	Maksimum basınç gradiyenti
OR	Odds ratio
CI	Güven aralığı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Asiyantotik ve siyanotik kalp hastalıkları	3
Şekil 2. Triküspit ve biküspit aortik kapak	4
Şekil 3. Leonardo Da Vinci'nin biküspit aort kapağı çizimi	4
Şekil 4. Biküspit aort kapak tipleri	7
Şekil 5. Sievers sınıflamasına göre BAK tipleri	7
Şekil 6. Schaefer sınıflamasına göre BAK tipleri	8
Şekil 7. Michelena sınıflamasına göre BAK tipleri	9
Şekil 8. Diyastolde superior-inferior açılımlı BAK	29
Şekil 9. Sistolde sol-sağ açılımlı BAK	29
Şekil 10. Pulsed-Doppler ile basınç gradiyenti ve velosite ölçümü	29
Şekil 11. Renkli Doppler ekokardiyografide AY jet akımı	30
Şekil 12. Elektroforezde %2' lik agaroz jel'de 90 volt'ta 30 dakika yürütülen DNA örneklerinin görünümü.	38
Şekil 13. BAK Tipleri	41
Şekil 14. BAK hastalarının aort kapak fonksiyonlarına göre sınıflandırılması	45

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Kullanılan primer çiftleri	34
Tablo 2. PCR işlemi genel protokolü	38
Tablo 3. SMAD6, BMP-4 ve BMP-2 gen bölgelerinde PCR için kullanılan bileşenlerin reaksiyondaki hacim ve konsantrasyonları	39
Tablo 4. BAK ve kontrol grubuna ait demografik veriler	40
Tablo 5. Biküspit aortik kapak açılım şekline göre demografik veriler	42
Tablo 6. BAK ve kontrol grubundaki ekokardiyografi parametreleri	44
Tablo 7. Kapak fonksiyonlarına göre hastaların demografik verileri	47
Tablo 8. Kapak fonksiyonlarına göre hastaların ekokardiyografi parametreleri	48
Tablo 9. BAK hastalarında aort stenozu ve yetmezliği sınıflaması	49
Tablo 10. Aort Stenozu olan ve olmayan hastaların demografik verileri	50
Tablo 11. Aort Stenozu olan ve olmayan hastaların ekokardiyografi parametreleri	51
Tablo 12. BAK açılımı ve AS varlığı	52
Tablo 13. BAK açılımı ve AS sınıflaması	52
Tablo 14. Aort yetmezliği olan ve olmayan hastaların demografik verileri	53
Tablo 15. Aort yetmezliği olan ve olmayan hastaların ekokardiyografi parametreleri	55
Tablo 16. BAK açılımı ve AY varlığı	56
Tablo 17. BAK açılımı ve AY derecesi	56
Tablo 18. BAK grubunda aort koarktasyonlu hastaların demografik verileri	57
Tablo 19. Aort dilatasyonu olan hastaların demografik verileri	58
Tablo 20. BAK ve kontrol grubunda SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu	59
Tablo 21. BAK grubunda SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan ve olmayan hastaların demografik verileri	60

Tablo 22. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda BAK açılımı, raphe ve doming durumu	61
Tablo 23. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda aort kapak fonksiyonu	62
Tablo 24. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu ve AS	62
Tablo 25. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu ve AS ağırlığı	63
Tablo 26. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu ve AY	63
Tablo 27. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu ve AY ağırlığı	63
Tablo 28. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda aort koarktasyonu ve asendan aort dilatasyonu	64
Tablo 29. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda AS, AY, asendan aort dilatasyonu ve BAK açılımı etkisinin incelendiği tek değişkenli lojistik regresyon analizi	65
Tablo 30. BAK ve kontrol grubunda SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu	65
Tablo 31. BAK grubunda SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastaların demografik verileri	66
Tablo 32. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda BAK açılımı, raphe ve doming durumu	67
Tablo 33. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda aort kapak fonksiyonu	68
Tablo 34. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda AS	68
Tablo 35. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda AS ağırlığı	69
Tablo 36. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda AY	69
Tablo 37. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda AY ağırlığı	70
Tablo 38. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda aort koarktasyonu ve asendan aort dilatasyonu	70

Tablo 39. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan hastalarda AS, AY, asendan aort dilatasyonu ve BAK açılımı etkisinin incelendiği tek değişkenli lojistik regresyon analizi

71

ÖZET

Biküspit Aort Kapak Hastalığı Olan Türk Çocuklarında BMP-2, BMP-4 ve SMAD6 Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi

Dr.Gizem TÜKENMEZ SABIRLI

Biküspit aort kapağı (BAK), üç aort kapak yaprakçığından ikisinin yapışıklığı ile ortaya çıkan en yaygın aort kapak anomalisidir. Biküspit aort kapak patogenezinde sporadik ya da sendromik bazı genlerin rol oynadığı tanımlanmıştır. Biküspit aortik kapak hastalığında genetiğin rolü bildirilmesine karşın, bu hastalığın patogenezini açıklayan tek bir gen modeli bulunamamıştır. Bu çalışmada; biküspit aort kapak oluşumunda rol oynayabileceği düşünülen, Türk çocuklarındaki BMP-2, BMP-4 ve SMAD6 gen bölgelerini araştırmayı hedefledik.

Bu amaçla çalışmamıza 147 biküspit aort kapaklı ve 90 sağlıklı çocuk alındı. Çalışmaya alınan tüm çocuklarda ekokardiyografik inceleme yapıldı. Biküspit aort kapak tipi, kapak fonksiyonu, eşlik eden koarktasyon ve asendan aort dilatasyonu değerlendirildi. Kapak açılımları sup-inf (Tip-1) ve sol-sağ (Tip-2 ve Tip-3) olarak belirlendi. Hasta ve kontrol grubundan BMP-2, BMP-4 ve SMAD6 izolasyonu için periferik kan örnekleri alındı. Genetik incelemeler Sanger dizi analiziyle yapıldı.

Biküspit aortik kapak ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet açısından farklılık olmamakla birlikte biküspit aort kapaklı erkekler kızlara göre daha fazlaydı ($p>0,05$). Aort kapak fonksiyonu açısından hastalar; kapak fonksiyonu normal olan, izole aort stenozu olan, izole aort yetmezliği olan ve kombine kapak disfonksiyonunun olduğu hastalar olarak dört gruba ayrılarak değerlendirildi. Aort stenozu ($p=0,0001$) ve aort yetmezliğinin ($p=0,002$) sol-sağ (Tip-2 ve Tip-3) kapak açılımı olan biküspit aort kapaklı hastalarımızda daha fazla olduğu görüldü. Ayrıca, sol-sağ kapak açılımlı hastalarda aort yetmezliği daha ağırdı ($p=0,002$). Biküspit aortik kapağa eşlik eden asendan aort dilatasyonu olan hastalarımızın tamamında kapak disfonksiyonu mevcuttu.

Biküspit aortik kapaklı çocuklarda SMAD6 geninde iki ayrı gen bölgesinde (rs1555440093 ve rs1208514129) mutasyon saptandı. SMAD6 geni rs1555440093 mutasyonu bulunan hastalarda, aort stenozu görülme sıklığı ($p=0,016$), aort yetmezliği görülme sıklığı ($p=0,001$) ve kombine kapak disfonksiyonu görülme sıklığı ($p=0,001$) anlamlı olarak daha fazlaydı. Buna ek olarak, SMAD6 geni rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda mutasyon saptanmayan hastalara göre orta-ağır şiddette aort stenozu ($p=0,03$) ile orta-ağır derecede aort yetmezliğinin ($p=0,02$) daha sık olduğu görüldü. SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda mutasyon olmayan hastalara göre asendan aort dilatasyonu sıklığı 3,8 kat artmıştı [$p=0,001$ ve OR 3,8 (%95 CI; 2-6,3)]. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonuna sahip olmanın ise, aort koarktasyonu görülme sıklığını 5 kat artırdığı saptandı [$p=0,0001$ ve OR 5,0 (%95 CI; 3,568-7,006)].

Sonuç olarak; biküspit aort kapaklı Türk çocuklarında BMP-2 ve BMP-4 gen bölgelerinde herhangi bir mutasyon saptanmazken SMAD-6 geni rs1555440093 ve rs1208514129 bölgelerinde iki ayrı mutasyon varlığını saptadık. Yeni saptanan bu mutasyonların biküspit aort kapak hastalığının ve eşlik eden komplikasyonların önceden tahmin edilmesinde rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Biküspit aort kapak, Türk çocukları, BMP-2, BMP-4, SMAD6

SUMMARY

Determination of BMP-2, BMP-4 and SMAD6 Gene Polymorphisms in Turkish Children with Bicuspid Aortic Valve

Dr. Gizem TÜKENMEZ SABIRLI

Bicuspid aortic valve (BAV) is the most common aortic valve anomaly that occurs with the adhesion of two of the three aortic valve leaflets. It has been described that some sporadic or syndromic genes play a role in bicuspid aortic valve pathogenesis. Although the role of genetics in bicuspid aortic valve disease has been reported before, any single gene model that explains the pathogenesis of this disease has not been found. In this study; we aimed to investigate BMP-2, BMP-4 and SMAD6 gene regions in Turkish children, which are thought to play a role in bicuspid aortic valve formation.

For this purpose, 147 children with bicuspid aortic valve and 90 healthy children were included in our study. Echocardiographic examination was performed in all children included in the study. Bicuspid aortic valve type, valve function, accompanying coarctation, and ascending aortic dilatation were evaluated. Aortic valve openings were determined as sup-inf (Type-1) and left-right (Type-2 and Type-3). Peripheral blood samples were taken from the patients and control groups for the isolation of BMP-2, BMP-4 and SMAD6. Genetic studies were done by Sanger sequence analysis.

Although there was no difference in age and gender between the bicuspid aortic valve and control groups, males with bicuspid aortic valves were more common than females ($p>0,05$). In terms of aortic valve function, patients were divided into four groups as patients with normal valve function, isolated aortic stenosis, isolated aortic regurgitation, and combined valve dysfunction. Aortic stenosis ($p=0,0001$) and aortic regurgitation ($p=0,002$) were observed to be more common in patients with bicuspid aortic valve with left-right (Type-2 and Type-3) valve opening. In addition, aortic

regurgitation was more severe in patients with left-right valve opening ($p=0,002$). All of our patients with ascending aortic dilatation accompanying bicuspid aortic valve had valve dysfunction.

Mutations were found in two different gene regions of the SMAD6 gene (rs1555440093 and rs1208514129) in children with bicuspid aortic valve. The frequency of aortic stenosis ($p=0,016$), aortic regurgitation ($p=0,001$) and combined valve dysfunction ($p=0,001$) were significantly higher in patients with the SMAD 6 gene mutation rs1555440093. In addition, moderate-severe aortic stenosis ($p=0,03$) and moderate-severe aortic regurgitation ($p=0,02$) were more common in patients with rs1555440093 mutation in SMAD 6 gene than patients without this mutation. The frequency of ascending aortic dilatation was 3,8 times higher in patients with the rs1555440093 mutation in the SMAD-6 gene compared to patients without the mutation [$p=0,001$ and OR 3,8 (95% CI; 2-6,3)]. It was found that having the SMAD-6 gene with rs1208514129 mutation increased the incidence of aortic coarctation 5 times [$p=0,0001$ and OR 5,0 (95% CI; 3,568-7,006)].

In conclusion, while no mutations were detected in BMP-2 and BMP-4 gene regions in Turkish children with bicuspid aortic valve, we detected the presence of two different mutations in the SMAD-6 gene rs1555440093 and rs1208514129. We think that these newly detected mutations may play a role in predicting bicuspid aortic valve disease and accompanying complications.

Keywords: Turkish children, bicuspid aortic valve, BMP-2, BMP-4, SMAD6

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Aort kapak malformasyonu en sık görülen kardiyovasküler malformasyondur. Biküspit aortik kapağı (BAK), üç aort kapak yaprakçığından ikisinin yapışıklığı ile ortaya çıkan en yaygın aort kapak malformasyonu türüdür. BAK insidansı genel popülasyonda %0,5-2 oranında görülür, yaklaşık üç milyon kişiyi etkiler ve erkeklerde kadınlardan üç kat fazla görülmektedir (1,2). Biküspit aort kapak anomalisi olan hastaların seyri asemptomatik gruptan; kalsifik aort hastalığı, aort kapak stenozu/yetmezliği, aort dilatasyonu, torasik aort anevrizması, aort koarktasyonu ve aort diseksiyonuna uzanmaktadır. Biküspit aort kapağının kalsifikasyonu yaşla birlikte artmakta ve triküspit aort kapağında görülenden daha hızlı gerçekleşmektedir (3). BAK'a eşlik eden bu anomaliler nedeniyle çocukluk çağında tanı koyulan hastaların izlemi oldukça önem arz etmektedir.

BAK, düşük penetrasyonlu ve değişken ekspresyon özellikli otozomal dominant kalıtıma sahiptir (4). İzole olarak tanımlansa da Marfan sendromu veya Loeys-Dietz sendromu (MFS, LDS) gibi sendromlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (5-7). BAK hastalığına ilişkin genetiğin rolü bilinmesine rağmen, bu kardiyak malformasyonun kalıtımını açıklayabilecek tek bir gen modeli bulunmamaktadır. Birçok genin ayrı ayrı veya kombine olarak BAK oluşumunda rol oynadığı bildirilmiştir (5). Bu nedenle, son on yılda, çeşitli genetik ve biyokimyasal yaklaşımlarla birlikte hayvan modellerinde çeşitli çalışmalar yapılmış; sporadik veya sendromik BAK patogenezinde yer aldığı düşünülen çok sayıda gen tanımlanmıştır. En çok tanımlanan genler; NOTCH1, FBN1, GATA4, GATA5, AXIN1, ACTA2, NKX2.5, TGFBR1, TGFBR2 ve SMAD6'dır (5,8).

SMAD6 geni 15. kromozomda (15q22.31) dört ekzonu bulunan bir genidir. Embriyonik dönemde ventrikül çıkış yollarında, kalp kapakçıklarında, vasküler endotelde ve aort düz kas hücrelerinde eksprese edilmektedir (9). Biküspit aortik kapaklarda SMAD-6 geninde mutasyon görüldüğü, ek olarak bu genin torasik aort anevrizmasıyla da ilişkili olduğu bildirilmiştir (10,11).

Kemik Morfogenetik Protein (BMP)-4 geni 14q22.2 bölgesinde yer alır, beş ekzondan oluşur. Embriyolojik dönemde ön kalp oluşumu, endokardiyal yastık remodelingi, çıkış yolu septasyonu ve semilunar kapak gelişimi için gereklidir. BMP,

Transforming growth factor (TGF- β) süperalesinden eksprese olur. Yetişkin kalpte anormal BMP sinyalinde kalsifik aort kapak hastalıkları gelişimi gösterilmiştir (12). BMP-2 geni; 20p12.3 bölgesinde yer alır, üç ekzondan oluşur. TGF- β ligandından salgılanır. SMAD transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açan TGF- β reseptörlerine bağlanmaktadır (13). Özellikle NOTCH1 sinyal yolağıyla etkileşerek miyokard hücrelerinde endokardiyal-mezenkimal transformasyon (EMT) işlemi ve endokardiyal yastık morfogenezinde rol oynadığı düşünülen genlerden biridir. NOTCH sinyal yolağı tarafından BMP-2 ekspresyonunun artırılmasının kapak kalsifikasyonu ve vasküler kalsifikasyonda etkili olduğu gösterilmiştir (14-16).

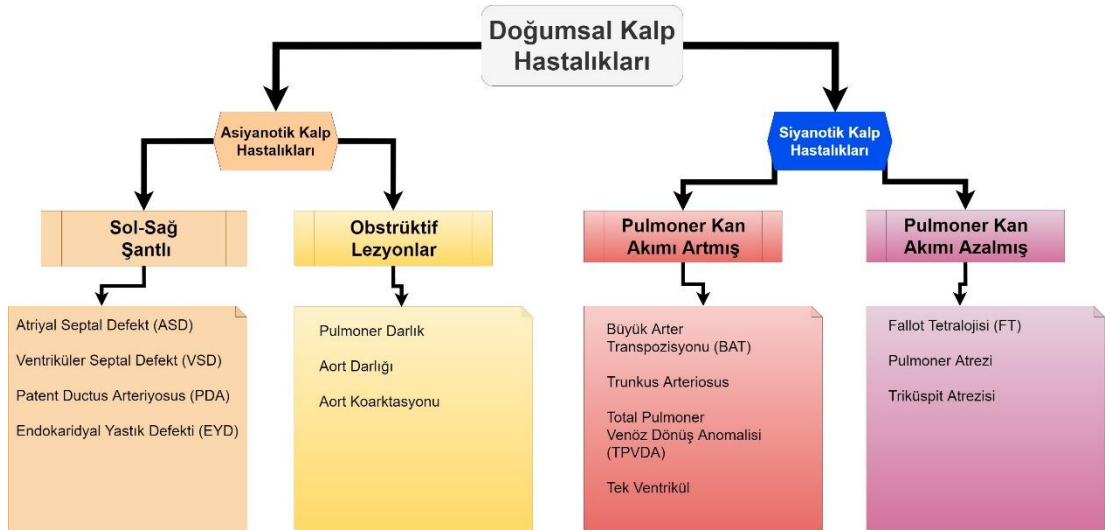
Literatürde az sayıda da olsa SMAD6 geniyle biküspit aortik kapak arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar bulunmaktadır. TGF- β yolağından etki gösteren, endokardiyal yastık patogenezi ve semilunar kapak oluşmasıyla ilişkili olan BMP-2 ve BMP-4 genleri ile biküspit aortik kapak hastalığının ilişkisine dair bir çalışma henüz literatürde bulunmamaktadır. Bu nedenle biz çalışmamızda SMAD6 genine ek olarak BMP-2 ve BMP-4 genlerinin biküspit aortik kapak hastalığı patogenezindeki rolünü araştırmayı hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DOĞUMSAL KALP HASTALIKLARI (DKH)

Doğumsal kalp hastalıkları (DKH), tüm doğumsal defektlerin yaklaşık 1/3'ünü oluşturmakla birlikte prevalansı 1000 canlı doğumda 6 ile 13 arasında değişmektedir (9,10). Başpınar ve arkadaşları tarafından 2006 yılında ülkemizde yapılan bir çalışmada, DKH prevalansı 7,7/1000 olarak saptanmıştır (17). Bu çalışmada 1693 hasta incelenmiştir. En sık saptanan defektin %32,6 ile ventriküler septal defekt (VSD) olduğu, bunu %15,9 ile patent duktus arteriosus (PDA) ve %13,1 ile atriyal septal defektin (ASD) izlediği görülmüştür (17).

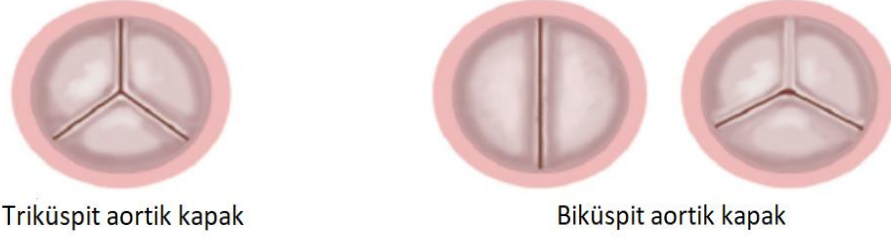
Doğumsal kalp hastalıkları, siyanozun eşlik edip etmemesine göre asiyanotik ve siyanotik DKH olmak üzere, ikiye ayrılmaktadır (Şekil 1). Siyanotik kalp hastalıkları da pulmoner kan akımının durumuna göre iki gruba ayrılmaktadır. En sık görülen siyanotik kalp hastalığı Fallot tetralojisidir (FT). Asiyanotik kalp hastalıkları da sol-sağ şanlı ve obstrüktif lezyonlar olarak kendi içinde iki grupta incelenmektedir. Sol-sağ şanlı hastalıklar arasında en sık VSD görülürken; obstrüktif kalp hastalıkları arasında en sık pulmoner darlık görülmekte, daha az sıklıkta aort stenozu ve koarktasyon karşımıza çıkmaktadır. Aort stenozu olan hastalarda en sık neden ise, aort kapağının doğumsal olarak iki yaprakçıklı olmasıyla karakterize olan biküspit aortik kapak hastalığıdır (18).



Şekil 1. Asiyanotik ve siyanotik kalp hastalıkları

2.2. BİKÜSPİT AORT KAPAĞI

Biküspit aortik kapak embriyolojik gelişim sırasında olması gereken, aortun üç yaprakçığından ikisinin yapışık olduğu anomalidir (19), (Şekil 2).



Şekil 2. Triküspit ve biküspit aortik kapak (20)

2.2.1 Aort Kapağının Anatomi ve Morfolojisi

Biküspit aort kapağına dair ilk bilgilere Leonardo Da Vinci'nin çizimlerinde rastlanmaktadır (Şekil 3).



Şekil 3. Leonardo Da Vinci'nin biküspit aort kapağı çizimi (21)

Biküspit aort kapağına ilk olarak 1844'te Paget dikkat çekse de; 1858'de Peacock, biküspit aort kapağının önce aort stenozuna, sonra da aort yetmezliğine yol açabileceğini ifade etmiştir (22). Abbot tarafından 1928 yılında 200 hasta incelenmiş, BAK ve asendan aort rüptününün birlikte olabileceği görüşü öne sürülmüştür. Reid tarafından da 1952 yılında asendan aortanın anevrizmatik dilatasyonu ve BAK arasında ilişki olduğu belirtilmiştir. McKusick, 1972 yılında biküspit aort kapağı olan ve aort diseksiyonundan ölen baba ile oğlundan yola çıkarak BAK ve aortun medial nekrozu arasındaki ilişkiyi tanımlamıştır (23). Yıllar boyunca otopsilerden öğrenilen BAK, 1974'te ekokardiyografinin kullanıma girmesiyle görülebilir hale gelmiştir (23,24). 'American College of Cardiology (ACC)' ve 'American Heart Association (AHA)' tarafından BAK ve asendan aort anevrizması ile birlikte seyreden kalp kapak hastalıkları için ilk kılavuz 2006 yılında yayınlanmıştır (25).

2.2.2 Epidemiyoloji

En sık görülen aort kapak anomalisi olan BAK, dünya nüfusunun %0,5-2'sini etkiler ve kız/erkek oranı 1/3 olarak bildirilmiştir (26). Tutar ve arkadaşları tarafından ülkemizde yapılan bir çalışmada biküspit aortik kapak prevalansı 1000 canlı doğumda 4,6; cinsiyete göre sıklık ise erkeklerde 7,1:1000, kızlarda 1,9:1000 olarak bulunmuştur (27). İnsidansı, coğrafi bölgelere göre değişmemektedir. Afro-Amerikalılarda BAK prevalansı diğer popülasyonlara göre düşük bulunsada ırksal kümelenme gösterilmemiştir (28). Çocukluk çağında genellikle asemptomatik seyreden BAK; aort dilatasyonu, aort yetmezliği, enfektif endokardit, aort stenozu gibi aort dilatasyonundan, aort diseksiyonuna uzanan klinikle ortaya çıkabilmektedir (29).

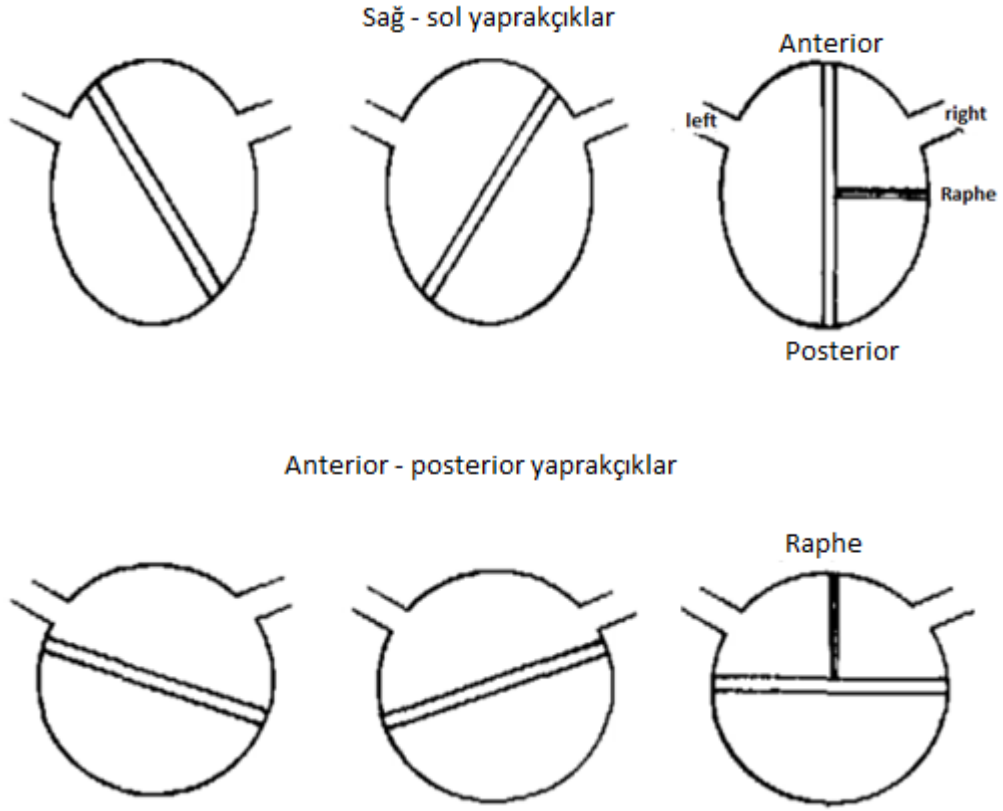
2.2.3 Aort Kapağının Gelişimi

İnsanlarda embriyolojik olarak primer kardiyak gelişim gebeliğin 2-8. haftalarında, semilunar kapak oluşumu ise 7-8. haftalarda meydana gelir. İlkel kalp tüpü, endotel hücre katmanını çevreleyen miyokard hücre katmanından oluşur. Endokardiyal yastıkların oluşumu kapak gelişimindeki ilk olaydır. Endokardiyal yastık oluşumu, progenitör hücreleri üreten erken epitelyal hücrelerin mezenkimal hücreye dönüşümü, hücre dışı matriks oluşumu ve remodelling evresinde kapak yaprakçıklarının oluşumu meydana gelir (30). Bu süreçte erken dönemdeki kusurlar

embriyonik ölüme yol açar. Geç dönemdeki kusurlar ise, malformasyon ve hastalıkla sonuçlanır (31). Bölmelenme işlemi öncesinde yuvarlak halde olan kalp, asıl olarak kardiyak miyositlerden ve kalp jölesi adı verilen hyalüronik asitten zengin bir matriks ile ayrılan üst üste gelen bir endokardiyal hücre katmanından oluşur. Atrioventriküler kanal ve çıkış yolu bölgelerine özgü, endokardiyal hücrelerin bir kısmı endokardiyal-mezenkimal transformasyona (EMT) geçer ve hyalüronik asit bakımından zengin bir ekstraselüler matriks içinde gömülü mezenkimal hücrelerden oluşan endokardiyal yastıkların oluşumuna neden olmaktadır (32). EMT işlemi, büyük ölçüde bitişik miyokardiyumdan yayılan sinyallere yanıt olarak başlatılır ve ağırlıklı olarak TGF- β sinyal yolağınca yönetilir (33). Kemik morfogenetik protein (BMP) reseptörleri ve ligandları, EMT başlangıcı için miyokardiyal olarak türetilmiş sinyallerin bir başka ana kaynağıdır (34). Miyokard spesifik BMP-2 yıkımı, özellikle atrioventriküler kanalda kapak endotel hücre transformasyonunu bozmakta, böylece valvüler anomaliler ortaya çıkmaktadır (35).

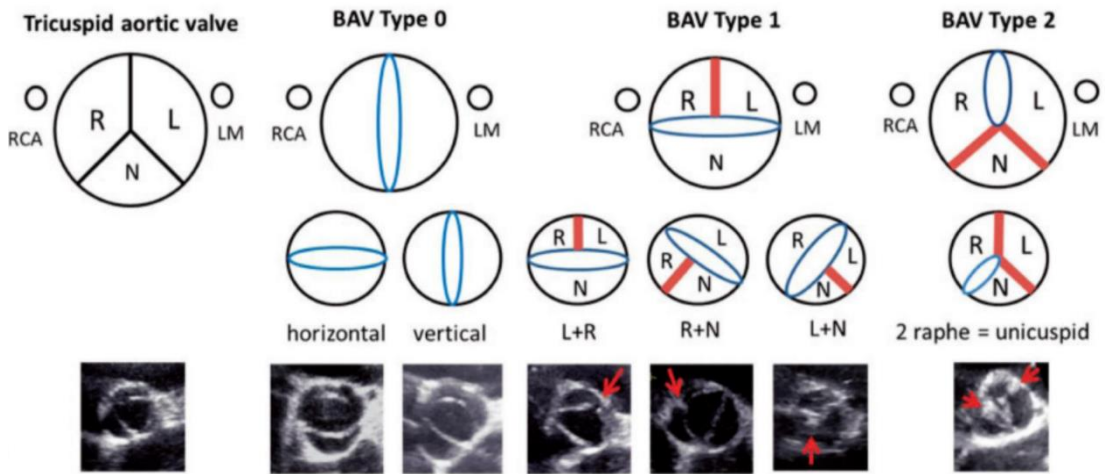
Aort kapağı yarım ay şeklinde ve sıklıkla eşit boyutta üç yaprakçıktan meydana gelir. Bu yaprakçıklar, sağ koroner yaprakçık, sol koroner yaprakçık ve nonkoroner (posterior) yaprakçık olarak adlandırılırlar. Biküspit aort kapağı, üç aort kapak yaprakçığından ikisinin yapışıklığı ile ortaya çıkar ve morfolojik çeşitlilik gösterir. Yapışıklık hattında kapak dokusunu içermeyen, fibröz bir yapı olan 'raphe' genellikle bulunur. BAK'ın iki yaprakçığı eşit veya farklı büyüklüklerde; kapak açılımı santral veya uç yerleşimli olabilir (21). Yaprakçıkları asimetrik olan kapaklarda kalsifikasyon ve darlık gelişiminin daha hızlı olduğu bildirilmiştir (36).

Bikuspit aort kapak; araştırmacılar tarafından yaprakçığın yapıştığı yere, açılım şekline ve raphe olup olmamasına göre çeşitli tiplerde sınıflandırılmıştır: Roberts ve arkadaşları 85 otopside alınmış BAK örneklerini değerlendirmişler ve anterior-posterior ile sağ-sol yaprakçıklar olarak iki tipe ayırmışlardır (22). Şekil 4'te gösterildiği gibi yaprakçıkların sağ ve sol koroner arteri birbirinden ayıracak şekilde açılmasına sağ-sol yaprakçık tipi; sağ ve sol koroner arterin bir yaprakçıkta kaldığı ve açılım yönünün üst ve alt olarak belirlendiği açılım tipini ise anterior-posterior yaprakçık tipi olarak adlandırmışlardır. Her iki tipe de raphe eşlik edebilmektedir (22).



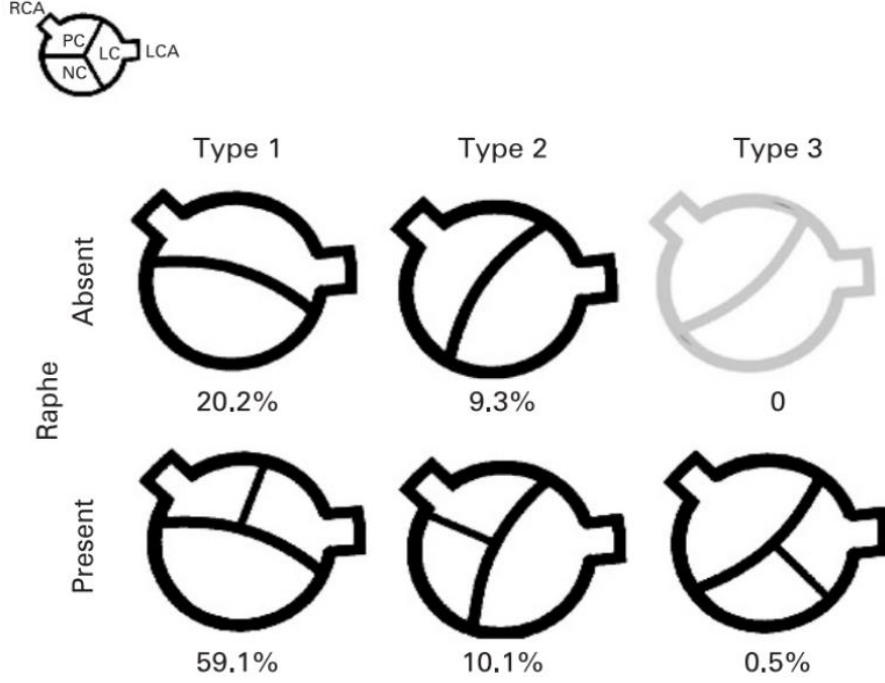
Şekil 4. Biküspit aort kapak tipleri (22)

Sievers sınıflamasına göre; cerrahi örneklerden alınan biküspit aortik kapaklar, raphe sayısına göre üç tipe ayrılmıştır: Raphe yoksa tip 0, bir adet raphe var ise tip 1, iki adet raphe varlığında ise tip 2 olarak adlandırılmıştır (Şekil 5), (19).



