

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**HİPERTROFİ HASTALARDA KAN PROLİDAZ
AKTİVİTELERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mustafa GÖÇEBE

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Nurten AKSOY**

**ŞANLIURFA
2007**

TEŐEKKÜR

Harran Üniversitesi Tıp Fakóltesi Biyokimya Anabilimdalındaki gerek yüksek lisans eğitimim boyunca gerekse tez çalışmalarımın tüm aşamalarında bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli tez danışman hocam Doç. Dr Nurten AKSOY' a, Biyokimya A.D. Břk Prof. Dr. Özcan EREL'e, Prof. Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT'e, ve Doç.Dr. şahin AKSOY'a çalışmalarımda bana yardımcı olan sayın Doç.Dr.Recep DEMİRBAĞ, Öğr.Gör.Hakim ÇELİK, Arř.Gör.Dr. Ali Rıza OCAK, arkadaşım Kevser ELÇİ'ye ve eğitim hayatımı borçlu olduğum ağabeyim Hasan GÖÇEBE ve Hüseyin GÖÇEBE başta olmak üzere tüm arkadaşlarıma, tez süresince destegini esirgemeyen eşim Sinem GÖÇEBE'ye, Ođluma ve maddi desteklerini bizden esirgemeyen Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Kurumu HÜBAK'a (proje no 779) sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	Sayfa
BÖLÜM .1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
BÖLÜM . 2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KARDİYAK HİPERTROFİ.....	3
2.1.1. Fizyolojik Hipertrofi.....	4
2.1.2. Patolojik Hipertrofi.....	5
2.1.3. Hipertrofinin Patogenezi.....	6
2.2. PROLİDAZ.....	7
2.2.1. Prolidaz'ın Yapısı.....	8
2.2.2. İnsan Prolidazın Primer Yapısı ve Gen Lokalizasyonu.....	9
2.2.3. Prolidazın İzoenzimleri.....	11
2.2.4. Prolidaz'ın İnhibitör ve Aktivatörleri	13
2.2.5. Prolin.....	13
2.2.6. Prolin'nin Yapısal Özellikleri.....	14
2.2.7.Prolinin Biyolojik Önemi.....	15
2.2.8. Kollajen.....	16
2.2.9. Prolidaz'ın Kollajen Yapım ve Yıkımındaki Önemi.....	16
2.2.10. Prolidaz'ın Hastalıklarla İlişkisi.....	17
BÖLÜM .3. MATERYAL –METOD.....	20
3.1 GEREÇLER.....	20
3.1.1. Kullanılan Aletler.....	20
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	21
3.2. YÖNTEM.....	22
3.2.1. Örneklerin Hazırlanması	22
3.2.2. Prolidaz aktivitesi ölçümünde kullanılan Ayırıcılar.....	22
3.2.3. Serum prolidaz aktivitesi ölçüm yöntemi (Chinard metodu).....	23
3.2.4.Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması.....	25
BÖLÜM .4.BULGULAR.....	26
BÖLÜM .5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	28
BÖLÜM .6. KAYNAKLAR.....	30

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

TABLolar	Sayfa
Tablo-1: İnsan prolidaz I ve prolidaz II izoenzimlerinin doku dağılımları (%) (25).....		12
Tablo-2: Prolidaz aktivitesi çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler.....		21
Tablo-3. Hasta ve kontrol grupları arasındaki fiziksel değerlerin karşılaştırılması		26
Tablo-4. Hasta ve kontrol grupları arasındaki cinsiyet dağılımı.....		26
Tablo.5. Hasta ve kontrol grupları arasındaki prolidaz parametreleri.....		27
ŞEKİLLER.		Sayfa
Şekil-1. Prolidaz genini içeren kromozom 19 (20).....		9
Şekil-2. Prolidaz cDNA 'nın amino asit ve nükleotit dizisi (20).....		10
Şekil-3. Prolin ve diğer bir aminoasidin yapısal görünümü.....		14
Şekil-4. Prolinin metabolik yollarla bağlantısı (33).....		15
Şekil-5. Kollajen yıkımında prolidaz ve prolinazın yeri (35).....		17

ÖZET

Hipertrofi Hastalarda Kan Prolidaz Aktiviteleri

Mustafa GÖÇEBE

Biyokimya Yüksek Lisans Tezi

Hipertrofik kardiyomiyopati (HKMP) kalbin sol ventrikül ve genellikle de septum kısmında lokalize olan hipertrofi nedeni olabilecek diğer nedenlerden bağımsız olarak gelişen otozomal dominant geçişli bir kalp hastalığıdır. Hipertrofinin önemli bir kısmı kas kitlesinin çapının artmasıyla mümkündür. Her kasılmada gerekli miktarda kanı vücuda pompalayamayan kalp, bu yetersizliği karşılamak için daha sık kasılır. Böylelikle karıncıklardaki kan miktarı artar. Bu durumda güçsüz kalmış olan kalbin normal miktardaki kanı bile atmakta zorluk çekerken daha çok kanı vücuda pompalamakta yetersiz kalır. Oysa kalp kası liflerinin gerilmesi daha büyük bir güçle kasılmalarına yol açar. Başka bir deyişle ventriküllerin genişlemesi sonucunda gerilen kalp kası lifleri yüksek bir güçle kasılır. Bu durum hipertrofi oluşumuna neden olur.

Kollajenin yıkımında ve prolinin kollajen yapımı döngüsüne yeniden katılımında prolidaz aktif görev almaktadır. Özellikle ekstrasellüler matriksin önemli bir yapısal proteini olan kollajen tüm vücut hücrelerde olduğu gibi kalp kası hücrelerinin de etrafında destek proteini olarak önemli rol oynamaktadır. Prolinin glisil ile yaptığı peptid bağınyı yıkan prolidaz enzim aktivitesinin kollajen yıkımı ve yeniden yapımında direkt olarak ilişkili olması nedeniyle enzimin serumdaki aktivitesi kollajen dokusu hasarının bir göstergesidir. Bizde yapacağımız bu çalışmada hipertrofik kardiyomiyopatiden dolayı ortaya çıkabilecek kollajen doku hasarını tespit ederek serum prolidaz aktivitesinin bu patolojik durumun değerlendirilmesinde kullanılabilirliğine ışık tutmuş olacağız.

Çalışmada, hasta ve kontrol gruplarının prolidaz aktiviteleri Chinard metodu ile ölçüldü. Serum prolidaz aktivitesi kontrol gruplarında kardiyak hipertrofi hastalarına göre anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0,001$). Bu bulgu bize hipertrofinin kollajen doku hasarına neden olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Hipertrofi, Prolidaz, Kollajen, Prolin

ABSTRACT

Blood Prolidase Activity of The Patient With Hypertrophy

Mustafa GÖÇEBE

Biochemistry Master Degree Thesis

Hypertrophic cardiomyopathy is an autosomal dominant transitive heart disease which has localized on the left ventricle and especially in the septum part of the heart and progress independently from the other causes of hypertrophy. The important part of hypertrophy is possible by increasing the muscle mass size. If the heart cannot pump enough blood with each heart beats, it beats more often to correspond insufficiency. Thus, the amount of blood in the ventricles increases. In case of difficulty to throw normal amount of blood because of its weakness it has been insufficient for pumping much more blood to the body. However, stretching of the myocardium causes stronger contractions. In other words, the myocardial fibers which stretched as a result of dilated ventricles contracts stronger that causes hypertrophy.

Prolidase takes active charge in the collagen breakdown and re-entering of proline to the collagen turnover. The collagen which is particularly an important structural protein of the extracellular matrix plays an important role as a support protein in and around of the cardiac muscle cells like in all body cells.

Since prolidase enzyme that splits peptide bond between proline and glisine activity is directly related to the collagen turnover. Its serum activity is an index for the collagen tissue damage. In our study, we tried to determine collagen tissue damage which caused by hypertrophic cardiomyopathy by measuring serum prolidase enzyme activity and to put a light for its usage to evaluate this pathological condition.

In the study, prolidase activities of the patients were measured with Chinard method. Serum prolidase activity was significantly lower in the patients with cardiac hypertrophy than in the healthy controls. This finding showed that cardiac hypertrophy causes the collagen tissue damage.

Key words: Hypertrophy, Prolidase, Collagen, Prolin.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kardiyak yetmezlik, yeterli venöz dönüş karşın kalbin istirahatte ve egzersiz sırasında dokuların metabolik gereksinimlerini karşılayacak kadar kanı pompalayamaması ve yetersiz hale gelmesidir (1). Kalp bu durumu dengelemek için daha sık kasılır kalbin daha sık kasılmasına bağlı olarak kas hücrelerinin büyüklüğü artar. Bu durum kardiyak hipertrofinin oluşumuna neden olur. Oldukça yaygın önemli ve artan bir sağlık sorunu olan bu hastalığın önemi esas kardiyovasküler problemler olarak iskemik kalp hastalığı ve hipertansiyonun göz önüne alındığı bir dönemde büyük ölçüde fark edilmeden geçilmiştir. Başlıca etiyolojik faktörleri olan bu hastalıkların tedavilerindeki başarılı gelişmelere rağmen kalp yetmezliği insidansı azalmamış ve giderek daha çok kaygı duyulan bir sendrom haline gelmiştir. Toplumda yaşlıların oranı arttıkça sıklık ve yaygınlığı artmaktadır. Miyokard infarktüsündeki sağ kalım oranı artarken kardiyak fonksiyonların sınırlılığı nedeniyle kalp yetmezliği olan insanların sayısı çoğalmaktadır. İnfarktüstən kurtulan bir çok kişi kronik kalp yetmezliği aşamasına ulaşmaktadır (2). Hipertrofik kardiyomyopati (HKMP) 19. yüzyılda tanımlanmasına karşın ailesel olduğu 1958 yılında Teare tarafından saptanmıştır. Daha sonraki yıllarda yüksek penetranslı otozomal dominant olduğu ve HKMP'li olguların %55'inin ailesel diğerlerinin ise sporadik olabileceği bildirilmiştir (3). Hastalığın toplumda ortaya çıkış hızı predispozan kalp hastalıklarının nisbi sıklığı ile kronik kalp yetmezliği (KKY) gelişen hastaların prognozu hakkında değişik veriler mevcuttur. Toplumda kalp yetmezliği prevalansı %0.4-%2 arasında değişmektedir (4). Teşhis ve tedavisindeki ilerlemelere rağmen bu hastalık dünya çapında yaklaşık 20 milyon insanı etkilemektedir. 1990'da 65 yaşın üzerindeki hastalar için hastanede en sık yatış nedeni kalp yetmezliği olurken gözlenen sıklık 1970'dekine göre üç kez artış göstermiştir. Ayrıca 55 yaşın üzerindeki hasta sayısında da belirgin bir artış olmuştur (5). Kalp yetmezliği yıllık yaklaşık 500.000 hastane başvurusu ile 5 milyon hastane yatış gününün başlıca nedenidir. Kalp yetmezliği tanısı koyulan hastaların yaklaşık yarısı 5 yıl içinde ilerlemiş kalp yetmezliği bulunan hastaların %60'ından fazlası ise 1 yıl içinde ölmektedirler. Tedavisi masraflı iş göremezliğe neden olan ve sonuçta öldüren bir hastalıktır.

