

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK KARDİYOLOJİ BİLİM DALI

**DOĞUMSAL KALP HASTALIKLARINDA
MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE
DOKU İNHİBİTÖRLERİNİN SERUM DÜZEYLERİ İLE
KARDİYAK FONKSİYONLARIN İLİŞKİSİ**

Dr. Zübeyir KILIÇ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Türkan ERTUĞRUL

İSTANBUL
2009

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇİNDEKİLER	I
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
TABLolar DİZİNİ	VI
KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ÖZET	X
ABSTRACT	XI
I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
A. MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE METALLO- PROTEİNAZLARIN DOKU İNHİBİTÖRLERİ	3
1. Matriksin Ailesi	4
a. Kollajenazlar	5
b. Jelatinazlar	5
c. Stromelizinler	5
d. Matrilizinler	5
e. Membran tipi matriks metalloproteinazlar	6
f. Diğer matriks metalloproteinazlar	6
2. Matriks Metalloproteinazların Üç Boyutlu Yapıları	7
3. ProMMP'lerin Aktivasyonu	10
a. Kademeli aktivasyon mekanizması	10
b. Hücre içi aktivasyon	10
c. ProMMP-2'nin hücre yüzey aktivasyonu	12
4. Matriks Metalloproteinazların Substrat Özgüllüğü	12
5. Matriks Metalloproteinaz-Aracılıklı Ayrışma ile Oluşturulan Biyolojik Aktiviteler	12
6. Endojen Matriks Metalloproteinaz İnhibitörleri	13
7. Metalloproteinazların Doku İnhibitörlerinin Biyolojik Fonksiyonları	14
B. VASKÜLER YENİDEN ŞEKİLLENMEDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR	15

	<u>Sayfa No</u>
C. VASKÜLER MATRİKS METALLOPROTEİNAZ SALINIMININ VE AKTİVİTESİNİN MAJOR UYARANLARI	16
D. ATEROSKLEROZDA MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE VASKÜLER YENİDEN ŞEKİLLENME	17
E. KALPTE EKSTRASELÜLER MATRİKS VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ SİSTEMLERİ	19
F. MİYOKARDİYAL YENİDEN ŞEKİLLENME	19
G. SOL VENTRİKÜL YENİDEN ŞEKİLLENMESİNDE VE KALP YETERSİZLİĞİNDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN VE DOKU İNHİBİTÖRLERİNİN ROLÜ	20
H. VOLÜM YÜKLENMESİ OLAN KALPTE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR	22
İ. HİPERTROFİK KARDİYOMİYOPATİDE GÖRÜLEN KARDİYAK YENİDEN ŞEKİLLENMEDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ- LARIN ROLÜ	23
İ. DİLATE KARDİYOMİYOPATİ VE MİYOKARDİTTE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN AKTİVİTESİ	23
J. PULMONER HİPERTANSİYONDA MATRİKS METALLO- PROTEİNAZLAR VE DOKU İNHİBİTÖRLERİ	24
III. GEREÇ VE YÖNTEM	26
A. EKOKARDİYOĞRAFİK DEĞERLENDİRMELER	27
B. BİYOKİMYASAL ANALİZLER	28
C. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER	28
IV. BULGULAR	29
A. SAĞ VENTRİKÜLDE VE SOL VENTRİKÜLDE VOLÜM YÜKLENMESİ OLAN DOĞUMSAL KALP HASTALIKLARINDA SERUM MATRİKS METALLOPROTEİNAZ VE DOKU İNHİBİTÖRLERİNİN DÜZEYLERİ	30

	<u>Sayfa No</u>
B. PULMONER HİPERTANSİYONU OLAN VE OLMAYAN SOLDAN SAĞA ŞANTLI DOĞUMSAL KALP HASTALIK- LARINDA SERUM MATRİKS METALLOPROTEİNAZ VE DOKU İNHİBİTÖRLERİNİN DÜZEYLERİ	32
C. ASİYANOTİK VE SİYANOTİK DOĞUMSAL KALP HASTALIK- LARINDA SERUM MATRİKS METALLOPROTEİNAZ VE DOKU İNHİBİTÖRLERİNİN DÜZEYLERİ	33
D. MATRİKS METALLOPROTEİNAZ VE DOKU İNHİBİTÖR- LERİNİN DÜZEYLERİNİN EKOKARDİYOĞRAFİK, HEMODİNAMİK VE HİPOKSİ İLE İLGİLİ PARAMETRELERLE KORELASYONLARI	34
V. TARTIŞMA	37
A. VOLÜM YÜKLENMESİ OLAN KALPTE MATRİKS METALLO- PROTEİNAZLAR VE DOKU İNHİBİTÖRLERİ	37
B. PULMONER HİPERTANSİYONDA MATRİKS METALLO- PROTEİNAZLAR VE DOKU İNHİBİTÖRLERİ	40
C. SİYANOTİK DOĞUMSAL KALP HASTALIKLARINDA MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE DOKU İNHİBİTÖRLERİ	45
D. MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE DOKU İNHİBİTÖR- LERİNİN DÜZEYLERİ İLE EKOKARDİYOĞRAFİK, HEMODİNAMİK VE HİPOKSİ İLE İLGİLİ PARAMETRELERİN KORELASYONLARI	46
E. MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE DOKU İNHİBİTÖR- LERİ İLE İLGİLİ GELECEKTEKİ TEDAVİ YAKLAŞIMLARI	46
VI. SONUÇLAR	48
VII. KAYNAKLAR	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: MMP'lerin yapısal özellikleri	4
Şekil 2: MMP'lerin üç boyutlu yapıları: A. ProMMP-2-TIMP-2 kompleksi B. MMP-2 propeptidinde, sistein anahtarı motifinin sisteini C. MMP-2'nin üç "fibronektin domaini" ve her birinin iki disülfid bağı	9
Şekil 3: ProMMP'lerin kademeli aktivasyonu	11

