

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**KANSER TANISI ALMIŞ VE ANTRASİKLİN
KEMOTERAPİSİ BAŞLANAN HASTALARDA PLAZMA
MİRNA DÜZEYİNİN KARDİYOTOKSİSİTE İLE
İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Furkan YETMİŞ

Kardiyoloji Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2022

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**KANSER TANISI ALMIŞ VE ANTRASİKLİN
KEMOTERAPİSİ BAŞLANAN HASTALARDA PLAZMA
MİRNA DÜZEYİNİN KARDİYOTOKSİSİTE İLE
İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Furkan YETMİŞ

Kardiyoloji Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Muhammet DURAL

**Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2020-2958 nolu proje
kapsamında desteklenmiştir**

ESKİŞEHİR
2022

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Furkan YETMİŞ'e ait "Kanser Tanısı Almış ve Antrasiklin Kemoterapisi Başlanan Hastalarda Plazma miRNA Düzeyinin Kardiyotoksosite ile İlişkisinin Değerlendirilmesi" adlı tez çalışması jürimiz tarafından Kardiyoloji Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:/....../2022

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Muhammet DURAL

Kardiyoloji Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Taner ULUS

Kardiyoloji Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Ersel ONRAT

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniv. Tıp Fak.

Kardiyoloji Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulunun
...../...../..... Tarih ve/.....Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Atilla Özcan ÖZDEMİR

Dekan V.

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren sayın hocalarım Prof. Dr. Necmi ATA'ya, Prof. Dr. Bülent GÖRENEK'e, Prof. Dr. Yüksel ÇAVUŞOĞLU'na, Prof. Dr. Taner ULUS'a, Doç. Dr. Kadir Uğur MERT'e, Doç. Dr. Muhammet DURAL'a, Dr.Öğretim Üyesi Selda MURAT'a, Dr Öğretim Üyesi Gurbet Özge MERT'e bu çalışmanın yapılış sürecinde ve tezimin hazırlanmasında her aşamada bilgi ve deneyimleri ile yardımcı olan tez danışmanım Doç. Dr. Muhammet DURAL'a, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Hülyam KURT'a, Arş. Gör. Dr Emine YAĞCI'ya, kliniğimizde beraber çalıştığım meslektaşlarıma, Acil Tıp Anabilim Dalı'ndan Uzm. Dr. Ruhi CÜRE'ye, tezimin istatistiksel analizi sürecinde her konuda yardımını esirgemeyen Halk Sağlığı Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Selma METİNTAŞ'a ve özellikle bu süreçte her türlü desteğini ve anlayışını esirgemeyen sevgili eşim Dilan YETMİŞ'e teşekkür ve saygılarımı sunarım. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2020-2958 nolu proje kapsamında verdikleri desteklerden dolayı teşekkür ve saygılarımı sunarım.

ÖZET

Yetmiş F., Kanser Tanısı Almış ve Antrasiklin Kemoterapisi Başlanan Hastalarda Plazma miRNA Düzeyinin Kardiyotoksisite ile İlişkisinin Değerlendirilmesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi. Eskişehir, 2022. Meme kanseri, dünya çapında kadınlar arasında en sık görülen kanser türlerinden birisidir. Antrasiklin türevi kemoterapötik ajanlar sarkoma ve meme kanseri tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Son zamanlarda yürütülen çalışmalarda mikroRNA-1 ekspresyonunun kardiyotoksisite ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Bizde çalışmamızda miR-1'in kardiyotoksisiteyi belirlemede prediktif olarak kullanılabilir bir belirteç olup olmadığını inceledik. Çalışmamızın amacı miRNA'ların günümüzde kardiyak hasarın belirlenmesinde en sık kullanılan yüksek duyarlıklı kardiyak troponin T'ye ve N-terminal pro-beyin natriuretik peptide göre kardiyotoksisitenin prediktörlüğü açısından üstünlüğünün olup olmadığının tespit edilmesidir. Çalışmamızda kemoterapi öncesine göre değerlendirildiğinde kemoterapiden 24-48 saat sonra alınan yüksek duyarlıklı kardiyak troponin T'de ($0,06 \pm 0,003$ 'e karşı $0,005 \pm 0,002$, $p < 0,001$) ve N-terminal pro-beyin natriuretik peptitte ($315,3 \pm 195,1$ 'e karşı $76,4 \pm 55,1$, $p = < 0,001$) istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu ortaya konuldu. Azalışı miR-1 ekspresyonunda artışı ifade eden DeltaCT'de ($14,5 \pm 3,9$ 'e karşı $15,9 \pm 4,0$, $p = 0,048$) ise kemoterapi sonrasında anlamlı düşüş olduğu belirlendi. Subklinik kardiyotoksisite ile ilişkili değişkenleri belirlemek için yaptığımız çok değişkenli analizde birinci yıl sol atriyal kontraktıl strainin ve kanda 24-48. saatteki yüksek duyarlıklı kardiyak troponinin bazal değerlere göre anlamlı değişim göstermesi global longitudinal strain'de $> \%15$ düşüşü göstermede bağımsız prediktörler olarak bulduk. Bazal ekokardiyografiye göre değerlendirildiğinde kemoterapi sonrası birinci yılda sol atrium ejeksiyon fraksiyonu [$(10,8$ vs. $-5,8$), $p = 0,006$] ve sol atrial kontraktıl strain'deki [$(-5,4$ vs. $0,3$), $p = 0,022$] değişim subklinik kardiyotoksisite gelişen grupta anlamlı olarak daha fazla azaldı.

Anahtar Kelimeler: Meme Kanseri, Subklinik Kardiyotoksisite, Antrasiklin, Biyomarker, mikroRNA

Destekleyen Kurumlar: Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi

ABSTRACT

Seventy F., Evaluation of the Relationship between Plasma miRNA Level and Cardiotoxicity in Patients Diagnosed with Cancer and Started Anthracycline Chemotherapy, Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Department of Cardiology, Specialization Thesis in Medicine. Eskişehir, 2022.

Breast cancer is one of the most common types of cancer among women worldwide. Anthracycline derivative chemotherapeutic agents are frequently used in the treatment of sarcoma and breast cancer. Recent studies have evaluated the association of microRNA-1 expression with cardiotoxicity. In our study, we examined whether miR-1 can be used predictively in determining cardiotoxicity. The aim of our study is to determine whether miRNAs have superiority in terms of predicting cardiotoxicity compared to high-sensitivity cardiac troponinT and N-terminal pro-brain natriuretic peptide, which are currently used in the determination of cardiac damage. In our study, when compared to pre-chemotherapy, high-sensitive cardiac troponin T (0.06 ± 0.003 vs. 0.005 ± 0.002 , $p < 0.001$) and N-terminal pro-brain natriuretic peptide (315.3 ± 195.1 vs. 76.4 ± 55.1 , $p < 0.001$) taken 24-48 hours after chemotherapy statistically significant increase was revealed. In DeltaCT (14.5 ± 3.9 vs. 15.9 ± 4.0 , $p = 0.048$), whose decrease expresses an increase in miR-1 expression, there was a significant decrease after chemotherapy. In the multivariate analysis we performed to determine the variables associated with subclinical cardiotoxicity, first-year left atrial contractile strain and 24-48 in blood. We found that the difference between troponin level at 24-48 hours and basal level was the independent predictor of $>15\%$ decrease in global longitudinal strain. When evaluated according to baseline echocardiography, in the first year after chemotherapy, left atrial ejection fraction [10.8 vs. -5.8], $p = 0.006$] and left atrial contractile strain [-5.4 vs. 0.3], $p = 0.022$] change decreased significantly more in the group that developed subclinical cardiotoxicity.

Key Words: Breast Cancer, Subclinical Cardiotoxicity, Anthracycline, Biomarker, microRNA

Supported by: Scientific Research Projects Coordination Unit

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kardiyak Biyobelirteçler	2
2.1.1. Mikro RNA	2
2.1.2. Troponin	4
2.1.3. N-Terminal Pro-Beyin Natriüretik Peptid	9
2.2. Antrasiklinler	11
2.2.1. Antrasiklinler ve Kardiyotoksisite	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Araştırma Gruplarının Belirlenmesi	22
3.2. Gereç	22
3.2.1. Kullanılan Kimyasallar ve Kitler	22
3.2.2. Kullanılan Cihaz ve Gereçler	23
3.2.3. cDNA Sentezi	25
3.2.4. Primerler	26
3.2.5. Quantitative Real-Time PCR Yöntemi ile miRNA Expresyon Analizleri	27
3.3. Hasta ve Örnek Seçimi	28
3.3.1. Hasta Dahil edilme kriterleri	29
3.3.2. Dışlama kriterleri	29
3.4. Ekokardiyografi Verilerinin Analizi	30

3.5.	İstatiksel Analiz	34
4.	BULGULAR	36
4.1.	Meme Kanseri Hastalarının Demografik Özellikleri	36
4.2.	Meme Kanseri Hastalarının Bazal Özellikleri	36
4.3.	Ekokardiyografi parametrelerin değerlendirilmesi	37
4.4.	Kemoterapi Öncesi ve Sonrası Kan Parametreleri ve GLS'nin Değerlendirilmesi	40
4.5.	miR-1 Ekspresyon Seviyelerinin Değerlendirilmesi	41
4.6.	Subklinik Kardiyotoksisite Gelişen Grupta ROC Analizi Sonuçları	42
4.7.	LA Strain Parametreleri	46
4.8.	Subklinik Kardiyotoksisite ile İlişkili Aktörleri Gösteren Çok Değişkenli Regresyon Analizi Sonuçları	52
5.	TARTIŞMA	53
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	59
	KAYNAKLAR	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

AC	Antrasiklin
AİK	Antrasiklin İle İndüklenen Kardiyomyopati
AMI	Akut Miyokard İnfarktüsü
ANP	Atriyal Natriüretik Peptit
ASCO	Amerikan Klinik Onkoloji Derneği
ASE	Amerikan Ekokardiyografi Derneği
AUC	Eğri Altındaki Alan
BAP	Bilimsel Araştırma Projesi
cTn	Kardiyak Troponin
CREC	Kardiyak Gözden Geçirme ve Değerlendirme Komitesi
CTCAE	Advers Olaylar için Ortak Terminoloji Kriterleri
CTR-CD	Kanser Tedavisi İle İlişkili Kardiyak Disfonksiyon
DOX	Doksorubisin
EACVI	Avrupa Kardiyovasküler Görüntüleme Derneği
EKG	Elektrokardiyografi
EKO	Ekokardiyografi
ESC	Avrupa Kardiyoloji Derneği
ESMO	Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği
Fab	Fragman Antijen Bağlaması
FDA	ABD Gıda ve İlaç İdaresi

GFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
GLS	Global Longitudinal strain
HFA-ICOS	Avrupa Kalp Yetmezliği Ve Uluslararası Kardiyo-Onkoloji Derneği
Hs- cTnT	Yüksek Duyarlıklı Kardiyak Troponin T
KAH	Koroner Arter Hastalığı
KBH	Kronik Böbrek Hastalığı
KT	Kemoterapi
KY	Kalp Yetmezliği
LA	Sol Atrium
LAEF	Sol Atrium Ejeksiyon Fraksiyonu
LAScd	Sol Atrium Kondüit Strain
LASr	Sol Atrium Rezervuar Strain
LASct	Sol Atrium Kontraktil Strain
LAV	Sol Atrium Volüm
LAVİ	Sol Atriyum Volüm İndeksi
Lod	Testin Saptanma Sınırı
LV	Sol Ventrikül
LVEF	LVEFsiyonu
miRNA	MikroRNA
mRNA	Haberci RNA

NT-proBNP	N-terminal Pro-Beyin Natriüretik Peptid
ROS	Reaktif Oksijen Radikalleri
Tn	Troponin
TOP2	Topoizomeraz-II

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1 Bazal kardiyovasküler toksisite riskini belirlemek için kullanılan klinik ve labaratuvar değişkenleri.	19
3.1 Sol atriyal volüm hesaplamalarında kullandığımız ekokardiyografik görüntüler.	32
3.2 Sol atriyal straini değerlendirdiğimiz bir ekokardiyografik görüntü.	33
3.3 Sol ventrikül strain değerlendirilen hastamızdaki ekokardiyografik görüntü.	34
4.1 Çalışma grubunda KT sonrası Hs-cTnT değerlerinin KT sonrası GLS'de %15 düşüşü belirlemesine göre tanısal geçerliğini gösteren ROC analiz eğrisi.	43
4.2 Çalışma grubunda KT sonrası miR - 1 ekspresyon değerlerinin KT sonrası GLS'de %15 düşüşü belirlemesine göre tanısal geçerliğini gösteren ROC analiz eğrisi.	44
4.3 Çalışma grubunda KT sonrası NT - proBNP değerlerinin KT sonrası GLS'de %15 düşüşü belirlemesine göre tanısal geçerliğini gösteren ROC analiz eğrisi.	45
4.4 Çalışma grubunda KT 24 - 48 saat sonrası NT-proBNP'nin İ bazal değere göre değerindeki değişimin KT sonrası GLS'de %15 düşüşü belirlemesine göre tanısal geçerliğini gösteren ROC analiz eğrisi.	46

TABLolar

	Sayfa
2.1 Kardiyotoksisite için risk değerlendirme parametreleri.	4
2.2 Hs-cTn tahlillerinin klinik etkileri.	7
2.3 Kemoterapötik ajana göre kardiyotoksisitenin patofizyolojisi ve biyobelirteçlerin tanısal rolü.	12
2.4 Kardiyotoksisitenin tanımı.	17
2.5 EF ve GLS değerleri.	18
2.6 Antrasiklin alan kanserli hastalarda bazal kardiyovasküler değerlendirme için kullanılan HFA-ICOS risk sınıflandırılması.	20
3.1 RNA izolasyonunda kullanılan kit içeriği.	25
3.2 cDNA standart reaksiyon (1 örnek için).	25
3.3 Sıcaklık ve süre değerleri.	26
3.4 Real Time PCR Standart Reaksiyon (1 örnek için).	26
3.5 RT-QPCR protokolü.	27
4.1 Çalışma grubunun yaş ve vücut kitle özellikleri.	36
4.2 Tümör özellikleri.	37
4.3 Çalışma grubundaki hastaların KT öncesi, KT sonrası 1. ay ve KT sonrası 1.yıl EKO parametrelerinin karşılaştırılması.	39
4.4 Çalışma grubunda hastaların serum NT-proBNP, Hs- cTn ve plazma miR-1 değişkenlerinin KT öncesi ve KT 24-48 saat sonrası değerlerinin karşılaştırılması.	40
4.5 Çalışma grubunda hastaların GLS değişkeninin KT öncesi, KT sonrası 1. ay ve 1. yıl değerlerinin karşılaştırılması.	41
4.6 Çalışma grubunda hastaların miR-1 DeltaCT değişkeninde KT öncesi, KT 24-48 saat sonrası değerlerinin karşılaştırılması ve 'Fold Change' ortalamaları.	42

4.7 Subklinik kardiyotoksisite gelişen grupta KT sonrası 1. ay EKO parametrelerinin bazale göre değişimleri.	48
4.8 Subklinik kardiyotoksisite gelişen ve gelişmeyen grupta KT 1. yıl sonrası değişimlerinin bazale göre p değerleri.	50
4.9 Subklinik kardiyotoksisite gelişen grupta KT sonrası 24-48 saatte NT-proBNP, Hs-cTnT ve MiR-1 DeltaCT'nin bazale göre değişimi.	51
4.10 Subklinik kardiyotoksisite ile ilişkili değişkenleri belirlemek için çok değişkenli lojistik regresyon analizi.	52

1. GİRİŞ

Meme kanseri, dünya çapında kadınlar arasında en sık görülen kanser türlerinden birisidir. Antrasiklin türevi kemoterapötik ajanlar sarkoma ve meme kanseri tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (1). Tedavide önemli yararlar sağlamakla birlikte miyokart dokusuna toksik etkilerinden dolayı kardiyak komplikasyonlara yol açabilmektedir. Antrasiklinlere bağlı reaktif oksijen radikalleri (ROS) oluşabilmektedir ve DNA'da hasar gelişebilmektedir. Bu da miyositlerin ölümüne yol açarak sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda (LVEF) azalmaya neden olabilmektedir. Kardiyotoksisite olarak adlandırılan bu durum hastaların yaklaşık %10'unda görülmektedir (2).

Günümüzde miyokard hasarı belirtici olarak en sık kullanılan molekül kardiyak troponinlerdir. Troponinler doku hasarı oluşuktan sonra plazmada tespit edilebilmektedirler. N-terminal pro-beyin natriüretik peptid (NT-proBNP), kalp yetmezliği tanısında ve tedavisinin düzenlenmesinde kullanılan en önemli belirteçlerdendir (3). MikroRNA'lar (miRNA), gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol alan protein olmayan küçük kodlu RNA'lardır. Son zamanlarda, miR-1, -146a, -133b, -208a, -208b ve -423-5p gibi bazı dolaşımdaki miRNA'ların, miyokard hasarı, kalp yetmezliği ve/veya ilaca bağlı kardiyotoksisitenin prediktörleri olduğu tespit edilmiştir (4). Kardiyotoksisite prediktörlüğü açısından cTn ile miRNA düzeylerini karşılaştıran çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmada, meme kanseri tanısı alan ve antrasiklin (AC) kemoterapisi (KT) başlanan hastaların plazmalarında KT öncesi ve sonrası miR-1'in ekspresyonu ve serumda yüksek duyarlıklı kardiyak troponin (hs-cTn) ve NT-proBNP seviyesi ölçülecektir.

Çalışmamızda kanser tanısı alan ve AC tedavisi başlanan hastaların plazmalarında tedavi öncesi ve KT 24-48 saat sonrası miR-1'in ekspresyonuna, serum hs-cTn ve NT-proBNP seviyelerine bakılacaktır. Çalışmamızın amacı miRNA'ların günümüzde kardiyak hasarın belirlenmesinde en sık kullanılan hs-cTn ve NT-proBNP'ye kardiyotoksisitenin prediktörlüğü açısından üstünlüğü olup olmadığının tespit edilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kardiyak Biyobelirteçler

Kardiyotoksiteyi tespit etmede KT öncesi ve KT süresince kardiyak biyobelirteçlerin (cTn, BNP, NT-proBNP) kullanımı erken kardiyak hasarı saptamak amacıyla bakılması önerilen tanı yöntemleri arasında yer alır (Tablo 2.1) (5). Mevcut yayınlarda olumsuz bir sonlanım halinde uygulanacak stratejinin yanı sıra, KT'ye ilişkin laboratuvar değerlendirmesinin zamanlaması ve belirli bir test için normalin en üst sınırının tanımlanması da çok açık değildir (6).

2.1.1. Mikro RNA

Mikro RNA'lar; gelişme, farklılaşma, apoptoz, hücre çoğalması ve hücre yaşlanma dahil olmak üzere çeşitli biyolojik süreçlerde önemli bir rol oynayan 19-22 nükleotitten oluşan kodlanmayan küçük RNA moleküllerinin bir sınıfıdır (7). Haberci RNA (mRNA) stabilitesini etkileyerek protein translasyonunun negatif düzenleyicileri olarak hareket edip sayısız sinyal yolunu ve hücresel süreçleri modüle ederler ve hücreden hücreye iletişimde yer alırlar. Bu nedenle, miRNA'lar üzerindeki çalışmalar, karmaşık biyolojik mekanizmalar hakkındaki düşüncelerimizi açıklamak için yeni bilgiler sunmaktadır (8).

Kardiyovasküler sistemde miRNA'lar kardiyomiyositler, endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve fibroblastlar gibi çeşitli hücrelerin fonksiyonlarını kontrol eder (4). Mikro RNA'ların kardiyovasküler sistemdeki önemli rolü, miyokard enfarktüsü, hipertrofi, fibrozis, kalp yetmezliği, aritmi, inflamasyon ve ateroskleroz gibi bozuklukların patofizyolojisine yeni bir bakış açısı sağlar. Mikro RNA'lar hastalıklı dokuda farklı şekilde eksprese edilir ve dolaşıma salınabilir. Mikro RNA aktivitesinin düzenlenmesi, bir hastalığın seyrini etkileyebildiği gösterilmiştir (4). Bu nedenle miRNA'lar, yeni teşhis ve tedavi araçları geliştirmek için aktif bir araştırma alanı haline gelmiştir.

MiR-1'in etkinliđi, fetal dönemde kardiyovasküler sistemin oluřma ařamasında post transkripsiyonel dűzenlemede bařlamaktadır. Tek bařına veya diđer miR-1'ler ile emrionik kűk hűcre ve kardiyomiyosit pregenitűr hűcre geliřimine katılır (7,8). MiR-1'in iřlevi miyokardın, Nkx2.5, SRF faktűrleri, WNT ve FGF sinyal yolları gibi kardiyak transkripsiyon faktűrleriyle iliřkilidir. Siklin bađımlı kinaz-9 (Cdk9), histon deasetilaz 4 (HDAC4), Sox6, 16 FZD7 ve FRS2 gibi miR-1 hedefli genler, kardiyak geliřimde veya iřlevde rol oynar (7,9,10).

