



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SAĞLIKLI YETİŞKİN ERKEKLERDE MARAŞ OTU (AĞIZ OTU)
KULLANIMININ SERUM PROLİDAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

HAKAN YILDIRIM

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2018

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

SAĞLIKLI YETİŞKİN ERKEKLERDE MARAŞ OTU (AĞIZ OTU)
KULLANIMININ SERUM PROLİDAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

HAKAN YILDIRIM
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Metin KILINÇ

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Ayşe Binnur ÖZYURT

Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Bülent GÜNERİ

KAHRAMANMARAŞ-2018

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Hakan YILDIRIM tarafından hazırlanan “Sağlıklı Yetişkin Erkeklerde Maraş Otu (Ağız Otu) Kullanımının Serum Prolidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi” adlı bu tez, jürimiz tarafından 08 / 08 /2018 tarihinde oy birliği ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Metin KILINÇ (DANIŞMAN)

.....

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, KSÜ

Prof. Dr. Ayşe Binnur ÖZYURT (ÜYE)

.....

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, GAÜN

Dr. Öğr. Üyesi Bülent GÜNERİ (ÜYE)

.....

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, KSÜ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Selma YAMAN

.....

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü V.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Hakan YILDIRIM



Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Eğitimim süresi boyunca her türlü bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tezimin her aşamasında ilgi ve desteğini aldığım ve fikirlerinden faydalandığım Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Metin KILINÇ'a

Tez sonuçlarımın değerlendirilmesinde yardımcı olan Prof. Dr. Ayşe Binnur ÖZYURT'a ve Dr. Öğr. Görevlisi Bülent GÜNERİ'ye, Eğitimim sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Diğer öğretim üyeleri hocalarım Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ ve Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN Hocalarıma,

Çalışma arkadaşım Okan ALDATMAZ ve diğer yüksek lisans arkadaşlarıma,

Beni bugünlere getiren ve hayatımın her alanında maddi ve manevi yardımlarını benden esirgemeyen aileme, en içten teşekkürü bir borç bilirim.

AĞUSTOS-2018

Hakan YILDIRIM

SAĞLIKLI YETİŞKİN ERKEKLERDE MARAŞ OTU (AĞIZ OTU) KULLANIMININ SERUM PROLİDAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Hakan YILDIRIM

ÖZET

Amaç: Prolidaz, hücre içinde, prokollojen, kollojen ve prolin veya hidroksprolin içeren proteinlerin katabolizmasında rol oynayan sitoplazmada bulunan bir enzimdir. Prolidaz aktivitesindeki sapmalar, kanserlerde ve fibrozis ile karakterize birçok durumda yararlı bir belirteç olabilir. Hem prolidazın hem de kollajenin geniş doku dağılımı, bu enzimin birçok klinik durumla ilişkili olduğunu düşündürmüştür. Kollojen özellikle bağ dokusunda olmak üzere çoğu dokuda bol miktarda bulunur ve vücuttaki toplam proteinin yaklaşık 1/3'ünü oluşturur. Prolidaz, Kollajen metabolizmasında, yeni matriks oluşumunda ve hücre büyümesinde rol alır. Eksikliğinde prolin ve hidroksprolinin idrar ile atılımı artar ve kollajen sentezi bozular. Yapılan kaynak taramasında Maraş otunun serum prolidaz aktivitesi üzerine etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmamızda; Maraş otu kullanımının yetişkinlerde kollojen dengesinde önemli rol oynadığı bilinen serum prolidaz (proline dipeptidase) aktivitesi üzerine etkisini incelemeyi amaçladık.

Yöntem: Çalışmaya, Haziran 2017-Ocak 2018 tarihleri arasındaki yaklaşık 7 aylık sürede Kahramanmaraş ili ve çevre ilçelerden benzer yaş dağılımına sahip Maraş otu kullanan 42 kişi çalışma grubunu, Maraş otu kullanmayan 32 kişi ise kontrol grubunu oluşturmak üzere toplam 74 kişi dahil edildi. Bu gruplardan alınan venöz kan plazma örneklerinde Prolidaz düzeyleri modifiye Chinard tekniği kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Elde edilen veriler uygun oldukları için t testi kullanılarak karşılaştırıldı. Çalışma sonunda İstatistiksel analizler SPSS 11,5 istatistik programı ile değerlendirildi. $P < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular: Grupların normal dağılıma uygun olmadığı görüldü. Bu nedenle grupların istatistiki karşılaştırılmasında Mann Whitney-U testi uygulandı. Bu test sonucuna göre gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu gözlemlendi, ($p < 0,001$). Plazma Prolidaz seviyeleri Maraş otu kullananlarda ortalama ve standart hata düzeyleri $3439,14 \pm 233,27$ UL kullanmayanlarda ise $2235,75 \pm 169,57$ olarak tespit edildi.

Sonuç: Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız ile literatürde ilk defa olarak Maraş Otu kullananlarda prolidaz enzim düzeyleri çalışılmıştır. Maraş ve yöresinde kullanılan ve *Nicotiana rustika L.* olarak bilinen tütünden elde edilip meşe veya asma dallarının külleriyle 1/3 oranında karıştırılan Maraş otu kullananlarda Prolidaz enzim düzeylerinin yüksek olması; prokollajen, kollajen ve prolin veya hidroksiprolin içeren proteinlerin katabolizmasının normal kişilere oranla daha fazla olduğunu göstermektedir. Çalışmamızın sonucuna göre Maraş otu kullanımı kollojen düzeylerinde anlamlı sapmalara neden olabilmektedir. Bunun da Maraş otunun bilinmeyen zararlı etkilerinden birini oluşturduğu düşünülmektedir. Bu konuda daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: Fibrozis, Kollojen, *Nicotiana rustica L.*, Prolidaz aktivitesi, Prolin

Sayfa Adedi: 43

Danışman: Prof. Dr. Metin KILINÇ

USE OF MARAŞ OTU (ORGAS OTU) IN HEALTHY ADULT MEN
INVESTIGATION ON THE EFFECT OF SERUM PROLYDER ACTIVITY

Master Thesis

Hakan YILDIRIM

ABSTRACT

Objective: Prolidase is an enzyme found in the cytoplasm that plays a role in the catabolism of proteins including prochllojen, collagen and proline or hydroxyproline in the cell. Deviations in prolidase activity can be a useful marker in many cases in the characterization of cancers and fibrosis. The large tissue distribution of both prolidase and collagen suggests that this enzyme is associated with many clinical situations. The colloid is found abundantly in most tissues, especially in the connective tissue, and constitutes about 1/3 of the total protein in the body. Prolidase is involved in collagen metabolism, new matrix formation and cell growth. In the absence of proline and hydroxyproline urine excretion increases and collagen synthesis is impaired. There was no study on the effect of Marash powder on the serum prolidase activity in the scanning of the source. For this reason, in our study; We aimed to investigate the effect of Marash powder on serum prolidase (proline dipeptidase) activity, which is known to play an important role in the colloid balance in adults.

Materials and Methods: A total of 74 people were included in the study to form a control group, 32 people who did not use Marash powder, and 42 people who used Marash powder that have similar age distribution in Kahramanmarash province and surrounding provinces for about 7 months between June 2017 and January 2018. Prolidase levels were measured spectrophotometrically using modified Chinard technique in venous blood plasma samples from these groups. The obtained data were compared using the t test as appropriate. At the end of the study statistical analyzes were evaluated by SPSS 11.5 statistical program. A P value of <0.05 was considered significant.

Conclusion: It was seen that the normal distribution of the groups was not appropriate. Mann Whitney-U test was used to compare the statistic of the groups. According to this test result, the difference between the groups was significant ($p < 0.001$). Plasma Prolidase levels were found to be $3439,143 \pm 233,27$ in the average and standard error levels in Marash powder users, and $2235,75 \pm 169,57$ in the non-UL users.

Result: To the best of our knowledge, we have studied the levels of prolidase enzymes in the literature using Marash powder for the first time. The high levels of Prolidase enzymes used in Marash and its locusts, which are obtained from tobacco, known as *Nicotiana rustica*, and mixed with 1/3 by the ashes of oak or grapevines; prochlorone, collagen and protein containing proline or hydroxyproline are more catabolized than normal individuals. According to the results of our study, the use of Marash powder can cause significant deviations in colloidal levels. This is thought to constitute one of the unknown harmful effects of Marash. This issue there is a need for further study.

Key words: Fibrosis, Colloid, *Nicotiana rustica* L., Prolidase activity, Prolin

Numberofpages: 43

Advisor: Prof. Dr. Metin KILINÇ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	I
ÖZET.....	II-III
İNGİLİZCE ÖZET.....	IV-V
İÇİNDEKİLER.....	VI-VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tütün.....	3
2.1.1. Tütünün tarihçesi.....	3
2.1.2. Türkiye’ de Tütünün tarihçesi	3
2.1.3. Tütünün Kullanım Şekilleri.....	4
2.2. Maraş Otu (<i>Nicotiana rustica</i> L.).....	4
2.2.1. Maraş Otu Kullanım Prevalansı.....	6
2.2.2. Maraş Otunun Etkileri.....	6
2.3. Prolidaz	9
2.3.1. Prolidazın Tanımı.....	10
2.3.2. Prolidazın Yapısı	11
2.3.3. İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve Gen Lokalizasyonu.....	11
2.3.4. Prolidazın İzoenzimleri	12
2.3.5. Prolidaz İnhibitörleri ve Aktivatörleri.....	13
2.4. Prolin.....	13
2.4.1. Prolinin Yapısal Özellikleri.....	14
2.4.2. Prolinin Biyolojik Önemi.....	15
2.5. Kollajen	16
2.5.1. Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımında Önemi.....	16

3. MATERYAL VE METOD, YÖNTEM.....	20
3.1. Örneklerin Hazırlanması.....	20
3.2. Metotlar ve Kullanılan Cihazlar.....	20
3.3. Prolidaz Yöntemi.....	22
3.4. Serum Prolidaz Deneyi.....	22
3.5. Çalışma Grupları	23
3.6. İstatistiksel Analiz	24
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA.....	26
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	28
7. KAYNAKLAR.....	30
8. ŞEKİLLER DİZİNİ.....	38
9. RESİMLER DİZİNİ.....	39
10. TABLOLAR DİZİNİ.....	40
11. EK-1.....	41
12. ÖZGEÇMİŞ	42

SİMGELER VE KISALTMALAR

KSÜ	: Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
MN	: Mikronukleus
CD	: Cluster of Differentiation
MDA	: Malondialdehit
KİMK	: Karotis İntima Media Kalınlığı
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
TSA	: Total Siyalik Asit
DEAE	: Dietilaminetil
ATP	: Adenin Trifosfat
DNA	: Deoksiribonükleil Asit
PEPD	: Prolidaz Geni
DEAE	: Dietilaminoetil Selüloz Dizi Kromatografisi
IgA	: İmmunoglobülin A
IgG	: İmmunoglobülin G
IgM	: İmmunoglobülin M
PEF	: Tepe Akım Hızı
FVC	: Zorlu Vital Kapasite
TCA	: Trikarboksilik Asit Döngüsü
pH	: Hidrojen Konsantrasyonu
pKa	: Asit veya Baz Sabiti

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hidrolazlar farklı bağları hidroliz ederek katalizlemektedirler. Bunlardan bazıları; C-O, C-N, C-C ve fosforik anhidrit gibi çeşitli bağlardır (1). Prolidaz enzimi karboksil terminal pozisyonunda prolin ya da hidroksiprolin bulunduran dipeptitlerin hidrolizini katalizler (2). Prolidazın tüm biyolojik görevinin prolin siklusunu ile birlikte kollajen dejenerasyon ürünleri ve diğer Xaa-Pro dipeptidlerin metabolizması olduğu düşünülmektedir (3). Prolidaz, C-terminalinde prolin veya hidroksiprolin amino asitleri bulunduran dipeptidleri hücre stoplazmasında hidrolize uğratar. Prolin tekrar döngüye katılır ve yeni protein sentezinde kullanılırken hidroksiprolin idrarla dışarı bırakılmaktadır (4, 5). Kollajenin bileşimindeki amino asitlerin ortalama %25'i prolin ve hidroksiprolinden oluştuğundan, prolidaz kollajen yıkımında önemli göreve sahiptir (6). Prolidaz, hücre içi protein yıkımının son aşamasında, çoğunlukla yüksek oranda prolin ihtiva eden prokollajenin yıkımında görev yapmaktadır. Enzim için substrat kaynağı kollajen olduğundan iminopeptidler kollajen yıkımının son aşamasında meydana gelmektedirler (7).

