

# Yaşa Bağlı Kalp Fonksiyon Değişiklikleri ve miRNA'lar

## Age-related Alterations in Cardiac Function and miRNA's

Yusuf Olgar<sup>1</sup>, Deniz Billur<sup>2</sup>, Belma Turan<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Lokman Hekim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Kalp fonksiyonundaki değişimler ile gen ifadelerindeki değişimler arasında yakın ilişkiler olduğu ve özellikle gen ifadesi sonrası modifikasyonların bu değişimlerde başta rol aldığı bilinmektedir. Ancak kalpteki mikroRNA'ların (miRNA) yapısal değişimlerle ilişkisi henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Bu çalışmada yaşa bağlı seyreden yapısal değişimlerin miRNA gen ifade düzeyleriyle olan ilişkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmada Wistar türü erkek sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar 3 aylık genç-yetişkin ve 12 aylık ileri-yaş-yetişkin olarak gruplandırılmıştır. Kalp doku kesitleri hematoksin ve eozin ve masson trikrom boyama protokolü uygulanarak ışık mikroskopunda incelenmiştir. Kalp dokusu homojenatından miRNA izolasyonu hazır kitler kullanılarak yapılmış, ifade düzeyleri ise qt-PCR ile ölçülmüştür.

**Bulgular:** Histolojik bulgular kalbin sol ventrikül kısmında kalp kası liflerinde hipertrofi ve özellikle endomisyal alanda artan sayıda fibroblastlar ve bağ dokusu elemanlarının olduğunu göstermiştir. Öte yandan yaşlanmayla birlikte endomisyum kılıfı lif yoğunluğunda belirgin bir fibroz yapılanması gözlenmiştir. Biyokimyasal sonuçlar miRNA-1 miRNA-133a ve miRNA-133b gen ifade düzeylerinin azaldığını göstermektedir.

**Sonuç:** Çalışma sonuçları, sıçan kalp dokusunda yaşa paralel olarak miRNA gen ifade düzeylerindeki azalmanın yapısal ve fonksiyonel değişimlere aracılık ettiğini düşündürmektedir. Bu sonuçlar, yaşlanmanın etiyolojisini anlamak için miRNA'larla ilgili yeni tanı-tedavi hedeflerinin gerçekleştirilmesi açısından önemli olduğunu işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Kalp Fonksiyonu, miRNA, Histoloji, Işık Mikroskopi, Qt-PCR Analizi, Yaşlanma

### Abstract

**Objectives:** Since changes in cardiac function are closely related to alterations in cardiac gene-expression, post-gene expression modifications exert an important role in these changes. However, the relationship between cardiac miRNAs and structural changes has not been fully elucidated yet. In this study, we aimed to investigate the relationship between structural changes and miRNA gene expression levels in senescent heart.

**Materials and Methods:** Wistar type male rats were used in this study. Rats were grouped as 3-month-old young-adults and 12-month-old adults. Cardiac tissue sections were examined under a light microscope using hematoxylin and eosin and masson trichrome staining protocol. Isolation of miRNA from cardiac tissue homogenate was performed using commercial kits and expression levels were determined by qt-PCR.

**Results:** Histological findings showed that there was hypertrophy in muscle fibers, and an increasing number of fibroblasts and connective tissue elements, especially in the endomysial area in left ventricular tissue. On the other hand, a marked fibrosis was observed in the endomysium fiber density during aging. Biochemical results showed that miRNA-1 miRNA-133a and miRNA-133b gene expression levels were significantly decreased.

**Conclusion:** It suggests that the decrease in miRNA gene expression levels with aging mediates structural and functional changes. These results are important in terms of achieving new treatment-diagnostic goals related to miRNAs to understand the etiology of aging.