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: İnsan Miyokardında Belirlenen Matriks Metalloproteinazlar	7
Tablo 2: Çalışma ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımları	29
Tablo 3: Çalışma Gruplarındaki Hastaların Tanıları	30
Tablo 4: Volüm Yüklenmesi Olan Hastaların ve Kontrol Grubunun Serum MMP, TIMP Düzeyleri (pg/ml) ve MMP/TIMP Oranları (Ortalama±SEM) Yönünden Karşılaştırılmaları	31
Tablo 5: Pulmoner Hipertansiyonu Olan ve Olmayan Soldan Sağa Şanlı DKH Gruplarının ve Kontrol Grubunun Serum MMP, TIMP Düzeyleri (pg/mL) ve MMP/TIMP Oranları (Ortalama±SEM) Yönünden Karşılaştırılmaları	32
Tablo 6: Asiyantotik, Siyantotik Hastaların ve Kontrol Grubunun Serum MMP, TIMP Düzeyleri (pg/ml) ve MMP/TIMP Oranları (Ortalama±SEM) Yönünden Karşılaştırılması	34
Tablo 7: Hasta Gruplarında Serum MMP, TIMP Düzeylerinin Ekokardiyografik Ölçümler, Hemodinamik ve Hipoksi ile İlgili Parametrelerle Korelasyonları	35

KISALTMALAR DİZİNİ

ESM:	Ekstraselüler matriks
MMP:	Matriks metalloproteinaz
TIMP:	(Tissue inhibitors of metalloproteinases) Metalloproteinazların doku inhibitörleri
MT-MMP:	Membran tipi matriks metalloproteinaz
TGF-beta 1:	(Transforming growth factor-beta 1) transforme edici büyüme faktörü-beta 1)
DKH:	Doğumsal kalp hastalığı
TNF- α :	(Tumor necrosing factor- α) Tümör nekroze edici faktör- α
NMR:	Nükleer manyetik rezonans
NO:	Nitrik oksit
Leu:	Lösin
Ile:	İzolösin
Met:	Metyonin
Phe:	Fenil alanin
Tyr:	Tirozin
IGF-BP:	(Insulin like growth factor-binding protein) İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein
ProTGF- β :	(Pro-transforming growth factor- β) Pro-transforme edici büyüme faktörü- β
ProTNF- α	(Pro-tumor necrosing factor- α) Pro-tümör nekroze edici faktör- α
ProIL-1 β :	Pro-interlökin-1 β
IL-2:	İnterlökin-2
ICAM-1:	İnterselüler adezyon molekülü-1
VCAM-1:	(Vascular cell adhesion molecule-1) Vasküler hücre adezyon molekülü-1
NYHA:	New York Heart Association
KF:	Kısalma fraksiyonu

ASD:	Atriyal septal defekt
VSD:	Ventriküler septal defekt
PDA:	Patent duktus arteriyozus
MCV:	(Mean corpuscular volume) Ortalama eritrosit volümü
RDW:	(Red-cell distribution width) Kırmızı küre dağılım genişliği
SO ₂ :	Oksijen saturasyonu
BAT:	Büyük arterlerin transpozisyonu
TPVDA:	Total pulmoner venöz dönüş anomalisi
ET-1:	Endotelin-1

M-mod Ekokardiyografik Ölçümler:

LVIDd:	(Left ventricular internal dimension at end diastole) Sol ventrikül diyastol sonu iç çapı
LVIDs:	(Left ventricular internal dimension at and end systole) Sol ventrikül sistol sonu iç çapı
LVmass-d:	(Left ventricular diastolic mass) Sol ventrikül diyastolik kitlesi
LVmass-s:	(Left ventricular systolic mass) Sol ventrikül sistolik kitlesi

Pulsed-wave Doppler ile Yapılan Ekokardiyografik Ölçümler:

E:	Mitral erken akım pik hızı
A:	Mitral ikinci akım pik hızı
E/A:	Mitral erken/ikinci akım pik hızları oranı
DZ:	Deselerasyon zamanı
İVRZ:	İzovolumetrik relaksasyon zamanı

Doku Doppler Yöntemi ile Yapılan Ekokardiyografik Ölçümler:

S _m :	Sistolik ventrikül ejeksiyonu ile oluşan pik akım hızı (mitral için)
S _t :	Sistolik ventrikül ejeksiyonu ile oluşan pik akım hızı (triküspid için)

E_m :	Diyastolik hızlı pasif ventrikül dolumu ile oluşan pik akım hızı (mitral için)
E_t :	Diyastolik hızlı pasif ventrikül dolumu ile oluşan pik akım hızı (triküspid için)
A_m :	Diyastolik atriyum kasılması ile oluşan ventrikül dolumu pik akım hızı (mitral için)
A_t :	Diyastolik atriyum kasılması ile oluşan ventrikül dolumu pik akım hızı (triküspid için)
MPI:	Miyokard performans indeksi

Hemodinamik Parametreler:

Q_p :	Pulmoner kan akımı
Q_s :	Sistemik kan akımı
R_p :	Pulmoner direnç
R_s :	Sistemik direnç
L-R şant:	Soldan sağa şant miktarı
AoP (s):	Aorta sistolik basıncı
AoP (d):	Aorta diyastolik basıncı
LAP:	Sol atriyum basıncı
RAP:	Sağ atriyum basıncı
RVP (s):	Sağ ventrikül sistolik basıncı
RVP (d):	Sağ ventrikül diyastolik basıncı
LVP (d):	Sol ventrikül diyastolik basıncı