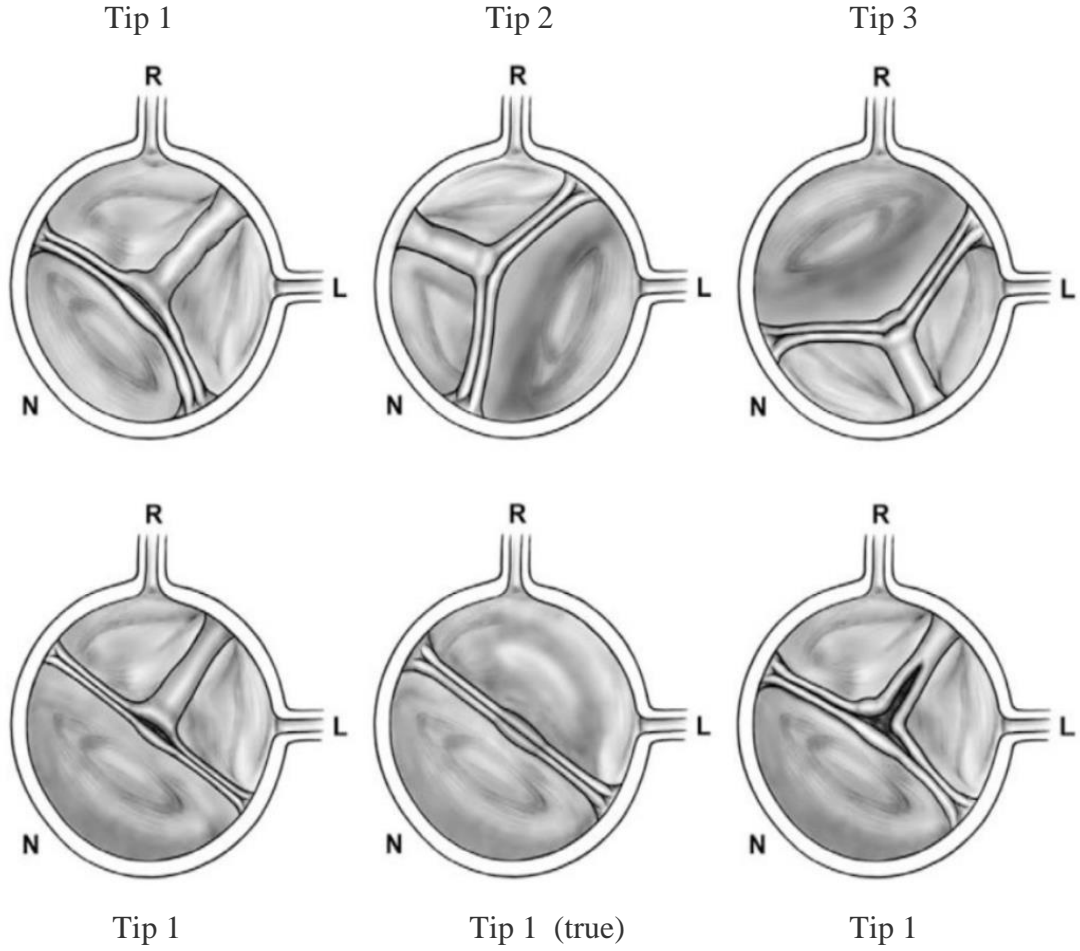
Şekil 5. Sievers sınıflamasına göre BAK tipleri (19).

Schaefer ve arkadaşları ise; biküspit aortik kapağı, ekokardiyografide parasternal kısa eksen görüntüsünde yaprakçık füzyonunun yerine göre şematize ederek üç gruba ayırmışlardır: Şekil 6’da gösterildiği gibi tip 1’de BAK füzyonu sağ ve sol koroner yaprakçık arasında, tip 2’de sağ ve non koroner yaprakçık arasında, tip 3’te ise sol ve non koroner yaprakçık arasında yer almaktadır. Her 3 tipe de raphe eşlik edebilmektedir (37).



Şekil 6. Schaefer sınıflamasına göre BAK tipleri (37)

Michelena ve arkadaşları da; ekokardiyografi görüntülerini temel alarak yaptıkları sınıflamada üç tipten bahsetmektedirler (38). Tip 1’de biküspit aort kapak füzyonu sağ-sol koroner yaprakçıklar arasında, tip 2’de sağ ve non koroner yaprakçıklar arasında, tip 3’te ise sol ve non koroner yaprakçıklar arasında bulunmaktadır. Raphenin durumuna göre; tip 1 için alt gruplar belirlenmiş ve raphesiz olan grup ‘true’ olarak adlandırılmıştır (Şekil 7), (38).



Şekil 7. Michelena sınıflamasına göre BAK tipleri (38)

Biküspit aort kapak tipleri arasında en sık sağ-sol koroner yaprakçıkların füzyonu görülürken; sağ ve non koroner yaprakçıkların füzyonuna daha az rastlanmakta, sol ve non koroner yaprakçıkların füzyonu ise, nadiren görülmektedir. Sağ-sol koroner yaprakçıkların füzyonununun %70 ile %86 arasında, sağ ve non koroner yaprakçıkların füzyonununun %12 oranında, sol ve non koroner yaprakçıkların füzyonununun ise %3 oranında görüldüğü bildirilmiştir (38).

Biküspit aort kapağındaki yaprakçık füzyonu yerleşiminin aort kapak fonksiyonlarıyla ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Sağ ve non koroner yaprakçık füzyonu diğer anatomik tiplere kıyasla aort stenozu ve aort yetmezliği riskini artırırken; aort koarktasyonun sağ-sol koroner yaprakçıkların füzyonuna daha fazla eşlik ettiği bulunmuştur. (38-40).

2.2.4 Patogenez

Doğumsal aort kapak malformasyonlarının patogenezi bilinmemekle birlikte; valvulogenez sırasında aort kapaktaki anormal kan akışının, aort kapak yaprakçıklarının oluşumundaki defekte neden olduğu düşünülmektedir (41).

Ekstraselüler matriks proteinleri, valvulogenez sırasında hücre farklılaşmasını ve yaprakçık oluşumunu yönlendirmeye yardımcı olur. Mikro fibriller proteinler embriyonik hücrelerde iskele görevinde bulunarak gelişen aort kapaklarında doku oluşumunu düzenler. Endokardiyal yastık mezenkimal hücrelerinin olgunlaşmış kapak hücrelerine farklılaşması, mikro fibriller proteinlerin fibrillin ve fibülünün ekspresyonu ile ilişkilidir. Aort matriksindeki mikro fibriller proteinler BAK hastalarında yetersiz olabilmektedir. Valvulogenez sırasında yetersiz fibrillin-1 üretimi, aortta küspis oluşumunu bozarak, aort kökünün zayıflamasına ve biküspit kapak oluşumuna yol açar (41). BAK oluşumunda matriks elementlerini kodlayan genlerdeki kusurlar da tanımlanmamıştır. Fibrillin-1 geninde defekt saptanmasa da, protein üretiminde görevli transkripsiyonel maddelerin kusurlu olabileceği düşünülmüştür. Endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) gen eksikliği saptanan farelerde doğumsal BAK insidansı yüksek bulunmuştur (41).

Dilate aort kökü anlamına gelen aortopati de BAK patogenezinde rol oynamakta olup; aort anevrizması, diseksiyonu ve rüptürüne yol açabilmektedir. Aortopatinin mekanizmasını açıklamak için genetik ve hemodinamik teoriler ortaya atılmıştır. Hemodinamik teori, BAK yoluyla türbülanslı kan akımı nedeniyle aort kökü ve duvarı üzerindeki anormal hemodinamik stres ile oluşurken; genetik teori, kalıtsal gelişimsel defekt nedeniyle aort duvar kırılabilirliği ve aort kapağın kusurlu oluşumunu anlatmaktadır (42).

2.2.5 Biküspit Aort Kapak Hastalığında Klinik

İzole BAK asemptomatik seyredebilir. Ancak BAK'a aort stenozu (AS) veya aort yetmezliği (AY) eşlik etmesi halinde, semptomlar görülebilir. İkinci dekatta genellikle biküspit aort kapağın kalsifikasyonu ve kalınlaşması meydana gelebilmektedir. Hafif AS olan çocuk asemptomatiktir, bazen egzersiz intoleransı görülebilir. Ağır derecede darlık varlığında; egzersizle oluşan göğüs ağrısı, çabuk yorulma veya senkop görülebilir. Kritik aort stenozu olan yenidoğanlarda ise duktusun

daralmasıyla tetiklenen periferik perfüzyonda azalma bulguları oluşabilir. Klinik tablo sepsisi taklit edebilir. AS varlığında en yaygın bulgu, sistolik ejeksiyon üfürümü ve genellikle ejeksiyon kliğinin duyulmasıdır. Ağır aort stenozunda S2'de paradoksal çiftleşme olabilir. Sert, 2-4/6 derece middiyastolik üfürüm en iyi ikinci sağ ve sol interkostal aralıkta duyulur, boyuna ve apekse yayılır.

Hafif-orta AY olan hastalar uzun süre asemptomatik olabilirler. Ancak semptomlar ortaya çıktığında hastaların çoğu hızla kötüleşir. Daha ağır AY ve kalp yetmezliği eşlik eden hastalarda egzersiz toleransı azalır. Oskültasyon bulguları hafif AY'de normaldir, orta-ağır AY'de S1 şiddetinde azalma olur. S2 normal veya tek duyulabilir. AY'ne özgü en iyi sol üçüncü veya dördüncü interkostal aralıkta duyulan yüksek perdeli diyastolik dekresendo üfürüm ve ağır AY'nde apekte middiyastolik rulman (Austin Flint üfürümü) görülebilmektedir (18,43).

Belirgin AS ya da AY olmayan biküspit aortik kapak hastalarında sadece düzenli takip yeterli olsa da, BAK zamanla kalsifik aort hastalığına ilerleyebilmektedir (44). Lewin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada bu hastaların yaklaşık %75'inin operasyona ihtiyaç duyduğu gösterilmiştir (45). Beppu ve arkadaşları 15-76 yaş arasındaki BAK'lı 75 hastayı değerlendirdikleri çalışmalarında; AS'nin yaşamın ikinci on yılında, aort kalsifikasyonunun ise dördüncü on yılında başladığını bildirmişlerdir (46). Aort kapak basınç gradiyentinin, kapak stenozu ile birlikte her on yılda yaklaşık 18 mm-Hg civarında arttığını; anterior-posterior ve eksantrik yerleşimli kapak yaprakçıkları olan hastaların on yılda ortalama 27 mm-Hg aort kapak basınç gradiyenti artışı ile AS'nda daha hızlı ilerleme kaydettiğini göstermişlerdir (46).

2.2.6 Tanı

Telekardiyografi ve elektrokardiyografi (EKG); BAK tanısı için etkin tekniklerden değildir. Telekardiyografi, eşlik eden koarktasyon, aort kökü dilatasyonu gibi anomaliler ve sol ventrikül genişliği hakkında fikir verse de asıl tanı ekokardiyografi ile kapağın morfolojisinin görüntülenmesi ile koyulur (21). Elektrokardiyografide de eşlik eden biküspit aort kapak hastalığının özelliklerine yönelik bulgular görülebilmektedir. Ağır AS ve AY'nde sol ventrikül hipertrofisi ortaya çıkarken; aort koarktasyonlu süt çocuğunda normal veya sağ aks, sağ ventrikül

hipertrofisi veya sağ dal bloğu karşımıza çıkmaktadır. Sol ventrikül hipertrofisi ise büyük yaştaki aort koarktasyonlu çocuklarda görülmektedir (18).

Ekokardiyografi; tanı koydurucu yöntemdir. Parasternal uzun eksen görünümünde sistolde kapak kapanması ve doming durumu ile parasternal kısa eksen görünümünde karakteristik iki yaprakçıklı aort kapağının gösterilmesini ve raphe varlığını içermektedir. Aort kapağının yapısal değerlendirilmesi yanında; fonksiyonlarının da değerlendirilmesine olanak sağlar (21).

2.2.7 Tedavi ve İzlem

BAK tanısı ekokardiyografiyle koyulduktan sonra kapak lezyonu varsa ilerleyebileceği; enfektif endokardit riski, aort anevrizma ve diseksiyon riski göz önünde bulundurularak aileye bilgi verilmelidir. Biküspit aort kapak hastalığını önleyici medikal tedavi bulunmamaktadır (21).

Genel olarak hafif-orta derecede kapak disfonksiyonu ve sol ventrikül fonksiyonları normal olan hastalar düzenli ekokardiyografiyle takip edilmeli ve hipertansiyon açısından izlenmelidir (21).

Çocuklarda, konjenital orta ya da şiddetli aort stenozunda birinci basamak tedavide balon valvuloplasti yer almaktadır. Balon valvuloplasti palyatif bir işlem olup çocuklarda büyümeye olanak sağlamaktadır. Böylece kapak darlıklarının kesin tedavisi olan kapak replasmanını ertelemektedir (47). Ağır aort stenozu bulunan ve çift ventrikül tamiri için uygun olan bebeklerde balon valvuloplasti veya cerrahi valvülotomi seçilebilir. Cerrahi valvülotomi ile balon valvuloplastinin başarısı birbirine yakın olduğundan balon valvuloplasti uygulaması öncelikle tercih edilmektedir. Cerrahi valvülotomide rezidüel darlık daha çok görülürken, balon valvuloplastide aort yetmezliğiyle daha sık karşılaşılmaktadır (48). Bu nedenle aort stenozu ve orta-ağır aort yetmezliği olan hastalarda valvülotomi, Ross yöntemi veya kapak replasmanı uygulanırken, hafif aort yetmezliği sınırında olan hastalarda balon valvuloplasti tercih edilmektedir (49).

Ağır aort yetmezliği gelişmesi halinde; *ACC/AHA 2006* kılavuzuna göre semptomatik AY olan, asemptomatik olup aralıklı değerlendirmelerde sol ventrikül sistolik fonksiyon bozukluğu ya da ilerleyici sol ventrikül genişlemesi saptanan hastalara mümkünse kapak onarımı, değilse kapak replasmanı uygulanması

önerilmektedir. Kapak onarımı; prolabe olan yaprakçık ya da tek bir yırtığın düzeltilmesi şeklinde valvuloplastiyle yapılabilir. Kapak replasmanı operasyonunda ise; aortik homogreftler, protez kapaklar kullanılabileceği gibi büyüme potansiyeli olan, seçilmiş adölesanlarda pulmoner otogreftin kullanıldığı Ross yöntemi tercih edilebilmektedir (18).

BAK, ailesel özellik gösterebileceğinden hastaların birinci derece yakınları ekokardiyografi ile taranmalıdır. BAK hastalarında kapak lezyonlarının ve aort dilatasyonunun cerrahi tedavisinin yapılması gerekebilir. Replasman tedavisinden sonra bile hastanın aort dilatasyonu, anevrizması ve diseksiyonu açısından risk altında olduğu, bu nedenle yakın izlemin devam etmesi gerektiği unutulmamalıdır (21).

2.3. BİKÜSPİT AORT KAPAĞINA EŞLİK EDEN ANOMALİLER VE DOĞUMSAL KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLAR

2.3.1 Aort Stenozu (AS)

Şiddetli aort stenozu olan yetişkinlerin yaklaşık %50'sinde biküspit aort kapak hastalığı olduğu görülmüştür. Ağır derecede darlık gösteren biküspit aortik kapaklar fibrozis ve kalsifikasyon nedeniyle esnekliğini kaybeder. Bu durum yaşla ilişkilidir. Bir klinik seride başlangıçta asemptomatik olan BAK hastalarının üçte birinde ortalama 10,9 yıllık bir süre içinde kapak fonksiyonunda bozulma saptanmıştır (50). Ekokardiyografik çalışmalar, kapağın sklerozunun ikinci on yılda başladığını ve dördüncü on yıldan itibaren kalsifikasyonun giderek daha belirgin hale geldiğini göstermiştir. Biküspit aort kapağına sekonder aort stenozu olan hastalar, triküspit aort kapağı olanlardan yaklaşık beş yıl önce aort kapak replasmanına ihtiyaç duymaktadır (46,51).

Aort stenozu, hastaların çoğunda yetişkin dönemde ortaya çıksa da bebeklik döneminde de ciddi sorunlar görülebilmektedir. Yaşamın erken döneminde saptanan aort kapak hastalığı vakalarının %80-95'inden biküspit veya uniküspit aort kapakları sorumludur (52). Beppu ve arkadaşlarının BAK'lı 75 hastada yaptıkları AS ilerleme hızıyla ilgili çalışmasında; BAK iki yaprakçığının asimetrik veya anteroposterior pozisyonda (superior-inferior açılımlı) olduğu olgularda aort stenozunun daha hızlı geliştiği gösterilmiştir (46). Fernandes ve arkadaşlarının 1135 BAK'lı çocuk ve

adolesanda yaptığı çalışmada ise sağ koroner ve non koroner yaprakçık yapışıklığı olan olgular aort stenozu ve yetmezliği açısından diğer BAK tiplerine göre iki kat riskli bulunmuştur (53). Sol ventrikül-aorta maksimum gradiyenti 50 mmHg üzerinde olan çocuklarda ciddi kardiyak olay riski her yıl için %1,2 olarak bildirilmiştir (54). Erken yaşlarda daha az etkilenen stenotik kapaklar zamanla progrese olabilir. Aort stenoz gradiyenti 25 mmHg'in altında olan çocukların %20'sinde ilerleyen yıllarda girişim gerektiği gösterilmiştir (55).

2.3.2 Aort Yetmezliği (AY)

Tek başına, genellikle eşit olmayan büyüklükteki kapak yaprakçıklarının daha büyük tüberküllerin prolapsusunun bir sonucu olarak, aynı zamanda da aort kökü dilatasyonu, aort koarktasyonu veya enfektif endokardit ile bağlantılı olarak ortaya çıkabilir (52,56). Biküspit (veya triküspit) aort kapağının yetersizliği, asendan aortun dilatasyonuna neden olabilir. Bu dilatasyonda sekonder aort yetersizliği de meydana gelebilmektedir. Bu durum, özellikle sinotübüler bileşke içindeki temel desteği oluşturan elastik dokunun bozulmasından kaynaklanmaktadır (57).

İzole BAK, şiddetli aort yetersizliğinin nispeten nadir (%1,5-10,7) bir nedenidir (52). Muhtemelen aort koarktasyonu ve özellikle enfektif endokardit ile ilişkisi nedeniyle, aort yetersizliği olan hastalar aort stenozu olanlara göre daha erken yaşta kaybedilmekte veya cerrahi müdahaleye ihtiyaç duymaktadırlar (57).

2.3.3 Aort Koarktasyonu (AK)

En basit şekliyle aort koarktasyonu, proksimal torasik aortun ayrı bir darlık olan kısmına verilen addır. Koarktasyon genellikle sol subklavian arter distalinde ve duktus arteriosus komşuluğunda görülse de nadiren transvers ark ve abdominal aortta da görülebilir. Koarktasyon uzun ya da kısa segmentte olabilir. Koarktasyonun anatomisi, patofizyolojisinde farklılıklar görülebilmekte, stenozun ciddiyetine göre kliniği değişmektedir. Ayrıca eşlik eden PDA, VSD ve sol ventrikül çıkış yolu obstrüksiyonu varlığından da etkilenir. Koarktasyonun klinik görünümü bebeklik döneminde kalp yetmezliğinden asemptomatik hipertansiyona; daha büyük çocuklarda üfürüme kadar değişiklik gösterebilir (58).

Aort koarktasyonu, doğuştan kalp hastalığı olan çocukların yaklaşık %6-8'inde görülürken, erkeklerde kadınlara göre daha siktir. Erkek/kadın oranı 1,27 ile 1,74 arasında değişmektedir. Koarktasyonlu hastaların %85'inde biküspit aort kapağı

görülür ve kapak stenotik veya anulus hipoplastik olabilir. Turner sendromlu hastaların yaklaşık %35'inde aort koarktasyonu görülmekte olup, bu oluşum üzerinde genetiğin etkisi uzun zamandır bilinmektedir. NOTCH1 mutasyonlarının da biküspit aort kapağında olduğu gibi aort kapak stenozu, koarktasyon ve hipoplastik sol kalp sendromu olan bazı hastalarda etkili olduğu gösterilmiştir (58).

BAK morfolojisine bakıldığında koarktasyon varlığında sol ve sağ koroner yaprakçıkların füzyon sıklığının arttığı gösterilmiştir. Ayrıca hem koarktasyon hem de BAK olan kişilerde AS, AY ve aort anevrizması görülme olasılığı daha yüksektir (21).

2.3.4 Aortopati ve Aort Dilatasyonu

Biküspit aort kapağı olan hastalarda aort dilatasyonunun gelişimi tam olarak aydınlatılamamıştır. Aort kapakçıklarının füzyonu nedeniyle; aort akışının zararlı hemodinamik etkilerinden, tüberkül füzyonuna neden olan altta yatan genetik bir hastalık nedeniyle aortopatiye kadar uzanan çeşitli hipotezler gündeme gelmiştir (59). Biküspit aort kapak hastalığı olanların yaklaşık %50'sinde nonvalvuler bulgular görülmektedir. BAK hastalığında aortik anulus, sinüs ve çıkan aorta boyutları sağlıklı popülasyona göre yüksek bulunmuştur (60-62).

Genel olarak, aort dilatasyonunun üç farklı fenotipi vardır: En yaygın tip, aort kökünün hafif-orta derecede tutulumu ile çıkan aortun tübüler kısmının genişlemesidir (60). Bu tip dilatasyon ileri yaş, aort kapak stenozu ve sağ-sol yaprakçığın füzyonu ile ilişkili bulunmuştur (37,60,63). Çıkan aortun tübüler kısmının izole tutulumu ikinci en yaygın olanıdır. Genellikle aort kökü göreceli olarak korunur, ancak dilatasyon sıklıkla transvers aort arkına kadar uzanmaktadır (63). Sadece aort sinüsünün dilatasyonu olan hastalar çok yaygın değildir ve bu durumlarda sendromik (genetik) bir neden düşünülmelidir (59,64).

Biküspit aort kapak tipine bakılmaksızın, kapak disfonksiyonu aort genişlemesine yol açabilir. Özellikle AY'nin, anormal duvar stresi yaratarak aort dilatasyonuna neden olduğu düşünülmektedir (62,65). BAK hastalarında kapak fonksiyonundan bağımsız olarak, aort dilatasyonu, anevrizma ve diseksiyon riski artmaktadır (60,66,67). Hafif aort yetmezliği veya hafif aort stenozu olan BAK'lı hastaların %50-60'ında aort kökü dilatasyonu görüldüğü bildirilmiştir (56).

2.3.5 Shone sendromu

Birden fazla sol taraflı obstrüktif lezyonun koarktasyon ile ilişkisi “*Shone sendromu*” olarak adlandırılır. Mitral kapak stenozu, supramitral ring, valvuler ve/veya subvalvuler aort stenozu ve aort koarktasyonunun herhangi birinden veya tamamından oluşur (21).

2.3.6 Patent Duktus Arteriyosus

Patent Duktus Arteriyosus; sol pulmoner arter ve sol subklavian arter çıkışından yaklaşık 5-10 mm distalde, sol subklavian ven ve inen aorta arasında bulunan, intrauterin dönemde normal olarak bulunan ‘duktus’ yapısının doğum sonrası kapanmayıp devam etmesidir. Tüm doğuştan kalp defektlerinin %5’ini oluşturur (prematüre bebekler hariç) (18,68). Patent duktus arteriozus (PDA) genellikle izole bir lezyondur ancak özellikle pediatrik popülasyonda BAK ile ilişkilendirilmiştir (69). PDA'nın genç yaşta tanımlanması ve tedavisi nedeniyle yetişkin popülasyonda daha az görülmektedir. Tedavi edilen PDA'lı yetişkinlerde BAK varlığını değerlendirmek için daha fazla inceleme gerekmektedir (21).

2.3.7 Ventriküler Septal Defekt

Ventriküler Septal Defekt; DKH'nın %15-20'sini oluşturmaktadır ve en sık görülen doğumsal kalp hastalığıdır. VSD tipleri defektin bulunduğu yere göre membranöz, outlet, inlet ve trabeküler (muskuler) olarak sınıflandırılmaktadır. En sık görülen (%70) VSD tipi ise membranöz tip VSD'dir (18). VSD, tek başına veya konjenital lezyonlarla birlikte görülebilmektedir. BAK'lı yetişkin hastalarda %30'a varan oranda VSD ile birliktelik bildirilmiştir (70). Kardiyojenez sırasında semilunar kapak oluşumu ile ventriküler septasyon arasında gelişimsel bir bağlantı olmasına rağmen, BAK ve VSD tipi arasında net bir ilişki gösterilememiştir (71). Perimembranöz VSD'ler genellikle aort kapak yaprakçığının kısmi prolapsusu nedeniyle aort yetmezliği ile ilişkilidir. Ek olarak, VSD'nin cerrahi onarımı, aort kapağında yapısal değişikliğe neden olarak aort yetersizliğine neden olabilir. VSD'nin cerrahi olarak düzeltilmesinden önce BAK varlığının belirlenmesi önemlidir (21).

2.3.8 Enfektif Endokardit (EE)

Endokard tabakasının enfeksiyonu olan enfektif endokardit, kapak perforasyonu veya ağır kapak yetmezliğine neden olabilmektedir. Endokardit riski erken serilerde %10 ile %30 düzeyinde bulunmuştur (52). Gelişmiş ülkelerde BAK

enfektif endokardit için en önemli risk faktörüdür. Güncel serilerde, endokardit insidansının yılda %0,3-2'den az olduğu bildirilmektedir (72).

ACC/AHA rehberleri izole BAK hastalarında, öncesinde endokardit öyküsü olmadığı sürece endokardit profilaksisinin yapılmasını artık önermemektedir (73).

2.4. DOĞUMSAL KALP HASTALIKLARI VE GENETİK

Kromozomların üzerinde yer alan, DNA'nın belirli görevleri yapan bölgelerine gen adı verilir. Genleri, DNA dizileri oluşturur ve sıklıkla protein olan ürünleri, hücre yapısı, fonksiyonlarının düzenlenmesi, enzim aktivitesi ve metabolik yolların kontrolünde rol oynar. Herhangi bir genin, bir kromozom üzerinde yerleştiği bölge, lokus olarak adlandırılır. Her gen, biri anneden diğeri babadan gelen ve allel olarak adlandırılan, iki alternatif kopyadan oluşur (74).

Gen üzerinde kodlanmayan nükleik asitten oluşan intron ve protein kodlamak üzere olgun RNA'da da yer alan ekzon bölgesi bulunmaktadır. Olgun RNA'lardan DNA sentezlenirken de işlemi başlatmak üzere primer adı verilen nükleotit dizileri gerekmektedir (74).

Polimorfizm, bir populasyonda %1'den daha yüksek sıklıkta görülen genetik farklılıklardır. Bu farklılıklar her zaman hastalıkla sonuçlanmayabilir (74). Mutasyon ise gen ya da kromozomda meydana gelen kalıtsal, kalıcı sonuçlara yol açan değişikliklerdir. Çeşitli derecede klinik sonuçlara neden olarak, gen fonksiyonunda bozulmalara yol açar. İnsan genomunda en sık görülen nokta mutasyon, tek nükleotid değişimleriyle oluşmaktadır. Bu değişim, belli bir aminoasidi kodlayan kodonda yanlış okumayla farklı aminoasit oluşumuna neden olursa missense mutasyon olarak adlandırılır. Eğer oluşan baz değişikliği stop kodon oluşumuna neden olarak gelmesi gereken aminoasitler kodlanmazsa nonsense mutasyon; baz değişimi, kodlanan aminoasitte değişiklik yapmıyorsa sessiz mutasyon adını alır (75).

Genin kodlama yapan bölgesinden, bir veya daha fazla nükleotidin kaybolması ya da nükleotit eklenmesiyle frame shift mutasyonları oluşabilmektedir. Üçlü kodonun tamamını içermediği sürece, bu noktadan sonraki tüm aminoasit diziliminde kaymaya neden olmaktadır (75).

Kardiyak gelişim açısından bakıldığında, kalp gelişiminin temel düzenleyicileri olarak kabul edilen üç transkripsiyon faktörü vardır: NKX2.5, GATA4 ve TBX5. Bu genlerin her birindeki mutasyonlarla oluşan fonksiyon kaybı, çeşitli kardiyovasküler malformasyonlarla ilişkilendirilmiştir (76). Ülkemizde de DKH ve genetik ilişkisine yer veren çalışmalar göze çarpmaktadır (77-79). Akçaboy ve arkadaşları; konotrunkal anomalili 72 çocuk ve 185 sağlıklı gönüllüde bakılan NKX2.5 geni p.Arg25Cys değişiminin bu anomalide etkisinin olmadığını düşünmüşlerdir (77). Balcı ve arkadaşları, çeşitli doğumsal kalp defektleri olan 159 hastada NKX2.5 genindeki mutasyonların varlığını ve sıklığını incelemişlerdir. Doğumsal kalp hastalarının küçük bir kısmının NKX2.5 mutasyonu ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (78). Akpınar ve arkadaşları ise doğumsal kalp hastalıklarında GATA4, NKX2.5, TBX5, CRELD1 ve BMP4 gen bölgelerini “*Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA)*” yöntemiyle değerlendirilmişler ve 255 doğumsal kalp hastalığının 20’sinde 24 mutasyon (GATA4, TBX5, BMP4, MSR1, CDC45), 5 hastada BMP4 geninde mutasyon, VSD tanılı 2 kardeşte GATA4 geninde mutasyon varlığını saptamışlardır (79).

2.5. BAK VE GENETİK

BAK genellikle izole bir defekt olmakla birlikte, diğer kardiyovasküler malformasyonlar veya sendromlarla da birliktelik gösterebilmektedir ve en az 1/3’i kapak cerrahisi gerektirebilecek kadar ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir. BAK; aort stenozu, aort yetmezliği, diseksiyon, aort anevrizması ve dilatasyonu, kapak kalsifikasyonu ve enfektif endokardit gibi kardiyovasküler olaylar için risk faktörüdür. BAK hastalığının kalıtsal yapıda olduğu iyi bilinmesine rağmen, defekte yol açan genler büyük ölçüde aydınlatılamamıştır. Biküspit kapak oluşumu sırasında ön plana çıkan ortak bir gen yerine, yaprakçıkların oluşumunda rol oynayan karmaşık bir mekanizmanın sonucu hastalığın ortaya çıktığı düşünülmektedir (80).

BAK ve genetik ilişkisi ilk olarak monozigotik ikizler ve ailesel kümelenmenin olduğu vaka çalışmalarında fark edilmiştir. Birinci derece akrabalarda BAK varlığında, ailede de %9 oranında görülebileceği bildirilmiştir. Bu nedenle *Amerikan Kalp Cemiyeti (AHA)* erişkin doğuştan kalp hastalığı rehberlerine, bu hastaların birinci derece yakınlarına BAK varlığı açısından ekokardiyografik tarama yapılma önerisi

girmiştir (81). Etkilenen aile üyelerindeki kalıtım türünün düşük penetrasyonlu otozomal dominantla uyumlu olduğu bulunmuştur (4). Hem yapısal protein oluşumunda hem de kardiyak gelişim evresinde BAK oluşumundan sorumlu spesifik bir gen bulunamamıştır (21).

BAK ile bağlantılı olduğu gösterilen ilk genetik lokuslardan biri, BAK, torasik aort anevrizması (TAA), sensörinöral işitme kaybı ve gelişimsel gecikme ile başvuran, 15q25q26.1 gen bölgesinde silinme olan bir hastanın ardından keşfedilmiştir. Sendromik olmayan BAK hastalığı görülen 10 ailede yapılan bağlantılılık analizlerinde BAK ve/veya aort anevrizması ile 15q gen bölgesinin genetik ilişki durumunu gösteren LOD skoru 3,6 olarak saptanmıştır (82). Glick ve Robert tarafından yapılan bir çalışmada 71 kişilik bir ailede 17 hastada BAK saptanmıştır (83). Cripe ve arkadaşları tarafından matematiksel modeller kullanılarak BAK hereditesinin %89 olduğu, farklı ailelerde BAK oluşumundan farklı genetik mutasyonların sorumlu olabileceği gösterilmiştir (84).

2.5.1 Sendromik BAK ile ilişkili genler

2.5.1.1 FBN1

İnsan genetik çalışmaları ekstrasellüler matriks komponentlerinin ekspresyonlarındaki düzensizliklerin de kardiyak defektlere yol açabileceğini ortaya koymuştur. Mitral kapak prolapsusu, BAK, aort diseksiyonu gibi durumları da içeren; bağ dokunun genetik bir hastalığı olan Marfan sendromunda BAK'a sahip bireylerde FBN1 gen mutasyonu sonucu FBN1 geninin aşırı eksprese edildiği saptanmıştır (6). Marfan sendromlu farelerde FBN1 geninde oluşturulan bir delesyon sonrasında kapak malformasyonları gözlenmiştir (7).

2.5.1.2 TGFBR1-TGFBR2

FBN1 gen mutasyonu sonucunda TGF- β reseptörleri up-regüle olur. TGF- β reseptör genleri olan TGFBR1 ve TGFBR2 Marfan sendromu ve Loey-Dietz sendromu ile ilişkili bulunmuştur. İlk dönemki çalışmalarda bu iki gen ve izole BAK hastaları arasında ilişki saptanmamıştır fakat FBN1 gen mutasyonu olmayan BAK ve aort anevrizması olan hastalarda TGFBR2 geninde missense mutasyonu saptanmıştır (85).

2.5.1.3 ACTA-2

ACTA2 geni düz kas hücrendeki α -aktin proteinini kodlamaktadır. Bu gen ile BAK arasında ilişki net olmamakla birlikte aort anevrizması ve diseksiyonu olan BAK hastalarının yer aldığı 7 kişilik bir ailede bu gendeki mutasyonla aort duvar dejenerasyonu, artan proteoglikan birikimi gibi durumlar gözlenmiştir (86).

2.5.1.4 HOXA1

Sedromik hastalıklarla birlikte görülen BAK ile ilişkilendirilen genlerden diğferidir. HOXA1 gen mutasyonu Salih-Alorainy sendromu ve Athabascan Brainstem Disgenezi sendromları ile ilişkilidir. Kardiyak malformasyonlara yol açmaktadır (87).

2.5.1.5 KCJN2

BAK ile ilişkilendirilen ilk gen KCJN2 geni olup 41 kişilik polimorfik VT ve periyodik paralizi (Andersen sendromu) görülen bir ailede beş kişide semilunar kapak anormallikleri saptanmasıyla ortaya konmuştur. Bu beş kişiden üçünde BAK, birinde ise BAK ve aort koarktasyonu saptanmıştır (88).

2.5.1.6 MYH7

MYH7 geni 14. Kromozomun q11.2 bölgesinde bulunur ve ailesel sol ventrikül non-compaction sendromu olan bireylerde görülür. Miyozin ağır zincirinde fonksiyonel defekt vardır (89).