**Key Words:** Cardiac Function, miRNA, Histology, Light Microscopy, Qt-PCR, Aging

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Belma Turan,

Lokman Hekim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 532 346 44 59 E-posta: belma.turan@medicine.ankara.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0003-2583-9294

Geliş Tarihi/Received: 15.09.2020 Kabul Tarihi/Accepted: 30.09.2020

©Telif Hakkı 2021 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



## Giriş

Yaşlanma fizyolojik bir süreç olmasına karşın, kardiyovasküler yaşlanma günümüzde önemli bir sağlık sorunudur ve bireylerin ileri yaşlarında çeşitli kalp hastalıkları için en önemli risk faktörleri arasındadır. İlerleyen yaşla birlikte bireylerde organların dokularında ve damar sisteminde yaşa paralel olarak ilerleyen yapısal ve fonksiyonel değişiklikler kardiyovasküler hastalık gelişme riskini artırmaktadır. Bunlar arasında gözlenen en önemli patolojik durumlar sol ventrikül hipertrofisi prevalansının artması, diastolik fonksiyon bozuklukları ve atriyal fibrillasyon insidansının artması olarak bildirilmiştir (1-3). Ayrıca, çeşitli klinik ve deneysel çalışma sonuçları, yaşlanmanın insülin direncinin gelişimi için göze çarpan önemli bir durum olduğunu, altında yatan birden fazla faktör bulunduğunu, bireylerde vücut ağırlığına ve yağ miktarına bağlı olmaksızın da insülin direncinin gelişebildiğini, normal insülin bağlanma süreçlerine rağmen insülin direncinin gelişmesinde postreseptör bozuklukların varlığını işaret etmektedir (4-6).

Kalp ve damar fizyolojisinde meydana gelen değişimler birbirini tetikleyen bir seri fizyopatolojik süreçleri beraberinde getirmektedir. Örneğin, yalnızca kalp dokusunda değil, aynı zamanda arterlerde sertliğin artması, kalpte yeniden modellenme mekanizmalarını devreye sokarak fibroblast proliferasyonunu ve sol ventrikül hipertrofisi gelişmesine neden olmaktadır. Sistem düzeyinde bu değişimler fibrotik doku artışı ve kalp çıktısının azalmasına yol açarak kardiyovasküler hastalıkların gelişimine zemin oluşturmaktadır (1,7). Klinik bulgular yanında deneysel çalışmalarda, özellikle hücre ölümleriyle beraber seyreden elektriksel iletim bozukluklarının atriyal fibrillasyona neden olduğu rapor edilmiştir (8). Bireylerde yaşa bağlı olarak sayıları ve yapısı değişen kardiyomiyositlerin, rejenerasyon yeteneği azalmakta, ve yerini kollajen üreten fibroblastlar olarak kalp dokusunda kollajen artışına neden olmaktadır. Bu değişiklikler, kalbin kontraktıl fonksiyonunda değişiklik oluşturmamakla birlikte, gevşeme (relaksasyon) zamanında uzama ile sonuçlanmaktadır (9-11). Böylece, kalbin diastolik fonksiyonu (gevşemesi, kompliyansı) bozulmakta ve diastolik fonksiyon yetersizliği gelişmektedir.

Kalp fonksiyonundaki değişimlerin yaşlanmaya bağlı incelenmesinde, yaşa bağlı olarak kalpte gen-ifadelerinde değişimler olduğu yaklaşımı gen-ifadesi analiz yöntemlerinin (mikrodiziner gibi) gelişmesi ile hızla önem kazanmıştır (12-14). MikroRNA'lar (miRNA'lar) kısa, yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda, endojen regülatör RNA molekülleridir ve post-transkripsiyonel düzeyde spesifik miRNA'ları hedef alarak gen ekspresyonlarını baskırlar ve bununla beraber tüm hücre tiplerinde bulunmalarına karşın bazı dokularda diğerlerine oranla daha fazla eksprese edilirler (15). Yapılan çalışmalarda miRNA'ların gelişim, metabolizma ve immün yanıt gibi birçok

biyolojik süreci regüle etmektedir. miRNA'ların ekspresyonlarında değişiklikler birçok patoloji ile ilişkilidir. Bu sebepten ekspresyonlarının profillerinin çıkartılması kardiyovasküler patolojileri anlamak ve yeni tedavi yaklaşımları için çok önemlidir (15,16). Günümüzde insanlarda, miRNA profilindeki bozukluğun birçok hastalığın gelişmesi ve ilerlemesinde etkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir ve kalp fonksiyonu ile ilgili olan çalışmalar halen devam etmektedir (9,17-20).