ÖZET

Kılıç, Z. Doğumsal kalp hastalıklarında matriks metalloproteinazlar ve doku inhibitörlerinin serum düzeyleri ile kardiyak fonksiyonların ilişkisi. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Kardiyoloji Bilim Dalı Yan Dal Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2009. Matriks metalloproteinazlar (MMP) ekstraselüler matriksi (ESM) parçalayan endopeptidazlardır. Doku metalloproteinaz inhibitörleri (tissue inhibitors of matrix metalloproteinases; TIMP) MMP'lerin spesifik inhibitörleridir. Çalışmamızda asiyanotik ve siyanotik doğumsal kalp hastalıklarındaki (DKH) serum MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 düzeylerini ve bunların ventrikül fonksiyonları ile ilişkilerini araştırmayı amaçladık. Çalışmaya yaşları 3 ay-18 yıl arasında değişen (57,1±6,2 ay) 87 DKH olgusu alındı. Çalışma grubu sağ ventrikülde (RV) volüm yüklenmesi (ASD'li) (n: 14), sol ventrikülde (LV) volüm yüklenmesi (VSD'li ya da PDA'lı) (n: 30), pulmoner hipertansiyon gelişmiş olan soldan sağa şanlı (n: 19) ve siyanotik DKH (Fallot tetralojisi ve diğer kompleks siyanotik DKH'ları) (n: 24) olan hastalar şeklinde dört gruba ayrılarak incelendi. Kontrol grubu ise yaşları 3 ay-18 yıl arasında değişen (78,4±8,3 ay) 47 sağlıklı çocuktan oluşuyordu. Sol ventrikül sistolik ve diyastolik fonksiyonlarının değerlendirilmesinin yanısıra doku Doppler yöntemi ile LV'ün ve RV'ün, eş zamanlı sistolik ve diyastolik pik akım velositeleri ve myokard performans indeksi (MPI) hesaplandı. Venöz kan örneklerinde serum MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 düzeyleri "enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA) yöntemi ile çalışıldı. Serum MMP-2 düzeyi RV'de volüm yüklenmesi olan hastalarda, MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri LV'de volüm yüklenmesi olan hastalarda kontrol grubundan yüksek, TIMP-2 düzeyleri ise hem RV'de hem de LV'de volüm yüklenmesi olan gruplarda kontrol grubundan düşük bulunmakla birlikte gruplar arasındaki farklılıklar anlamlı değildi ($p>0,05$). Pulmoner hipertansiyonu olan hastalardaki serum TIMP-1 düzeyleri, pulmoner hipertansiyonu olmayan hastalardakinden ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla 905,3±191,2; 370,1±76,7 ve 344,1±76,3 pg/ml) ($p<0,01$). Siyanotik hasta grubunda MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri düşük, TIMP-1 düzeyi ise yüksek olarak saptandı. TIMP-2 düzeyleri hem asiyanotik, hemde siyanotik grupta düşük olmakla birlikte gruplar arasındaki farklılıklar anlamlı değildi ($p>0,05$). Pulmoner hipertansiyonu olan soldan sağa şanlı hasta grubunda MMP-2 düzeyleri Qp/Qs oranı ile negatif, Rp/Rs oranı ile pozitif, TIMP-1 düzeyleri RV MPI ile pozitif, TIMP-2 düzeyleri ise RV diyastolik basıncı ile pozitif korelasyon gösteriyordu. Siyanotik DKH grubunda MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri Qs ile pozitif, Rs ile negatif, TIMP-2 düzeyleri ise MCV değerleri ile pozitif korelasyon göstermekteydi ($p<0,05$). Sonuç olarak; çalışmamızda pulmoner hipertansiyonun patogenezinde TIMP-1'in önemli rolü olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca kalpte volüm yüklenmesine yol açan ve siyanotik DKH'da serum MMP ve TIMP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte değişimler olduğu gözlenmiş, bu hastalıklarda görülen kalbin yeniden şekillenmesinde MMP ve TIMP'lerin rolü olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Doğumsal kalp hastalığı, matriks metalloproteinaz, metalloproteinazların doku inhibitörleri, pulmoner hipertansiyon, volüm yüklenmesi, kardiyak fonksiyonlar