2.5.2 Sendromik olmayan BAK ile ilişkili genler

2.5.2.1 NOTCH1

NOTCH1 geni, Notch sinyal yolağınının aktivasyonunu sağlayan bir transmembran proteinini kodlamaktadır. Notch sinyal yolağı, embriyogenezde kardiyomiyosit farklılaşması, kalp kapağı ve çıkış yolu oluşumu başta olmak üzere pek çok gelişimde rol oynamaktadır. Dolayısıyla NOTCH1 geni veya kardiyak gelişimde etkisi olan diğfer mediatörlerle (transforming growth faktör vb.) ilişkili genlerdeki mutasyonların, sol kalpten geçen kan akımını azaltıp aort kapak hastalığı yelpazesindeki pek çok bozukluğa yol açmaları olasıdır (90). NOTCH1

mutasyonlarının BAK dışı sol taraf kardiyak anomalilerde de saptanması, bu hastalıkların aynı genetik patolojinin farklı fenotipik görünümlere yol açabileceği düşüncesini güçlendirmiŐtir. BAK genetik alt yapısında kesin rol oynadığı bilinen gen NOTCH1 genidir. NOTCH1 geni 9. Kromozomun q34-35 gen bölgelerinde yer almaktadır. İlk önce iki aile bireyinde NOTCH1 geninde görülen nonsense ve frameshift mutasyonlar BAK ve kapak kalsifikasyonu ile ilişkilendirilmiŐ, toplamda 11 kişide doğumsal kalp kapak hastalığı saptanmış (6 tanesi BAK), 4 tanesinde de kapak replasmanı gereksinimi olmuŐtur (91). Daha sonra iki farklı çalışmada NOTCH1 geninde BAK ile ilişkili, iki yeni missense mutasyon tipi saptanmıştır (92-93). Ayrıca farelerde yapılan bir çalışmada kalp çıkış yolu mezenkimal dokusunda NOTCH1 geni mRNA'sının aşırı ekspresyonunun saptanmasıyla bu durum dođrulanmıŐtır (85). NOTCH1 sinyal yolağının BAK da dahil olmak üzere, sol ventrikül çıkış yolu patolojilerinde rol oynamakta olduğu Preuss ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Bu çalışmada 51 soyağacından doğumsal kalp hastalığı olan 182 kişide eksom analizi yapılmıştır. Üç ailede NOTCH1 mutasyonu ile BAK, fallot tetralojisi ve VSD arasında; dört ailede de NOTCH1 sinyal yolağında bulunan MAML1, JARID2, SWI/SNF, SMARCA4 ve JAG1 genleri ile BAK, aort dilatasyonu, aort stenozu ve aortik kapak sklerozu arasında ilişki saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada iki soyağacında MYH6 ve ARHGAP31 genlerindeki mutasyonların da BAK ile ilişkili olabileceği saptanmıştır (94).

Guo ve arkadaşlarının BAK ile ilişkili TAA hastalığı olan geniş bir aileyi incelediği çalışmasında MAT2A geninde nadir görülen zararlı bir defektin BAK ile ilişkisi olduğu saptanmıştır. Bu mutasyonu saptayan bireylerin %44'ünde TAA, %24'ünde ise BAK görülmüştür. NOTCH1 geni silinmiŐ farelerin perinatal dönemde, epitelyal-mezenkimal dönüşümdeki (EMT) defekt sebebiyle ciddi kardiyak defektlerden dolayı öldükleri gözlenmiştir (95). Normal fizyolojik koŐullar altında, NOTCH1, HEY1 / 2 ekspresyonunu indükleyerek kapak kalsifikasyonunu baskılar. Buna karŐılık, osteoblast gelişiminin transkripsiyonel aktivatörü olan Runx2'nin aktivasyonunu baskılamak için BMP2 aracılığıyla hareket ederler. NOTCH1 geninin ayrıca aort kapağında BMP2 gen ekspresyonunu baskılayarak aort kapak kalsifikasyonunu engellediği belirtilmiştir (96-98).

2.5.1.2 Nkx2.5

Beşinci kromozomun q34 bölgesinde yer almaktadır. Nkx2.5, kardiyak morfogenezin kritik bir düzenleyicisidir ve kolajen tip I'in düzenlenmesi yoluyla aort ekstrasellüler matriksin oluşumunu düzenlediği gösterilmiştir (99). Ayrıca tip 1 kollajende meydana gelen mutasyon; cilt, kemik anomalileri ve kapak patolojilerinin görüldüğü Ehler-Danlos sendromu ile de ilişkilidir (100).

2.5.1.3 NOS3

Yedinci kromozomun q35-7q36 bölgesinde bulunmaktadır. Hayvan modellerinde NOS3 geninin transkripsiyonunda azalmanın aort kapak anomalisine yol açtığı gözlenmiştir (101).

2.5.1.4 GATA5, GATA6

Bu genler temel olarak kardiyak embriyogenezde görevlidir. GATA 5 geni 20. kromozomun q13.33 bölgesinde bulunur, NOTCH sinyal yolağının önemli bir düzenleyicisidir. GATA 5'in etkisi endokardiyal hücreler ve endokardiyal yastık ile sınırlıdır (94). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada GATA5 geni silinen farelerde BAK prevalansı %26 olarak görülmüştür. Ayrıca bu farelerde NOS3 ekspresyonunun da azalmış olduğu saptanmıştır (101).

GATA6 geni 18. Kromozomun q11.2 bölgesinde bulunan, fallot tetralojisi, persistan trunkus arteriozus ve atrial septal defekt gibi doğumsal kalp hastalıkları ile ilişkili saptanan genlerden bir diğeridir (102,103). GATA6 geni özellikle çıkış yolu oluşumunda önem taşımaktadır. Fare nöral krest hücrelerinde GATA6 gen delesyonu aortik ark ve kardiyak çıkış yolu defektleri sebebiyle perinatal ölüme yol açtığı saptanmıştır (104). Lin ve arkadaşları tarafından ASD ve BAK hastalığına sahip olan bir hastada GATA-6 geni ve BAK arasında ilişki olabileceği öne sürülmüştür (103). Gharibeh ve arkadaşları tarafından yakın zamanda farelerde yapılan bir çalışmada da GATA6 geninin aortik valf remodelingi üzerinde etkili olduğu ve sağ sol tip BAK gelişiminde önemli rol oynadığı belirtilmiştir (105).

2.5.3 BMP-2 geni ve özellikleri

BMP2 geni 20. Kromozomun p12.3 bölgesinde yer almaktadır. TGF- β süper ailesinin ligandlarını kodlamaktadır (13). Bu ailenin ligandları, gen ekspresyonunu düzenleyen SMAD ailesi transkripsiyon faktörlerinin salınmasına ve aktivasyonuna yol açan çeşitli TGF- β reseptörlerini bağlar. Kodlanmış preproteine, kemik ve kıkırdak gelişiminde rol oynayan disülfid bağlantılı homodimerin her bir alt birimini üretmek için proteolitik yolda işlenir. Kıkırdak ve kemik oluşumunu indükler. Miyoblastların EIF2AK3-EIF2A-ATF4 yolu üzerinden osteoblastlara farklılaşmasını uyarır. EIF2AK3'ün BMP2 aktivasyonu, EIF2A'nın fosforilasyonunu uyarır, bu da osteoblast farklılaşmasında merkezi bir rol oynayan ATF4'ün ekspresyonunun artmasına neden olur. Ek olarak, ATF4'ün ekspresyonunu düzenleyen TMEM119'u uyarır (106). BMP2 gen defektleri sıklıkla kraniyofasial anomaliler, kardiyak defektler ve iskelet anomalileri ile birliktelik göstermektedir (107). NOTCH1 tarafından BMP2 ekspresyonunun artırılmasının kapak kalsifikasyonu ve vasküler kalsifikasyonda rol oynadığı gösterilmiştir (14). BMP2 geninin, civciv ve farelerde endokardiyal yastık morfogenezi sırasında atrioventriküler kanal ve çıkış yolu miyokardında eksprese edildiği saptanmıştır. Miyokartta BMP-2 ekspresyonunda defekt olan farelerde atrioventriküler kanalda burada ekstrasellüler matriks birikimi için gerekli olan TBX2 geni ekspresyonu azalmaktadır (15). BMP2 geni TGF β 2 geninin ekspresyonunun artması ve atrioventriküler kanala gerekli EMT'nin gerçekleşmesi için gereklidir (16).

2.5.4 BMP-4 geni ve özellikleri

Ondördüncü kromozomun q22.2 bölgesinde yer alır, 4 ekzondan oluşur, 408 aminoasitlik bir proteini kodlar. İlk 2 ekzonu işlevsizdir, herhangi bir protein kodlamaz. Mezoderm indüksiyonu, diş gelişimi, uzuv oluşumu gibi fonksiyonlarının yanı sıra embriyolojik dönemde ön kalp oluşumunda, endokardiyal yastık remodelingi, çıkış yolu septasyonu ve semilunar kapak gelişimi için gereklidir (12, 108). BMP, TGF- β süperailisinden eksprese olur. Bu TGF- β süperailisinde yer alan ligandlar ise SMAD grubundaki transkripsiyon faktörlerini aktive ederler. Yetişkin kalpte anormal BMP sinyalinde kalsifik aort kapak hastalıkları gelişimi gösterilmiştir (12). BMP-4 genindeki mutasyonlar insanlarda orofasial anomaliler ve mikrooftalmi ile ilişkili

bulunmuştur, ayrıca multifaktöriyel kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde de rol oynayabilir (109).

2.5.5 SMAD-6 geni ve özellikleri

SMAD6 geni 15. Kromozomun q22.3 bölgesinde yer almaktadır. İnsan embriyosunda kalp dokuda kalp kapakçıkları ve çıkış yolunda yüksek düzeyde eksprese edilmektedir. SMAD geninin kodladığı protein MH1 ve MH2 olmak üzere iki büyük etki alanına sahiptir. MH2 yoluyla BMP1 sinyalini inhibe eder (110). Tanımlanmış olan mutasyonlarının tamamı MH2 bölgesine ait olup mutasyon sonrasında SMAD6 gen fonksiyonunda azalma ve BMP inhibisyonunda azalma olması sebebiyle BAK gelişimine yol açtığı düşünülmektedir. İlk olarak 2012 yılında SMAD6 geninde görülen heterozigot missense mutasyonunun aort stenozlu, sporadik BAK hastası olan iki hastada gösterilmesiyle BAK ile SMAD6 gen mutasyonu ilişkisi tanımlanmıştır (111). Luyckx ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada 473 sendromik olmayan torasik aort anevrizmalı hastalar taranmış, tüm BAK anomalili hastalarda SMAD6 patojenik varyantları tanımlanmıştır (10). Ayrıca SMAD6 defekti yaratılan farelerde kalp kapak kalınlaşması, aort kalsifikasyonu, çoklu kardiyovasküler anomalilerin görüldüğü de belirtilmiştir (112).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Kardiyoloji Bilim Dalı tarafından Mayıs 2019- Ağustos 2020 tarihleri arasında biküspit aortik kapak tanısıyla izlenen hastalarda yapıldı. Çalışma öncesi yapılan güç analizi sonucunda; çalışmadan beklediğimiz etki büyüklüğünün orta düzeyde olacağı ($d=0,5$) varsayıldığında, çalışmaya %95 güvenle %80 güç elde edebilmek amacıyla, çalışma ve kontrol gruplarının her biri için en az 51'er çocuk alınması gerektiği görüldü. Çalışma; Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Kardiyoloji Bilim Dalı tarafından izlenen ve çalışma süresince rutin kontrollerine gelen BAK tanılı hastalar ile dosya taramaları sonucu kontrole çağırılan toplam 150 hastada gerçekleştirildi.

Çalışma öncesi Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Etik Kurulundan onay alındı (Belge numarası: 020/35526, Tarih: 22/05/2019). Çalışmaya başlamadan önce, çalışmaya alınan tüm çocuklar ve ebeveynlerine sözlü ve yazılı olarak çalışma hakkında ayrıntılı bilgi verildi ve gönüllü olur formu imzalatılarak izin alındı. Çalışma, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından desteklendi (Belge numarası: 2019TIPF013, Tarih: 09/08/2019).

Tüm hastaların fizik bakı, elektrokardiyografi ve ekokardiyografiyi içeren değerlendirmeleri yapıldı. Çalışmaya katılmayı kabul eden hastalardan genetik çalışma için kan örnekleri alındı. Biküspit aort kapak hastalığı dışında bilinen başka bir genetik hastalık ya da kronik veya sistemik hastalığa sahip olan hastalar çalışma dışı bırakıldı ve toplam 147 hasta çalışmaya dahil edildi.

Kontrol grubu; Çocuk Kardiyoloji polikliniğine göğüs ağrısı, senkop, üfürüm gibi nedenlerle başvuran; herhangi bir kronik, sistemik hastalığı olmayan, elektrokardiyografi ve ekokardiyografilerinde patolojik bulgu saptanmayan, aort kapağı triküspit yapıda olan ve çalışmaya katılmayı kabul eden, benzer yaş ve cinsiyetteki 90 sağlıklı çocuktan oluşturuldu.

3.1 Çalışmaya Alınma Kriterleri

Ekokardiyografik incelemesinde biküspit aortik kapak tanısı konması (çalışma grubu için),

Ekokardiyografik incelemesinde triküspit aortik kapak tanısı konması (kontrol grubu için),

Herhangi bir genetik, kronik veya sistemik hastalık tanısı veya öyküsü bulunmaması,

Elektrokardiyografide ritm bozukluğu saptanmaması (atriyal veya ventriküler ekstra vuru, uzun QT vb.),

Ailenin çalışma yapılmasına izin vermesi.

3.2 Çalışma Dışı Bırakma Kriterleri

Herhangi bir genetik, kronik veya sistemik hastalık tanısı veya öyküsü bulunması,

Elektrokardiyografide ritm bozukluğu saptanması,

Ailede ani kardiyak ölüm, otoinflamatuvar, kronik hastalık öyküsü bulunması,

Arteriyel kan basıncı ölçümlerinin <5 p ya da >99 p olması,

Ailenin çalışmaya onay vermemesi.

3.3 Çalışmanın Düzeni

Çalışma kesitsel olarak yapıldı. Çalışmaya alınan tüm olguların anamnez, özgeçmiş ve soygeçmişleri öğrenildi. Özgeçmişte hipertansiyon öyküsü, ilaç kullanımı; soygeçmişte ise özellikle ailede BAK ve diğer kalp hastalıkları ile ani kardiyak ölüm öyküsü sorgulandı. Tüm olguların ayrıntılı fizik bakıları yapıldı. Anamnez, özgeçmiş, soygeçmiş ile ilgili bilgileri, antropometrik ölçümleri, arteriyel kan basıncı ölçümleri ve fizik bakı bulguları tarih sırasına göre daha önce basılmış ve üzerinde hastanın demografik bilgilerinin de bulunduğu formlara kaydedildi.

3.3.1 Vücut kitle indeksi hesaplanması (VKİ): VKİ, Ölçülen ağırlığın (kg) boyun (m) karesine oranlanması ile hesaplandı (113).

$$VKİ = \text{Ağırlık (kg)} / \text{boy}^2 \text{ (m}^2\text{)}$$

3.3.2 Arteriyel kan basıncı ölçümü: Arteriyel kan basıncı, yirmi dakikalık dinlenme periyodunun ardından çocuğun yaşına uygun manşon kullanılarak sfigmomanometre ile noninvaziv olarak yapıldı. On dakika ara ile sağ koldan iki ölçüm gerçekleştirildi. Birinci Korotkoff sesinin duyulduğu değer sistolik kan basıncı,

Korotkoff seslerinin kaybolduğu değer diyastolik kan basıncı olarak kaydedildi. İki ölçümün ortalaması alınarak (sistolik ve diyastolik kan basınçları için) elde edilen değerler hastanın arteriyel kan basıncı olarak kaydedildi. Nabız basıncı; sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı farkı alınarak saptandı.

3.3.3 Elektrokardiyografi (EKG): Elektrokardiyografik değerlendirme, 12 Kanallı Edan SE-1200 Express EKG cihazı kullanılarak yapıldı. Küçük çocukların EKG çekimi kendi uykusunda ya da sakin olduğu zaman diliminde yapıldı. Hiçbir çocuğun sedatize edilmesi gerekmedi. Yaşa göre anormal EKG bulguları olan çocuklar ile ritm bozukluğu saptanan olgular çalışma dışı bırakıldı.

3.4 Transtorasik Ekokardiyografik Değerlendirme (TTE)

Ekokardiyografik incelemeler Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Pediatrik Kardiyoloji Ekokardiyografi ünitesinde standart bir protokol kullanılarak, aynı pediatrik kardiyolog tarafından, GE Vingmed Vivid Pro 7 (GE Vingmed Ultrason, Horten, Norway) Ekokardiyografi cihazı ile 1,5-10 Mhz aralığında yaş ve yüzey alanına uygun probalar kullanılarak yapıldı (114).

Ekokardiyografik değerlendirme, hastalar sol lateral veya sırt üstü pozisyonda yatarken gerçekleştirildi. İlk beş dakika hastanın sakinleşmesi beklendi. Küçük yaştaki çocuklarda ekokardiyografik inceleme, sakin ya da kendi uykusunda yapıldı. Sakinleşmeyen küçük çocuklar kloralhidrat verilerek uyutuldu. Kloralhidrat 50-100 mg/kg/doz aralığında maksimum 2 g/gün'ü geçmeyecek şekilde verildi (115). Her hastanın değerlendirilmesi yaklaşık yirmi dakika sürdü.

Tüm olgulara 2D (iki boyutlu), devamlı akım pulsed-Doppler, renkli akım Doppler ve M-mode ekokardiyografiden oluşan standart ekokardiyografik değerlendirme yapıldı. Ekokardiyogramlar standart prekordiyal pozisyonlardan alındı (116). M-Mode ekokardiyografik ölçümler "*Amerika Ekokardiyografi Derneğinin*" M-mode standardizasyon komitesinin önerilerine göre yapıldı (117). M-Mode ölçümleri kursor sol ventrikülde mitral kapak ucundaki seviyede yapıldı. İnterventriküler septum ve sol ventrikül arka duvarın diyastol sonu kalınlıkları (LVADed), sol ventrikül kavitesinin diyastol ve sistol sonu ölçümleri (LVed-LVes) parasternal uzun eksenden yapıldı. Aort çapı ve sol atriyum boyutunun ölçümü

parasternal uzun eksenden aort kapak seviyesine kursor yerleştirilerek kaydedildi (117).

Sol ventrikülün sistolik fonksiyonları ejeksiyon fraksiyonu (EF) ve kısalma fraksiyonu (FS) ile değerlendirilmektedir. Ejeksiyon fraksiyonu aşağıdaki formül ile,

$$\%EF = \frac{LVed^3 - LVes^3}{LVed^3} \times 100$$

Sistolik kasılma ve sol ventrikül boşluğundaki boyut değişikliğinin yüzdesini gösteren kısalma fraksiyonu aşağıdaki formül ile hesaplandı (118).

$$\%FS = \frac{LVed - LVes}{LVed} \times 100$$

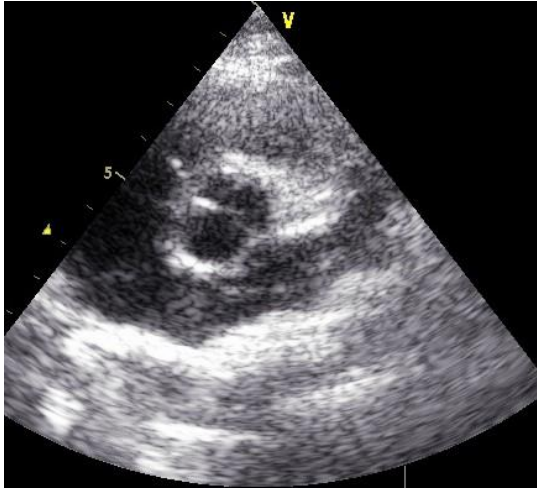
3.5 Aort Kapağının Değerlendirilmesi

Biküspit aortik kapak tanısı, transtorasik ekokardiyografi ile parasternal uzun ve kısa eksende aort kapağının iki kapakçıklı olduğu (bir fonksiyonel komissürün kısmen ya da tümüyle olmadığı) açıkça görülerek koyuldu (119,120).

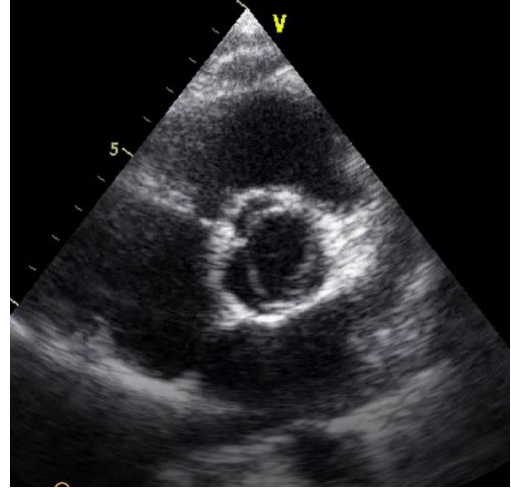
Aort kapağı morfolojisi parasternal kısa eksen pozisyonunda sistol ve diyastolde değerlendirildi. Aort kapağının açılım şekli, biküspit aortik kapak tipi, kapakçıkların füzyon yeri ve raphenin durumu incelendi (Şekil 8-9). Parasternal kısa eksen görüntüsünde yaprakçık füzyonunun yerine göre biküspit aortik kapağın üç morfolojik tipi belirlendi. BAK füzyonu; sağ ve sol koroner yaprakçık arasındayken Tip 1, sağ ve non koroner yaprakçık arasında ise Tip 2; sol ve non koroner yaprakçık arasında görüntülendiğinde ise Tip 3 olarak adlandırıldı. Hemodinamik değerlendirme yapılarak AY, AS varlığı devamlı akım pulsed-Doppler ve renkli akım Doppler ile belirlendi. Aort stenozu ve yetmezliği “2014 Amerikan Kalp Cemiyeti Kalp Kapak Hastalıkları” kılavuzuna göre sınıflandırıldı (121).

Aort kapak basınç gradiyenti (ΔP), pulsed Doppler ekokardiyografi ile değerlendirildi. Velosite (v); Bernoulli denkleminde $\Delta P = 4V^2$ olarak hesaplandı (118), (Şekil 10). Aort stenozu ağırlığı “2012 Avrupa Kardiyoloji Topluluğu (ESC) Akut ve Kronik Kalp Hastalıkları Tanı ve Tedavi” kılavuzuna göre sınıflandırıldı (122). Maksimum aort velositesi (V_{max}) 2-2,9 m/sn, ortalama basınç gradiyenti 20 mmHg'nın altında olan hastalar hafif AS; V_{max} 3-3,9 m/sn, ortalama ΔP 20-39 mmHg

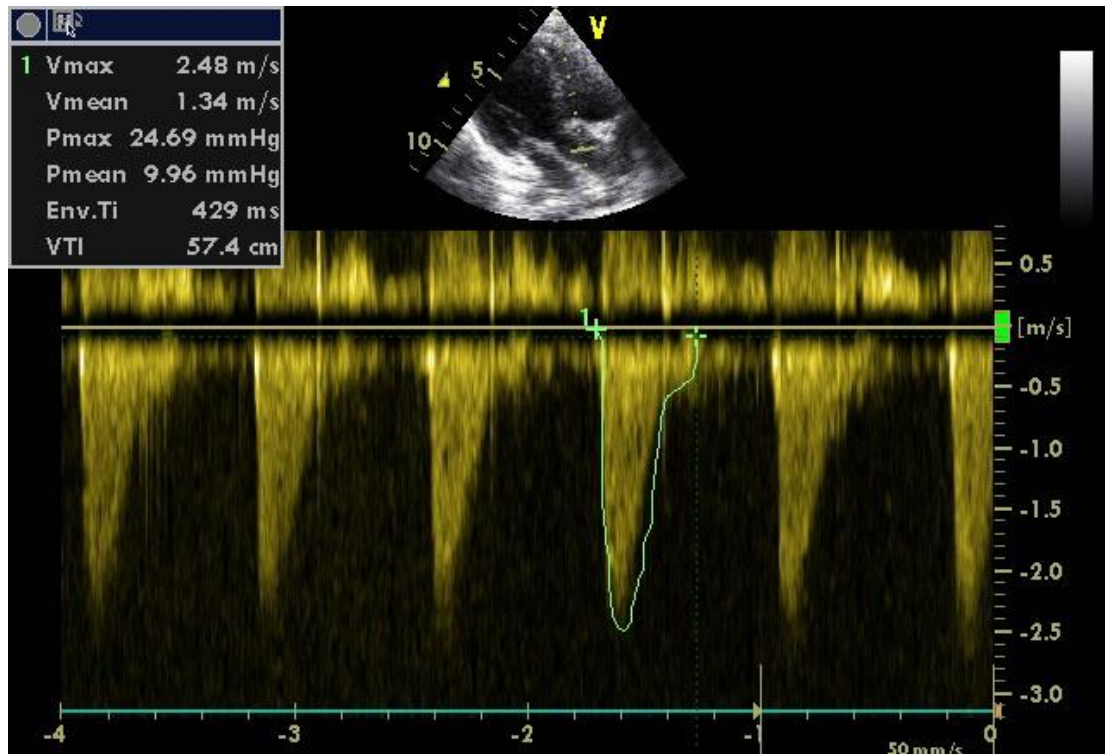
arasında olan hastalar orta derecede AS; V_{max} 4 m/sn, ortalama ΔP 40 mmHg üzerinde olan hastalar ise ağır aort stenozu olarak değerlendirildi (121,122).



Şekil 8. Diyastolde superior-inferior açılımlı BAK



Şekil 9. Sistolde sol-sağ açılımlı BAK



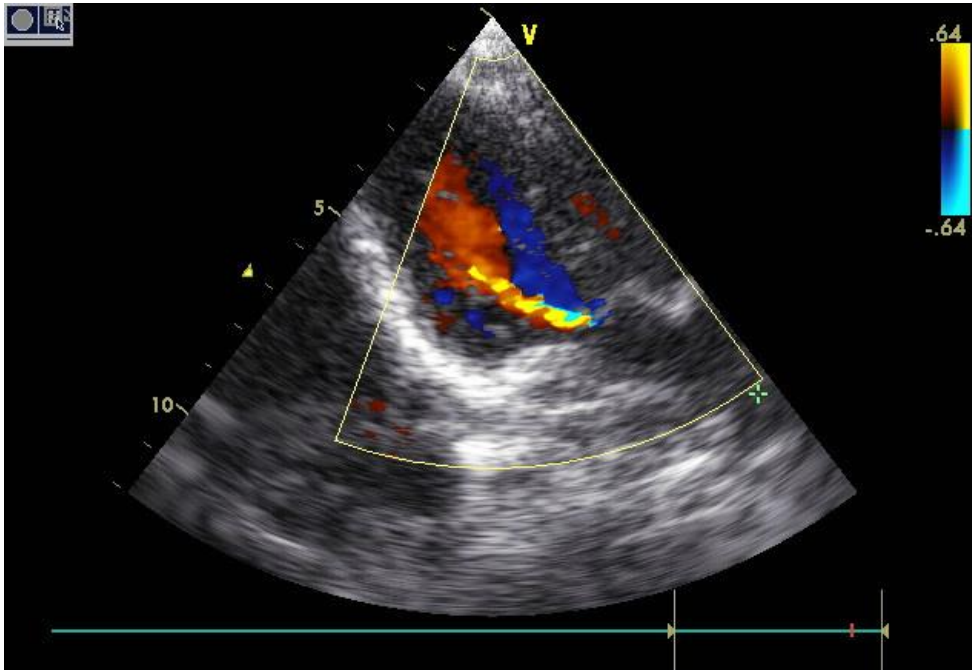
Şekil 10. Pulsed-Doppler ile basınç gradiyenti ve velosite ölçümü

Toplam 76 (%51,7) hastada AS saptanmadı. Aort stenozu bulunan toplam 71 (%48,3) hastanın; 54'ünde (%76,1) hafif aort stenozu, 16'sında (%22,5) orta aort stenozu ve 1'inde (%1,4) ağır aort stenozu saptandı. Ağır AS olan sadece 1 hasta olduğu için; hastalar hafif AS ve orta-ağır AS olmak üzere iki gruba ayrılarak

değerlendirmeye alındı. Böylece, V_{\max} 2-2,9 m/sn, $\Delta P_{\text{ort}} < 20$ mmHg olan hastalar hafif AS; $V_{\max} > 3$ m/sn, $\Delta P_{\text{ort}} \geq 20$ mmHg olan hastalar orta-ağır AS grubu olarak adlandırıldı. Sonuç olarak hafif AS grubunda 54, orta-ağır AS grubunda 17 hasta yer aldı.

Aort yetmezliği renkli Doppler ekokardiyografi ile değerlendirildi (Şekil 11). AY ağırlığı AHA 2014 kılavuzuna bağlı kalınarak jet akım genişliğinin sol ventrikül çıkış yoluna oranı ve vena kontrakta uzunluğu kullanılarak üç grupta değerlendirildi. Aort yetmezliği her atımda ve her pozisyonda görülmeyenler fizyolojik olarak kabul edildi. Aort yetmezliği açısından, jet akım genişliğinin sol ventrikül çıkış yoluna oranı %25'in altında, vena kontrakta uzunluğu $< 0,3$ cm olanlar hafif; jet akım genişliğinin sol ventrikül çıkış yoluna oranı %25-64, vena kontrakta uzunluğu 0,3-0,6 cm olanlar orta; jet akım genişliğinin sol ventrikül çıkış yoluna oranı %65 ve üzeri, vena kontrakta uzunluğu $> 0,6$ cm olanlar ağır AY olarak gruplandırıldı (123-125).

Toplam 76 (%51,7) hastada AY saptanmadı. Aort yetmezliği, toplam 71 (%48,3) hastada vardı: Bu hastaların 50'sinde (%70,4) hafif AY, 19'unda (%26,8) orta AY, 2'sinde (%2,8) ağır AY mevcuttu. Ağır AY sadece 2 hastada saptandığı için hastalar; hafif AY ve orta-ağır AY olmak üzere 2 gruba değerlendirmeye alındı. Böylece, çalışmamızda hafif AY olan 50, orta-ağır AY olan 21 hasta yer aldı.



Şekil 11. Renkli Doppler ekokardiyografide AY jet akımı

Eşlik eden aort koarktasyonu ve asendan aort dilatasyonu varlığı incelendi. Aort koarktasyonu suprasternal kesitten; asendan aort dilatasyonu ise, sistol sonunda parasternal uzun eksenden değerlendirildi. Aort anulusu, parasternal uzun eksen de diyastol sonundaki sol ventrikül ile aortun birleşim noktasından ölçüldü (120,126).

3.6 Kan Örneklerinin Elde Edilmesi

Çalışmada yer alan hasta ve sağlıklı çocuklardan alınan ortalama 2 ml kan örnekleri %2'lik 1 ml etilen diamine tetraasetik asit (EDTA) içeren tüplere konulduktan sonra DNA izole edilene kadar -80°C'de buzdolabında bekletildi. Çalışma grubu tamamlandığında tüm örneklere, Pamukkale Üniversitesi Biyofizik Laboratuvarı'nda DNA izolasyonu yapıldı.

3.7 DNA İzolasyonu

1. Dokular bir doku homojenizatörü içerisinde sıvı azot kullanılarak iyice ezildi ve toz haline getirildi. Daha sonra bu toz mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.

2. Lizis tamponu 50 mg'lık doku başına 0,5 ml olacak şekilde eklendi ve çalkalayıcıda 37°C'de 1 saat inkübe edildi (Proteinaz-K ile lizis).

3. Eşit hacimde fenol örneklere eklendi ve vortekslendi. Fazlar 13000 x g'de 5 dk. santrifüjlenip ayrıldı (fenol ekstraksiyonu).

4. Üstteki sıvı faz, ara faza dokunulmadan dikkatli bir şekilde alınarak yeni bir mikrosantrifüj tüpüne eklendi.

5. Örnekler kloroform / izoamil alkol (24:1) karışımıyla tekrar ekstrakte edildi ve üst sıvı faz başka bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı (kloroform ekstraksiyonu).

6. 0,1 hacimlik 3 M'lık NaOAc (pH 5,2) örneklere eklendi, daha sonra 2,5 hacim soğuk etanol eklendi ve 1 saat oda sıcaklığında DNA'nın presipite olması için beklendi (presipitasyon).

7. DNA santrifüjlenerek (13000 x g, 10 dk) peletlendi ve solüsyon dikkatli bir şekilde uzaklaştırıldı.

8. Elde edilen pelet %70'lik soğuk etanol içerisinde yıkandı ve 6. basamaktaki şekilde santrifüjlendi (yıkama).

9. Etanol uzaklaştırılarak, artanının kağıt havlu üzerinde tüp ters çevrilerek kaybolması sağlandı.

10. DNA steril suda (100-200 µl) çözdürüldü. PCR testinde, hazırlanan DNA'nın 1 µl'si kullanıldı.

3.7.1 PCR ve Polimorfizm Analizi

İzole edilen doku DNA'sının bisülfid dönüşümü standardize edilmiş ticari kit (EZ DNA Methylation-Gold™ Kit) ile gerçekleştirildi. Metilasyon analizleri için; PCR yöntemi ile mtDNA sitokrom c oksidaz (MT-CO1, MT-CO2, ve MT-CO3); tRNA lösün 1 (MT-TL1); ATP sentaz (MT-ATP6 and MT-ATP8); ve NADH dehidrogenaz (MT-ND5) gen bölgeleri hasta ve kontrol gruplarında elde edilerek DNA dizi analizi yöntemi ile incelendi.

3.7.2 Kullanılan Cihazlar

- Santrifüj (Beckman Coulter Allegra X-15R)
- Mikropipet Seti (Finnpipette)
- Etüv (Nüve EN 055)
- Vorteks (Heidolph)
- Mikrosantrifüj (Beckman Coulter Microfuge 16)
- Buzdolabı (Beko 5034 NF)
- Derin Dondurucu (Beko 7125)
- Termal Cyclers (Peqlab Primus 25)
- Hassas Terazı (Ohaus)
- Mikrodalga Fırın (Beko MD-1610)
- Manyetik Karıştırıcı (Yellow Line MSH Basic)
- Elektroforez Tankı (Cleaver)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Wealtec Elite 300 Plus)
- Jel Görüntüleyici (İntas Science İmaging)

3.7.3 Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

- 10×PCR Buffer
- 50-1000 bç DNA Ladder
- Agaroz
- Borik Asit
- dNTP Mix
- Doymuş Fenol
- EDTA
- Etanol
- Etidyum Bromid
- İzoamil Alkol
- Kloroform
- MgCl₂
- Proteinaz K
- Potasyum Klorür
- Sodyum Dodesil Sülfat
- Sodyum Klorür
- Sodyum Asetat
- Steril Saf Su
- Taq DNA Polimeraz
- Tris Base
- Tris-Hidroklorid

➤ STE Çözeltilisi

Sodyum Klorür	100 mM
Tris. HCl	10 mM (pH:8.0)
Disodyum Edta	1 mM

3.7.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Bu çalışmada DNA analizi için tercih edilen PCR tekniği, ilgilenilen DNA dizisinin in vitro şartlarda çoğaltılmasına dayanan, pratik ve güvenilir olmasından dolayı günümüzde moleküler biyolojik çalışmalarda geniş kullanım alanına sahip bir tekniktir. PCR tekniğinin prensibi, tekrarlanan üç basamağa bağlıdır. Bir PCR döngüsü; denatürasyon, primerlerin bağlanması (annealing) ve uzama (extension) basamaklarından oluşur.