Tütün, *Nicotiana* cinsinin *Nicotiana tobaccum L.* ve *Nicotiana rustica L.* gibi bazı türlerine ait yaprakların işlenildikten sonra farklı formlarda kullanılması suretiyle tüketilen bir bitkidir (8). Tütün kullanımının en yaygın şekli sigara olup dumansız tütün şekillerinin kullanımı da giderek artmaktadır. Dünyanın birçok yerinde çeşitli dumansız tütün formları tüketilmekle birlikte ülkemizde ise genellikle Doğu ve Güney Doğu bölgelerinde özellikle İlimiz ve Şanlıurfa gibi çeşitli illerde *Nicotiana rustica L.* (deli tütün) bitkisinden imal edilen ve bir dumansız tütün türü olan Maraş otu oldukça geniş bir kesim tarafından kullanılmaktadır. (9, 10) Maraş otu kullanımının sigara gibi bağımlılık yapıcı etkisi olduğu bilinmektedir. Sigarada bulunan kanser ya da mutasyon etmeni maddeler farklı miktarlarda dumansız tütün ürünlerinde de bulunmaktadır (11, 12) ve yol açtıkları sağlık problemleri çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Dumansız tütün çeşitlerinden olan Maraş otunun da kanserojenik, genotoksik etkileri ile bilhassa oral, özefageal, pankreas kanseri gelişiminde etkili olduğu bildirilmiştir (13-15). Bununla birlikte solunum sistemi, kardiyovasküler sistem ile immünolojik, biyokimyasal ve hematolojik parametreler üzerine de olumsuz etkilerinin varlığı kabul edilmektedir (16-20).

Prolidaz, prolin ihtiva eden dipeptidlerin (X-Pro) peptid bağını kesen ve kollajen metabolizmasında görev yapan önemli bir enzimdir (21, 22, 23).

Bu çalışmanın amacı; maraş otu kullanımının serum prolidaz enzimi seviyeleri ve kollajen üretim mekanizması üzerindeki etkilerini incelemek bununla birlikte Prolidaz aktivitesi çoğunlukla prolidaz enzimi sayesinde ortaya çıkarılan prolinin miktarının fotometrik olarak ölçüldüğü yöntemlerle belirlendiğinden bu prolidaz aktivitesi ölçüm yönteminin mutlak aktiviteyi yansıtır yansıtmadığını araştırmak ve prolidaz enzim seviyesinin hesaplanmasında daha az maliyetli parametreler bulabilmektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. TÜTÜN

2.1.1. Tütünün Tarihçesi

Patlıcangiller familyasında yer alan tütün; “*Nicotiana tabacum L.*” olarak ifade edilen bitkiye ait yaprakların kurutulularak işlenmesi ve çeşitli işlemlerden geçirilmek suretiyle ile kullanılmak üzere hazırlanmış şekline verilen isimdir. *Nicotiana tabacum L.* türü yer aldığı ortama uyum göstererek çeşitli tütün tiplerinin ortaya çıkmasını sağlayabilecek bir poliformik karaktere sahiptir (24-27). Tütün tarımının Milattan Önce 6000 yıllarında Amerika kıtasında başladığı, Maya’lara ait tarihi eserler üzerindeki resimlerde ve höyüklerde tütünün kullanım şekillerine yönelik resimlerine rastlanılmıştır (28, 29). Amerikan yerlilerinin tütün dumanını solumanın Tanrıları memnun edeceğine inandıkları ifade edilmektedir. Orta Amerika’da Antiller halkı tütünü zevk verici olarak kullanılırken o dönemin hekimlerinin yara sarmada, baş ağrısı ve göğüs hastalıkları tedavisinde kullandıkları bilgisine ulaşılmıştır (30). Avrupalı insanlar ise tütünü 1492 yılında Küba’ya ayak basan Christopher Columbus vesilesi ile tanımışlardır. Columbus, yerlilerin tütün içtikleri saz borusuna verdikleri isim olan “Tobacco” yu bitkiye isim olarak vermiştir (31). Tütünün Avrupa’da yayılımı 1559 yılında Portekiz’de Fransa elçisi olarak görev yapmakta olan Jean Nicot sayesinde olmuştur. Elçi 1560 yılında Fransa Kraliçesi geçirdiği için bu tarihten sonra tütünün ilaç olarak etkili olduğu Avrupa’ya yayılmıştır. Fransa Kraliçesinin tütüne gösterdiği ilgi sebebiyle “Kraliçe otu” adı olarak adlandırılmıştır. Daha sonra Jean Nicot’ un bu bitkiye gösterdiği ilgi sebebiyle tütün bitkisine “*Nicotiana*” bulunan alkoloide ise “Nicotin” ismi verilmiştir (32). Ticari amaçla ilk tütün yetiştirilmesi 1612’de Virginia’da gerçekleştirilmiştir (33).

2.1.2. Türkiye’de Tütünün Tarihçesi

Tütün ülkemize ilk kez 1601 yılında İngiliz gemicileri tarafından getirilmiş ve nemden kaynaklı bazı hastalıkları tedavi edeceği belirtilerek satılmıştır (34, 35). Tütün ilk olarak pipo, ardından nargile biçiminde kullanılmış, 1853-1856 yılları arasında cereyan eden Kırım Savaşında Osmanlıların kullandığı öğütülmüş tütünün kâğıtlara sarılması şeklindeki kullanımı yaygınlaşmıştır. 1874 yılında ise sigara üretimi yapan fabrikalar kurulmuştur. Sigara yapan makinanın icat edilmesi, sigaranın zamanla geniş kitlelerce kullanılan bir tütün biçimi

olmasını doğurmuştur. 1918'de başlayan sigara sanayinin ilerlemesiyle, tütünün kullanımı bütün dünyada yaygın bir hale gelmiştir (36).

2.1.3. Tütünün Kullanım Şekilleri

Tütün, insanlarca çok eski tarihlerden beri değişik şekillerde kullanılmaya başlanmıştır (29).

- 1) Tütünün direkt olarak dumansız formda kullanım çeşitleri: Çiğneyerek, enfiye, nikotin preparatları şeklinde (nikotin suyu, sakızı, lolipopu, bandı, tableti, granülleri, spreyi, elektronik sigara) kullanımı.
- 2) Tütünün yanması ile açığa çıkan dumanın kullanıldığı ürünler: Tütsü, sigara, puro, pipo, nargile şeklinde kullanımı.
- 3) Tütünün farklı gayelerle sanayide kullanımı: Tohumundan yağ elde edilebilmektedir. Gübre olarak kullanılır. Selüloz sanayinde kâğıt üretimi ve böcek ilacı olarak kullanılır. Yapraklarından nikotin elde edilir. Çiçekleri esans ve kolonya sanayiinde kullanılmaktadır. Tütün farklı biçimlerde kullanılmakla birlikte bugün dünyada en fazla keyif verici madde kategorisinde yer almakta ve ekonomik bakımdan önemli bir yere sahiptir. Bugün dünyada tütün denildiği zaman sigara akla gelmektedir (29).
- 4) Tütün kullanımında önemli bir diğer yöntem ise dumansız tütün kullanımınıdır. Bölgelere ve ülkelere göre dumansız tütünün türü değişmekle birlikte ülkemizde kullanılan çeşidi Maraş otu'dur.

2.2. Maraş Otu (*Nicotiana rustica* L.)



Fotograf 1. Tütün Bitkisi



Fotograf 2. Maraş otu



Fotograf 3. Maraş otu Paketi



Fotograf 4. Maraş otu Kullanım Şekli

Ülkemizde özellikle Şanlıurfa, Gaziantep ve Adıyaman gibi güney illeri ile birlikte İlimiz Kahramanmaraş'ta da bir dumansız tütün formu olan “Maraş otu” çoğu kişi tarafından sıklıkla sigaraya alternatif olarak veya sigarayı bırakma amaçlı kullanılmaktadır. Maraş otu; kurutularak toz haline getirilmiş tütün bitkisi (*Nicotiana rustica L.*) yapraklarının içerisine meşe ağacı yakılarak elde edilen külün belirli bir oranda karıştırılması ile imal edilmektedir. Vatandaşlar Maraş otunu direkt olarak ya da ince bir kağıt içerisine yaklaşık bir tatlı kaşığı kadar koyup alt dudakları ile çeneleri arasına sıkıştırmak suretiyle kullanmaktalar, bir süre sonra ise tükürerek dışarı atmaktadırlar. Bazen de uzun süre ağızlarında bekletmektedirler. Hazırlanırken Maraş otuna belli oranlarda (bire bir) oranda katılan meşe külü, alkaloidlerin baz haline dönüştürülerek ağız içi mukozasından emiliminin gerçekleşmesini sağlamaktadır (Erenmemişoğlu ve ark.1992). *Nicotiana rustica L.* nin nikotin içeriğinin sigara yapımında kullanılan *Nicotiana tabacum L.* den yaklaşık 6-10 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Genellikle sigaranın yerine alternatif olarak kullanılan Maraş otunun insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri bulunduğu tespit edilmiştir.

Tütün, *Nicotiana* cinsinin *Nicotiana tobaccum L.* ve *Nicotiana rustica L.* gibi bazı türlerine ait yaprakların işlenildikten sonra farklı formlarda kullanılması suretiyle tüketilen bir bitkidir. Tütün kullanımının en yaygın şekli sigara olup dumansız tütün şekillerinin kullanımı da giderek artmaktadır. Dünyanın birçok yerinde çeşitli dumansız tütün formları tüketilmekle birlikte yurdumuzda Güney ve Doğu Anadolu Bölgesi'nde bazı illerle birlikte ilimiz Kahramanmaraş' ta *Nicotiana rustica L.* (deli tütün) bitkisinden imal edilen bir dumansız tütün çeşidi olan Maraş otu yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Maraş otu kullanımının sigara gibi bağımlılık yapıcı etkisi olduğu bilinmektedir. Sigaranın ihtiva ettiği kanser, mutasyon yapıcı etmenler farklı miktarlarda dumansız tütün ürünlerinde bulunmaktadır ve yol açtıkları

sağlık problemleri çalışmalarda ortaya konmuştur (37, 38, 39, 40). Dumansız tütün çeşitlerinden olan Maraş otunun da yukarıda belirtilen çeşitli kanser ve mutasyona yol açıcı etkileri ile özellikle oral, özefageal, pankreas kanseri oluşumunda ve ilerleyişinde etkisinin olduğu (41, 42, 43, 44) bununla birlikte solunum sistemi, kardiyovasküler sistem ile immünolojik, biyokimyasal ve hematolojik parametreler üzerine de zararlı etkilerinin olduğu ifade edilmiştir (45, 46, 47).

Kahramanmaraş ilinde yapılan toplum tabanlı bir çalışmada bireylerin %16,8'inin Maraş otu kullandığı belirlenmiştir. Erkeklerin %25,1'i, kadınların %1,4'ü Maraş otu kullandığını ifade etmiştir (48).

2.2.1. Maraş Otu Kullanım Prevalansı

Literatürde MO kullanımının sıklığına yönelik yapılan birkaç araştırmaya ulaşılmıştır.

Kahramanmaraş ilinde bir genel lisede 2200 öğrenci ile yapılan bir çalışmada ise öğrencilerin %4'ünün Maraş otu kullandığı belirlenmiştir. Ayrıca Maraş otu kullanım oranının erkeklerde %6,5, kadınlarda %1,8 olduğu tespit edilmiştir (49).

Kahramanmaraş ilinde aile sağlığı merkezine başvuran 859 kronik hasta üzerinde yapılan çalışmada bireylerin %9,4'ünün Maraş otu, %2,1'inin ise hem sigara hemde Maraş otu kullandığı saptanmıştır. Erkeklerin %16,0'ının, kadınların ise %1,1'inin Maraş otu kullandığı belirlenmiştir. Ayrıca erkek cinsiyet ile Maraş otu kullanımını arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (50).