Kardiyomiyosit yaşlanmasının moleküler mekanizmasının incelendiği çalışmalarda, hücrel değişimlerin bazılarının çeşitli sinyal mekanizmaları ile ilişkili gen ifadesindeki değişimlerin rol oynadığı vurgulanmıştır (18). Bu hususta yapılan bir çalışmada, genç ve yaşlı sıçan serumunda 68 miRNA'nın farklı seviyelerde eksprese olduğu gösterilmiştir (21). Daha önce yapılan benzer çalışmalarda da miRNA'ların kardiyovasküler yaşlanmada ve yaşa bağlı kalp fonksiyon değişikliklerindeki rolleri incelenmiştir (9,17,22,23). Örneğin, daha önce insanlarda yapılan bir çalışmada; üç farklı kardiyak patolojiye (aortik stenozis, dilate kardiyomiyopati ve iskemik kardiyomiyopati) ait miRNA ekspresyonlarında farklılıklar olduğu gösterilmiştir (24). Ayrıca, miRNA profillerinin hipertrofi, kalp yetmezliği ve miyokardiyal enfarktüs gibi kardiyak patolojilerde değiştiği gösterilmiştir (19,20,25-27). Bu hususta yapılan her bir yeni çalışmanın miRNA'ların yaşa bağlı kalp fonksiyon değişikliklerinde önemli olacağı göz önüne alınarak, bu çalışmada kalp fonksiyonlarında yaşa bağlı önemli değişiklikler gözlenen genç-yetişkin (G-Y) ve ileri-yaş-yetişkin (İ-Y-Y) sıçan kalp dokusundaki yapısal ve gen-ifadesi değişikliklerinin birlikte incelenmesi hedeflenmiştir (28).

## Gereç ve Yöntemler

### Deney Hayvanları

Bu çalışmada kullanılan deney hayvanları Wistar türü erkek sıçanlar olup, hayvanlar Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (karar no: 2018-18-117). Sıçanlar 2 grup olarak planlanmış olup, genç yetişkin grup 3 aylık sıçanlardan (7 sıçan) ve ileri-yaş yetişkin grubu ise 12 aylık sıçanlardan (7 sıçan) seçilmiştir. Deney hayvanları, her kafeste 2-3 sıçan olmak üzere su ve yem kısıtlaması olmaksızın, standart deney hayvanları barınma koşullarında Biyofizik Anabilim Dalı'nda bulunan deney hayvanları barınma ve bakım ünitesinde deney anına kadar muhafaza edilmişlerdir.

### Işık Mikroskobu İncelemesi

Sakrifikasyon işlemi sonrasında çıkarılan sol ventrikül %10 tamponlu nötral formalin solüsyonunda 72 saat tespit edildi. Çeşme suyunda yıkandıktan sonra sırasıyla %75, %96 ve %100 etanol serilerinden geçirilerek dehidrate edilen doku örnekleri ksilol ile şeffaflandırıldı. Dokular ışık geçirgen hale geldiklerinde

parafin ile 56°C etüvde 4 saat muamele edildi ve parafin bloklara gömüldü.

Elde edilen parafin bloklardan mikrotom aracılığıyla (Leica RM 2125 RT Bensheim, Germany) 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitler hematoksin eozin (HE) ve masson trikrom (MT) boyama protokolü uygulanarak boyandı. Boyanan kesitler ışık mikroskobu (Carl Zeiss AxioScope. A1 microscope, Oberkochen, Germany) ile incelendi ve fotoğraflandı. MT boyama protokolü uygulanan kesitlerde mavi renkli alanlar kollajen liflerin artış gösterdiği alanlar fibrozis alanları olarak değerlendirildi.

### miRNA'ların Ölçümü

İzole edilen dokulardan toplam RNA izolasyonu için üretici firmanın protokolleri doğrultusunda RNA-izolasyon kiti kullanılmıştır (Ambion, mirVana miRNA Isolation Kit). Daha sonra, elde edilen toplam RNA'lar spektrofotometrede sayılmıştır (Nanodrop) ve 5 ile 70 µg arasındaki örnekler mikrodizin ve real time polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) deneylerinde kullanılmıştır. miRNA mikrodizin deneyi ve analizinde deney protokolü olarak üretici firmanın (Genisphere FlashTag Biotin RNA Labeling Kits for use with Affymetrix miRNA Arrays) deney protokolleri ve literatür bilgileri ışığı altında uygulanmıştır (29,30). Son aşamada elde edilen ham verilerin analizi için Integromics Biomarker Discovery ve GeneSifter (Affymetrix miRNA QC Tool) mikrodizin analiz yazılımı kullanılmıştır.