Kalp yetmezliği hem hasta hem de toplum için ağır bir yük oluşturmaktadır (6). Hastalığı efektif olarak durduracak herhangi bir girişim bulunamamıştır. Bu sonuç kalp yetmezliği riski yüksek olan hastaların kardiyak hipertrofi belirgin hale gelmeden önce tedavi edilmesi gerektiğini açıkça göstermektedir

Hastalığa yol açan ortaya çıkışını hızlandıran ve gidişini etkileyen faktörlerin iyi tanınması etyoloji ve patofizyolojisinin iyi kavranması miyokard yetmezliğine neden olan hemodinamik ve yapısal bozuklukların tam belirlenmesi erken tanı ve etkili tedavisine yardım eder. Morbidite ve tedavi masraflarını azaltır yaşam süresini uzatır. Kardiyak ve periferik değişikliklerin hastalığın ilk safhasından önce veya esnasında tanınmasıyla halen geçerli olan tedavi stratejileri değiştirilebilir önleyici ve koruyucu programlar geliştirilebilir. Ayrıca böyle veriler güncel tedavi modellerinin değerlendirilmesinde ve daha etkili tıbbi-cerrahi tedavi Őekillerinin planlanmasında gereklidir. Kalbin normal yapısında meydana gelen patolojik değişikliklerin en önemli yapısal protein bileşenlerinden biri olan kollajen metabolizmasını etkileyebileceği düşünülerek çalışmamızda kollajenin gerek yapım ve yıkım gerekse yeniden yapımında yani kollajen turn-over'ında rol alan en önemli ve spesifik enzimlerden biri olan prolidaz enziminin serum aktivite değerlerini kardiyak hipertrofi hastalarda tespit ederek hastalığın ciddiyetinin değerlendirilmesi açısından inceledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kardiyak Hipertrofi

Kalpte hipertrofi yüklenmeye bağılı olarak kas fibrillerindeki büyümenin artışından dolayı meydana gelmektedir. Hipertrofide kas düzeyinde yapısal değişiklikler söz konusudur. Ventrikül duvar gerilimini normal sınırlarda tutmak için hipertrofi oluşur. Hipertrofinin nedeni izometrik ventrikül geriliminin artması ile protein sentezinin uyarılmasıdır. Fetus ve yenidoğan döneminde bu durum hem hipertrofi hem de hiperplaziye yol açarken yenidoğan döneminden sonra yalnız hipertrofi olur. Başlangıçta adaptasyon için meydana gelen hipertrofi zamanla sistolik ve diyastolik fonksiyonların bozulmasına neden olarak zararlı hale gelebilir. Hipertrofide ilk olarak diyastolik fonksiyon bozukluğu görülür. Sistolik fonksiyonlardaki bozulma ise miyokard perfüzyon bozukluğuna ve bağ dokusu artışına bağlıdır.

Kalp yetmezliği kalbin kanı pompalama yeteneğinin kaybolması yani dokulara yeterli kan ve oksijenin gitmemesi durumudur. Kendi başına özgül bir hastalık olmamakla birlikte yaygın ve ciddi sorunlara yol açabileceği için önemlidir. Her kasılmada gerekli miktarda kan vücuda pompalayamayan kalp bu yetersizliği karşılamak için daha sık kasılır. Böylelikle karıncıklardaki kan miktarı artar. Bu durumda güçsüz kalmış olan kalbin normal miktardaki kanı bile atmakta zorluk çekerken daha çok kanı vücuda pompalamakta yetersiz kalacağı düşünülebilir. Oysa kalp kası liflerinin gerilmesi daha büyük bir güçle kasılmalarına yol açar. Başka bir deyişle kalp boşluklarının genişlemesi sonucunda gerilen kalp kası lifleri yüksek bir güçle kasılır. Ayrıca kalp boşluklarının genişlemesine her zaman aşın büyüme (hipertrofi) eşlik eder. Olağan koşullara göre daha çok güç harcaması gereken kas lifleri büyüyüp kalınlaşırlar; böylece kasılabilme yetenekleri önemli ölçüde artar. Kalbin büyümesi değişen çevresel ve patolojik duruma cevap olarak embriyogenez postnatal gelişme yetişkinlik ve yaşlılık dönemlerinde oluşan dinamik bir olaydır. Kardiyak büyüme hücresele seviyede

hiperplazi (hücre sayısında artış) ve hipertrofi (hücre büyüklüğünde artış) veya her ikisinin kombinasyonu arasındaki etkileşimlerin bir sonucudur. Bu mekanizmaların her birinin önemi hücre tipi gelişme evresi ve büyüme uyarısının özelliğine bağlıdır. Hücre büyümesinin bu iki formu apoptozis veya programlanmış hücre ölümleri ile değişken olarak kontrol edilir (7). Burada hücre ölümü nekrotik hücre ölümünde olduğu gibi hücrenin şişmesi ve membran bütünlüğünü yitirmesiyle başlamaz. Önce DNA fragmentasyonu kromatin yoğunlaşması gelişir. Hücre büzüşür ve ölür. Etrafındaki hücreler canlıdır. Programlı hücre ölümü yada hücrenin intiharı da denilen bu olayda özel mekanizmaların var olduğu ve kalp yetmezliği olan hastalarda miyositlerdeki bu mekanizmaların uyarıldığı anlaşılmaktadır. Bu fenomen geniz sırasında kalbin yapısının belirlenmesi ve boşlukların oluşumunda önemlidir ve patolojik vasküler büyüme genellikle gelişim programları mekaniksel deformasyon ve çeşitli kombinasyonlarda hasar ile oluşturulur. Bu oluşumlar vasküler fenotipi değiştiren biyokimyasal sinyalleri uyarır.

Kardiyak hipertrofi kalp kası kitlesindeki artışın büyük bir oranda farklılaşmış miyositlerin büyüklüğünün artışı ile oluşan bir süreçtir ve kardiyak hipertrofi fizyolojik ve patolojik olmak üzere sınıflandırılabilir (8).

2.1.1. Fizyolojik Hipertrofi

Fizyolojik hipertrofi gelişme sırasındaki geniz postnatal kardiyak büyüme yaşlılık sırasında gelişen kalp boyutlarındaki hafif artış ve atletik eğitime cevap olarak kalp boyutlarındaki artışı içerir. Anne karnındaki kardiyak büyümenin en erken evresi kontraktıl aktivitenin yokluğuna rağmen oluşabildiği için genetik olarak belirlenmiş bir gelişme programına bağlıdır. Bunun sonrasında normal kardiyak fenotipin gelişiminde mekanik kuvvetler gittikçe önem kazanmaya başlar. Embriyonik periyod boyunca ve doğumdan sonra ilk birkaç hafta içerisinde miyositlerin hiperplazisi ve hipertrofisine bağlı olarak kardiyak büyüme oluşur. Doğumdan ergenliğe kadar memeli kalbi, kitlesinde altı kat artışa maruz kalır. Normal kalp/vücut ağırlığı oranı türe özgüdür. Vücut büyüklüğüne göre en büyük kalpler devamlı egzersiz yapmak ihtiyacında olan hayvanlarda mevcuttur (9). İnsanlarda şiddetli uzun

sürekli egzersiz eğitimleri kardiyak kitlenin artışına neden olur. Koşma gibi izotonik egzersizler duvar kalınlığının çapa oranının normal oluşu ile karakterize ekzantrik hipertrofi oluştururken yük kaldırma gibi izometrik egzersizler duvar kalınlığının çapa oranının artışı ile karakterize konsantrik hipertrofi oluşumunu uyarır (10). Yaşlı hayvanlar ve organik kalp hastalığı olmayan insanlarda yaşa bağlı periferik vasküler esnekliğin azalmasına bağlı olarak hafif konsantrik sol ventrikül hipertrofisi gelişir. Hepsinden önemlisi epidemiyolojik veriler atletik eğitim sonucu oluşan hipertrofi ile ilgili olarak herhangi bir olumsuzluk bildirilmemiştir. Bu nedenle atletlerdeki fizyolojik hipertrofiyi hipertrofik miyopatiden ayırmak önemlidir (11).

2.1.2. Patolojik Hipertrofi

Patolojik hipertrofi kardiyak iş yükündeki bölgesel veya global anormal artışa karşı önemli adaptasyon cevabıdır. İlk olarak kompanse hipertrofide kardiyak kitledeki artış duvar stresini normalleştirmeyi egzersiz ve istirahat sırasında normal vasküler fonksiyonları devam ettirmeyi sağlar. Patolojik hipertrofi için uyarı yeterli derecede şiddetli ve uzun süreli ise dekompanse hipertrofi ve kalp yetersizliği oluşur. Sistemik veya pulmoner aşırı gerilim sol ventrikül çıkış yolu obstrüksiyonu veya aort koarktasyonunda olduğu gibi basınç yüklenmeleri patolojik hipertrofi oluşumuna neden olur. Basınç yüklenmeleri sistolik duvar stresinin artışına yol açar ve konsantrik hipertrofi oluşumuna neden olur. Mitral veya aort yetersizliği arteriyovenöz fistüller gibi hacim yüklenmeleri de patolojik hipertrofi oluşumuna neden olur. Son olarak bahsedilen durumlar ya diyastolik duvar stresinde artışa (mitral yetersizliği) veya hem sistolik hemde diyastolik duvar stresinde (aort yetersizliği ve arteriyovenöz fistüller) artışa yol açar ve ekzantrik hipertrofiye neden olurlar.

İnfarktüs alanında hemen yanındaki veya uzağındaki canlı miyokardiyumda oluşan bölgesel hipertrofi ekzantrik hipertrofi karakteristiklerine sahiptir (12,13).

2.1.3. Hipertrofi'nin Patogenezi

Kalp yetersizliği patogenezinde genel olarak geçerli bir mekanizma ortaya koymak zordur. Patogenezinden önce kalp yetmezliğinin ne olduğu konusunda bile herkesçe kabul edilen ve tüm klinik tabloları kapsayan bir tanım yapmak kolay değildir. En sık rastlanan kalp yetmezliği tabloları miyokard kasılma bozukluğunun neden olduğu pompa yetersizliği tablolarıdır. Ancak kalp yetmezliği kalbin gevşeme genişleyebilme yetersizliğine kapakların ve diğer yapıların yapısal fonksiyonel bozukluklarına vasküler ve humoral faktörlere de bağlı olabilir. Etiyolojik patogenetik ve klinik özelliklerinde görülebilen farklılıklar kalp yetmezliğinin sınıflamalarına da yansır. Sistolik-diastolik, sağ-sol, yüksek debili-düşük debili, ileri doğru-geri doğru, akut-kronik kalp yetmezliği değişik kriterlere göre yapılan sınıflamalardır. Bu yetersizlik tablolarının ortak özellikleri dikkate alınarak kalp yetmezliği, kalbin organizmanın gereksinim duyduğu miktarda kanı dokulara pompalayamaması ya da bunu ancak yüksek diastolik doluş basınçlarında sağlayabilmesi olarak tarif edilir. Kalp yetersizliğinin en sık rastlanan nedeni miyokardial yetersizlik olmakla birlikte kalp yetersizliğinin olması için miyokardial yetersizliğin bulunması her zaman zorunlu değildir. Dolaşım yetersizliği olarak tanımlanan ve kalp dışı nedenler (hızlı ve aşırı intravasküler volüm artışı ve/veya periferik direnç değişiklikleri) ile gelişen tablolar da kalp yetmezliğinden ayrılırlar. Hangi etiyoloji ve mekanizma ile meydana gelirse gelsin kalp yetmezliği ciddi bir tablodur. Kardiyak ve ekstra kardiyak kompensasyon mekanizmaları ile düzeltilmeye çalışılır. Volüm yüklenmesi, kalp boşluklarında diastolik basınçların artmasına, basınç yüklenmesine, ventriküler boşanmanın zorlaşmasına neden olur. Diastolik basınçların artışı konjestif semptomların atım hacimlerinin azalması da ileri doğru yetersizlik tablolarının ana nedenini oluşturur. Bu yüklerin toleransı miktarlarına sürelerine ve miyokardın gevşeme genişleyebilme (relaksasyon komplians) ve kontraktilite gibi özelliklerine bağlı olarak değişir. Kardiyak adaptasyon mekanizmaları ventrikül içi diastol sonu basıncını ve sistol sonu volümünü korumaya (normal sınırlar içinde tutmaya) yöneliktir. Miyokard akut yüklenmelere kontraktilite değişikliği ile cevap verir. Akut ard yük ve ön yük artışlarında miyokard kontraktilitesi artar (sırasıyla Anrep etkisi ve Frank Starling mekanizması). Sempatik tonus ve kan katekolamin düzeyleri yükselir. Sempatik aktivasyon akut gelişen bir cevap olmakla birlikte yetersizliğin sürmesi halinde kronik olarak devrede kalarak önemli klinik ve