3.7.4.1 DNA Analizi:

DNA izolasyonu yapıldıktan sonra istenen gen bölgelerinin çoğaltılması için aşağıdaki primer dizileri kullanıldı (Tablo 1).

Tablo 1. Kullanılan primer çiftleri

Gen	Primer Dizisi
SMAD6 Ekzon I	Forward 5' - CTCGCTGAGGGAACGGAC -3'
	Reverse 5' - GCCTCGCTGTCCCACTGC -3'
SMAD6 Ekzon I	Forward 5' - CGGGACGCAGTGGGACAG -3'
	Reverse 5' - CCTCCAGCAGCGTGTCCA -3'
SMAD6 Ekzon IV	Forward 5' - CTCCCCACCCAGAATAACG -3'
	Reverse 5' - CGAACACCTTGATGGAGTA -3'

SMAD6 Ekzon IV	Forward 5' - CCCATCTTCGTCAACTCC -3'
	Reverse 5' - GTGGGGGCTGTGTCTCTG -3'
BMP2 rs15705	Forward 5' - AATAAATCTGACCATTATACTTCATGTGCT -3'
	Reverse 5' - ATATCTACGAAAAGAAGTTGGGAAAACA -3'
BMP2 rs235768	Forward 5' - CAATAGCAGTTTCCATCACCGAATT -3'
	Reverse 5' - ACATCAAACTTTCCCACCTG-3'
BMP4 Ekzon IV	Forward 5' - TCCCCTCCCCCTCCCCAGAG -3'
	Reverse 5' - AGAAGTGTCGCCTCGAAGTC -3'
BMP4 Ekzon IV	Forward 5' - CTCAGGGCAGAGCCATGAGC -3'
	Reverse 5' - ACGCAGACTGGGGGAAGAGA -3'
BMP4 Ekzon V	Forward 5' - CTTTTCCCCTTCCTTCCTAA -3'
	Reverse 5' - GGGGGCTTCATAACCTCAT -3'
BMP4 Ekzon V	Forward 5' - GGGGCTTCCACCGTATAAACAT -3'
	Reverse 5' - CCGAGTCTGATGGAGGTGAGTC -3'
BMP4 Ekzon V	Forward 5' - GCTGGACCCGGGAGAAGCATC -3'
	Reverse 5' - TCCTGGCCCGCTGTGAGTGA -3'
	Forward 5' - CAAGCGTAGCCCTAAGCATC -3'

BMP4 Ekzon V	Reverse 5' - CAATGGCATGGTTGGTTGA -3'
BMP4 Ekzon V	Forward 5' - CCTTTCCACTGGCTGACC -3'
	Reverse 5' - ATCCTCAAGGACTGCCTGAT -3'

Yukarıda belirtilen genlerde saptanan polimorfizmler kaydedilerek hasta ve sağlam grup karşılaştırmaları yapıldı.

3.7.4.2 DNA'nın Spektrofotometrik Analizi

DNA numunelerinin konsantrasyonu ve saflığını belirlemek için 260 nm ve 280 nm'deki absorpsiyon değerleri Eppendorf® spektrofotometre yardımıyla ölçüldü. DNA molekülü 260 nm'de azami absorpsiyonu verir. Bu dalga boyunda okunan değer, çift sarmallı DNA molekülünün yaklaşık 50 µg/ml konsantrasyonunda 1.0 optik yoğunluğa (O.Y.) sahip olması temel bilgisine dayanılarak numunedeki nükleik asit konsantrasyonunun hesaplanması esasına dayanır.

3.7.4.3 DNA Derişimi (µg/ml) = O.Y.260 nm x Seyreltme Faktörü

260 nm ve 280 nm arasındaki O.Y. değerleri arasındaki oran (O.Y.260 nm / O.Y.280 nm oranı) nükleik asit saflığını hesaplamak için kullanılır. Saf DNA preparatlarında bu oran 1.8'dir. Daha yüksek veya düşük değerler, genellikle sırasıyla RNA, protein veya fenol kontaminasyonlarını gösterir. Protein veya fenol bulaşısı olmadan saf olarak DNA izolasyonu, çalışmamızın kritik basamaklarından birini teşkil etmektedir. Spektrofotometrik yöntemlerle tayin edilen numunelerden O.Y 260 nm / O.Y 280 nm değeri 1,7'den aşağı ve 1,9'dan yukarı olan numuneler elendi ve yeniden izolasyon sürecine başlandı.

3.7.4.4 DNA'nın Agaroz Jel Elektrofrezisi İle Saflık Kontrolü

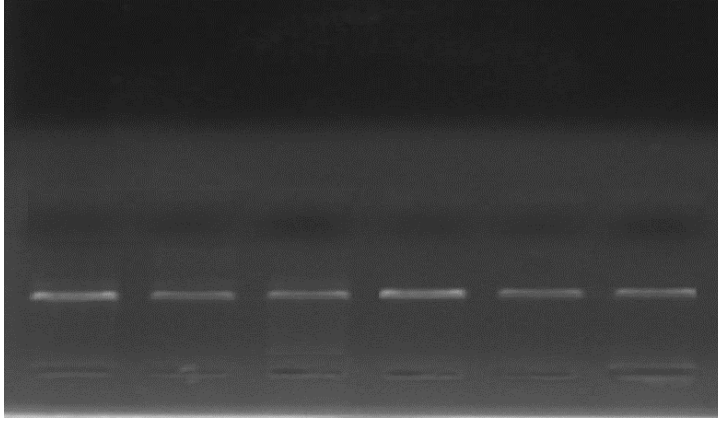
Saflık tayini için DNA numuneleri %2'lik agaroz jel elektrofrezisi ile de test edildi. Bu amaçla Wealtec® Elite 300 Plus model güç kaynağına bağlı Cleaver® marka yatay jel tepsili elektrofrez kabı kullanıldı.

%2'lik agaroz jel hazırlamak için 0,6 gram toz agaroz hassas terazi ile tartıldı. Temiz bir erlene aktarıldı. Üzerine 30 ml 0,5X TBE (Tris-Borat-EDTA, pH8,3)

tamponu eklendi. Erlen'in ağızı alüminyum folyo ile kapatıldı. Hafifçe karıştırıp Beko® MD-1610 mikrodalga fırına koyuldu. Ara ara kontrol ederek erlen içerisindeki agaroz kristallerinin eridiğinden emin olana kadar ortalama iki dakika ısıtıldı. Kristaller tamamen eriyip sulu fazın altında jel oluştuğunu görünce soğumaya bırakıldı. Heterojen soğumayı engellemek için doğrudan banko üzerinde soğumaya bırakılmadı. Solüsyon yaklaşık 60 °C'ye kadar soğuduğunda üzerine ultraviyole (UV) ışık altında bantların görülmesini sağlayan etidyum bromür'den 3 µl ilave edildi ve karışım yavaşça çalkalandı. Bu işlemler devam ederken, diğer yandan elektroforez kabı, tepsi ve jel tarakları önce distile su ile ardından %70'lik etanol ile yıkayıp temizlendi. Tepsinin kenarlarına kauçuk bariyerler geçirildi ve üzerinde bulunan bölmelere jel tarakları yerleştirildi. Sıcak jel ve etidyum bromür karışımını içeren erlen, tepsinin 3-4 cm yukarisından tutularak kabın içerisine yavaşça döküldükten sonra jel üzerinde oluşan hava kabarcığı eğer var ise pipet ucu yardımıyla alınarak oda sıcaklığında 30-40 dakika boyunca soğumaya bırakıldı.

Sürenin sonunda jelin iyice katılaştığını gözlemledikten sonra elektroforez tepsisinin kenarlarındaki kauçuk bariyerler çıkarıldı. Tepsi, yaklaşık 350 ml civarında 0.5X TBE tamponu ile doldurduğumuz yatay elektroforez tankına jelin üzerindeki kuyular negatif kutup olan katot'a bakacak şekilde yerleştirildi. Jelin üzerindeki tarak yavaşça ve dikkatli bir şekilde kaldırıldı. Jelin üzerini 1-1.5 mm kaplayacak şekilde bir miktar daha 0.5X TBE tamponu ilavesi yapıldı. Oluşan bir hava kabarcığı var ise pipet ucu yardımı ile alındı. DNA numunesi [5 µl (0,25-0,5 ng)] ve 1 µl yükleme tamponu (loading buffer), mikropipet ile birkaç defa çekip bırakmak suretiyle iyice karıştırıldı. Karışım (6 µl'lik), mikropipet yardımı ile jelin üzerindeki kuyulardan birine yüklendi. Her bir DNA numunesi için aynı işlem tekrar edilerek jelin üzerindeki kuyulara sıra ile yüklendi. En son sırada bulunan kuyuya elektroforez sonucu oluşan bantların yerinin net olarak gözlemlenmesini sağlayan 50-1000 baz çiftleri arasında belli aralıklarla kuvvetli bantlar veren DNA merdiveni yüklendi. Elektroforez kabının kapağı kapatıldı. Güç kaynağının elektroforez kabına kablo bağlantıları yapıldı. Güç kaynağı 90 volt'a ayarlanarak numuneler elektroforezde 30 dakika boyunca yürütüldü. Sürenin sonunda jel UV ışığı altında bilgisayar destekli İntaş® jel görüntüleme sistemi ile görüntülenip kayıt edildi. Jelin kuyularına yerleştirdiğimiz saf DNA, elektroforezde kuvvetli bir tek band şeklinde gözlenmektedir (Şekil 12). Elektroforez sonucunda jel

üzerinde değişik bantlara ait leke ve izler bulunması DNA'nın bozunmaya uğradığını gösterir.



Şekil 12. Elektroforezde %2' lik agaroz jel'de 90 volt'ta 30 dakika yürütölen DNA örneklerinin görünümü.

3.7.5 PCR İşlemi

SMAD6, BMP-4 ve BMP-2 gen bölgelerine ait tek bir bant elde edebilmek için PCR'de değişik parametreler test edildi. Bu parametreler arasında, MgCl₂ 'ün 1,0 ile 3,0 mM arasındaki konsantrasyonları, primer çiftlerinin 20 ile 100 pmol arasındaki konsantrasyonları ve kalıp DNA'nın 100, 200, 300 ve 500 ng gibi değişik konsantrasyonları ile çalışmaların yapılması yer almaktadır. İzlenen genel protokol Tablo 2'de, PCR ile çoğaltma programında kullanılan bileşenlerin ideal hacim ve konsantrasyonları tablo 3'te sunulmuştur.

Tablo 2. PCR işlemi genel protokolü

İşlem	Sıcaklık	Süre
Denatürasyon	94 °C	1 dk
Primer eşleşmesi	55 °C	1 dk
Zincir Uzaması	72 °C	1 dk
Final Uzatması	72 °C	1 dk

Tablo 3. SMAD6, BMP-4 ve BMP-2 gen bölgelerinde PCR için kullanılan bileşenlerin reaksiyondaki hacim ve konsantrasyonları

İçerik	Stok Konsantrasyon	Eklenecek Hacim	50 µl Reaksiyon Karışımındaki Konsantrasyon
Kalıp DNA	3 µl	3 µl	~4 ng/ µl
Tampon	10x	5 µl	1x
MgCl₂	25 mM	3 µl	1,5 mM
dNTP Karışımı	10 mM	1 µl	200 µM
Forward Primer	10 pmol/ µl	2 µl	20 pmol
Reverse Primer	10 pmol/ µl	2 µl	20 pmol
Taq DNA Polimeraz Enzimi	5 U/L	1 µl	5 U
Steril Su		50 µl'ye tamamlanır.	

3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler "Statistical Package for Social Sciences" (SPSS 25.0, Inc, Chicago, IL, USA) paket programıyla analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verildi. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıklarının karşılaştırılmasında İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi ve Tek yönlü varyans analizi (post hoc: Tukey testi); parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıklarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi ve Kruskal Wallis varyans analizi (post hoc: Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi) kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Ki-kare analizi kullanıldı. Yaş değişkeni kontrol altına alınarak grup farklılıklarının incelenmesinde ise Kovaryans Analizi kullanıldı. Ayrıca risk faktörlerinin belirlenmesi için tek değişkenli regresyon modelleri uygulandı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Demografik Verilerin Değerlendirilmesi:

Çalışmaya 147 biküspit aortik kapaklı, 90 sağlıklı olmak üzere toplam 237 çocuk alındı. BAK grubunun 110'u erkek (%74,8), 37'si kız (%25,2); kontrol grubunun ise 67'si erkek (%74,4), 23'ü kız (%25,6) idi. Ortalama yaş; BAK grubunda $8,7\pm 4,89$ (0,3-18) yıl, kontrol grubunda $9\pm 4,79$ (0,3-18) yıl idi. BAK ve kontrol grubu yaş ve cinsiyet açısından benzerdi ($p>0,05$), (Tablo 4).

Çalışma grubundaki hastaların vücut ağırlığı ortalama $33,1\pm 19,3$ (3,6-100) kg, boy ortalama $132,8\pm 25,6$ (50-177) cm, VKİ ortalama $18,4\pm 4,5$ (kg/m^2) olarak saptanırken; kontrol grubunda vücut ağırlığı $31,9\pm 15,9$ (7,1-65) kg, boy $131,8\pm 28,6$ (64-178) cm ve VKİ $17,8\pm 3,25$ (kg/m^2) idi ($p>0,05$). BAK grubunda kalp hızı ortalama $96,2\pm 21,3$ (60-172)/dk saptanırken, kontrol grubunda $97,6\pm 18$ (70-158)/dk olarak bulundu. Sistolik kan basıncı; BAK grubunda ortalama $105,2\pm 11,8$ (70-148) mmHg, kontrol grubunda $99,9\pm 13,2$ (61-120) mmHg; diyastolik kan basıncı BAK grubunda ortalama $65\pm 8,6$ (40-91) mmHg, kontrol grubunda $63,3\pm 10,2$ (35-80) mmHg idi. Gruplar arasında vücut ağırlığı, boy, VKİ, kalp hızı, sistolik ve diyastolik kan basınçları açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p>0,05$), (Tablo 4).

Tablo 4. BAK ve kontrol grubuna ait demografik veriler

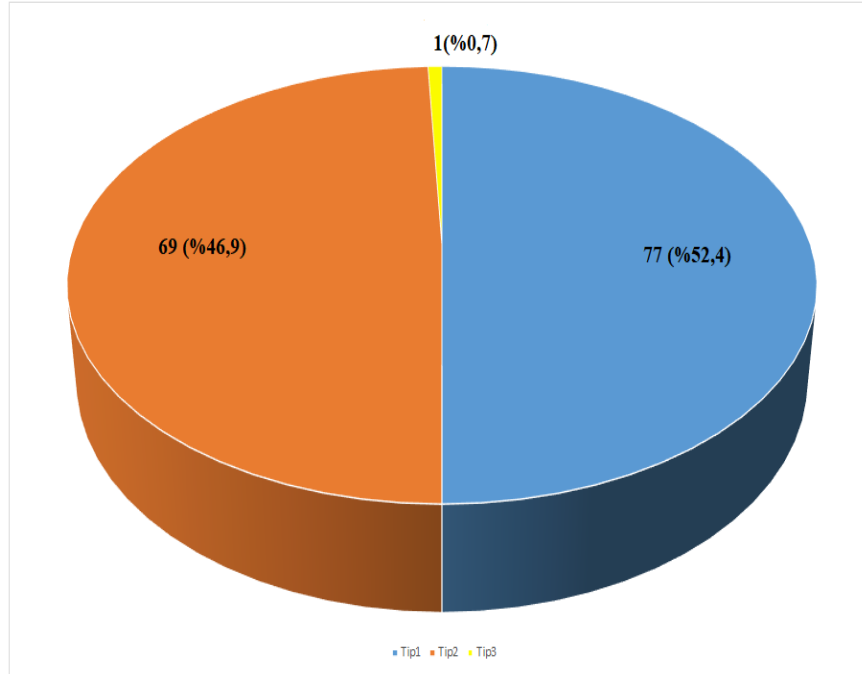
	BAK (n:147)		Kontrol (n:90)	
Cinsiyet (E/K)	110/37		67/23	
Yaş (yıl)	$8,7\pm 4,89$	(0,3-19)	$9\pm 4,79$	(0,3-18)
Vücut Ağırlığı (kg)	$33,1\pm 19,3$	(3,6-100)	$31,9\pm 15,9$	(7,1-65)
Boy (cm)	$132,8\pm 25,6$	(50-177)	$131,8\pm 28,6$	(64-178)
VKİ (kg/m^2)	$18,4\pm 4,5$	(12,4-31,4)	$17,8\pm 3,25$	(13,9-26,2)
Kalp Hızı (atım/dk)	$96,2\pm 21,3$	(60-172)	$97,6\pm 18$	(70-158)
Sistolik KB (mmHg)	$105,2\pm 11,8$	(70-148)	$99,9\pm 13,2$	(61-120)
Diyastolik KB (mmHg)	$65\pm 8,6$	(40-91)	$63,3\pm 10,2$	(35-80)

BAK: Biküspit aort kapak, E: Erkek, K: Kız, VKİ: Vücut kitle indeksi, KB: Kan basıncı $p > 0,05$

4.2 Biküspit Aortik Kapak Tipleri:

BAK grubundaki toplam 147 hastanın ekokardiyografi sırasında kapak açılımı, 77'sinde (%52,4) superior–inferior (sup-inf) şeklindeydi (Tip 1). Bu hastalarda sağ ve sol koroner yaprakçıklar arasında füzyon mevcuttu. Sağ ve sol koroner yaprakçıklar arasında füzyon hastaların %78,6'sında tam yapışma şeklindeyken %21,4'ünde parsiyel yapışma şeklindeydi. Hastaların 70'inde (%47,6) kapak açılımı sol-sağ yönündeydi. Bu hastaların 69'unda (%46,9) sağ ve non koroner yaprakçıklar arasında füzyon (Tip 2) varken; 1 (%0,7) hastada sol ve non koroner yaprakçıklar arasında füzyon (Tip 3) vardı (Şekil 13).

Şekil 13. BAK Tipleri



Toplam 77 Tip 1 BAK hastasının 60'ı erkek, 17'si kız ve yaş ortalaması $8,5 \pm 5$ (0,08-19) yıl idi. Toplam 69 Tip 2 BAK hastasının ise 49'u erkek, 20'si kız ve yaş ortalaması $8,9 \pm 4,8$ yıl olarak bulundu. Tip 1 BAK hastalarının vücut ağırlığı ortalama $32,2 \pm 18,6$ (5-75) kg, boy ortalama $131,1 \pm 22,5$ (89-169) cm, VKİ ortalama $17,9 \pm 4,2$

(12,6-26,4) kg/m² olarak saptanırken; Tip 2 BAK hastalarında vücut ağırlığı 34,2±20,3 (3,6-100) kg, boy 134,8±29 (50-177) cm ve VKİ 19±4,9 (12,4-31,4) kg/m² idi. BAK Tip 1 grubunda kalp hızı ortalama 96,1±21,8 (60-152)/dk saptanırken, Tip 2 grubunda 96,5±20,9 (65-172)/dk idi. Sistolik KB, BAK Tip 1 grubunda ortalama 105,7±12 (70-148) mmHg, Tip 2 grubunda 104,7±11,7 (70-137) mmHg; diyastolik KB Tip 1 grubunda ortalama 65,9±8,8 (45-91) mmHg, Tip 2 grubunda ise 63,9±8,5 (40-86) mmHg olarak bulundu. BAK Tip 3 grubundaki tek hasta, 14 yaşında, erkek hasta idi. Vücut ağırlığı 51 kg, boyu 148 cm, VKİ 23,3 kg/m², kalp hızı 92/dk, sistolik kan basıncı 110 mmHg, diyastolik kan basıncı 70 mmHg idi.

Hastalar biküspit aortik kapağın açılım şekline göre; superior-inferior ve sol-sağ açılımlı olmak üzere 2 gruba ayrılarak değerlendirildi. Tip 1 BAK hastaları (n:77) superior-inferior kapak açılımına sahipken (grup 1), Tip 2 BAK (n:69) ve Tip 3 BAK hastaları (n:1) sol-sağ açılıma sahipti (grup 2). Gruplar arasında yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, kalp hızı, sistolik ve diyastolik kan basıncı açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmadı (p>0,05). Grupların demografik verileri Tablo 5'te verilmiştir.

Raphe; toplam 61 hastada (%41,5) saptandı. Kapak açılımı sırasında doming ise yine 61 (%41,5) hastada mevcuttu.

Tablo 5. Biküspit aortik kapak açılım şekline göre demografik veriler

	Sup-inf açılım (n:77)		Sol-sağ açılım (n:70)	
Cinsiyet (E/K)	60/17		50/20	
Yaş (yıl)	8,5±5	(0,8-19)	8,9±4,8	(0,3-18)
Vücut Ağırlığı (kg)	32,2±18,6	(5-75)	34,2±20,3	(3,6-100)
Boy (cm)	131,1±22,5	(89,8-169)	134,8±29	(50-177)
VKİ (kg/m²)	17,9±4,2	(12,6-26,4)	19,0±4,9	(12,4-31,4)
Kalp Hızı (atım/dk)	96,1±21,8	(60-152)	96,5±20,9	(65-172)
Sistolik KB (mmHg)	105,7±12	(70-148)	104,7±11,7	(70-137)
Diyastolik KB (mmHg)	65,9±8,8	(45-91)	63,9±8,5	(40-86)

E: Erkek, K: Kız, VKİ: Vücut kitle indeksi, KB: Kan basıncı

p >0,05

4.3 Ekokardiyografik Verilerin Değerlendirilmesi:

BAK ve kontrol gruplarının ekokardiyografi verilerine bakıldığında; sol ventrikül arka duvar kalınlığı (LVADed); BAK grubunda $0,85\pm 0,12$ (0,6-1,4) cm, kontrol grubunda $0,81\pm 0,14$ (0,5-1,1) cm olarak saptandı. Sol ventrikül enddiastolik çapı (LVed) BAK grubunda $4,1\pm 0,8$ (1,8-5,8) cm, kontrol grubunda ise $3,8\pm 0,7$ (2,2-5,2) cm idi. Sol ventrikül endsistolik çapı (LVes) BAK grubunda $2,4\pm 0,5$ (1-4) cm, kontrol grubunda $2,3\pm 0,4$ (1,3-3,2) cm olarak bulundu. BAK grubunda interventriküler septum (IVSed) $0,8\pm 0,13$ (0,4-1,2) cm, kontrol grubunda $0,84\pm 0,14$ (0,6-1,1) cm olarak ölçüldü. Sağ ventrikül enddiastolik çapı (RVed) BAK grubunda $2,55\pm 0,47$ (1,2-3,7) cm, kontrol grubunda $2,46\pm 0,5$ (1,4-3,4) cm idi. BAK'lı grupta sol atrium çapı (LA) $2,64\pm 0,54$ (1,6-4,1) cm, aortik anulusu (AA) $1,76\pm 0,43$ (0,7-2,8) cm, aort genişliği $2,34\pm 0,55$ (0,9-3,2) cm iken; kontrol grubunda ise sırasıyla $2,6\pm 0,78$ (1,4-3,9) cm, $1,86\pm 0,3$ (1-2,3) cm ve $2,29\pm 0,33$ (1,5-3,1) cm olarak bulundu. Ejeksiyon fraksiyonunun (EF) BAK'lı hastalarda $79,8\pm 5,4$ (63,6-88,8), fraksiyonel kısalmanın (FS) $41,7\pm 5,1$ (28,5-51,7); kontrol grubunda ise sırasıyla $78,7\pm 4,8$ ve $40,6\pm 4,4$ (31,4-51,2) olarak saptandı. LVADed, LVed, LVes, IVSed, RVed, LA, AA, aort genişliği, EF ve FS parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p>0,05$), (Tablo-6).

Biküspit aortik kapaklı hastalarda pulsed Doppler ekokardiyografi ile ölçülen aort maksimum gradiyenti $18,6\pm 14,71$ (2,6-73) mmHg, kontrol grubunda ise $4,7\pm 1,1$ (3-7) mmHg idi ($p=0,0001$), (Tablo 6).

Tablo 6. BAK ve kontrol grubundaki ekokardiyografi parametreleri

	BAK Grubu (n:147)		Kontrol Grubu (n:90)		p
LVADed (cm)	0,85±0,12	(0,6-1,4)	0,81±0,14	(0,5-1,1)	>0,05
LVed (cm)	4,1±0,8	(1,8-5,8)	3,8±0,7	(2,2-5,2)	>0,05
LVes (cm)	2,4±0,5	(1-4)	2,3±0,4	(1,3-3,2)	>0,05
IVSed (cm)	0,78±0,11	(0,4-1)	0,78±0,11	(0,6-1)	>0,05
RVed (cm)	2,55±0,47	(1,2-3,7)	2,46±0,5	(1,4-3,4)	>0,05
LA (cm)	2,64±0,54	(1,6-4,1)	2,6 ±0,78	(1,4-3,9)	>0,05
AA (cm)	1,76±0,43	(0,7-2,8)	1,86±0,3	(1-2,3)	>0,05
Aort genişliği (cm)	2,34±0,55	(0,9-3,2)	2,29±0,33	(1,5-3,1)	>0,05
EF (%)	79,8±5,4	(63,6-88,8)	78,7±4,8	(68-88)	>0,05
FS (%)	41,7± 5,1	(28,5-51,7)	40,6 ±4,4	(31,4-51,2)	>0,05
ΔP_{max} (mmHg)	18,6±14,71	(2,6-73)	4,7±1,1	(3-7)	0,0001

LVADed: Sol ventrikül arka duvar kalınlığı enddiyastol, LVed: Sol ventrikül enddiyastolik çapı, LVes: Sol ventrikül endsistolik çapı, IVSed: İnterventriküler septum enddiyastol, RVed: Sağ ventrikül enddiyastolik çapı, LA: Sol atrium çapı, AA: Aortik anulus, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, FS: Fraksiyonel kısalma, ΔP_{max}: Maksimum basınç gradiyenti

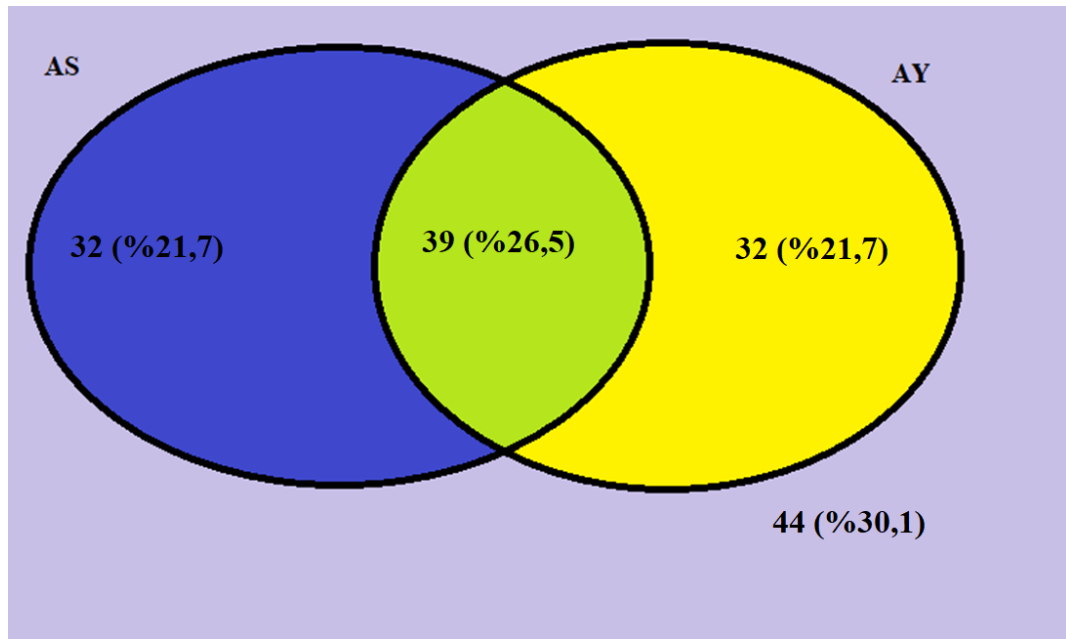
4.4 Biküspit Aortik Kapağa Eşlik Eden Doğumsal Kalp Hastalıkları:

Çalışmaya alınan tüm olgulara bakıldığında; 22 hastada (%15) BAK'a ek olarak başka bir doğumsal kalp hastalığı saptandı. Hastaların 16'sında (%10,9) sekundum ASD, 4'ünde (%2,7) PDA, 1'inde (%0,7) muskuler VSD ve 1'inde (%0,7) de küçük koroner arteriyovenöz fistül eşlik etmekteydi.

4.5 Biküspit Aort Kapaklı Hastalarda Kapak Fonksiyonu:

Biküspit aortik kapaklı hastalarda kapak fonksiyonuna bakıldığında; 44 hastada (%30,1) kapak fonksiyonlarının normal olduğu, AS ve AY olmadığı görüldü. Toplam 103 hastada (%69,9) aort kapak fonksiyon bozukluğu mevcuttu. İzole aort stenozu ve yetmezliği 32'şer hastada (%21,7) saptandı. Otuz dokuz hastada (%26,5) ise AS ve AY'nin birlikte olduğu görüldü (Şekil 14). Toplam 147 hastanın 71'inde (%48,2) AS, yine 71 hastada (%48,2) da AY bulunmaktaydı (Şekil 14).

Şekil 14. BAK hastalarının aort kapak fonksiyonlarına göre sınıflandırılması



Aort kapak fonksiyonu açısından hastalar; kapak fonksiyonu normal olan, izole AS olan, izole AY olan ve AS ile AY'nin birlikte olduğu hastalar olarak 4 gruba ayrılarak değerlendirildi. İzole AS grubundaki toplam 32 hastanın 23'ü erkek (%71,9), 9'u kız (%28,1), yaşları ortalama 5,9±4,5 yıl, vücut ağırlığı ortalama 22,9±17 kg, boy ortalama 116,2±29,7 cm, VKİ ortalama 15,9±3,8 kg/m², kalp hızı 106±25,3/dk, sistolik KB 98,9±11,4 mmHg, diyastolik KB 61,7±8,8 mmHg, nabız basıncı 37,2±9,9 mmHg idi. İzole AY grubundaki toplam 32 hastanın 24'ü erkek (%75), 8'i kız (%25) ve yaşları ortalama 10,3±4,7 yıl idi. Vücut ağırlığı ortalama 37,8±18,6 kg, boy ortalama 136,2±24,8 cm, VKİ ortalama 18,9±4,4 kg/m², kalp hızı 86,3±14,3/dk, sistolik KB 105,3±11 mmHg, diyastolik KB 65,6±6,6 mmHg, nabız basıncı 39,7±9,9 mmHg olarak saptandı. AS ve AY'nin birlikte bulunduğu toplam 39 hastanın ise; 29'u

erkek (%74), 10'u (%26) kız ve yaşları ortalama $10,6\pm 4,2$ yıl idi. Vücut ağırlığı ortalama $40,8\pm 19,3$ kg, boy ortalama $145,5\pm 15,4$ cm, VKİ ortalama $22,2\pm 4,6$ kg/m², kalp hızı $91,8\pm 15,6$ /dk, sistolik KB $108,5\pm 9,8$ mmHg, diyastolik KB $66\pm 8,9$ mmHg, nabız basıncı $42,5\pm 8,4$ mmHg olarak saptandı. AS veya AY'nin bulunmadığı, kapak fonksiyonu normal olan 44 hastanın ise 34'ü (%77) erkek, 10'u (%23) kız ve yaş ortalaması $7,7\pm 4,7$ yıl idi. Vücut ağırlığı ortalama $30,2\pm 17,9$ kg, boy ortalama $132,5\pm 25,2$ cm, VKİ ortalama $17,2\pm 3,3$ kg/m², kalp hızı $102,7\pm 23,2$ /dk, sistolik KB $107\pm 12,8$ mmHg, diyastolik KB $66,2\pm 9,1$ mmHg, nabız basıncı $40,7\pm 7,6$ mmHg saptandı. Dört grup arasında cinsiyet, diyastolik kan basıncı ve nabız basıncı açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmazken ($p>0,05$); yaş, vücut ağırlığı, boy, VKİ, kalp hızı ve sistolik KB açısından istatistiksel olarak farklılık saptandı ($p<0,05$). Gruplarda ikili incelemelere bakıldığında; izole AS grubunda yaş, izole AY ve AS+AY grubuna göre belirgin küçüktü. Vücut ağırlığı, boy, VKİ ve sistolik kan basıncı da izole AS grubunda AS+AY grubuna göre belirgin az; kalp hızı ise belirgin yüksekti. Yapılan kovaryans analiziyle bu farklılıkların gruplar arasındaki yaş farkına bağlı olduğu görüldü (Tablo 7).