Gruplara ait cDNA'lardan 1-µL alınarak, kit içerisinde hazır olarak gelen, Syber Green I boyası, Universal Primer, polimeraz enzimi, miRNA spesifik primer ve su ile 20-µL olacak şekilde karıştırılarak real time PCR cihazına (Roche Light Cycler 1.2) yüklenmiştir. Floresan kayıtları reaksiyonun uzama aşamasında alınmıştır. Reaksiyonlarda Qiagen marka miRNA'lardan miR-1, miR-133a, ve miR-133b için spesifik primerler ve referans gen olarak da U6B primeri kullanılmıştır. Real time PCR deneyleri sonucu elde edilen ham data  $\Delta/\Delta CT$  metodu ile analiz edilmiştir (29,30).

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel olarak anlamlılıklar için ise t-test ( $p < 0,05$ ) uygulanmıştır. Tüm deney sonuçları ortalama  $\pm$  standart hata ortalaması (SEM) olarak verilmiştir.

## Bulgular

### Deney Hayvanları ile İlgili Genel Bulgular

Bu çalışmada kullandığımız genç yetişkin (3 aylık) grubun ortalama vücut ağırlıkları olarak  $240 \pm 08$  g iken, ileri-yaş yetişkin (12 aylık) grubun ortalama vücut ağırlıkları  $378 \pm 22$  g olarak ölçülmüştür. Deney hayvanlarının yaşa göre normal sınırlar içinde kilo aldığı gözlenmiş olup, ileri-yaş grupta SEM değerlerinin daha büyük olduğu gözlenmiştir. Normal standart diyetle beslenen bu iki grup sıçanların açlık kan şekerleri

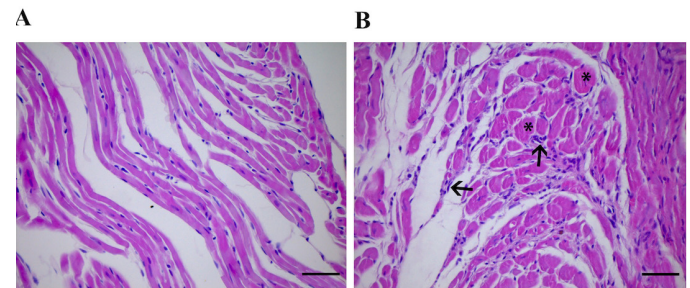
ölçüldüğünde, bu gruplar için değerlerin sırasıyla  $113 \pm 12$  mg/dL ve  $157 \pm 17$  mg/dL ölçülmüştür. Gruplar arası farkın istatistiksel olarak anlamlı derecede olduğu ( $p < 0,05$ ) olduğu gözlenmiştir. Bu iki gruptaki sıçanlardan genç grubun kalp ağırlığı (ıslak) ortalama olarak  $1,0 \pm 0,1$  g iken ileri-yaş grubunda kalp ağırlığı  $1,6 \pm 0,1$  g ölçülmüştür. Yaşlanmaya bağlı olarak kalp ağırlığı ile vücut ağırlığı oranının (mg/g olarak) istatistiksel olarak anlamlı seviyede değişmediği ( $4,3 \pm 2,5$  ve  $4,3 \pm 1,4$ ) dikkat çekicidir.

### Histolojik Bulgular

Kalbin sol ventrikül kısmı ışık mikroskobu ile incelendiğinde bu grup hayvanlarda kalp fonksiyon bozukluğunun geliştiği elektrokardiyografi (EKG) ve mekanik aktiviteler ölçülerek daha önceki çalışmalarımızda gösterilmiş olduğu için bu çalışmada sol ventrikül dokularında ışık mikroskobu incelemeleri yapılmıştır (31-35). Işık mikroskobu incelemesinde HE boyalı kesitlerde G-Y grubuna ait sol ventrikül dokusu örnekleri olağan görünümde izlenmiştir (Şekil 1A). İ-Y-Y grubuna ait örneklerde kalp kası liflerinde hipertrofi ve özellikle endomisyal alanda artan sayıda fibroblastlar ve bağ dokusu elemanları dikkat çekmektedir (Şekil 1B). MT boyanmış G-Y grupta enine ve boyuna kesitler arasında fibroblastlar tarafından sentezlenen endomisyum kılıfı ince kollajen liflerden oluşmuş şekilde izlenirken (Şekil 2A), İ-Y-Y grupta kollajen lif yoğunluğunda belirgin artış fibrozis olarak değerlendirilmiştir (Şekil 2B).