Kemoterapiden űnce miR-1 seviyelerinin daha dűřűk olması beklenir (11). Bcl-2'yi hedefleyerek kardiyomiyosit apoptozunu dűzenler. Bcl-2 geni anti-apoptotik bir gendir ve hűcrenin apoptoza gidiřini engeller. Dolayısıyla miR-1'in Bcl-2'yi hedeflemesiyle birlikte kardiyomiyosit hűcreleri apoptoza gider ve kardiyak hasar oluřur. miR-1 kardiyomiyositlerde hidrojen peroksitle (ROS) indűklenen apoptozu dűzenler ve kardiyomiyositlerde antioksidan genlerin ekspresyonunu baskılar (12).

Kardiyovaskűler hastalıklar, dűnyadaki en yaygın űlűm nedenidir ve bu űlűmlerin bűyűk űođunluđunu aritmilere bađlı ani űlűmler oluřurmaktadır (13). MiR-1'in anormal up-regűlasyonu potasyum voltaj kapılı kanal alt űyesi İçe dođru dođrultucu K kanalı 2.1 ve gap junction protein alfa 1/connexin 43 yolu ile ilgili genlerin ekspresyonunu baskılayıp repolarizasyon sırasında K⁺ akımını etkileyerek aritmiyi indűkleyebilir (13).

Doksorubisin (DOX) kaynaklı kardiyotoksisitenin ortaya űıkması, uygulanan kűműlatif DOX dozu, yař ve trastuzumab gibi ila űlarla eřzamanlı tedavi gibi űeřitli risk faktűrlerine bađlı olarak olduk űa deđiřkenlik gűstermektedir (2,13).

Kardiyotoksisite i űin risk deđerlendirme parametreleri tablo 2.1'de gűsterilmiřtir (5,14).

Tablo 2.1 Kardiyotoksisite için risk değerlendirme parametreleri.

Kalp hastalığı öyküsü
Kanser tedavisi öyküsü
Kardiyovasküler risk faktörleri
Kan basıncı
Glikolize hemoglobin (HbA1c)
Lipid profili
Kardiyak biyobelirteçler
Kardiyak troponin (cTn)
B-tipi natriüretik peptid (BNP)
N-terminal proBNP (NT-proBNP)
Elektrokardiyogram (EKG)
Ekokardiyografi (EKO)

BNP: B-tipi Natriüretik Peptid, cTN: Kardiyak Troponin, EKG: Elektrokardiyografi, HbA1c: Glikolize Hemoglobin, NT-proBNP: N-terminal Pro-Beyin Natriüretik Peptid

Doksorubisin ile tedavi edilen kardiyotoksisite gelişen hastalarda miR-1 ekspresyonunda artış meydana gelir. miR-1 antiapoptotik bir gen olan Bcl2'yi hedefler. miR-1 bcl2'yi susturunca hücreler apoptoza gider ve kardiyak hasar oluşur. Bu mekanizmalardan dolayı KT'nin kardiyotoksik etkisini bastırmak için terapötik bir hedef olarak kullanılabilecek yeni araştırmalar yapılmaktadır (12,15).

2.1.2. Troponin

Troponin kompleksi, çizgili kasların kasılmasını düzenler ve üç alt birimden (TnC, TcT ve TnI) oluşur. Troponin C, kalsiyum iyonlarına bağlanan 18 ku'luk bir proteindir. Troponin T, tropomiyosine bağlanan ve böylece Tn kompleksini ince filamente bağlayan 37 ku'luk bir proteindir. Troponin I, aktine

bağlanan ve TnC'nin kalsiyum için afinitesini azaltan, böylece aktin-miyozin etkileşimlerini inhibe eden 24 ku'luk bir proteindir (16).

Troponin T ve TnI, kalp ve iskelet kaslarında bulunur, ancak iki kas tipindeki farklı genler tarafından kodlanır ve immünolojik olarak farklı proteinler verir (15). Yüksek afiniteli antikora dayanan ve cTnT ve cTnI için spesifik olan testler mevcuttur. Kardiyak TnC ve iskelet TnC'nin amino asit dizisi aynı olduğundan, TnC bileşeni için bu tür testler geliştirilmemiştir.

Kardiyak Tn'nin çoğunluğu miyofilamanlara bağlıdır ve toplam miktarın %3-8'ini oluşturan bu kısmı dışındaki cTn ise sitozolde serbesttir. Kardiyomiyositin sarkolemmal membranının bozulmasından sonra, sitoplazmik havuzdan Tn başlangıçta bir miktar salınır, ardından bozulan miyofilamanlara bağlı olarak daha uzun süreli bir salınım olur. Periferik kanda cTnT, miyokard hasarının başlangıcından üç ila dört saat sonra yükselmeye başlar ve 10-14 gün boyunca yüksek kalır (15).

Yüksek duyarlılıklı cTnT testi, dördüncü nesil cTnT testinin bir modifikasyonudur. Biyotinlenmiş yakalama antikoru değiştirilmemiştir. Tespit antikoru genetik olarak yeniden tasarlanıp monoklonal fare FAB fragmanındaki sabit C1 bölgesini bir insan IgG C1 bölgesi ile değiştirilerek bir fare-insan kimerik tespit antikoru meydana getirildi. Bu değiştirmenin mantığı, heterofilik antikörlerin müdahaleye karşı duyarlılığını daha da azaltıp kardiyak spesifiteyi artırmaktır. Tespit antikorunun değişken bölgesi, dördüncü nesil testiyle aynıdır (17,18).

Analitik hassasiyet, numune hacmi 15 µL'den 50 µL'ye yükseltilip, tespit antikorunun rutenyum konsantrasyonu artırılarak ve tampon optimizasyonu yoluyla arka plan sinyali düşürülerek iyileştirildi. Daha düşük test saptama sınırı(LoD) ve artan hassasiyet nedeniyle hs-cTnT testi, kalp yaralanmasının göstergesi olan daha ince yükselmeleri saptayabilmektedir (17).

Akut miyokard infarktüsü (AMI), 2020 de yayımlanan Avrupa Kardiyoloji Derneğinin ST Elevasyonu Olmayan Akut Koroner Sendrom (NSTEMI-AKS) kılavuzuna göre akut miyokard iskemisi ile uyumlu bir klinik ortamda kardiyomiyosit nekrozu olarak tanımlanır (19). Akut miyokard infarktüsü tanısı için birkaç kriter kombinasyonunun bulunması gerekmektedir. Bir kardiyak biyobelirteçte, tercihen yüksek hs-cTnT veya I'de, üst referans limitinin 99. persentilinin üzerinde en az bir değerle birlikte aşağıdakilerden en az birinin olması olarak tanımlanmaktadır (12):

- a) Miyokard iskemi belirtileri
- b) Yeni gelişen iskemik EKG değişiklikleri
- c) EKG'de patolojik Q dalgalarının gelişimi
- d) Canlı miyokard dokusu kaybının veya iskemik etyoloji ile uyumlu yeni bölgesel duvar hareket bozukluğunun görüntüleme yöntemleri ile gösterilmesi
- e) Anjiyografi veya otopside saptanan intrakoroner trombus

Kardiyak troponin, AMI teşhisi için tercih edilen biyobelirteçtir. Yüksek duyarlılıklı cTnT testinin yakın zamanda geliştirilmesiyle birlikte, çok düşük cTnT seviyelerinin saptanması daha kolay hale gelmiştir (18).

Yüksek duyarlılıklı cTnT testinin kullanılması, AMI şüphesi olan hastalarda tanı doğruluğunu artırırken, negatif bir sonucun da yüksek bir negatif prediktif değeri vardır. Yüksek duyarlılıklı cTnT'nin duyarlılığı, özellikle semptomların başlangıcından başvuruya kadar kısa bir süreye sahip hastalarda ekartasyon açısından daha da önemli olabilir. Kardiyak TnT'nin yüksek duyarlılıklı yöntemlerle ölçümü; akut koroner sendrom, stabil koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği olan hastalarda ve hatta genel popülasyonda güçlü prognostik bilgi sağlayabilmesi nedeniyle önem arz etmektedir (17).

Standart cTn testleri ile karşılaştırıldığında, hs-cTn testlerinin klinik etkileri tablo 2.2'de gösterilmiştir (18).

Tablo 2.2 Hs-cTn tahlillerinin klinik etkileri.

Akut Miyokart İnfarktüsü (AMI) için daha yüksek negatif prediktif değer (NPV)'e sahiptir.
AMI'nın daha erken saptanmasına yol açan 'troponin-kör' aralığını azaltır.
Tip 1 Miyokart infarktüsü (MI) tespitinde yaklaşık %4 mutlak ve yaklaşık %20 nispi artış ve kararsız angina tanısında buna karşılık gelen bir azalma olur.
Tip 2 MI tespitinde 2 kat artış ile ilişkilidir.
High sensitive kardiyak troponin (hs-cTn) seviyeleri, kardiyomiyosit hasarının nicel belirteçleri olarak yorumlanmalıdır (yani, seviye ne kadar yüksekse, MI olasılığı da o kadar yüksektir).
Akut tip 1 MI için üst referans sınırının 5 katının üzerindeki yükselmeler yüksek (>%90) pozitif prediktif değer (PPV)'e sahiptir.
Üst referans sınırının 3 katına kadar olan yükselmeler, AMI için yalnızca sınırlı (%50-60) PPV'ye sahiptir ve geniş bir koşullar yelpazesi ile ilişkilendirilebilir.
Sağlıklı bireylerde dolaşımdaki kardiyak troponin düzeylerinin saptanması yaygındır.

AMI: Akut Miyokart İnfarktüsü, hs-cTn: High Sensitif Kardiyak Troponin NPV: Negatif Prediktif Değer, PPV: Pozitif Prediktif Değer

Yüksek duyarlıklı cTn değeri ne kadar yüksek olursa miyokard enfarktüs olasılığı da o derecede yükselmektedir (20).

Akut miyokart infarktüsü dekompanse kalp yetmezliğinin (KY) önemli bir nedenidir; bu nedenle, akut KY belirti ve semptomları ile başvuran hastaların değerlendirilmesinin rutin bir parçası olarak Tn ölçümü önerilmektedir. Akılda tutulması gereken bir nokta da hs-cTn tahlillerini kullanırken, kalp yetmezliği olan hastalarda 99. persentil sınırının üzerindeki konsantrasyon değerleri yaygın olarak görülmektedir ve KY'nin akut dekompanseasyonu olanlarda sıklıkla bir artış veya düşüşle karşılaşılabilir (21). Bu, AMI için tanısal değerlendirmeyi daha zor hale getirirse de, hs-cTn tahlilleriyle elde edilen anormal sonuçlar, KY'de önemli bir prognostik göstergedir. Anormal cTn, miyokardiyal iskemiden, miyokardiyal stresten, kardiyomiyosit apoptozundan, kardiyomiyosit otofajisinden ve sitozolik Tn eksozomal salınımından kaynaklanabilir (20).

Kalp yetmezliği olan hastalarda anormal hs-cTnI veya T konsantrasyonları; olumsuz ventriküler yeniden şekillenmeyi, gelecekteki kalp yetmezliği gelişimini, hastane yatışlarını ve ölümü ngrrdrebilir (22). Kronik böbrek hastalarında da (KBH) hastalarına benzer şekilde, hs-cTn konsantrasyonlarının seri testi, MI'yi KY'ye bağlı kronik hs-cTn yükselmelerinden ayırmaya yardımcı olabilir (20).

Çok sayıda çalışma, akut KY'deki diğer olumsuz sonuçların yanı sıra cTn ile mortalite arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir. Temel bir cTn değer i bilindiğinde, Akut KY'de acil servise gelen hastaların risk sınıflandırmasına prognostik değer katabilir. Kardiyak Tn'deki herhangi bir kronik yükselme veya yakın zamanda Akut KY'den hastaneye yatıştan taburculuk sırasında sürekli yüksek cTn olması mortalite riskini artırır (23). Akut dekompanse KY hastalarında, pozitif bir cTn testi, diğer prediktif değerşkenlerden bağımsız olarak daha yüksek hastane i mortalite ile ilişkilidir (21).

Miyokardiyal doku için cTn'nin neredeyse mutlak özgüllüğe sahip olmasına rağmen, hs-cTnT testinin daha yüksek duyarlılığı kafa karışıklığına neden oluyor. Standart cTnT testi için, genel popülasyonda saptanabilir cTnT (≥ 0.01 ng/mL) prevalansı nadir (%0.7) olmakla birlikte hs-cTnT daha sık saptanabilir (17).

Bir çalışmada başlangıçta koroner arter hastalığı(KAH), serebrovasküler olay ve kalp yetmezliği olmayan 54-74 yaşındaki bireylerin %7,4'nde hs-cTnT konsantrasyonlarının 0,014 ng/MI'nin üzerinde olduğu saptanmıştır (24).Başka bir çalışmada da benzer bir oran bildirilmiştir (23). Önceden KY olmayan ≥ 65 yaşındaki erişkinlerde, bireylerin %16.6'sında ≥ 12.94 ng/L hs-cTnT konsantrasyonları saptanmıştır (23).

Esansiyel hipertansiyonu olan hastalarda, katılımcıların %78'inde hs-cTnT düzeyi saptanabilir (17). Yüksek duyarlıklı cTnT seviyeleri yaş, böbrek fonksiyonu ve sol ventrikül hipertrofisinin elektrokardiyografik bulgusu ile

bağımsız olarak korele olduğu bulunmuştur. Kardiyomiyositlerin apoptozisi, hipertansiyona bağlı kompansatuar hipertrofide önemli bir rol oynayabilir (17).

İnme, pulmoner emboli, sepsis, akut aort diseksiyonu, akut perimiyokardit, hipovolemi, miyokardiyal kontüzyon, Takotsubo kardiyomiyopatisi ve taşikardi gibi birçok hastalıkta cTn yükselmesi sık görülmektedir. Akut miyokart infarktüsü olmayan hastalarda saptanabilir hs-cTnT; abartılı katekolamin salınımı, artan ventriküler yük, oksijen arz-talebinde dengesizlik, inflamatuvar süreçler, hipoksi ve subendokardiyal iskeminin neden olduğu hızlandırılmış hücre döngüsünün daha malign bir sürecini de yansıtabilir (18,25).

2.1.3. N-Terminal Pro-Beyin Natriüretik Peptid

Kalbin endokrin bir işlevi olabileceği şüphesi yaklaşık elli yıl önce ortaya atılmıştı. O zamanlar atrium dilatasyonuna bağlı olarak natriürezisi sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca endokrin hücrelerde bulunanlara benzeyen atriyal miyositlerdeki hücre içi granüllerin elektron mikroskobu ile gösterilmesi, kalbin bir endokrin organ olabileceği fikrini desteklemiştir. Bunun kesin gösterimi, 1981'de yayınlanan klasik deneylerinde Bold ve arkadaşları tarafından sağlanmıştır. Sıçanlara atriyal miyositlerden ekstreler enjekte ettiler ve canlı bir natriürez ve diürez gözlemlediler (26). Flynn ve ark. (27), atriyal natriüretik faktör (ANF), daha sonra atriyal natriüretik peptit (ANP) olarak adlandırılan aktif faktörün, halka yapısı oluşturan ve bir disülfid köprüsü içeren 28 amino asitli bir peptit olduğunu göstermiştir (28).

1988'de Matsuo'nun araştırma grubunda çalışan Sudoh, beyin natriüretik peptidi (BNP) olarak adlandırılan domuz beyninden ANP benzeri bir natriüretik peptidi tespit etmiştir. Sonraki deneyler, BNP'nin kardiyak miyositlerde üretildiğini ve ANP ile periferik reseptörleri paylaştığını göstermiştir. Sonuç olarak, kalbin homolog bir yapıya sahip iki kardiyak natriüretik peptit, ANP ve BNP salgıladığını bilmekteyiz (26).

Troponin ve natriüretik peptitler, kalp biyobelirteçleri olarak birçok kalp hastalıklarının tanısında ve prognozunun belirlenmesinde önemli bir rol

oynamaktadır. Bununla birlikte, kardiyotoksitenin saptanmasında ve onko-kardiyolojik hastaların tedavisinin yönetiminde de önemli bir role sahip oldukları bilinmektedir. Troponin, BNP veya NT-proBNP düzeylerinin yükselmesi, tüm nedenlere bağlı mortalitenin artmasıyla ilişkilidir ve seçilmiş topluluklarda kalp yetmezliği gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (21).

Biyobelirteçler birçok kardiyovasküler hastalığın tanı ve tedavisi için kullanılmaktadır. B-tipi natriüretik peptit ve NT-proBNP, kalp yetmezliğinin tanısında kullanılan temel biyobelirteçlerdir (21). BNP'nin yarı ömrü yaklaşık 20 dakika ve NT-proBNP'ninki ise yaklaşık 120 dakikadır (21). Bunun sonucu olarak NT-proBNP plazma konsantrasyonu BNP'ye göre 4 ila 6 kat daha yüksek bulunmaktadır. BNP, glomerüler filtrasyon hızını (GFR) ve vazodilatasyonu artırarak ve istenmeyen miyokardiyal yeniden şekillenmeyi önleyerek kardiyak ön yükü ve ard yükü azaltır. Her iki biyobelirteç de kalp yetmezliği tanısında yüksek duyarlılığa ancak düşük özgüllüğe sahiptir (29). Avrupa Kardiyoloji Derneği'nin (ESC) kılavuzlarında, BNP/NT-proBNP kalp yetmezliği tanısında kullanılan kriterlerdendir (21).

Kardiyak miyositler, dolaşımdaki BNP ile ilişkili peptitlerin ana kaynağını oluşturur. Son zamanlarda, kardiyak fibroblastların da BNP ürettiği gösterilmiştir (30). Bu son kaynağın dolaşımdaki plazma konsantrasyonlarına nicel katkısı bilinmemektedir. Atrial natriüretik peptit ve BNP peptit sentezi ve salgılanması için ana uyarıcı kardiyak duvar stresidir. Ayrıca in vitro deneyler, diğer nörohormonların bir parakrin ve muhtemelen endokrin tarzda kardiyak BNP üretimini modüle edebileceğini göstermiştir. Artmış kardiyak duvar stresi birçok kardiyak hastalığın ortak bir paydası olduğundan, dolaşımdaki natriüretik peptitlerin bu durumların klinik biyokimyasal belirteçleri olduğu düşünülebilir.

Atrial natriüretik peptit, atriyal granüllerde depolanır ve atriyal gerilmeye, ANP ile ilgili peptitlerin hızlı bir şekilde salınması eşlik eder. Buna karşılık NT-proBNP, yapısal bir mekanizma tarafından salgılanır. Granüllerde yalnızca küçük miktarların depolanmaktadır ve hücreler artan peptit salgılanması gerektiğinde BNP geninin aktivasyonunu başlatmaktadır. Ancak ANP'ye

kıyasla BNP geninin aktivasyonu daha hızlı gerçekleşir. Özetle, dolaşımdaki BNP peptit seviyelerindeki değişiklik ANP ile ilgili olanlardan daha hızlı olur (26).

Birçok komorbidite ve özellikle böbrek yetmezliği, natriüretik peptitlerin plazma seviyelerini etkiler, bu da kalp yetmezliği tanısında bir şekilde sınırlı özgüllüğü açıklayabilir. Aynı zamanda, böbrek yetmezliğinde her iki peptidin (NT-proBNP/BNP) plazma konsantrasyonlarının arttığı ve NT-proBNP/BNP oranının tahmini GFR ile ters orantılı olduğu unutulmamalıdır. Ayrıca ileri yaş, kadın cinsiyet, hipertansiyon, atriyal fibrilasyon ve diabetes mellitus, yüksek BNP/NT-proBNP seviyelerine neden olabileceği akılda tutulmalıdır. Kanser ve tümör tedavisi alan hastalarda, natriüretik peptitlerin seviyeleri diğer durumların yanı sıra, anemi ve sıvı ikamesinden de etkilenebileceği akılda tutulmalıdır (21,27).

Kardiyotoksik kanser tedavisi planlanan hastalarda, bazal riski değerlendirmede klinik , EKG, strain analizleri içeren bir ekokardiyografi (EKO) ve cTnI/T ve NT-proBNP'nin belirlenmesi ESC tarafından önerilmektedir (31). Bu temel çalışmalarda patolojik bulgular (LVEF <%50, anormal strain analizi, yüksek cTn ve/veya NT-proBNP) tespit edilirse hastanın tedavi yaklaşımı kardiyolojik ile birlikte belirlenmelidir.