ABSTRACT

Kılıç, Z. The relation of serum levels of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors with cardiac functions in congenital heart diseases. İstanbul University İstanbul Medical Faculty, Specialty Thesis in Department of Pediatric Cardiology, İstanbul, 2009. Matrix metalloproteinases (MMP) are endopeptidases responsible for extracellular matrix (ECM) degradation. Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP) are specific inhibitors of MMPs. In this study, we aimed to investigate the serum levels of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 and their relations to ventricular functions in congenital heart diseases (CHDs). Eighty-seven patients with CHD aged between 3 months-18 years (57.1 ± 6.2 months) were included in this study. The study group was evaluated by separating them into four groups consisting of those with right ventricular (RV) volume overload (ASD) (n: 14), left ventricular (LV) volume overload (VSD or PDA) (n: 30), left to right shunt who developed pulmonary hypertension (n: 19), and cyanotic CHDs (tetralogy of Fallot and the other complex cyanotic CHDs) (n: 24). The control group was consisted of 47 healthy children aged between 3 months-18 years (78.4 ± 8.3 months). Besides the evaluation of LV systolic and diastolic functions by the conventional echocardiographic methods, simultaneous systolic and diastolic peak flow velocities of the both ventricles and myocardial performance indexes (MPI) were measured by tissue Doppler echocardiography. Serum levels of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 were analyzed with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. Serum levels of MMP-2 were higher in the RV volume overload group whereas MMP-9 and TIMP-1 levels were higher in the LV volume overload group than controls. However, TIMP-2 levels were lower in both the RV and LV volume overload groups than the control group. But all these differences between the groups were not statistically significant ($p>0.05$). Serum TIMP-1 levels of the patients with pulmonary hypertension were significantly higher than those of the patients without pulmonary hypertension and than those of the control group (905.3 ± 191.2 ; 370.1 ± 76.7 and 344.1 ± 76.3 pg/ml, respectively) ($p<0.01$). In the cyanotic CHD group serum levels of MMP-2 and MMP-9 were lower, but TIMP-1 levels were higher than the acyanotic CHD group and control group. TIMP-2 levels of both acyanotic and cyanotic patients were lower, but these differences between the groups were not statistically significant ($p>0.05$). In the patients with left to right shunt associated with pulmonary hypertension, serum MMP-2 levels negatively correlated with Qp/Qs ratio and positively correlated with Rp/Rs ratio; TIMP-1 levels positively correlated with RV MPI; TIMP-2 levels positively correlated with diastolic pressure of the RV. In the cyanotic CHD group, serum levels of both MMP-9 and TIMP-1 positively correlated with Qs but negatively correlated with Rs, however TIMP-2 levels positively correlated with MCV values ($p<0.05$). In conclusion, our study demonstrated that TIMP-1 has an important role in the pathogenesis of pulmonary hypertension. Even if they are not statistically significant, some changes in the serum levels of MMPs and TIMPs were observed in the CHDs causing to volume overload in the heart and the cyanotic CHDs. Therefore, it was thought that MMPs and TIMPs may have a role in the cardiac remodeling observed in these diseases.

Key words: Congenital heart disease, matrix metalloproteinase, tissue inhibitors of metalloproteinases, pulmonary hypertension, volume overload, cardiac functions

I. GİRİŞ

Ekstraselüler yapı iskeletini oluşturmasının yanı sıra büyüme faktörleri gibi biyolojik olarak aktif moleküllerin bir rezervuarı olarak da rol oynayan ekstraselüler matriks (ESM), gelişme, doku oluşumu ve tamiri sırasında gereksinim duyulan hücresel çevreyi yaratmada önemli olan makromoleküllerden oluşur (1). Matriks metalloproteinazlar (matriksinler; MMP) epitel ve endotel hücreleri, fibroblastlar ve enflamatuar hücrelerden salınan, ekstraselüler matriksi (ESM) parçalayan endopeptidazlardır (1-4). Ortak özellikleri, çinko içeren katalitik bölgeleri, inaktif olarak sentezlenip salınarak ekstraselüler alanda aktifleşmeleri, herbirinin özgül olarak bir ya da birkaç substratı parçalamasıdır. Bu proteinazlar embriyogenezis, normal dokunun yeniden şekillenmesi, yara iyileşmesi ve anjiyogeneziste ve ateroma, artrit, kanser ve doku ülserasyonu gibi birçok patolojik süreçte önemli rol oynarlar. İnsanlarda 23 adet MMP tanımlanmıştır (1, 2). MMP'ler gelişme, doku morfogenezi ve tamiri sırasında rol alan normal ESM yeniden şekillenmesinde anahtar mediatörlerdir. Ayrıca MMP'ler çeşitli hastalıklarda meydana gelen istenmeyen ESM yıkımından sorumlu tutulmaktadır. MMP'ler, yeni matriks sentezi sürerken ESM yıkımını sağlayarak damar bütünlüğünü sürdürmekte önemli rol oynarlar. MMP'ler çeşitli kardiyovasküler patolojik süreçlere de katılabilmektedir (2). İntrauterin dönemde normal kraniofasial ve kardiyak gelişim için esas olan nöral krestten hücre göçünde MMP-2'nin rolü olduğu gösterilmiştir (5).

Metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP) MMP'lerin özgül inhibitörleridir. Normalde MMP/TIMP aktiviteleri kontrol altındadır. Dengesiz MMP aktivitelerinin bulunduğu patolojik koşullarda TIMP düzeylerindeki değişikliklerin önemli olduğu düşünülmektedir. Zira doğrudan MMP aktivitesinin düzeyini etkilerler. Ateroskleroz, anevrizma, artrit, nefrit, doku ülseri ve fibrozis, tümör anjiyogenezisi ve metastazı gibi birçok durumda MMP aktivitesinin kontrolü bozulmuştur (1).

MMP'ler klasik olarak, substrat özgüllüğüne göre kollajenazlar, gelatinazlar, stromelizinler, membran tipi MMP'ler (MT-MMP) ve diğer MMP'ler olarak sınıflandırılırlar. MMP-2 ve MMP-9, "gelatinaz A" ve "gelatinaz B" olarak adlandırılır. Jelatin, tip-1 kollajen, elastin ve laminini parçalarlar (2, 6). Vasküler yeniden şekillenmede önemli rol oynarlar. Artmış MMP-2 ve MMP-9 aktivitesinin insanlarda ve hayvanlarda arterlerin elastik laminasının yıkılması ve anevrizma oluşumuyla ilişkisi

gösterilmiştir (6). Hipertrofik kardiyomyopati hastalardaki kardiyak yeniden şekillenmeden sorumlu mekanizmalarla MMP-2 ve TIMP-2 salınımı ve aktivitesindeki değişikliklerin ilişkisi olabileceği öne sürülmüştür (7). Kalp yetersizliğinde metalloproteinaz protein düzeylerinin yüksek bulunması, bu hastalarda persistan ekstraselüler yeniden şekillenmenin varlığını düşündürmektedir (8). İdiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyonda MMP'ler ile TIMP'ler arasında dengesizlik bulunduğu, özellikle TIMP-1 ve aktif MMP-2 düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir (9).