### Sol Ventrikül Dokusunda Ölçülen miRNA Seviyeleri

Kaplıten izole edilen sol ventrikül homojenatlarında ölçülen miRNA'lar daha önceki çalışmalarımız referans alınarak seçilmiştir (30). G-Y ve İ-Y-Y gruplarında sol ventrikül doku homojenatlarında quantitative-real-time PCR ölçümleri yapılmış olup, İ-Y-Y grubun verileri G-Y grubun verileri ile karşılaştırılarak veriler yüzde (%) değişim olarak sunulmuştur. Kalp fonksiyonu ile yakından ilişkili olduğu gösterilen miR-1, miR-133a ve miR-133b gibi miRNA'ların İ-Y-Y grubunda istatistiksel olarak önemli derecede ( $p < 0,01$ ) azaldığı gözlenmiştir (Şekil 3). Daha önceki



**Şekil 1:** Genç-yetişkin (3 aylık; G-Y) ve ileri-yaş-yetişkin (12 aylık; İ-Y-Y) gruplarından alınan sol ventrikül kesitlerine ait H-E boyalı ışık mikroyaflar izlenmektedir. Yaşlı gruba ait kardiomyositlerde hipertrofi (\*) ve kardiomyosit çevresinde artmış fibroblast yoğunluğu (ok) görülmektedir. Büyütme: x400. Boya: Hematoksin -Eozin, Bar: 50 mm.

G-Y: Genç-yetişkin, İ-Y-Y: İleri-yaş-yetişkin

çalışmalarımızda, 3 aylık ve 6 aylık normal sıçan grupları arası ile 6 aylık diyabetli ve normal sıçan grupları arasında kardiyomiyosit seviyesinde yapılan elektrofizyolojik incelemelerin farklı olduğunun gözlenmesi bu bulguları desteklemektedir (28,30).

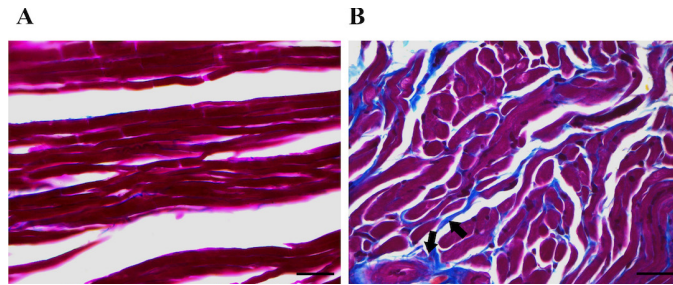
## Tartışma

Memelilerde yaşa paralel olarak kalbin yapısı, uyarılma-kasılma çiftlenimi (excitation-contraction coupling), hücre içi  $Ca^{2+}$  homeostazısı, kontraktıl yapıların regülasyonu değiştiği gibi, organellerin ve diğer yapıların bütünlüğünün de bozulmasına kadar uzanan süreçlere aracılık eden fizyolojik süreçler mevcuttur. Yaşlanmayla birlikte sol ventrikül duvarının kalınlaşması, fibroz doku miktarındaki artış ve hücrelerin hipertrofiye uğraması gibi fizyolojik değişimler fonksiyonel olarak kasılma-gevşeme dinamiklerini etkilemektedir. Kalp fonksiyonundaki değişimlerin kalpte gen-ifadelerinde değişimler ile yakından ilişkili olduğu ve özellikle gen ifadesi sonrası modifikasyonların bu değişimlerde başta rol aldığı çeşitli çalışmalarda ileri sürülmüştür (12,14). miRNA'lar kısa, yaklaşık 22

nükleotid uzunluğunda, endojen regülatör RNA molekülleridir ve post-transkripsiyonel düzeyde spesifik miRNA'ları hedef alarak gen ifadesi düzeylerinin regülasyonunu sağlarlar (15). miRNA'ların regülasyon mekanizması gelişim, metabolizma ve immün yanıt gibi birçok biyolojik süreci kontrol etmektedir. miRNA'ların ekspresyonlarında değişiklikler birçok patoloji ile ilişkili olduğundan kardiyovasküler patolojileri anlamak ve yeni tedavi yaklaşımları geliştirmek için miRNA ifadelerinin profillerinin tayini son yıllarda giderek önem kazanmaktadır (15,16). Günümüzde klinik çalışmalar miRNA profilindeki bozukluğun hipertansiyon, ani kalp ölümleri, atriyal fibrilasyon, sol ventrikül hipertrofisi ve kalp yetmezliği gibi birçok hastalığın gelişmesi ve ilerlemesinde etkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (36-39).