2.2. Antrasiklinler

Antrasiklinler, *Streptomyces* spp.'den elde edilen ilaçlardır ve çeşitli kanser türlerini tedavi etmek için kullanılır. Antrasiklinler, hem pediatrik hem de yetişkin hastalarda bir dizi farklı maligniteyi tedavi etmek için kullanılan KT rejimlerinin temel bir parçasını oluşturur. Bu ilaçlar en etkili antikanser ajanlarından (32). Öte yandan, AC'ler kardiyotoksiktir. İdarubisin ve epirubisin, doğal olarak üretilen AC'ler olan doksorubisin ve daunorubisinin sentetik analoglarıdır. Kimyasal olarak çok az farklılık içermelerine karşın klinik aktivite farklılıkları bulunmaktadır. Daunorubisin ve idarubisin öncelikle akut lösemilerde kullanılırken, doksorubisin ve epirubisin solid tümörlere karşı daha geniş aktivite göstermektedirler. Bu ajanlar, DNA interkalasyonu ile DNA, RNA

ya da her ikisinin de sentezini bloke ederler ve DNA iplikçiklerinin parçalanmasına neden olarak hücre replikasyonuna engel olurlar. Diğer önemli sitotoksik mekanizmaları ise; serbest oksijen radikalleri oluşturarak topoizomeraaz-II (TOP2) inhibisyonu yapmak ve hücre membranına bağlanarak akışkanlığı ve iyon transportunu değiştirmektir (30).

Kemoterapötik ajana göre kardiyotoksisitenin patofizyolojisi ve biyobelirteçlerin tanısal rolü tabloda gösterilmiştir (3).

Tablo 2.3 Kemoterapötik ajana göre kardiyotoksisitenin patofizyolojisi ve biyobelirteçlerin tanısal rolü (3).

Kardiyotoksik Kansere İlaçları	Patofizyoloji	Biyobelirteçler
Antrasiklinler	Mitokondriyal hasar Miyofibril kaybı Miyosit yıkımı Miyokardiyal fibrosis Apoptoz, nekroz	Akut-erken dönemde: cTnI/T >>> NP Geç dönemde: NP >> cTn
Transtuzumab ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü (HER-2) Hedefli Ajanlar	HER-2 sinyal yolak inhibisyonu Kardiyomiyosit kontraktilesinde bozulma Reversible kardiyak disfonksiyon	(NP) >> (cTn)
İmmün Check Point İnhibitörler	Otoimmün miyokardit Perikardit, vaskülit Noninflamatuvar Sol ventrikül (LV) disfonksiyon/Kalp Yetersizliği (KY)	cTn ve/veya NP

cTn: Kardiyak, HER-2: insan epidermal büyüme faktörü reseptörü Troponin, KY: Kalp Yetmezliği, LV: Sol Ventrikül NP: Natriüretik Peptid

2.2.1. Antrasiklinler ve Kardiyotoksisite

Antrasiklin kardiyotoksisitesinin mekanizmaları belirsizliğini korumaya devam etmektedir. Antrasiklinlerin ilk keşfinden bu yana, kardiyotoksik potansiyellerinden sorumlu olan ana mekanizma, ROS üretimine atfedilmiştir. DNA hasarı, mitokondriyal disfonksiyon, protein sentezinde zayıflama ve

hücre içi kalsiyum düzensizliği gibi ROS'a bağlı birkaç mekanizma ileri sürülmüştür. Topoizomeraz-2 β , AC'nin kardiyak toksik etkisinde kritik bir öneme sahiptir. Çünkü Top2 β 'nin kardiyak spesifik delesyonu olan farelerin DOX kardiyomiyopatisine karşı korunduğunu göstermektedir (33). Topoizomeraz-2 β , DNA replikasyonu, transkripsiyon veya rekombinasyon sırasında DNA filamentlerini açabilir. Topoizomeraz-2 β 'nin AC inhibisyonu mitokondriyal disfonksiyona neden olur ve hücre ölüm yollarının aktivasyonuna ve ROS birikimine yol açar (24).

Kardiyomiyositler, her zaman kalpteki AC'lerin toksik etkisinin ana hücresel hedefi olarak kabul edilmiştir. Çünkü onların yıkımı, kardiyak disfonksiyonun ilerlemesine neden olur. Bununla birlikte, yakın zamanlarda, kalp progenitör hücreleri, kardiyak fibroblastlar ve endotelial hücreler gibi diğer hücre tipleri, potansiyel ek hedefler olarak tanımlanmıştı ve bu durum antrasiklin kaynaklı kardiyomiyopatinin (AİK) patogenezinde daha karmaşık ve ilgi çekici bir senaryo yaratmıştır (31).

Daha önceden ilk iki hafta içinde başlayan kardiyotoksisite akut kardiyotoksisite, ilk yıl içinde geliştiğinde erken başlangıçlı kronik kardiyotoksisite, birinci yıldan sonra başladığında ise geç başlangıçlı kronik kardiyotoksisite olarak adlandırılıyordu. Ortaya çıkan son bulgularla beraber bu eski sınıflandırmaya karşı, AİK'in potansiyel olarak sürekli bir fenomen olduğu, miyokardiyal hücre seviyesinden başlayıp ilerleyici fonksiyonel bozulmanın ardından giderek aşikar kalp yetmezliğine yol açtığı öne sürülmeye başlandı. Antrasikline bağlı kardiyotoksisite, subklinik miyokardiyal hasarla (miyokart hasarı ve global longitudinal strain(GLS)'de düşüşle devam eden diyastolik disfonksiyon) başlayan, LVEF'de erken asemptomatik düşüşe kadar ilerleyen ve uygun şekilde tedavi edilmezse semptomatik ve sıklıkla kronik kalp yetmezliği ile devam eden bir tablo olarak görülebilir (31).

Kardiyotoksisite gelişimine hasta özellikleri ve kullanılan KT rejimi ile ilgili durumlar katkıda bulunabilmektedir. Kardiyotoksisite gelişimini engellemek için kardiyolojik durumları belli başlı alt gruplarda değerlendirmek gereklidir. Kardiyak açıdan bakıldığında KT öncesi bazal EKO

ile LVEF değeriendirilmesi yapılmalıdır. Strain görüntüleme, cTn ve NT-proBNP düzeylerinin KT aldığı sürece belli aralıklarla bakılmasının da faydalı olabileceğı belirtilmektedir (34).

Kardiyotoksisite görüntülemesinde özellikle EKO önemli bir rol oynar. Birçok kılavuzda kardiyotoksisite LVEF’de belli bir azalma olarak tanımlamasından dolayı, birçok onkolog da kardiyotoksisite değeriendirmesini yalnızca LVEF ölçümüyle sınırlandırmaktadır. Bununla birlikte, kardiyolojide normal bir LVEF’in miyokardiyal disfonksiyonu tamamen dışlamadığı iyi bilinmektedir (35). Görüntülemde üç boyutlu EKO, daha iyi hacimsel ve daha iyi LVEF değeriendirmesine olanak sağlamasından dolayı ek katkılar sağlayabilir. Ek olarak, hekim tecrübesi ve hemodinamik değışkenler gibi etkenler LVEF’nu etkileyebilmekte ve bu da sınırlılıklar oluşturmaktadır. İntravenöz KT sırasında sıvı fazlalığına bağı kan basıncı ve kan hacmi değışiklikleri veya advers reaksiyonlar nedeniyle sıvı kaybı durumlarında LVEF hatalı değeriendirilebilir. Kardiyotoksisite değeriendirmesinde, EKO ile eş zamanlı kan basıncı ölçümü hemodinamik bozukluğa bağı yanlış yorumlamaların önüne geçebilir (34).

Kardiyotoksisitenin değeriendirilmesinde diyastolik fonksiyonların değeriendirilmesi (doku ve transmitral Doppler seri ölçüm analizi yapılarak), LV sistolik fonksiyon ölçümlerine kıyasla daha iyi bir duyarlılık seviyesine sahip değildir. Bu nedenlerden dolayı LV diyastolik disfonksiyonu kardiyotoksisite tanı ve takibinde LV sistolik disfonksiyonu kadar ön planda tutulmamaktadır (36).

Antrasiklin KT’si alan kanserli hastaları içeren son meta-analizlerde renin-anjiyotensin-aldosteron sistem blokerlerinin, beta blokerlerinin ve mineralokortikoid reseptör antagonistlerinin LVEF azalmasını önlemede önemli bir yararı olduğu ancak bunun istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığı görülmüştür (37). İstatistiksel anlamlılık tespit edilememiş olmasının nedeni çoğu çalışmada düşük HFA-ICOS risk puanı içeren hastaların yüksek oranda bulunmasından kaynaklanmış olabilir. Yüksek risk grubundaki hastalarda yapılacak Randomize Kontrollü Çalışmalara ihtiyaç vardır (38).

Kanser tedavisi seyrinde veya sonrasında gelişen miyokart disfonksiyonu kardiyotoksisite olarak tanımlanmaktadır. Tek bir tanım mevcut değildir. Literatürde mevcut olan tanımlamalar LVEF'yi kullanmaktadır. Kardiyotoksisite için değişik derneklerin birbirinden farklı LVEF ve GLS “cut-off” değeri önerileri vardır. Ancak 2016 ESC Kardiyo-Onkoloji kılavuzlarında benimsenen kanser terapisi ile ilişkili kardiyak disfonksiyon tanımı, LVEF'in % 50'nin altına düşmesi veya LVEF'nin tedaviye başlangıç değerine göre $> \%10$ nispi düşüş olması olarak tanımlanır (29). Global longitudinal straindeki değişiklikler de kanser terapisi ile ilişkili kardiyak disfonksiyonun erken bir işareti olarak kabul edilir. Takip sırasında, LV GLS'nin normal aralığının (normal $> \% -18$) altına düşmesi veya bu değerin başlangıç değerine göre $> \% 15$ nispi düşüşü ve normalin alt sınırının altına düşmesi anormal olarak kabul edilir (39). Kanser tedavisi ile ilişkili kardiyak disfonksiyon (CTR-CD) tanımı, en son ESC 2022 kardiyo-onkoloji kılavuzunda daha da detaylandırılmıştır (40). Kanser tedavisi ile ilişkili kardiyak disfonksiyon, semptomatik ve asemptomatik olarak ikiye ayrılıp bunlarda kendi içinde hafif,orta,şiddetli olarak değerlendirilir (40).

Semptomatik CTR-CD:

a) Çok şiddetli: İnotropik destek, mekanik dolaşım desteği veya transplantasyonun değerlendirilmesini gerektiren KY

b) Şiddetli: Kalp yetmezliği nedeniyle hastaneye yatış

c) Orta: Ayaktan diüretik ve KY tedavisinin yoğunlaştırılma ihtiyacının olması

d) Hafif: Hafif KY semptomları, tedavinin yoğunlaştırılması gerekmez

Asemptomatik CTR-CD:

a) Şiddetli: LVEF'nin $< \%40$ olması

b) Orta: LVEF'nin $\%40-49$ arasına gerilemesi ile birlikte $\geq \%10$ oranında LVEF azalması

VEYA

LVEF'nin %40-49 arasına gerilemesi ile birlikte < %10 oranında LVEF azalması VE aşağıdakilerden birinin olması:

-GLS'de başlangıca göre >%15 nispi düşüş

-Kardiyak biyobelirteçlerde artış (cTnI/cTnT. 99th percentile, BNP ≥ 35 pg/mL, NT-proBNP ≥ 125 pg/mL)

c) Hafif: LVEF $\geq$ %50

VE aşağıdakilerden birinin veya ikisinin olması:

-GLS'de başlangıca göre >%15 yeni nispi düşüş

-Kardiyak biyobelirteçlerde yeni artış (cTnI/cTnT. 99th percentile, BNP ≥ 35 pg/mL, NT-proBNP ≥ 125 pg/mL)

Bu tanımlamalar sık kullanılmakla beraber diğer derneklerin farklı cut-off değerleri aşağıdaki tablo 2.4'de gösterilmiştir (34).

Tablo 2.4 Kardiyotoksisitenin tanımı (35).

Organizasyon	Kardiyotoksisite Tanımı	Klinik
ASE / EACVI	LVEF 'de > %10 düşüş ile LVEF <%53 olması LV fonksiyonundaki düşüş global veya bölgesel (septum) olabilir.	KY semptomları olabilir / olmayabilir
ESMO /CREC	Semptomatik hastalarda en az %5 düşüş ile LVEF < %55 olması, asemptomatik hastalarda en az %10 düşüş ile LVEF < %55	
ASCO	LVEF<%55	
CTCAE	Evre 2: LVEF'da %10-19 düşüş ile istirahat LVEF'nin %40-50 olması Evre 3: LVEF'de > %20 düşüş ile LVEF'nin %20-39 olması Evre 4: istirahat LVEF'nin < %20 olması	Evre 1: Asemptomatik Evre 2: hafif –orta KY semptomları Evre 3: hafif efor veya istirahatte KY semptomları Evre 4: hayatı tehdit eden KY Evre 5: ölüm
FDA	LVEF normal ise EF'de > %20 düşüş, LVEF normalin altında ise EF'de > %10 düşüş	

ASCO: Amerikan Klinik Onkoloji Derneği, ASE: Amerikan Ekokardiyografi Derneği, CREC: Kardiyak Gözden Geçirme ve Değerlendirme Komitesi, CTCAE: Advers Olaylar için Ortak Terminoloji Kriterleri EACVI: Avrupa Kardiyovasküler Görüntüleme Derneği, ESMO: Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği, FDA: ABD Gıda ve İlaç İdaresi, KY: Kalp Yetmezliği, LVEF: Sol Ventrikül Ejeksiyon Fraksiyonu

Liu ve ark tarafından tedavi süresince ve tedavi sonrasında önerilen EF ve GLS değerleri tablo 2.5'de özetlenmiştir (39).

Tablo 2.5 EF ve GLS değerleri (39).

EF $\geq 60\%$	EF 50-59%	EF <50%
Normal Sistolik fonksiyon	GLS ≤ -18 ise korunmuş LV sistolik fonksiyon GLS -16 - -18 gri zon GLS ≥ -16 ise subklinik lv disfonksiyon	Anormal sistolik disfonksiyon

EF: Ejeksiyon Fraksiyonu, GLS: Global Longitudinal Strain

Tedavi öncesi CTR-CD risk değerlendirmesinde olması gereken hasta bazlı, bireyselleştirilmiş, daha fazla risk faktörünün değerlendirildiği bir sınıflandırma yönteminin kullanılmasıdır. Çok sayıda skorlama sistemi olmakla beraber prospektif çalışılan geniş bir sınıflandırma sistemi yoktur (41). Doğrulama için daha fazla çalışma gerekli olmakla birlikte, onkoloji ve hematoloji hizmetlerinde kullanımı ve uygulanması kolay olduğu için CTR-CD'nin tedavi öncesi riskini belirlemek için Avrupa Kalp Yetmezliği Ve Uluslararası Kardiyo-Onkoloji Derneği (HFA-ICOS) risk değerlendirme araçları olarak kullanılması düşünülmelidir (42). Aşağıdaki şekilde de gösterildiği gibi KT öncesi, KT aldığı sırada ve KT bittikten sonra klinik değişkenlerin ve laboratuvar testlerinin değerlendirilmesi önerilmektedir (40).



Şekil 2.1 Bazal kardiyovasküler toksisite riskini belirlemek için kullanılan klinik ve laboratuvar değişkenleri.

CTR-CD: Kanser Tedavisi İle İlişkili Kardiyak Disfonksiyon, EKG: Elektrokardiyografi, TTE: Trans Torasik Ekokardiyografi

Antrasiklin KT'si alan hastalarda 2022 ESC Kardiyo-Onkoloji kılavuzuna göre bazal kardiyovasküler riski değerlendirmede 6 risk faktörü değişkeninin ve bunların alt sınıflandırılmasının olduğu HFA-ICOS risk skorlamasının kullanılması önerilmektedir (40). Tüm bu değişkenleri çok yüksek, yüksek, orta1 ve orta 2 olarak puanlayıp risk faktörü yok ya da 1 tane orta 1 risk faktörü varsa **düşük risk**, orta risk faktörleri toplamı 2-4 ise **orta risk**, orta risk faktörleri toplamı ≥ 5 veya herhangi bir yüksek risk faktörü varsa **yüksek risk**, herhangi bir çok yüksek risk faktörü varsa **çok yüksek riskli** olarak belirlenmesi ve kardiyo-onkoloji ekibi tarafından değerlendirilmesi önerilmektedir (Tablo 2.6) (40).

Tablo 2.6 Antrasiklin alan kanserli hastalarda bazal kardiyovasküler değerlendirme için kullanılan HFA-ICOS risk sınıflandırılması (40).

Risk faktörü	Skor
Kardiyovasküler hastalık öyküsü	
KY veya KMP	Çok yüksek
Ciddi kapak hastalığı	Yüksek
MI veya PCI/CABG öyküsü	Yüksek
Stabil Anjina	Yüksek
Kardiyak görüntüleme	
Bazal EF< %50	Yüksek
Bazal EF %50-54	Orta2
Kardiyak Biyobelirteç(mevcutsa)	
Yüksek bazal troponin	Orta1
Yüksek bazal BNP/NT-proBNP	Orta1
Demografik özellikler ve KVH risk faktörleri	
Yaş ≥ 80	Yüksek
Yaş 65-79	Orta2
HT(Sistolik>140veya diyastolik>90 veya ilaç alıyor olmak)	Orta1
DM(HbA1c>7 veya ilaç alıyor olmak)	Orta1
KBH(GFR<60)	Orta1
Daha önceden kardiyotoksik kanser tedavisi almak	
Daha önceden AC'ye maruziyet	Yüksek
Daha önceden göğüse veya mediastene radyoterapi almak	Yüksek
Daha önceden AC dışı KT almak	Orta1
Yaşam tarzı risk faktörleri	
Mevcut durumda sigara içmek veya eskiden fazla miktarda sigaraya maruz kalmak	Orta1
Obezite (>30kg/m2)	Orta1

AC: Antrasiklin, CABG: Koroner Arter By-pas Grefti, DM: Diabetes Mellitus, EF: Ejeksiyon Fraksiyonu, GFR: Glomerüler Filtrasyon Hızı, HT: Hipertansiyon, KBH: Kronik Böbrek Hastalığı, KMP: Kardiyomiyopati, KT: Kemoterapi, KY: Kalp Yetmezliği, NT-proBNP: N-terminal Pro-Beyin Natriüretik Peptid

Klinik olarak risk gruplarına ayrılan hastalarda özellikle kümülatif alınan AC dozu ≥ 250 mg/m² doksorubisin veya diğer türevlerin doksorubisine eşdeğerlik (epirubisin dozu X 0,8=doksorubisin dozu) dozu yüksek doz olarak kabul edilmelidir (43).

Kemoterapiden sonraki 10 yıl içinde gelişen kardiyotoksisite oranları orta riskli grupta %2-%5 yüksek riskli grupta >%5 olarak belirtilmiştir (34). Antrasiklin kardiyotoksisitesi en çok KT başladıktan sonraki bir yıl içinde geliştiği için KT başladıktan sonraki 6. ve 12. ayda detaylı değerlendirme

yapılması önerilmektedir (34). Mevcutsa 3 boyutlu EKO'da LVEF ve GLS yöntemlerinin de kullanılması önerilmektedir (40).

Düşük riskli hastalarda bazal EKG, EKO ve cTn/NP bakılması önerilmektedir. Her iki siklus AC'den ve tedavi başlangıcından 3 ay sonra cTn/NP (sınıf 2b) bakılabilir. Dördüncü siklus sonrası ve tedavi başlangıcından 1 yıl sonra EKO yapılması önerilmektedir (40).

Orta riskli hastalarda bazal değerlendirme düşük riskli hastalarla aynı olup ara değerlendirme süreleri yine düşük riskli hastalarla aynı zamanda yapılması sınıf 2a gibi daha güçlü bir endikasyonla önerilmektedir (40).

Yüksek ve çok yüksek risk grubundaki hastalara bazal EKG, EKO ve cTn/NP bakılması sınıf 1 endikasyonla önerilmektedir. Yine her siklusta, tedavinin başlangıcından sonraki 3. ve 12. aylarda EKG,EKO ve cTn/NP bakılması sınıf 1 endikasyonla önerilmektedir (40).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Gruplarının Belirlenmesi

Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 25/10/2019 tarihli 25403353-050.99-E.122485 sayılı etik kurul kararları ile onay alındıktan sonra gerçekleştirilmiştir. Çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından 2020-2958 proje numaraları ile desteklenmiştir.