Hipoksik ortama maruz bırakılan fare fibroblastlarında MMP-9 aktivitesinin azaldığı, MMP-2 aktivitesinin ise etkilenmediği, TGF-beta 1 (transforming growth factor-beta 1; transforme edici büyüme faktörü-beta 1) tedavisinin MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinde artışa yol açtığı gösterilmiştir. Böylece MMP-9'un hipoksik koşullarda doku fibrozisi ve postoperatif adezyon oluşumunun patogenezinde önemli rolü olduğu düşünülmüştür (10).

Deneysel hayvan modellerinde volüm yüklenmesi durumlarında miyokardiyal MMP düzeylerinin arttığı ve artmış miyokardiyal MMP zimografik aktivitesinin sol ventrikül volümü ve kitlesindeki değişikliklerle birlikte olduğu bildirilmiştir (11, 12). Volüm yüklenmesi sonucu meydana gelen kardiyak fonksiyon bozukluğunun MMP-9 aktivasyonuna yanıt olarak endokardiyal-endotelial apoptozis, kardiyak yeniden şekillenme ve endotel-miyozit ayrışması sonucunda olduğu gösterilmiştir (13).

Kalpte volüm yüklenmesine yol açan durumlar, hipoksi, kalp yetersizliği, idiyopatik ve erişkinlerdeki pulmoner arteriyel hipertansiyon gibi patolojik süreçlerde MMP ve TIMP aktivitelerinde değişiklikler olduğunun gösterilmesi nedeniyle biz de Çocuk Kardiyolojisinin hasta potansiyelinin çoğunluğunu oluşturan ve kalpte volüm yüklenmesine, pulmoner hipertansiyona ve hipoksiye yol açan doğumsal kalp hastalıklarında (DKH) da kalpte oluşan değişikliklerde ve yeniden yapılanmada MMP'lerin ve TIMP'lerin rolü olabileceğini düşündük. Yaptığımız literatür araştırmasında DKH'da MMP ve TIMP düzeylerinin çalışıldığı herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Çalışmamızda volüm yüklenmesine yol açan soldan sağa şantlı DKH'da, pulmoner hipertansiyon gelişmiş DKH'da ve hipoksiye neden olan siyanotik DKH'da MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 düzeylerini belirleyerek ve kardiyak fonksiyonlarla ilişkilerini değerlendirerek MMP'lerin ve doku inhibitörlerinin doğumsal kalp hastalıklarının patofizyolojisindeki rollerini araştırmayı amaçladık.

II. GENEL BİLGİLER

A. MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE METALLOPROTEİNAZLARIN DOKU İNHİBİTÖRLERİ

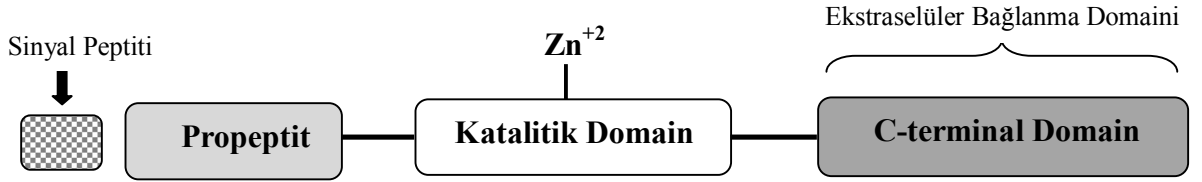
Ekstraselüler matriks (ESM), gelişme, doku oluşumu ve tamiri sırasında gereksinim duyulan hücresel çevreyi yaratmada önemli olan makromoleküllerden oluşur. ESM basit bir ekstraselüler yapı iskeleti olmayıp aynı zamanda büyüme faktörleri gibi biyolojik olarak aktif moleküllerin bir rezervuarı olarak rol oynar (1). Matriks metalloproteinazlar (matriksinler; MMP) ESM yıkımında rol alan endopeptidazlardır. Ortak özellikleri, çinko içeren katalitik bölgeleri, proformda yani inaktif olarak sentezlenip salınarak ekstraselüler alanda aktifleşmeleri, herbirinin özgül olarak bir ya da birkaç substratı parçalamasıdır. Bu proteinazlar embriyogenezis, normal doku yeniden şekillenmesi, yara iyileşmesi ve anjiyogeneziste rol oynarlar (1, 2, 14). Normal fizyolojik koşullarda MMP'lerin aktiviteleri, gen transkripsiyonu ve inaktif zimojenlerin sentezi, prekürsör zimojenlerin aktivasyonu, özgül ESM komponentleri ile etkileşim ve sekrete edilen MMP'lerin endojen doku inhibitörleri tarafından inhibisyonu gibi birkaç düzeyde regüle edilir (1, 14). Aktivite kontrolünün kaybolması artrit, kanser, ateroskleroz, anevrizma, nefrit, doku ülserleri ve fibrozis gibi patolojik durumlarla sonuçlanabilir. Ayrıca MMP'ler çeşitli hastalıklarda meydana gelen istenmeyen ESM yıkımından sorumlu tutulmaktadır (1, 2).

MMP'ler, yeni matriks sentezi sürerken ESM yıkımını sağlayarak damar bütünlüğünü sürdürmekte önemli rol oynarlar. Halbuki belirli ortamlarda bu MMP'ler kardiyovasküler patolojik süreçlere katılabilmektedir. MMP'lerin hem de novo aterosklerotik plakların ve anjiyoplasti sonrası restenotik plakların oluşumuna katkıda bulunduğunu, hem de aterosklerotik plakları çevreleyen fibröz kapsülü parçalayarak bu plakların rüptürüne katkıda bulunduğunu gösteren deliller mevcuttur (2, 14). İntrauterin dönemde normal kraniofasial ve kardiyak gelişim için esas olan nöral krestten hücre göçünde MMP-2'nin rolü olduğu gösterilmiştir (5).

Metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP), dokularda MMP'lerin lokal aktivitelerini kontrol altında tutan özgül inhibitörleridir. Normalde MMP/TIMP aktiviteleri kontrol altında ve denge halindedir. Ateroskleroz, anevrizma, artrit, nefrit, doku ülseri ve fibrozis, tümör anjiyogenezisi ve metastazı gibi birçok durumda MMP aktivitesinin kontrolü bozulmuştur (1).

1. Matriksin Ailesi

Şimdiye kadar vertebralılarda 24 farklı MMP belirlenmiştir ve bunların 23'ü insanlarda bulunur. Kollajenaz 1 (MMP-1) ile dizilim benzerliği, MMP'leri zimojen (proMMP) formunda tutan propeptitteki sistein anahtarı motifi PRCGXPD ve “katalitik domain”deki çinko bağlayıcı motif HEXGHXXGXXH bu ailedeki proteinazları ayırt etmek için kullanılan özelliklerdir. MMP'ler genel olarak bir “prodomain”, bir “katalitik domain” ve bir “C-terminal domaini”nden oluşurlar. Ayrıca MMP'ler yeni sentezlenmiş olan MMP'yi ekstraselüler mesafeye sekrete edilmek üzere hücre membranına yönlendiren küçük bir sinyal peptidi içerirler; bu peptit selüler sekresyondan sonra hızla ayrılır. Propeptit, enzimatik olarak latent kalmayı sağlayan bir aminoasit dizilimi içerir. “Katalitik domain”, proteolitik aktivite için gerekli olan çinkoyu bağlayan üç adet histidin içerir. “C-terminal domaini” tüm MMP türlerinde mevcut olup hemopeksinle homoloji gösterir ve MMP'lerin substrat tanınmasıyla ilişkilidir (1, 15) (Şekil 1).



Şekil 1: MMP'lerin yapısal özellikleri

MMP'lerin her biri farklı bir gen tarafından kodlanır ve monositler ve makrofajlar gibi inflamatuvar hücreler ve epitel ve endotel hücreleri, fibroblastlar gibi çeşitli hücre tiplerinde üretilirler (3). MMP'ler ya hücreden salgılanırlar, ya da plazma membranına tutunurlar. Substrat özgüllüğü, dizilim benzerliği ve “domain” organizasyonuna göre vertebralı MMP'leri kollajenazlar, jelatinazlar, stromelizinler, matrilizinler, membran tipi MMP'ler ve diğer MMP'ler olmak üzere altı gruba ayrılabilir (1):

a. Kollajenazlar

MMP-1, MMP-8, MMP-13 ve MMP-18 (*Xenopus*) bu gruptadır. Bu enzimlerin esas özelliği interstisyel kollajen I, II ve III'ü N-terminal ucuna 3/4 uzaklıktaki özgül bir bölgeden koparabilmesidir. Kollajenazlar aynı zamanda diğer bazı ESM ve ESM dışı molekülleri de parçalayabilirler (1).

b. Jelatinazlar

Jelatinaz A (MMP-2) ve jelatinaz B (MMP-9) bu gruba aittir. Denatüre kollajenleri, jelatinleri kolayca parçalayabilirler. Bu enzimler “katalitik domain”in arasına yerleşmiş, jelatin, kollajenler ve laminin’i bağlayan üç “tip II fibronektin domaini” tekrarına sahiptir. MMP-2 tip I, II ve III kollajenleri parçalar, MMP-9 ise parçalayamaz (1). MMP-2 insanda osteogenezis için önemlidir (16). MMP-2 ve MMP-9 vasküler yeniden şekillenmede önemli rol oynar (6). İnsanlarda ve hayvanlarda MMP-2 ve MMP-9 aktivitesindeki artış, arterlerin elastik laminasının destrüksiyonu ve anevrizma oluşumu ile birlikte (17, 18). Yakın zamanda plazma MMP-9 düzeyleri, koroner arter hastalığı ve strok hastalarında kardiyovasküler riskin yeni bir belirleyicisi olarak tanımlanmıştır (19, 20).

c. Stromelizinler

Stromelizin 1 (MMP-3) ve stromelizin 2 (MMP-10) benzer substrat özgüllüğüne sahiptir. Ancak MMP-3’ün genelde MMP-10’dan daha yüksek proteolitik etkinliği vardır. MMP-3, ESM komponentlerini sindirmesinin yanı sıra birçok proMMP’leri aktive eder ve kısmen işlenmiş proMMP-1’in tam olarak aktif MMP-1’e dönüştürülmesindeki rolü önemlidir (21). MMP-11 stromelizin 3 olarak adlandırılır, ancak “diğer MMP’ler” arasında gruplandırılır. Zira dizilimi ve substrat özgüllüğü MMP-3’ten farklıdır (1).

d. Matrilizinler

Matrilizinler bir “hemopeksin domaini”nin olmaması ile karakterizedir. “Endometaz” olarak da adlandırılan matrilizin 1 (MMP-7) ve matrilizin 2 (MMP-26) bu gruptadır. Birçok ESM komponentlerini parçalarlar. ESM komponentlerinin yanı sıra MMP-7 pro- α -defensin, Fas-ligand, proTNF- α (pro-tumor necrosing factor- α ; pro-tümör nekroze edici faktör- α) ve E-kaderin gibi hücre yüzey moleküllerini de etkiler(1).