Grupların ekokardiyografi verilerine bakıldığında; izole AS olan grupta LVADed $0,82\pm 0,12$ cm, LVed $3,7\pm 0,8$ cm, LVes $2,1\pm 0,6$ cm, IVSed $0,74\pm 0,13$ cm, RVed $2,3\pm 0,4$ cm, LA $2,4\pm 0,4$ cm, AA $1,6\pm 0,4$ cm, aort genişliği $2,1\pm 0,5$ cm, EF % $80,7\pm 4,9$, FS % $42,6\pm 4,7$, aort maksimum gradiyenti $27,9\pm 13,6$ mmHg saptanırken; izole AY grubunda ise sırasıyla $0,87\pm 0,11$ cm, $4,4\pm 0,5$ cm, $2,5\pm 0,4$ cm, $0,77\pm 0,1$ cm, $2,8\pm 0,4$ cm, $2,5\pm 0,2$ cm, $1,9\pm 0,3$ cm, $2,6\pm 0,4$ cm, % $80,8\pm 4,5$, FS % $42,6\pm 4,5$ ve aort maksimum gradiyenti $8,2\pm 3$ mmHg idi. AS ve AY'nin birlikte olduğu grupta LVADed $0,88\pm 0,13$ cm, LVed $4,4\pm 0,6$ cm, LVes $2,6\pm 0,4$ cm, IVSed $0,8\pm 0,1$ cm, RVed $2,7\pm 0,5$ cm, LA $2,9\pm 0,6$ cm, AA $1,9\pm 0,4$ cm, aort genişliği $2,5\pm 0,6$ cm, EF % $78,5\pm 5,9$, FS % $40,6\pm 5,4$ ve aort maksimum gradiyenti $30,7\pm 14,4$ mmHg iken; AS ve AY'nin bulunmadığı grupta sırasıyla $0,84\pm 0,13$ cm, $3,8\pm 0,8$ cm, $2,2\pm 0,5$ cm, $0,8\pm 0,1$ cm, $2,4\pm 0,4$ cm, $2,5\pm 0,5$ cm, $1,6\pm 0,3$ cm, $2,2\pm 0,5$ cm, EF % $79,1\pm 5,5$, FS % $41,1\pm 5,1$ ve aort maksimum gradiyenti $8\pm 3,2$ mmHg olarak saptandı. Gruplar arasında LVADed, IVSed, EF ve FS parametreleri açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmazken ($p>0,05$); LVed, LVes, RVed, LA, AA, aort genişliği ve maksimum basınç gradiyenti açısından istatistiksel olarak farklılık vardı ($p<0,05$). Maksimum basınç gradiyenti; AS

ve AY birlikte olan grup ile izole AS olan grupta diğer gruplara göre belirgin olarak fazlaydı. Yapılan kovaryans analiziyle LVED, LVES, RVED ve aort genişliğindeki istatistiksel farklılıkların gruplar arasındaki yaş farkına bağlı olduğu görüldü. Grupların ekokardiyografik verileri Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 7. Kapak fonksiyonlarına göre hastaların demografik verileri

	İzole AS (n:32)	İzole AY (n:32)	AS+AY (n:39)	AS/AY Yok (n:44)	p
Cinsiyet (E/K)	23/9	24/8	29/10	34/10	>0,05
Yaş (yıl)	5,9±4,5 (0,3-17)	10,3±4,7 (2-18)	10,6±4,2 (2-19)	7,7±4,7 (0,8-18)	<0,05
Vücut Ağırlığı (kg)	22,9±17 (3,6-70)	37,8±18,6 (12-81)	40,8±19,3 (12,8-100)	30,2±17,9 (5-67)	<0,05 0,857*
Boy (cm)	116,2±29,7 (50-160)	136,2±24,8 (89,8-177)	145,5±15,4 (107-167)	132,5±25,2 (75-168)	<0,05 0,605*
VKİ (kg/m²)	15,9±3,8 (12,6-26,4)	18,9±4,4 (12,4-26,2)	22,2±4,6 (15,1-31,4)	17,2±3,3 (13-24,6)	<0,05 0,099*
Kalp Hızı (atım/dk)	106 ±25,3 (64-172)	86,3±14,3 (60-115)	91,8±15,6 (68-136)	102,7±23,2 (60-152)	<0,05 0,242*
Sistolik KB (mmHg)	98,9±11,4 (70-130)	105,3±11 (90-148)	108,5±9,8 (8-132)	107±12,8 (70-137)	<0,05 0,077*
Diastolik KB (mmHg)	61,7±8,8 (40-80)	65,6±6,6 (54-80)	66±8,9 (50-91)	66,2±9,1 (45-86)	>0,05 0,176*
Nabız Basıncı (mmHg)	37,2±9,9 (20-60)	39,7±9,9 (25-68)	42,5±8,4 (22-60)	40,7±7,6 (25-54)	>0,05 0,194*

AS: Aort stenozu AY: Aort yetmezliği E: Erkek, K: Kız, VKİ: Vücut kitle indeksi, KB: Kan basıncı

*Yaşa göre düzeltilmiş verilerin ortalama, standart sapma ve p değerleri

Tablo 8. Kapak fonksiyonlarına göre hastaların ekokardiyografi parametreleri

	İzole AS (n:32)	İzole AY (n:32)	AS+AY (n:39)	AS/AY Yok (n:44)	p
LVADed (cm)	0,82±0,12 (0,6-1) 0,8±0,02	0,87±0,11 (0,6-1,1) 0,9±0,02	0,88±0,13 (0,6-1,4) 0,9±0,02	0,84±0,13 (0,6-1,4) 0,8±0,02	>0,05 0,554*
LVed (cm)	3,7±0,8 (1,8-5,6) 4,1±0,09	4,4±0,5 (3-5,8) 4,2±0,09	4,4±0,6 (2,8-5,8) 4,2±0,08	3,8±0,8 (1,9-5,5) 4,0±0,07	<0,05 0,120*
LVes (cm)	2,1±0,6 (1-3,6) 2,4±0,07	2,5±0,4 (1,8-3,4) 2,4±0,07	2,6±0,4 (1,8-4) 2,5±0,06	2,2±0,5 (1,1-3,7) 2,4±0,06	<0,05 0,361*
IVSed (cm)	0,74±0,13 (0,4-1) 0,77±0,02	0,77±0,1 (0,6-1) 0,77±0,02	0,8±0,1 (0,6-1) 0,79±0,02	0,8±0,1 (0,6-1) 0,79±0,02	>0,05 0,739*
RVed (cm)	2,3±0,4 (1,4-3,5) 2,5±0,08	2,8±0,4 (1,7-3,5) 2,7±0,1	2,7±0,5 (1,2-3,2) 2,7±0,08	2,4±0,4 (1,7-3,4) 2,4±0,07	<0,05 0,097*
LA (cm)	2,4±0,4 (1,8-3,6) 2,5±0,11	2,5±0,2 (2,3-2,9) 2,5±0,15	2,9±0,6 (1,8-4,1) 2,9±0,10	2,5±0,5 (1,6-3,7) 2,6±0,09	<0,05 0,028*
AA (cm)	1,6±0,4 (0,7-2,4) 1,7±0,07	1,9±0,3 (1,4-2,5) 1,8±0,09	1,9±0,4 (0,8-2,8) 1,9±0,07	1,6±0,3 (1-2,5) 1,7±0,06	<0,05 0,045*
Aort Genişliği(cm)	2,1±0,5 (0,9-3) 2,4±0,07	2,6±0,4 (2-3,2) 2,3±0,1	2,5±0,6 (0,9-3,2) 2,4±0,07	2,2±0,5 (1,3-3,2) 2,3±0,06	<0,05 0,888*
EF (%)	80,7±4,9 (64,8-88,5) 80,5±0,98	80,8±4,5 (72,2-87,5) 80,9±0,99	78,5±5,9 (63,5-86,6) 78,7±0,88	79,1±5,5 (64,8-88,7) 79,0±0,81	>0,05 0,224*
FS (%)	42,6±4,7 (29,4-51,4) 42,4±0,9	42,6±4,5 (34,7-50) 42,9±0,9	40,6±5,4 (28,5-48,8) 40,8±0,8	41,1±5,1 (29,4-51,7) 41,0±0,8	>0,05 0,248*
ΔP_{max} (mmHg)	27,9±13,6 (14,7-65) 27,1±1,8	8,2±3 (3,7-14) 8,8±1,8	30,7±14,4 (10-73) 31,4±1,7	8±3,2 (2,6-9,5) 7,7±1,6	<0,05 0,0001*

AS: Aort stenozu AY: Aort yetmezliği LVADed: Sol ventrikül arka duvar kalınlığı enddiyastol, LVed: Sol ventrikül enddiyastolik çapı, LVes: Sol ventrikül endsistolik çapı, IVSed: İnterventriküler septum enddiyastol, RVed: Sağ ventrikül enddiyastolik çapı, LA: Sol atrium çapı, AA: Aortik anulus, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, FS: Fraksiyonel kısalma, ΔP_{max}: Maksimum basınç gradiyenti
*Yaşa göre düzeltilmiş verilerin ortalama, standart sapma ve p değerleri

Aort stenozu olan toplam 71 hastanın (32 izole AS, 39 AS ve AY birlikteliği şeklinde) aort stenozunun ağırlığı açısından değerlendirilmesinde; 54'ünde (%76) hafif AS, 17'sinde (%24) orta-ağır AS saptandı. Aort yetmezliği bulunan toplam 71 hastanın (32 izole AY, 39 AS ve AY birlikteliği şeklinde) aort yetmezliğinin şiddeti açısından değerlendirilmesinde ise, 50'sinde (%70,4) hafif AY, 21'inde (%29,6) orta-ağır AY olduğu görüldü (Tablo 9).

Tablo 9. BAK hastalarında aort stenozu ve yetmezliği sınıflaması

Aort Stenozu	
Hafif AS	54 (%76)
Orta-ağır AS	17 (%24)
Aort Yetmezliği	
Hafif AY	50 (%70,4)
Orta-ağır AY	21(%29,6)

AS: Aort stenozu, AY: Aort yetmezliği

BAK'a eşlik eden aort stenozu olan ve olmayan hastaların demografik verileri Tablo 10'da verilmiştir. AS olan toplam 71 hastanın 52'sinin erkek, 19'unun kız, yaş ortalaması $8,5 \pm 4,9$ (0,03-18) yıl ve ortalama vücut ağırlığı $32,8 \pm 20,4$ (3,6-100) kg, boy $131,5 \pm 27,3$ (50-167) cm, VKİ $19,2 \pm 5,2$ (12,6-31,4) kg/m^2 , kalp hızı $98,2 \pm 21,6$ (64-172)/dk, sistolik KB $104,1 \pm 11,5$ (70-132) mmHg ve diyastolik KB $64 \pm 9,1$ (40-91) mmHg idi. AS eşlik etmeyen toplam 76 hastanın ise; 58'i erkek, 18'i kız, yaş ortalaması $8,8 \pm 4,8$ (0,08-18) yıl ve ortalama vücut ağırlığı $33,5 \pm 18,5$ (5-81) kg, boy $133,9 \pm 24,7$ (75-177) cm, VKİ $17,8 \pm 3,8$ (12,4-26,2) kg/m^2 , kalp hızı $94,4 \pm 21$ (60-152)/dk, sistolik KB $106,3 \pm 12$ (70-148) mmHg ve diyastolik KB $65,9 \pm 8,1$ (45-86) mmHg olarak saptandı. Gruplar arasında bu parametreler açısından istatistiksel olarak farklılık yoktu ($p > 0,05$).

Tablo 10. Aort Stenozu olan ve olmayan hastaların demografik verileri

	Aort Stenozu (+)		Aort Stenozu (-)	
	(n:71)		(n:76)	
Cinsiyet (E/K)	52/19		58/18	
Yaş (yıl)	8,5±4,9	(0,03-18)	8,8±4,8	(0,08-18)
Vücut Ağırlığı (kg)	32,8±20,4	(3,6-100)	33,5±18,5	(5-81)
Boy (cm)	131,5±27,3	(50-167)	133,9±24,7	(75-177)
VKİ (kg/m²)	19,2±5,2	(12,6-31,4)	17,8±3,8	(12,4-26,2)
Kalp Hızı (atım/dk)	98,2±21,6	(64-172)	94,4±21	(60-152)
Sistolik KB (mmHg)	104,1±11,5	(70-132)	106,3±12	(70-148)
Diyastolik KB (mmHg)	64±9,1	(40-91)	65,9±8,1	(45-86)

E: Erkek, K: Kız, VKİ: Vücut kitle indeksi, KB: Kan basıncı *p >0,05*

Aort stenozu olan ve olmayan hastaların ekokardiyografi parametreleri Tablo-11’de verilmiştir. AS olan grupta; LVADed 0,85±0,13 (0,6-1,4) cm, LVed 4,1±0,8 (1,8-5,8) cm, LVes 2,42±0,57 (1-4) cm, IVSed 0,77±0,12 (0,4-1) cm, RVed 2,5±0,5 (1,2-3,7) cm, LA 2,7±0,6 (1,8-4,1) cm, AA 1,8±0,48 (0,7-2,8) cm, aort genişliği 2,33±0,58 (0,9-3,2) cm, EF %79,5±5,6 (63,6-88,5), FS %41,5±5,1 (28,6-51,4) ve aort maksimum gradiyenti 29,5±14 (10-73) mmHg saptanırken; AS olmayan grupta sırasıyla 0,85±0,12 (0,6-1,4) cm, 4,1±0,8 (1,9-5,8) cm, 2,36±0,5 (1,1-3,7) cm, 0,78±0,1 (0,6-1) cm, 2,5±0,5 (1,7-3,5) cm, 2,5±0,4 (1,6-3,7) cm, 1,72±0,36 (1-2,5) cm, 2,34±0,53 (1,3-3,2) cm, EF %79,8±5,1 (64,8-88,7), FS %41,7±4,9 (29,4-51,7), maksimum basınç gradiyenti 8,1±3,1 (2,6-17) mmHg idi. Maksimum basınç gradiyenti, AS olan grupta belirgin fazlayken ($p=0,0001$); diğer ekokardiyografik parametreler açısından gruplar arasında farklılık yoktu ($p>0,05$), (Tablo 11).

Tablo 11. Aort Stenozu olan ve olmayan hastaların ekokardiyografi parametreleri

	Aort Stenozu (+) (n:71)		Aort Stenozu (-) (n:76)		p
LVADed (cm)	0,85±0,13	(0,6-1,4)	0,85±0,12	(0,6-1,4)	>0,05
LVed (cm)	4,1±0,8	(1,8-5,8)	4,1±0,8	(1,9-5,8)	>0,05
LVes (cm)	2,42±0,57	(1-4)	2,36±0,5	(1,1-3,7)	>0,05
IVSed (cm)	0,77±0,12	(0,4-1)	0,78±0,1	(0,6-1)	>0,05
RVed (cm)	2,5±0,5	(1,2-3,7)	2,5±0,5	(1,7-3,5)	>0,05
LA (cm)	2,7±0,6	(1,8-4,1)	2,5±0,4	(1,6-3,7)	>0,05
AA (cm)	1,8±0,48	(0,7-2,8)	1,72±0,36	(1-2,5)	>0,05
Aort genişliği (cm)	2,33±0,58	(0,9-3,2)	2,34±0,53	(1,3-3,2)	>0,05
EF (%)	79,5±5,6	(63,6-88,5)	79,8±5,1	(64,8-88,7)	>0,05
FS (%)	41,5±5,1	(28,6-51,4)	41,7±4,9	(29,4-51,7)	>0,05
ΔP_{max} (mmHg)	29,5±14	(10-73)	8,1±3,1	(2,6-9,5)	0,0001

LVADed: Sol ventrikül arka duvar kalınlığı enddiyastol, LVed: Sol ventrikül enddiyastolik çapı, LVes: Sol ventrikül endsistolik çapı, IVSed: İnterventriküler septum enddiyastol, RVed: Sağ ventrikül enddiyastolik çapı, LA: Sol atrium çapı, AA: Aortik anulus, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, FS: Fraksiyonel kısalma, ΔP_{max}: Maksimum basınç gradiyenti

Biküspit aortik kapağa eşlik eden aort stenozu olan 71 hastanın 24'ünde (%33,8) kapak açılımı sup-inf yönde, 47'sinde (%66,2) sol-sağ yöndeydi. Aort stenozunun eşlik etmediği BAK'lı 76 hastanın ise; 53'ünde (%69,7) sup-inf açılım, 23'ünde (%30,3) sol-sağ açılım vardı. Aort stenozu, sol-sağ açılımı olan BAK'lı hastalarda %67,1 (47/70) oranında görülürken; sup-inf açılımı olan hastalarda %31,2 (24/77) oranında görülmekteydi (p=0,0001), (Tablo 12).

Kapak açılımına göre AS'nin şiddeti incelendiğinde; hafif AS olan 54 olgunun 21'inde (%38,9) açılım yönü sup-inf iken, 33'ünün (%61,1) sol-sağ açılım yönündeydi. AS derecesi orta-ağır olan 17 hastanın ise; 3'ünde (%17,6) sup-inf açılım, 14'ünde (%82,4) sol-sağ açılım olduğu gözlemlendi. Sol-sağ kapak açılımı olan hastaların

%30'unda (14/47) orta-ağır AS varken, sup-inf açılım olanların %13'ünde (3/24) AS orta-ağır derecedeydi. Sol-sağ kapak açılımı olanlarda AS daha ağır olmakla birlikte, farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,145$), (Tablo 13).

Tablo 12. BAK açılımı ve AS varlığı

	Sup-inf açılım BAK (n:77)	Sol-sağ açılım BAK (n:70)	<i>p</i>
Aort Stenozu (+) (n:71)	24 (%33,8)	47 (%66,2)	
Aort Stenozu (-) (n:76)	53 (%69,7)	23 (%30,3)	0,0001

Tablo 13. BAK açılımı ve AS sınıflaması

	Sup-inf açılım BAK (n:24)	Sol-sağ açılım BAK (n:47)	<i>p</i>
Hafif AS (n:54)	21 (%38,9)	33 (%61,1)	
Orta-Ağır AS (n:17)	3 (%17,6)	14 (%82,4)	0,145

AS: Aort stenozu

Aort yetmezliği olan ve olmayan hastaların demografik verileri karşılaştırıldığında; AY olan hastaların 53'ünün erkek, 18'inin kız, yaş ortalaması $10,5\pm 4,4$ (2-19) yıl, ortalama vücut ağırlığı $39,5\pm 19,0$ (12-100) kg, boy $141,1\pm 20,5$ (119,9-177) cm, VKİ $20,6\pm 4,8$ (12,4-31,4) kg/m^2 , kalp hızı $89,4\pm 15,2$ (60-136)/dk, sistolik KB $107,1\pm 10,5$ (89-148) mmHg ve diyastolik KB $65,8\pm 8$ (50-91) mmHg idi. AY olmayan hastaların ise; 57'si erkek, 19'u kız, yaş ortalaması $7\pm 4,7$ (0,03-18) yıl ve ortalama vücut ağırlığı $27,2\pm 17,9$ (3,6-70) kg, boy $126,6\pm 27,7$ (50-168) cm, VKİ $16,7\pm 3,5$ (12,6-26,4) kg/m^2 , kalp hızı $102,7\pm 24,1$ (60-172)/dk, sistolik KB $103,5\pm 12,8$ (70-137) mmHg ve diyastolik KB $64,3\pm 9,2$ (40-86) mmHg olarak saptandı. Gruplar arasında cinsiyet, sistolik ve diyastolik kan basıncı açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmazken ($p>0,05$); yaş, vücut ağırlığı, boy, VKİ ve kalp hızı açısından istatistiksel olarak farklılık mevcuttu. Yapılan kovaryans analiziyle bu farklılıkların gruplar arasındaki yaş farkına bağlı olduğu görüldü. AY saptanan hastalar daha büyük yaştaydı ($p<0,05$), (Tablo 14).

Tablo 14. Aort yetmezliği olan ve olmayan hastaların demografik verileri

	Aort Yetmezliği (+)	Aort Yetmezliği (-)	p
	(n:71)	(n:76)	
Cinsiyet (E/K)	53/18	57/19	>0,05
Yaş (yıl)	10,5±4,4 (2-19)	7±4,7 (0,3-18)	<0,05
Vücut Ağırlığı (kg)	39,5±19 (12-100)	27,2±17,9 (3,6-70)	<0,05
	33,5±1,3	32,9±1,2	0,737*
Boy (cm)	141,1±20,5 (89,8-177)	126,6±27,7 (50-168)	<0,05
	130,3±3,1	134,9±2,7	0,298*
VKİ (kg/m²)	20,6±4,8 (12,4-31,4)	16,7±3,5 (12,6-26,4)	<0,05
	19,5±0,8	17,6±0,7	0,089*
Kalp Hızı (atım/dk)	89,4±15,2 (60-136)	102,7±24,1 (60-172)	<0,05
	94,7±1,9	97,7±1,8	0,267*
Sistolik KB (mmHg)	107,1±10,5 (89-148)	103,5±12,8 (70-137)	>0,05
	104,9±1,4	105,5±1,3	0,789*
Diastolik KB (mmHg)	65,8±8 (50-91)	64,3±9,2 (40-86)	>0,05
	63,9±0,9	66,1±0,9	0,114*

E: Erkek, K: Kız, VKİ: Vücut kitle indeksi, KB: Kan basıncı

*Yaşa göre düzeltilmiş verilerin ortalama, standart sapma ve p değerleri

Aort yetmezliği olan ve olmayan hastaların ekokardiyografik parametreleri değerlendirildi. AY olan hastalarda LVADed 0,88±0,12 cm, LVed 4,4±0,6 cm, LVes 2,57±0,45 cm, IVSed 0,85±0,13 cm, RVed 2,75±0,5 cm, LA 2,85±0,5 cm, AA 1,96±0,43 cm, aort genişliği 2,54±0,54 cm, EF %79,7±5,5, FS %41,7±5,2 ve aort maksimum basınç gradiyenti 20,4±15,7 mmHg saptanırken; AY olmayan hastalarda

sırasıyla $0,83\pm0,12$ cm, $3,8\pm0,8$ cm, $2,22\pm0,55$ cm, $0,76\pm0,13$ cm, $2,41\pm0,4$ cm, $2,48\pm0,5$ cm, $1,63\pm0,38$ cm, $2,2\pm0,53$ cm, EF % $79,8\pm5,3$, FS % $41,7\pm5$ ve aort maksimum basınç gradiyenti $16,8\pm13,5$ mmHg idi. IVSed, EF, FS parametreleri açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmazken ($p>0,05$), LVADed, LVed, LVes, RVed, LA, AA, aort genişliği ve aort kapak maksimum basınç gradiyenti açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$), (Tablo 15). Yapılan kovaryans analiziyle LVADed, LVes ve aort genişliğindeki istatistiksel farklılıkların gruplar arasındaki yaş farkına bağlı olduğu görüldü.

Tablo 15. Aort yetmezliği olan ve olmayan hastaların ekokardiyografi parametreleri

	Aort Yetmezliği (+) (n:71)		Aort Yetmezliği (-) (n:76)		<i>p</i>
LVADed (cm)	0,88±0,13 0,87±0,16	(0,6-1,4)	0,83±0,13 0,84±0,15	(0,6-1,4)	<0,05 0,202*
LVed (cm)	4,4±0,6 4,2±0,6	(2,8-5,8)	3,8±0,8 4±0,6	(1,8-5,6)	<0,05 0,038*
LVes (cm)	2,58±0,5 2,44±0,46	(1,8-4)	2,22±0,6 2,35±0,45	(1-3,7)	<0,05 0,202*
IVSed (cm)	0,8±0,1 0,77±0,01	(0,6-1)	0,77±0,13 0,78±0,01	(0,4-1)	>0,05 0,645*
RVed (cm)	2,75±0,5 2,67±0,06	(1,2-3,7)	2,42±0,4 2,47±0,05	(1,4-3,5)	<0,05 0,019*
LA (cm)	2,85±0,6 2,79±0,08	(1,8-4,1)	2,49±0,5 2,53±0,07	(1,6-3,7)	<0,05 0,025*
AA (cm)	1,96±0,43 1,88±0,05	(0,8-2,8)	1,63±0,38 1,68±0,04	(0,7-2,5)	<0,05 0,006*
Aort genişliği (cm)	2,54±0,54 2,35±0,05	(0,9-3,2)	2,2±0,53 2,33±0,04	(0,9-3,2)	<0,05 0,758*
EF (%)	79,7±5,6 79,7±0,6	(63,6-87,5)	79,8±5,3 79,6±0,6	(64,8-88,8)	>0,05 0,893*
FS (%)	41,7±5,3 41,7±0,6	(28,6-50)	41,8±5 41,5±0,6	(29,4-51,7)	>0,05 0,857*

LVADed: Sol ventrikül arka duvar kalınlığı enddiyastol, LVed: Sol ventrikül enddiyastolik çapı, LVes: Sol ventrikül endsistolik çapı, IVSed: İnterventriküler septum enddiyastol, RVed: Sağ ventrikül enddiyastolik çapı, LA: Sol atrium çapı, AA: Aortik anulus, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, FS: Fraksiyonel kısalma

**Yaşa göre düzeltilmiş verilerin ortalama, standart sapma ve p değerleri*

Biküspit aortik kapağa eşlik eden AY'si olan 71 hastanın 28'inde (%39) kapak açılımı sup-inf yönündeyken, 43'ünde (%61) sol-sağ yöndeydi. AY bulunmayan 76 BAK hastasının ise; 49'unda (%64) sup-inf, 27'sinde (%36) sol-sağ açılım vardı. Sol-sağ kapak açılımı olan hastalarda %71 (43/70) oranında AY varken; sup-inf açılımı olan hastalarda %36,4 (28/77) oranındaydı. AY'nin sol-sağ kapak açılımı olan hastalarda daha fazla olduğu görüldü ($p=0,002$), (Tablo 16).

Kapak açılımına göre AY'nin şiddeti incelendiğinde; hafif AY saptanan 50 hastanın 23'ünde (%46) sup-inf açılım, 27'sinde (%54) sol-sağ açılım olduğu görülürken; orta-ağır AY olan 21 hastanın 5'inde (%24) sup-inf açılım, 16'sında (%76) sol-sağ açılım vardı. Sol-sağ kapak açılımı olan hastaların %37'sinde (16/43) orta-ağır AY varken, sup-inf açılım olanların %18'inde (5/28) AY orta-ağır derecedeydi. Sol-sağ kapak açılımı olanlarda AY'nin daha ağır olduğu görüldü ($p=0,002$), (Tablo-17).

Tablo 16. BAK açılımı ve AY varlığı

	Sup-inf açılım BAK (n:77)	Sol-sağ açılım BAK (n:70)	<i>p</i>
Aort Yetmezliği (+) (n:71)	28(%39)	43(%61)	0,002
Aort Yetmezliği (-) (n:76)	49(%64)	27(%36)	

Tablo 17. BAK açılımı ve AY derecesi

	Sup-inf açılım BAK (n:28)	Sol-sağ açılım BAK (n:43)	<i>p</i>
Hafif AY (n:50)	23(%46)	27(%54)	0,002
Orta-ağır AY (n:21)	5(%24)	16(%76)	

4.6 Aort Koarktasyonu

Biküspit aortik kapaklı hastalardan 12'sine (%8,2) aort koarktasyonu eşlik ediyordu. AK olan 12 hastanın verileri incelendiğinde; hastaların 10'u erkek, 2'si kızdı. Hastaların yaş ortalaması $7,1\pm 4,5$ (1-17) yıl, vücut ağırlığı $29\pm 17,48$ (9,1-57)

kg, boy 125,3±19,64 (98,5-151) cm, VKİ 16,3±5 (12,63-25) kg/m² iken; kalp hızı 96,1±19,2 (64-135) atım/dk, sistolik kan basıncı 108±14,7 (90-148) mmHg, diyastolik kan basıncı 66,9±10,8 (46-80) mmHg olarak saptandı.

AK olan hastalar, BAK açımları açısından incelendiğinde; 9 hastada (%75) sup-inf açılımı, 3 hastada (%25) sol-sağ açılım saptandı. Aort koarktasyonu olan hastalarda superior-inferior kapak açılım şekli daha fazlaydı (Tablo 18). Raphe 2 (%16,7), kapakta doming ise 5 (%41,7) hastada mevcuttu.

Tablo 18. BAK grubunda aort koarktasyonlu hastaların demografik verileri

	Aort koarktasyonu (n:12)
Cinsiyet (E/K)	10/2
Yaş (yıl)	7,1±4,5 (1-17)
Vücut ağırlığı (kg)	29±17,5 (9,1-57)
Boy (cm)	125,3±19,6 (98,5-151)
VKİ (kg/m²)	18,6±4,4 (15,2-26,3)
Kalp hızı (atım/dk)	96,2±19,2 (64-135)
Sistolik KB (mmHg)	108±14,7 (90-148)
Diyastolik KB (mmHg)	59,5±19,6 (40-91)
BAK Açılımı (Sup-inf/Sol-sağ)	9/3

E: Erkek, K: Kız, VKİ: Vücut kitle indeksi, KB: Kan basıncı

Aort koarktasyonuna eşlik eden AS ve AY varlığına bakıldığında; 12 aort koarktasyonlu hastanın 8'ine izole AS eşlik ederken, 2'sinde AS ve AY birlikte bulunmaktaydı. İzole AY hiçbir hastada yoktu. İki hastada ise kapak fonksiyonunun normal olduğu, AS ve AY'nin olmadığı görüldü.

AK olan hastaların ekokardiyografik parametreleri incelendiğinde; LVADed 0,86±0,1 cm, LVED 4,1±0,6 cm, LVes 2,5±0,6 cm, IVSed 0,83±0,13 cm, RVed 2,6±0,48 cm, LA 2,6±0,5 cm, AA 1,6±0,32 cm, aort genişliği 2,3±0,52 cm, EF %77,4±6,6, FS %39,6±6 ve aort kapak maksimum gradiyenti 18,8±13,2 mmHg idi.

Aort koarktasyonu olan toplam 12 hastanın 9'unda girişim öyküsü mevcuttu. Bunlardan 2'sine anjioplasti uygulanırken, 7'si opere edilmişti.

4.7 Aort Dilatasyonu

Asendan aort dilatasyonu 13 (%8,8) hastada saptandı. Asendan aort dilatasyonu olan hastaların tamamı (%100) erkekti. Yaş ortalaması 12,4±3 (8-18) yıl, vücut ağırlığı 46,6±23,9 (17-100) kg, boy 151,4±15,2 (138-169) cm, vücut kitle indeksi 16,9±3,9 (14,6-26,4) kg/m², kalp hızı 83,5±9,6 (68-97) atım/dk, sistolik kan basıncı 107,9±9,5 (95-127) mmHg ve diyastolik kan basıncı 66,6±5,3 (55-77) mmHg olarak saptandı.

Kapak açılım şekline bakıldığında; 2 (%15,4) hastada sup-inf, 11 (%84,6) hastada sol-sağ açılım gözlemlendi. Asendan aort dilatasyonu olan BAK'lı hastalarda sol-sağ açılım daha fazlaydı (Tablo 19). Raphe ve kapakta doming yedişer hastada saptandı.

Tablo 19. Aort dilatasyonu olan hastaların demografik verileri

	Aort dilatasyonu (n:13)
Cinsiyet (E/K)	13/0
Yaş (yıl)	12,4±3 (8-18)
Vücut ağırlığı (kg)	46,6±23,9 (17-100)
Boy (cm)	151,4±15,2 (138-169)
VKİ (kg/m²)	20,2±4,5 (15,1-26,2)
Kalp hızı (atım/dk)	83,5±9,6 (68-97)
Sistolik KB (mmHg)	107,9±9,5 (95-127)
Diyastolik KB (mmHg)	66,6±5,3 (55-77)
BAK Açılımı (Sup-inf/Sol-sağ)	2/11

E: Erkek, K: Kız, VKİ: Vücut kitle indeksi, KB: Kan basıncı

Asendan aort dilatasyonuna eşlik eden AS ve AY varlığına bakıldığında; 13 hastanın tamamında kapak disfonksiyonu olduğu görüldü (p=0,002). On üç hastanın hepsinde (%100) aort stenozu bulunmaktaydı. AS iki hastada (%15) izoleyken, 11 hastada (%85) AY ile birlikteydi. Kombine kapak disfonksiyonu (AS-AY birlikteliği) olan hastalarda asendan aort dilatasyonu görülme sıklığı fazlaydı (p=0,014).

Asendan aort dilatasyonu olan hastaların ekokardiyografik parametreleri değerlendirildiğinde; LVADed 0,93±0,16 cm, LVed 4,8±0,60 cm, LVes 2,8±0,46 cm, IVSed 0,9±0,18 cm, RVed 3±0,4 cm, LA 2,9±0,76 cm, AA 2,1±0,4 cm, aort genişliği 2,8±0,3 cm, EF %78,6±5,2, FS %40,6±4,7 ve aort maksimum gradiyenti 32,8±16,8 mmHg idi.

4.8 Genetik verilerin değerlendirilmesi

Çalışmamızda, 147 BAK hastası ve 90 sağlıklı çocuk olmak üzere toplam 237 çocukta BMP-2, BMP-4 ve SMAD6 gen bölgeleri değerlendirildi. Üç ekzondan oluşan BMP-2 gen bölgesinin ikisi, beş ekzondan oluşan BMP-4 gen bölgesinin ikisi, dört ekzondan oluşan SMAD-6 gen bölgesinin de ikisi araştırıldı. BMP-2 geninde rs235768 ve rs15705 ekzon bölgeleri, BMP-4 geninde dört ve beşinci ekzonları, SMAD6 geninde ise bir ve dördüncü ekzonları çalışıldı. BMP-2 ve BMP-4 gen bölgelerinin hiçbirinde mutasyon saptanmazken; BAK'lı hastalarda SMAD6 geninin 2 ayrı gen bölgesinde (rs1555440093 ve rs1208514129) mutasyon saptandı. Kontrol grubundaki hiçbir çocukta mutasyon yoktu.

4.8.1 SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu

SMAD-6 geni rs1555440093 gen bölgesinde; BAK grubunda 31 (%21,1) hastada heterozigot mutasyon saptanırken, kontrol grubunda mutasyon yoktu. Bu mutasyona sahip olmanın biküspit aortik kapak hastalığı riskini 1,77 kat artırdığı görüldü [p=0,0001 ve OR 1,77 (%95 CI; 1,57-2)], (Tablo 20).

Tablo 20. BAK ve kontrol grubunda SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu

	BAK Grubu (n:147)	Kontrol Grubu (n:90)	p	OR (%95 CI)
rs1555440093 Mutant	31 (%21,1)	0		
rs1555440093 Normal	116 (%78,9)	90 (%100)	0,0001	1,77 (1,57-2)

BAK grubunda SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonuna sahip olan 31 hastanın verileri incelendiğinde; hastaların 21'i (%67,7) erkek, 10'u (%32,3) kızdı. Ortalama yaş 10,2±4,8 (0,3-18) yıl, vücut ağırlığı 39,5±21,5 (3,6-100) kg, boy 134,2±31,7 (50-169) cm, vücut kitle indeksi 20,3±5,4 (14,4-31,5) kg/m², kalp hızı 95,1±25,4 (60-172) atım/dk, sistolik kan basıncı 107,2±13,8 (70-135) mmHg,

diyastolik kan basıncı $64 \pm 15,4$ (42-91) mmHg idi. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan hastalar ile olmayan hastaların demografik verileri açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p > 0,05$), (Tablo 21).