Çalışmaya Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Onkoloji polikliniğine 10.02.2020 ve 30.06.2022 tarihleri arasında başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden 51 kanser hastası (KT öncesi ve KT sonrası toplam 102 örnek) dahil edilmiştir. Çalışmanın içeriğiyle ilgili olarak tüm hasta ve kontrol bireylere detaylı bilgi verilerek hastalardan imzalı onam formu alınmış, bilgilendirilmiş ayrıntılı onam formlarını imzalamayan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

3.2. Gereç

3.2.1. Kullanılan Kimyasallar ve Kitler

- EDTA'lı mor kapaklı tüp (4 ml)
- Steril mikropipet ucu (1 µl)
- Steril mikropipet ucu (10 µl)
- Steril mikropipet ucu (100 µl)
- Steril mikropipet ucu (1000 µl)
- Steril laboratuvar eldiveni
- Vida kapaklı, contalı polipropilen yapıda mikrosantrifüj tüpü (2 ml, DNAaz ve RNAaz free)
- Pastör pipeti
- miRNA izolasyon kiti (SanPrep Column microRNA Miniprep Kit)
- cDNA sentez kiti (High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, Thermo)
- miRNA assay kiti (Qubit miRNA Assay Kit, Thermo)

- 96 kuyucuklu reaksiyon plate
- Optik yapışkan film
- Nükleaz Free, Ultra Distile Su (Biochrom AG Ultra Pure Water, Sterile, Suitable for HPLC)
- Primer (U6-abm U6-2 Primers, Hsa-miR-1-3p Primers, ABM)
- PBS (Gibco™ PBS, pH 7.2)
- Kloroform İzooamilalkol (Merck Isoamyl Alcohol)
- Real Time PCR Master Mix (Abm Bright Green miRNA qPCR Master Mix- ROX)

3.2.2. Kullanılan Cihaz ve Gereçler

- Buzdolabı (Bosch)
- Soğutmalı santrifüj (Scanspeed 1580 R)
- Su banyosu (GFL)
- Hassas terazi (Presica 125 A)
- Isıtıcı manyetik karıştırıcı (Isolab)
- Vorteks (IKA- MS2 minishaker)
- Derin dondurucu (-80°C)
- PCR (Applied Biosystems™ MiniAmp™ Thermal Cycler)
- RT-PCR Cihazı (Applied Biosystems™ 7500 Real-Time PCR System)
- Otomatik pipet seti (Bio Hit)
- Buz makinesi (Hoshizaki FM- 120 DE)
- Santrifüj (Neofuge 13R-Refrigerated Centrifuge-Heal Force Bio)

Bu çalışmada hastalardan 4 ml venöz kan örneği alınmıştır. Alınan kan plazma kısmının ayrılması için 4°C'de 2500 g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir ve plazma kısmı ayrılmıştır. Plazmalar miRNA izolasyonu aşamasına kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

miRNA İzolasyonu;

- RNA izolasyonu için 400 µl plazma kullanıldı. Örneklerin tamamen parçalandığından (lizis olduğundan) emin olmak için örnekler miRNA Extractor ile 5-10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- 0.2 ml kloroform eklendi, 30 saniye vortekslendi. 4°C'de 10 dakika boyunca 12.000xg'de santrifüjlendi. Santrifüjden sonra numune 3 aşamaya ayrılır. Üst, renksiz, sulu faz RNA'yı içerir. DNA ve protein içeren beyaz bir ara faz görülebilir. DNA kontaminasyonunu azaltmak için bu katmana dokunmadan dikkatli bir şekilde üst faz ayrıldı.
- Süpernatant (yaklaşık 540 µl) temiz bir 1.5 ml RNaz içermeyen santrifüj tüpüne aktarıldı, 1/3 hacim (180 µl) %100 etanol eklendi ve birkaç kez yukarı ve aşağı pipetleyerek iyice karıştırıldı.
- Çözelti 2 dakika boyunca 12.000xg'de Spin kolon TR santrifüjüne aktarıldı, altta kalan solüsyon yeni bir 1.5 ml RNaz içermeyen santrifüj tüpüne aktarıldı.
- 2/3 hacim (460 µl) %100 etanol eklendi ve birkaç kez yukarı ve aşağı pipetleyerek iyice karıştırıldı. Çözelti spin kolon MR'ye aktarıldı ve 12.000 x g'de 2 dakika santrifüjlendi, altta kalan kısım atıldı.
- Spin kolona 0,5 ml RPE Solüsyonu eklendi, 12.000xg'de 30 saniye santrifüjlendi, altta kalan kısım atıldı.
- İşlem bir kez daha tekrarlandı. Bu adım, kalan etanolü iyice çıkarmak için çok önemlidir.
- Kolon yeni bir 1.5 ml santrifüj tüpüne koyuldu, 30-50 µl RNaz içermeyen su eklendi. 2 dakika bekletildi. 12.000xg'de 30 saniye santrifüjlendi, elde edilen RNA solüsyonu hemen cDNA reaksiyonu için kullanıldı, reaksiyon daha sonra gerçekleştirilecekse -80°C'de saklandı.

RNA izolasyonunda kullanılan kit içeriği tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1 RNA izolasyonunda kullanılan kit içeriği.

İçerik	50 Örnek
miRNA Extractor	60 ml
RPE Solüsyonu	12 ml*
RNaz-içermeyen su	5 ml
Spin Kolon TR	50
Spin Kolon MR	50

*RPE Solüsyonu konsantre haldedir, kullanımdan önce konsantre RPE solüsyonuna 4 hacim %100 etanol eklendi ve iyice karıştırıldı.

3.2.3. cDNA Sentezi

Elde edilen RNA’ların nanodrop cihazında ölçümü yapıldı. Cihazda ölçülen değerler ng/μl cinsinden olduğu için reaksiyon 20 ng’dan kuruldu. Gerekli hesaplamalar yapıldı.

Tablo 3.2 cDNA standart reaksiyon (1 örnek için).

ÖRNEK	MİKTAR
10X RT Buffer	2 μl
25X dNTP Mix (100 mM)	0.8μl
10X RT Random Primers	2 μl
MultiScribe™ Reverse Transkriptaz	1 μl
Nükleaz-içermeyen H2O	4,2 μl

- Reaksiyon örnek sayısına göre tablo 3.2’de belirtilen birim değer o sayıyla çarpıldı. 1.5 mL lik ependorf tüpe koyuldu. Hazırlanan mix eşit bir şekilde kuyucuklara dağıtıldı.

- 1 örnek başına mix karışımı totalde 10 µl olduğundan her bir örneğin RNA 'sı eklenerek total hacim 20 µl'den çıkarıldı.
- Data sheete göre sıcaklık ve süre değerleri cihaza girildi.

Tablo 3.3 Sıcaklık ve süre değerleri.

	Adım 1	Adım 2	Adım 3	Adım 4
Sıcaklık	25°C	37°C	85°C	4°C
Zaman	5 dakika	120 dakika	10 dakika	∞

3.2.4. Primerler

Primerler kullanıma hazır şekilde 10 µM konsantrasyondadır. İnternal control olarak U6 primeri kullanıldı.

1- U6-2 Primers, ABM

2- Hsa-miR-1-3p Primers, ABM

Tablo 3.4 Real Time PCR Standart Reaksiyon (1 örnek için).

ÖRNEK	MİKTAR
Master Mix	10 µl
cDNA	2 µl
Forward Primer	1 µl
Revers Primer	1 µl
DNA içermeyen su	6 µl
Total	14 µl

Örnekler hazırlanarak kuyucuklara dağıtıldı. Kullanılan RT-QPCR protokolü tablo 3.5'te verilmiştir.

Tablo 3.5 RT-QPCR protokolü.

Reaksiyon Adımı	Sıcaklık	Zaman
Başlangıç Denatürasyon	95 °C	5 dakika
40 döngü	95 °C	15 saniye
	60 °C	30 saniye
	72 °C	30 saniye
Final Uzama	68 °C	5 dakika
Bekleme	4 °C	∞

3.2.5. Quantitative Real-Time PCR Yöntemi ile miRNA Expresyon Analizleri

Real Time PCR (RT-PCR), gen kopya ürünlerinin düzeylerini sayısal değerlere dönüştürerek ölçebilmektedir. RT-PCR’de tepkime “eş zamanlı” olarak ekranda izlenebilmektedir.

RT-PCR ile elde edilen sonuçların kantifikasyonu için iki ayrı yöntem kullanılabilir:

1. Standart eğri yöntemi
2. Karşılaştırmalı eşik değer (ct) yöntemi.

Standart eğri yönteminde konsantrasyonu bilinen bir RNA’dan yararlanılarak bir standart eğri oluşturulur. Daha sonraki işlemlerde bu eğri sonuçlar için referans değeri olarak kabul edilerek hesaplamalar gerçekleştirilir. Kullanılan diğer yöntem ise karşılaştırmalı eşik değer (ct) yöntemi olup bizim çalışmamızda da sonuçlar bu yöntem ile değerlendirilmiştir. Karşılaştırmalı ct yönteminin bir diğer adı delta-delta ct ($\Delta\Delta CT$) yöntemidir. Taq polimeraz ile ortaya çıkan floresan sinyal miktarının gözlemlenebilmesi için gereken minimum değeri (eşik değerini) geçtiği döngü sayısına ct (cycle threshold: siklus eşiği) adı verilmektedir. Karşılaştırmalı ct yönteminde, bir kontrol örneği belirlenerek bu örneğin ve düzeyi araştırılan diğer örneklerin ct değerleri karşılaştırılır. Tüm ct değerleri normalize edilir ($2^{-\Delta\Delta CT}$). Reaksiyona

giren tüm komponentlerin floresan emisyonu ile kontrol örneğinin floresan emisyonu arasındaki farka delta ct adı verilir ($\Delta CT = CT_{\text{hedef}} - CT_{\text{referans}}$) ve değerlerin hesaplanmasında temel olarak bu değer dikkate alınır. Çalışmamızda da karşılaştırmalı ct yöntemi esasları doğrultusunda karşılaştırma ve değerlendirmeler yapılmıştır.

Reaksiyonların Ct değerleri internal kontrol U6 ve hsa-mir-1 primerleri için StepOne Software ile raporlandı. Örneklerin ΔCT değerleri internal kontrol U6 Ct değerleri ile normalize edilerek belirlendi. Hasta ve kontrol örneklerin miRNA ekspresyon seviyelerinin hesaplanması $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu ve aşağıdaki formülasyon ile Microsoft Excel programı üzerinde yapıldı. Aşağıdaki formülizasyona göre $\Delta\Delta CT$ hesaplanırken bizim çalışmamızda sağlıklı kontrol bulunmadığından ve her hasta kendisinin kontrolü olduğu için (KT öncesi ve KT sonrası) $\Delta\Delta CT$ hesaplaması her hasta için ayrı ayrı hesaplanıp fold-change hesaplanmıştır.

$$\Delta CT = \text{Hedef Gen } CT - U6 \text{ } CT$$

$$\Delta\Delta CT = \text{Hedef Gen } \Delta CT - (\text{Kontrol } \Delta CT)$$

$$\Delta\Delta CT = \text{Kemoterapi sonrası } \Delta CT - \text{Kemoterapi öncesi } \Delta CT$$

$$2^{-\Delta\Delta CT} = 2 - (\text{Gen } \Delta\Delta CT)$$

$$2^{-\Delta\Delta CT} = 2 - (\text{Gen } \Delta\Delta CT)$$

3.3.Hasta ve Örnek Seçimi

ESOGÜ Tıp Fakültesi Onkoloji Anabilim Dalı'na başvuran 150 hastadan 24'ü KAH , 30'unda orta-ciddi kapak hastalığı, 20'sinde radyoterapi planlandığından ve 25'ine de transtuzumab başlanıldığından çalışmamıza uygun kriterlerde 51 hasta alındı. Kan örnekleri hastalardan AC tedavisi başlanmadan önce (bazal seviyeyi değerlendirmek üzere) ve 1.KT sonrası 24-48 saatleri arasında alındı. Kan örneklerinde miR-1, hs-cTn ve NT-proBNP düzeyleri ölçüldü. Böylece AC tedavisinin miRNA ekspresyon seviyelerinde ve hs-cTn ve NT-proBnp seviyelerinde yaptığı değişimler gözlemlendi. Kandaki

bu biyobelirteçlerin ve miR-1 ekspresyonunun KT sonrası değerlerinin KT öncesi değerlerine göre değişimleri de incelenip GLS düşüşü (%15'ten daha fazla) olan hastalarda korelasyon olup olmadığına bakıldı.

Bu hastalara onkoloji bölümü tarafından rutin olarak tedavi öncesi ve tedavi bittikten 1 ay sonra ve bittikten bir yıl sonra EKO istenmektedir. Buna göre hastalar bir yıl takip edilmiştir. Takipte 2022 ESC kardiyo onkoloji kılavuzuna göre semptomatik veya asemptomatik kanser tedavisiyle ilişkili kardiyotoksisite kriterlerini karşılayanlar AİK olarak tanımlandı (34). Hasta sayısı rölatif olarak az olduğu için subklinik kardiyotoksisite göstergesi olan GLS'deki düşüş değerlendirildi. Global longitudinal strainde >%15 düşüş olanlar ve olmayanlar şeklinde hastalar iki gruba ayrılarak incelendi. Global longitudinal strainde >%15 düşüş olanlar subklinik kardiyotoksisite gelişenler olarak tanımlandı. Her iki grubun bazal karakteristik özellikleri, hs-cTn, NT-proBNP ve miR-1 düzeyleri karşılaştırıldı. Yüksek duyarlıklı cTn, NT-proBNP ve miR-1 ile AİK arasındaki ilişki değerlendirildi. Ayrıca GLS'deki düşüşün bağımsız prediktörleri belirlendi. Böylece miR-1'in AİK'yi öngördürme açısından hs-cTn'ye ve NT-proBNP'ye üstün olup olmadığını tespit edilmesi amaçlandı.

3.3.1. Hasta Dahil edilme kriterleri

- Yaş aralığı (18-90 yaş) kadın
- Meme kanseri tanısı almış, AC tedavisi planlanmış
- Çalışmaya gönüllü olmayı kendi rızası ile kabul eden bireyler dahil edilecektir

3.3.2. Dışlama kriterleri

- Kalp yetmezliği ve sol ventrikül disfonksiyonu olanlar
- Orta-ciddi kapak hastalığı olanlar
- Koroner arter hastalığı olanlar
- Kronik böbrek ve/veya karaciğer hastalığı olanlar

- Aktif enfeksiyonu olan hastalar çalışmaya alınmayacaktır.

3.4. Ekokardiyografi Verilerinin Analizi

Ekokardiyografik inceleme X5-1 transdüser sistemine sahip Philips EPIQ 7C ultrason sistemi (Philips EPIQ 7C, X5-1 transducer, Philips Medical Systems, Andover, USA) kullanılarak yapıldı. Ölçümler sol lateral pozisyonda standart parasternal uzun aks, parasternal kısa aks, apikal dört boşluk, apikal iki boşluk, apikal uzun eksen, apikal beş boşluk görüntülerinden elde edildi. Tüm hastalarda standart 2 boyutlu EKO, M-mod EKO, Pulsed Wave Doppler (PW), Continue Wave Doppler (CW) ve Color Doppler (renkli doppler) değerlendirmeleri, PW Doppler akımları ile mitral anulusun doku Doppler ölçümleri, sol ventrikül strain değerlendirmesi, sol atriyum volumetrik fonksiyon ve sol atriyum strain değerlendirmeleri ASE/EACVI önerilerine göre yapıldı (44,45). Ekokardiyografik ham veriler dijital olarak DICOM formatında saklandı ve offline analiz için Philips QLAB yazılımı kullanıldı.

Sol ventrikül hacimleri ve LVEF, modifiye Simpson yöntemi ile hesaplandı. Sol ventrikül boyutları ve duvar kalınlıkları diyastol sırasında ölçüldü ve buradan LV kitle indeksi (LVMI) hesaplandı.

İki Boyutlu EKO ile Yapılan Ölçümler;

- **Sol ventrikül için;** Sol ventrikül diyastol sonu çapı(SVDSÇ), sol ventrikül sistol sonu çapı(SVSSÇ), interventriküler septum kalınlığı, arka duvar kalınlığı, aortik çap, sol atriyum ön ve arka çapı

- **Sağ ventrikül için;** Sağ ventrikül bazal çapı, sağ ventrikül mid çapı, sağ ventrikül uzun eksen çapı

- **Sol atrium için;** Diyastol sonu çapı, sol atriyum alanı, sol atrial volümü, sol atrial volüm indexi

- **Sağ atrium için;** Diyastol sonu çapı içermektedir.

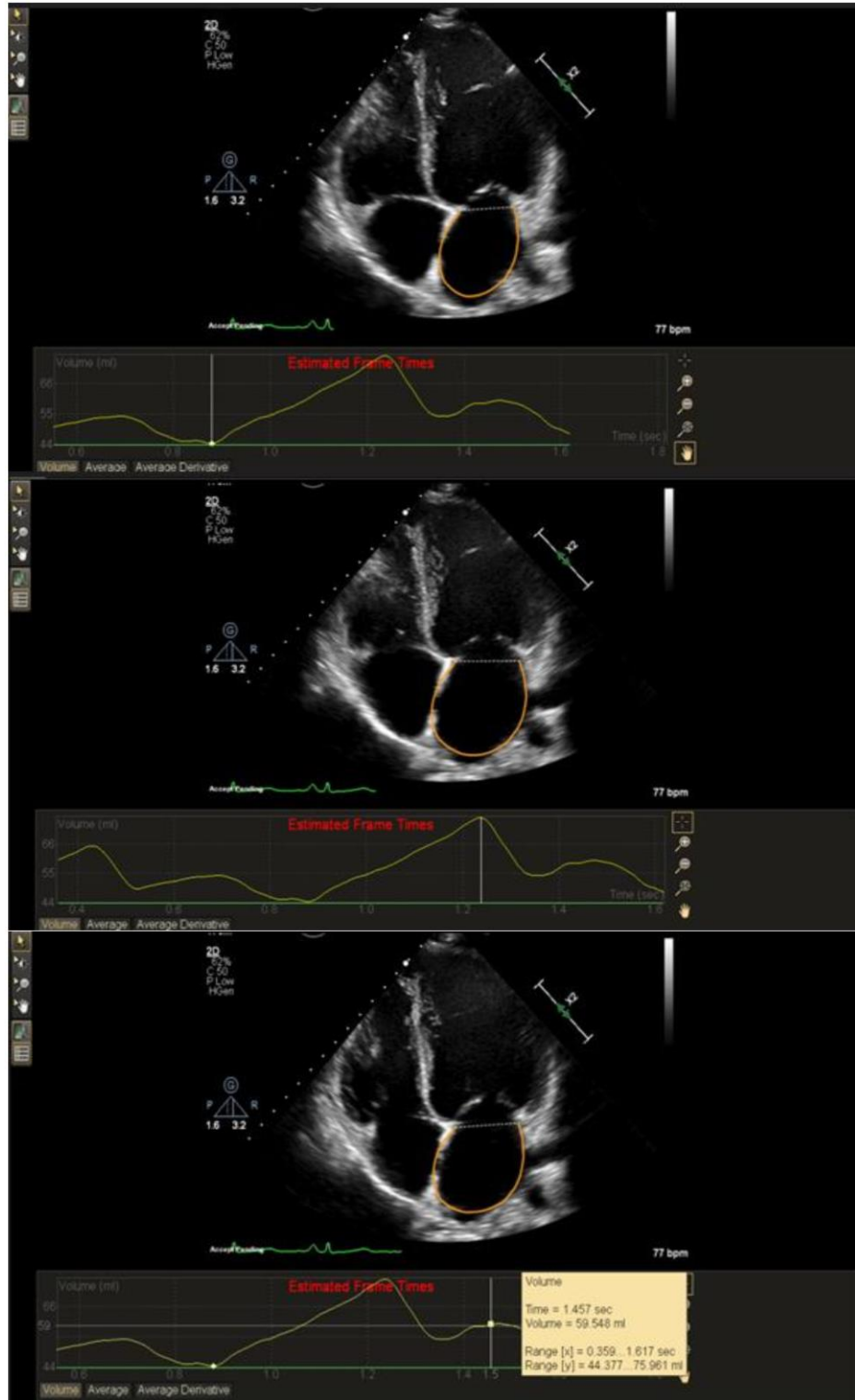
Doppler Akım ve Doku Doppler Ölçümleri

PW doppler apikal dört boşluk görüntüde mitral kapak uçlarına akıma paralel olarak yerleştirilip mitral akım trasesi elde edilerek erken mitral tepe akım hızı (E), geç mitral akım hızı (A), E/A oranı ve E dalgasının deselerasyon zamanı (MDZ) elde edildi. Mitral kapak E ve A akım hızları kullanılarak E/A oranı hesaplandı.

Doku Doppler EKO için apikal dört boşluk görüntüde 5 mm'lik doku Doppler örnek hacmi mitral anulusun septal ve lateral kenarlarına yerleştirilerek ölçümler yapıldı. Septal ve lateral duvarların anulus hizasında erken diyastolik tepe (Em), geç diyastolik tepe (Am) hızları ölçüldü.