2.2.2. Maraş Otunun Etkileri

Maraş otu kullanımının hücrel immün yanıtı, akciğerlerin fonksiyonlarını, kalp ve damar sistemini, biyokimyasal ve hematolojik parametreleri olumsuz yönde etkilediğini, Maraş otunun önemli genotoksik etkileri olduğunu ve oral kanser riskini arttırabileceğini gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (51-59). Erenmemişoğlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Maraş otu kullanan kişilerin alt dudak mukozasındaki lezyonları incelenmiş ve yaygın olarak orta derecede displazi belirlenmiştir. Oral kanser riskinin Maraş otu kullanım süresi ile ilişkili içerisinde olduğunu ve bu riskin 15 yıldan daha uzun süre kullananlarda, önemli oranlarda arttığı belirlenmiştir (52). Keten ve arkadaşların çalışmasında sigara ve Maraş otu kullanan bireylerde Candida taşıyıcılığının ve türlerinin araştırılması

amaçlanmıştır. Buna yönelik olarak Kahramanmaraş ilindeki kıraathanelerde bulunan 240 gönüllü erkekten ağız kültürleri alınmıştır. Bu çalışmada Candida taşıyıcılığı sigara içen grubun %58,3'ünde, Maraş otu kullanan grubun %56,7'sinde, kontrol grubunun %36,7'sinde tespit edilmiştir. Sigara içen ve Maraş otu kullanan grupta, kontrol grubuna göre Candida taşıyıcılığının anlamlı seviyede yüksek olduğu belirtilmiştir. Sigara ve Maraş otu kullanıcılarının ise Candida taşıyıcılığının benzer olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada sigara ve Maraş otu kullanıcılarında, oral Candida taşıyıcılığının kontrol grubunda yer alan bireylere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya konulmuştur (60). Kahramanmaraş'ta Özkul ve arkadaşlarının çalışmasında; Maraş otunun ve sigaranın alt dudak bukkal mukoza hücrelerinde mikronükleus (MN) düzeyine etkisini belirlemeye çalışılmıştır. Maraş otu kullanan, sigara içen ve tütün ürünü kullanmayan gruplar oluşturulmuş ve bukkal mukoza örnekleri alınarak MN frekansı belirlenmiştir. Maraş otu kullanıcılarında ve sigara içenlerde MN düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olarak tespit edilmiştir. Maraş otu kullanan ve sigara içenler arasında MN düzeyi açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (54). Yapılan başka bir çalışmada Maraş otu kullanan ve sağlıklı gönüllülerden alınan kan örneklerinde CD2, CD4, CD8, CD3, CD19 ve CD16-56 oranları değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda, MO kullananların CD4/CD8 oranlarının ortalamaları, CD19 ve CD4 değerlerinin ortalamaları kontrol grubuna nazaran önemli düzeyde düşük belirlenmişken, CD16-56 ve CD8 ortalamaları kontrol grubundan anlamlı oranda yüksek saptanmıştır. Maraş otu kullanımının hücrel immun yanıtı olumsuz yönde etkilediğini ve bu sebeple bireylerin enfeksiyonlara karşı daha hassas olduğunu belirtmişlerdir (51). Kahramanmaraş'ta bir çalışmada Maraş otu ve sigaranın humoral immun sistem parametrelerine (IgA, IgG, IgM, C3 ve C4) etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda Maraş otu kullanan kişilerden alınan kan örneklerinde humoral immun sistem parametrelerini negatif olarak etkilenmediğini gözlemlenmiştir (55). Kurtul ve arkadaşlarının Maraş otunun serum lipid peroksidasyon düzeyine etkisini belirlemek amacıyla Maraş otu kullanan ve kullanmayanlardan alınan kan örneklerinde lipid peroksidasyon ürünü olan serum malondialdehit (MDA) miktarını ölçmüşler. Maraş otu kullananlarda MDA düzeyinin kontrol grubuna göre önemli oranda yüksek olduğunu belirlemişler ve Maraş otunun lipid peroksidasyon düzeyini arttırdığını ortaya koymuşlardır (56). Güven ve arkadaşları; Maraş otu kullanıcısı, sigara içen ve kontrol grubunda yer alan sağlıklı bireylerin ventriküler repolarizasyon parametrelerini araştırmışlardır. Maraş otu kullananlarda ve sigara içenlerde sol ventrikül erken doluş zamanının, kontrol grubuna göre daha düşük, atrial doluş zamanı ve deselerasyon zamanının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. İzovolumetrik relaksasyon

zamanını Maraş otu kullanan ve sigara içen grupta kontrol grubuna göre daha yüksek olarak belirlemişlerdir. Maraş otunun en az sigara kadar zararlı olduğunu ve kardiovasküler sistem üzerine olumsuz etkileri olduğu tespit etmişlerdir (57). Köksal ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada; Maraş otu kullanan, sigara içen ve tütün ürünü kullanmayan bireylerde solunum fonksiyon testleri yaparak FVC, FEV1, FEV1/FVC, FEF 25-75 ve PEF değerlerini karşılaştırmışlar. FVC değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlemişler, FEV1, FEV1/FVC, FEF 25-75 ve PEF değerlerinde sigara ve Maraş otunu birlikte kullanan grup ve sigara kullanan grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark olduğunu tespit etmişlerdir. Maraş otu kullanan grup ile kontrol grubu arasında önemli bir farklılık tespit etmemişler. Maraş otunun kullanım sırasında solunmadığı için solunum yolları üzerine bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir (59). Maraş otu kullanımının hematolojik parametrelere etkisini araştıran bir çalışmada Maraş otu kullanıcısı ve Maraş otu kullanmayan sağlıklı bireyden alınan kan örnekleri incelenmiştir. Maraş otu kullananlarda demir ve lökosit seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek, monosit ve trombosit düzeylerinin ise daha düşük olduğunu belirlenmiştir. Maraş otunda bulunan nikotin ve tütüne spesifik nitrozamin düzeylerinin çeşitli hücre, organ ve sistemik dolaşımında kronik inflamatuvar değişikliklere neden olduğunu ifade etmişlerdir (58). Yapılan bir çalışmada Maraş otunun oksidatif stres üzerine etkisini araştırılmış, Maraş otunun oksidatif stresi yükselttiği saptanmış ve bu durumun arterioskleroz da dahil olmak üzere çeşitli sistemik hastalıklara önemli bir etken olabileceği ifade edilmiştir (61). Sucaklı ve arkadaşlarının Kahramanmaraş'ta yaptığı bir çalışmada; Maraş otu kullanımının Karotis İntima Media Kalınlığı (KİMK) üzerine etkileri incelenmiştir. Maraş otu kullananlar ile kullanmayan sağlıklı gönüllülerin KİMK ölçülmüş ve Maraş otu kullanan grupta KİMK'in anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışmada Maraş otu kullananlarda sistolik ve diastolik kan basıncı değerlerinin, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu ve Maraş otunun kan basıncı arttırıcı özelliği nedeniyle KİMK'i arttırdığı ifade edilmiştir (62).

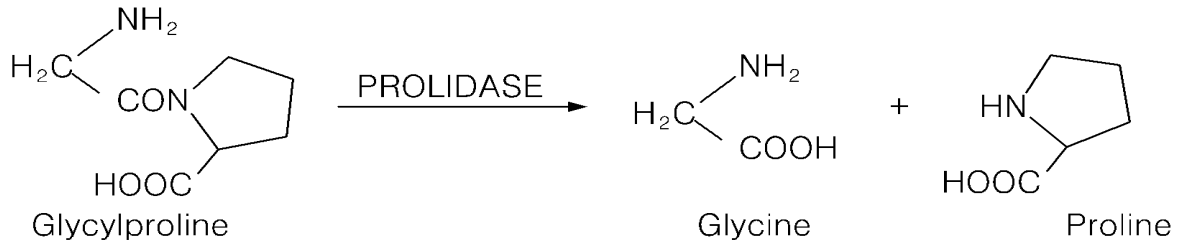
Kurtul ve arkadaşların yaptığı bir çalışmada Maraş otu kullanan, sigara içen ve her ikisini de kullanmayan sağlıklı bireylerden kan örnekleri alınmış ve serumda total siyalik asit (TSA) miktarları ölçülmüştür. Sigara içen ve Maraş otu kullanan gruplarda TSA miktarının, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Maraş otu kullananlar ile sigara içenler arasında TSA düzeylerinde anlamlı bir fark olmadığını tespit etmişlerdir. Ayrıca Maraş otu kullanımının serum TSA miktarını etkilediğini saptamışlardır (63). Sönmez Kahramanmaraş'ta yaptığı çalışmada Maraş otu kullanan, sigara içen ve tütün ürünleri

kullanmayan hastaların tiroid fonksiyonlarını değerlendirmiştir. Tiroid hormonları ve anti-tiroglobulin antikor seviyelerini gruplarda benzer olarak tespit edilmiştir. Ayrıca tiroid ultrasonun da total tiroid volümü Maraş otu kullananlarda, kontrol ve sigara içen gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Sağ lob lateral boyutu, sağ lob ön-arka boyutu ve sağ lob volümü Maraş otu kullananlar grubunda kontrol grubuna göre ve sigara içen gruba göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sağ lob vertikal boyutu ile sol lob boyutları ve sol lob volümünün gruplar arasında benzer olduğu ortaya konulmuştur (64). Cerit Kahramanmaraş'ta yaptığı çalışmasında Maraş otu kullanan, sigara içen ve tütün ürünü kullanmayan erkekleri böbrek fonksiyonlarını kontrol etmek için glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ve proteinüri açısından grupları karşılaştırmıştır. Maraş otu ve sigara kullanan gruplar, GFR değeri ve proteinüri açısından kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Maraş otu kullananlar ile sigara içenler arasında GFR ve proteinüri açısından anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Maraş otu kullanan bireylerin, sigara kullanan bireylerde olduğu gibi böbreklerde hiperfiltrasyon ve proteinüriye neden olarak böbrek hasarlanmasına sebep olabileceği belirtilmiştir (65).

2.3. Prolidaz

Fruton ile Bergman, tanınan dipeptidazlardan ayrı glisin-prolini hidrolize eden bir enzimi 1937 senesinde duyurdular (66). Tanımladıkları enzim Prolidaz olarak adlandırıldı ve çok sayıda memeli hayvan dokularında bulunduğu da tespit edildi. Prolidaz, karboksil terminal pozisyonda prolin veya hidroksiprolin taşıyan iminodipeptidlerin ve iminotripeptidlerin (X-Pro, X-Hidroksiprolin) peptid bağını hidrolize etmekte olan manganeze bağımlı metalloproteinazdır.

Prolidaz enzimi hücre içerisinde prolin, prokollojen, kollojen ve prolin veya hidroksiprolin taşıyan dipeptidlerin yıkımlarında görev alır (Şekil-1).



Şekil 1. Glycylproline Dipeptid katabolizması (78).

Kollajen bilhassa bağ dokuda bulunmakla birlikte biręok dokuda fazla oranda bulunabilmektedir. Prolidaz, Kollajen yapım ve yıkımında, yeni matriks oluşumunda ve hücre büyümesinde önemli etkiye sahiptir. Prolidaz aktivitesinde meydana gelen değişimler, kanserlerde ve fibrozis ile karakterize biręok olguda faydalı bir belirteç olabileceği düşünölmektedir. Kollajeni oluşturan amino asitlerin çoğu prolin ve hidroksprolinden meydana gelir. Kollajen esansiyel prolin rezervuarıdır. Hem prolidazın hem de kollajenin geniş doku dağılımı, bu enzimin ęok sayıda klinik olguyla ilişkisinin olabileceğini akla getirmiştir. Prolidaz enzim aktivitesinin ölçölmesi için sıklıkla Chinard tarafından tanımlanan Ninhidrin reaksiyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu reaksiyon daha sonra Myara ve ark. tarafından kısmi değişikliklere uğratarak optimize edilmiştir. Bu yöntemde, Enzim, $MnCl^{+2}$ ile 2 saat pre-inkübasyon yapılarak aktive edilir (1. aşama), Gly-Pro substratı ile ($K_m = 2.9$ mM) 30 dakika inkübe edilir (2. aşama), Ağığa ęıkan prolin miktarı ölçölerek (Ninhidrin reaksiyon) enzim aktivitesi hesaplanır (3. aşama) Prolidaz aktivitesi, serum, plazma, eritrosit ve lökositlerde, amniyon sıvısında intestinal mukoza, böbrek, karaciğer, beyin, kalp, uterus ve timus gibi ęeşitli dokularda gösterilmiştir. Prolidaz enzimi (EC: 3.4.3.7, İminodipeptidaz), C terminalinde prolin veya hidroksprolin bulunan iminodipeptidleri yıkan enzimdir. Bu dipeptidler, canlıda kollajen yıkımı sonucu ortaya ęıkar. Kollajen, birbiri ardınca geręekleşen zincirleme reaksiyonla, iminodipeptidlere daha sonra da serbest aminoasitlere ayrılır. Bu aminoasitler, genel sistemik aminoasit havuzuna katılmazlar ve yeniden kollajen yapımına katılır. Prolin ve hidroksprolinin her biri kollajendeki amino asitlerin %10' unu oluşturur. Ancak hidroksprolin kollajen sentezine katılmadığından ve polipeptid zincirinin posttranslasyonel modifikasyonu sonucu prolinin hidrokstillenmesiyle ortaya ęıktıęından dolayı, kollajendeki amino asitlerin %20' sini prolinin oluşturduğu bilinmektedir (67). Prolidaz aktivitesi çoğu dokuda görülür. Bunlar arasında incebarsak mukozası, uterus, beyin, kas dokusu, eritrosit ve serum sayılabilir. Bağırsak mukozasında protein sindiriminde görev yapar. Çevresel dokularda bulunan sitozolik prolidaz enzimi, C terminalinde prolin veya hidroksprolin içeren dipeptitleri ayırma işlevi görür. Normal serum prolidaz değeri 1000 Ü/L'nin altındadır. 1500 Ü/L'yi geçen oranlara kronik karaciğer hastalıklarında rastlanmaktadır. Kemik hastalıklarında, hiçbir zaman yüksek prolidaz değerine rastlanmamıştır (68). Oono ve ark. kronik yara iyileşmesinde prolidaz enzim değerininin yaradan alınan sıvı örneklerinde ve blister oluşun hastalıklarda blister içi sıvı numunelerinde arttığını bildirmişlerdir.