e. Membran tipi matriks metalloproteinazlar

Altı adet membran tipi MMP (MT-MMP) vardır: dördü (MMP-14, MMP-15, MMP-16 ve MMP-24) tip I transmembran proteinlerdir, ikisi (MMP-17 ve MMP-25) ise glikozilfosfatidilinozitol'e tutunan proteinlerdir. MT4-MMP dışındakilerin tümü proMMP-2'yi aktive etme yeteneğine sahiptir. Bu enzimler aynı zamanda birçok ESM moleküllerini sindirebilirler ve MT1-MMP tip I, II ve III kollajenler üzerine kollajenolitik aktiviteye sahiptir (22). MT1-MMP anjiyogeneziste de önemli rol oynar (23). MT5-MMP beyne özgüdür ve esas olarak serebellumda bulunur (24). MT6-MMP (MMP-25)'nin hemen hemen tamamı periferik kan lökositlerinde, anaplastik astrositomalarda ve glioblastomalarda bulunur, meningiomalarda ise bulunmaz (25, 26).

f. Diğer matriks metalloproteinazlar

Yedi MMP yukarıda sözü edilen gruplar içerisinde sınıflandırılmamıştır. Metalloelastaz (MMP-12) esas olarak makrofajlarda bulunur ve makrofaj migrasyonu için önemlidir. Elastinin yanı sıra diğer birçok proteinleri de parçalar (27, 28).

MMP-19 cDNA klonlama ile karaciğerden (29) ve T-hücre kökenli bir otoantijen (RASI) olarak romatoid artritli hastalardan (30) elde edilmiştir.

Amelogenin'i sindiren enamelizin (MMP-20) primer olarak yeni oluşmuş diş minesinde bulunur. Mine oluşumundaki defekte bağlı gelişen genetik bir bozukluk olan amelogenin imperfekta, MMP-20'nin ayrılma noktasındaki mutasyonlara bağlıdır (31).

MMP-22 ilk olarak civciv fibroblastlarından klonlanmıştır ve insan homoloğu EST dizilimlerine göre tayin edilmiştir. Bu enzimin fonksiyonu bilinmemektedir (1).

“Cysteine array MMP” diye de adlandırılan MMP-23 esas olarak reproduktif dokularda (üretimle ilgili dokularda) bulunur. Enzimde “prodomain”deki “sistein anahtarı motifi” bulunmamaktadır. Ayrıca “hemopeksin domaini” de yoktur; bunun yerine immünglobulin benzeri “domain”in takip ettiği bir sisteinden zengin “domain” vardır. Propeptidinde bir “furin tanıyıcı motif” içerdiğinden Golgi içerisinde ayrılır ve ekstraselüler mesafeye aktif bir enzim olarak salınır (32).

MMP ailesine en son eklenen, esas olarak keratinositlerde bulunan epilizin ya da MMP-28'dir (33, 34). Sağlam ve hasarlı derideki bulunuş paterni MMP-28'in doku hemostazında ve yara tamirinde fonksiyonu olabileceğini düşündürmektedir (33-35).

İnterstisyel kollajenazlar (MMP-1 ve MMP-13 gibi), stromelizinler (MMP-3 gibi) ve jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9 gibi) memeli miyokardında gösterilmiştir. MT-MMP'lerin ve diğer yeni MMP'lerin de bu listeye eklenmesi olasıdır (15, 36). Özellikle myordiyal matriks yeniden şekillenmesi ile ilgili olabilecek MMP türleri ve başlıca substratları Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1: İnsan Miyokardında Belirlenen Matriks Metalloproteinazlar

İsim	Numara	Substrat/Fonksiyon
Kollajenazlar		
İnterstisyel kollajenaz	MMP-1	Kollajenler (I, II, III, VII) ve bazal membran komponentleri
Kollajenaz 3	MMP-13	Kollajenler (I, II ve III)
Jelatinazlar		
Jelatinaz A	MMP-2	Jelatinler, kollajenler (I, IV, V, VII) ve bazal membran komponentleri
Jelatinaz B	MMP-9	Jelatinler, kollajenler (IV, V, IX) ve bazal membran komponentleri
Stromelizinler		
Stromelizin 1	MMP-3	Fibronektin, laminin, kollajenler (III, IV, IX) ve MMP aktivasyonu
Membran tip MMP'ler		
MT1-MMP	MMP-14	Kollajenler (I, II, III), fibronektin, laminin-1; proMMP-2 ve proMMP-13'ün aktivasyonu