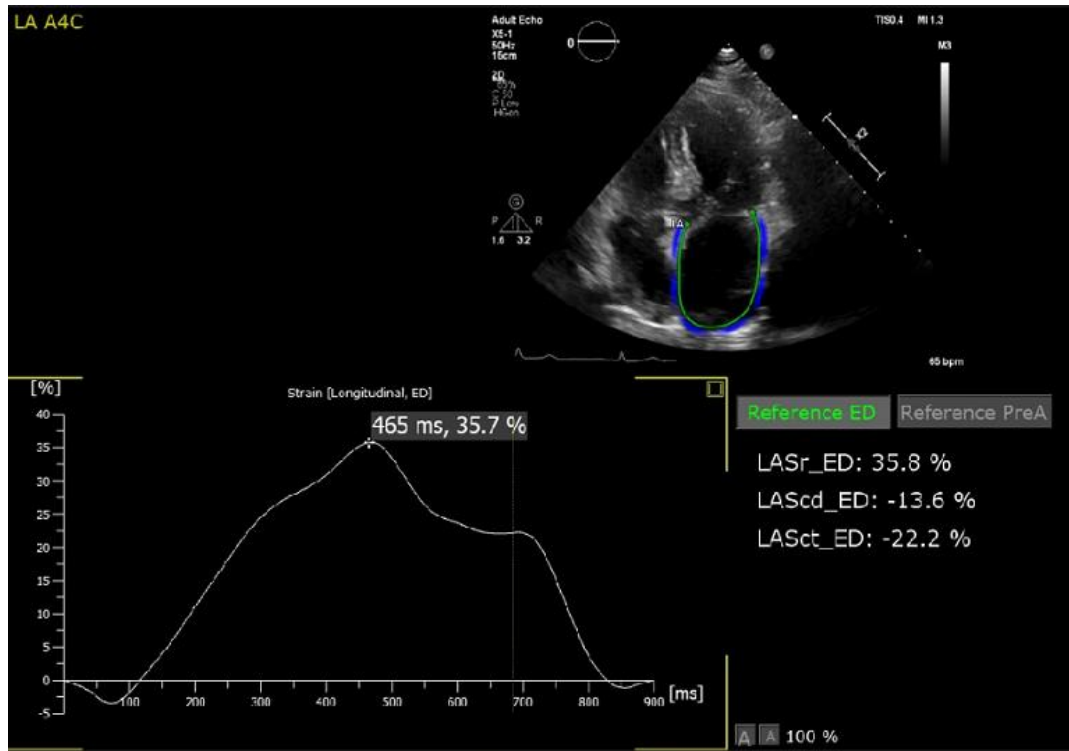
Sol atriyal volümetrik değerlendirme ve strain analizi

Apikal 4 ve 2 boşluk görüntülemeye, sistol sonunda (maksimal sol atriyum boyutu) iki düzlem alan-uzunluk metodu kullanılarak sol atriyal volüm (LAV) hesaplandı(46). Sol atriyal volümün vücut yüzey alanı (VYA)'na bölünmesi ile sol atriyum volüm indeksi (LAVİ) hesaplandı. Sol atriyum maksimum volümü (LAVmax) mitral kapağın tam açıldığı anda, sol atriyum minimum volümü (LAVmin) mitral kapağın tam kapandığı anda kaydedildi ve sol atriyum presistolik volümü (LAVpre-A) atriyal sistolun başlangıcında kaydedildi (EKG deki p dalgası). Bütün sol atriyal volümler VYA'ya göre indexlendi. Sol atrium EF(LAEF), cihazın sol atriyum volümetrik analiz özelliği kullanılarak elde edildi.



Şekil 3.1 Sol atriyal volüm hesaplamalarında kullandığımız ekokardiyografik görüntüler.

LA strain analizi Amerikan ve Avrupa Ekokardiyografi Cemiyetleri'nin 2018 konsensüs yazısı dikkate alınarak (47). LA strain ölçümleri DICOM formatında alınan görüntüler üzerinden offline analizle ölçüldü. Sıfır referans noktası olarak R-R aralığı kullanıldı. LA strain için; sistolde elde edilen rezervuar strain (LASr), erken diyastolde elde edilen konduit strain (LAScd) ve geç diyastoldeki kontraktıl straini (LASct) içeren mutlak strain değerleri ölçüldü ve % cinsinden ifade edildi. Pik longitudinal straine ulaşma süresi (TPLS) ise milisaniye cinsinden ifade edildi.

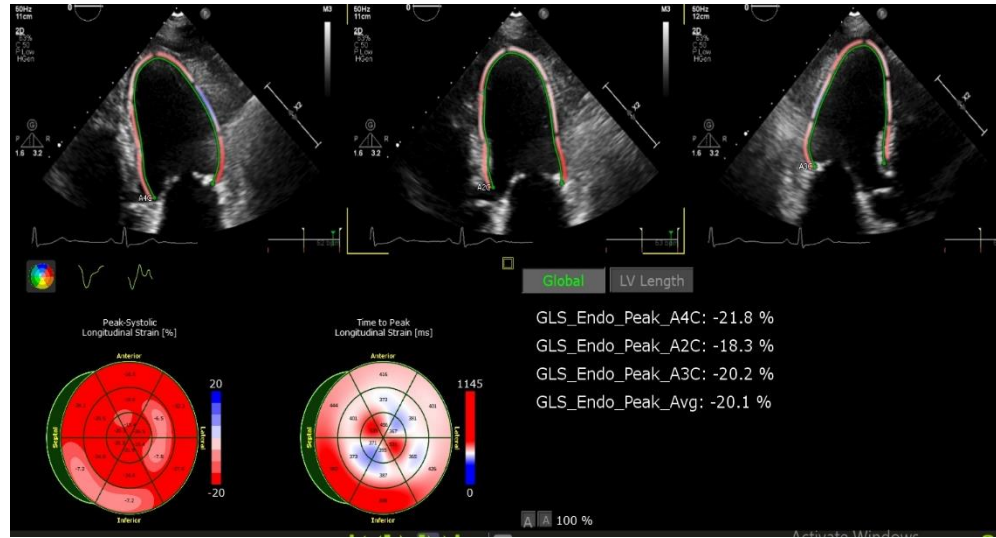


Şekil 3.2 Sol atriyal straini değerlendirdiğimiz bir ekokardiyografik görüntü.

Sol ventrikül global longitudinal strain analizi

Global longitudinal strain analizi için apikal beş, dört ve iki boşluk görüntüleri, sol ventriküle odaklanacak şekilde ayarlanarak en az üç siklus olarak alındı. Frame rate 40-80 Hz olacak şekilde ayarlandı. Global

longitudinal strain analizi, alınan DICOM görüntülerinden offline olarak otomatik strain ölçümü üzerine manuel düzeltme yapılarak hesaplandı.



Şekil 3.3 Sol ventrikül strain değerlendirilen hastamızdaki ekokardiyografik görüntü.

3.5. İstatiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler, bilgisayar ortamına aktarılarak IBM SPSS Version 15.0 Software (IBM Corp., Armonk, NY) ve Med Calc (MedCalc Statistical Software version 19.1.6 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2020) paket programlarında değerlendirildi. Çalışma verilerinden sürekli olanlar, Kolmogorov-Smirnov testi ve grafikler aracılığıyla normal dağılıma uygunluk açısından değerlendirildi. Normal dağılıma uygun olmayan verilerde logaritmik dönüşüm yapıldı. Veriler ortalama $\pm$ (standart sapma: SS) veya ortanca (min-max: en küçük en büyük değerleri şeklinde sunuldu. Nitel veriler sayı ve yüzde ile ifade edildi.

Mikro RNA ölüm değeri DeltaCT olarak ifade edildi ve $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ formülünden yararlanarak fold change hesaplandı.

Verilerin analizinde; bağımsız grupların karşılaştırılmasında normal dağılıma uyanlarda t-testi veya ANOVA testi kullanıldı. Anlamlı grubu

belirlemede Bonferroni düzeltmesi yapıldı. Normal dağılıma uygun olmayan verilerde Mann Whitney U, Kruskal Wallis analizleri uygulandı.

Hastaların bazal, KT sonrası 1.ay ve KT sonrası 1.yıl değerlerinin karşılaştırılmasında 2'li grupların karşılaştırılmasında bağımlı örneklerde t-testi veya Wilcoxon testi, 3'lü grubun karşılaştırılmasında Tekrarlayan örneklerde ANOVA ve normal dağılıma uymayanlarda Friedman testi kullanıldı.

Bağımlı değişkene göre Biyomarker'ların en uygun kesme değerinin (cut-off score) belirlenmesi ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi ile yapıldı.

Nitel verilerin analizinde ki kare testi kullanıldı. 2x2 tablolarda gözlerin de%25'den fazlasında 5'den küçük değer bulunduğunda Fisher's Exact test, 2xn tablolarda ise MonteCarlo düzeltmeli kıkare yapıldı.

Kardiyotoksisiste üzerine EKO parametrelerinin ve biyomarkerların etkisini belirleyebilmek için çoklu lojistik regresyon analizi yapıldı. Global longitudinal strainde > %15 düşme olma durumu bağımlı değişken olarak; hs-cTn, NT-proBNP, miR-1, LAEF, LASct bağımsız değişkenler olarak alındı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak $p \leq 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Meme Kanseri Hastalarının Demografik Özellikleri

Onkoloji polikliniğine başvurun 150 hastadan 24'ünde KAH, 30'unda orta-ciddi kapak hastalığı, 20'sinde radyoterapi ve 25'ine de transtuzumab verilmesi planlandığından çalışmaya alınmadı. Böylece çalışma grubumuza uygun kriterlere sahip 51 hasta çalışmaya dahil edildi. Tüm hastalardan KT öncesi ve sonrası miRNA izolasyonu yapıldı.

Çalışma grubunu oluşturan 51 meme kanserli kadın hastaların yaşları 26 ile 74 arasında değişmekte olup ortalaması ($\pm$ Standart sapma) $49,37 \pm 10,72$ ortancası 48 idi.

Tablo 4.1 Çalışma grubunun yaş ve vücut kitle özellikleri.

Değişkenler	Primer meme kanseri hastaları (n=51)
Yaş ortalaması $\pm$ SS (min-max)	49,3 $\pm$ 10,7 (26-74)
Vücut Kitle indeksi (VKI) $\pm$ SS (min-max)	28,6 $\pm$ 5,7(19,8-43,6)
Vücut yüzey alanı (VYA) $\pm$ SS (min-max)	1,8 $\pm$ 0,1(1,47-2,28)

4.2. Meme Kanseri Hastalarının Bazal Özellikleri

Hastaların % 76,5'i adjuvan tedavi alırken %23,5'i neoadjuvan KT tedavisi almıştır.

Hastaların 14'ü (%27,5) Adriablastin, 30'u(%58,8) DOX ve 7'si (%13,7) Epirubisin aldı. Tedavide Meme Kanseri hastaların aldıkları toplam AC dozu ortalama $393,75 \pm 92,94$ mg/m², her kürde aldıkları toplam AC dozu ortalama $103,41 \pm 16,67$ mg/m² olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya dahil edilen meme kanseri hastalarının evresi ve AC rejimi tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2 Tümör özellikleri.

Özellikler	Primer meme kanseri hastaları(n=51)
Moleküler alt tipi[n(%)]	
Luminal A	14(%27,4)
Luminal B	34(%66,6)
Triple Negatif	3(%6)
Metastaz varlığı[n(%)]	
M0	46(%90,2)
M1-kemik	2(%5,8)
M1-visseral organ	3(%4)
Evre[n(%)]	
1	2(%4,1)
2	34(%66,6)
3	12(%23,5)
4	3(%5,8)
AC Rejimi[n(%)]	
Doxorubisin	30(%58,8)
Adriablastin	14(%27,5)
Epirubisin	7(%13,7)

AC:Antrasiklin

4.3.Ekokardiyografi parametrelerin değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalar KT öncesi ve KT sonrası 1. ay ve 1. yıl EKO'da değerlendirildi, doku doppler ve strain analizleri yapıldı. Miyokard subklinik hasarını işaret eden sol ventrikül GLS, sol atrial strain parametreleri, sağ ventrikül fonksiyonlarını gösteren triküspit anular plan yer değiştirmesi (TAPSE) ve diyastolik fonksiyonları değerlendiren mitral pik erken diyastolik velositenin (E) pik erken miyokardiyal diyastolik velositeye (é) oranı ile elde edilen lateral ve septal E/é, IVRT, MDZ, sol ventrikül diyastol ve sistol sonu çapı, kalp hızı gibi parametrelerinin tedavi ile değişimleri incelendi. Kemoterapi sonrası 1.ay EKO ölçümlerinde SVDSÇ ($46,5 \pm 3,4$ 'e karşı $45,6 \pm 2,9$, $p=0,018$) ve Mitral E ($69,6 \pm 14,6$ 'e karşı $62,9 \pm 12,3$, $p=0,005$) KT öncesine göre anlamlı olarak daha yüksekti. Kemoterapi öncesine göre sol atrial strain parametreleri TPLS ($406,7 \pm 42,5$ 'e karşı $389,1 \pm 48,4$, $p=0,034$) KT sonrası 1.ayda anlamlı olarak daha uzun ve LAVİMAX ($29,2 \pm 7,0$ 'e karşı $26,0 \pm 6,8$, $p<0,001$) KT

sonrası 1. ayda anlamlı olarak daha yüksek bulundu (Tablo 4.3). Kemoterapi sonrası 1.ay sol atrial strain parametrelerinden LAEF (64.1 ± 6.2 'e karşı 68.5 ± 6.1 , $p < 0.001$) ve LASr ($40,3 \pm 5,0$ 'e karşı $43,3 \pm 6,0$, $p < 0,001$) KT öncesine göre anlamlı olarak daha düşük izlendi (Tablo 4.3). Birinci ay EKO'da bakılan diğer parametrelerde anlamlı değişiklik olmayıp Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Kemoterapi öncesine göre değerlendirilen sol atrial strain parametrelerinden TPLS ($425,0 \pm 58,7$ 'e karşı $389,1 \pm 48,4$, $p < 0,001$) KT sonrası 1.yıl EKO'da anlamlı olarak daha uzunken, LAVİMAX'da ($29,5 \pm 7,2$ 'e karşı $26,0 \pm 6,8$, $p < 0,004$) KT sonrası 1.yıl EKO'da anlamlı olarak daha yüksekti. Kemoterapi sonrası 1. yıl EKO'da sol atrial strain parametrelerinden LAEF ($62,1 \pm 5,4$ 'e karşı $68,5 \pm 6,1$, $p < 0,001$), LAScd ($-20,6 \pm 5,8$ 'e karşı $-25,1 \pm 6,9$, $p < 0,001$) ve LASr ($38,2 \pm 6,2$ 'e karşı $43,3 \pm 6,0$, $p < 0,001$) KT öncesine göre anlamlı olarak daha düşük izlendi (Tablo 4.3). Kemoterapi sonrası 1. yıl EKO parametrelerinden EF, LA çapı, LAV, LAVİ, PAB, Septal E', Mitral E, Septal E/E', TAPSE, IVRT, SVSSÇ ve MDZ'de KT öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik olmayıp Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Bazal, KT sonrası 1. ay ve 1. yıl EKO parametrelerinin 3'lü karşılaştırılmasında LA çapı ($p = 0,049$), PAB ($p = 0,007$), Mitral E ($p = 0,004$), E/E' ($p = 0,016$), SVDSÇ ($p = 0,048$), ve LAVİMAX'da ($p < 0,001$) anlamlı olarak artış izlendi. Bazal, KT sonrası 1. ay ve 1. yıl EKO parametrelerinin 3'lü karşılaştırılmasında TPLS'de ($p < 0,001$) anlamlı uzama izlendi. Bazal, KT sonrası 1. ay ve 1. yıl EKO parametrelerinin 3'lü karşılaştırılmasında TAPSE ($p = 0,025$), MDZ ($p = 0,042$), LAEF ($p < 0,001$), LASr ($p < 0,001$), LateralE' ($p = 0,002$), SeptalE' ($p = 0,001$) ve LAScd'de ($p < 0,001$) anlamlı olarak düşüş izlendi (Tablo 4.3). Diğer parametrelerinin 3'lü karşılaştırılmalarında anlamlı bulgu izlenmeyip Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3 Çalışma grubundaki hastaların KT öncesi, KT sonrası 1. ay ve KT sonrası 1.yıl EKO parametrelerinin karşılaştırılması.

Parametreler	KT Öncesi (Ortalama $\pm$ SS) (1)	KT Sonrası 1 Ay (Ortalama $\pm$ SS) (2)	1-2 [§] (p)	KT Sonrası 1 Yıl (Ortalama $\pm$ SS) (3)	1-3 ^{§§} (p)	Üçlü Karşılaştırma (p)
LA çapı (mm)	32,1 $\pm$ 4,9	33,1 $\pm$ 3,6	0,2681	33,7 $\pm$ 3,3	0,1022	0,049*
EF (%)	65,5 $\pm$ 2,7	65,0 $\pm$ 2,6	0,2366	64,3 $\pm$ 3,9	0,1367	0,087
LAV (ml)	35,21 $\pm$ 9,9	35,9 $\pm$ 9,4	0,9080	35,4 $\pm$ 15,6	1,0000	0,410*
LAVİ (ml/mm2)	19,5 $\pm$ 4,8	19,8 $\pm$ 4,5	1,0000	19,6 $\pm$ 6,0	1,0000	0,422*
PAB (mmHg)	24,1 $\pm$ 6,9	26,2 $\pm$ 6,6	<0,001	25,1 $\pm$ 6,2	0,3517	0,007*
Mitral E(cm/s)	62,9 $\pm$ 12,3	69,6 $\pm$ 14,6	0,005	64,3 $\pm$ 15,6	1,0000	0,004
Lateral E'(cm/s)	11,6 $\pm$ 2,4	11,7 $\pm$ 2,9	1,0000	10,4 $\pm$ 2,6	0,0028	0,002
Septal E'(cm/s)	9,2 $\pm$ 1,8	9,2 $\pm$ 2,1	1,0000	8,1 $\pm$ 2,1	0,0032	0,001
E/E'(cm/s)	7,2 $\pm$ 1,7	7,8 $\pm$ 1,6	0,056	7,9 $\pm$ 1,7	0,0286	0,016*
IVRT (msn)	100,7 $\pm$ 13,9	98,6 $\pm$ 13,0	1,0000	100,1 $\pm$ 20,1	1,0000	0,734
TAPSE (mm)	23,6 $\pm$ 3,02	22,9 $\pm$ 2,8	0,1259	22,5 $\pm$ 2,84	0,0620	0,025*
MDZ (msn)		171,2 $\pm$ 29,7	0,1291	169,6 $\pm$ 35,7	0,0654	0,042*
SVDSÇ (mm)	45,6 $\pm$ 2,9	46,5 $\pm$ 3,4	0,018	45,2 $\pm$ 4,8	1,0000	0,048
SVSSÇ (mm)	29,1 $\pm$ 2,5	29,6 $\pm$ 2,9	0,1245	29,7 $\pm$ 4,4	0,6578	0,266
LAEF (%)	68,5 $\pm$ 6,1	64,1 $\pm$ 6,2	<0,001	62,1 $\pm$ 5,4	<0,001	<0,001
TPLS (msn)	389,1 $\pm$ 48,4	406,7 $\pm$ 42,5	0,0339	425,0 $\pm$ 58,7	0,0001	<0,001*
LASr (%)	43,3 $\pm$ 6,0	40,3 $\pm$ 5,0	<0,001	38,2 $\pm$ 6,2	<0,001	<0,001
LAScd (%)	25,1 $\pm$ 6,9	22,7 $\pm$ 5,5	0,0901	20,6 $\pm$ 5,8	0,0007	<0,001*
LASct (%)	18,6 $\pm$ 5,3	17,8 $\pm$ 5,2	1,000	17,82 $\pm$ 5,94	1,000	0,815
LAVİMAX (ml/mm2)	26,0 $\pm$ 6,8	29,2 $\pm$ 7,0	<0,001	29,5 $\pm$ 7,2	0,0004	<0,001*
Kalp hızı(bpm/dk)	78,5 $\pm$ 12,6	79,4 $\pm$ 13,7	1,000	77,9 $\pm$ 10,4	1,000	0,9987*

E: Erken Mitral Tepe Akım Hızı, E': Erken Diyastolik Tepe EF: Ejeksiyon Fraksiyonu, IVRT: İzovolemik Relaksasyon Zamanı, LAEF: Sol Atrium Ejeksiyon Fraksiyonu, LA: Sol Atrium, LAScd: Sol Atrium Erken Diyastoldeki Konduit Strain, LASct: Sol Atrium Geç Diyastoldeki Kontraktıl Straini, LASr: Sol Atrium Sistoldeki Rezervuar strain, LAV: Sol Atriyal Volüm, LAVİ: Sol Atriyum Volüm İndeksi, LAVİMAX: Sol Atriyum Maksimum Volüm İndeksi, MDZ: E Dalgasının Deselerasyon Zamanı, PAB: Pulmoner Arter Basıncı, SVDSÇ: Sol Ventrikül Diyastol Sonu Çap, SVSSÇ: Sol Ventrikül Sistol Sonu Çap, TPLS: Pık Longitudinal Straine Ulaşma Süresi, TAPSE: Triküspit Anular Plan Yer Değiştirmesi.