prognostik sonuçlar doğurur (14). Kronik ön yük ve ard yük artışlarına karşı gelişen majör miyokardial cevap miyokard hipertrofisi, ventrikül dilatasyonu veya bunların birlikte gelişmesidir. Kronik basınç yüklenmeleri önce hipertrofi ile kompanse edilir. Miyokard hipertrofisine ventrikül dilatasyonu da eklendiğinde dekompanasyon başlamıştır. Kronik volüm yüklenmelerinde ise ventrikül dilatasyonu kompensatuar bir değişikliktir ve hipertrofidan önce ortaya çıkar. Dilatasyon ventrikül diastol sonu basıncının aşırı artmasını önler, ancak bir süre sonra ventrikül çapının ileri düzeylere varması aynı aort basıncı karşısında bile lif kısalması için üretilmesi gereken duvar gerilimini artırır (Laplace kanununu). Volüm yüklenmesi atım hacmini ve dolayısıyla aort sistolik basıncını arttırıyorsa duvar gerilimi daha da artar; giderek dilatasyona hipertrofi de eklenir. Ventrikülün dilate olması nedeniyle miyokard kütlesi belirgin olarak artsa da duvar kalınlığında önemli artış olmayabilir. Hipertrofi ventrikül kompliansını azaltır; konjestif belirtileri arttırır. Her iki tür yüklenmede de ventrikül dilatasyonunun ve hipertrofinin birlikte bulunduğu evreler kalp yetmezliğinin ilerlediğini gösterir. Kardiyak performans ve ejeksiyon fraksiyonu progresif olarak azaldıkça ventriküllerin sistol ve diastol sonu volümleri artar. Ventrikül volümleri arttıkça geometrisinin koniden küresele doğru değiştiği görülür (Ventriküler Remodeling). Küre yüzey/hacim oranı en küçük şekildir. Yüzey genişliği aynı iki ventrikülden küresel olana daha fazla kan sığar ve aynı miktarda atım hacmi için daha az lif kasılması gerekir. Ancak ventriküler remodelingleri dönemlerde ortaya çıkması ventrikül dilatasyonu ile birlikte papiller kasların pozisyonun değişmesi atrioventriküler halkanın genişlemesi ve fonksiyonel atrioventriküler kapak yetersizliklerinin artmasıyla birlikte olduğundan kötü prognoza ve ileri derece azalan kardiyak rezerve işaret eder (15).

2.2. Prolidaz

Prolidaz hidrolazlar sınıfına ait bir enzimdir (16). Uluslararası sınıflandırmaya göre; EC 3.4.13.9 sınıfında yer alır. Hidrolazlar çeşitli bağların hidrolizini kataliz ederler. Bu bağlar; C-O, C-N, C-C ve fosforik anhidrit bağını da içeren bazı bazlardır. Prolidaz enzimi karboksil terminal pozisyondaki prolin veya hidroksiprolin içeren dipeptitlerin hidrolizini katalizler. 1937 yılında Bergmann ve Fruton glisil-prolin'in önceden bilinen peptidazlardan

farklı intestinal mukozal bir enzim tarafından hidroliz edildiğini saptamışlardır. O tarihten itibaren prolidaz adı verilen bu enzimin pek çok memeli dokusunda varlığı gösterilmiştir (17).

2.2.1. Prolidaz'ın Yapısı

Prolidaz enzimi birçok memeli dokusunda ve mikroorganizmalarda dağılım gösterir. Doğal enzim, sitoplazmik, homodimerik bir metaloenzimidir. Mn^{+2} prolidaz enzimi aktivitesini 5-10 kat arttırmaktadır. Mn^{+2} 'a ek olarak enzimin maksimum aktivitesi için aktif merkezinde arjinin ve anyonik aminoasit artıklarının olması gerekir (18).

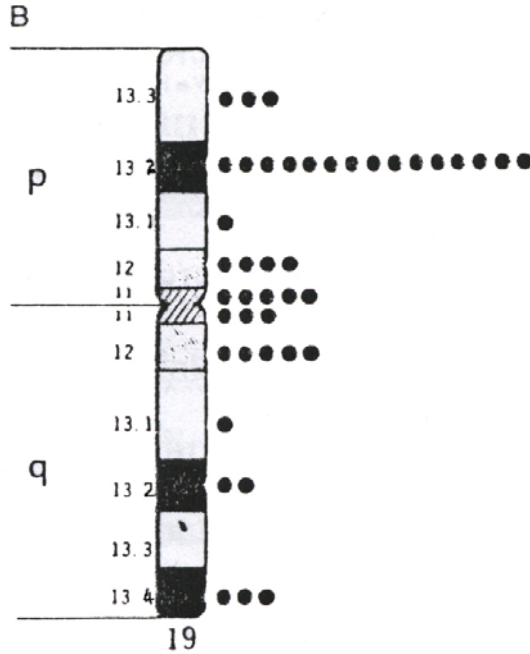
Proteazlar hep monomer yapıda olmasına rağmen tüm prolidazlar dimer yapı gösterirler ve ancak bu şekilde katalitik aktivite gösterirler (19). Prolidaz glikoprotein yapısındadır ve ağırlık olarak %5 karbonhidrat içermektedir. Prolidazın saptanan sekonder yapısında α -heliks (%33) β -tabakalı (%41) ve 30 potansiyel beta bağlantı bölgelerine eşit bir şekilde dağılmış hidrofobik ve hidrofilik alanlar bulunmaktadır. Enzimin primer sırası bilinen proteinlere benzemez fakat bazı sıraları (%29'dan fazlası) F_1 -ATP az'ın α ve β subünitelerinin sırasına benzerlik göstermektedir (18).

Prolidaz enziminin aktif merkezinde tiyol grubu yer alır ve bu grup bloke edilirse aktivite düşer. Bu da sisteinin enzimin aktivitesi için gerekli olduğunu gösterir. Doğal enzim için optimum pH 7,6-7,8'dir ve izoelektronik nokta pH 4,4-4,5 olarak saptanmış olup bu değer yapıdaki asidik amino asitlerin varlığını belirtmektedir. Enzimin karakteristiği araştırıldığında DEAE (Dietilaminitil selüloz dizi kromatografisi) kromatografisinde prolidazın iki pik verdiği görülür (19).

Prolidaz aktif bölgesinde arjinin ve glutamat artıkları içerir. Bai Hu 1992 yılında yapmış olduğu çalışmada prolidazda her monomer için iki aktif bölgenin olduğunu saptamış ve enzimin duruma bağlı olarak bu iki aktif bölgenin substrat spesifikliğı ve Mn^{+2} ile preinkübasyon ortamındaki aktivasyon bakımından da farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur.

2.2.2. İnsan Prolidaz'nın Primer Yapısı ve Gen Lokalizasyonu

Prolidaz geni sembolü PEPD'dir ve insanda 19 numaralı kromozomun kısa kolunda lokalizedir (19p 13,2 bölgesi). İnsan cDNA 'sı 1482 baz çiftinin okunmasıyla oluşur bu da 493 aminoaside karşılık gelmektedir. Enzimin komplementer DNA klonları insan karaciğeri ve plesental cDNA bankalarında izole edilmiştir. Prolidazın nükleotit sırası araştırılmış ve saptanmıştır. Enzim amino asit olarak X-Ala-Ala-Ala sırası ile başlamaktadır. Prolidaz geni (PEPD) polimorfik allelleri içerir bu aktiviteyi engellemez ve nadir alleller prolidaz eksikliğine neden olmaktadır. Aminoasit sırasının saptanması ve gen lokalizasyonu enzimin eksikliğinin sebep olduğu kalıtsal hastalıkların temelini anlaşılması bakımından önemlidir (19). Prolidazın genomik sırası oldukça geniştir. En az 130 kb ve 15 ekson içermektedir. Ekson intron bağlantılarındaki tüm konformasyonlar GT/AG kuralına uymaktadır. Kodlama sırası genomik sıranın % 2 'sinden oluşur. Ekson uzunluğu 45 bp'den 528 bp'ye kadar ulaşır.



Şekil.1.Prolidaz genini içeren kromozom 19(20)