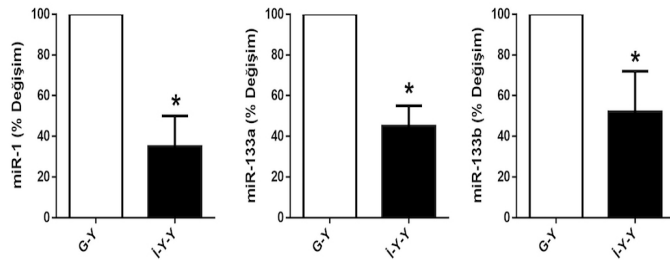
Daha önceki çalışmamızda, yaşlanmada uyarı ileti sisteminin yavaşladığı ve QT-uzamasının dokularda ve hücrelerarası matrikste kollagen ve yağ birikiminden kaynaklandığı gösterilmiştir (40). Bu çalışmada histolojik bulgularımız kalbin sol ventrikül kısmında kalp kası liflerinde hipertrofi ve özellikle endomisyal alanda artan sayıda fibroblastlar ve bağ dokusu elemanlarının olduğunu göstermektedir. Öte yandan yaşlanmayla birlikte endomisyum kılıfı lif yoğunluğunda belirgin bir fibroz yapılanması gözlenmiştir. Bu bulgularımız önceki histolojik ve EKG bulgularımızla uyumludur (40).

Fibroz oluşumu organ ve dokularda yapı-fonksiyon ilişkisini bozmaktadır. Enflamasyonun fibrozis süreçlerinde önemli rol aldığı özellikle sitokin, kemokin ve hücre büyüme faktörlerinin bu oluşumu tetiklediği bilinmektedir. Güncel çalışmalar miRNA'ların fibrozis oluşumuna aracılık eden birçok mekanizmayı regüle etmektedir (41). Özellikle miR-133 ailesinin kalp fibröz doku oluşumunu ve hipertrofik miyopatiyi baskıladığı gösterilmiştir (42). Bulgularımız miR-133a ve miR-133b ifade düzeylerinin azaldığını ve fibroz oluşumuna neden olduğunu göstermektedir. Ayrıca miR-133 ailesiyle birlikte bulunan ve fonksiyonlarını regüle eden miR-1 ifade seviyesinde anlamlı azalma görülmüştür. Bu azalmanın dilate kardiyomiyopatiye ve kalp yetmezliğine uzanan süreçlere aracılık etmektedir (43).



**Şekil 2:** Genç-yetişkin (3 aylık; G-Y) ve ileri-yaş-yetişkin (12 aylık; İ-Y-Y) gruplarından alınan sol ventrikül kesitlerine ait MT boyalı ışık mikrograflar izlenmektedir. İleri-yaş yetişkin gruplarda kardiyomiyositler çevresinde yoğunlaşan kollajen telleri ve fibrozis (kalın ok) dikkat çekmiştir. Büyütme: x400. Boya: Masson Trikrom, Bar: 50 mm.

MT: Masson trikrom, G-Y: Genç-yetişkin, İ-Y-Y: İleri-yaş-yetişkin



**Şekil 3:** Quantitative real-time PCR kullanılarak genç-yetişkin (3 aylık; G-Y) ve ileri-yaş-yetişkin (12 aylık; İ-Y-Y) gruplarından sol ventrikül doku homojenatlarında ölçülen miRNA'lar (miR); miR-1, miR-133a ve miR-133b İ-Y grubuna göre yüzde (%) değişim olarak verilmiştir. \*p<0,01.

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu, G-Y: Genç-yetişkin, İ-Y-Y: İleri-yaş-yetişkin

## Sonuç

Yaşlanmaya paralel olarak miRNA gen ifade düzeylerindeki azalmanın yapısal ve fonksiyonel değişimlere aracılık ettiği göz önünde bulundurulduğunda, miRNA'larla ilgili yeni tanı ve tedavi hedeflerinin gerçekleştirilmesi yaşlanmanın etiyolojisini anlamak açısından oldukça önemli görünmektedir.