2.3.1. Prolidazın Tanımı

Prolidaz hidrolazlar sınıfına ait, Mn^{+2} ile aktive olan bir metalloenzimdir (69, 70). Hidrolazlar farklı bağların hidrolizini kataliz ederler. Bu bağlar; C-O, C-N, C-C ve fosforik anhidrit bağını da içeren çeşitli bağlardır. Prolidaz enzimi karboksil terminal pozisyondaki prolin veya hidroksiprolin bulunduran dipeptitlerin hidrolizini katalizler. Prolidaz, domuz intestinal mukoza artıklarında aminopeptidaz ve karboksipeptidaz aktivitelerinin araştırılması sırasında keşfedilmiştir. Prolidaz, bir alt grup olarak saflaştırılmış, domuz böbreği ve domuz, sığır ince bağırsağından elde edilmiştir. 1937 yılında Bergmann ve Fruton glisil-prolin'i önceden bilinmekte olan peptidazlardan ayrı, intestinal mukozal bir enzimin hidroliz ettiğini belirlemişlerdir. Enzim 70 yıl önce keşfedilmiş olsa da değeri 35 yıl önce eksikliğinin neden olabileceği durumların araştırıldığı bazı çalışmalar sonucu ortaya konmuştur (71, 72, 73).

2.3.2. Prolidazın Yapısı

Prolidaz enzimi çok sayıda memeli canlı dokularında ve mikroorganizmalarda dağılışı gösterir. Doğal, sitoplazmik, homodimerik bir metallo enzimdir. Mn^{+2} prolidaz enzimi aktivitesini 5-10 kat arttırmaktadır. Mn^{+2} 'a ek olarak enzimin en yüksek aktivitesi için aktif merkezinde arjinin ve anyonik amino asit artıklarının olması gereklidir (74). Proteazlar hep monomer yapısında olmasına karşın tüm prolidazlar dimer yapı gösterirler ve sadece bu yapıda katalitik aktivite gösterirler (75). Prolidaz glikoprotein yapısındadır ve ağırlık olarak %5 karbonhidrat içermektedir. Prolidazın saptanan sekonder yapısında α -heliks (%33), β -tabakalı (%41) ve potansiyel beta bağlantı bölgelerine eşit oranda dağılmış hidrofobik ve hidrofilik alanlar bulunmaktadır. Enzimin primer sırası bilinen proteinlere benzemez fakat bazı sıraları (%29'dan fazlası) F1-ATP az'ın α ve β subünitelerinin sırasına benzerlik göstermektedir (74) (76). Prolidaz enziminin aktif merkezinde tiyol grubu bulunur ve bu grup bloke edilirse aktivite azalır. Bu durum sistemin enzimin aktivitesi için şart olduğunu ortaya çıkarır. Doğal enzim için optimum pH: 7,6-7,8'dir ve izoelektirik nokta pH: 4,4 - 4,5 olarak belirlenmiş olup bu değer yapıdaki asidik amino asitlerin varlığını belirtmektedir (74). Enzimin karakteristik özelliği incelendiğinde Dietilaminetil (DEAE), selüloz dizi kromatografisinde prolidazın iki pik yaptığı görülür. Bai Hu 1992 yılında yaptığı çalışmada prolidazda her monomer için iki aktif bölge var olduğunu belirlemiş ve enzimin duruma bağlı olarak bu iki aktif bölgenin substrat spesifikliğı ve Mn^{+2} ile preinkübasyon ortamındaki aktivasyon bakımından da farklılık gösterebileceğini tespit etmiştir (75).

2.3.3. İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve Gen Lokalizasyonu

Prolidaz geni simgesi PEPD'dir ve insanda 19 numaralı kromozomun kısa kolunda yer almaktadır (19p 13,2 bölgesi). İnsan cDNA 'sı 1482 baz çiftinin okunmasıyla oluşur bu da 493 amino aside karşılık gelmektedir (76). Enzimin komplementer DNA kopyaları insan karaciğer dokusu ve prenatal cDNA bankalarından elde edilmiştir. Prolidazın nükleotit dizilimi belirlenmiştir. Enzim amino asit olarak X-Ala-Ala-Ala sırası ile başlamaktadır (77). Prolidaz geni (PEPD) polimorfik allelleri içerir, bu aktiviteyi engellemez ve nadir alleller prolidaz eksikliğine neden olmaktadır (74). Amino asit sırasının saptanması ve gen lokalizasyonu, enzim yetersizliğinde görülen kalıtsal hastalığın temelini açıklığa kavuşturulması bakımından öneme sahiptir. Prolidazın genomik sırası oldukça geniştir. En az 130 KB ve 15 ekson ihtiva etmektedir. Ekson intron bağlantılarında yer alan bütün konformasyonlar GT/AG kuralına uyar. Kodlama sırası genomik sıranın %2 'sinden oluşur (74).

2.3.4. Prolidazın İzoenzimleri

Dietilaminoetil selüloz dizi kromatografisi (DEAE) ile deri fibroblast kültürüleri ve sağlıklı insan alyuvarlarından izole edilen prolidazın 2 farklı tipinin bulunduğu görülmüştür (78).

Bunlar prolidaz I ve prolidaz II ismiyle adlandırılmıştır. Her iki izoenzim substrat spesifitesi ile bazı kimyasal özellikler açısından çeşitlilik gösterirler (79). Bu iki izoenzimi ilk izole eden Butterworth ve Priestman olmuştur (1985). Sonra Myara ve arkadaşları 1987 ve 1989 yılında (80, 81), 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 (56 kDa) tespit edilmiştir (79).

Prolidaz II'nin ise molekül ağırlığının 185 kDa olduğu ve birbirine eş iki subüniteden (95 kDa) oluştuğu belirlenmiştir (82, 83). Prolidaz I tüm insan dokularında bulunur. Yapılmış olan çalışmalarda prolidaz I'in bütün iminodipeptitlerle reaksiyona girsede gly-prodi peptiti ile reaksiyona girmeye istekli olduğu görülmüştür. Cosson ve arkadaşları 1992'de prolidaz II'nin gly-prodi peptidine karşı düşük bir aktivite gösterdiğini ve bu izoenzimin plazmada bulunmadığını kaydederek preinkübasyonun uzaması ile aktivitenin önemli ölçüde düştüğünü

göstermişlerdir. Prolidaz II'nin en yüksek aktiviteyi gly-pro yerine met-pro'ya karşı gösterdiği 26 saptanmıştır (79). Prolidaz I'i in vitro tespit etmek için optimum şartlar; 1Mm $MnCl^{+2}$ konsantrasyonunda 24 saat 37 C° 'de preinkübasyon olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Mn^{+2} konsantrasyonunun yükseltileceği zamanın azaltılabileceğini ya da yüksek preinkübasyon ısı, düşük $MnCl^{+2}$ konsantrasyonu ve düşük preinkübasyon zamanı kullanılabileceği kaydedilmiştir (84). Cosson ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda prolidaz I ve prolidaz II'yi kromatografik olarak ayırdıktan sonra izoenzimlerin farklı doku dağılımları gösterdiklerini bulmuşlardır (79). Araştırmacılar karaciğer kaynaklı prolidaz II'nin karaciğerde inhibe edildiğini saptamışlardır. Bu inhibisyona ise plazma proteinlerinin sebep olduğunu belirtmişlerdir. Haptoglobulin, $\alpha 2$ makroglobulin ve $\alpha 1$ 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 (79, 84).

	Prolidaz I (%)	Prolidaz II (%)
Karaciğer	<u>53</u>	<u>47</u>
Böbrek	<u>62</u>	<u>38</u>
İleum	<u>53</u>	<u>47</u>
Jejenum	<u>53</u>	<u>47</u>
Duodenum	<u>42</u>	<u>58</u>
Pankreas	<u>22</u>	<u>78</u>
Mide	<u>42</u>	<u>58</u>
Dalak	<u>52</u>	<u>48</u>
Beyin	<u>36</u>	<u>64</u>
Beyincik	<u>44</u>	<u>56</u>

Tablo 1. İnsan Prolidaz I ve Prolidaz II İzoenzimlerinin Doku Dağılımları (93).

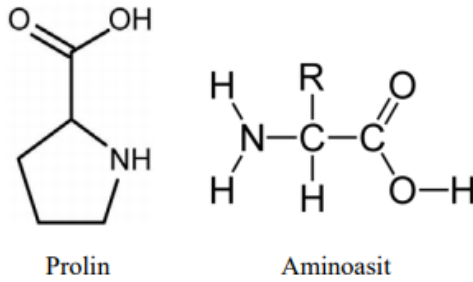
2.3.5. Prolidaz İnhibitörleri ve Aktivatörleri

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 baskıladığı belirlenmiştir. Ortalama 0,001-0,0004 M aralığındaki konsantrasyonlarda glutatyon kullanıldığı zaman optimal stabilizasyon ve aktivite sağlandığı ancak glutatyonun yüksek konsantrasyonunun inhibisyona sebep olduğu 27 bulunmuştur. Aynı araştırmacılar iyodoasetamin ve p-kloromerküri benzoatın da enzimi inhibe ettiğine değinmişlerdir (72).

Prolidazın substrat analogu olan asetilprolin ve trans-1,2 siklo penta dikarboksilik asit tarafından kompetatif inhibisyonunda K₁'in pH'ına bağlı olarak izledikleri yolu araştırdıklarında enzimin fonksiyonel grubu ile substratın pK_a: 6,6' da bağlandığını bununla birlikte bu maddelerin inhibisyonunun farklı yollar izlediğini görmüşlerdir (17).

2.4. Prolin

Prolin ve hidroksprolin prolidino halkasındaki azot atomuna bir hidrojen atomunun girmesi ile oluşmaktadır. Bunlar genelde iminoasit ismiyle adlandırılır. Amino asitlerin iminoasitler sınıfında yer alan esansiyel olmayan glutamatın halka yapısındaki bir türevidir. 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. Prolin ve diğer bir amino asidin yapısal görünümü Şekil 2' de gösterilmiştir.



Şekil 2. Prolin ve Diğer Bir Amino Asidin Yapısal Görünümü (93).

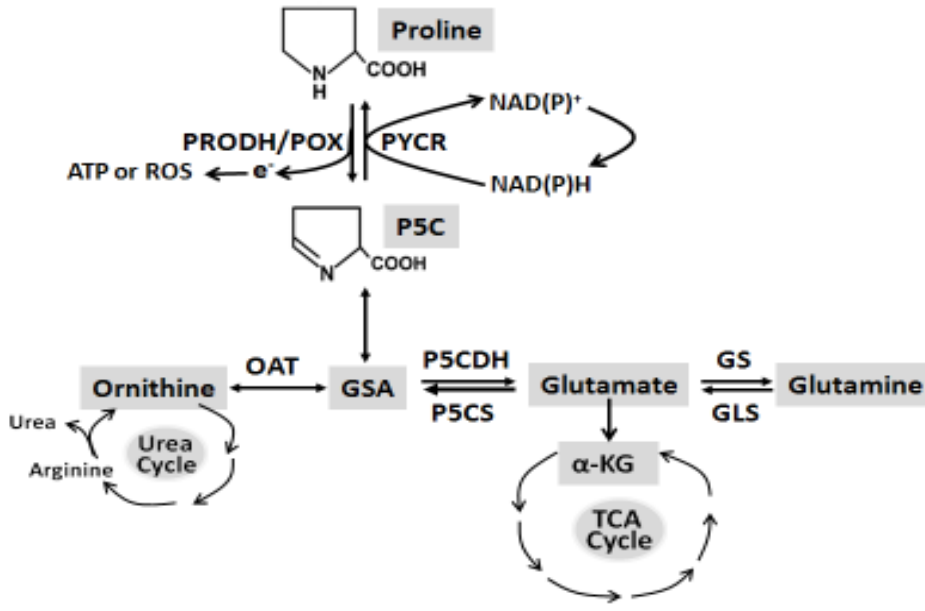
2.4.1. Prolinin Yapısal Özellikleri

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 28 arasındaki sterik 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 globüler Őeklinden dolayı 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 bağı rezonans stabilizasyonuna katılmayı engeller. Bu nedenle prolin α heliks veya β tabakalı sekonder yapılarıyla uyumlu olmayan tek amino asittir. Ancak prolin multiple prolin amino asidinin bir protein içinde birikimli olduğu zaman sol eli bir helikal yapı ortaya koyar. Bu çok yaygın bir durum olmasına rağmen bovin pankreas tripsin inhibitöründe 5-7 amino asitleri 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 (85).