Tablo 21. BAK grubunda SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan ve olmayan hastaların demografik verileri

	rs1555440093 Mutant (n:31)	rs1555440093 Normal (n:116)
Cinsiyet (E/K)	21/10	100/35
Yaş (yıl)	$10,2 \pm 4,8$ (0,3-18)	$8,5 \pm 4,8$ (0,08-19)
Vücut ağırlığı (kg)	$39,5 \pm 21,5$ (3,6-100)	$31,4 \pm 17,8$ (5-81)
Boy (cm)	$134,2 \pm 31,7$ (50-169)	$132,2 \pm 26$ (64-178)
VKİ (kg/m²)	$20,3 \pm 5,4$ (14,4-31,5)	$17,9 \pm 3,7$ (12,4-27,8)
Kalp hızı (atım/dk)	$95,1 \pm 25,4$ (60-172)	$96,5 \pm 20,1$ (62-152)
Sistolik KB (mmHg)	$107,2 \pm 13,8$ (70-135)	$104,6 \pm 11,2$ (70-148)
Diastolik KB (mmHg)	$64 \pm 15,4$ (42-91)	$59,1 \pm 19,9$ (42-86)
<i>E: Erkek, K: Kız, VKİ: Vücut kitle indeksi, KB: Kan basıncı</i>		$p > 0,05$

SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan 31 hastanın kapak açılımları incelendiğinde; 12 hastada (%38,7) sup-inf açılım, 19 hastada (%61,3) ise sol-sağ açılım vardı. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu saptanan hastaların 11'inde (%42,3) raphe mevcutken; 12'sinde (%38,7) aort kapağında doming vardı. SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan ve olmayan hastalar arasında kapak açılım şekli, kapakta doming ve raphe varlığı açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p > 0,05$), (Tablo 22).

Tablo 22. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda BAK açılımı, raphe ve doming durumu

		rs1555440093 Mutant (n:31)	rs1555440093 Normal (n:116)	<i>p</i>
BAK Açılımı	Sup-inf	12 (%38,7)	66 (%56,9)	0,071
	Sol-sağ	19 (%61,3)	50 (%43,1)	
Raphe	Var	11 (%42,3)	49 (%56,3)	0,209
	Yok	15 (%57,7)	38 (%43,7)	
Doming	Var	12 (%38,7)	49 (%42,2)	0,723
	Yok	19 (%61,3)	67 (%57,8)	

SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu ile aort kapak fonksiyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; rs1555440093 mutasyonu olan toplam 31 hastanın 4'ünde (%13) kapak fonksiyonu normalken; 17'sinde (%55) kombine kapak fonksiyon bozukluğu (AS ve AY), 4'ünde (%13) izole AS, 6'sında (%19) izole AY saptandı. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olmayan 116 hastanın 40'ında (%35) kapak fonksiyonu normaldi. İzole AS 28 hastada (%24) görülürken, izole AY 26 hastada (%22) izlendi. Kombine kapak fonksiyon bozukluğu (AS ve AY) 22 hastada (%19) vardı. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu ile aortik kapak fonksiyon bozukluğu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık saptandı. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu bulunan hastalarda, kombine kapak fonksiyon bozukluğu anlamlı olarak daha fazlaydı ($p=0,001$), (Tablo 23).

Tablo 23. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda aort kapak fonksiyonu

	rs1555440093 Mutant (n:31)	rs1555440093 Normal (n:116)	<i>p</i>
AS veya AY yok	4 (%13)	40 (%35)	
İzole AS	4 (%13)	28 (%24)	0,001
İzole AY	6 (%19)	26 (%22)	
AS+ AY var	17 (%55)	22 (%19)	

SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan 31 hastanın toplam 21'ine (%68) AS eşlik etmekteyken; 10'unda (%32) AS yoktu. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu saptanmayan 116 hastanın 50'sinde (%43) AS saptanırken, 66'sında (%57) yoktu. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda AS varlığı açısından istatistiksel olarak farklılık saptandı. SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda AS görülme oranı daha fazlaydı ($p=0,016$), (Tablo 24).

Tablo 24. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu ve AS

Aort Stenozu	rs1555440093 Mutant (n:31)	rs1555440093 Normal (n:116)	<i>p</i>
Var	21 (%68)	50 (%43)	0,016
Yok	10 (%32)	66 (%57)	

SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu ve AS'si olan 21 hasta, aort stenozunun ağırlığı açısından değerlendirildiğinde; rs1555440093 mutant olan hastaların 12'sinde (%57) hafif AS, 9'unda (%43) orta-ağır AS vardı. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonuna sahip olmayan 116 hastanın 50'sinde AS vardı. Bu hastaların 42'sinde (%84) hafif AS, 8'inde (%16) ise orta-ağır AS saptandı. SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda orta-ağır AS, mutasyon saptanmayan hastalara göre daha fazlaydı ($p=0,03$), (Tablo 25).

Tablo 25. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu ve AS ağırlığı

	rs1555440093 Mutant (n:21)	rs1555440093 Normal (n:50)	<i>p</i>
Hafif AS	12 (%57)	42 (%84)	0,03
Orta-ağır AS	9 (%43)	8 (%16)	

SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan 31 hastanın toplam 23'üne (%74) AY eşlik etmekteyken; 8'inde (%26) AY yoktu. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olmayan toplam 116 hastanın 48'inde (%41) AY saptanırken, 68'inde (%59) yoktu. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda mutasyon olmayan hastalara göre AY daha fazla bulunmaktaydı ($p=0,001$), (Tablo 26).

Tablo 26. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu ve AY

Aort Yetmezliği	rs1555440093 Mutant (n:31)	rs1555440093 Normal (n: 116)	<i>p</i>
Var	23 (%74)	48 (%41)	0,001
Yok	8 (%26)	68 (%59)	

SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu ve AY'si olan toplam 23 hastanın 12'sinde (%52) hafif AY, 11'inde (%48) orta-ağır AY vardı. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olmayan toplam 116 hastanın ise, 38'inde (%79) hafif AY, 10'unda (%21) orta-ağır AY saptandı. SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyon olan hastalarda mutasyon olmayanlara göre orta-ağır derecede AY daha fazlaydı ($p=0,02$), (Tablo 27).

Tablo 27. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu ve AY ağırlığı

	rs1555440093 Mutant (n:31)	rs1555440093 Normal (n: 116)	<i>p</i>
Hafif AY	12 (%52)	38 (%79)	0,02
Orta-ağır AY	11 (%48)	10 (%21)	

SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan hastaların hiçbirinde aort koarktasyonu yoktu. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu varlığının aort koarktasyonu görülmemesi riskini 1,298 kat artırdığı görüldü [p=0,071 ve OR 1,298 (%95 CI; 1,184-1,423)], (Tablo 28).

SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan hastaların 8 (%25,8)'inde asendan aort dilatasyonu saptanırken; 23 (%74,2)'ünde asendan aort dilatasyonu mevcut değildi. SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda mutasyon olmayan hastalara göre asendan aort dilatasyonu sıklığı 3,8 kat daha yüksekti [p=0,001 ve OR 3,8 (%95 CI; 2-6,3)], (Tablo 28).

Tablo 28. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda aort koarktasyonu ve asendan aort dilatasyonu

		rs1555440093 Mutant	rs1555440093 Normal	<i>p</i>
		(n:31)	(n:116)	
Aort Koarktasyonu	Var	0	12 (%10,3)	0,071
	Yok	31 (%100)	104 (%89,7)	
Asendan aort dilatasyonu	Var	8 (%25,8)	5 (%4,3)	0,001
	Yok	23 (%74,2)	111 (%95,7)	

Birbiri üzerine etkisi olan parametrelerin SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu varlığındaki etkilerini görmek için tek değişkenli lojistik regresyon uygulandı. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan biküspit aortik kapaklı hastalarda AS, AY varlığı, asendan aort dilatasyonu ve BAK açılımı etkisinin incelendiği tek değişkenli lojistik regresyon analizi yapıldı. Yapılan analizde SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda AY varlığının etki büyüklüğünün 9 kat, görülme riskinin 4,073 kat [p=0,002 ve OR 4,073 (%95 CI; 1,68-9,87)], asendan aort dilatasyonunun etki büyüklüğünün 11 kat, görülme riskinin 7,722 kat arttığı [p=0,001 ve OR 7,72 (%95 CI; 2,31-25,74)], BAK sol-sağ açılımlı olmasının etki

büyükliğünün 2,883, görülme riskinin 2,018 kat arttığı saptandı [p=0,089 ve OR 2,018 (%95 CI; 0,897-4,538)], (Tablo 29).

Tablo 29. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda AS, AY, asendan aort dilatasyonu ve BAK açılımı etkisinin incelendiği tek değişkenli lojistik regresyon analizi

Risk Faktörü	<i>p</i>	O.R	Wald	Güven Aralığı	
AS Varlığı	0,017	0,361	5,688	0,156	0,834
AY Varlığı	0,002	4,073	9,667	1,680	9,871
Asendan Aort Dilatasyonu	0,001	7,722	11,068	2,316	25,745
BAK Açılımı (Sol-sağ)	0,089	2,018	2,883	0,897	4,538

O.R: Odds ratio, Wald: Etki büyüklüğü

4.8.2. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu

BAK grubunda SMAD-6 geninde rs1208514129 gen bölgesinde 39 (%26,5) hastada heterozigot mutasyon saptanırken; kontrol grubunda bu gen bölgesinde herhangi bir hastada mutasyona rastlanmadı. Bu mutasyona sahip olmanın BAK hastalığı riskini 1,83 kat artırdığı saptandı (p=0,0001 ve OR 1,83 (%95 CI; 1,61-2,1), (Tablo 30).

Tablo 30. BAK ve kontrol grubunda SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu

	BAK Grubu (n:147)	Kontrol Grubu (n:90)	<i>p</i>	OR (%95 CI)
rs1208514129 Mutant	39 (%26,5)	0	0,0001	1,83 (1,61-2,1)
rs1208514129 Normal	108 (%73,5)	90 (%100)		

BAK grubunda SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonuna sahip olan 39 hastanın verileri incelendiğinde; 31'i (%79,5) erkek; 8'i (%20,5) kızdı. BAK hastalarının yaş ortalaması 8,2±4,7 (1-17) yıl, vücut ağırlığı 28,9±16,8 (5-65) kg, boy 135,8±20 (99-167) cm, vücut kitle indeksi 18,8±4,7 (12,6-26,4) kg/m², kalp hızı

98,4±20,5 (64-150) atım/dk, sistolik kan basıncı 105,8±13,3 (80-148) mmHg, diyastolik kan basıncı 62,6±16,7 (42-86) mmHg saptandı. Gruplar arasında yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, boy, VKİ, kalp hızı, sistolik ve diyastolik kan basıncı arasında istatistiksel farklılık yoktu (p>0,05), (Tablo 31).

Tablo 31. BAK grubunda SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastaların demografik verileri

	rs1208514129 Mutant (n:39)	rs1208514129 Normal (n:108)
Cinsiyet (E/K)	31/8	79/29
Yaş (yıl)	8,2±4,7 (1-17)	9,1±4,8 (0,03-19)
Vücut ağırlığı (kg)	28,9±16,8 (5-65)	33,9±18,9 (3,6-100)
Boy (cm)	135,8±20 (99-167)	131,9±27,8 (50-178)
VKİ (kg/m²)	18,8±4,7 (12,6-26,4)	18,1±4 (12,4-31,5)
Kalp hızı (atım/dk)	98,4±20,5 (64-150)	95,4±21,6 (60-172)
Sistolik KB (mmHg)	105,8±13,3 (80-148)	104,9±11,2 (70-135)
Diyastolik KB (mmHg)	62,6±16,7 (42-86)	59,1±19,9 (42-91)

E: Erkek, K: Kız, VKİ: Vücut kitle indeksi, KB: Kan basıncı

p>0,05

SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonu olan hastaların BAK açılımları incelendiğinde; 21 (%53,8)'inin sup-inf açılımlı, 18 (%46,2)'inin ise sol-sağ açılımlı oldukları görüldü. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olmayan hastaların 57'si (%52,8) sup-inf açılımlı, 51 (%47,2)'i ise sol-sağ açılımlıydı. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan 9 (%30) hastada raphe saptanırken, 21 (%70)'inde ise raphe saptanmadı. SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonuna sahip olmayan hastaların 51 (%61,4)'inde raphe görülürken; 32 (%38,6)'sinde ise raphe gözlenmedi. SMAD-6 geninde rs1208514129 gen mutasyonu olanlarda daha az oranda raphe varlığı saptandı (p=0,003). SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu görülen biküspit aortik kapakların 19'unda (%48,7) doming mevcutken; rs1208514129 mutasyonu görülmeyen hastaların 42'sinde (%38,9) doming vardı. SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalar arasında biküspit aortik kapak açılım şekli, kapakta doming varlığı açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmadı (p>0,05), (Tablo 32).

SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu ile aort kapak fonksiyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; rs1208514129 mutasyonu olan toplam 39 hastanın 14'ünde (%36) kapak fonksiyonu normalken, 9'unda (%23) kombine kapak fonksiyon bozukluğu (AS ve AY), 10'unda (%26) izole AS, 6'sında (%15) izole AY vardı. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olmayan 108 hastanın 30'unda (%28) kapak fonksiyonu normaldi. İzole AS 22 hastada (%20) görülürken, izole AY 26 hastada (%24) izlendi. Kombine kapak fonksiyon bozukluğu ise (AS ve AY) 30 hastada (%28) saptandı. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalar arasında aort kapak fonksiyon bozukluğu açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p>0,05$), (Tablo-33).

Tablo 32. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda BAK açılımı, raphe ve doming durumu

		rs1208514129	rs1208514129	
		Mutant	Normal	p
		(n:39)	(n:108)	
BAK	Sup-inf	21 (%53,8)	57 (%52,8)	0,909
	Açılımı Sol-sağ	18 (%46,2)	51 (%47,2)	
Raphe	Var	9 (%30)	51 (%56,3)	0,003
	Yok	21 (%70)	32 (%38,6)	
Doming	Var	19 (%31,1)	42 (%38,9)	0,286
	Yok	20 (%51,3)	66 (%61,1)	

Tablo 33. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda aort kapak fonksiyonu

	rs1208514129 Mutant (n:39)	rs1208514129 Normal (n:108)	<i>p</i>
AS veya AY yok	14 (%36)	30 (%28)	
İzole AS	10 (%26)	22 (%20)	>0,05
İzole AY	6 (%15)	26 (%24)	
AS+ AY var	9 (%23)	30 (%28)	

SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonu olan 39 hastanın toplam 19'suna (%49) AS eşlik etmekteyken; 20'sinde (%51) AS yoktu. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu saptanmayan 108 hastanın ise; 52'sinde (%48) AS saptanırken, 56'sında (%52) AS saptanmadı. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu varlığında AS görülmesi arasında istatistiksel olarak farklılık gözlenmedi ($p>0,05$), (Tablo 34).

Tablo 34. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda AS

Aort Stenozu	rs1208514129 Mutant (n:39)	rs1208514129 Normal (n:108)	<i>p</i>
Var	19 (%49)	52 (%48)	>0,05
Yok	20 (%51)	56 (%52)	

SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu ve AS'si olan 19 hasta AS ağırlığı açısından incelendiğinde; rs1208514129 mutasyonu olan hastaların 14'ünde (%74) hafif AS, 5'inde (%26) orta-ağır AS vardı. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonuna sahip olmayan toplam 52 hastada AS vardı. Bunların 40'ında (%77) hafif AS, 12'sinde (%23) ise orta-ağır AS saptandı. SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda aort stenozu ağırlığı açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p>0,05$), (Tablo 35).

Tablo 35. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda AS ağırlığı

	rs1208514129 Mutant (n:19)	rs1208514129 Normal (n:52)	<i>p</i>
Hafif AS	14 (%74)	40 (%77)	>0,05
Orta-ağır AS	5 (%26)	12 (%23)	

SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonu olan 39 hastanın toplam 15'ine (%39) AY eşlik etmekteken; 24'ünde (%61) AY yoktu. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olmayan toplam 108 hastanın 56'sında (%52) AY saptanırken, 52'sinde (%48) AY görülmedi. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda AY varlığı açısından istatistiksel olarak farklılık yoktu ($p>0,05$), (Tablo-36).

Tablo 36. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda AY

Aort Yetmezliği	rs1208514129 Mutant (n:39)	rs1208514129 Normal (n:108)	<i>p</i>
Var	15 (%39)	56 (%52)	>0,05
Yok	24 (%61)	52 (%48)	

SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonu ve AY'si olan toplam 15 hastanın AY ağırlığı arasındaki ilişkiye bakıldığında; 8'inde (%53) hafif AY, 7'sinde (%47) orta-ağır AY görüldü. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olmayan toplam 56 hastada AY vardı. Bu hastaların ise 42'sinde (%75) hafif AY, 14'ünde (%25) orta-ağır AY saptandı. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalar arasında AY ağırlığı açısından gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmadı ($p>0,05$), (Tablo 37).

Tablo 37. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda AY ağırlığı

	rs1208514129 Mutant (n:39)	rs1208514129 Normal (n:108)	p
Hafif AY	8 (%53)	42 (%75)	>0,05
Orta-ağır AY	7 (%47)	14 (%25)	

SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonuna sahip hastaların 12'sinde (%31) aort koarktasyonu görülürken; 27'sinde (%69) aort koarktasyonu yoktu. SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonu saptanmayan toplam 108 hastanın hiçbirinde aort koarktasyonu izlenmedi. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonuna sahip olmanın aort koarktasyonu görülme sıklığını 5 kat artırdığı saptandı [p=0,0001 ve OR 5,0 (%95 CI; 3,568-7,006)]. SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonu olan hastaların 3'ünde (%8) asendan aort dilatasyonu görülürken; 36'sında (%92) asendan aort dilatasyonu saptanmadı. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu görülmeyen biküspit aortik kapaklı hastaların 10'unda (%9) asendan aort dilatasyonu bulunurken; 98'inde (%91) saptanmadı. SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalar arasında asendan aort dilatasyonu görülme sıklığı açısından istatistiksel farklılık saptanmadı (p>0,05) (Tablo 38).

Tablo 38. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalarda aort koarktasyonu ve asendan aort dilatasyonu

		rs1208514129 Mutant (n:39)	rs1208514129 Normal (n:108)	p
Aort Koarktasyonu	Var	12 (%31)	0	0,0001
	Yok	27 (%69)	108 (%100)	
Asendan Aort Dilatasyonu	Var	3 (%8)	10 (%9)	1,0
	Yok	36 (%92)	98 (%91)	

Birbiri üzerine etkisi olan parametrelerin SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu varlığındaki etkilerini görmek için tek değişkenli lojistik regresyon uygulandı. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan biküspit aortik kapaklı hastalarda AS, AY varlığı, asendan aort dilatasyonu ve BAK açılımı etkisinin incelendiği tek değişkenli lojistik regresyon analizi uygulandığında klinik olarak uyumlu bir model bulunmadı (Tablo 39).

Tablo 39. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan hastalarda AS, AY, asendan aort dilatasyonu ve BAK açılımı etkisinin incelendiği tek değişkenli lojistik regresyon analizi

Risk Faktörü	<i>p</i>	O.R	Wald	Güven Aralığı	
AS Varlığı	0,951	0,977	0,004	0,470	2,034
AY Varlığı	0,154	0,580	2,036	0,275	1,225
Asendan Aort Dilatasyonu	0,768	0,817	0,087	0,213	3,136
BAK Açılımı (Sup-inf)	0,873	0,942	0,026	0,453	1,960

O.R: Odds ratio, Wald: Etki büyüklüğü

5. TARTIŞMA

Biküspit aort kapağı, üç aort kapak yaprakçığında ikisinin yapışıklığı ile ortaya çıkan en yaygın aort kapak anomalisidir. BAK insidansının genel popülasyonda %0,5-2 olduğu bildirilmiştir (1,2). Tutar ve arkadaşları tarafından ülkemizde yenidoğanlarda yapılan bir tarama çalışmasında biküspit aortik kapak prevalansı 1000 canlı doğumda 4,6; cinsiyete göre sıklık ise erkeklerde 7,1:1000, kızlarda 1,9:1000 olarak bulunmuştur (27). Biküspit aortik kapağın görülme sıklığı, erkeklerde kadınlara göre üç kat fazladır (1,2). Çalışmamızda da literatüre benzer şekilde E/K oranı 2,97 olarak saptandı. Mahle ve arkadaşları 981 izole BAK'lı çocukta yaptıkları çalışmalarında, tanı anındaki yaş ortalamasını 8,3 yıl olarak tespit etmişlerdir (127). Ülkemizden yapılan, BAK ve diğer sol taraf anomalili çocukların retrospektif incelendiği bir çalışmada ortalama tanı yaşı 8,7 yıl olarak bulunmuştur (128). Çalışmamızda da hastalarımızın ortalama yaşı diğer çalışmalarla benzer olarak 8,7 yıldır.

BAK'a eşlik eden doğumsal kalp hastalıklarına bakıldığında; en sık VSD ile BAK birlikteliği saptanmış, BAK'lı yetişkinlerde yaklaşık %30 oranında VSD görülmüştür (70). Sol-sağ şanlı doğumsal kalp hastalığı olan 1100 hastada yapılan bir çalışmada VSD'li hastaların %3,8'ine, ASD veya PDA'lı hastaların %2'sine biküspit aort kapağın eşlik ettiği bildirilmiştir (129). Bizim çalışmamızda ise BAK'lı hastalarımıza eşlik eden doğumsal kalp hastalığı sıklığı %15 idi. En sık eşlik eden doğumsal kalp hastalığı ASD (%10,9) iken; PDA %2,7, VSD ise %0,7 oranında görülmekteydi.

Biküspit aortik kapak asemptomatik seyredebileceği gibi; kapak fonksiyonlarında bozukluk, asendan aort dilatasyonu, aort koarktasyonu, torasik aort anevrizması, aort diseksiyonu, enfektif endokardit de eşlik edebilir. Normal aort kapağında yetişkin dönemde gelişebilen kalsifikasyonların ise, biküspit aortik kapakta daha erken yaşlarda gelişmeye başladığı bildirilmiştir (21). Biküspit aort kapaklarında kardiyak siklus sırasında anormal yaprak hareketi ve türbülans vardır, bu durum erken dejenerasyonda rol oynayabilir (3). BAK'a eşlik eden bu anomaliler nedeniyle çocukluk çağında tanı koyulan hastaların izlemi oldukça önem arz etmektedir.

Biküspit aortik kapakta fonksiyon bozukluğu; aort stenozu, aort yetmezliği ya da her ikisinin birlikte görülmesiyle karşımıza çıkabilmektedir. Stefek ve arkadaşları,

izole biküspit aort kapağı olan 58 çocukta kardiyak fonksiyonları, sol ventriküler yüklenme bulguları ve aort hemodinamisini manyetik rezonans görüntüleme ile değerlendirmişlerdir. Hastaları, kapak fonksiyonu normal olan (aort stenozu ve aort yetmezliği olmayan), izole aort stenozu olan, kombine kapak disfonksiyonu (aort stenozu ve aort yetmezliği birlikteliği) olan ve geçirilmiş valvotomi-valvuloplasti öyküsüne sahip olanlar olmak üzere dört gruba ayırmışlardır. İzole aort stenozu olan hastalarda yaş ortalaması 14,5 yıl bulunurken; kombine kapak disfonksiyonu olan hastalarda 17,1 yıl bulunmuştur (130). Çalışmamızda da hastalarımızı, kapak fonksiyonuna göre; kapak fonksiyonu normal olan, kombine kapak disfonksiyonu olan, izole aort yetmezliği ve izole aort stenozu bulunanlar olmak üzere dört grupta inceledik. İzole aort yetmezliği ile kombine kapak disfonksiyonu olan gruplardaki hastalar, diğer gruplara göre daha büyük yaşta idi. Bu durum, kapak disfonksiyonunun izlemde ve ilerleyen yaşlarda ortaya çıkmasına bağlı olabilir.

Aort yetmezliğinin biküspit aortik kapaklı hastalarda %47-68,8 arasında görüldüğü bildirilmiştir (72,127,131,132). Mahle ve arkadaşları; 981 izole biküspit aort kapaklı çocukta biküspit aort kapağın klinik seyrini izlemişler, ciddi ve müdahale gerektiren aort stenozu ile koarktasyonu olan hastaları çalışmalarına dahil etmemişlerdir. Aort yetmezliğini %53 oranında saptamışlar; ağırlığına göre ise %46'sının hafif, %6'sının orta şiddette, %1'inin ciddi aort yetmezliğine sahip olduğunu bildirmişlerdir (127). Michelena ve arkadaşları her yaştan asemptomatik, minimal disfonksiyona sahip biküspit aort kapağı olan hastaları değerlendirmişlerdir. Tanı anında hastaların %47'sinde hafif şiddette aort yetmezliği saptarlarken, 20 yıllık izlem sırasında müdahaleye gereksinim duyan derecedeki aort yetmezliğinin az miktarda (%2,8) geliştiğini tespit etmişlerdir (72). Spaziani ve arkadaşları; izole biküspit aort kapaklı asemptomatik, 12 yaş ve altındaki çocuklarda yaptıkları çalışmalarında; aort yetmezliğini %49 oranında saptamışlar ve bu hastaların %44'ünde aort yetmezliğinin hafif, %5'inde ise orta şiddette olduğunu bildirmişlerdir. On beş yıl süren bu çalışmada aort yetmezliğinin %16,2 oranında progresyon gösterdiği bildirilmiştir (131). Kong ve arkadaşları, biküspit aortik kapağı olan Asya ve Avrupa kökenli 1427 hastada kapak morfolojisi, disfonksiyonu ve aortopati ilişkisini incelemişler; aort yetmezliği sıklığını Asya ırkında %72,8, Avrupa ırkında %65,6 ve tüm hastalarda %68,8 olarak bulmuşlardır. Tüm hastaların %32,3'ünde hafif,

%21,6'sında orta, %14,9'unda ciddi aort yetmezliği olduğunu göstermişlerdir. Asya ırkında aort yetmezliği sıklığı daha fazla olsa da; Avrupa ırkında orta-ciddi aort yetmezliğinin anlamlı düzeyde olduğunu bildirmişlerdir (132).

Ülkemizden yapılan çalışmalarda biküspit aortik kapaklı hastalarda aort yetmezliğinin %55,7-72 arasında olduğu bildirilmiştir (128,133,134). Demir ve arkadaşları; biküspit aort kapağı veya diğer sol taraf kardiyovasküler sistem anomalisi olan hasta ve ailelerinde kardiyovasküler anomali sıklığı ve ekokardiyografik özelliklerini incelemek üzere 86 hasta ve 261 yakınını değerlendirmişlerdir. Hastalar biküspit aort kapak, biküspit aort kapağa eşlik eden aort koarktasyonu ve diğer sol taraf anomalileri olarak üç gruba ayrılarak incelenmiştir. İzole biküspit aortik kapak olan 52 hastanın %55,7'sinde aort yetmezliği tespit edilirken; bu hastaların da %50'sinde hafif, %5,7'sinde ise önemli düzeyde aort yetmezliği saptanmıştır (128). Tezol ve arkadaşları ise çalışmalarında; biküspit aortik kapaklı 80 çocuğu iki yıllık retrospektif analizle incelemişlerdir. Bu hastaların %33,7'sinde eser, %20'sinde hafif, %11,2'sinde orta, %2,5'inde ağır olmak üzere toplam %67,5 oranında aort yetmezliği görüldüğü bildirilmiştir (133). Yakar ve arkadaşlarının çalışmalarında da yetişkin hastalarda biküspit aort kapak fenotipleri ve ilişkili patolojiler transözefajiyal ekokardiyografi ile değerlendirilmiştir. Çalışmaya alınan 154 hastada aort yetmezliği sıklığı %72 oranında saptanmış, bu hastaların da %63,6'sının hafif, %8,4'ünün orta-ağır derecede AY'ye sahip olduğu bildirilmiştir (134). Çalışmamızda hastalarımızın %34'ünde hafif, %14'ünde orta-ağır aort yetmezliği olmak üzere toplam %48'inde aort yetmezliği olduğunu gözledik. Hastalarımızın aort yetmezliği sıklığı; Mahle (127), Michelena (72) ve Spaziani (131) ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer; ancak Kong ve arkadaşlarının çalışması (132) ile ülkemizden yapılan diğer çalışmalardan (128,133,134) daha az idi. Hastalarımızdaki aort yetmezliği oranı ise; Tezol ve arkadaşlarının (133) biküspit aort kapaklı çocuklarda yaptıkları çalışmasına benzer bulundu.

Biküspit aortik kapaklı hastalarda aort stenozunun %14-55,7 arasında olduğu bildirilmiştir (130-132). Stefek ve arkadaşları, izole biküspit aort kapağı olan 58 çocukta kardiyak fonksiyonları, sol ventriküler yüklenme bulguları ve aort hemodinamisini manyetik rezonans görüntüleme ile retrospektif olarak incelemişlerdir. Hastaları, izole aort stenozu olan, kombine kapak disfonksiyonu (aort

stenozu ve aort yetmezliği birlikteliği) olan ve geçirilmiş valvotomi-valvuloplasti öyküsüne sahip olanlar ve olmayanlar olmak üzere dört gruba ayırmışlardır. Aort yetmezliğinin değerlendirilmediği bu çalışmada, izole aort stenozu sıklığını %33 oranında bulmuşlar; bunların da %28'inin hafif, %4'ünün orta ve %1'inin ciddi aort stenozu olduğunu bildirmişlerdir (130). Michelena ve arkadaşları; çalışmalarına aldıkları her yaştan asemptomatik, minimal disfonksiyona sahip biküspit aort kapaklı hastaları 20 yıl süre izlemişlerdir. Tanı anında aort stenozu bulunmazken; izlemlerde yeni gelişen ve müdahale gerektiren ciddi aort stenozu sıklığını %12 olarak bulmuşlardır (72). Spaziani ve arkadaşlarının çalışmasındaysa aort stenozu %14 oranında saptanırken; bu hastaların %13'ünde hafif, %1'inde ise orta şiddette aort stenozu bildirilmiş ve izlemlerde hastaların %5'inde aort stenozunun progresyon gösterdiği tespit edilmiştir (131). Kong ve arkadaşlarının aort kapak morfolojisi ve disfonksiyonunun etnik gruplara göre değerlendirildiği çalışmada tüm hastalardaki aort stenozu oranı %55,7 olarak saptanmış; bu hastaların da %17,4'ünde hafif, %17,1'inde orta, %21,2'sinde ciddi düzeyde aort stenozu olduğu bildirilmiştir. Irklara göre bakıldığında; farklılık görülmemiş, Asya ırkında %56, Avrupa ırkında ise %55,6 oranında saptanmıştır (132).

Ülkemizden yapılan çalışmalarda, biküspit aortik kapaklı hastalarda aort stenozunun %33,7-48,1 arasında olduğu görülmektedir (128,133,134). Demir ve arkadaşlarının çalışmasında, biküspit aortik kapaklı hastaların %42,2'sinde aort stenozu saptanmıştır. Hastaların %32,7'sinde aort stenozu hafif-orta şiddetteyken; %9,5'inde önemli düzeyde bulunmuştur (128). Tezol ve arkadaşlarının çalışmasında ise, biküspit aortik kapaklı çocuklarda %17,5 hafif, %12,5 orta ve %3,7 ağır olmak üzere toplam %33,7 oranında aort stenozu tespit edilmiştir (133). Yakar ve arkadaşlarının, biküspit aort kapaklı yetişkinlerde transözefajiyal ekokardiyografiyle yaptıkları çalışmalarında aort stenozu görülme sıklığı %48,1 olarak saptanmış ve hastaların %27,3'ünün hafif, %20,8'inin orta-ağır şiddette olduğu bildirilmiştir (134). Çalışmamızda ise hastalarımızın %48,2'sinde aort stenozu vardı. Bunların %36,6'sı hafif şiddetteyken, %11,6'sı orta-ağır şiddetteydi. Çalışmamızda aort stenozu sıklığı Kong ve arkadaşlarının yaptığı ve geniş bir seriyi içeren çalışmaya göre daha düşük saptandı. Bu durumun, hasta popülasyonumuzun tek toplumu içermesi ve hasta sayımızın bu çalışmaya göre azlığından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızdaki aort stenozu ve şiddetinin sıklığı ise ülkemizden yapılan diğer çalışmalar ile (128,134) benzer düzeylerdeydi.

Biküspit aortik kapaklı hastalarda kombine kapak disfonksiyonu Stefek ve arkadaşlarının çalışmasında (130) %22,4 oranında saptanırken; ülkemizden yapılan Demir ve arkadaşlarının çalışmasında %26,9 oranında bulunmuştur (128). Keane ve arkadaşlarının aort dilatasyonu ile kapak fonksiyonları arasındaki ilişkiyi değerlendirdikleri çalışmasında kombine kapak disfonksiyon oranı %27,1 olarak bildirilmiştir (60). Çalışmamızda da literatüre benzer şekilde hastalarımızın %26,5'inde aort stenozu ve aort yetmezliğinin birlikteliği şeklinde görülen kombine kapak disfonksiyonu vardı.

Literatürde biküspit aort kapaklı hastaların %12,5-22,4'ünde aort kapak fonksiyonlarının normal olduğu bildirilmiştir (60, 130, 132). Kong ve arkadaşları, çalışmalarında etnik farklılık gözetmeksizin hastaların %12,5'inde kapak fonksiyonlarının normal olduğunu bildirmişlerdir (132). Çalışmamızda ise hastalarımızın %30,1'inde aort kapak fonksiyonları normaldi.