-15 CCGGTGCCGGGCGAAC -1

```

+1 ATGGCGGGCCACCGGACCCTCGTTTTGGCTGGGAATGAAACCCCTGAAGGTGCCGCTGGCGCTCTTTCGCTTGAACCGGCAGCCCTG 90
+1 MetAlaAlaAlaThrGlyProSerPheTrpLeuGlyAsnGluThrLeuLysValProLeuAlaLeuPheAlaLeuAsnArgGlnArgLeu 30
      K20                                     K23
TGTGAGCGGCTGCGGAAGAACCCTGCTGTGCAGGCCGGCTCCATCGTGGTCTGCAGGCGGGGAGGAGACTCAGCGCTACTGCACCGGAC 180
CysGluArgLeuArgLysAsnProAlaValGlnAlaGlySerIleValValLeuGlnGlyGlyGluGluThrGlnArgTyrCysThrAsp 60

ACCGGGTCTCTTCCTCCAGGAGTCTCTTTCTACTGGCGTTCGGTGTCACTGAGCCAGGCTGCTATGGTGTCTCGATGTTGACACT 270
ThrGlyValLeuPheLeuGlnGluSerPhePheHisTrpAlaPheGlyValThrGluProGlyCysTyrGlyValIleAspValAspThr 90

GGGAAGTCGACCCCTGTTTGTGCCAGGCTTCTGCCAGCCATGCCACCTGGATGGGAAAGATCCATTCCAAGGAGCACTTCAAGGAGAAG 360
GlyLysSerThrLeuPheValProArgLeuProAlaSerHisAlaThrTrpMetGlyLysIleHisSerLysGluHisPheLysGluLys 120
      K15
TATGCCGTGGACGACGCTCCAGTACGTAGATGAGATTGCCAGCGTCTGACGTACAGAAAGCCCTGTGCTCTCTACTTGGCGTGGCGTC 450
TyrAlaValAspAspValGlnTyrValAspGluIleAlaSerValLeuThrSerGlnLysProSerValLeuLeuThrLeuArgGlyVal 150

AACCGGACAGCGGCGAGTGTCTGCAGGGAGGCTCCTTTGACGGCATCAGCAAGTTCGAAAGTCAACAATACCATTCTCACCCAGAGATC 540
AsnThrAspSerGlySerValCysArgGluAlaSerPheAspGlyIleSerLysPheGluValAsnThrIleLeuHisProGluIle 180

GTTGAGAGCCGAGTGTTTAAGACGGATATGGAGCTGGAGGTTCTGGCGTATACCAATAAAATCTCCAGCGAGGCCACCGTGAGGTAATG 630
ValGluSerArgValPheLysThrAspMetGluLeuGluValLeuArgTyrThrAsnLysIleSerSerGluAlaHisArgGluValMet 210

AAGGCTGTAAAAGTGGGAATGAAAGAATATGGGTTGAAAAGCCTCTTCGAGCACTACTGCTACTCCCGGGCGGCATGCGCCACAGCTCC 720
LysAlaValLysValGlyMetLysGluTyrGlyLeuGluSerLeuPheGluHisTyrCysTyrSerArgGlyGlyMetArgHisSerSer 240
      K28 (Glu)
TACACCTGCATCTGCGGAGTGGTGAGAACTCAGCCGTGCTACACTACGGACACCGCGGAGCTCCCAACGACCGAAGCATCCAGAATGGG 810
TyrThrCysIleCysGlySerGlyGluAsnSerAlaValLeuHisTyrGlyHisAlaGlyAlaProAsnAspArgThrIleGlnAsnGly 270

GATATGTGCCTGTTGACATGGGCGGTGAGTATTACTGTGCTGCTCCGACATCACGCTCTCTTCCCGCAACCGCAAGTTCAGTCCA 900
AspMetCysLeuPheAspMetGlyGlyGluTyrTyrSerValAlaSerAspIleThrCysSerPheProArgAsnGlyLysPheThrAla 300

GACCAGAAGCCGCTATGAGGCAAGTGTGCTGAGCTCCCGTCCGCTCATGGGTGCCATGAAGCCAGGTGACTGGTGGCCTGACATGCAC 990
AspGlnLysAlaValTyrGluAlaValLeuLeuSerSerArgAlaValMetGlyAlaMetLysProGlyAspTrpTrpProAspMetHis 330

CGCCTGGCTGACCCCATCCACCTGGAGGAGCTGGCCACATGGGCATCCTGAGCGGACGCTGGACGCCATGGTCCAGGCTCACCTGGGG 1080
ArgLeuAlaAspArgIleHisLeuGluGluLeuAlaHisMetGlyIleLeuSerGlySerValAspAlaMetValGlnAlaHisLeuGly 360

GCCGTGTTTATGCCTCACGGGCTTGGCCACTTCTGGGCATTGACGTGCACGACGTTGGGAGGCTACCCAGAGGCGCTGGAGCGCATCGAC 1170
AlaValPheMetProHisGlyLeuGlyHisPheLeuGlyIleAspValHisAspValGlyGlyTyrProGluGlyValGluArgIleAsp 390

GAGCCCGGCTGCGGAGCCTGCGCACTGCACGGCACCTGGAGCCAGGATGGTGGTCCACCGTGGAGCCGGGCATCTACTTCATCGACCAC 1260
GluProGlyLeuArgSerLeuArgThrAlaArgHisLeuGlnProGlyMetValLeuThrValGluProGlyIleTyrPheIleAspHis 420

CTCCTGGATGAGCCCTGCGGACCGGCGCCGCTCCTTCTTAAACCGGAGGTCCTGCAGCGCTTTCGCGGTTTTGGCGGGGTCGGC 1350
LeuLeuAspGluAlaLeuAlaAspProAlaArgAlaSerPheLeuAsnArgGluValLeuGlnArgPheArgGlyPheGlyValArg 450

ATCGAGGAGGACGTCGTGGTGCACAGCGGCATAGAGCTGCTGACCTGCGTCCCGGCACTGTGGAAGAGATTGAAGCATGCATGGCA 1440
IleGluGluAspValValValIleAspSerGlyIleGluLeuLeuThrCysValProArgThrValGluGluIleGluAlaCysMetAla 480

GGCTGTGALAAAGCCTTACCCCTTCTCTGGCCCAAGTAGAGCCAGCCAGAAATCCACGCGCACCTGGGGGCTGGCCCTTGAACCTC 1530
GlyCysAspLysAlaPheThrProPheSerGlyProLys***
      K8                                     493
TTTTCGTGATGGGAGCCTGCTGGTCCAGCACTCCAGTAGCGAGAGACGGCACCCAGAATCAGATCCCAAGCTTGGCATTGATCAGACCA 1620

AACAGTGTCTTTCCCGGGGAGGAAACACTTTTTAATACCCCTTTGACAGGCCACCTTTAATCTGTTTTATACCTTGCTTATTAAT 1710

GAGCGACTAAAAATGATTGAAAATAATGCTGCTTTAGTAGCAAGTAAAAATGTCTCTGCTCATTATATTCTTTTCCAGGAAAG 1800

AAGCATTTCTGACTTTCTGTCAAAAATCAATATGCAGAATGCCATTTGCAATAAAAGTTTCTTAAATGAAAAAATAAAAAAAAAA 1890

```

AA

Şekil.2.Prolidaz cDNA ‘nın amino asit ve nükleotit dizisi(20)

2.2.3. Prolidaz'ın İzoenzimleri

DEAE ile deri fibroblastı kültürlerinden ve normal insan eritrositlerinden ayrıştırılan prolidazın 2 formunun olduğu görülmüştür. Bunlar prolidaz I ve prolidaz II olarak isimlendirilmiştir. Bu iki izoenzim substrat spesifitesi ile bazı kimyasal özellikler bakımından farklılıklar gösterirler (21). Bu iki izoenzimi ilk izole eden Butterworth ve Priestman olmuştur(1985). Sonra Myara ve arkadaşları 1987 ve 1989 yılında, Ohhashi ve arkadaşları ise 1990 yılında izoenzimleri izole etmeyi başarmışlardır. İzoenzimlerin molekül ağırlıkları saptanmış ve prolidaz I'in molekül ağırlığının 112 kDa olduğu ve birbirini tamamlayan eşit molekül ağırlığında 2 subüniteden oluştuğu (56kDa) bulunmuştur (22). Prolidaz II 'nin ise molekül ağırlığının 185 kDa olduğu ve birbirine eş iki subüniteden (95 kDa) oluştuğu gözlenmiştir. Prolidaz I tüm insan dokularında bulunur. Yapılan çalışmalarda prolidaz I 'in tüm iminodipeptitlerle reaksiyona girmesine rağmen gly-pro dipeptidini tercih ettiği bulunmuştur. Cosson ve arkadaşları 1992 'de prolidaz II nin gly-pro dipeptidine karşı düşük bir aktivite gösterdiğini ve bu izoenzimin plazmada bulunmadığını kaydederek preinkübasyonun uzaması ile aktivitenin önemli ölçüde düştüğünü göstermişlerdir (23). Prolidaz II'nin en yüksek aktiviteyi gly-pro yerine met-pro 'ne karşı gösterdiği saptanmıştır. Prolidaz I için optimum şartlar; 1Mm MnCl₂ konsantrasyonunda 24 saat 37°C'de preinkübasyon olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Mn⁺² konsantrasyonunun yükseltilecek zamanın azaltılabileceğini ya da yüksek preinkübasyon ısısı düşük MnCl₂ konsantrasyonu ve düşük preinkübasyon zamanı kullanılabileceği kaydedilmiştir (24). Cosson ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda prolidaz I ve prolidaz II 'yi kromatografik olarak ayırdıktan sonra izoenzimlerin farklı doku dağılımları gösterdiklerini bulmuşlardır

Tablo.1. İnsan prolidaz I ve prolidaz II izoenzimlerinin doku dağılımları (%) (25)

	Prolidaz I	Prolidaz II
Karaciğer	53	47
Böbrek	62	38
İleum	53	47
Jejenum	53	47
Duadenum	42	58
Pankreas	22	78
Mide	42	58
Dalak	52	48
Beyin	36	64
Beyincik	44	56
Kalp	37	63
İskelet kası	34	66
Eritrositler	51	49

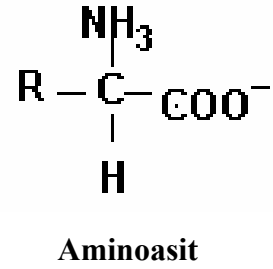
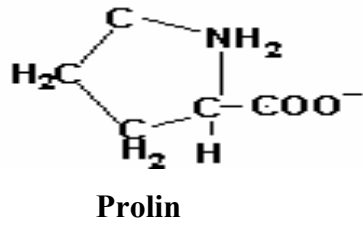
Araştırmacılar karaciğer kaynaklı prolidaz II' nin karaciğerde inhibe edildiğini saptamışlardır. Bu inhibisyona ise plazma proteinlerinin sebep olduğunu belirtmişlerdir. Haptoglobilin α_2 makroglobulin ve α_1 antitripsinin prolidaz II'nin aktivitesinde etkili olmadığı fakat saf albuminin altı saatlik inkübasyondan sonra aktiviteyi ortadan kaldırdığı görülmüştür. Albuminin bu inhibitör etkisine dayanarak insan plazmasında prolidaz II'nin aktivitesinin olmadığı açıklanmıştır (25). Saf insan böbrek prolidaz I'in agaroz jel elektroforezindeki görüldüğü bölge α_1 globulin bölgesidir. İzoelektrik noktanın 4,65 olduğu titrasyon eğrisinden saptanmıştır. Bu nokta insan ve hayvan dokularındaki diğer prolidazlar içinde geçerli olmaktadır. Çeşitli insan dokularından alınan prolidaz I izoenzimi tavşan immunglobulinleri ile çapraz reaksiyon verir fakat aynı immunglobulinler prolidaz II ile reaksiyon vermez. Bu durum hepatik fibrozis ve prolidaz eksikliği olan hastaların dokuları ve plazmalarından prolidaz I araştırmalarında bir spesifik immünoassay yöntem geliştirilebileceğini akla getirmiştir.

2.2.4. Prolidaz'ın İnhibitör ve Aktivatörleri

Yapılan çalışmalarda enzimin aktivasyonu için gerekli olan Mn^{+2} iyonu yerine başka metal iyonlarının ilavesi ile inhibisyon olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmalar domuz böbrek prolidazı üzerinde 1957 yılında yapılmıştır. Fe^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} , Cd^{+2} , Ag^{+1} , Hg^{+2} , Pb^{+2} ve Pt^{+4} iyonlarının prolidazı inhibe ettiği bulunmuştur. Ortalama 0,001-0,0004 M aralığındaki konsantrasyonlarda glutatyon kullanıldığında optimal stabilizasyon ve aktivite sağlandığı ancak glutatyonun yüksek konsantrasyonunun inhibisyona sebep olduğu bulunmuştur. Aynı araştırmacılar iyodoasetamin ve p-kloromerküri benzoatın da enzimi inhibe ettiğine değinmişlerdir (26). Prolidazın substrat analogu olan asetilprolin ve trans-1,2 siklopentadikarboksilik asit tarafından konpatitif inhibisyonunda K_1 'in pH 'ya bağlı olarak izledikleri yolu araştırdıklarında enzimin fonksiyonel grubu ile substratın pKa 6,6 'da bağlandığını bununla birlikte bu maddelerin inhibisyonunun farklı yollar izlediğini görmüşlerdir (27). 1988 yılında ise yapılan bir çalışmaya göre Mn^{+2} ve Fe^{+2} metal iyonlarının enzim aktivitesine önemli bir etkisi olmadığı bulunmuştur. Bundan başka Co nin Leu-Pro dışındaki substratlara karşı prolidazı inhibe eder. Cu^{+2} , Hg^{+2} , Cd^{+2} , Zn^{+2} , Pb^{+2} iyonlarının da enzimi önemli derecede inhibe ettiği gözlenmiştir (28).