2.4.2. Prolinin Biyolojik Önemi

Kollojen yapısında yer alan en önemli amino asitler prolin ve hidroksprolindir. Hidroksprolin hidrojen yapım ve yıkım reaksiyonlarında oluşur. Prolinin oynamış olduğu bir anahtar fizyolojik rol, biyolojik olarak aktif peptidlerin enzimatik degradasyona karşı korunmalarını sağlamaktır. Bu durum peptid veya protein prekürsörlerinin post translasyonel modifikasyonlarının regülasyonunda açık şekilde görülmektedir. Polipeptid zincirlerin içinde yerleşik olan prolin amino asitler polipeptid zincirin hassasiyetini proteolizle 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 (86, 87). Bununla birlikte Prolin krebs ve üre döngüleriyle metabolik olarak ilişkilidir. Prolin-5-karboksilik asit prolin metabolizmasında iki döngüyü birbirine bağlayan bir pozisyonadadır. Prolinin karbon zincirinden krebs döngüsüne geçişi tüm dokularda bilinen klasik yoldan 2-okso-glutarik asit metabolizması ile olur (88). Prolin Krebs ve üre döngüleriyle metabolik bağlantısı ile ilgili şekil 3' te aşağıda gösterilmiştir:



Şekil 3. Prolin Krebs ve Üre Döngüleriyle Metabolik Bağlantısı (70).

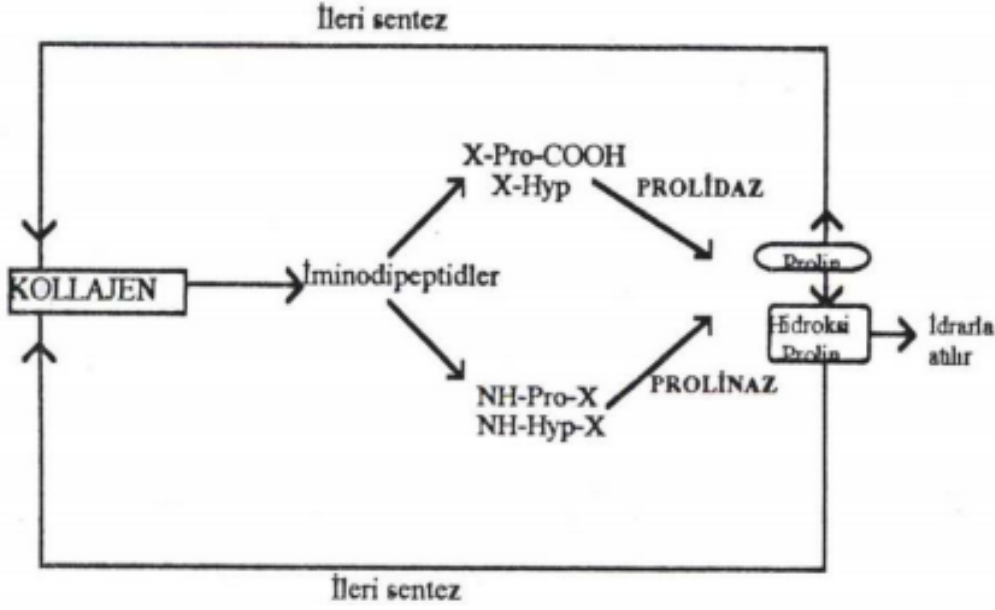
2.5. Kollajen

Kollojen yapısında her beş amino asitten biri prolin veya hidroksiprolin bulunan önemli bir destek proteindir. Kemik, diş, tendon, deri, damarlar gibi birçok dokuda yer almaktadır. Kollajenin primer yapısı polipeptid zincirindeki her üç pozisyondan birinde en küçük amino asit olan glisin bulunması bakımından farklıdır. Glisin heliks yapıdaki kollajenin üç zincirinin bir arada olduğu kısıtlı alana sığabilir. Glisin kalıntıları, Gly-X-Y olarak tekrarlayan X'in yaygın olarak prolin olduğu ve Y'nin genellikle hidroksiprolin ya da hidroksilizin bulunduğu sistemin elemanıdır. İnsan vücudunda bulunan önemli birçok dokunun bileşiminde bulunan kollajenin döngüsünde prolidaz spesifik bir enzim olmasından dolayı değeri fazladır. Kollajenin yıkımında ve prolinin kollojen yapımı döngüsüne tekrar katılımlında prolidaz etkin rol almaktadır.

2.5.1. Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımında Önemi

Kollajenler, hayvansal bağ dokunun temel yapıtaşı olup insan vücudunda en fazla bulunan proteinlerdir. Bağ doku iskeletinin yapısını oluşturan kollajen, enflamasyon ve yara iyileşmesinde temel role sahiptir. Kollajenin aminoasit kompozisyonu %33 glisin, %20 – 25 prolin ve hidroksiprolin, %5 – 11 lizin ve hidroksilizinden oluşur. Farklı genler tarafından kodlanan en az 15 tip kollajen vardır. Tip I, II, III, V ve XI fibriller kollajen olarak isimlendirilir. Kollajenler birçok dokuda fibroblastlarca sentezlenirler. Ribozomlarda

preprokollojen olarak başlayan sentez sitozolde prokollajen şeklinde devam eder ve hücre dışı alanda tropokollajen ve kollajen oluşumu şeklinde sonlanır. Kollajen molekülleri alfa zincirleri adı verilen, birbiri etrafında üçlü heliks şeklinde dolanarak ipe benzer oluşum meydana getiren üç polipeptitten meydana gelir. Polipeptit yapılarının her üç pozisyonundan birisinde en küçük aminoasit olan glisin yer almaktadır. Glisin heliksin üç zincirinin bir araya geldiği kısıtlı alana sığmaktadır. Glisin kalıntıları, Gly-X-Y olarak tekrarlayan, X'in genelde prolin ve Y'nin hidroksiprolin veya hidroksilizin olan zincir şeklindeki yapının bir üyesidir. Kollajen diğer pekçok proteinde olmayan hidroksiprolin ve hidroksilizin ihtiva eder. Hidroksiprolin kollojenin üçlü heliks yapısının dayanıklılığını sağlamada önemlidir. Kollojenin yarı ömrü 50 - 300 gündür. Bu ömür; gelişme, büyüme, doku yapımı ve yara iyileşmesi gibi durumlarda uzar. Kollojenlerin yıkımı genellikle nötral pH'da aktif olan birçok matriks metallo proteinazlarının (kollajenazlar) sinerjistik etkileşiminin bir sonucudur. Bununla birlikte jelatinaz, stromelizinler, polimorf elastaz ve katepsin gibi nonspesifik proteinazlar da bu yıkıma katılırlar. Kollajenazlar; fibroblast, kondrosit, osteoblast ve endotelial hücrelerden latent proenzim formunda salınırlar ve plazminle aktivasyonu takiben çapraz bağlı kollajeni parçalayarak dipeptitlere ayrıştırırlar. Bu dipeptitler de prolidaz, prolinaz ve diğer dipeptidazlar tarafından serbest aminoasitlere parçalanırlar. Prolidazın tüm biyolojik görevinin prolin döngüsüyle birlikte kollajen dejenerasyon mamülleri ile diğer Xaa-Pro dipeptitlerin metabolizması olduğu düşünülmektedir. Prolidaz, C-terminalinde aminoasidi prolin ya da hidroksiprolin olan dipeptitlerin hücre içinde hidroliz eder. Prolin tekrar döngüye girer ve yeni proteinsentezinde kullanılır, hidroksiprolin idrar yoluyla uzaklaştırılmaktadır (69, 85). Kollajen bileşimindeki aminoasitlerin takriben %25 lik kısmını prolin ve hidroksiprolin meydana getirdiğinden, prolidaz kollajen katalizinde önemli görev yapmaktadır (89). Prolidaz, hücrede protein yıkımının son aşamasında, genellikle aşırı oranda prolin bulunduran prekollajenin katalizinde görev yapmaktadır (79, 89).



Şekil 4. Kollajen Yıkımında Prolidaz ve Prolinazın Yeri (90)

Enzim açısından substrat kaynağı kollajen iken iminopeptidler kollajenin katalizinin son aşanasında oluşmaktadır. Prolidaz, besinlerle alınan proteinler ve vücutta bulunan depolanmış kollajenden iminoasitlerin tekrar absorbe edilmesinde kıymetli iş yapmaktadır (90). Prolidaz, C-ucunda prolin ya da hidroksiprolinin imino azotunu bulunduran peptid bağı taşıyan bileşiklerin hızla hidrolizini katalizleyen tek enzim olduğundan spesifitesi fazladır (75). Prolidaz eksikliği prolinin normal döngüsünde bozulmaya yol açmaktadır. Prolidaz eksikliğinde oldukça fazla miktar hidroksiprolin üre olarak idrar yoluyla dışarı atılır. Prolidaz enzim aktivitesi eritrosit, lökosit ve fibroblastlarda oldukça azdır. Etkilenen hasta bireylerde prolidaz enzim aktivitesi saptanamaz. İminopeptidüri, aynı zamanda raşitizm, hiperparatiroidizm ve paget hastalığı gibi durumlarda da tanımlanır. Fakat İminopeptidüri prolidaz eksikliğinde çok daha yüksektir. Prolidaz eksikliği cilt ve diğer kollajen dokularda anormalliklerle karakterize bir sendroma yol açar. Bu az görülen genetik prolidaz eksikliği otozomal çekinik olarak aktarılmaktadır. Prolidaz geni başka bir kalıtsal hastalık olan miyotonik distrofi ile bağlantılı olması bakımından öneme sahiptir. Prolidaz enzimi çok eskiden beri bilinmesinde önemi, son yıllarda eksikliği ile ilgili yapılan çalışmalar sonucu daha net ortaya çıkarılmıştır (92, 93). Buna bağlı olarak bu konu ile ilgili çok az araştırma yapılmıştır. Yapılmış olan çalışmalar büyük oranda eritrosit prolidazı hakkında olduğundan serum prolidazı ile ilgili fazla bilgi bulunmamaktadır.

Genetik geçişli Prolidaz enzim eksikliği durumlarında zeka geriliği, yineleyen enfeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun meydana geldiği bildirilmektedir (91, 94). Prolidaz eksikliği olan kişilerde prolidaz I aktivitesinin derifibroblast kültüründe ve kan hücrelerinde azaldığı da gösterilmiştir (95). Fetüsün gelişimi esnasında kollojen turnoverinin yüksek olacağı dşnlmektedir. Dismatr bebeklerde prolidaz aktivitesi (amniyotik sıvıda) anlamlı ölçüde düşük tespit edilmiştir. Bu nedenle prolidaz aktivitesinin fetal matürasyonun ölçüsünü belirttiği bilinmektedir. Amniyotik sıvıda belirlenen prolidaz aktivitesinin fetal matürasyonun ve gelişme geriliğinin bir belirteci olarak kullanılmasının mümkün olabileceği iddia edilmektedir. Ayrıca kollajen metabolizmasında bozuklukla seyreden silikoziz hastalığının tedavisinde deprolidaz enziminin kullanılması hedeflenmektedir. Böylece hızla kollajen yıkımı ile seyreden silikozis hastalarında prolidaz enzim aktivitesinin artırılması tedavide faydalı bir yaklaşım olarak dşnlmektedir (96, 97).

3.MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulu onayı alınarak, Kahramanmaraş Devlet Hastanesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışma; Şubat 2017 – Ekim 2017 tarihleri arasında Kahramanmaraş ilinde yaşayan Maraş otu kullanan 42 ve kullanmayan 32 erkek bireylerde yapıldı. Kontrol grubunu sigara ve Maraş otu kullanmayan sağlıklı bireyler oluşturdu. Tüm katılan paydaşlara çalışma ve yapılacak işlem hakkında bilgi verildikten sonra kan alınabilmesi amacıyla onayları alındı. Çalışma için oluşturulan gruplar bir hastalık semptomu taşımayan, herhangi bir ilaç veya preparat almamış kişiler arasından belirlendi.