Biküspit aortik kapakta; yaprakçıkların yapıştıkları yerler, kapak açılım yönü, raphenin varlığı ve sayısına göre çeşitli tiplendirmeler yapılmıştır (22,38,119). Ekokardiyografi görüntülerini temel alarak, yaprakçık füzyonunun yerine göre yapılan sınıflandırmada biküspit aortik kapağın üç tipi bildirilmiştir (38). Bunların içerisinde en sık görüleni sol ve sağ koroner yaprakçıkların füzyonu ile giden, superior ve inferior kapak açılımının olduğu Tip 1 biküspit aort kapaktır ve %70-80 arasında görüldüğü saptanmıştır. Sağ ve nonkoroner yaprakçıklar arasında füzyonun olduğu ve sol-sağ kapak açılımı ile karakterize Tip 2 biküspit aort kapak sıklığının %20-30 arasında olduğu görülmektedir. Tip 3 biküspit aort kapak ise, en nadir görülen biküspit aortik kapak tipidir ve sıklığı %1 oranında bildirilmiştir; sol ve nonkoroner yaprakçıkların arasında füzyon olup, sol-sağ yönünde kapak açılımı ile karakterizedir (38). Hastalarımızın da %52'sinde Tip 1, %47'sinde ise Tip 2 biküspit aortik kapak mevcuttu. Sadece bir hastamızda ise Tip 3 morfolojide biküspit aortik kapak saptadık.

Biküspit aortik kapak tipleriyle kapak fonksiyonu arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalarda kapak disfonksiyonunun Tip 2 biküspit aortik kapaklı hastalarda daha sık görüldüğü bildirilmiştir (40,53,135). Fernandes ve arkadaşları 1135 biküspit aortik kapaklı çocuk ve genç erişkinleri retrospektif olarak

değerlendirmişler; Tip 2 biküspit aortik kapakta diğer tiplere göre aort kapak disfonksiyonunun iki kat arttığını bulmuşlardır (53). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak, Tip 2 biküspit aortik kapaklı hastalarımızda aort kapak disfonksiyonu daha fazlaydı. Ek olarak bu hastalarda aort yetmezliği şiddetinin de Tip 1 biküspit aortik kapaklı hastalara göre daha ağır olduğunu saptadık. Bulgularımız Tip 2 biküspit aortik kapağı olan çocukların izleminde aort kapak hastalığının yaygın görülebileceğini ve daha ağır seyredebileceğini desteklemektedir. Bu nedenle özellikle Tip 2 BAK morfolojisine sahip olan çocuklar, ileride gelişebilecek kapak disfonksiyonları açısından daha yakın izlenmelidir.

Aort koarktasyonu; asendan aortun hipoplastik bir segmentinden ya da asendan aorttan ayrı bir darlık şeklinde oluşmakta, sıklıkla duktus arteriyozus komşuluğunda görülmektedir (136). Aort koarktasyonunun doğumsal kalp hastalığı olan çocukların yaklaşık %6-8'inde ve erkeklerde kızlara göre daha sık görüldüğü bildirilmiştir (58). Çalışmamızda ise; biküspit aortik kapağa eşlik eden aort koarktasyonu %8,1 ve erkeklerde beş kat daha sıktı. Literatürde aort koarktasyonu olan biküspit aortik kapaklı hastaların sıklıkla Tip 1 morfolojide kapak yapısına sahip olduğu bildirilmiştir (40,136). Çalışmamızda da aort koarktasyonu olan hastalarımızın çoğunda Tip 1 biküspit aortik kapak mevcuttu.

Biküspit aort kapak hastalığında aortik anulus, sinüs valsalva ve asendan aort boyutları sağlıklı popülasyona göre artmış bulunmakla birlikte, biküspit aortik kapağa eşlik edebilen aort dilatasyonunun etyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır (59-60). Aort yetmezliğinin anormal duvar stresi yaratarak aort dilatasyonuna neden olduğu düşünülmektedir (62). Diğer taraftan, biküspit aort kapak hastalarında kapak fonksiyonundan bağımsız olarak da aort dilatasyonu görülme riski artmaktadır (60). Spaziani ve arkadaşları izole biküspit aort kapaklı çocuklarda yaptığı çalışmalarında aort dilatasyonunu; aortik anulus, sinüs valsalva, sinotübüler kavşak ve asendan aort bölgelerindeki ölçümlere göre %15,1 ile 39,1 oranları arasında saptamışlardır (131). Biküspit aortik kapaklı hastalarda aort kapak morfolojisi, disfonksiyonu ve aortopatinin etnik gruplar arasında değerlendirildiği bir çalışmada tüm hastalarda asendan aort dilatasyonu görülme sıklığının %9,7 olduğu gösterilmiştir (132). Biküspit aort kapağı olan Avrupa ve Asya ırkına mensup 1427 hastada yapılan bu çalışmada; asendan aort dilatasyonu oranı Avrupalılarda %8,7 iken, Asya ırkında %10,9 olarak

bildirilmiştir (132). Çalışmamızda, asendan aortta dilatasyon tespit edilen hastalarımız %8,8 oranındaydı. Çalışmamızdaki bu oran, Kong ve arkadaşlarının çalışmalarında bildirilen Asyalılardan daha düşük olmakla birlikte Avrupalılardaki orana benzerdi. Aort dilatasyonunun erkeklerde iki kat fazla görüldüğü bildirilmektedir (60). Çalışmamızda da asendan aort dilatasyonu saptanan hastaların tamamı erkekti.

Fernandes ve arkadaşlarının biküspit aort kapaklı adölesanlarda yaptığı çalışmada biküspit aort kapak morfolojisinin aort dilatasyonunda risk faktörü olabileceği düşünülmüş; aort kökünde dilatasyon olan hastalarda yüksek oranda Tip 1 biküspit aort kapak görülürken, asendan aort dilatasyonunda ise Tip 2 biküspit aortik kapağın daha fazla olduğu saptanmıştır (137). Schaefer ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Tip 2 biküspit aort kapak morfolojisi, asendan aort dilatasyonu ve daha büyük arkus aorta boyutları ile ilişkili bulunmuştur (37). Çalışmamızda da asendan aort dilatasyonu olan hastalarımızda Tip 2 biküspit aortik kapak daha fazlaydı. Keane ve arkadaşları, biküspit aort kapaklı hastalarda aort dilatasyonu ile kapak fonksiyonları arasındaki ilişkiyi araştırmışlar; aort yetmezliği şiddetiyle aort boyutlarının ilişkili olduğunu bulmuşlar ancak, aort stenozunun şiddetiyle bir ilişki saptamamışlardır (60). Bizim çalışmamızda da aort dilatasyonu olan hasta sayımız kısıtlı olmasına rağmen tüm hastalarımızda kapak disfonksiyonu vardı. Kapak disfonksiyonu şekli tüm hastalarda aort stenozu şeklindeyken, %85'inde kombine kapak disfonksiyonu şeklindeydi.

Doğumsal kalp hastalıklarının genetik alt yapısı yıllardır araştırılan ve aydınlatılmaya çalışılan bir konudur. Transkripsiyon faktör genleri (NKX2.5, GATA4, GATA6 ve TBX5), mikro RNA'lar, uzun zincir kodlanmayan RNA'lar, kromozom anomalileri, kopya varyasyonları, sinyal yolları (NOTCH, BMP, TGF- β) gibi genetik farklılığa yol açabilecek durumlar, doğumsal kalp hastalıklarının genetikle olan ilişkisinde incelenmiştir (138). Kalbin gelişim süreci, transkripsiyon faktörleri, kalbe özgü birkaç gen ve sinyal yolları arasında karmaşık etkileşim gerektiren bir süreçtir. Gen mutasyonları ve bazı teratojenler kalbin embriyogenez aşamasına müdahale ederek doğuştan kalp kusurlarına yol açabilir. Kalbin dönüşü, bölmelenmesi ve soldan sağa yerleşimi NKX2.5, GATA, HANDS ve TBX5 genleri tarafından düzenlenmektedir (139). Erken kardiyak gelişim sırasında NKX2.5 ve MHC2A genleri gereklidir. Kardiyak gelişim sırasındaki düzenleme süreci; transkripsiyon

faktör genleri GATA ve TBX5'in, VEGF, FGF ve PDGF gibi büyüme faktörlerinin ve kemik morfogenetik proteinlerin (BMP2, BMP4, BMP5) kontrolü altındadır (139,140). NKX2.5, GATA4, GATA6 ve TBX5 en çok incelenen transkripsiyon faktör genlerindedir. NKX2.5 mutasyonu; VSD, Fallot tetralojisi, büyük arter transpozisyonu, PDA, ASD ve hipoplastik sol kalp sendromu olan hastalarda gösterilmiştir. NKX2.5 mutasyonu ile ilişkili atriyal septal defektlerin (ASD) kardiyak iletim kusurları ile de birlikte olabileceği gösterilmiştir (141). TBX5 mutasyonu ise, üst ekstremité deformiteleri ve kardiyak defektler (Fallot tetralojili ve VSD'li) ile karakterize bir sendrom olan Holt-Oram sendromlu hastalarda bildirilmiştir (142). MEF2C, NKX2.5, GATA4 ve GATA6 mutasyonları; kardiyak çıkış yolu defekti olan hastalarda tanımlanmış, erken kalp gelişimini etkileyen protein fonksiyonları üzerinde önemli etkileri olduğu bildirilmiştir (8).

Biküspit aortik kapak, genel popülasyonda en sık görülen doğumsal valvüler defekt olup; genetik ile ilişkisi gösterilmiş (91,94,138) ve son zamanlarda da yapılan çalışmalarla hız kazanmıştır (5,143). Biküspit aort kapak ailesel olarak görülebileceği gibi, sporadik olarak da görülebilen ve meydana gelişi multigenetik faktörlere bağlı olan bir hastalıktır. Genetiğinde ilk ortaya koyulan gen, KCJN2 genidir (88). Daha sonrasında Garg ve arkadaşları tarafından NOTCH-1 geninin biküspit aortik kapak gelişiminde rol oynadığı tanımlanmıştır (91). Preuss ve arkadaşları da NOTCH sinyal yolağının biküspit aortik kapak ve sol ventrikül çıkış yolu anomalilerinde önemli rol oynadığını göstermiş ve bu yolaktaki önemli protein ve genleri bildirmişlerdir (94). NOTCH-1 sinyal yolağından sonra, zaman içerisinde bu yolak içinde yer alan veya bu yolakla ilişkili işlev yapan MAT2A, TGFBR2, ARHGAP31, MATR3, NKX2.5, MAML1, JARID2, ENG, ACTA2, MYH6, MYH7, FBN1, SMAD6, AXIN1, PDIA2, KCNJ2, SMARCA4, JAG1, GATA5 ve SMAD-6 genlerinin biküspit aortik kapak ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (11,139,140,144-149). Biküspit aortik kapağın genetik temelleri üzerine yapılmış çalışmalar olsa da (5,94,143), ülkemizden BAK ve genetik yatkınlık üzerine yapılmış bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

BMP-2 ve BMP-4 genlerinin embriyolojik dönemde kalp oluşumunda; endokardiyal yastık morfogenezinde ve semilunar kapakların oluşumunda görev aldığı bildirilmiştir (12,15,108). TGF- β yolağının BMP-2 ve BMP-4 tarafından regüle edildiği gösterilmiştir (150). BMP-2 ayrıca SMAD transkripsiyon faktörlerinin

aktivasyonuna yol açan TGF- β reseptörlerine bağlanmaktadır (13). SMAD-6 geninin de MH2 bölgesi BMP sinyal yolağını inhibe etmektedir (9). Özetle her üç genin de TGF- β sinyal yolağı ile etkileşerek endokardiyal yastık gelişimi ve kardiyogenezde rol oynaması nedeniyle (15,16-108,110,150,151) çalışmamızda BMP-2, BMP-4 ve SMAD-6 genlerinin biküspit aort kapak gelişimindeki olası rolünü araştırmak istedik.

BMP-2 geni, 20p12.3 bölgesinde yer alarak üç ekzondan oluşmaktadır. Özellikle NOTCH1 sinyal yolağının etkisinde miyokard hücresinde ekspresyonu düzenlenen ve endokardiyal yastık morfogenezinde rol oynadığı düşünülen genlerden biridir (14-16). BMP-2 geni ağırlıklı olarak kraniyofasyal anomaliler ile ilişkili saptanmıştır (107). BMP-2 gen polimorfizmi ve doğumsal kardiyak defekt ilişkisi literatürde az sayıda çalışmada incelemiş ve farklı sonuçlar bildirilmiştir (144-146). Tan ve arkadaşları kraniyofasyal anomalilerle birlikte kardiyak defektlerin ve aritmilerin eşlik ettiği, BMP-2 geninde frame-shift ve delesyonlar şeklinde mutasyonlara sahip olan on iki kişilik bir olgu serisi bildirmişlerdir. Bu hastalarda Ebstein anomalisi, büyük arterlerin transpozisyonu, ventriküler septal defekt ve pulmoner stenoz gibi doğumsal kalp hastalıklarının yanında Wolff Parkinson White sendromu, paroksizmal supraventriküler taşikardi ve spesifik olmayan çarpıntı şeklinde kardiyak aritmiler saptanmıştır (144). Hint popülasyonunda yapılan bir çalışmada, BMP2 geni NM_001200.2 varyantının doğumsal kalp defektleriyle ilişkili olabileceği saptanmış ve PDA'lı bir olguda (K241X) varyantı gösterilmiştir (145). Li ve arkadaşları tarafından Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada ise, BMP-2 geni rs1049007, rs235768 ve rs17563 gen polimorfizmlerinin doğumsal kalp hastalıklarıyla ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir (146). Biz de çalışmamızda BMP-2 geninde rs235768 ve rs15705 gen bölgelerini çalıştık, herhangi bir polimorfizme rastlamadık.

NOTCH sinyal yolağı tarafından BMP-2 ekspresyonunun artırılmasının kapak kalsifikasyonu ve vasküler kalsifikasyonda etkili olduğu gösterilmiştir (14). Biküspit aortik kapak hastalığı erken yaşta kapak kalsifikasyonuna eğilimle giden bir hastalıktır (43). Bununla birlikte literatürde BMP-2 geni ve biküspit aortik kapak da dahil olmak üzere diğer doğumsal valvuler kalp hastalıkları ile ilgili bir çalışmaya rastlamadık. Bu açıdan çalışmamız yol gösterici olabilir.

BMP-4 geni de BMP-2 genine benzer şekilde orofasyal anomalilerle ilişkili olduğu bilinen bir genidir. BMP-4; 14q22.2 bölgesinde yer alır, beş ekzondan oluşur.

Kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde etkin rol oynayabileceği; embriyolojik dönemde ön kalp oluşumunda, endokardiyal yastık remodelingi, çıkış yolu septasyonu ve semilunar kapak gelişimi için gerekli olduğu bildirilmiştir (12,108,109). Yetişkin kalpte anormal BMP sinyalinde kalsifik aort kapak hastalıkları gelişimi gösterilmiştir (12,108). Hint popülasyonunda doğumsal kalp hastalıklarında BMP-2,4,7 genlerindeki mutasyonların belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada; BMP4 geni (NM_001202.3) varyantı saptanmıştır (145). Çin popülasyonunda atriyal ve ventriküler septal defektli 575 çocukta yapılan bir çalışmada, BMP-4 geni rs762642 varyantı bulunmuştur. BMP-4 geni rs762642 varyantının sporadik doğumsal kalp hastalığına yatkınlık oluşturabileceği ve bu tek gen polimorfizminin ASD ve VSD görülme riskini arttırabileceği bildirilmiştir (147). Yine Çin popülasyonunda yapılan başka bir çalışmada, 22q11.2 bölgesi ve GATA4, NKX2- 5, TBX5, BMP-4 ve CRELD1 genlerinin doğumsal kalp hastalıkları (VSD, ASD, PDA ve Fallot Tetralojisi) ile ilişkisi incelenmiş ve bu genlerde mutasyon saptanmamıştır. Sporadik VSD, ASD ve Fallot Tetralojisi olan hastaların 22q11.2 bölgesinde delesyon, PDA'lı bir hastada ise aynı gen bölgesinde duplikasyon olduğu bildirilmiştir (148). Ülkemizden doğumsal kalp hastalıklarının BMP-4 geni ile ilişkisini araştırmaya yönelik iki çalışma yapılmıştır (79,152). Akpınar ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptığı çalışmada, doğumsal kalp hastalıklarında GATA4, NKX2.5, TBX5, CRELD1 ve BMP4 gen bölgeleri “*Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA)*” yöntemiyle değerlendirilmiş ve 255 doğumsal kalp hastalığının 20'sinde toplam 24 mutasyon (GATA4, TBX5, BMP4, MSR1, CDC45), beş hastada BMP4 geninde mutasyon, VSD tanılı iki kardeşte GATA4 geninde mutasyon varlığı saptanmıştır (79). Mutlu ve arkadaşları da aynı yöntemi kullanarak 2018 yılında doğumsal kalp hastalıklarında aynı gen bölgelerini 45 hastada araştırmışlar, üç hastada tek nükleotit varyantı göstermişlerdir (152). Biz çalışmamızda MLPA gen taraması yöntemiyle değil, daha spesifik bir yöntem olan Sanger dizi analiziyle BMP-2 ve BMP-4 gen ekzonlarını taradık. BMP-2 geninde rs235768 ve rs15705 gen bölgelerini, BMP-4 geninde ise dört ve beşinci ekzonları çalıştık. Çalışılan ekzonlar ve gen bölgelerinde herhangi bir mutasyona rastlamadık.

SMAD6 geni; 15. kromozomda (15q22.31) yer alan, dört ekzonu bulunan bir gendir. Embriyolojik dönemde ventrikül çıkış yollarında ve kalp kapakçıklarının

oluşumunda görevlidir. Aynı zamanda vasküler endotelde ve aort düz kas hücrelerinin yapısında görev aldığı bildirilmiştir. Endokardiyal yastık dönüşümünün düzenlenmesinde işlevi bulunan SMAD-6 geninin kapakçıkların hiperplazisi ve çıkış yolu septasyon kusurları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (9-11,111,112). SMAD-6 gen defekti yaratılan farelerde kalp kapak kalınlaşması, aort kalsifikasyonu ve çoklu kardiyovasküler anomaliler görülmüştür (112). Ek olarak, SMAD-6 gen mutasyonunun biküspit aortik kapakta gelişen torasik aort anevrizmasıyla da ilişkili olduğu bildirilmiştir (10,11,111). Tan ve arkadaşları; 2012 yılında, kardiyovasküler hastalıkları olan bir grupta, BMPR1A, BMPR2 ve SMAD6 genlerini çalışmışlardır. Bu çalışma kardiyovasküler hastalıklarla SMAD-6 gen ilişkisini inceleyen, insanda yapılmış ilk çalışma olması açısından önemlidir. Bu çalışmada aort stenozu, aort koarktasyonu ve arkus aortada kalsifikasyonun eşlik ettiği, sporadik biküspit aortik kapaklı iki hastada SMAD-6 geninde (p.C484F ve p.P415L) mutasyonları tanımlanmıştır (111). Sonrasında 2019 yılında Luyckx ve arkadaşları 473 sendromik olmayan torasik aort anevrizmalı hastayı taramışlar ve anevrizmaya eşlik eden biküspit aort kapağı olan hastaların hepsinde SMAD6 patojenik varyantları olduğunu bildirmişlerdir (120). Park ve arkadaşları ise 2019 yılında yaptıkları çalışmalarında; biküspit aortik kapak ile ilişkili olabilecek 20 gen taramışlar ve aort kapağında ciddi kalsifikasyonu, torasik aort anevrizması ve asendan aort dilatasyonu olan, biküspit aortik kapaklı bir hastada SMAD-6 geninde yeni bir (c.1168_1173dup;p.Gly390_Ile391dup) mutasyon bulmuşlardır (11). Gillis ve arkadaşları ise 441 biküspit aortik kapak veya torasik aort anevrizması olan hastada biküspit aortik kapak ile ilişkili olduğu düşünülen 22 geni taramışlar ve biküspit aortik kapaklı 11 hastada SMAD-6 gen varyantı saptayarak SMAD-6 geninin, biküspit aort kapak ve torasik aort anevrizması birlikteliğinde bilinen en önemli gen olabileceğini tanımlamışlardır. Ayrıca bu çalışmada SMAD-6 mutasyonunun BAK ve torasik aort anevrizmasına ek olarak; aort koarktasyonu, aort stenozu, aort yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklar ile de ilişkili olabileceği vurgulanmıştır (149). Çalışmamızda, biküspit aortik kapaklı hastalarımızda SMAD-6 genine ait iki ayrı gen bölgesinde, iki yeni mutasyon (rs1555440093 ve rs1208514129) varlığını tanımladık.

SMAD-6 geni rs1555440093 gen bölgesinde; biküspit aort kapaklı hastalarımızın %21,1'inde heterozigot mutasyon saptadık. Kontrol grubuna aldığımız

triküspit kapaklı hastalarımızın ise hiçbirinde bu mutasyon bulunmuyordu. Bu mutasyona sahip olmanın biküspit aortik kapak hastalığı riskini 1,77 kat arttırdığını tespit ettik. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan hastaların çoğunda istatistiksel olarak farklılık olmasa da, sol-sağ kapak açılımı mevcuttu. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan çocuklarda %55'inde kombine kapak disfonksiyonu, %68'inde aort stenozu, %74'ünde aort yetmezliği vardı. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda kapak disfonksiyonu, mutasyon olmayan çocuklara göre anlamlı olarak daha fazlaydı. Ayrıca bu mutasyona sahip olan hastalarda kapak fonksiyon bozukluğunun şiddeti daha ağırdı. SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan hastaların hiçbirinde aort koarktasyonu saptanmamıştı, ancak asendan aort dilatasyonu sıklığı mutasyon olmayan hastalara göre daha fazlaydı.

SMAD-6 geni rs1208514129 gen bölgesinde ise biküspit aortik kapaklı hastalarımızda %26,5 oranında heterozigot mutasyon saptadık. Kontrol grubuna aldığımız triküspit kapaklı hastaların ise hiçbirinde bu mutasyonu saptamadık. Bu mutasyona sahip olmanın biküspit aortik kapak hastalığı riskini 1,83 kat arttırdığını tespit ettik. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan hastaların çoğunda istatistiksel olarak farklılık olmasa da superior-inferior kapak açılımı mevcuttu. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonunun aksine rs1208514129 mutasyonu kapak disfonksiyonu varlığı ve kapak disfonksiyonunun şiddeti ile ilişkili değildi. Ancak, biküspit aort kapağa eşlik eden aort koarktasyonu olan toplam 12 hastanın tamamında SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu varlığını saptadık. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonuna sahip olmanın biküspit aortik kapağa eşlik eden aort koarktasyonu görülme sıklığını beş kat artırdığını tespit ettik. Literatürde SMAD-6 gen mutasyonu ile torasik aort anevrizması arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (10,143,144). Çalışmamızda SMAD-6 gen rs1208514129 mutasyonu ile asendan aort dilatasyonu arasında ilişki saptamadık. Bu durumun hastalarımızın yaşlarının küçük olmasına ve ilerleyen yaşlarda görülme sıklığı artan asendan aort dilatasyonlu hastalarımızın sayısının azlığına bağlı olabileceğini düşünüyoruz. Bu nedenle SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu saptanan biküspit aort kapaklı hastalarımızın izlemlerinde asendan aort dilatasyonu ve anevrizma açısından daha yakın takip edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, biküspit aort kapaklı Türk çocuklarında BMP-2, BMP-4 ve SMAD-6 gen bölgelerini değerlendirdiğimiz çalışmamızda; BMP-2 geninde rs235768 ve rs15705 ekzon bölgelerini, BMP-4 geninde dört ve beşinci ekzonları değerlendirdik. Biküspit aort kapaklı çocuklarda BMP-2 ve BMP-4 gen bölgelerinin hiçbirinde mutasyon yoktu. SMAD-6 geninde ise, biküspit aort kapak hastalığı ile ilişkili olarak iki yeni mutasyon (rs1555440093 ve rs1208514129) varlığını tespit ettik. Mutasyon oranımız %1'in üzerinde olduğu için, çalışmamızda biküspit aort kapak hastalığı olan Türk çocuklarında SMAD-6 geni rs1555440093 ve rs1208514129 polimorfizmlerini saptadık. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonunun daha çok kapak disfonksiyonu ve asendan aort dilatasyonu ile; rs1208514129 mutasyonunun ise, aort koarktasyonu ile ilişkili olduğunu bulduk.

Sonuçlarımız SMAD-6 geninde ilk kez gösterilen rs1555440093 ve rs1208514129 mutasyonlarının biküspit aortik kapak patogeneğinde rolü olabileceğini ve ailesel biküspit aortik kapak hastalığının tanısında kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ek olarak biküspit aortik kapağa eşlik edebilecek kapak disfonksiyonlarının SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu varlığında, aort koarktasyonunun ise rs1208514129 mutasyonu varlığında daha sık görülmesi; hastalığın seyri sırasında ilerleyen dönemlerde gelişebilecek komplikasyonların erken tanısı ve hastalığın progresinin öngörülmesi imkanını sağlayabilecektir. Ancak bu konuda daha geniş serilerde yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

Biküspit aort kapak hastalığı olan Türk çocuklarında BMP-2, BMP-4 ve SMAD-6 gen polimorfizmlerinin belirlendiği çalışmamızda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Çalışmaya alınan toplam 147 BAK'lı hastanın 110'u erkek (%74,8), 37'si kız (%25,2); kontrol grubunun ise 67'si erkek (%74,4), 23'ü kız (%25,6) idi. Ortalama yaş; BAK grubunda $8,7 \pm 4,89$ (0,3-18) yıl, kontrol grubunda $9 \pm 4,79$ (0,3-18) yıl idi. Çalışma ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak farklılık yoktu ($p > 0,05$).
- Biküspit aortik kapaklı 147 hastamız kapak açılım şekline göre; superior-inferior ve sol-sağ açılımlı olmak üzere 2 gruba ayrılarak değerlendirildi. Tip 1 BAK hastaları (n:77) superior-inferior kapak açılımına sahipken (grup 1), Tip 2 BAK (n:69) ve Tip 3 BAK hastaları (n:1) sol-sağ açılıma sahipti (grup 2). Gruplar arasında yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, kalp hızı, sistolik ve diyastolik kan basıncı açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).
- Raphe; toplam 61 hastada (%41,5), kapak açılımı sırasında doming de 61 (%41,5) hastada mevcuttu.
- Çalışmaya alınan 147 BAK'lı hastamızda; 22 hastada (%15) BAK'a ek olarak başka bir doğumsal kalp hastalığı saptandı. Hastaların 16'sında (%10,9) sekundum ASD, 4'ünde (%2,7) PDA, 1'inde (%0,7) muskuler VSD ve 1'inde (%0,7) de küçük koroner arteriyovenöz fistül vardı.
- Aort kapak fonksiyonu açısından hastalar; kapak fonksiyonu normal olan, izole AS olan, izole AY olan ve AS ile AY'nin birlikte olduğu hastalar olarak 4 gruba ayrılarak değerlendirildi.
- Aort kapak fonksiyonu açısından hastalar; kapak fonksiyonu normal olan, izole AS olan, izole AY olan ve AS ile AY'nin birlikte olduğu hastalar olarak 4 gruba ayrılarak değerlendirildi. İzole AS grubundaki toplam 32 hastanın 23'ü erkek (%71,9), 9'u kız (%28,1), yaşları ortalama $5,9 \pm 4,5$ yıl; İzole AY grubundaki toplam 32 hastanın 24'ü erkek (%75), 8'i kız (%25) ve yaşları ortalama $10,3 \pm 4,7$ yıl idi. AS ve AY'nin birlikte bulunduğu toplam 39 hastanın ise; 29'u erkek (%74), 10'u (%26) kız ve yaşları ortalama $10,6 \pm 4,2$ yıl iken; kapak fonksiyonu normal olan 44 hastanın ise 34'ü (%77) erkek, 10'u (%23)

kız ve yaş ortalaması $7,7\pm 4,7$ yıl olarak saptandı. Dört grup arasında cinsiyet, açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmazken ($p>0,05$); yaş açısından istatistiksel olarak farklılık saptandı ($p<0,05$). Gruplarda ikili incelemelere bakıldığında; izole AS grubunda yaş, izole AY ve AS+AY grubuna göre belirgin küçüktü.

- Aort stenozu olan toplam 71 hastanın (%48,2), (32 izole AS, 39 AS ve AY birlikteliği şeklinde) aort stenozunun ağırlığı açısından değerlendirilmesinde; 54'ünde (%76) hafif AS, 17'sinde (%24) orta-ağır AS saptandı. Aort yetmezliği bulunan toplam 71 hastanın (%48,2), (32 izole AY, 39 AS ve AY birlikteliği şeklinde) aort yetmezliğinin şiddeti açısından değerlendirilmesinde ise, 50'sinde (%70,4) hafif AY, 21'inde (%29,6) orta-ağır AY olduğu görüldü.
- Biküspit aortik kapağa eşlik eden aort stenozu olan 71 hastanın 24'ünde (%33,8) kapak açılımı sup-inf yönde (Tip 1), 47'sinde (%66,2) sol-sağ (Tip 2) yöndeydi ($p=0,0001$). Sol-sağ kapak açılımı olanlarda AS daha ağır olmakla birlikte, farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,145$).
- Biküspit aortik kapağa eşlik eden aort yetmezliği olan 71 hastanın 28'inde (%39) kapak açılımı sup-inf yönündeyken, 43'ünde (%61) sol-sağ yöndeydi. Aort yetmezliğinin sol-sağ kapak açılımı olan hastalarda daha fazla olduğu görüldü ($p=0,002$). Ayrıca, sol-sağ kapak açılımlı hastalarda aort yetmezliği daha ağırdı ($p=0,002$).
- Biküspit aortik kapaklı hastalardan 12'sine (%8,2) aort koarktasyonu eşlik ediyordu. Hastaların 10'u erkek, 2'si kızdı. Hastalar biküspit aort kapak açılımları açısından incelendiğinde; 9 hastada (%75) sup-inf açılımı, 3 hastada (%25) sol-sağ açılım saptandı. Aort koarktasyonu olan hastalarda superior-inferior kapak açılım şekli daha fazlaydı.
- Asendan aort dilatasyonu 13 (%8,8) hastada mevcuttu. Asendan aort dilatasyonu olan hastaların tamamı (%100) erkekti. Yaş ortalaması $12,4\pm 3$ (8-18) yıl saptandı. Kapak açılım şekline bakıldığında; 2 (%15,4) hastada sup-inf, 11 (%84,6) hastada sol-sağ açılım gözlemlendi. Asendan aort dilatasyonu olan biküspit aort kapaklı hastalarda sol-sağ açılım daha fazlaydı.
- Asendan aort dilatasyonuna eşlik eden AS ve AY varlığına bakıldığında; 13 hastanın tamamında kapak disfonksiyonu olduğu görüldü ($p=0,002$). On üç

hastanın hepsinde (%100) aort stenozu bulunmaktaydı. AS iki hastada (%15) izoleyken, 11 hastada (%85) AY ile birlikteydi. Kombine kapak disfonksiyonu olan hastalarda asendan aort dilatasyonu görülme sıklığı fazlaydı (p=0,014).

- **BMP-2 geninde rs235768 ve rs15705 ekzon bölgeleri, BMP-4 geninde dört ve beşinci ekzonlar çalışıldı. Biküspit aort kapaklı çocuklarda bakılan BMP-2 ve BMP-4 gen bölgelerinin hiçbirinde mutasyon saptanmadı.**
- **Biküspit aortik kapaklı çocuklarda SMAD6 geninde iki ayrı gen bölgesinde (rs1555440093 ve rs1208514129) mutasyon saptandı.**

SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu sonuçları:

- SMAD-6 geni rs1555440093 gen bölgesinde; biküspit aort kapak grubunda 31 (%21,1) hastada heterozigot mutasyon saptanırken, kontrol grubunda mutasyon yoktu. Bu mutasyona sahip olmanın biküspit aortik kapak hastalığı riskini 1,77 kat artırdığı görüldü [p=0,0001 ve OR 1,77 (%95 CI; 1,57-2)].
- SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan 31 hastanın kapak açılımları incelendiğinde; 12 hastada (%38,7) sup-inf açılım, 19 hastada (%61,3) ise sol-sağ açılım vardı. SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan ve olmayan hastalar arasında kapak açılım şekli açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmadı (p>0,05).
- SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan toplam 31 hastanın 4'ünde (%13) kapak fonksiyonu normalken; 17'sinde (%55) kombine kapak disfonksiyonu, 4'ünde (%13) izole AS, 6'sında (%19) izole AY saptandı. SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu bulunan hastalarda, kombine kapak fonksiyon bozukluğu anlamlı olarak daha fazlaydı (p=0,001).
- SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda AS görülme oranı daha fazlaydı (p=0,016). Buna ek olarak, rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda orta-ağır AS, mutasyon saptanmayan hastalara göre daha yüksek oranda saptandı (p=0,03).
- SMAD-6 geni rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda mutasyon olmayan hastalara göre AY daha fazla bulunmaktaydı (p=0,001). Ayrıca, rs1555440093

mutasyonu olan hastalarda mutasyon olmayanlara göre orta-ağır derecede AY sık olduğu görüldü ($p=0,02$).

- SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan hastaların hiçbirinde aort koarktasyonu görülmezken; SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan hastaların 8 (%25,8)'inde asendan aort dilatasyonu saptandı. SMAD-6 geninde rs1555440093 mutasyonu olan hastalarda mutasyon olmayan hastalara göre asendan aort dilatasyonu sıklığı 3,8 kat daha yüksekti [$p=0,001$ ve OR 3,8 (%95 CI; 2-6,3)].

SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu sonuçları:

- Biküspit aortik kapak grubunda SMAD-6 geninde rs1208514129 gen bölgesinde 39 (%26,5) hastada heterozigot mutasyon saptanırken; kontrol grubunda bu gen bölgesinde herhangi bir hastada mutasyona rastlanmadı. Bu mutasyona sahip olmanın BAK hastalığı riskini 1,83 kat artırdığı saptandı ($p=0,0001$ ve OR 1,83 (%95 CI; 1,61-2,1).
- SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonu olan hastaların biküspit aort kapak açılımları incelendiğinde; 21 (%53,8)'inin sup-inf açılımlı, 18 (%46,2)'inin ise sol-sağ açılımlı oldukları görüldü. SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalar arasında biküspit aortik kapak açılım şekli açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmazken ($p>0,05$), rs1208514129 gen mutasyonu olanlarda daha az oranda raphe varlığı olduğu görüldü ($p=0,003$).
- SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan toplam 39 hastanın 14'ünde (%36) kapak fonksiyonu normalken, 9'unda (%23) kombine kapak disfonksiyonu, 10'unda (%26) izole AS, 6'sında (%15) izole AY vardı. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalar arasında aort kapak fonksiyon bozukluğu açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p>0,05$).
- SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonu olan hastalarda, olmayanlara göre; aort stenozu ve aort yetmezliği varlığı ve ciddiyeti arasında istatistiksel olarak farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).
- SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonuna sahip hastaların 12'sinde (%31) aort koarktasyonu görülürken; aort koarktasyonlu hastalarımızın tamamında

(%100) rs1208514129 mutasyonu görüldü. SMAD-6 geni rs1208514129 mutasyonuna sahip olmanın aort koarktasyonu görülme sıklığını 5 kat artırdığı saptandı [p=0,0001 ve OR 5,0 (%95 CI; 3,568-7,006)].