2.2.5. Prolin

Prolin ve hidroksiprolin prolidino halkasındaki azot atomuna bir hidrojen atomunun girmesi ile oluşmaktadır. Bunlar genelde iminoasit ismiyle adlandırılır. Aminoasitlerin imino asitler sınıfında yer alan esansiyel olmayan glutamatın halka yapısındaki bir türevidir (29). Bu amino asit diğer amino asitlerden yan zinciri: Radikal grubunun hem amino grubu hem de α karbon grubuna bağlı olarak siklik bir yapıya yol açması yönünden farklıdır. Bu anlamda nitrojen atomunun kimyasal modifikasyonu prolin amino asidinin genel polaritesini ve basitliğini etkilemektedir. Dahası bu amino asitin siklik yapısı polipeptid omurganın yapısal yönlerine temel sınırlamalar getirmektedir.



Şekil-3. Prolin ve diğer bir aminoasidin yapısal görünümü

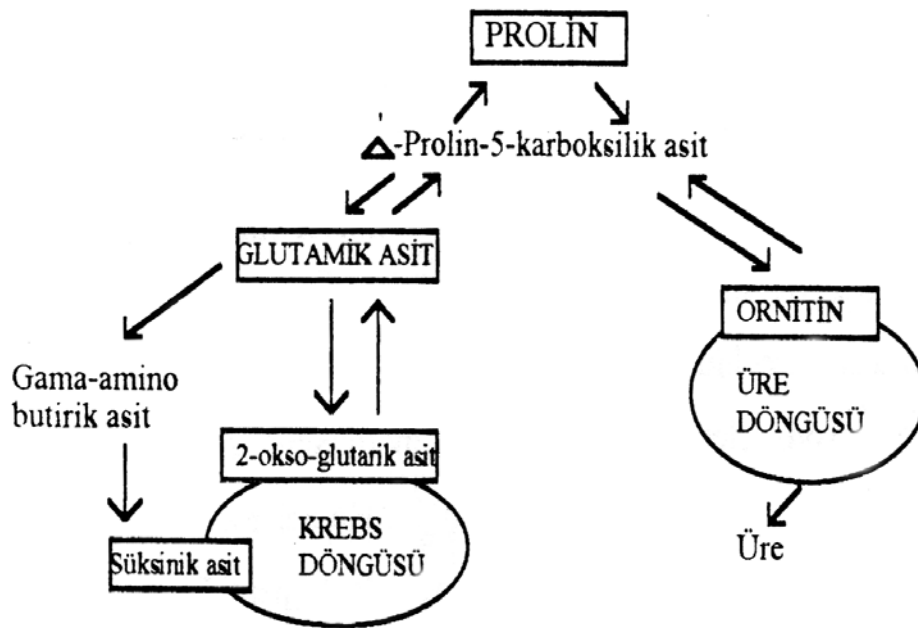
2.2.6. Prolinin Yapısal Özellikleri

Benzersiz yapısal özellikten dolayı prolin bir peptid sekansına girdiği zaman önemli konformasyonel özellikler gözlenir. Bunun siklik yapısı α karbon ve Nitrojenin bir peptid bağındaki rotasyon açısını sınırlamaktadır ki normal olarak bitişik amino asitlerin reel grupları arasındaki siterik engelleme veya elektrostatik repulsiyona bağlıdır. Prolin potansiyel bir mükerrer yapı kırıcı olan ve peptid zincirlerinin yönünü değiştirme eğilimine sahip peptid zincir içine sabit bir eğim takdim eder. Bu durum proteinlerin sferik veya globuler şekllinden etkileyici bir faktördür. Proteinlerin yüzeyinde ters bir dönüş veya saç tokası eğimi şeklinde olan bu önemli yapısal olayın proteinler içindeki en önemli sonucu prolin oluşmasıdır. Prolin siklik yapısının ikinci bir sonucu hiçbir fonksiyonel grup içermemesidir ki bu durumda hidrojen bağına veya peptid bir bağın rezonans stabizasyonuna katılmayı engeller. Bu nedenle prolin α helix veya β tabakalı sekonder yapılarıyla uyumlu olmayan tek amino asittir. Ancak prolin multipıl prolin aminoasidinin bir protein içinde birikimli olduğu zaman sol elli bir helikal yapı ortaya koyar. Bu çok yaygın bir durum olmasına rağmen bovin pankreas tripsin inhibitöründe 5-7 aminoasitleri için rapor edilmiştir. Prolin yapısal özelliklerine belirgin bir şekilde bağlı olan ikinci bir helikal formasyon da kemik, tendon ve destekleyici membran dokularının ana bileşeni olan kollajendir (30).

2.2.7. Prolin'nin Biyolojik Önemi

Kollajen yapısında yer alan en önemli aminoasitler prolin ve hidroksprolindir. Hidroksprolin hidrojen yapım ve yıkım reaksiyonlarında açığa çıkar.(29) Prolinin oynamış olduğu anahtar bir fizyolojik rol biyolojik olarak aktif peptidlerin enzimatik degradasyona karşı koruma sağlamaktadır. Bu durum peptid veya protein prekürsörlerinin post transyasyonel modifikasyonlarının regülasyonunda açıkça bellidir. Polipeptid zincirlerin içinde yerleşik olan prolin aminoasitler polipeptid zincirin hassasiyetini proteolize sınırlayan yapısal unsurlar olarak hareket ederler ve zincirlerin enzimatik süreci öncesinde modifikasyon bölümünde mevcuttur. Bu durum peptidlerin post translasyonel modifikasyonunda görev alan ekzopeptidazların özelliği ile ilişkili araştırmalarda gösterilmiştir ve pek çok biyolojik olarak aktif peptidlerin amino ucuna yakın yerlerde ortaya çıkan prolin gözlemiyle desteklenmektedir (31,32).

Prolin ayrıca krebs ve üre döngüleriyle metabolik olarak bağlantılıdır. + - prolin-5-karboksilik asit prolin metabolizmasında iki döngüyü birbirine bağlayan bir pozisyondadır. Prolinin karbon zincirinden krebs döngüsüne geçişi tüm dokularda bilinen klasik yoldan 2-okso-glutarik asit metabolizması ile olur (33).



Şekil.4.Prolinin metabolik yollarla bağlantısı (33)

2.2.8. Kollajen

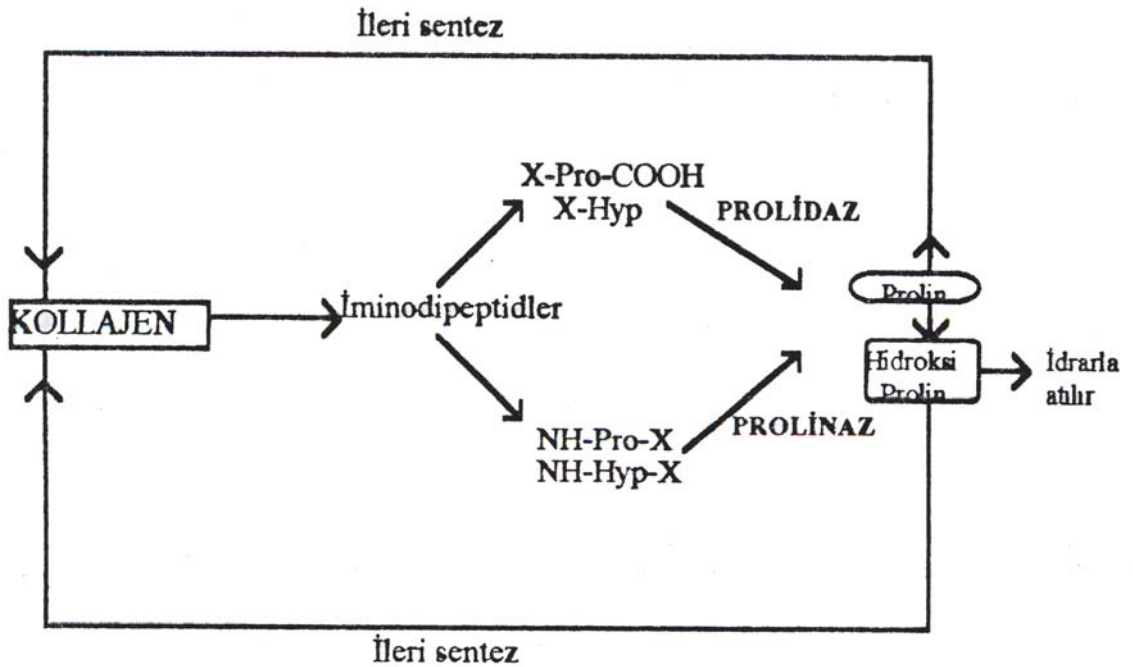
Kollajen; yapısında her beş amino asitten biri prolin veya hidroksiprolin bulunan önemli bir destek proteiniimizdir. Kemik, diş, tendon, deri, damarlar gibi bir çok dokuda yer almaktadır. Kollajenin primer yapısı polipeptid zincirindeki her üç pozisyondan birinde en küçük aminoasit olan glisinin bulunması açısından değişiktir. Glisin heliks yapıdaki kollajenin üç zincirinin bir araya geldiği kısıtlı alana sığabilir. Glisin kalıntıları Gly-X-Y olarak tekrarlayan X'in genellikle prolin olduğu ve Y'nin sıklıkla hidroksiprolin veya hidroksilizin olduğu düzenin parçasıdır.

Vücudumuzda önemli birçok dokunun yapısında yer alan kollajenin döngüsünde prolidaz spesifik bir enzim olduğu için önemi büyüktür. Kollajenin yıkımında ve prolinin kollajen yapımı döngüsüne yeniden katılımında prolidaz aktif görev almaktadır.