3.1. Örneklerin Hazırlaması

Aranan kriterlere uygun bireyler arasından seçilerek çalışmaya dahil edilen tüm kişilerin venöz kanları jelli tüplere alındı. Pıhtılaşması için 30 dakika bekletildikten sonra 4000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve serumlar ayrıldı. Serumlar ayrı ayrı kime ait oldukları kayıt edilerek muhafaza edilecek tüplere koyuldu. Serum örnekleri analiz edilinceye kadar – 20 °C’de saklandı.

3.2. Metotlar ve Kullanılan Cihazlar:



Fotograf 5. Numune Pipetlemesi



Fotograf 6. Numunenin Kodelere Alınması



Fotograf 7. Numunelerin Santrifüj Aşaması

3.3. PROLİDAZ YÖNTEMİ

1- Prolin standartı: 0,15 milimolar hazırlanmalıdır. 15 günde bir yeniden hazırlanır. Önce 1 milimolar hazırlanıp seyreltme yapılır. 1 milimolar için: 0.012 gr prolin 100 ml suda çözülür.

2- Ninhidrin solüsyonunun hazırlanması;

a) 6 molar ortofosforik asit alınır. Bunun için %85' lik ortofosforik asitden 44,77 ml alınıp distile su ile 110 ml'ye tamamlanır.

b) 6 hacim glasiyel asetik asit 4 hacim 6 molar a solüsyonu karıştırılır.

c) 2,5 gr ninhidrin 100 ml b solüsyonu içinde eritilir. Manyetik karıştırıcıda ısıtılarak eritilir. Uzun süre dolapta saklanabilir.

3- Substrat çözeltisinin hazırlanması: Az hacimlerde hazırlanmalıdır.

100 milimolar pH: 8 olacak şekilde hazırlanmalıdır. Substrat glisil-prolin dipeptididir. Substrat -8 C° de, çözeltisi +4 C° de saklanmalıdır. pH' ı ayarlamak için NaOH kullanılır. 2,5 N' lik NaOH'den yaklaşık 0,2 ml çözelti için yeterli olmaktadır. Toplam hacim 25 ml olmalıdır.

4- Mangan klorür: 2,5 milimolar konsantrasyonda olacak şekilde distile su ile hazırlanır.

5- Tampon: Trizma HCl 100 milimolarlık pH:8'e ayarlanır.

6- TCA: % 20' lik 20 gr TCA 100 ml suda çözülür.

3.4. SERUM PROLİDAZ DENEYİ

1. Aşama Preinkübasyon;

2ml 2,5 mmolar $MnCl^{+2}$, 1,9 ml tampon, 100µl serum 1/40 sulandırılmış bu karışım iyice vortekslenip ağzı kapalı bir şekilde 37 °C da 2 saat preinkübe edildi.

2. Aşama İnkübasyon;

0 zaman ve inkübasyon zaman tüplere Tampon çözeliden 400 µl, subsrattan 300 µl, Distilede sudan 200 µl, ve preinkübe edilmiş örnekten 100 µl eklendi İnkübasyon tüplerinin ağzı iyice kapatılıp, vortekslendi ve 30 dakika 37 °C da benmaride inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda inkübasyon tüplerine 500 µl TCA ilave edildi ve reaksiyon durduruldu. Daha sonra 0 zaman ve inkübasyon tüplerinin her ikisinde 5 dakika 2000 rpm'de santrifüj edildi. Oluşan süpernatant prolin ölçümü için kullanılır.

3. Aşama Prolinin spektrofotometrik ölçümü:

Bu tüpler ağzı kapatılarak vortekslendi, 20 dakika kaynar su banyosunda tutuldu. Bu zaman sonunda tüpler buzlu su banyosunda soğutulularak spektrofotometrede köre karşı 515 nm’de ölçüm yapıldı.

Ayrıraçlar	Kör	Standart	0 zaman	İnkübasyon
Glasiyel asetik asit	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
Süpernatan	-	-	1 ml	1 ml
Standart	-	1 ml	-	-
Distile su	1ml	-	-	-
Ninhidrin	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Tablo 2. Prolinin spektrofotometrik ölçüm standartları

3.5. Çalışma Grupları

Çalışmada kullanılacak kan örneklerinin toplanması sırasında, Maraş otunun kadınlar arasında daha az erkekler arasında ise oldukça yaygın kullanılması nedeniyle gruplar erkek bireylerden oluşturuldu. Maraş otu kullanım şekli, süresi ve sıklığı ile miktarı paket/yıl olarak kayıt edildi.

Çalışma grupları:

Grup 1. (Maraş Otu İçen): Sigara kullanmayan ve en az 5 yıl günde 1 paket (yaklaşık 16 gr) Maraş otu kullanan 42 erkek bireyler.

Grup 2. (Kontrol): Sigara ve Maraş otu kullanım öyküsü olmayan 32 erkek bireyler.

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin İstatistiksel değerlendirmesinde değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi. Kontrol ve çalışma gruplarının normal dağılıma uygun olmadığı belirlendi ($p>0,786$ ve $p>0,567$). Bu nedenle gruplar arasındaki anlamlılığın araştırılmasında Mann Whitney-U testi uygulandı. Bu test sonucuna göre gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu gözlemlendi, ($p<0,001$). Plazma Prolidaz seviyeleri Maraş otu kullananlarda ortalama ve standart hata düzeyleri $3439,14\pm233,27$ U/L kullanmayanlarda ise $2235,75\pm169,57$ olarak tespit edildi.



4.BULGULAR:

Çalışmaya maraş otu kullanan 42 ve kullanmayan 32 sağlıklı gönüllü alındı. Çalışmada kullanılan grubun yaş ortalaması $38,5\pm 5,1$ yıl, kontrol grubunun yaş ortalaması ise $36,5\pm 5,5$ yıl idi. Bu gruplardan alınan venöz kan plazma örneklerinde Prolidaz düzeyleri modifiye Chinard tekniği kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Elde edilen veriler uygun oldukları için t testi kullanılarak karşılaştırıldı. Çalışma sonunda İstatistiksel analizler SPSS 11,5 istatistik programı ile değerlendirildi. $P<0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

	Maraş oto kullanan	Maraş otu kullanmayan (Kontrol)	p değeri
Prolidaz enzim düzeyi (U/L)	*3439,14±233,27 (1062,00-6528,00)	*2235,75±169,57 (570,00-3558,00)	P<0,001
*Ortalama ±standart hata, (en küçük-en büyük değerler)			

Tablo 3: Maraş otu kullanan ve kullanmayanlara ait Prolidaz enzim düzeyi sonuçları

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		VAR00001	VAR00004
N		32	42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2235,7500	3439,1429
	Std. Deviation	959,20824	1511,73240

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

5. TARTIŞMA

Kollojen ciltte, kemiklerde ve vücuttaki bağ dokusunda bulunmaktadır ve yapısal destek, mukavemet ve elastin derecesi sağlamaktadır (elastin ile kombinasyon halinde). Özellikle, kollajenler, vücut dokularının fiziksel özelliklerini belirleyen karmaşık bir makromoleküller ağı olan hücre dışı matriste bulunur. Cildin orta katmanında (dermis) kollajen, üzerine yeni hücrelerin büyüyebileceği bir elyaf ağı oluşturmaya yardımcı olur. Ölü cilt hücrelerinin yenilenmesi ve restorasyonu için kollajen de gereklidir. Bazı kollajenler vücuttaki böbreker gibi narin organlar için koruyucu örtüler olarak da işlev görürler. Kollajen çeşitli hücreler tarafından salgılanır, ancak öncelikle bağ dokusu hücreleri tarafından salgılanır. Kollajen sentezi 40 yaş civarında azalmaya başlar ve kadınlarda menopozdan sonra kollajen sentezinde dramatik bir düşüş görülür. 60 yaşına gelindiğinde tipik olarak kollajen üretiminde belirgin bir düşüş olur. Azalan kollajen sentezi, cildin yapısal bütünlüğünü azaltır ve sarkma, ciltte çizgi ve kırışıklık oluşumu ve eklemlerdeki kıkırdağın zayıflamasına yol açar. Diğer birçok organik molekül gibi kollajen de hücre içerisinde sentezlenmektedir. Fakat bu büyük protein, sentezlendikten sonra birçok aşamadan geçerek oldukça değişir. Kollajen sentezlenmesinin ardından lif, ağ veya ne amaçla kullanılacaksa ona göre yeniden komfirme edilir. Fazla kısımlar kesilir ve zincir yeniden şekillendirilir. Yine zincirler arası aktivasyonu artırmak amacıyla birtakım eklemeler de gerçekleştirilir. Kollajen, mekanik açıdan bilinen en mukavemetli biyolojik molekülden birtanesidir. Sahip olduğu dayanıklılık yapısal organizasyonundan kaynaklanmaktadır. Kollajen zincirleri arasında kollajene has spesifik çapraz bağlar bulunmaktadır. Bu bağlar dayanıklılığın kaynağıdır. Topuk arkasında bulunan aşıl tendonunda olduğu gibi, gerilmeye karşı dirençli olan kollajen liflerinde zincirler arası çapraz bağ sayısı oldukça fazladır. Vücutta yer alan birçok önemli dokunun bileşiminde bulunan kollajenin döngüsünde prolidaz özel bir enzim olduğu için çok önemlidir. Kollajenin katalizi ile prolinin kollojen üretimi döngüsüne tekrar dahil olmasında prolidaz aktif görev almaktadır.

Prolidaz, C-terminalinde prolin ve hidroksiprolin bulunan, kollajenin hücre içi ve hücre dışı yıkımı sonucu üretilen, imidodipeptitleri yıkan sitozolik bir enzimdir. Bu dipeptidler, organizmada kollajen yıkımı sırasında oluşur. Kollajen, tekrarlayan birkaç reaksiyonla, iminodipeptidlere ve bunlar da serbest aminoasitlere ayrışır. Bu aminoasitler, genel sistemik aminoasit havuzuna katılmadan tekrar kollajen yapımına girer. Prolidaz enzimi kollajen dönüşümü ve hücre sel büyüme açısından çok büyük öneme sahiptir (99). Yanı sıra prolidaz enziminin kollajen biyosentezinin düzenlenmesinde sınırlayıcı bir etkem olduğu

tahmin edilmektedir (100). Prolidaz yetersizliği, kollagen yıkımı sırasında açığa çıkan iminodipeplidlerin yıkılamaması ve birikmesi ile eklem anomalileri, dermatit, deri ülserleri, iskelet ve tendon anomalileri, splenomegali ve infeksiyonlarda sıklık ile belirlenen bir hastalığa neden olmaktadır. Otosomal resesif geçişlidir. Prolidaz enzimi aktivitesi çoğu dokuda görülür. Örneğin bağırsak mukozasında protein sindiriminde görev alır. Normal serum prolidaz değereri 1000 Ü/L'nin altındadır. 1500 Ü/L'yi aşan değerler kronik karaciğer hastalıklarında görülür. Oono ve ark. kronik yara iyileşmesinde prolidaz enzim değerininin yaradan alınan sıvı örneklerinde ve blister oluşan hastalıklarda blister içi sıvı örneklerinde arttığını bildirmişlerdir (101).

Ülkemizin Şanlıurfa, Gaziantep ve Adıyaman gibi güney illeri ile birlikte İlimiz Kahramanmaraş'ta da bir dumansız tütün formu olan "Maraş otu" çoğu kişi tarafından sıklıkla sigaraya alternatif olarak veya sigarayı bırakma amaçlı kullanılmaktadır. Maraş otu genellikle sigaraya alternatif ya da sigarayı bırakma amacıyla kullanılmakta olan bir dumansız tütün formu olup, insan sağlığı üzerine birçok olumsuz etkisinin bulunduğu belirlenmiştir. Maraş otu kullanımının sigara gibi bağımlılık yapıcı etkisi olduğu bilinmektedir. Sigarada bulunan kanser ve mutasyona yol açabilecek çok sayıda zararlı katkı maddesi değişik miktarlarda dumansız tütün ürününde de bulunmaktadır (37,38,39,40) ve yol açtıkları sağlık problemleri birçok çalışmada ortaya konmuştur. Dumansız tütün ürünleri arasında en yaygın kullanım alanına sahip olan Maraş otunun da kanserojenik, genotoksik etkileri ile özellikle oral, özefageal, pankreas kanseri oluşumunda baş aktör olduğu (41,42,43,44) yine solunum sistemi, kardiyovasküler sistem ile immünolojik, biyokimyasal ve hematolojik parametreler üzerine de olumsuz etkilere sahip olduğu ortaya konmuştur (45,46,47). Kahramanmaraş ilinde yapılan toplum tabanlı bir çalışmada bireylerin %16,8'inin Maraş otu kullandığı belirlenmiştir. Erkeklerin %25,1'i, kadınların %1,4'ü Maraş otu kullandığını ifade etmiştir (48).