### Etik

**Etik Kurul Onayı:** Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (karar no: 2018-18-117).

**Hasta Onayı:** Bu çalışmada bir hayvan deneyi olduğundan, hasta onayı alınmamıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunun dışından olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

#### Yazarlık Katkıları

Konsept: B.T., Y.O., Dizayn: B.T., Y.O., Veri Toplama veya İşleme: Y.O., D.B., Analiz ve Yorumlama: Y.O., D.B., B.T., Literatür Arama: Y.O., D.B., Yazan: B.T.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Bu çalışmanın finansal desteği, TÜBİTAK SBAG-216S979 no'lu projeden sağlanmıştır.

#### Kaynaklar

- Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. *Circulation*. 2003;107:346-354.
- Ferrucci L. The Baltimore Longitudinal Study of Aging (BLSA): a 50-year-long journey and plans for the future. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008;63:1416-1419.
- Ferrucci L, Giallauria F, Guralnik JM. Epidemiology of aging. *Radiol Clin North Am*. 2008;46:643-652.
- Fink RI, Kolterman OG, Griffin J, Olefsky JM. Mechanisms of insulin resistance in aging. *J Clin Invest*. 1983;71:1523-1535.
- Escrivá F, Gavete ML, Fermin Y, et al. Effect of age and moderate food restriction on insulin sensitivity in Wistar rats: role of adiposity. *J Endocrinol*. 2007;194:131-141.
- Evans JL, Goldfine ID. Aging and insulin resistance: just say iNOS. *Diabetes*. 2013;62:346-348.
- Lakatta EG. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part III: cellular and molecular clues to heart and arterial aging. *Circulation*. 2003;107:490-497.
- Antelmi I, de Paula RS, Shinzato AR, et al. Influence of age, gender, body mass index, and functional capacity on heart rate variability in a cohort of subjects without heart disease. *Am J Cardiol*. 2004;93:381-385.
- Li H, Hastings MH, Rhee J, et al. Targeting Age-Related Pathways in Heart Failure. *Circ Res*. 2020;126:533-551.
- Olgar Y, Degirmenci S, Durak A, et al. Aging related functional and structural changes in the heart and aorta: MitoTEMPO improves aged-cardiovascular performance. *Exp Gerontol*. 2018;110:172-181.
- Olgar Y, Billur D, Tuncay E, et al. MitoTEMPO provides an antiarrhythmic effect in aged-rats through attenuation of mitochondrial reactive oxygen species. *Exp Gerontol*. 2020;136:110961.
- Volkova M, Garg R, Dick S, et al. Aging-associated changes in cardiac gene expression. *Cardiovasc Res*. 2005;66:194-204.
- Lieber MR, Karanjawala ZE. Ageing, repetitive genomes and DNA damage. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2004;5:69-75.
- Guarente L. Sir2 links chromatin silencing, metabolism, and aging. *Genes Dev*. 2000;14:1021-1026.
- Latronico MV, Condorelli G. MicroRNAs and cardiac pathology. *Nat Rev Cardiol*. 2009;6:419-429.
- Hennessy E, O'Driscoll L. Molecular medicine of microRNAs: structure, function and implications for diabetes. *Expert Rev Mol Med*. 2008;10:e24.
- Horn MA, Trafford AW. Aging and the cardiac collagen matrix: Novel mediators of fibrotic remodelling. *J Mol Cell Cardiol*. 2016;93:175-185.
- Sheydina A, Riordon DR, Boheler KR. Molecular mechanisms of cardiomyocyte aging. *Clin Sci (Lond)*. 2011;121:315-329.
- Chen LH, Chiou GY, Chen YW, et al. MicroRNA and aging: a novel modulator in regulating the aging network. *Ageing Res Rev*. 2010;9:59-66.
- Sayed AS, Xia K, Yang TL, et al. Circulating microRNAs: a potential role in diagnosis and prognosis of acute myocardial infarction. *Dis Markers*. 2013;35:561-566.
- Zhang J, Ney PA. Autophagy-dependent and -independent mechanisms of mitochondrial clearance during reticulocyte maturation. *Autophagy*. 2009;5:1064-1065.
- Qian L, Pan S, Shi L, et al. Downregulation of microRNA-218 is cardioprotective against cardiac fibrosis and cardiac function impairment in myocardial infarction by binding to MITF. *Aging (Albany NY)*. 2019;11:5368-5388.