* Logaritmik dönüşüm sonrası tekrarlı örneklerde varyans analizi, Bonferroni düzeltmeli p değeri.

§ KT sonrası 1. ay EKO ölçümlerinin bazale göre değişimi.

§§ KT sonrası 1. yıl EKO ölçümlerinin bazale göre değişimi.

4.4. Kemoterapi Öncesi ve Sonrası Kan Parametreleri ve GLS'nin Değerlendirilmesi

Bizim çalışmamızda KT 24-48 saat sonrasında NT-proBNP ($315,3 \pm 195,1$ 'e karşı $76,4 \pm 55,1$, $p < 0,0001$) ve hs-cTn'de ($0,06 \pm 0,003$ 'e karşı $0,005 \pm 0,002$, $p < 0,001$) KT öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Bizim çalışmamızda KT'den 24-48 saat sonrasında alınan NT-proBNP ($315,3 \pm 195,1$ 'e karşı $76,4 \pm 55,1$, $p < 0,001$) ve hs-cTn'de ($0,06 \pm 0,003$ 'e karşı $0,005 \pm 0,002$, $p < 0,001$) KT öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 4.4).

Tablo 4.4 Çalışma grubunda hastaların serum NT-proBNP, Hs- cTn ve plazma miR-1 değişkenlerinin KT öncesi ve KT 24-48 saat sonrası değerlerinin karşılaştırılması.

Parametreler	KT Öncesi (Ortalama $\pm$ SS) (1)	KT 24-48 saat Sonrası (Ortalama $\pm$ SS) (2)	1-2§ (p)
NT-ProBNP (Pg/mL)	76,4 $\pm$ 55,1	315,3 $\pm$ 195,1	0,0001*
Hs-cTnT (Ng/mL)	0,005 $\pm$ 0,002	0,06 $\pm$ 0,003	0,0005*
MiR-1 DeltaCt	15,9 $\pm$ 4,0	14,5 $\pm$ 3,9	0,0476

Hs-cTnT:Yüksek duyarlıklı Kardiyak Troponin T, NT-proBNP: N-terminal Pro-Beyin Natriüretik Peptid

*Wilcoxon test

§ KT sonrası 24-48 Saatte Serum ve Plazmada ölçülen Parametrelerinin bazale göre değişimi

Avrupa Kardiyoloji Derneğinin 2022 Kardiyo-Onkoloji kılavuzunda sınıf 1 olarak değerlendirilmesi önerilen GLS değeri de KT sonrası 1. Ay ($-20,7 \pm 2,3$ 'e karşı $-22,1 \pm 2,4$, $p < 0,001$) ve 1. yıl değerleri($-19,7 \pm 2,2$ 'e karşı $-22,1 \pm 2,4$, $p < 0,001$) KT öncesine göre anlamlı olarak daha düşük bulundu (Tablo 4.5). Global longitudinal strain değişiminde bazal, KT sonrası 1.ay ve

1.yıl arasında yapılan 3'lü karşılaştırmada da anlamlı azalma izlendi ($p<0,001$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5 Çalışma grubunda hastaların GLS değişkeninin KT öncesi, KT sonrası 1. ay ve 1. yıl değerlerinin karşılaştırılması.

SParametre	KT Öncesi (Ortalama $\pm$ SS) (1)	KT 1 Ay Sonrası (Ortalama $\pm$ SS) (2)	1-2§ (p)	KT Sonrası 1 Yıl (Ortalama $\pm$ SS) (3)	1-3§§ (p)	Üçlü Karşılaştırma (p)
GLS(%)	22,1 $\pm$ 2,4	20,7 $\pm$ 2,3	<0,001	19,7 $\pm$ 2,2	<0,001	<0,001

GLS: Global Longitudinal Strain

§ KT sonrası 1. ay EKO ölçümlerinin bazale göre değişimi.

§§ KT sonrası 1. yıl EKO ölçümlerinin bazale göre değişimi.

4.5. miR-1 Ekspresyon Seviyelerinin Değerlendirilmesi

Kemoterapi sonrasında KT öncesine göre miR-1 ekspresyonunu gösteren DeltaCT'de istatistiksel anlamlılık gösteren bir düşüş saptandı (14,5 $\pm$ 3,9'e karşı 15,9 $\pm$ 4,0, $p=0,048$) . Kemoterapi sonrası miR-1 ekspresyonunun öncesine göre 1,84 kat arttığı belirlendi (Tablo 4.5).

Tablo 4.6 Çalışma grubunda hastaların miR-1 DeltaCT değişkeninde KT öncesi, KT 24-48 saat sonrası değerlerinin karşılaştırılması ve 'Fold Change' ortalamaları.

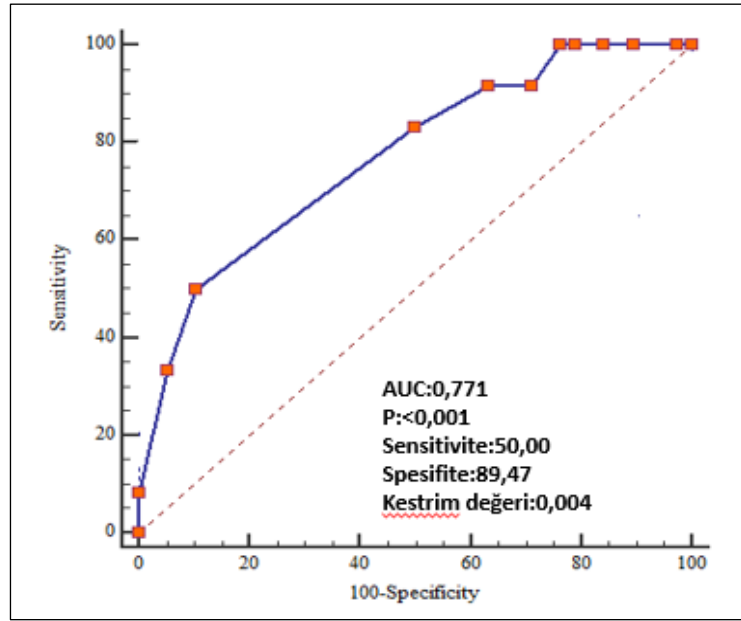
Parametre	KT Öncesi (Ortalama $\pm$ SS)	KT 24-48 Saat Sonrası (Ortalama $\pm$ SS)	Fold change	p
miR-1 Δ CT	15,9 $\pm$ 4,0	14,5 $\pm$ 3,9	1,84	0,048*

*: Logaritmik dönüşüm sonrası tekrarlı örneklerde varyans analizi, Bonferroni düzeltmeli p değeri.

4.6.Subklinik Kardiyotoksisite Gelişen Grupta ROC Analizi Sonuçları

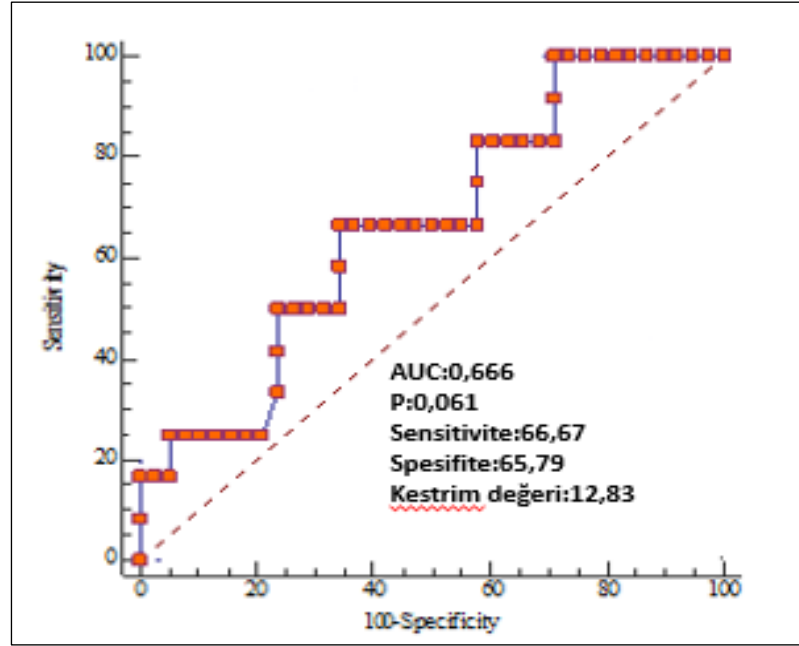
Çalışma sonunda EF'de >%10 düşüş gösterip klinik kardiyotoksisite gelişen hasta olmadı.Çalışma popülasyonu; GLS 'de >%15'ten fazla düşüş gösterip subklinik kardiyotoksisite gelişen ve gelişmeyen hastalar olarak iki gruba ayrıldı. Buna göre 12 hastada subklinik kardiyotoksisite geliştiği görüldü. Daha sonra KT öncesi ve KT sonrası değişimleri GLS düşüşüne göre her iki grupta karşılaştırıldı. ROC analizinde bütün değerlendirmelerde GLS subklinik kardiyotoksisiteyi belirlemede temel değer olarak kabul edildi ve ona göre diğer değerlerin değişimi değerlendirildi.

Subklinik kardiyotoksisiteyi belirlemede hs-cTnT'nin KT sonrası yapılan ROC analizinde kestrim değeri 0,004 ng/mL hesaplandı.ROC eğrisinin altında kalan alan istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$) (Şekil4.1). Bulunan kestrim değeri GLS'nin belirlediği subklinik kardiyotoksisiteye göre %50 duyarlılık ve %89.47 özgüllükle tanısal geçerliliğe sahiptir.



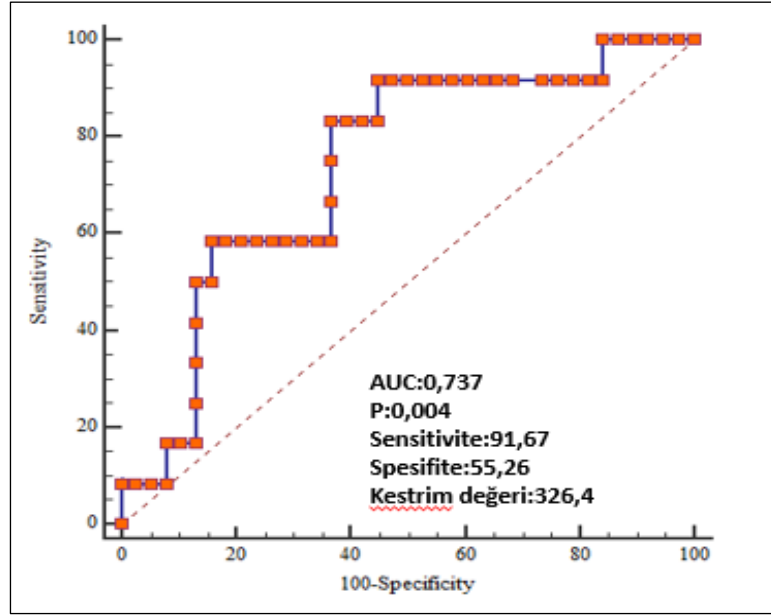
Şekil 4.1 Çalışma grubunda KT sonrası Hs-cTnT değerlerinin KT sonrası GLS'de %15 düşüşü belirlemesine göre tanısal geçerliğini gösteren ROC analiz eğrisi.

Subklinik kardiyotoksisiteyi belirlemede miR-1'in KT sonrası yapılan ROC analizinde kestrim değeri 12.83 olarak hesaplandı. ROC eğrisinin altında kalan alan istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.061$) (Şekil 4.2). Bulunan kestrim değeri GLS'nin belirlediği subklinik kardiyotoksisiteye göre %66.67 duyarlılık ve %65.79 özgüllükle tanısal geçerliliğe sahiptir.



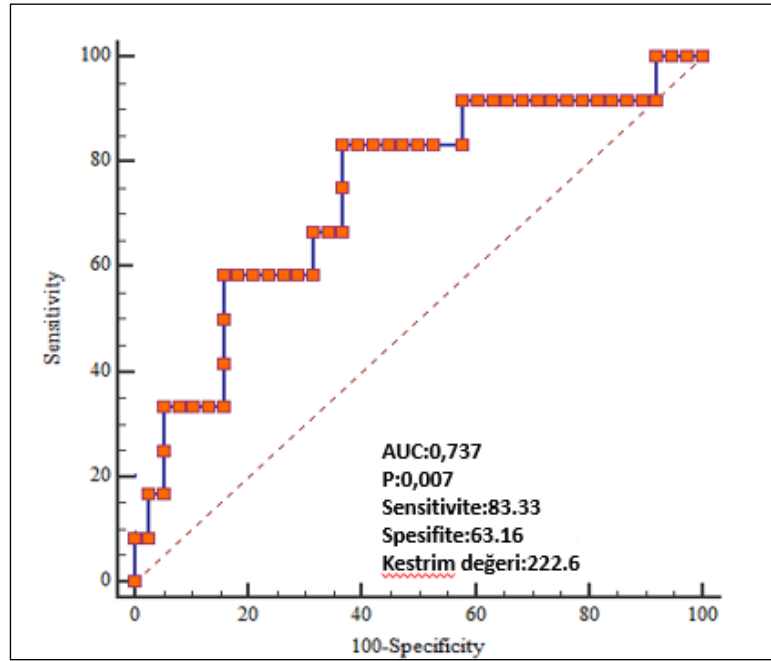
Şekil 4.2 Çalışma grubunda KT sonrası miR-1 ekspresyon değerlerinin KT sonrası GLS'de %15 düşüşü belirlemesine göre tanısal geçerliğini gösteren ROC analiz eğrisi.

Subklinik kardiyotoksisiteyi belirlemede NT-proBNP'nin KT sonrası yapılan ROC analizinde kestrim değeri 326.4 pg/mL hesaplandı. ROC eğrisinin altında kalan alan istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.004$) (Şekil4.3). Bulunan kestrim değeri GLS'nin belirlediği subklinik kardiyotoksisiteye göre %91 duyarlılık ve %55 özgüllükle tanısal geçerliliğe sahiptir.



Şekil 4.3 Çalışma grubunda KT sonrası NT-proBNP değerinin KT sonrası GLS'de %15 düşüşü belirlemesine göre tanısal geçerliğini gösteren ROC analiz eğrisi.

Subklinik kardiyotoksisiteyi belirlemede NT-proBNP'deki değişimi için KT sonrası yapılan ROC analizinde kestrim değeri 222,6 pg/mL olarak hesaplandı. ROC eğrisinin altında kalan alan istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,007$) (Şekil4.4). Bulunan kestrim değeri GLS'nin belirlediği subklinik kardiyotoksisiteye göre % 83,33 duyarlılık ve %63,16 özgüllükle tanısal geçerliliğe sahiptir.



Şekil 4.4 Çalışma grubunda KT 24-48 saat sonrası NT-proBNP'nin İ bazal değere göre değerindeki değişimin KT sonrası GLS'de %15 düşüşü belirlemesine göre tanısal geçerliğini gösteren ROC analiz eğrisi.

Subklinik kardiyotoksisteyi belirlemede bazal değere göre 24-48 saatteki hs-cTnT değişimi ve miR-1 ekspresyonunu gösteren deltaCT değişim değişkenlerinin ROC analizinde eğri altında kalan alanların birbiriyle kıyaslanmasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0,361$). Benzer amaç için yapılan analizde hs-cTnT ve NT-proBNP'deki değişim değişkenlerinde ($p=0,234$), NT-proBNP ve deltaCT'nin değişim değişkenlerinde ($p=0,327$) subklinik kardiyotoksisteyi belirlemek için oluşturulan eğri altı alanların karşılaştırılmasında anlamlı bir fark bulunamadı.

4.7.LA Strain Parametreleri

Çalışmamızda subklinik kardiyotoksisteden bağımsız Kemoterapi öncesine göre sol atrial strain parametreleri TPLS ($406,7 \pm 42,5$ 'e karşı $389,1 \pm 48,4$, $p=0,034$) KT sonrası 1. ayda anlamlı olarak daha uzun ve LAVİMAX ($29,2 \pm 7,0$ 'e karşı $26,0 \pm 6,8$, $p<0,001$) KT sonrası 1. ayda anlamlı daha yüksek bulundu. Kemoterapi sonrası 1. ay sol atrial strain

parametrelerinden LAEF (64.1 ± 6.2 'e karşı 68.5 ± 6.1 , $p < 0.001$) ve LASr($40,3 \pm 5,0$ 'e karşı $43,3 \pm 6,0$, $p < 0,001$) KT öncesine göre anlamlı olarak daha düşük izlendi. Subklinik kardiyotoksitesi olan ve olmayan grupta incelediğimizde ise diyastolik disfonksiyonda kullanılan parametrelerden olan Lateral e' [ortalanca(1,5 vs. 0,3), $p = 0.041$] KT sonrası 1.ayda bazale göre kardiyotoksiste gelişen grupta anlamlı olarak daha fazla düşüş izlendi (Tablo 4.7).

Tablo 4.7 Subklinik kardiyotoksiste gelişen grupta KT sonrası 1. ay EKO parametrelerinin bazale göre değişimleri.

Parametreler	Bazal Değerler		p	KT Sonrası 1.Ay Değişim		p
	Subklinik kardiyotoksitesi Olmayanlar Ortanca (Min-Max)	Subklinik kardiyotoksitesi Olanlar Ortanca (Min-Max)		Subklinik kardiyotoksitesi Olmayanlar Ortanca (Min-Max)	Subklinik kardiyotoksitesi Olanlar Ortanca (Min-Max)	
LA çapı (mm)	32,5 (10,7-44)	32,0 (27,0-35,0)	0,523	0,0 (-2,0-25,3)	0,0 (-2,0-7,0)	0,953
EF (%)	66,0 (60,0-70,0)	65,5 (61,0-68,9)	0,716	0,0 (-6,1-5,0)	-0,6 (-4,3-2,7)	0,546
LAV (ml)	34,0 (17,0-75,0)	33,5 (28,0-63,0)	0,891	0,0 (-7,0-16,0)	0,0 (-28,0-6,0)	0,393
LAVİ (ml/mm2)	19,5 (10,0-36,0)	18,5 (16,0-35,0)	0,864	0,00 (-4,0-8,0)	0,0 (-15,0-3,0)	0,309
PAB (mmHg)	25,0 (15,0-42,0)	21,5 (15,0-33,0)	0,507	0,0 (-3,0-15,0)	0,0 (-5,0-10,0)	0,241
Mitral E(cm/s)	63,0 (45,0-100,0)	21,5 (15,0-33,0)	0,608	5,0 (-28,0-33,0)	6,5 (-14,0-32,0)	0,918
Lateral E'(cm/s)	11,0 (7,7-17,1)	12,5 (6,9-17,0)	0,699	0,3 (-4,3-4,7)	-1,5 (-4,6-1,8)	0,041
Septal E'(cm/s)	9,0 (5,6-15,3)	9,3 (6,3-12,0)	0,973	5,0 (-28,0-33,0)	6,5 (-14,0-32,0)	0,918
E/E'(cm/s)	7,0 (4,0-10,0)	7,0 (4,3-11,0)	0,616	0,5 (-5,1-4,5)	1,3 (-2,1-5,0)	0,080
IVRT (msn)	99,5 (74,0-120,0)	101,0 (87,0-160,0)	0,524	0,0 (-38,0-28,0)	0,0 (-51,0-22,0)	0,919
TAPSE (mm)	23,0 (18,0-131,0)	24,0 (20,0-28,0)	0,964	-0,5 (-10,0-8,0)	-0,5 (-5,0-5,0)	0,746
MDZ (msn)	186,5 (127,0-261,0)	172,5 (105,0-220,0)	0,152	-10,5 (-91,0-49,0)	2,5 (-40,0-105,0)	0,155
SVDSÇ (mm)	45,5 (40,0-55,0)	46,0 (42,0-50,0)	0,714	0,9 (-7,0-5,0)	1,5 (-4,0-6,0)	0,230
SVSSÇ (mm)	28,5 (24,0-35,0)	29,5 (26,0-32,0)	0,591	1,0 (-4,0-4,0)	1,0 (-4,0-5,0)	0,630
LAEF (%)	68,0 (58,2-78,8)	71,7 (54,4-86,0)	0,460	-4,7 (-19,0-5,8)	-3,1 (-10,4-8,7)	0,413
TPLS (msn)	380,0 (310,0-502,0)	358,5 (304,0-504,0)	0,067	16,0 (-111,0-103,0)	35,5 (-132,0-122,0)	0,251
LASr (%)	43,8 (28,0-58,9)	42,5 (32,1-48,9)	0,928	-3,2 (-13,2-19,0)	-2,3 (-9,7-10,5)	0,394
LAScd (%)	26,4 (7,5-36,2)	9,1 (11,7-33,5)	0,024	-3,1 (-17,3-19,4)	-0,2 (-10,7-12,6)	0,134
LASct (%)	17,8 (9,7-24,4)	23,4 (7,2-30,0)	0,019	-0,5 (-14,6-11,7)	-2,1 (-13,7-13,2)	0,334
LAVİMAX (ml/mm2)	26,1 (16,6-54,9)	22,7 (16,6-32,1)	0,093	2,8 (-6,34-18,5)	1,8 (-1,6-10,8)	0,641
Kalp hızı(bpm/dk)	80 (59,0-116,0)	77,5 (68,0-92,0)	0,577	0,0 (-29,0-29,0)	4,5 (-16,0-24,0)	0,517

E: Erken Mitral Tepe Akım Hızı, E': Erken Diyastolik Tepe EF: Ejeksiyon Fraksiyonu, IVRT: İzovolemik Relaksasyon Zamanı, LAEF: Sol Atrium Ejeksiyon Fraksiyonu, LA: Sol Atrium, LAScd: Sol Atrium Erken Diyastoldeki Konduit Strain, LASct: Sol Atrium Geç Diyastoldeki Kontraktıl Straini, LASr: Sol Atrium Sistoldeki Rezervuar strain, LAV: Sol Atriyal Volüm, LAVİ: Sol Atriyum Volüm İndeksi, LAVİMAX: Sol Atriyum Maksimum Volüm İndeksi, MDZ: E Dalgasının Deselerasyon Zamanı, PAB: Pulmoner Arter Basıncı, SVDSÇ: Sol Ventrikül Diyastol Sonu Çap, SVSSÇ: Sol Ventrikül Sistol Sonu Çap, TPLS: Pik Longitudunal Straine Ulaşma Süresi, TAPSE: Triküspit Anular Plan Yer Değiştirmesi,

Subklinik kardiyotoksitesisi olan ve olmayan gruplara ayırıp incelediğimizde KT sonrası 1. yılda LAEF [(10.8 vs. -5,8), $p=0,006$] ve LASct'de [(-5.4 vs. 0,3), $p=0,022$] bazal değerlere göre kardiyotoksisite gelişen grupta istatistiksel olarak daha fazla düşüş izlendi (Tablo4.8).