Maraş otu kullanımı ile kollojen metabolizmasının yıkım basamağında rol alan prolidaz enzim değerlerinin ilişkisini araştırdığımız çalışmamızda, Maraş otu kullanımı ile prolidaz enzim değerlerinin değişimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Çalışmamızda Maraş otu kullanımının prolidaz enzim aktivitesini ve birçok dokuda önemli destek elemanı olan kollojen yıkımının artırmasında etkili olduğu ortaya çıkmıştır.

Çalışmamızda Maraş otu kullanımını objektif olarak belirleyebilmek için çalışma gruplarında üriner kotin seviyesi ve kandaki nikotin miktarının ölçülmemiş olması, Maraş otu kullanan grupta ot kullanım sğüresinin (5 yıl/günde 1 paket) az olması, göreceli olarak az sayıda vaka alınmış olup daha büyük ölçekli çalışmalarla verilerimizin desteklenmesine ihtiyaç bulunmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Maraş otu kullanan 42 birey ile Maraş otu kullanmayan 32 birey olmak üzere toplam 74 kişiden oluşan çalışma grubu oluşturulmuştur.

2. Toplanan kan serumu örneklerinde Spektrofotometrik ölçüm yöntemi ile Maraş Otu kullanan ve kullanmayan grupta prolidaz enzim düzeyleri çalışılmıştır.

3. Maraş otu kullanımı ile serum prolidaz aktivitesi arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için Maraş otu kullanan kullanmayan iki grubun karşılaştırıldığı çalışmamızda, Maraş otu kullanan ve kullanmayan grup arasında Maraş otu içiciliği ile prolidaz aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.

4. Kollajen yapımı ve yıkımında rol alan prolidaz enzim düzeyinin Maraş otu kullananlarda anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.001$).

5. Maraş ve yöresinde kullanılan ve *Nicotiana rustika* olarak bilinen tütünden elde edilip meşe veya asma dallarının külleriyle 1/3 oranında karıştırılan Maraş otu kullananlarda Prolidaz enzim düzeylerinin yüksek olması; prokollajen, kollajen ve prolin veya hidroksiprolin içeren proteinlerin katabolizmasının normal kişilere oranla daha fazla olduğunu göstermektedir. Çalışmamızın sonucuna göre Maraş Otu kullanımı kollojen düzeylerinde anlamlı sapmalara neden olabilmektedir. Bunun da Maraş otunun bilinmeyen zararlı etkilerinden birini oluşturduğu düşünülmektedir. Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız ile literatürde ilk defa olarak Maraş Otu kullananlarda prolidaz enzim düzeyleri çalışılmış olup, bu konu ile ilgili örnek sayısının artırılarak yeni ve daha ileri çalışmalarla desteklenmesi durumunda anlamlı ve değerli sonuçlara ulaşılacağını düşünmekteyiz..

7. KAYNAKLAR

1. Köksal N, İnanç F, Kılınç M. Sigara ve dumansız tütün (Maraş otu) kullananlarda serum adenozin deaminaz düzeyleri. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2004;2;7-11.
2. Nağaş S. Maraş otu kullanımının mikronükleus düzeyine etkisi (Yüksek Lisans Tezi) Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 2006.
3. Boffetta P, Hecht S, Gray N, Gupta P, Straif K. Smokeless tobacco and cancer. *Lancet Oncol* 2008;9:667-75.
4. Weitkunat R, Sanders E, Lee PN. Meta-analysis of the relation between European and American smokeless tobacco and oral cancer. *BMC Public Health* 2007;7:334.
5. Hoffmann D, Djordjevic MV. Chemical composition and carcinogenicity of smokeless tobacco. *Adv Dent Res* 1997;11:322-9.
6. Öztuna F. Sigaranın hücre sel etkileri. *Akciğer arşivi* 2004;2:111-6. 28.
7. Bonica JJ. *The Management of Pain*. 2th ed. New York: Lea Febiger. 1990: 1283-1312.
8. Güven A, Köksal N, Büyükbeşe MA, et al. Effects of using a different kind of smokeless tobacco on cardiac parameters: "Marash Powder". *Anadolu Kardiyol Derg* 2003;3: 230-5. 30.
9. Erenmemişoğlu A, Üstün H, Kartal M. Carcinoma of buccal mucosa in smokeless tobacco users: a preliminary study of the use of cytology for early detection. *Cytopathology* 1995;6:403-8.
10. Mokdad AH, Marks JS, Stroup DF, Gerberding JL. Actual causes of death in the United States, 2000. *JAMA* 2004;291:1238-45
11. Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet* 2005;366:1197-209.
12. Consequences Of Smoking For Body Weight, Body Fat Distribution, And İnsulin Resistance, Chiolero Et Al, *Am J Clin Nutr* 2008;87:801-9.
13. Ersoy C. Sigaranın endokrin sistem üzerine etkileri. *Sigara ve Sağlık*. (Ed.Özyardımcı N.) sayfa 194-205 Bursa 2002.

14. Potter BK, Pederson LL, Chan SS, Aubut JA, Koval JJ. Does a relationship exist between body weight, concerns about weight, and smoking among adolescents? An integration of the literature with an emphasis on gender. *Nicotine Tob Res* 2004;6(3):397– 425.
15. Bamia C, Trichopoulou A, Lenas D, Trichopoulos D. Tobacco smoking in relation to body fat mass and distribution in a general population sample. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004;28:1091– 6.
16. Chiolero A, Jacot-Sadowski I, Faeh D, Paccaud F, Cornuz J. Association of cigarettes daily smoked with obesity in a general European adult population. *Obes Res* 2007;15(5):1311– 8.
17. Eliasson B. Cigarette smoking and diabetes. *Prog Cardiovasc Dis* 2003; 45(5):405–13.
18. Milligan A, Brown G. Prolidase deficiency: a Case Report and Literature Review. *Brit J.Dermatol.* 1989; 121: 405-9.
19. Dolenga M, Hechtman P. Prolidase deficiency in cultured human fibroblasts. *Biochemical Pathology and Iminodipeptid Enhanced Growth. Pediatr Res.* 1992; 32: 479-82.
20. Davis NC, Smith EL. Purification and some properties of prolidase of swine kidney. *J Biol Chem.* 1957; 244: 261-275.
21. Borigt A, Scriver CR. Prolidase Deficiency. *Biochemical Classification of Alleles. Am J Hum Genet.* 1989; 44: 731-40.
22. Alparslan S, Gültepe M. Serum Prolidase Activity, Its value as an indicator of collagen accumulation in chronic liver diseases. *Biyokimya Dergisi.* 1993;18:1-9. 17. Houston TK, Person SD, Pletcher MJ, Liu K, Iribarren C, Kiefe CI. Active and passive smoking and development of glucose intolerance among young adults in a prospective cohort: CARDIA study. *BMJ* 2006;332:1064 –9.
23. Phang JM, Yeh GC, Scriver. Disorders of proline and hydroxyproline metabolism, in the *Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease.* 7th ed. Mc Graw Hill, Montreal, 1995; 1125-41.

24. Mock WL, Zhuang H. Chemical modification locates guanidinyl and carboxylate groups within the active site of prolylase. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991; 180: 401-6.
25. Endo F, Tanoue A. Primary structure and gene localization of human prolylase. *J Biol Chem.* 1989; 264: 4476-81.
26. Endo F, Tanoue A. Structural organization of the gene for human prolylase and demonstration of a partial gene deletion in a patient with prolylase deficiency. *J Biol Chem.* 1989; 265: 11306-11.
27. Dannenberg AL, Garrison RJ, Kannel WB. Incidence of hypertension in the Framingham Study. *Am J Public Health.* 1988; 78: 676-9.
28. Cosson C, Myara I. Only prolylase I activity is present in human plasma. *Int J Biochem.* 1992; 24: 427-32.
29. Myara I, Charpentier C, Lemonnier A. Optimal conditions for prolylase assay by localization of human prolylase. *J Biol Chem.* 1989; 264: 4476-81.
30. Myara I. Effect of long preincubation on the two forms of human erythrocyte prolylase. *Clin Chim Acta.* 1987; 170: 263-70.
31. Cheng TC, DeFrank JJ, Rastogi VK, Alteromonas prolylase for organophosphorus G agent decontamination. *Chem Biol Interact.* 1999; 119-120. 18. D.R. Matthews, J.P. Hosker, A.S. Rudenski, B.A. Naylor, D.F. Treacher, R.C. Turner, Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28 (1985) 412-9.
32. Bielawska A, Bielawski K, Chrzanowski K. Prolylase activated prodrug for cancer chemotherapy cytotoxic activity of proline analogue of chlorambucil in breast cancer. *Farmacol.* 2000; 55: 736-41.
33. Myara I, Cosson C, Moatti N, Lemonnier A. Human kidney prolylase purification, preincubation properties and immunological reactivity. *Int. J Biochem.* 1994; 26: 207-14.
34. Radzicka A, Wolfenden R. Analogues of intermediates in the action of pig kidney prolylase. *Biochemistry.* 1991; 30: 4160-64.

35. Persson B, Flinta C, Vonheijne G. A new method for predicting signal sequence cleavage sites. *Nucleic Acids Res.* 1986 ; 14: 4683-90.
36. Yareğir G. *Temel Biyokimya I.* 3. Baskı. Çukurova Üniversitesi Tıp fakültesi Yayınları. Adana. 1988: 152-53.
37. Stanbury JB. Scriver CR. Disorder of proline and hydroxyproline metabolism. In the metabolic basis of inherited disease. 4th ed. 1978; 336-361.
38. Myara I. Plasma prolidase activity. A possible index of collagen catabolism in chronic liver disease. *Clin Chem.* 1984; 30: 211-15.
39. Berardesca E. Fidell D. Blood transfusions in the therapy of case of prolidase deficiency. *Brit J Dermatol.* 1992; 126: 193-95. 19. Azkan, N. Tütün. *Sigara ve sağlık*, s.3-6, Bursa, 2002.
40. World Health Organization. History of Tobacco. <http://www.who.int/tobacco/en/atlas2.pdf>
41. Gür M. Genel tütüncülük ders notları. İstanbul Üniversitesi Tütün Ekspertleri Yüksek okulu Yayınları, s.2-5, İstanbul, 1979.
42. Uzunca G. Tütünün tarihi: *Sigara ve sağlık*, s. 22-29, Bursa, 2002.
43. Sapan H. Türk tütününde fiyatlandırma politikası. Edirne: Trakya Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü İktisat Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi; 1997
44. Yılmaz F. Tütünün macerası. *Tombak Dergisi* 2000; 33: 83-7.
45. Barış İ. Tütün kullanımının tarihçesi. Toraks Derneği Merkezi Kursları: Tütün Kontrol Uzmanlığı, Ankara, 2003.
46. Peçevi İ. Peçevi tarihi (Çeviri:Uraz M). Neşriyat Yurdu Yayınları, s.196-7, İstanbul, 1968.
47. Yılmaz F. Tütünün macerası II. *Tombak Dergisi* 2000; 34: 24-30.
48. Asut, A. *Sigara ve hekim.* Türk Tabipleri Birliği Yayınları, Ankara, 1993
49. Beyer J, Waverly I. Tobacco control policy. Strategies, successes and setbacks. The World Bank, 2003; 1-12.

50. Mackay J, Eriksen M. The tobacco atlas. World Health Organization. 4. Female smoking, pp.26-7, USA, 2002. <http://www.who.int/tobacco/en/atlas8.pdf> (Erişim tarihi:18.10.2017).
51. Arbak P, Erdem F, Karacan Ö, Özdemir Ö. Düzce lisesi öğrencilerinde sigara alışkanlığı. *Solunum* 2000; 17-21.
52. Küresel yetişkin tütün araştırması, 2008. TÜİK haber bülteni sayı: 73-2009 www.tuik.gov.tr (Erişim tarihi:10.08.2017)
53. Pryor WA, Stone K, Latha MS, Vijayammal PL, Kurup PA. Oxidants in cigarette smoke radicals, hydrogen peroxide, peroxynitrate and peroxynitrite. *Ann NYAC Sci* 1996; 686: 12-27.
54. Witztam J, Moore M, Falsom AR, Barnes RW, Eckfeldt JH. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet Pres* 1994; 344: 793-95.
55. Zevin S, Saunders S, Gourlay SG, Jacob P, Benowitz NL. Cardiovascular Effects of Carbon Monoxide and Cigarette Smoking. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1633-8.
56. Ridker PM, Genest J, Libby P. Risk Factors Atherosclerotic Disease. In: Braunwald E, Zipes D, Libby P. *Heart Disease 6 th ed.* Philadelphia: WB Saunders. 2001;1010-40.
57. Shapiro SD. The macrophage in COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:29-32.
58. Erenmemisoglu A. Re: Turkish smokeless tobacco “Maras powder”. *Prev Med* 1999; 28:616-7.
59. Erenmemisoglu A, Tekola Y, Kartal M, Kurucu S. The use of a smokeless tobacco in our country ‘Maras Powder’. *Doga-Turk J Med Sci* 1992;16: 567-76.
60. Kilinc M, Okur E, Kurutas EB, Guler FI, Yildirim I. The effects of maras powder (smokeless tobacco) on oxidative stress in users. *Cell Biochem Funct* 2004;22:233-6.
61. *Turk Ped Arş* 47, 199-203 (2012); Sucaklı MH, Köse A, Güler E, Üdürgücü M, Olgar S, 07-09 Kasım 2013, Kahramanmaraş (2013); Olgar S, Cevizli D, Garipardıç M, Olgar S, Köse A, Aydoğan U, Nisli K, Dilber C. Transvers aort ve sol karotis.