2.2.9. Prolidaz'ın Kollajen Yapım ve Yıkımındaki Önemi

Kollajen yıkımı interstisyel kollajenaz enziminin kollajen molekülünün amino ucuna yakın bir yüzeyine bağlanmasıyla başlar. Üçlü sarmal yapıdaki kollajen molekülüne etkili enzim orijinal kollajen molekülünün %25 ve %75 kadarını taşıyan iki adet sarmal yapıda molekül açığa çıkarmaktadır. Sarmal yapıları dayanıklı olmayan bu küçük moleküllerin vücutta parçalanması ile elde edilen polipeptitler proteazlar tarafından daha küçük peptitler veya serbest aminoasitlere yıkılmaktadır (34). Prolidazın bütün biyolojik fonksiyonunun prolin döngüsüyle beraber kollajen dejenerasyon ürünleri ve diğer Xaa – Pro dipeptidlerin metabolizması olduğuna inanılmaktadır. Prolidaz C-terminalinde amino asiti prolin veya hidroksiprolin olan dipeptidleri hücre içinde hidroliz eder. Prolin yeniden döngüye girer ve yeni protein sentezinde kullanılırken hidroksiprolin idrarla atılmaktadır (35). Kollajen dokudaki amino asitlerin yaklaşık %25'ini prolin ve hidroksiprolin oluşturduğundan prolidaz kollajen yıkımında önemli rol oynamaktadır (36). Prolidaz hücre içi protein yıkımının son basamağında özellikle yüksek miktarda prolin içeren prekollajenin yıkımı aşamasında rol

oynamaktadır. Enzim için substrat kaynağı kollajen olup iminopeptidler kollajenin yıkımının son basamağında ortaya çıkmaktadır (37). Kollajen yıkımında prolidaz ve prolinazın yeri aşağıdaki şekilde görülmektedir. (Şekil-5)



Şekil.5.Kollajen yıkımında prolidaz ve prolinazın yeri(35)

2.2.10. Prolidaz'ın Hastalıklarla İlişkisi

Prolidaz beslenme ile alınan proteinlerden ve vücuttaki depo kollajeninden imino asitlerin geri kazanılmasında önemli rol oynar. Prolidaz C-ucunda prolin veya hidroksiprolinin imino azotunu içeren peptid bağı bulunduran bileşiklerin hızlı hidrolizini katalizleyen tek enzim olduğu için spesifitesi yüksektir. Prolidaz eksikliği prolinin normal döngüsündeki bozulmayla sonuçlanır. Prolidaz eksikliğinde büyük miktarda prolin ve hidroksiprolin üre ile dışarı atılır. İmino peptidler gibi aminoasitleri bağlar ve sonuç olarak toplam prolin eksikliği oluşur. Prolidaz enzim aktivitesi eritrosit, lökosit ve fibroblastlarda çok düşüktür. Etkilenen hasta bireylerde prolidaz enzim aktivitesi saptanamaz. İmino peptiduri aynı zamanda raşitizm, hiperparatiroidizm ve paget hastalığı gibi durumlarda tanımlanır. Fakat İmino peptiduri prolidaz eksikliğinde çok daha yüksektir. Prolidaz eksikliği cilt ve diğer

kollajen dokulardaki anormallik sendromuyla sonuçlanır. Etkilenen bölümler idrara aşırı miktarda iminopeptid salgırlar ve bu peptidler prolidaz için substrat olarak görev yaparlar (36,37). Bu nadir genetik prolidaz eksikliği otozomal resesif özellik olarak kalımsaldır (38). Prolidaz geni başka bir kalımsal rahatsızlık olan miyotonik distrofi ile ilgili olması açısından önemlidir. Prolidaz açlığı kronik deri ülseri tekrarlanan enfeksiyonlar zihinsel engelli kspleno megali karakteristik bir yüz görünümü (örneğin zayıf saçlar yassı burun düz alın kalın dudaklar hipertelarizm) gibi çeşitli klinik bulgularla bağlantılıdır. İlk defa 1968 yılında Goadma tarafından tanımlandı. 1974'de Powell ve arkadaşları prolidaz eksikliği olduğunu gösterdi (39).

Kardiyak matriks başlıca tip I ve tip III kollajen içerir. Kollajen yapımı enflamatuvar hücrelerin bu alana göçü ve salgıladıkları sitokinlere [transforming growth factor- β 1 (TGF β 1 ve interlökin 1 β (IL-1 β) bağı] olarak uyarılır ve kardiyak dokuda fibrozis gelişimi ile sonuçlanır. Kardiyak ileti sistemindeki yapısal değişiklikler ise iletim bozukluklarına neden olmaktadır (40,41,42). Yukarıda da belirttiğimiz gibi kollajen tip I ve tip III kardiyak matrikste en yoğun bulunan ekstrasellüler matriks proteinleri olup total kollajen miktarının yaklaşık % 80-90'nı oluştururlar. Kollajen yapısındaki aminoasitlerin % 25'ni prolin ve hidroksiprolin oluşturmaktadır. Miyokardiyal fibrozis hipertrofi ve infarktüse bağı kardiyak hasar durumunda tip I/III kollajen oranındaki değişiklik matriks yapısının değişmesine ve sonuçta miyokard işlev bozukluğuna neden olmaktadır (43). Kollajen art arda birkaç reaksiyonla iminodipeptidlere ve bunlar da serbest aminoasitlere ayrılır. Bu aminoasitler genel sistemik aminoasit havuzuna katılmadan tekrar kollajen yapımına girer. Prolin ve hidroksiprolinin her biri kollajendeki amino asitlerin % 10'unu oluşturur. Fakat hidroksiprolin kollajen sentezine katılmadığından ve polipeptid zincirinin posttranslasyonel modifikasyonu sonucu prolinin hidrosillenmesiyle ortaya çıktığından dolayı kollajendeki amino asitlerin % 20 kadarını prolinin oluşturduğu kabul edilir (44). Kollajen yıkımının son basamağı prolidaz aracılığı ile olmaktadır. Prolidaz kollajen sentezi ve hücre gelişiminde rol alan prolinin dönüşümünde önemli rol almaktadır. Normal serum prolidaz değeri 1000 U/L'nin altındadır. 1500 U/L'yi aşan değerler kronik karaciğer hastalıklarında görülür. Diyabetiklerde serum prolidaz aktivitesinin oldukça düşük olduğunu saptanmıştır (45). Siroz hastalarında serum prolidaz seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunduğu ve kollajen turnover'nın insan karaciğerinde sirozun gelişimiyle değiştiğini ve prolidaz aktivitesinin bu

dejeneratif karaciğer hastalığında kollajen metabolizmasının bozukluklarını yansıtabileceğini ortaya koydular (46). Kronik etanol ve selenyum verilen sıçanların karaciğerlerinde prolidaz I aktivitesi kontrollere oranla artmış bulunmuştur (47). Prolidaz enziminin genetik eksikliğinin sonucunda mental gerilik tekrarlayan infeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığı bildirilmiştir (48,49). Prolidaz eksikliği olan kişilerde prolidaz I aktivitesinin deri fibroblast kültürlerinde ve kan hücrelerinde azaldığı gösterilmiştir (50). Prolidaz aktivitesi birçok dokuda ve amniotik sıvıda belirlenmiştir (51,52). Kemik hastalıklarında hiçbir zaman yüksek prolidaz değerine rastlanmamıştır (53). Oono ve ark. kronik yara iyileşmesinde prolidaz enzim değerininin yaradan alınan sıvı örneklerinde ve blister oluşan hastalıklarda blister içi sıvı örneklerinde arttığını bildirmişlerdir (54).

3. MATERYAL –METOD

Bu çalışmamızda özetle; Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Arastırma ve Uygulama Hastanesi kardiyoloji polikliniğine başvuran 30 gönüllü kardiyak hipertrofi tanısı konmuş hastadan, yaş, kilo ve cinsiyetleri birbirine benzer nitelikte hasta grubu ile 40 kontrol vakasından bilgileri dahilinde kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri santrifüj edildi ve serumları ayrıldı Elde edilen serum örnekleri çalışılncaya kadar –80 °C ‘de muhafaza edildi. Çalışma günü serum örnekleri eritildi ve prolidaz düzeyleri çalışıldı.

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Kullanılan Aletler:

Santrifüj	Universal 30 rf [®]
Vorteks	DCA-VF-2 [®]
Visible spektrofotometre	Jasco V-530 UV/Vİ3 Spektrofotometri [®]
Hassas terazi	Sartorius [®]
Su banyosu	Nüve BM 402 [®]
Derin dondurucu (-80 °C)	New brunswick scientific (-85.C ultra low freezer
pH metre	H a n a
EKG cihazı	Aloko ProSobnd 5000
EKO cihazı	Schiller at-2 plus

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tablo.2.Prolidaz Aktivitesi Ölçme Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

<u>Madde Adı</u>	<u>Formülü</u>	<u>Firma ve Katalog no</u>
Prolin	$C_5 H_9 NO_2$	Sigma P-0380
Glisil-Prolin	$C_7 H_{12} N_2 O_3$	Sigma G-3002
Glasiyel asetik asit	$CH_3 COOH$	Merck 541
Ortofosforik asit	$H_3 PO_4$	Merck 564
Ninhidrin	$C_9 H_6 O_4$	Merck 6762
Mangan klorür (II)hidrat	$MnCl_2 H_2 O$	Merck5917
Trizma HCl	$C_4 H_{11} NO_3 HCl$	SigmaT-3253
Triklorasetik asit	$C_2 HCl_3 O_2$	Fluka 91232
Prolidaz (Porcine Kidney)	100 ünite 2.4 mg	Sigma P-6675
Demir(II) klorür	$FeCl_2$	CarloErba 51575
Çinko Asetat (II) hidrat	$Zn C_4 H_6 O_4 2 H_2 O$	Fluka 96458
Magnezyum klorür	$MgCl_2 6 H_2 O$	Riedel (IV) hidrat
EDTA (Triplex III)	$C_{10} H_{14} N_2 Na_2 O_8 2 H_2 O$	Merck 8421
TRIZMA BASE	$C_4 H_{11} NO_3$	Sigma T 1503

3.2.YÖNTEM

3.2.1. Örneklerin Hazırlanması:

Çalışmada kullanılan kan örnekleri Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi kardiyoloji polikliniğine başvuran 30 gönüllü kardiyak hipertrofi tanısı konmuş hastadan yaş, kilo ve cinsiyetleri birbirine benzer nitelikte hasta grubu ile 40 kontrol vakasından alındı ve serumları ayrıldı. Serum prolidaz aktivitesi düzeyi ölçülene kadar -80 °C'de saklandı.

3.2.2.Prolidaz aktivitesi ölçümünde kullanılan Ayıraçlar:

1. 0.45 mol/L Trikloroasetik asit (TCA)
2. 1 mM L-Prolin standartı 0.012 g/100 ml 0.45 m/L TCA içinde hazırlandı.
3. 1 mmol/L $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.132 g tartılıp pH:8 olan 0.05mol/L Tris tamponuyla litreye tamamlandı.
4. 0.05 mol/L Tris HCl tamponu: 0.7850 birim Tris-HCl bir miktar distile suda çözülür 1N NaOH ile pH:8'e ayarlanır ve distile su ile litreye tamamlanır.
5. Glisil - L prolin (100 mmol/ L): 1,720g glisil-L-prolindipeptidi tartılıp 100 ml Tris tamponunda eritilir. pH:8'e ayarlanır. Taze hazırlanır.
6. Chinard çözeltisi: 60 ml glisial asetik asit 40 ml 6 mol/ L ortofosforik asit 2.5 g ninhidrin 70 °C'de bu karışımda eritilir.
7. 100mM Trizma-HCl tamponu: 7,88 g tartılır. pH:8'e ayarlanır ve distile su ile 500ml'ye tamamlanır [55, 56, 57, 58, 59, 60, 61].

3.2.3. Serum prolidaz aktivitesi ölçüm yöntemi (Chinard metodu):

Substrat olarak glisil-prolin kullanılarak enzim aracılığı ile oluşan prolinin asidik ortamda ısı etkisiyle ninhidrin ile renkli bir bileşik (pembe renk) oluşturma ilkesine dayanarak serum prolidaz düzeyi ölçülür. Rengin şiddeti prolin konsantrasyonuna bağlıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülür.