Tablo 4.8 Subklinik kardiyotoksisite gelişen ve gelişmeyen grupta KT 1. yıl sonrası değişimlerinin bazale göre p değerleri.

Parametreler	Bazal Değer ve Birinci Yıl Sonu Değişim		p*
	Kardiyotoksisitesi Olmayanlar Ortanca (Min-Max)	Kardiyotoksisitesi Olanlar Ortanca (Min-Max)	
LA çapı (mm)	1,5 (-5,0-24,3)	1,5 (-3,0-5,0)	0,719
EF (%)	-0,6 (-11,0-11,0)	-2,3 (-17,0-4,0)	0,140
LAV (ml)	0,0 (-13,0-20,0)	-2,0 (-34,0-10,0)	0,426
LAVİ (ml/mm2)	0,0 (-7,0-10,0)	-1,0 (-20,0-5,0)	0,445
PAB (mmHg)	0,0 (-11,0-10,0)	2,0 (-5,0-10,0)	0,576
Mitral E(cm/s)	1,0 (-27,0-21,0)	1,0 (-13,0-40,0)	0,767
Lateral E'(cm/s)	-1,2 (-5,8-3,9)	-1,0 (-6,2-3,0)	0,901
Septal E'(cm/s)	-1,1 (-5,2-3,0)	-1,0 (-4,5-2,0)	0,982
E/E'(cm/s)	6,3(4,0-12,1)	6,5 (5,1-9,0)	0,982
IVRT (msn)	-1,5 (-46,0-84,0)	4,5 (-54,0-35,0)	0,785
TAPSE (mm)	-1,0 (-9,0-12,0)	-2,5 (-8,0-3,0)	0,530
MDZ (msn)	12,0 (-99,0-62,0)	31,0 (-91,0-85,0)	0,517
SVDSÇ (mm)	-0,5 (-17,2-9,0)	2,0 (-5,0-6,0)	0,051
SVSSÇ (mm)	0,5 (-5,0-17,8)	0,5 (-5,0-17,8)	0,399
LAEF (%)	-5,8 (-25,8-3,1)	10,8 (-20,8-13,8)	0,006
TPLS (msn)	19,0 (-77,0-286,0)	45,5 (-58,0-160,0)	0,149
LASr (%)	-3,5 (-17,7-4,0)	-5,8 (-20,7-1,5)	0,191
LAScd (%)	-3,8 (-20,1-12,0)	-1,9 (-21,4-10,7)	0,169
LASct (%)	0,3 (-13,4-13,9)	-5,4 (-18,6-9,4)	0,022
LAVİMAX (ml/mm2)	2,1 (-8,1-28,2)	3,9 (-5,2-23,9)	0,352
Kalp hızı(bpm/dk)	0,5 (-28,0-20,0)	1,5 (-22,0-17,0)	0,865

E: Erken Mitral Tepe Akım Hızı, E': Erken Diyastolik Tepe, EF: Ejeksiyon Fraksiyonu, IVRT: İzovolemik Relaksasyon Zamanı, LA: Sol Atrium, LAEF: Sol Atrium Ejeksiyon Fraksiyonu, LAScd: Sol Atrium Erken Diyastoldeki Konduit Strain, LASct: Sol Atrium Geç Diyastoldeki Kontraktıl Straini, LASr: Sol Atrium Sistoldeki Rezervuar strain, LAV: Sol Atriyal Volüm, LAVİ: Sol Atriyum Volüm İndeksi, LAVİMAX: Sol Atriyum Maksimum Volüm İndeksi, MDZ: E Dalgasının Deselerasyon Zamanı, PAB: Pulmoner Arter Basıncı, SVDSÇ: Sol Ventrikül Diyastol Sonu Çap, SVSSÇ: Sol Ventrikül Sistol Sonu Çap, TPLS: Pik Longitudinal Straine Ulaşma Süresi, TAPSE: Triküspit Anular Plan Yer Değiştirmesi.

Kemoterapi öncesi ve KT sonrası erken dönemde hs-cTn ve miR-1 ΔC_T değişimlerinde istatistiksel olarak anlamlı değişim saptanmasına rağmen hs-cTn'deki [(0,001 vs. 0,001), p=0,526] artış ve miR-1 ΔC_T 'deki [(-1,8 vs. -1,3), p=0,286] düşüş subklinik kardiyotoksisite olan grupla korelasyon göstermediği belirlendi (Tablo 4.9). Kemoterapi sonrası 24-48 saat NT-proBNP subklinik kardiyotoksisite gelişen grupta anlamlı olarak yüksek bulundu [(326,42 vs. 202,3), p=0,014] (Tablo 4.9).

Tablo 4.9 Subklinik kardiyotoksisite gelişen grupta KT sonrası 24-48 saatte NT-proBNP, Hs-cTnT ve MiR-1 DeltaCT'nin bazale göre değişimi.

Parametreler	Bazal değerler		p*	KT 24-48 saat sonrası değişim		p
	Kardiyotoksisitesi olmayanlar Ortanca (min-max)	Kardiyotoksisitesi olanlar Ortanca (min-max)		Kardiyotoksisitesi olmayanlar Ortanca (min-max)	Kardiyotoksisitesi olanlar Ortanca (min-max)	
NT-proBNP(Pg/ml)	61,6 (10,3-245,8)	54,3 (7,6-168,0)	0,525	202,3 (-20,1-669,2)	326,42 (20,1-630,02)	0,014
Hs-cTnT(Ng/mL)	0,004 (0,003-0,02)	0,005 (0,003-0,007)	0,018	0,001 (0,0-0,01)	0,001 (-0,01-0,0)	0,526
MiR-1 DeltaCT	15,7 (8,8-23,8)	14,5 (9,9-24,1)	0,803	-1,3 (-10,3-11,1)	-1,8 (-9,6-1,0)	0,286

Hs-CTnT: Yüksek Duyarlıklı Kardiyak Troponin T, NT-proBNP: N-terminal Pro-Beyin Natriüretik Peptid

4.8.Subklinik Kardiyotoksisite ile İlişkili Aktörleri Gösteren Çok Değişkenli Regresyon Analizi Sonuçları

Kardiyotoksisite ile ilişkili değişkenleri belirlemek için çok değişkenli lojistik regresyon analizi yapıldı. Çok değişkenli lojistik regresyon modeline tek değişkenli analizlerde anlamlılık gösteren değişkenlerle Backward Lojistik regresyon modeli kuruldu. Regresyon modelinin son basamağında, 1.yıl LASct değeri ve kanda 24-48. saatteki hs-cTnT değerinin bazal değerlere göre anlamlı değişim göstermesi GLS'de %15'lik azalma olmasının bağımsız prediktörleri olduğunu göstermede anlamlı değişkenler olarak bulundu. (Tablo 4.10)

Tablo 4.10 Subklinik kardiyotoksisite ile ilişkili değişkenleri belirlemek için çok değişkenli lojistik regresyon analizi.

Değişken	Odds Ratio	%95 CI	p
Hs-cTnT KT 24-48 saat sonrasının bazale göre değişimi (0,004 ng/mL üzeri değişim gösterme)	0,058	0,006-0,746	0,015
LASct 1.yıl değerinin bazale göre değişimi (-4,6 'dan fazla değişim gösterme)	0,065	0,006-0,578	0,028
LAEF 1.yıl değerinin bazale göre değişimi (-8'den fazla değişim gösterme)	0,186	0,030-1,15	0,071
NT-proBNP 1.ay değerinin bazale göre değişimi (222,6 pg/mL üzeri değişim gösterme)	0,523	0,046-5,92	0,601
MiR-1 DeltaCT KT 24-48 saat sonrasının bazale göre değişimi (9,2 'nin altında değişim gösterme)	0,537	0,057-5,02	0,586

Hs-cTnT: Yüksek Duyarlıklı Kardiyak Troponin T, LAEF: Sol Atrium Ejeksiyon Fraksiyonu
 LASct: Sol Atrium Geç Diyastoldeki Kontraktıl Straini, NT-proBNP: N-terminal Pro-Beyin Natriüretik Peptid

5. TARTIŞMA

Çalışmaya aldığımız olgularda KT sonrası 24-48 saatte, değerindeki düşmenin miR-1 ekspresyonunun artışı gösteren DeltaCT'de bazale göre istatistiksel olarak anlamlı azalmanın olduğu ortaya konuldu. Aynı zamanda NT-proBNP ve hs-cTnT de KT sonrası 24-48 saatte bazale göre anlamlı olarak artış gösterdi. Subklinik kardiyotoksisite gelişen grupta ise NT-proBNP'deki değişim istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu ortaya konuldu. Birinci yıl LASct değeri ve kanda 24-48. saatteki hs-cTnT değerinin bazal değerlere göre anlamlı değişim göstermesi GLS'de >%15'lik azalma olmasının bağımsız prediktörleri olduğu tespit edildi.

Kanser tedavisinde yeni moleküler ajanların kullanılmasıyla beraber hastaların sağ kalımında ve yaşam kalitelerinde artış meydana gelmiştir. Tedavide kullanılan yeni moleküllere bağlı olarak sağ kalım artmasının yanında bu ajanların yan etkileri de ortaya çıkmaya başlamıştır. Özellikle meme kanserinde kullanılan bu onkolojik tedavilerin seyrinde ortaya çıkan subklinik miyokardiyal disfonksiyon ve kalp yetersizliği en önemli komplikasyonlar arasındadır. Bu komplikasyonlar hastanın prognozunu olumsuz etkilerken hastanın alması gereken onkolojik tedavisinde de sınırlamalara neden olmaktadır. Özellikle AC kullanılan hematolojik ve solid kanser tedavilerinden sonra AİK gelişme riski %10 olarak bildirilmiştir (48).

Meydana gelen bu kardiyotoksisite mekanizması için çok sayıda hipotez ortaya atılmıştır. Bunlardan en sık kabul gören mekanizma oksidatif stres hipotezidir. Bu hipoteze göre miyositin hücre membranında lipid peroksidasyonunda meydana gelen artış ve ROS'ların oluşumuna bağlı gelişen hasardan kaynaklı kardiyotoksisite meydana gelmektedir (31,48).

Bizde bu çalışma grubumuzda AC tedavisi alan hastalarda KT öncesi ve sonrası 24-48 saatte hs- cTnT pik değerini yaptığı için hs- cTnT, NT-proBNP ve miR-1 düzeylerini değerlendirdik. NT-proBNP düzeyleri KT 24-48 saat sonrasında öncesine göre anlamlı olarak artış gösterdi. Aynı zamanda KT öncesi ve KT 24-48 saat sonrası NT-proBNP değişimlerinde subklinik

kardiyotoksisite için temel değişken olarak kabul ettiğimiz GLS düşüşü olan grupta da anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bulduk. Global longitudinal strain düşüşüne bağlı olarak NT-proBNP’de anlamlı artış görülmesi, bozulan diyastolik disfonksiyona bağlı kalp boşluklarının basınçlarında artış olabileceğini göstermektedir.

Çalışma grubumuzda KT’den 24-48 saat sonrası miR-1 ekspresyon düzeylerinde KT öncesine göre anlamlı olarak artış izlendi. MiR-1 antiapoptik bir gen olan bcl-2’yi susuturarak kardiyak hasar meydana getirir(49). Kemoterapi sonrası miR-1 ekspresyonunda artış olması kardiyak hasarın erken dönemde meydana gelebileceğini göstermektedir.

Bizim çalışmamızda, hs- cTnT değerlerinde KT 24-48 saat sonrası, KT öncesine göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Ama KT 24-48 saat sonrası hs- cTnT’nin KT öncesine göre olan değişimleri kardiyotoksisite gelişen grupta GLS düşüşüyle korelasyon göstermedi.

Sonuç olarak bizim çalışmamızda hs-cTnT, NT-proBNP düzeylerinde ve miR-1 ekspresyonunda KT sonrasının öncesine göre anlamlı olarak artış olduğu görüldü. Bazal hs-cTnT değeri GLS düşüşü olan grupta anlamlı olarak GLS düşüşü olmayan gruba göre daha yüksek bulundu. N-terminal Pro-Beyin Natriüretik Peptidin KT 24-48 saat sonrasının KT öncesine göre değişimi GLS düşüşü olan grupta anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Bazal hs-cTnT değerleri üst referans değerine yakın olan ve KT sonrası NT-proBNP değerlerinde artış gösteren hastalar kardiyo-onkoloji ekibi tarafından yakın takipte tutulması gerekir. Kemoterapi öncesi bazal değerlendirmede kardiyotoksisite riski değerlendirilirken bazal hs-cTnT değerlerinin de önemli olabileceği akılda tutulmalıdır.

Cardinale ve ark. (48) tarafından yürütülen bir çalışmada 204 ileri evre kanser hastasında her bir yüksek doz KT döngüsünden sonra cTnI konsantrasyonları ölçülmüştür. Bu konsantrasyon değerlerinde 0.4 ng/ml artış ve azalış baz alınarak Tn pozitif (n:65) ve Tn negatif (n:139) olarak hastalar iki

gruba ayrılmıştır. Kardiyak TnI (-) grubunda LVEF, KT'den sonra giderek azaldığı ve 3. ayda maksimum azalışa ulaştığı görüldü. Ancak bu azalmanın geçici olduğunu bulmuşlardır. Buna karşılık, cTnI (+) grubunda LVEF azalmasının daha belirgin olduğu ve takip sonunda da hala belirgin olduğu tespit edilmiştir (5,50).

Başka bir çalışmada, meme kanseri nedeni ile tedavi edilen 211 kadın hastada her tedaviden önce, tedaviden hemen sonra ve tedavinin 12, 24, 36 ve 72 saat sonraki dönemlerinde cTnI konsantrasyonu ölçülmüş ve bu değerlerin LVEF'de progresif düşüş ile ilişkili olduğu saptanmıştır (50).

Cardinale ve ark. (49) yürüttüğü başka bir çalışmada ise yüksek doz KT alan 703 hastada erken (KT'den hemen sonra) ve geç dönem (KT'den 1 ay sonra) cTnI değerleri ölçülmüş, hastalar her iki değerin de normal (cTnI -/-), erken değerin yüksek ve geç değerin normal (cTnI +/-) ve her iki değerin de yüksek (cTnI +/+) olduğu hastalar olarak sınıflandırılmıştır. Bu üç grubun bir yıllık izlemlerinde cTnI (-/-) grubunda anlamlı bir LVEF düşüşü izlenmezken cTnI (+/+) grubunda ve cTnI (+/-) gruplarında anlamlı bir LVEF düşüşü olduğu gözlenmiş, bu düşüş cTnI (+/+) grubunda cTnI (+/-) grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek izlenmiştir (51). Bizim çalışmamızda hiçbir hastamızda hs-cTnT değeri üst referans limitinin üstüne çıkmadı ve LVEF anlamlı düşüş izlenmedi. Ancak, hs-cTnT'in KT 24-48 saat sonrası değeri KT öncesine göre anlamlı olarak arttı. 12 hastamızda GLS anlamlı olarak %15'ten fazla düştü. 2022 ESC Kardiyoloji kılavuzuna göre GLS'yi temel değişken olarak kabul ettiğimizde bazal hs-cTnT değeri GLS düşüşü ile anlamlı olarak korelasyon gösterdi. Bu sonuç, bazal hs-cTnT değerinin üst referans değerine ne kadar yakın olursa hastalarda ilerde kardiyotoksikite gelişme riskinin daha fazla olabileceğini düşündürmektedir. Bu ilişkinin netleştirilmesi için geniş çaplı randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Kardiyak TnT dışında NT-proBNP değerinin de kardiyotoksik ajanlarla tedavi edilen hastalarda LVEF düşüklüğü ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Skovgaard ve arkadaşları(50) tarafından yapılan; AC ile tedavi edilen 333 hastanın dahil edildiği bir çalışmada, BNP >100 pg/mL değerinin Kalp

yetmezliği için öngörücü olduğu ($p=0.003$) saptanmıştı. Yüksek doz KT uygulamasından hemen sonra ısrarcı NT-proBNP yüksekliği de kardiyak disfonksiyon gelişimi ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu görülmüştür (52).

Kanser tedavisi gören yetişkin hastalarda Tn veya BNP/NT-proBNP'yi değerlendiren 5691 hastayı içeren 61 çalışmanın verileri dahil edilerek yapılan bir meta-analizde, yüksek Tn seviyelerinin kanser tedavisi alan hastalarda LV işlev bozukluğunu öngördüğü ve natriüretik peptitlerin kalp yetmezliği gelişiminde prediktör olduğu saptanmıştır (53). Bu meta-analizde, bazal Tn düzeyleri yüksek olan hastaların diğer kardiyovasküler risk faktörlerinin de göz önünde bulundurarak kardiyo-onkoloji bölümlerine sevk edilmesi gereken ve önleyici stratejilerden yararlanan hastaları belirlemek için bir tarama testi olarak önerilmektedir. Yine de her iki biyobelirteç için daha fazla kanıt gerektiği belirtilmiştir (53). Bizim çalışmamızda da yaptığımız çoklu analizde KT 24-48 sonrası hs-cTnT'nin KT öncesine göre 0,004 ng/mL'den fazla artması GLS'de %15'lik azalma olmasının bağımsız prediktörü olduğu tespit edilmiştir.

Kandaki Tn ve natriüretik peptit seviyeleri ancak doku hasarı meydana geldikten sonra arttığından, kardiyak disfonksiyon başlangıcının erken tanısı belirteçleri olarak farklı çalışmalar yürütülmektedir. Mevcut biyobelirteçlerin sınırlamaları göz önüne alındığında, yeni yüksek duyarlı ve invaziv olmayan biyobelirteçlerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır. Son zamanlarda yürütülen çalışmalar DOX kaynaklı toksisitede miRNA'ların rolüne dikkat çekmektedir (4). Mikro RNA'lar, gen ekspresyonunun düzenlenmesinde yer alan protein kodlamayan küçük RNA molekülleridir. Mikro RNA ekspresyonlarında değişiklikler birçok kardiyak patoloji ile ilişkilidir (49). Bu nedenle kardiyotoksisite riskini tahmin etmede kullanım için umut verici görünmektedir.