62. Büyükkara S., “Maraş Otu Kullanan Kişilerde Plazma Paraoksonaz ve Arilesteraz. Polat V., N. Kurtul, S. Pence and M.Y. Cil,
63. Sönmez, M. Özkaya, Ç. Çıtırık, M. Şahin, K. Gül Tiroid Hastalıkları Kongresi, Bildiri ve Özet Kitabı, 33, S13, İstanbul, Türkiye, 10-11 Nisan 2010., “Maraş otu kullananlarda tiroid hastalığı sıklığının değerlendirilmesi”, 32. Türkiye.
64. D. M. Oh, H. K. Han, G. L. Amidon 1992. 9,969-978. [30], 'Drug Transport and J. P. F. Bai, M. Hu, P. Subramanian, H. I. Mosberg, G. L. Amidon, 'Utilization of Intestinal Absorption: Targeting Prolidaseas a Prodrug Converting Enzyme.
65. Alırıza Ünsal, Mehmet Tanrısev, Cemalettin Oluç, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nefroloji Kliniği, İzmir, Türkiye, FNG & Bilim Tıp Dergisi 2016;2(1):4-11
66. Bergman M., and Fruton, J. S. Biophys. Res. Commun. 101:814–822., 1941, Adv. Enzymol. 1:63–98. Fruton, J. S., Irwing, G. W., and Bergman, M., 1941, J. Biol.
67. Dr. Şenol YILDIZ, Dr. Hakan AY, Dr. Kadir DÜNDAR, Dr. M Emin ELBÜKEN, Dr. Oğuz CAYMAZ Hiperbarik Oksijen İle Tedavi Edilen Olgularda Prolidaz Enzim Seviyeleri, Gülhane Tıp Dergisi 46 (2): 144 - 148 (2004)
68. Ömer Özcan, Mustafa Gültepe, Osman Metin İpçioğlu, Burhanettin Bolat, Hüseyin Kayadibi Prolidazın Mutlak Aktivitesini Değerlendirmede Fotometrik Enzim Aktivitesi Ölçüm Metodunun Optimizasyonu, Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem] 2007; 32 (1); 12–16.
69. T.C. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı Nontravmatik Akut Karın Ağrılı Olgularda Serum Oksidatif Stres Ve Prolidaz Enzim Düzeylerinin Araştırılması Uzmanlık Tezi Dr. Levent Albayrak, ŞANLIURFA 2015.
70. Yıldız Öner İyidoğan, Figen Gürdöl, Pernur Öner Serum Prolidazaktivitesinin Kemik Yapım-Yıkım İndeksi Olarak Değerlendirilmesi, İst. Tıp Fak. Mecmuası 62:3,1999
71. Ayşe Binnur ERBAĞCI, Mustafa ARAZ, M. TARAĞÇIOĞLU, E.S. Namiduru Serum prolidase activity as a marker of osteoporosis in type 2 diabetes mellitus, Clinical Biochemistry 36(8):667-667 · November 2003 *with* 15 Reads.

72. Hakan CAMUZCUOĞLU, Harun TOY, Nurten AKSOY Assessment of preoperative serum prolidase activity in epithelial ovarian cancer, European journal Clinical of obstetrics, gynecology and reproductive biology 147(1):97-100 · August 2009 *with* 11 Reads,
73. Mehmet A. ALTAY, Cemil ERTÜRK, Uğur E. Iskan A preliminary study pointing out the role of serum prolidase activity and oxidative-antioxidative status parameters during the treatment process of patients with idiopathic clubfoot, Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation 71(7):576-82 · August 2011 *with* 8 Reads.
74. Alparslan S, Gültepe M. Serum Prolidase Activity, Its value as an indicator of collagen accumulation in chronic liver diseases. *Biyokimya Dergisi*. 1993; 18:1-9.
75. Phang JM, Yeh GC, Scriver. Disorders of proline and hydroxyproline metabolism, in the Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. 7th ed. Mc Graw Hill, Montreal, 1995; 1125-41.
76. Mock WL, Zhuang H. Chemical modification locates guanidinly an carboxylate groups within the active site of prolidase. *Biochem biophy Res Com*. 1991; 180: 401-6.
77. Endo F, Tanoue A. Primary structure and gene localization of human prolidase. *J Biol Chem*. 1989; 264: 4476-81.
78. A. Çelik Prolidaz, önemi ve güncel yaklaşımlar, 1. Kahramanmaraş Biyokimya Günleri 7-9 Kasım 2013 Kahramanmaraş.
79. Cheng TC, DeFrank JJ, Rastogi VK, Alteromonas prolidase for organophosphorus G agent decontamination. *Chem Biol Interact*. 1999; 119-120.
80. Myara I, Cosson C, Moatti N, Lemonnier A. (1994) Human kidney prolidase-purification, preincubation properties and immunological reactivity. *Int J Biochem*. 26: 207–214.
81. Myara I, Charpentier C, Lemonnier A. Optimal conditions for prolidase assay by localization of human prolidase. *J Biol Chem*, 1989; 264: 4476-81.
82. Yareğir G. Temel Biyokimya I. 3. Baskı. Çukurova Üniversitesi Tıp fakültesi Yayınları. Adana. 1988: 152-53.

83. Endo FA, Matsuda I. (1991) Molecular basis of prolidase (peptidase D) deficiency. *Mol Biol and Med.* 8: 117–127.
84. Cosson C, Myara I. Only prolidase I activity is present in human plasma. *İnt J Biochem.* 1992; 24: 427-32.
85. Kolajen Hidrolizatının Fonksiyonel Bir Bileşen Olarak Gıda Endüstrisinde Kullanılması, Seda Ersus Bilek, Sibel Kaya Bayram Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100, Bornova, İzmir. *Akademik Gıda* 13(4) (2015) 327-334.
86. Prof. Dr. Halil KORKMAZ, Prof. Dr. Nihat TINKILIÇ, Doç. Dr. Tevfik ÖZEN, Dr. Aytaç GÜDER *Biyokimya-II Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı, Aytaç Güder on 16 November 2015.*
87. Dizdaroğlu M. Mechansms of oxidative DNA damage; lesion and their measurement. *Free Radical Biology and Medicine.* 2002: 1102-1115.
88. Meister A. Glutathione ascorbate and cell cycle regulation. *FEBBS letters.* 1994: 1-4.
89. Yıldız Öner İyidoğan, Figen Gürdöl, Pernur Öner Serum Prolidazıaktivitesinin Kemik Yapım-Yıkım İndeksi Olarak Değerlendirilmesi, *İst. Tıp Fak. Mecmuası* 62:3,1999.
90. Berardesca E. Fidell D. Blood transfusions in the therapy of case of prolidase deficiency. *Brit J Dermatol.* 1992; 126: 193-95.
91. Shevell I.M, Swaiman F.K. Global developmental delay and mental retardation. In Swaiman F K, Ashwal S ed. *Pediatric Neurology.* Third edition. Philadelphia: Mosby 1999: 551-60.
92. Çağıl Vural, Süheyla Karadağ Erkoç, Özlem Selvi Can, Zekeriyya Alanoğlu, Neslihan Alkış, *Anesthetic Management In The Patient With Prolidase Enzyme Deficiency,* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, *Journal of Anesthesia, JARSS* 2016; 24 (1): 42 – 44.
93. Anlı EB. Akut apandisit olgularında oksidatif stres ve prolidaz enzim aktivitelerinin araştırılması. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi,* 2009: 35-42.

94. Aicardi J. Mental retardation. In: Aicardi J Ed. Diseases of the Nervous System in Childhood. Cambridge, 1998; 822-25.
95. Mock WL, Green PC. Mechanism and inhibition of prolidase. J Biol Chem, 1990; 265: 19606-19610.
96. Gürdal F, Genç S, Yalçın Ö, Gültepe M. The presence of prolidase activity in amniotic fluid and its evaluation as a maturity test. Biol Neonate 1995; 67: 34.
97. Dizdaroğlu M. Chemical determination of free radical induced damage to DNA. J Free Radical Biology & Medicine. 1993; 61: 225-42.
98. Berrak Güven, Şerefden Açıkgöz, Ülkü Özmen Bayar, İlker Sarıtekin Prolidase Enzyme Activities in Preeclampsia, Selçuk Tıp Derg 2014;30(2): 68-70.
99. Rojkind, M., Gatmaitan, Z.: Connective tissue biomatrix in rat hepatocytes. J. Cell. Biol, 87: 55- 256, 1980.
100. Zuyderhoudt, F. M.C., Brugman, A. M., Smith, J. J.H., Jong, L.: Plasma prolidase in the rat; no index of liver fibrosis. Clinical Chemistry, 31:4, 1985.
101. Oono, T., Fujiwara, Y., Yoshioka, T., Arata, J.: Prolidase activity in chronic wound and blister fluids. J Dermatol. 24(10): 626-9, 1997.

8. ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil-1: Aminoasit katabolizması.....	9
Şekil-2: Prolin ve Diğer Bir Amino Asidin Yapısal Görünümü.....	14
Şekil-3: Prolin Krebs ve Üre Döngüleriyle Metabolik Bağlantısı.....	16
Şekil-4: Kollojen Yıkımında Prolidaz ve Prolinazın Yeri.....	17



9. FOTOGRAFLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Fotograf-1: Tütün Bitkisi.....	4
Fotograf-2: Maraş Otu.....	4
Fotograf-3: Maraş Otu.....	5
Fotograf-4: Maraş Otu Kullanım Şekli.....	5
Fotograf-5: Numune Pipetlemesi.....	19
Fotograf-6: Numunenin Kodelere Alınması.....	19
Fotograf-7: Numunelerin Santrifüj Aşaması.....	20

10. TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo-1: İnsan Prolidaz I ve Prolidaz II İzoenzimlerinin Doku Dağılımları.....	13
Tablo-2: Prolinin spektrofotometrik ölçüm standartları.....	22
Tablo-3: MO kullanan ve kullanmayanlara ait Prolidaz enzim düzeyi sonuçları.....	23
Tablo-4: One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test.....	23



11. EK-1

Sayfa No

Etik Kurul formu.....1



12.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Hakan YILDIRIM
Doğum Yeri : Afşin/ KAHRAMANMARAŞ
Doğum Yılı : 1980
Uyruğu : T.C.
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 05058923993
E-posta : hakannyildirimm@hotmail.com

Eğitim

Lise : Elbistan SML
Lisans : KSÜ/Fen Edebiyat Fakültesi-Biyoloji Bölümü
Pedagojik Formasyon : KSÜ Eğitim Fakültesi
Yüksek Lisans : KSÜ Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya

KULLANDIĞIM CİHAZLAR VE PROGRAMLAR

Spektrofotometre UV
Otoanalizör
SPSS İstatistik Analiz Programı
Microsoft Office Programları (Tümü– İyi derecede)

YAYINLARIM

1-**Hakan YILDIRIM**, Hasan DAĞLI, Ayşe HEDEF, Metin KILINÇ, Ahmet ÇELİK.
Sağlıklı Yetişkin Erkeklerde Maraş Otu (Nicotiana Rustika) Kullanımının Serum Prolidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi. Türk Biyokimya Dergisi Özel Sayısı.
2-Endokrin ve Metabolik Hastalıklar Tanıdan-Tedaviye Biyobelirteçler, III. Türkiye in vitro Diyagnostik Sempozyumu, Poster Sunum, Wyndham Grand İzmir Özdilek, 28 Şubat- 02 Mart 2018/ İZMİR.

ÜYE OLDUĞUM BİLİMSEL KURULUŐLAR

Türk Biyokimya Derneği

Hobiler

Doğa bilimleri, basketbol, yzme, tenis