- de Lucia C, Komici K, Borghetti G, et al. microRNA in Cardiovascular Aging and Age-Related Cardiovascular Diseases. *Front Med (Lausanne)*. 2017;4:74.
- Ikeda S, Kong SW, Lu J, et al. Altered microRNA expression in human heart disease. *Physiol Genomics*. 2007;31:367-373.
- Carè A, Catalucci D, Felicetti F, et al. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy. *Nat Med*. 2007;13:613-618.
- Tatsuguchi M, Seok HY, Callis TE, et al. Expression of microRNAs is dynamically regulated during cardiomyocyte hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol*. 2007;42:1137-1141.
- van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:13027-13032.
- Kandilci HB, Tuncay E, Zeydanli EN, ve ark. Age-related regulation of excitation-contraction coupling in rat heart. *J Physiol Biochem*. 2011;67:317-330.
- Ma F, Liu X, Li D, et al. MicroRNA-4661 upregulates IL-10 expression in TLR-triggered macrophages by antagonizing RNA-binding protein tristetraprolin-mediated IL-10 mRNA degradation. *J Immunol*. 2010;184:6053-6059.
- Yildirim SS, Akman D, Catalucci D, et al. Relationship between downregulation of miRNAs and increase of oxidative stress in the development of diabetic cardiac dysfunction: junctin as a target protein of miR-1. *Cell Biochem Biophys*. 2013;67:1397-1408.
- Akdas S, Turan B, Durak A, et al. The Relationship Between Metabolic Syndrome Development and Tissue Trace Elements Status and Inflammatory Markers. *Biol Trace Elem Res*. 2020;198:16-24.
- Durak A, Olgar Y, Degirmenci S, et al. A SGLT2 inhibitor dapagliflozin suppresses prolonged ventricular-repolarization through augmentation of mitochondrial function in insulin-resistant metabolic syndrome rats. *Cardiovasc Diabetol*. 2018;17:144.
- Durak A, Olgar Y, Tuncay E, et al. Onset of decreased heart work is correlated with increased heart rate and shortened QT interval in high-carbohydrate fed overweight rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2017;95:1335-1342.
- Okatan EN, Durak AT, Turan B. Electrophysiological basis of metabolic-syndrome-induced cardiac dysfunction. *Can J Physiol Pharmacol*. 2016;94:1064-1073.
- Okatan EN, Tuncay E, Hafez G, et al. Profiling of cardiac  $\beta$ -adrenoceptor subtypes in the cardiac left ventricle of rats with metabolic syndrome: Comparison with streptozotocin-induced diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015;93:517-525.
- Courboulin A, Paulin R, Giguère NJ, et al. Role for miR-204 in human pulmonary arterial hypertension. *J Exp Med*. 2011;208:535-548.
- Jeon YJ, Kim OJ, Kim SY, et al. Association of the miR-146a, miR-149, miR-196a2, and miR-499 polymorphisms with ischemic stroke and silent brain infarction risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33:420-430.
- Goren Y, Meiri E, Hogan C, et al. Relation of reduced expression of MiR-150 in platelets to atrial fibrillation in patients with chronic systolic heart failure. *Am J Cardiol*. 2014;113:976-981.

39. Wronska A, Kurkowska-Jastrzebska I, Santulli G. Application of microRNAs in diagnosis and treatment of cardiovascular disease. *Acta Physiol (Oxf)*. 2015;213:60-83.
40. Olgar Y, Degirmenci S, Durak A, et al. Aging related functional and structural changes in the heart and aorta: MitoTEMPO improves aged-cardiovascular performance. *Exp Gerontol*. 2018;110:172-181.
41. O'Reilly S. MicroRNAs in fibrosis: opportunities and challenges. *Arthritis Res Ther*. 2016;18:11.
42. Li N, Zhou H, Tang Q. miR-133: A Suppressor of Cardiac Remodeling? *Front Pharmacol*. 2018;9:903.
43. Rao PK, Toyama Y, Chiang HR, et al. Loss of cardiac microRNA-mediated regulation leads to dilated cardiomyopathy and heart failure. *Circ Res*. 2009;105:585-594.