Deney 3 basamaktan oluşur:

1. Enzim aktivasyonu için; Numunenin Tris-HCl MnCl₂ ile preinkübasyonu
2. Örnek ile glisil - prolinin inkübasyonu
3. Serbestleşen prolinin spektrofotometrik olarak Chinard metodu ile ölçülmesi

Her örnek için serum 1:6 oranında Tris-HClMnCl₂ ile 37 °C'de preinkübasyon için 2 saat bekletildi. Daha sonra inkübasyonlu ve inkübasyonsuz diye iki ayrı tüp hazırlandı ve aşağıdaki işlemler uygulandı.

<u>Ayırdaçlar</u>	<u>İnkübasyonlu</u>	<u>inkübasyonsuz</u>
100mM TrisTamponu	400uL	400uL
100mM Glisil - L prolin	400uL	400uL
Preinkübe edilmiş numune	100 uL	100 uL
0.45 mmol/l TCA	-	500 uL

İnkübasyonlu tüpler 37 °C' de 30 dakika inkübe edildikten sonra 500uL 0.45 mmol/l TCA ilave edilerek reaksiyon durduruldu. inkübasyonsuz ve inkübasyonlu tüplerinin hepsi 2000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alınıp spektrofotometrik prolin ölçümü için kullanıldı.

<u>Ayrıçlar</u>	<u>Kör</u>	<u>Standart</u>	<u>İnkübasyonlu</u>	<u>İnkübasyonsuz</u>
Gasiyal asetik asit (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5
Süpernatant (ml)			1	1
Chinard reaktifi	0.5	0.5	0.5	0.5
Standart		1		

Yukarıdaki işlemler uygulandıktan sonra tüplerin ağzı kapatılıp 20 dk 90 °C 'de tutulur ve daha sonra buzlu su banyosunda soğutulup 515 nm'de okutulur [55, 59, 60, 62].

3.2.4.Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması:

$$\text{Prolidaz aktivite düzeyi} : \frac{(A-B) \times [S] \times \text{Faktör}}{S}$$

A: İnkübasyon tüpü absorbans değeri

B: Sıfır zaman tüpü absorbans değeri(inkübasyonsuz)

[S] : Standart konsantrasyonu (mmol/l)

S: standart absorbans değeri

Faktör : $\frac{\text{Preink. Ortamındaki sulandırma} \times \text{İnk. Ortamındaki sulandırma}}{\text{İnkübasyon zamanı}}$

$$F: \frac{40 \times 15}{30}$$

Prolidaz aktivite düzeyi : $\frac{(A-B) \times [S] \times \text{Faktör}}{S}$: 1 litrede 1 dakikada oluşan mmol prolin miktarı

Prolidaz aktivite düzeyi : $\frac{(A-B) \times [S] \times \text{Faktör} \times 60}{S}$: 1 litrede 1 saatte oluşan mmol prolin miktarı

Serumda aktivite tanımı : 1µmol substratı 1 dakikada değişikliğe uğratan enzim miktarı olarak yapılmıştır. Birim U/l olarak tanımlanmıştır.

BÖLÜM-4-BULGULAR

Çalışmaya Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Arastırma ve Uygulama Hastanesi kardiyoloji polikliniğine başvuran 30 gönüllü kardiyak hipertrofi tanısı konmuş hastadan yaş, kilo ve cinsiyetleri birbirine benzer nitelikte hasta grubu ile 40 kontrol vakası dahil edildi. Hasta ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinin prolidaz enzim düzeyleri kolorometrik bir yöntem olan Chinard yöntemi ile ölçümü yapıldı. Hasta ve kontrol grupları arasındaki kilo, yaş ve boy arasındaki fizyolojik değerler Tablo.3 de gösterilmiştir. Tabloya göre hasta ve kontrol grupları arasında kilo, yaş ve boy değerleri arasında bir fark olmadığı görülmektedir.

Tablo.3.Hasta ve kontrol grupları arasındaki fizyolojik değerlerin karşılaştırılması

	Hasta (n=30) Ortalama± SD	Kontrol (n=40) Ortalama ± SD	<i>P</i>
Kilo	67.34 ± 7.57	63.60 ± 11.88	> 0.05
Yaş (yıl)	58.39 ± 11.97	54.42 ± 10.99	> 0.05
Boy (metre)	1.69 ± .10	1.65 ± .11	> 0.05

Hasta ve kontrol grupları arasındaki cinsiyet dağılımı Tablo.4’ te gösterilmiştir. Tabloya göre hasta ve kontrol gruplarında kadın ve erkek oranında bir fark yoktu.

Tablo.4.Hasta ve kontrol grupları arasındaki cinsiyet dağılımı

Grup	Kadın	Erkek	Total
Hasta (n=30)	6	24	30
Kontrol (n=40)	11	29	40
Total (n=70)	17	53	70

Hasta ve kontrol grupları arasındaki prolidaz enzimi seviyeleri arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları Tablo-5' te gösterilmiştir.

Tablo-5. Hasta ve kontrol gruplarının prolidaz enzim aktiviteleri

	Hasta (n=30) Ortalama \pm SD	Kontrol (n=40) Ortalama \pm SD	<i>P</i>
Prolidaz (U/L)	51.58 \pm 10.1	59.75 \pm 4.0	< 0.001

Tablo.5. te de görüldüğü gibi hasta gruplarındaki prolidaz aktivitesinin, kontrol gruplarının prolidaz enzim aktivitesine göre anlamlı olarak azaldığı görülmektedir ($P < 0.001$).

BÖLÜM -5-TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya sağlık örgütü ilk belirtilerin başlamasından sonraki 24 saat içinde gerçekleşen ölümleri “ani ölüm” olarak tanımlamaktadır. Ani ölüm nedenleri içinde vasküler hastalıklar en büyük grubu oluşturmaktadır. Vasküler hastalıkların %30’a yakını ise hipertrofik kardiyomyopatiler oluşturmaktadır (63). Hemen hemen her yaş döneminde özellikle ileri yaş döneminde ortaya çıkabilen ve klinik olarak ileri dönemde kilo kaybı, zayıflık, halsizlik, iştahsızlık, abdominal gerginlik, öksürük, solunum güçlüğü, pulmoner venöz konjesyon, pulmoner ödem, plevral efüzyon, çeşitli düzeyde murmurlar, düzensiz kalp ritmine neden olarak ölüme yol açan kardiyak yetmezliklerin erken dönemde tanısı hastalığın tedavi şansını arttırmaktadır (64). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki kardiyak şikayetlerin büyük bir kısmı kalp büyümelerinden kaynaklanmaktadır (65). Tiroid hormonunun kardiyak protein sentezini artırması hipertiroidik hastalardaki kardiyak hipertrofinin bir nedeni olarak düşünülmektedir. Lavie ve arkadaşları hipertansiyon ve obezitenin sol ventrikül hipertrofisinden sorumlu en önemli risk faktörleri olduğunu ve her ikisinin de artan yaşla yakın ilişki gösterdiğini belirttiler (66). Bu yüzden kardiyak ölümlerde hipertrofi göz ardı edilmemelidir. Hipertrofinin ilerlemesi sonucu kalp yetmezliği meydana gelir. Fakat her hipertrofi olmuş durumda kalp yetmezliği meydana gelmeyebilir. Kalp dokuların ihtiyaç duyduğu kanı normal doluş basınçları altında pompalayarak dağılımını sağlayabilme görevini kontraksiyon relaksasyon ve dolum evrelerinden oluşan bir döngü içinde yerine getirir. Sistolik evre kalbin kasılabilirlik ve ileri atım gücünü, diyastolik evre ise kalbin relaksasyon kapasitesini belirler. Kalp odacıklarının büyümesi ile kalbin içerisine alabildiği kan miktarı ve her bir atımda pompalayabildiği kan miktarı (kalp atım volümü veya strok volüm) artar. Bu nedenle bir dakikada pompalayabildiği kan miktarıda (kalbin dakika atım volümü veya kardiyak output veya kardiyak debi) artar. Kardiyak output veya kardiyak debi kalbin bir dakikada vücuda pompalayabildiği kan miktarıdır. Bu artış kalpte meydana gelen hipertrofi ve kalbin kasılma gücünün artışına bağlıdır. Bu artışın nedeni kardiyak hipertrofi ve miyokardın kasılma kuvvetinin artmasıdır. Kasılma kuvvetinin ve ventriküler hacmin artması her atımda daha fazla kanın kalpten pompalanmasını sağlar. Bu durum kardiyak hipertrofinin oluşumunu sağlar. Bunun sonucunda kardiyak işlev bozuklukları meydana gelmektedir. Kardiyak işlev bozuklukları kardiyak kollajen yapısındaki değişiklikler ile birlikte.

Prolidaz enzimi C-terminalinde prolin veya hidroksiprolin bulunan imminodipeptidleri yıkan bir enzimdir. Bu dipeptidler canlıda kollojen yıkımında açığa çıkar. Kollajen ardarda birkaç reaksiyonla imminodipeptidlere ve bunlarda serbest aminoasitlere ayrılır. Bu aminoasitler genel sistemik aminoasit havuzuna katılmadan tekrar kollajen yapımına girer. Yapılan araştırmalarda kollajen sentezinde, kollajen alfa zincirlerinin oluşumunda, kollajenin fiberlere bağlanmasında ve salgılanmasında gerekli olan prolin ve lizin moleküllerinin hidroksilasyonun da gerekli olduğunu ortaya koymuştur (67). Sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu ve artmış sol ventrikül kütlesi hipertrofik sol ventrikülün interstisyel boşluğunda aşırı basınç yüklenmesine sekonder olan bir sonuç nedeniyle oluşan orantısız kollajen birikimine bağlanabilir (68). Kollajenin birikimi ve turn-over'ının bozulması prolidaz enzim aktivitesini de değiştirmesi beklenir. Bizim çalışmamızda kardiyak hipertrofi hastalarda prolidaz aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaldığını bulduk. Artmış sol ventrikül diyastolik ve sistolik volümü hipertrofi ve uzamış sistolik ejeksiyon süresi nedeniyle miyokardın oksijen ihtiyacı artar. Hipertrofi durumunda kardiyak hücrelere yeterli miktarda oksijen gitmediği düşünüldüğünde prolin ve lizin molekülleri hidroksilasyonu gerçekleştiremez. Buna bağlı olarak da prolidaz enzim aktivitesinin etkileneceği düşünülmektedir. Fakat bu konuda şu ana kadar yapılmış herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır. Prolidaz enzim aktivitesiyle ilgili kemik yapım ve yıkımında indeks olarak kullanılması, meme kanserinde, tip2 diabetes mellitusde, üremik hastalarda enzim aktivitesinin rolü, hiperbarik oksijen tedavisine prolidaz enzim seviyesi ve benzeri çalışmalara literatürde karşılaşılmıştır (69). Ancak kardiyak hipertrofi hastalarda prolidaz aktivitesiyle ilgili herhangi bir araştırma yapılmamıştır.

Bulgularımız bize kardiyak hipertrofiye kollajen dokusunda etkilendiğini, yapım ve yıkım hızını azalmış ya da yavaşlamış olduğu yönünde fikir vermektedir. Serum prolidaz aktivitesinin ölçümünün kolay uygulanabilir olması ve enzim aktivitesini sağlıklı erişkinlerde büyük varyasyonlar göstermemesi prolidaz enzimi rutin laboratuvarlarda hipertrofik kardiyomyopati vakalarında kollajen doku hasarının değerlendirilmesinde yararlanılabilir ihtimalini göstermektedir. Fakat, bu konuda daha kesin konuşabilmek için daha detaylı ve geniş çaplı planlanmış, hem kardiyak myopatinin, hem komplikasyonlarının hem de nedenlerinin göz önüne alınarak, prolidaz enzim aktivitesiyle birlikte değerlendirilip birbirleriyle korelasyonunun olup olmadığını ortaya çıkaracak ileri çalışmalar gerekmektedir.