Rigaud ve çalışma ark. (12) her KT döngüsünden üç hafta sonra, cTnI ile birlikte plazma miR-1, miR-133b, miR-146a, miR-208a, miR-208b ve miR-423-5p'nin ekspresyonunu değerlendirdikleri bir çalışma yürütmüşlerdir. Mikro RNA ekspresyonu analiz edilirken, hem miR-208a hem de miR-208b'nin ekspresyonu saptanamadığı için kardiyotoksisite gelişiminde değerlendirilebilen dolaşımdaki yararlı belirteçler olmadığı tespit

edilmiştir. Bunun aksine, miR-133b, -146a ve -423-5p dolaşımında saptanabilmesine rağmen kardiyotoksiste başlangıcıyla anlamlı bir değişiklik göstermediği belirlenmiştir. Sadece miR-1'in, başlangıç seviyelerine kıyasla tüm deneklerde zamanla artan bir eğilimde olduğu ve kardiyotoksiteden etkilenen hastalarda etkilenmeyen hastalara göre 2. 3. ve 4. KT döngüsünden sonra önemli bir artış gösterdiği belirtilmiştir. Aynı zamanda, miR- 1 ekspresyon seviyeleri LVEF'deki değişikliklerle ilişkili olan tek miRNA olduğu ve kardiyotoksiteden etkilenen hastaları etkilenmemiş deneklerden ayırt etmede cTnI'den (0,851'e karşı 0,544) daha iyi bir eğri skoru gösterdiği bulunmuştur. Bizim çalışmamızda miR-1 düzeyi KT sonrası anlamlı artış göstermiş olsa da subklinik hasarın bağımsız prediktörü olmadığı görülmüştür. Çalışma grubumuzdaki hasta sayısı Rigaud ve çalışma ark.(12) yaptığı çalışmayla benzer olsa da çalışmamızda KT sonrası sadece bir defa miR-1 ekspresyon düzeyine bakılabildi. Biz çalışmamızda ESC 2020 NSTE-AKS kılavuzunun kardiyak hasarı belirlemede sınıf 1 olarak önerilen hs-cTnT düzeylerini kardiyotoksiste belirteci olarak incelerken Rigaud ve çalışma ark.(12) konvansiyonel cTnI düzeylerini kardiyotoksiste belirteci olarak inceleyip anlamlı artış olan grupla miR-1 ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemişler(19). Çalışma sonuçlarımız arasındaki fark bu durumlardan kaynaklı olabilir.

Çocuklarda ve yetişkinlerde yapılan başka bir çalışmada AC alan 24 kanser hastası grubu ve kardiyotoksiste yapmayan KT alan 9 kişilik kontrol grubu karşılaştırılmıştır (54). Kemoterapiden 6, 12 ve 24 saat sonra plazma miRNA ekspresyonları karşılaştırıldığında, özellikle miR-1 ve miR-499 plazma ekspresyonları anlamlı bir şekilde tüm zaman dilimlerinde artış gösterdiği belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada Tn yüksekliğinden bağımsız olarak miR-1 tüm zamanlarda plazma konsantrasyonlarında artış gösterme eğiliminde olduğu görülmüştür (54). Bizim çalışmamızda da miR-1 ekspresyonu KT sonrası grupta anlamlı artış göstermiştir.

Sol atrium, dolum basıncının ve LV diyastolik fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Sol atrium, pulmoner venlerden dönen

kan için bir rezervuar (LASr), erken diyastol evresi sırasında LV'ye akan kan için bir kanal (LAScd) ve geç diyastolde kasılan bir pompa (LASct) olarak işlev görür. Bu mekanizmalardan birinin hasar görmesi, LV doldurma basıncının artmasına neden olarak diyastolik parametrelerde kötüleşmeye neden olabilir (55).

Upshaw ve ark.(56) kardiyotoksik KT alan meme kanserli hastalarda sistolik işlev bozukluğundan önce diyastolik fonksiyonların bozulduğunu göstermiştir. Ancak aktif kardiyotoksik kemoterapitik ajan kullanan kanser hastalarında; LA strain ve volümetrik ölçümlerin erken subklinik hasarı gösterebileceği ile ilgili veri yoktur. Biz de bu çalışmada, subklinik kardiyak disfonksiyonun erken prediktörlerini tespit edebilmek için bazı biyokimyasal belirteçler ile birlikte hem LV'nin hem de LA'nın diyastolik parametrelerini inceledik.

Michal Laufer-Perl ve ark.(57) AC KT'si alan meme kanserli hastalarda yaptıkları prospektif çalışmada KT öncesi ve DOX tedavisi bittikten sonraki 2-4 ay arasında sol atrial strain ve diyastolik parametreleri incelemişler. Çalışmada bazı diyastolik parametreler ile hem LASr hem de LAScd arasında korelasyon tespit edilmiştir. Özellikle DOX tedavisinin erken döneminde LASr ve LASct azalmasının daha sık olduğu belirlenmiştir. Timóteo ve ark.(58) kardiyotoksik KT alan meme kanserli hastalarda yaptıkları retrospektif çalışmada, LASct de anlamlı azalma tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da KT 1.ay sonrasında KT öncesine göre LAEF ve LAScd'de anlamlı azalma, LAVİmax'da anlamlı artış ve TLPS'de ise anlamlı uzama görüldü. Kemoterapi sonrası 1.ay EKO'de LAEF, LAScd, LAVİmax ve TLPS'nin bazale göre olan değişimi değerlendirildiğinde GLS düşüşü olan grupta anlamlı bulunmadı. Kemoterapi sonrası 1.yıl strain parametrelerinden LAEF ve LASct'de bazale göre değişiminde GLS düşüşü olan grupta anlamlı olarak daha fazla düşme izlendi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1.KT öncesi değerine göre KT sonrası miR-1 düzeylerinde anlamlı artış olduğu tespit edildi. Ancak GLS düşüşü ile korelasyon saptanmadı. Sonuç olarak AC maruziyetini takiben erken dönemde miR-1 düzeylerinde yükselmeler meydana gelebilir ve kardiyomiyosit hasarını tespit etmede faydalı olabilir.

2.Kemoterapi sonrası grupta miR-1 ekspresyonunun öncesine göre 'fold change' değeri 1,8 kat arttı.

3.Antrasiklin tedavisi alan kanserli hastalarda kardiyak biyobelirteçlerden olan hs-cTnT ve NT-proBNP değerinde KT 24-48 saat sonrasında öncesine göre anlamlı artış olduğu bulundu.

4. Temel değişken olarak GLS düşüşü baz alındığında ise subklinik kardiyotoksisite gelişen grupta KT 24-48 sonrası NT-proBNP'nin öncesine göre değişimi anlamlı bulundu.

5. Kemoterapi öncesi bazal hs-cTnT değeri subklinik kardiyotoksisite gelişen grupta anlamlı olarak yüksekti.

6.Kemoterapi sonrası 1. ay EKO'da LAEF'de anlamlı azalma ve LAVİMAX'ta anlamlı artış meydana geldi.

7.Kemoterapi sonrası 1. yılda EKO parametrelerinden septal ve lateral e', LAEF, LASct ve LAScd'de KT öncesine göre anlamlı azalış, septal e/e' ve LAVİMAX'da öncesine göre anlamlı artış, TLPS'de ise KT öncesine göre anlamlı uzama olduğu görüldü.

8.Kemoterapi sonrası 1. yılda subklinik kardiyotoksisite gelişen grupta LAEF ve LASct'de anlamlı olarak düşüş izlendi.

9.Çok değişkenli analizde hs-cTnT KT sonrası 24-48. Saatte 0,004 ng/mL üzeri artış olması ve LASct'de 1. yılda -4.6'lik azalma olması GLS'de %15'lik azalma olmasının bağımsız prediktörleri olduğu tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Sancho-Garnier H, Colonna M. [Breast cancer epidemiology]. Presse Medicale Paris Fr 1983. Ekim 2019;48(10):1076-84.
2. Bhagat A, Kleiner ES. Anthracycline-Induced Cardiotoxicity: Causes, Mechanisms, and Prevention. İçinde: Kleiner ES, Gorlick R, editörler. Current Advances in Osteosarcoma [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [a.yer 12 Ocak 2022]. s. 181-92. (Advances in Experimental Medicine and Biology; c. 1257). Erişim adresi: http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-43032-0_15
3. Pudil R, Mueller C, Čelutkienė J, Henriksen PA, Lenihan D, Dent S, vd. Role of serum biomarkers in cancer patients receiving cardiotoxic cancer therapies: a position statement from the CARDIO-ONCOLOGY STUDY GROUP of the HEART FAILURE ASSOCIATION and the CARDIO-ONCOLOGY COUNCIL OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY. Eur J Heart Fail. Kasım 2020;22(11):1966-83.
4. Ruggeri C, Gioffré S, Achilli F, Colombo GI, D'Alessandra Y. Role of microRNAs in doxorubicin-induced cardiotoxicity: an overview of preclinical models and cancer patients. Heart Fail Rev. Ocak 2018;23(1):109-22.
5. Selda MURAT, ,, Yüksel ÇAVUŞOĞLU. Kemoterapi ilişkili kardiyotoksitenin belirlenmesinde kardiyak biyobelirteçlerin rolü. Türkiye Klin. 10 Haziran 2021;p.16-24.
6. Cardinale D, Sandri MT. Role of Biomarkers in Chemotherapy-Induced Cardiotoxicity. Prog Cardiovasc Dis. Eylül 2010;53(2):121-9.
7. Duan L, Xiong X, Liu Y, Wang J. miRNA-1: functional roles and dysregulation in heart disease. Mol BioSyst. 2014;10(11):2775-82.

8. Wojciechowska A, Braniewska A, Kozar-Kamińska K. MicroRNA in cardiovascular biology and disease. *Adv Clin Exp Med Off Organ Wroclaw Med Univ*. Ağustos 2017;26(5):865-74.
9. Bose KS, Sarma RH. Delineation of the intimate details of the backbone conformation of pyridine nucleotide coenzymes in aqueous solution. *Biochem Biophys Res Commun*. 27 Ekim 1975;66(4):1173-9.
10. Sluijter JPG, van Mil A, van Vliet P, Metz CHG, Liu J, Doevendans PA, vd. MicroRNA-1 and -499 regulate differentiation and proliferation in human-derived cardiomyocyte progenitor cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Nisan 2010;30(4):859-68.
11. Tang Y, Zheng J, Sun Y, Wu Z, Liu Z, Huang G. MicroRNA-1 Regulates Cardiomyocyte Apoptosis by Targeting Bcl-2. *Int Heart J*. 2009;50(3):377-87.
12. Rigaud VOC, Ferreira LRP, Ayub-Ferreira SM, Ávila MS, Brandão SMG, Cruz FD, vd. Circulating miR-1 as a potential biomarker of doxorubicin-induced cardiotoxicity in breast cancer patients. *Oncotarget*. 24 Ocak 2017;8(4):6994-7002.
13. Potential roles of microRNA-1 and microRNA-133 in cardiovascular disease. *Rev Cardiovasc Med*. 2020;21(1):57.
14. Lyon AR, Dent S, Stanway S, Earl H, Brezden-Masley C, Cohen-Solal A, vd. Baseline cardiovascular risk assessment in cancer patients scheduled to receive cardiotoxic cancer therapies: a position statement and new risk assessment tools from the Cardio- Oncology Study Group of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology in collaboration with the International Cardio- Oncology Society. *Eur J Heart Fail*. Kasım 2020;22(11):1945-60.
15. Gioffré S, Chiesa M, Cardinale DM, Ricci V, Vavassori C, Cipolla CM, vd. Circulating MicroRNAs as Potential Predictors of Anthracycline-Induced

Troponin Elevation in Breast Cancer Patients: Diverging Effects of Doxorubicin and Epirubicin. *J Clin Med*. 11 Mayıs 2020;9(5):1418.

16. Katus HA, Remppis A, Scheffold T, Diederich KW, Kuebler W. Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and nonreperfused myocardial infarction. *Am J Cardiol*. Haziran 1991;67(16):1360-7.
17. Giannitsis E, Kurz K, Hallermayer K, Jarausch J, Jaffe AS, Katus HA. Analytical Validation of a High-Sensitivity Cardiac Troponin T Assay. *Clin Chem*. 01 Şubat 2010;56(2):254-61.
18. Xu RY, Zhu XF, Yang Y, Ye P. High-sensitive cardiac troponin T. *J Geriatr Cardiol JGC*. Mart 2013;10(1):102-9.
19. Collet JP, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, Bhatt DL, vd. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J*. 07 Nisan 2021;42(14):1289-367.
20. Januzzi JL, Mahler SA, Christenson RH, Rymer J, Newby LK, Body R, vd. Recommendations for Institutions Transitioning to High-Sensitivity Troponin Testing. *J Am Coll Cardiol*. Mart 2019;73(9):1059-77.
21. Januzzi JL, Filippatos G, Nieminen M, Gheorghiade M. Troponin elevation in patients with heart failure: on behalf of the third Universal Definition of Myocardial Infarction Global Task Force: Heart Failure Section. *Eur Heart J*. Eylül 2012;33(18):2265-71.
22. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, vd. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J*. 21 Eylül 2021;42(36):3599-726.
23. Harrison N, Favot M, Levy P. The Role of Troponin for Acute Heart Failure. *Curr Heart Fail Rep*. Şubat 2019;16(1):21-31.

24. deFilippi CR, de Lemos JA, Christenson RH, Gottdiener JS, Kop WJ, Zhan M, vd. Association of Serial Measures of Cardiac Troponin T Using a Sensitive Assay With Incident Heart Failure and Cardiovascular Mortality in Older Adults. *JAMA*. 08 Aralık 2010;304(22):2494.
25. Agewall S, Giannitsis E, Jernberg T, Katus H. Troponin elevation in coronary vs. non-coronary disease. *Eur Heart J*. 02 Şubat 2011;32(4):404-11.
26. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci*. Ocak 1981;28(1):89-94.
27. Flynn TG, de Bold ML, de Bold AJ. The amino acid sequence of an atrial peptide with potent diuretic and natriuretic properties. *Biochem Biophys Res Commun*. Aralık 1983;117(3):859-65.
28. Hall C. Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. *Eur J Heart Fail*. Mart 2004;6(3):257-60.
29. Ananthan K, Lyon AR. The Role of Biomarkers in Cardio-Oncology. *J Cardiovasc Transl Res*. Haziran 2020;13(3):431-50.
30. Diorio C, Shraim R, Vella LA, Giles JR, Baxter AE, Oldridge DA, vd. Proteomic profiling of MIS-C patients indicates heterogeneity relating to interferon gamma dysregulation and vascular endothelial dysfunction. *Nat Commun*. Aralık 2021;12(1):7222.
31. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Muñoz D, Aboyans V, Asteggiano R, Galderisi M, vd. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 21 Eylül 2016;37(36):2768-801.

32. Venkatesh P, Kasi A. Anthracyclines. İçinde: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [a.yer 24 Ocak 2022]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538187/>
33. Cappetta D, Rossi F, Piegari E, Quaini F, Berrino L, Urbanek K, vd. Doxorubicin targets multiple players: A new view of an old problem. *Pharmacol Res.* Ocak 2018;127:4-14.
34. Quatromoni N, Scherrer-Crosbie M. Update on Incorporating Biomarkers with Imaging Findings for the Detection and Management of Cardiotoxicity. *Curr Cardiol Rep.* Ağustos 2018;20(8):67.
35. Čelutkienė J, Plymen CM, Flachskampf FA, de Boer RA, Grapsa J, Manka R, vd. Innovative imaging methods in heart failure: a shifting paradigm in cardiac assessment. Position statement on behalf of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail.* Aralık 2018;20(12):1615-33.
36. Čelutkienė J, Pudil R, López-Fernández T, Grapsa J, Nihoyannopoulos P, Bergler-Klein J, vd. Role of cardiovascular imaging in cancer patients receiving cardiotoxic therapies: a position statement on behalf of the Heart Failure Association (HFA), the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) and the CARDIO-ONCOLOGY Council of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur J Heart Fail.* Eylül 2020;22(9):1504-24.
37. Fang K, Zhang Y, Liu W, He C. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor/angiotensin receptor blocker use on cancer therapy-related cardiac dysfunction: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Heart Fail Rev.* Ocak 2021;26(1):101-9.
38. Macedo AVS, Hajjar LA, Lyon AR, Nascimento BR, Putzu A, Rossi L, vd. Efficacy of Dexrazoxane in Preventing Anthracycline Cardiotoxicity in Breast Cancer. *JACC CardioOncology.* Eylül 2019;1(1):68-79.

39. Liu JE, Barac A, Thavendiranathan P, Scherrer-Crosbie M. Strain Imaging in Cardio-Oncology. *JACC CardioOncology*. Aralık 2020;2(5):677-89.
40. Lyon AR, López-Fernández T, Couch LS, Asteggiano R, Aznar MC, Bergler-Klein J, vd. 2022 ESC Guidelines on cardio-oncology developed in collaboration with the European Hematology Association (EHA), the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO) and the International Cardio-Oncology Society (IC-OS). *Eur Heart J*. 26 Ağustos 2022;ehac244.
41. Rossello X, Dorresteijn JA, Janssen A, Lambrinou E, Scherrenberg M, Bonnefoy-Cudraz E, vd. Risk prediction tools in cardiovascular disease prevention: A report from the ESC Prevention of CVD Programme led by the European Association of Preventive Cardiology (EAPC) in collaboration with the Acute Cardiovascular Care Association (ACCA) and the Association of Cardiovascular Nursing and Allied Professions (ACNAP). *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 01 Ağustos 2020;9(5):522-32.
42. Battisti NML, Andres MS, Lee KA, Ramalingam S, Nash T, Mappouridou S, vd. Incidence of cardiotoxicity and validation of the Heart Failure Association-International Cardio-Oncology Society risk stratification tool in patients treated with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. Temmuz 2021;188(1):149-63.
43. Feijen EAM, Leisenring WM, Stratton KL, Ness KK, van der Pal HJH, van Dalen EC, vd. Derivation of Anthracycline and Anthraquinone Equivalence Ratios to Doxorubicin for Late-Onset Cardiotoxicity. *JAMA Oncol*. 01 Haziran 2019;5(6):864-71.
44. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, vd. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr*. Şubat 2009;22(2):107-33.

45. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, vd. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. Mart 2015;16(3):233-70.
46. Leung DY, Boyd A, Ng AA, Chi C, Thomas L. Echocardiographic evaluation of left atrial size and function: current understanding, pathophysiologic correlates, and prognostic implications. *Am Heart J*. Aralık 2008;156(6):1056-64.
47. Badano LP, Kolas TJ, Muraru D, Abraham TP, Aurigemma G, Edvardsen T, vd. Standardization of left atrial, right ventricular, and right atrial deformation imaging using two-dimensional speckle tracking echocardiography: a consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 01 Haziran 2018;19(6):591-600.
48. Bhatia S. Genetics of Anthracycline Cardiomyopathy in Cancer Survivors: JACC: CardioOncology State-of-the-Art Review. *JACC CardioOncology*. Kasım 2020;2(4):539-52.
49. Vacchi-Suzzi C, Bauer Y, Berridge BR, Bongiovanni S, Gerrish K, Hamadeh HK, vd. Perturbation of microRNAs in rat heart during chronic doxorubicin treatment. *PloS One*. 2012;7(7):e40395.
50. Cardinale D, Sandri MT, Martinoni A, Tricca A, Civelli M, Lamantia G, vd. Left ventricular dysfunction predicted by early troponin I release after high-dose chemotherapy. *J Am Coll Cardiol*. Ağustos 2000;36(2):517-22.
51. Cardinale D, Sandri MT, Colombo A, Colombo N, Boeri M, Lamantia G, vd. Prognostic Value of Troponin I in Cardiac Risk Stratification of Cancer Patients Undergoing High-Dose Chemotherapy. *Circulation*. 08 Haziran 2004;109(22):2749-54.

52. Sandri MT, Salvatici M, Cardinale D, Zorzino L, Passerini R, Lentati P, vd. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide after high-dose chemotherapy: a marker predictive of cardiac dysfunction? Clin Chem. Ağustos 2005;51(8):1405-10.
53. Hinrichs L, Mrotzek SM, Mincu RI, Pohl J, Röhl A, Michel L, vd. Troponins and Natriuretic Peptides in Cardio-Oncology Patients—Data From the ECoR Registry. Front Pharmacol. 19 Mayıs 2020;11:740.
54. Leger KJ, Leonard D, Nielson D, de Lemos JA, Mammen PPA, Winick NJ. Circulating microRNAs: Potential Markers of Cardiotoxicity in Children and Young Adults Treated With Anthracycline Chemotherapy. J Am Heart Assoc. 04 Nisan 2017;6(4):e004653.
55. Kebed KY, Addetia K, Lang RM. Importance of the Left Atrium. Heart Fail Clin. Nisan 2019;15(2):191-204.
56. Upshaw JN, Finkelman B, Hubbard RA, Smith AM, Narayan HK, Arndt L, vd. Comprehensive Assessment of Changes in Left Ventricular Diastolic Function With Contemporary Breast Cancer Therapy. JACC Cardiovasc Imaging. Ocak 2020;13(1):198-210.
57. Laufer-Perl M, Arias O, Dorfman SS, Baruch G, Rothschild E, Beer G, vd. Left Atrial Strain changes in patients with breast cancer during anthracycline therapy. Int J Cardiol. 01 Mayıs 2021;330:238-44.
58. Timóteo AT, Moura Branco L, Filipe F, Galrinho A, Rio P, Portugal G, vd. Cardiotoxicity in breast cancer treatment: What about left ventricular diastolic function and left atrial function? Echocardiography. Ekim 2019;36(10):1806-13.