- SMAD-6 geninde rs1208514129 mutasyonu olan ve olmayan hastalar arasında asendan aort dilatasyonu görülme sıklığı açısından istatistiksel farklılık saptanmadı (p>0,05).

KAYNAKLAR

- 1- Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1890-900.
- 2- Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, et al. Heart disease and stroke statistics - 188 Calcific Aortic Valve Disease tics 2011 update: A report from the American Heart Association. *Circulation* 2011;123:e18-e209.
- 3- Braverman AC. Clinical manifestations and diagnosis of bicuspid aortic valve in adults <https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-bicuspid-aortic-valve-in-adults>. Son erişim tarihi: 05 Mayıs 2020.
- 4- Huntington K, Hunter AG, Chan KL. A prospective study to assess the frequency of familial clustering of congenital bicuspid aortic valve. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 1809– 12.
- 5- Giusti B, Sticchi E, De Cario R, Magi A, Nistri S, Pepe G.. Genetic Bases of Bicuspid Aortic Valve: The Contribution of Traditional and High-Throughput Sequencing Approaches on Research and Diagnosis *Front Physiol* 2017; 8: 612.
- 6- Milleron O, Ropers J, Arnoult F, Bouleti C, Delorme G, Langeois M, et al. Clinical Significance of Aortic Root Modification Associated With Bicuspid Aortic Valve in Marfan Syndrome. *Circ Cardiovasc Imaging* 2019;12:e008129.
- 7- Pereira L, Lee SY, Gayraud B, Andrikopoulos K, Shapiro SD, Bunton T, et al. Pathogenetic sequence for aneurysm revealed in mice underexpressing fibrillin-1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96:3819-23.
- 8- Kodo K, Nishizawa T, Furutani M, Arai S, Ishihara K, Oda M et al. Genetic analysis of essential cardiac transcription factors in 256 patients with non-syndromic congenital heart defects. *Circ J* 2012; 76:1703–11.
- 9- <https://www.omim.org/entry/602931>. Son erişim tarihi: 05 Mayıs 2020.
- 10- Luyckx I, Gretchen M, Kempers M, Meester J, Geryl C. Confirmation of the role of pathogenic SMAD6 variants in bicuspid aortic valve-related aortopathy. *Eur J Hum Genet* 2019; 27:1044–53.
- 11- Park JE, Park JS, Jang SY, Park SH, Kim J-W, Ki CS, et al. A novel SMAD6 variant in a patient with severely calcified bicuspid aortic valve and thoracic aortic aneurysm. *Molec Genet Genomic Med* 2019;7: e620.
- 12- <https://www.omim.org/entry/112262>. Son erişim tarihi: 05 Mayıs 2020.

- 13- <https://www.omim.org/entry/112261?search=BMP2&highlight=bmp2> Son erişim tarihi: 01 Mayıs 2020.
- 14- Shimizu T, Tanaka T, Iso T, Matsui H, Ooyama Y, Kawai-Kowase K, et al. Notch signaling pathway enhances bone morphogenetic protein 2 (BMP2) responsiveness of Msx2 gene to induce osteogenic differentiation and mineralization of vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 2011;286:19138–48.
- 15- Ma L, Lu MF, Schwartz RJ, Martin JF. Bmp2 is essential for cardiac cushion epithelial-mesenchymal transition and myocardial patterning. *Development* 2005;132:5601-11.
- 16- Sugi Y, Yamamura H, Okagawa H, Markwald RR. Bone morphogenetic protein-2 can mediate myocardial regulation of atrioventricular cushion mesenchymal cell formation in mice. *Dev Biol* 2004;269:505-18.
- 17- Başpınar O, Karaaslan S, Oran B, Baysal T. A, Elmacı M, Alaaddin Y. Prevalence and distribution of children with congenital heart diseases in the central Anatolian region, Turkey. *Turk J Pediatr* 2006;48:237-43.
- 18- Park MK. Specific Congenital Heart Defects. In: Park MK, editor. *Pediatric Cardiology of Practitioners*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders 2014. p. 277-456.
- 19- Sievers HH, Schmidtke C. A classification system for the bicuspid aortic valve from 304 surgical specimens. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;133:1226–33.
- 20- Yoon SH, Maeno Y, Kawamori H, Miyasaka M, Nomura T, Ochiai T, et al. Diagnosis and Outcomes of Transcatheter Aortic Valve Implantation in Bicuspid Aortic Valve Stenosis. *Interv Cardiol* 2018 May;13:62-5.
- 21- Braverman AC, Güven H, Beardslee MA, Makan M, Kates AM, Moon MR. The bicuspid aortic valve. *Curr Probl Cardiol* 2005;30:470–522.
- 22- Roberts WC. The congenitally bicuspid aortic valve: a study of 85 autopsy studies. *Am J Cardiol* 1970;26:72–83.
- 23- <http://bicuspidfoundation.com/bavhistory.html>. Son erişim tarihi: 10 Mayıs 2020.
- 24- Nanda NC, Gramiak R, Manning J, Mahoney EB, Lipchik EO, DeWeese JA. Echocardiographic recognition of the congenital bicuspid aortic valve. *Circulation*. 1974;49:870–5.

- 25- American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; Society of Cardiovascular Anesthesiologists; Society for Cardiovascular Angiography and Interventions; 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): developed in collaboration with the Society of Cardiovascular Anesthesiologists: endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons [published correction appears in *Circulation*. 2007 Apr 17;115:e409] [published correction appears in *Circulation*. 2010 Jun 15;121(:e443)]. *Circulation*. 2006;114:e84–e231.
- 26- Dargis N, Lamontagne M, Gaudreault N, Sbarra L, Henry C, Pibarot P, et al. Identification of gender-specific genetic variants in patients with bicuspid aortic valve. *Am. J. Cardiol* 2016; 117: 420–6.
- 27- Tutar E, Ekici F, Atalay S, Nacar N. The prevalence of bicuspid aortic valve in newborns by echocardiographic screening. *Am Heart J* 2005;150:513-5.
- 28- Khan W; Milsevic M; Salciccioli L; Lazar J. Low prevalence of bicuspid aortic valve in African Americans. *Am Heart J*. 2008; 156:e25.
- 29- Masri A, Svensson LG, Griffin BP, Desai MY. Contemporary natural history of bicuspid aortic valve disease: a systematic review. *Heart* 2017; 103:1323–30.
- 30- Markwald RR, Norris RA, Moreno-Rodriguez R, Levine RA. Developmental basis of adult cardiovascular diseases: valvular heart diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1188:177-83.
- 31- Hinton RB, Yutzey KE. Heart Valve Structure and Function in Development and Disease. *Annual Review of Physiology* 2011;73:29-46.
- 32- Lincoln J, Alfieri CM, Yutzey KE. Development of heart valve leaflets and supporting apparatus in chicken and mouse embryos. *Dev Dyn* 2004;230:239–50.
- 33- Mercado-Pimentel ME, Runyan RB. Multiple transforming growth factor-beta isoforms and receptors function during epithelial-mesenchymal cell transformation in the embryonic heart. *Cells Tissues Organs* 2007;185:146–56.

- 34- Nakajima Y, Yamagishi T, Hokari S, Nakamura H. Mechanisms involved in valvuloseptal endocardial cushion formation in early cardiogenesis: roles of transforming growth factor (TGF)-beta and bone morphogenetic protein (BMP). *Anat Rec* 2000;258:119–27.
- 35- Ma L, Lu MF, Schwartz RJ, Martin JF. Bmp2 is essential for cardiac cushion epithelial-mesenchymal transition and myocardial patterning. *Development* 2005;132:5601–11.
- 36- Liu T, Xie M, Lv Q, Li Y, Fang L, Zhang L, et al. Bicuspid Aortic Valve: An Update in Morphology, Genetics, Biomarker, Complications, Imaging Diagnosis and Treatment. *Front Physiol* 2018; 9: 1921.
- 37- Schaefer BM, Lewin MB, Stout KK, Gill E, Prueitt A, Byers PH, Otto CM. The bicuspid aortic valve: an integrated phenotypic classification of leaflet morphology and aortic root shape. *Heart* 2008; 94:1634–8.
- 38- Michelena HI, Prakash SK, Della CA, Bissell MM, Anavekar N, Mathieu P, et al. Bicuspid aortic valve: identifying knowledge gaps and rising to the challenge from the International Bicuspid Aortic Valve Consortium (BAVCon). *Circulation* 2014;129, 2691–704.
- 39- Fernandes SM, Khairy P, Sanders SP, Colan SD. Bicuspid aortic valve morphology and interventions in the young. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 2211-2214.
- 40- Ciotti GR, Vlahos AP, Silverman NH. Morphology and function of the bicuspid aortic valve with and without coarctation of the aorta in the young. *Am J Cardiol* 2006; 98: 1096-102.
- 41- Fedak PW, Verma S, David TE, Leask RL, Weisel RD, Butany J. Clinical and pathophysiological implications of a bicuspid aortic valve. *Circulation* 2002; 106: 900-4.
- 42- Girdauskas E, Borger MA, Secknus MA, Girdauskas G, Kuntze T. Is aortopathy in bicuspid aortic valve disease a congenital defect or a result of abnormal hemodynamics? A critical reappraisal of a one-sided argument. *Eur J Cardiothorac Surg* 2011;39:809-14.
- 43- Beekman RH. Coarctation of the aorta. In: Allen H, Driscoll DJ, Shaddy RE, Feltes TF, eds. *Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children, and*

Adolescents: Including the Fetus and Young Adults. 8th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2013: 1467-8.

44- Fedak PW, David TE, Borger M, Verma S, Butany J, Weisel RD. Bicuspid aortic valve disease: recent insights in pathophysiology and treatment. *Expert Review of Cardiovascular Therapy* 2005;3:295–308.

45- Lewin MB, Otto CM The bicuspid aortic valve: adverse outcomes from infancy to old age. *Circulation* 2005;111:832.

46- Beppu S, Suzuki S, Matsuda H, Ohmori F, Nagata S, Miyatake K. Rapidity of progression of aortic stenosis in patients with congenital bicuspid aortic valves. *Am J Cardiol* 1993;71:322–7.

47- Reich O, Tax P, Marek J, Razek V, Gilik J, Tomek V, et al. Long term results of percutaneous balloon valvoplasty of congenital aortic stenosis: independent predictors of outcome. *Heart* 2004; 90:70-6.

48- McCrindle BW, Blackstone EH, Williams WG, Sittiwangkul R, Spray TL, Azakie A, Jonas RA. Are outcomes of surgical versus transcatheter balloon valvotomy equivalent in neonatal critical aortic stenosis? *Circulation* 2001;104:152-8.

49- Reich O. Aortic valve congenital stenosis. In Sievert H, Qureshi SA, Wilson N, Hijazi ZM (eds). *Percutaneous Interventions for Congenital Heart Disease*. London: Informa, 2007: 153-71.

50- Mills P, Leech G, Davies M, Leathan A. The natural history of a non-stenotic bicuspid aortic valve. *Br Heart J* 1978;40:951-7.

51- Mautner GC, Mautner SL, Cannon RO, Hunsberger SA, Roberts WC. Clinical factors useful in predicting aortic valve structure in patients >40 years of age with isolated valvular aortic stenosis. *Am J Cardiol* 1993;72:194–8.

52- Ward C. Clinical significance of the bicuspid aortic valve. *Heart* 2000;83:81-5.

53- Fernandes SM, Sanders SP, Khairy P, Jenkins KJ, Gauvreau K, Lang P, et al. Morphology of bicuspid aortic valve in children and adolescents. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44:1648-51.

- 54- Keane JF, Driscoll DJ, Gersony WM, Hayes CJ, Kidd L, O'Fallon WM, et al. Second natural history study of congenital heart defects. Results of treatment of patients with aortic valvar stenosis. *Circulation* 1993; 87: 116-27.
- 55- Siu SC, Silversides CK. Bicuspid aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 2789-800.
- 56- Roman MJ, Devereux RB, Niles NW, Hochreiter C, Kligfield P, Sato N, et al. Aortic root dilatation as a cause of isolated severe aortic regurgitation. *Ann Intern Med* 1987;106:800–7.
- 57- Guiney TE, Davies MJ, Parker DJ, Leech GJ, Leatham A. The aetiology and course of isolated severe aortic regurgitation. *Br Heart J* 1987;58:358–68.
- 58- Beekman RH. Coarctation of the aorta. In: Allen H, Driscoll DJ, Shaddy RE, Feltes TF, eds. *Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children, and Adolescents: Including the Fetus and Young Adults*. 8th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2013: 1044-8.
- 59- Verma S, Siu SC. Aortic dilatation in patients with bicuspid aortic valve. *N Engl J Med* 2014; 370: 1920–9.
- 60- Keane MG, Wiegers SE, Plappert T, Pochettino A, Bavaria JE, Sutton MG. Bicuspid aortic valves are associated with aortic dilatation out of proportion to coexistent valvular lesions. *Circulation* 2000; 102:35-9.
- 61- Nistri S, Sorbo MD, Marin M, Palisi M, Scognamiglio R, Thiene G. Aortic root dilatation in young men with normally functioning bicuspid aortic valves. *Heart* 1999; 82:19-22.
- 62- Thanassoulis G, Yip JW, Filion K, Jamorski M, Webb G, Siu SC, Therrien J. Retrospective study to identify predictors of the presence and rapid progression of aortic dilatation in patients with bicuspid aortic valves. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008; 5:821-8.
- 63- Mahadevia R, Barker AJ, Schnell S, Entezari P, Kansal P, Fedak PW, et al. Bicuspid aortic cusp fusion morphology alters aortic three-dimensional outflow patterns, Wall shear stress, and expression of aortopathy. *Circulation* 2014; 129: 673–82.

- 64- Nistri S, Porciani MC, Attanasio M, Abbate R, Gensini GF, Pepe G. Association of Marfan syndrome and bicuspid aortic valve: frequency and outcome. *Int J Cardiol* 2012; 155: 324–5.
- 65- Novaro GM, Tiong IY, Pearce GL, Grimm RA, Smedira N, Griffin BP. Features and predictors of ascending aortic dilatation in association with a congenital bicuspid aortic valve. *Am J Cardiol* 2003; 92: 99–101.
- 66- Fedak PW, de Sa MP, Verma S, Nili N, Kazemian P, Butany J, et al. Vascular matrix remodeling in patients with bicuspid aortic valve malformations: implications for aortic dilatation. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2003;126:797–806.
- 67- Beaton AZ, Nguyen T, Lai WW, Chatterjee S, Ramaswamy P, Lytrivi ID, et al. Relation of coarctation of the aorta to the occurrence of ascending aortic dilation in children and young adults with bicuspid aortic valves. *Am J Cardiol* 2009; 103: 266-70.
- 68- Keane JF, Lock JE, Fyler DC. Congenital Heart Disease. In John F Keane, eds. *Nadas Pediatric Cardiology*. 2nd Ed. Elsever Saunders 2007: 525-773.
- 69- Deshpande J, Kinare SG. The bicuspid aortic valve--an autopsy study. *Indian J Pathol Microbiol* 1991;34:112-8.
- 70- Neumayer U, Stone S, Somerville J. Small ventricular septal defects in the adult. *Eur Heart J* 1998;9:1573-82.
- 71- Hor KN, Border WL, Cripe LH, Benson DW, Hinton RB. The presence of bicuspid aortic valve does not predict ventricular septal defect type. *Am J Med Genet A* 2008 ;146A:3202-5.
- 72- Michelena HI, Desjardins VA, Avierinos JF, Russo A, Nkomo VT, Sundt TM, et al. Natural history of asymptomatic patients with normally functioning or minimally dysfunctional bicuspid aortic valve in the community. *Circulation* 2008; 117: 2776-84.
- 73- Zegri-Reiriz I, de Alarcón A, Muñoz P, Martínez Sellés M, González-Ramallo V, Miro JM, et al. Infective Endocarditis in Patients With Bicuspid Aortic Valve or Mitral Valve Prolapse. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2731-40.

- 74- Patterns of single-gene inheritance. In: Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, editors. Thompson and Thompson Genetics in Medicine 6th ed. Philadelphia, Pennsylvania: WB Saunders Company, 2001;51-78.
- 75- The human genome: structure and function of genes and chromosomes. In: Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, editors. Thompson and Thompson Genetics in Medicine 6th ed. Philadelphia, Pennsylvania: WB Saunders Company, 2001:17-32.
- 76- Robert B. Hinton Genetics of Bicuspid Aortic Valve and Calcific Aortic Valve Disease 2013:180-3.
- 77- Akçaboy MI, Cengiz FB, Inceoğlu B, Uçar T, Atalay S, Tutar E, Tekin M. The effect of p.Arg25Cys alteration in NKX2-5 on conotruncal heart anomalies: mutations or polymorphism? *Pediatr Cardiol* 2008;29:126-9.
- 78- Balci M M, Akdemir R. NKX2.5 mutations and congenital heart disease: Is it a marker of cardiac anomalies? *Int J Cardiol* 2011;17:147: e 44-5.
- 79- Akpınar, A. ‘Konjenital kalp hastalıklarında GATA4, NKX2-5, TBX5, CRELD1 ve BMP4 gen bölgelerinin MLPA yöntemi ile değerlendirilmesi’, *Tıpta Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi*, 2014.
- 80- Pedersen MW, Groth KA, Mortensen KH, Brodersen J, Gravholt CH, Andersen NH. Clinical and pathophysiological aspects of bicuspid aortic valve disease. *Cardiology Young* 2019;29: 1-10.
- 81- Warnes CA, Williams RG, Bashore TM, Child JS, Connolly HM, Dearani JA, et al. ACC/AHA 2008 guidelines for the management of adults with congenital heart disease: A report of the american college of cardiology/american heart association task force on practice guidelines (writing committee to develop guidelines on the management of adults with congenital heart disease). Developed in collaboration with the american society of echocardiography, heart rhythm society, international society for adult congenital heart disease, society for cardiovascular angiography and interventions, and society of thoracic surgeons. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: e1-121.
- 82- Goh D, Han L, Judge D. Linkage of familial bicuspid aortic valve with aortic aneurysm to chromosome 15q. *Am J Hum Genet* 2002;71:211.

- 83- Glick BN, Roberts WC. Congenitally bicuspid aortic valve in multiple family members. *Am J Cardiol* 1994;73:400-4.
- 84- Cripe L, Andelfinger G, Martin LJ, Shooner K, Benson DW. Bicuspid aortic valve is heritable. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44:138-43.
- 85- Girdauskas E, Schulz S, Borger MA, Mierzwa M, Kuntze T. Transforming growth factor-beta receptor type II mutation in a patient with bicuspid aortic valve disease and intraoperative aortic dissection. *Ann Thorac Surg* 2011; 91:e70-1.
- 86- Shi-Min Y. α -Smooth Muscle Actin and ACTA2 Gene Expressions in Vasculopathies. *Braz J Cardiovasc Surg* 2015; 30: 644-9.
- 87- Makki N, Capecchi MR. Cardiovascular defects in a mouse model of HOXA1 syndrome. *Hum Mol Genet* 2012; 21:26-31.
- 88- Andelfinger G, Tapper AR, Welch RC, Vanoye CG, George AL Jr, Benson DW. KCNJ2 mutation results in Andersen syndrome with sex-specific cardiac and skeletal muscle phenotypes. *Am J Hum Genet* 2002;71:663–8.
- 89- Basu R, Hazra S, Shanks M, Paterson DI, Oudit GY. Novel mutation in exon 14 of the sarcomere gene MYH7 in familial left ventricular noncompaction with bicuspid aortic valve. *Circ Heart Fail* 2014;7:1059–62.
- 90- High FA, Epstein JA. The multifaceted role of notch in cardiac development and disease. *Nat Rev Genet* 2008;9:49-61.
- 91- Garg V, Muth AN, Ransom JF, Schluterman MK, Barnes R, King IN, et al. Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. *Nature* 2005;437:270–4.
- 92- Mohamed SA, Aherrahrou Z, Liptau H, Erasmi AW, Hagemann C, Wrobel S, et al. Novel missense mutations (p.T596M and p.P1797H) in NOTCH1 in patients with bicuspid aortic valve. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 345:1460-5.
- 93- McKellar SH, Tester DJ, Yagubyan M, Majumdar R, Ackerman MJ, Sundt TM. Novel NOTCH1 mutations in patients with bicuspid aortic valve disease and thoracic aortic aneurysms. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 134:290-6.
- 94- Preuss C, Capredon M, Wünnemann F, Chetaille P, Prince A, Godard B, et al. Family based whole exome sequencing reveals the multifaceted role of notch signaling in congenital heart disease. *PLoS Genet* 2016;12:e1006335.

- 95- Timmerman LA, Grego-Bessa J, Raya A, Bertrán E, Pérez-Pomares JM, Díez J, et al. Notch promotes epithelial-mesenchymal transition during cardiac development and oncogenic transformation. *Genes Dev* 2004; 18:99-115.
- 96- Mohler 3rd ER, Gannon F, Reynolds C, Zimmerman R, Keane MG, Kaplan FS. Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation* 2001;103:1522–8.
- 97- Acharya A, Hans CP, Koenig SN, Nichols HA, Galindo CL, Garner HR, et al. Inhibitory role of Notch1 in calcific aortic valve disease. *PLoS One* 2011;6:e27743.
- 98- Nigam V, Srivastava D. Notch1 represses osteogenic pathways in aortic valve cells. *J Mol Cell Cardiol* 2009; 47:828-34.
- 99- Ponticos M, Partridge T, Black CM, Abraham DJ, Bou-Gharios G. Regulation of collagen type I in vascular smooth muscle cells by competition between Nkx2.5 and deltaEF1/ZEB1. *Mol Cell Biol* 2004; 24:6151-61.
- 100- Malfait F, Symoens S, Coucke P, Nunes L, De Almeida S, De Paepe A. Total absence of the alpha2(I) chain of collagen type I causes a rare form of Ehlers-Danlos syndrome with hypermobility and propensity to cardiac valvular problems. *J Med Genet* 2006; 43:e36.
- 101- Laforest B, Andelfinger G, Nemer M. Loss of Gata5 in mice leads to bicuspid aortic valve. *J Clin Invest* 2011; 121:2876-87.
- 102- Lin X, Huo Z, Liu X, Zhang Y, Li L, Zhao H, et al. A novel GATA6 mutation in patients with tetralogy of Fallot or atrial septal defect. *Journal of Human Genetics* 2010;55:662–7.
- 103- Kodo K, Nishizawa T, Furutani M, Arai S, Yamamura E, Joo K, et al. GATA6 mutations cause human cardiac outflow tract defects by disrupting semaphorin-plexin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106:13933-8.
- 104- Lepore JJ, Mericko PA, Cheng L, Lu MM, Morrisey EE, Parmacek MS. GATA-6 regulates semaphorin 3C and is required in cardiac neural crest for cardiovascular morphogenesis. *J Clin Invest* 2006;116:929-39.
- 105- Gharibeh L, Komati H, Bossé Y, Boodhwani M, Heydarpour M, Fortier M, et al. GATA6 Regulates Aortic Valve Remodeling, and Its Haploinsufficiency Leads to Right-Left Type Bicuspid Aortic Valve. *Circulation* 2018;138:1025–38.

- 106- <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BMP2#synonyms>. Son erişim tarihi: 01 Mayıs 2020.
- 107- <https://www.uniprot.org/uniprot/P12643>. Son erişim tarihi: 01 Mayıs 2020.
- 108- Bakrania P, Efthymiou M, Klein JC, Salt A, Bunyan DJ, Wyatt A, et al. Mutations in BMP4 cause eye, brain, and digit developmental anomalies: overlap between the BMP4 and hedgehog signaling pathways. *Am J Hum Genet.*2008;82:304-19.
- 109- <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BMP4>. Son erişim tarihi: 01 Mayıs 2020.
- 110- Hanyu A, Ishidou Y, Ebisawa T, Shimanuki T, Imamura T, Miyazono K. The N domain of Smad7 is essential for specific inhibition of transforming growth factor-beta signaling. *J Cell Biol* 2001;155:1017–27.
- 111- Tan HL, Glen E, Topf A, Hall D, O'Sullivan JJ, Sneddon L, et al. Nonsynonymous variants in the SMAD6 gene predispose to congenital cardiovascular malformation. *Hum Mutat* 2012;33: 720–7.
- 112- Galvin KM, Donovan MJ, Lynch CA, Meyer RI, Paul RJ, Lorenz JN, et al. A role for smad6 in development and homeostasis of the cardiovascular system. *Nat Genet* 2000;24:171–4.
- 113- Cinaz P, Bideci A. Obezite. In: Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoğlu S (eds). *Pediatric Endocrinoloji*, Ankara, 2003:487-505.
- 114-Tissot C, Muehlethaler V, Sekarski N. Basics of Functional Echocardiography in Children and Neonates. *Front Pediatr* 2017;5:235.
- 115- Napoli KL, Ingall CG, Martin GR. Safety and efficacy of chloral hydrate sedation in children undergoing echocardiography. *J Pediatr* 1996;129:287–91.
- 116- Roge CL, Silverman NH, Hart PA. Cardiac structure growth pattern determined by echocardiography. *Circulation* 1978;57:285-90.
- 117- Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: Results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation* 1978;58:1072-83.
- 118- Silverman NH. Quantitative methods to enhance morphological information using Mmode, Doppler, and cross-sectional ultrasound. In: Silverman NH, ed. *Pediatric Echocardiography*. Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 1993:35-108.

- 119- Brandenburg RO Jr, Tajik AJ, Edwards WD, Reeder GS, Shub C, Seward JB. Accuracy of 2-dimensional echocardiographic diagnosis of congenitally bicuspid aortic valve: Echocardiographic-anatomic correlation in 115 patients. *Am J Cardiol* 1983;51:1469-73.
- 120- Gurses D, Ozyürek AR, Levent E, Ulger Z. Elastic properties of the abdominal aorta in the children with bicuspid aortic valve: an observational study. *Anadolu Kardiyol Derg* 2012;12:413-9.
- 121- Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, ErwinIII JP, Guyton RA, Patrick T, et al. 2014 AHA/ACC Guideline 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. *Circulation* 2014;129:2440–92.
- 122- McMurray JJV, Adamopoulos S, Anker SD et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012. *Eur J Heart Fail* 2012;14:803–69.
- 123- Tani LY, Minich LL, Day RW, Orsmond GS, Shaddy RE. Doppler evaluation of aortic regurgitation in children. *Am J Cardiol* 1997; 80: 927-31.
- 124- Perry GJ, Helmcke F, Nanda NC, Byard C, Soto B. Evaluation of aortic insufficiency by Doppler color flow mapping. *J Am Coll Cardiol* 1987;9:952-9.
- 125- Gewitz MH, Baltimore RS, Tani LY, Sable CA, Shulman ST, Carapetis J et al. Revision of the Jones criteria for the diagnosis of acute rheumatic fever in the era of Doppler echocardiography a scientific statement from the American heart association. *Circulation* 2015;131:1806-18.
- 126- Roman MJ, Devereux RB, Kramer-Fox R, O'Loughlin J. Two-dimensional echocardiographic aortic root dimensions in normal children and adults. *Am J Cardiol* 1989;64:507-12.
- 127- Mahle WT, Sutherland JL, Frias PA. Outcome of Isolated Bicuspid Aortic Valve in Childhood. *J Pediatr* 2010;157:445-9.
- 128- Demir F. Biküspid aort kapağı veya diğer sol taraf kardiyovasküler anomalisi olan hasta ailelerinde kardiyovasküler anomali sıklığı ve ekokardiyografik özelliklerin değerlendirilmesi. Yan dal uzmanlık tezi, Ankara Üniversitesi, 2011.

- 129- Niaz T, Poterucha JT, Johnson JN, Craviari C, Nienaber T, Palfreeman J et al. Incidence, morphology, and progression of bicuspid aortic valve in pediatric and young adult subjects with coexisting congenital heart defects. *Congenital Heart Disease* 2017;12:261-9.
- 130- Stefek HA, Berhane H, Robinson JD, Reilly B, Ruh A, Markl M et al. Comprehensive MR analysis of cardiac function, aortic hemodynamics and left ventricular strain in pediatric cohort with isolated bicuspid aortic valve. *Pediatr Cardiol* 2019;40:1450-9.
- 131- Spaziani G, Ballo P, Favilli S, Fibbi V, Buonincontri L, Pollini I, et al. Clinical Outcome, Valve Dysfunction, and Progressive Aortic Dilation in a Pediatric Population With Isolated Bicuspid Aortic Valve. *Pediatr Cardiol* 2014; 35:803-9.
- 132- Kong WKF, Regeer MV, Poh KK, Yip JW, van Rosendaël PJ, Yeo TC, Tay E, Kamperidis V, van der Velde ET, Mertens B, Ajmone Marsan N, Delgado V, Bax JJ. Inter-ethnic differences in valve morphology, valvular dysfunction, and aortopathy between Asian and European patients with bicuspid aortic valve. *Eur Heart J* 2018;39:1308-13.
- 133- Tezol Ö, Demetgül H, Hallıoğlu O. Biküspit Aortik Kapak Olgularının İrdelenmesi: İki Yıllık Retrospektif Analiz. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*.6:25-8.
- 134- Yakar Tülüce S, Tülüce K, Şimşek EÇ, Şafak Ö, Ökten MS, Yapan Emren Z, et al. Assessment of bicuspid aortic valve phenotypes and associated pathologies: a transesophageal echocardiographic study. *Türk Kardiyol Dern Ars* 2017;45:690-701.
- 135- Ward RM, Marsh JM, Gossett JM, Rettiganti MR, Collins RT. Impact of Bicuspid Aortic Valve Morphology on Aortic Valve Disease and Aortic Dilation in Pediatric Patients. *Pediatr Cardiol* 2018;39:509-17.
- 136- Erbel R, Aboyans V, Boileau C, Bossone E, di Bartolomeo R, Eggebrecht H, et al. 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of aortic diseases: Document covering acute and chronic aortic diseases of the thoracic and abdominal aorta of the adult The Task Force for the Diagnosis and Treatment of

Aortic Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2014;35:2873–926.

137- Fernandes S, Khairy P, Graham DA, Colan SD, Galvin TC, Sanders SP, et al. Bicuspid aortic valve and associated aortic dilation in the young. *Heart* 2012;98:1014-9.

138- Suluba E, Shuwei L, Xia Q, Mwanga A. Congenital heart diseases: genetics, non-inherited risk factors, and signaling pathways. *Egypt J Med Hum Genet* 2020;21:11.

139- McCulley DJ, Black BL. Transcription factor pathways and congenital heart disease. *Curr Top Dev Biol* 2012; 100:253–77.

140- Kobylinska J, Dworzanski W, Cendrowska-Pinkosz M, Dworzanska A, Hermanowicz-Dryka T, Kiszka J et al. Morphological and molecular bases of cardiac development. *Postepy Hig Med Dosw* 2013;67:950–7.

141- Ellesøe SG, Johansen MM, Bjerre JV, Hjortdal VE, Brunak S, Larsen LA. Familial Atrial Septal Defect and Sudden Cardiac Death: Identification of a Novel NKX2-5 Mutation and a Review of the Literature. *Congenit Heart Dis* 2016;11:283-90.

142- Dressen M, Lahm H, Lahm A, Wolf K, Doppler S, Deutsch MA et al. A novel de novo TBX5 mutation in a patient with Holt-Oram syndrome leading to a dramatically reduced biological function. *Mol Genet Genomic Med* 2016;4:557–67.

143- Debiec R, Sall H, Samani NJ, Bolger A. Genetic Insights Into Bicuspid Aortic Valve Disease. *Cardiol Rev* 2017;25:158-64.

144- Tan TY, Gonzaga-Jauregui C, Bhoj EJ, Strauss KA, Brigatti K, Puffenberger E, et al. Monoallelic BMP2 Variants Predicted to Result in Haploinsufficiency Cause Craniofacial, Skeletal, and Cardiac Features Overlapping Those of 20p12 Deletions. *Am J Hum Genet* 2017;101:985-94.

145- Bhardwaj, R, Agrawal, D, Kumar, A. et al. Identification of mutations in bone morphogenetic protein 2, 4 and 7 in congenital heart disease patients from Indian population. *Mol Cytogenet* 2014;7:32.

- 146- Li FF, Deng X, Zhou J, Yan P, Zhao EY, Liu SL. Characterization of human bone morphogenetic protein gene variants for possible roles in congenital heart disease. *Mol Med Rep* 2016;14:1459-64.
- 147- Qian B, Mo R, Da M, Peng W, Hu Y, Mo X. Common Variations in BMP4 Confer Genetic Susceptibility to Sporadic Congenital Heart Disease in a Han Chinese Population. *Pediatr Cardiol* 2014;35:1442-7.
- 148- Li Z, Huang J, Liang B, Zeng D, Luo S, Yan T, et al. Copy number variations in the GATA4, NKX2-5, TBX5, BMP4 CRELD1, and 22q11.2 gene regions in Chinese children with sporadic congenital heart disease. *J Clin Lab Anal* 2019;33:e22660.
- 149- Gillis E, Kumar AA, Luyckx I, Preuss C, Cannaerts E, van de Beek G, et al. Candidate Gene Resequencing in a Large Bicuspid Aortic Valve-Associated Thoracic Aortic Aneurysm Cohort: SMAD6 as an Important Contributor. *Front Physiol* 2017;8:400.
- 150- Townsend TA, Robinson JY, Deig CR, Hill CR, Misfeldt A, Blobe GC, et al. BMP-2 and TGF β 2 shared pathways regulate endocardial cell transformation. *Cells Tissues Organs* 2011;194:1-12
- 151- Yamagishi T, Ando K, Nakamura H. Roles of TGFbeta and BMP during valvulo-septal endocardial cushion formation. *Anat Sci Int* 2009;84:77-87.
- 152- Mutlu ET, Aykan HH, Karagöz T. Analysis of gene copy number variations in patients with congenital heart disease using multiplex ligation-dependent probe amplification. *Anatol J Cardiol* 2018;20:9-15.