BÖLÜM.6. KAYNAKLAR

1. Valentin Fuster R.W. Alexander R. O'Rourke "Kalp Yetersizliğinin Patofizyolojisi ve Tanısı" Hurst's The Heart 2002; 2.Cilt: 655-680
2. Eichna LW. The George E. Brown Memorial Lecture: Circulatory congestion and heart failure. Circulation 1960; 22:864-886
3. Cowie MR Mosterd A Wood Daet al. The epidemiology of heart failure. Eur Heart J 1997; 18: 208-225.
4. Bonow RO Udelson JE. Left ventricular diastolik disfonksiyon as a cause of congestive heart failure. Ann Intern Med 1992; 117: 502-510.
5. Cohn JN Janson G. Heart failure with normal ejection fraction. Circulation 1990; 81 (suppl II): III- 48-III-53.
6. Caviello DA Maron BJSpirito P et al. Clinical features of hypertrophic cardiomyopathy caused by mutation of a Hot spot in the alpha-tropomyosin gene. JACC 29: 635-640 1997.
7. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science 1995; 1456-62 .
8. Vaux DL Strasser A. The molecular biology of apoptosis. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93:2239-44.
9. Clark AJ . General physiology of hearts of cold-blooded vertebrates. In: Barcroft JS ed. Comparative physiology of the heart. New York : Macmillian 1927:151.
10. Ford LE. Heart size. Circ Res. 1976; 39:297-303.
11. Walsh RA. Cardiovascular effects of the aging process. Am J med 1987; 82:343-40.
12. Marian AJ Roberts R. Recent advances in the molecular genetics of hypertrophic cardiomyopathy. Circulation 1995; 92:1336-147.
13. Watkins HR Rosenzweig A. Characteristics and prognostic implications of myosin misense mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy. N Eng J med 1992; 326:1108-14.
14. Braunwald E: Normal and abnormal myocardial function In: Ed. Fauci AS et al. Harrison's Principles of Internal Medicine 14th ed. McGraw Hill 1998: 1297.

15. Cohn JN. Structural basis for heart failure: ventricular remodeling and its pharmacological inhibition. *Circulation* 1995; 91:2504-07.
16. Milligan A. Brown G. : Prolidase Deficiency : a Case Report and Literature Review. *Brit J. Dermatol* 121:405 –409 1989.
17. Davis NC Smith EL: Purification and Some Properties of Prolidase of Swine Kidney, *J. Biol Chem*, 244:261-275, 1957.
18. Phag et al 1995.
19. Mock WL. Zhuang H. : Chemical Modification Locates Guanidiny and Carbokxylate Groups Within The Active site of prolidase *Biochem biophys Res Com.* 180(1): 401-406 1991.
20. Endo F. Tanoue A. : structural organization of the gene for human prolidase (Peptidase D) and Demonstration of a partial gene deletion in a patient with prolidase deficiency . *J. Biol chem* 265(19): 11306-11311 1989.
21. Sugahara K. Ohno T. : The Use of liquid chromatography Mass spectrometry for the identification and Quantification of Urinary immunodipeptidase in prolidase deficiency . *Eur J clin-Chem Clin Biochem* 31: 317-322 1993.
22. Ohhashi T. Ohno T. : Characterization of prolidase I and II From erythrocytes of a control patient with prolidase deficiency and her Mother. *Clin Chim Acta* 187:1-10 1990.
23. Yaron A. Naider F. *CRC Crit Rev. Biochem Mol. Biol.*
24. Myara I. Cosson C. Moatti N. Lemonnier A. : Human kidney prolidase-purification preincubation properties and immunological reactivity. *Int. J Biochem.* 26(2): 207-214 1994.
25. Cesson C. Myara I. : Only prolidase I Activity is present in human plasma. *Int. J Biochem.* 24(3):427-432 1992.
26. Boright A. Sriver , CR: Prolidase Deficiency: Biochemical Classification of Alleles *Am J Hum Genet* 44:731-740, 1989.
27. Mock WL. Gren PC. : Mechanism and inhibition of prolidase. *J Biol chem* 265 (32): 19606-19610 1990.
28. Oono T. Arata J. . Characteristics of prolidase and prolidase in prolidase-deficient patients with some preliminary studies of their role in Skin. *J dermatol.* 15 212-219 1988.
29. Onat T. Emerk K., Sözmen E. Y., *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, Ankara, 2002.

30. Radzicka A. Wolfanden R. : Analogues of intermediates in Action f pig kidney prolidase Biochemistry. 30: 4160-41641991.
31. Persson B., Flinta C., Vonheijne G. Jorvalle. EUR. d. Biochem 152 (1985) 523 527.
32. Yareğir. G. : Temel Biyokimya I. 3. BaskıÇukurova. Üniv. Tıp fakültesi Yayınları ADANA1988152-153 SCRIVERR. CSMİTH R. J. VE PHONGJ . M. (1983).
33. ScriverCR. : Disorder of proline and hydroxyproline Metabolism. In: the metabolic Basis of Inherited Disease (4th Ed.) STANBURYJ. B. Et all. 336-361. 1978.
34. Myara I. Myara A. :plasmma prolidase activity: A Possible Index of Cologen Catabolism in Chronic Liver Disease. Clin Chem. 30(2):211-2151984.
35. Berardesca E. Fidell D. : Blood transfusions in the therapy of case of prolidase deficiency. Brit J Dermatol. 126:193-1951992.
36. Endo F. Matsuda I. : Human eritrosite Prolidase and prolidase deficieny. Pediatr Res16: 227-231(1982).
37. Ogata A. Tanaka T. TomodaE. MurayamaF. Endo F Kukuchi I. (1981) Arah. Dermatol. 117687-697.
38. Tanoue A. Endo F. KitanoA. Matuda I. d. Clin in vest 86(1990) 351-355.
39. Kodama ve Ohhashi 1989.
40. Caufield JBBorg TK. The collagen network of the heart. Lab Invest 1979; 40: 364-72.
41. Hardenbergh PHMunley MTBentel GCet al. Cardiac perfusion changes in patients treated for breast cancer with radiation therapy and doxorubicin: preliminary results. Int J Rad Oncol Biol Phys 2001; 49: 1023-8.
42. Shultz-Hector S. Radiation-induced heart disease: review of experimental data on dose response and pathogenesis.Int J Radiat 1992; 61: 149-60.
43. Hein SSchaper J. The extracellular matrix in normal and diseased myocardium. J Nucl Cardiol 2001; 8: 188-96.
44. RojkindM.GatmaitanZ.: Connective tissue biomatrix in rat hepatocytes. J. Cell. Biol87: 55-2561980.
45. Aksoy N., Çelik H. Selek Ş. Güzel S.Aslan M. Elçi K. Turk J Biochem2005; 30 (1) 1-172.

46. Çelik H.Aksoy N Aslan M. Naligül Y.Barut Ş. Turk J Biochem2005; 29 (1) 1-172.
47. Söner Y., Gürdöl F., Tuğrul Y., Bekpınar S: Prolidase I activity in liver tissue: effects of ethanol and selenium. Res Commun Alcohol Subs Abuse 16:125 (1995).
48. Arata J., Umemura S., Yamamoto Y., Hagiyaama M., Nohara N: Prolidase deficiency: Its dermatological manifestations and some additional biochemical studies. Arch Dermatol 115:62 (1979)
49. Powell GF., Rasco MA., Maniscalco RM: A prolidase deficiency in man with iminopeptidurea. Metabolism 23:505 (1974).
50. Butterworth J., Priestman DA: Presence in human cells and tissues of two prolidasases and their alteration in prolidase deficiency. J Inherit Metab Dis 8:193 (1985).
51. Gürdöl F., Genç S., Yalçın Ö., Gültepe M: The presence of prolidase activity in amniotic fluid and its evaluation as a maturity test. Biol Neonate 67:34 (1995).
52. Hui KS., Lajtha A: Prolidase activity in brain: Comparison with other organs. J Neurochem 30:321 (1978).
53. Zuyderhoudtf. M.C.BrugmanA. M.SmithJ. J.H.JongL.: Plasma prolidase in the rat; noindex of liver fibrosis. Clinical Chemistry31:4,1985.
54. OonoT.FujiwaraY.YoshiokaT.ArataJ.:Prolidase activity in chronic wound and blister fluids. J Dermatol. 24(10): 626-91997.
55. SurazynskiA.J. Palkaand S. WolczynskiPhosphorylation of prolidase increases the enzyme activity. Mol Cell Biochem2001; 220:1-295-101.
56. MyaraI.C. CharpentierM. Gautieret al.Cell density affects prolidase and prolinase activity and intracellular amino acid levels in cultured human cells. Clin Chim Acta1985; 150:11-9.
57. MadazliR.A. AtisH. Uzunet al.Mid-trimester amniotic fluid angiogeninlactate dehydrogenase and fibronectin in the prediction of preterm delivery. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol2003; 106:2160-4.
58. Dolenga M.Hechtman P.: Prolidase Deficiency in Cultured Human Fibroblasts:Biochemical Pathology and Iminodipeptid Enhanced Growth.Pediatr Res. 32(4): 479-4821992.
59. ForlinoA.A. LupiP. Vaghiet al.Mutation analysis of five new patients affected by prolidase deficiency: the lack of enzyme activity causes necrosis-like cell death in cultured fibroblasts. Hum Genet2002; 111:4-5314-22.
60. YallampalliC.Y.L. DongP.R. Gangulaet al.Role and regulation of nitric oxide in the

- uterus during pregnancy and parturition. *J Soc Gynecol Investig* 1998; 5:258-67.
61. Karna E.W., Milyk S., Wolczynski et al. The potential mechanism for glutamine-induced collagen biosynthesis in cultured human skin fibroblasts. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2001; 130:123-32.
 62. Erbagci A.B.M., Araz A., Erbagci et al. Serum prolidase activity as a marker of osteoporosis in type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem* 2002; 35:4263-8.
 63. Knight B. The pathology of sudden death. In: Knight B (ed). *Forensic Pathology*. 2nd ed. New York: Oxford University Press 1996: 487-516.
 64. Meurs K.M., Miller M.W.: ECG of the month. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1995; 206(7): 957-959.
 65. Selzer A., Ebnoter C.L., Packard P., Stone A.O., Quinn J.E.: Reliability of electrocardiographic diagnosis of left ventricular hypertrophy. *Circulation*. 1968; 17: 255-265.
 66. Klein I. Thyroxine Induced Cardiac Hypertrophy: Time Course of Development and Inhibition of Propranolol. *Endocrinology* 1988; 123:203-10.
 67. Hunt, T.K., La Van, F.B.: Oxygen and Wound Healing. *Clinics in Plastic Surg.*, Vol 17, No. 3, July 1990..
 68. Duflou J, Virmani R, Rabin I, et al. Sudden death as a result of heart disease in morbid obesity. *Am Heart J.* 1995; 130:306-313.
 69. Yıldız Ş., Ay H., DüNDAR K., Elbüken M.E., Caymaz O. *Gülhane Tıp Dergisi* 46 (2) : 144 - 148 (2004)