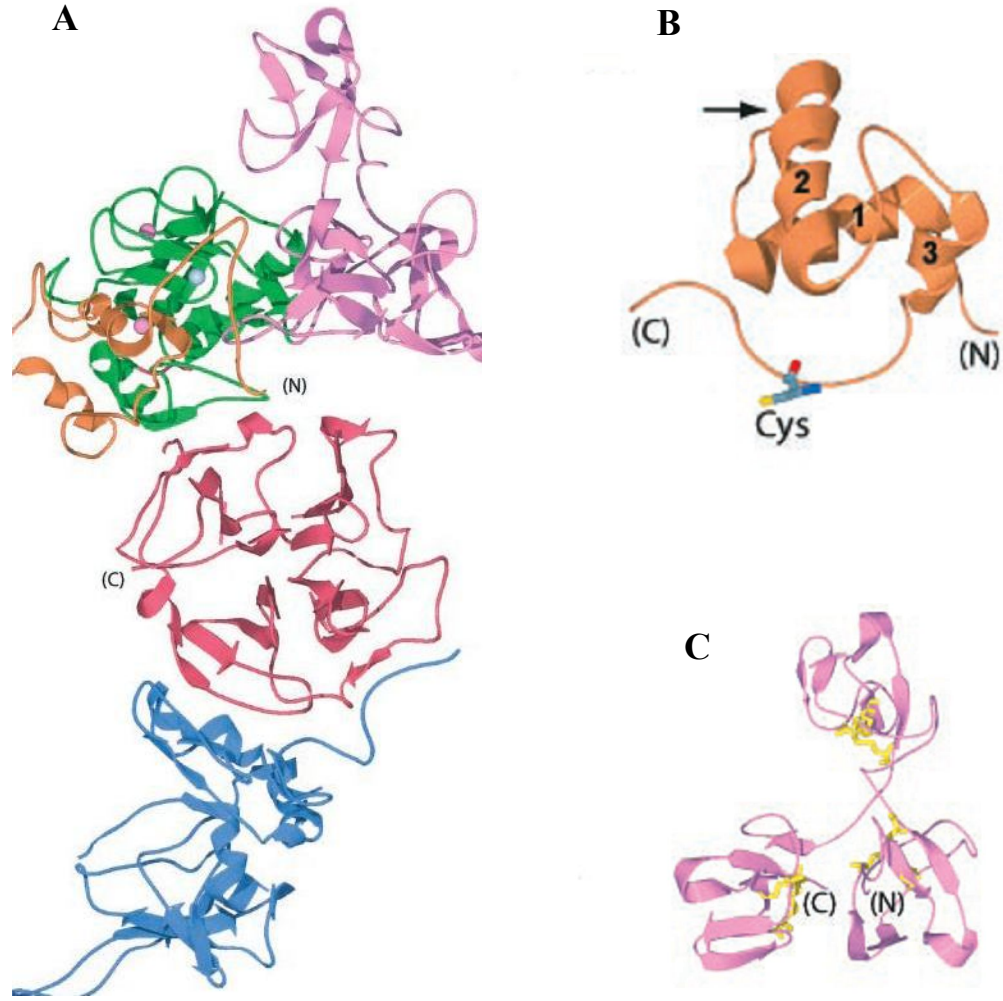
2. Matriks Metalloproteinazların Üç Boyutlu Yapıları

X ışını kristallografisi ve nükleer manyetik rezonans (NMR) MMP'lerin birçoğunun üç boyutlu yapılarını belirlemiştir. "Prodomain"ın yapısı MMP-2, MMP-3 ve MMP-9'da bilinmektedir. Üç α sarmalı ve birleştirici loop'lardan oluşur (Şekil 2B).

Sarmal 1 ile 2 arasındaki ilk loop proteaza duyarlı bir “cezbedici bölge”dir. “Katalitik domain”in substrat bağlayıcı yarığında sarmal 3’ten sonra bir peptid bölgesi uzantısı vardır. Bu bölge, zimojeni inaktif tutarak, aktif taraf çinko’sunun dördüncü ligandını oluşturan korunmuş “sistein anahtarı”nı içerir. Bir peptid substratın karşısındaki aktif taraf yarığı ile etkileşen propeptid omurgasının yönelmesi fark edilir. Aktif taraf ile etkileşen hidrojen bağları ise bir substrat omurgasınıninkilerle aynıdır (1).

MMP-2 ve MMP-9’da bulunan üç “fibronektin tip II domaini” tekrarı beşinci β -sarmalı ile katalitik taraf sarmalı arasına girmiştir (Şekil 2A ve 2C). Her bir “fibronektin domaini”nin yapısı, kısa bir α sarmalı ile bağlanan ve iki disülfid bağı ile stabilize edilen birbirine paralel olmayan iki β tabakasından oluşur (1). NMR çalışmaları göstermiştir ki, “domain” 2 ve 3, muhtemelen ESM’deki birçok taraflar ile eş zamanlı olarak etkileşmelerinden dolayı oldukça esnektir (37).

MMP-9’un “hemopeksin domaini” TIMP-1’in “C-terminal domaini”ni bağlar (38). Rekombinant MMP-9 “hemopeksin domaini” gelatine bağlanır ve melanoma hücrelerinin invazyonunu inhibe edebilir (39). TIMP-2, proMMP-2’nin “hemopeksin domaini”ne bağlanır (1).



Şekil 2: MMP'lerin üç boyutlu yapıları: A. ProMMP-2-TIMP-2 kompleksi görülmektedir. Turuncu propeptidi, yeşil “katalitik domain”i, pembe “fibronektin domainleri”ni, kırmızı “hemopexin domaini”ni ve mavi TIMP-2’yi göstermektedir. B. MMP-2 propeptidinde, sistein anahtarı motifinin sisteini görülmektedir. Ok, parsiyel aktivasyon ile sonuçlanan ayrılmanın başlangıç yerini göstermektedir. C.MMP-2’nin üç “fibronektin domaini” ve her birinin iki disülfid bağı görülmektedir.

3. ProMMP'lerin Aktivasyonu

a. Kademeli aktivasyon mekanizması

MMP'ler proteinazlar tarafından veya in vitro olarak "thiol" modifiye edici ajanlar (4-aminofenilmerkürük asetat, $HgCl_2$ ve N-etilmaleimid), okside edilmiş glutasyon, SDS, "chaotropic" ajanlar ve reaktif oksijenler tarafından aktive edilebilir. Düşük pH ve ısı tedavisi de aktivasyona yol açabilir. Bu ajanlar çoğunlukla sistein anahtarının sistein-çinko etkileşimini bozarak işlev görür (40, 41). Yakın zamanda nitrik oksit (NO) serebral iskemi sırasında sistein anahtarının "thiol" grubu ile reaksiyona girerek ve S-nitrozile edilmiş bir türevini oluşturarak proMMP-9'u aktive ettiği gösterilmiştir (proMMP'nin in vivo kimyasal aktivasyonu) (42).

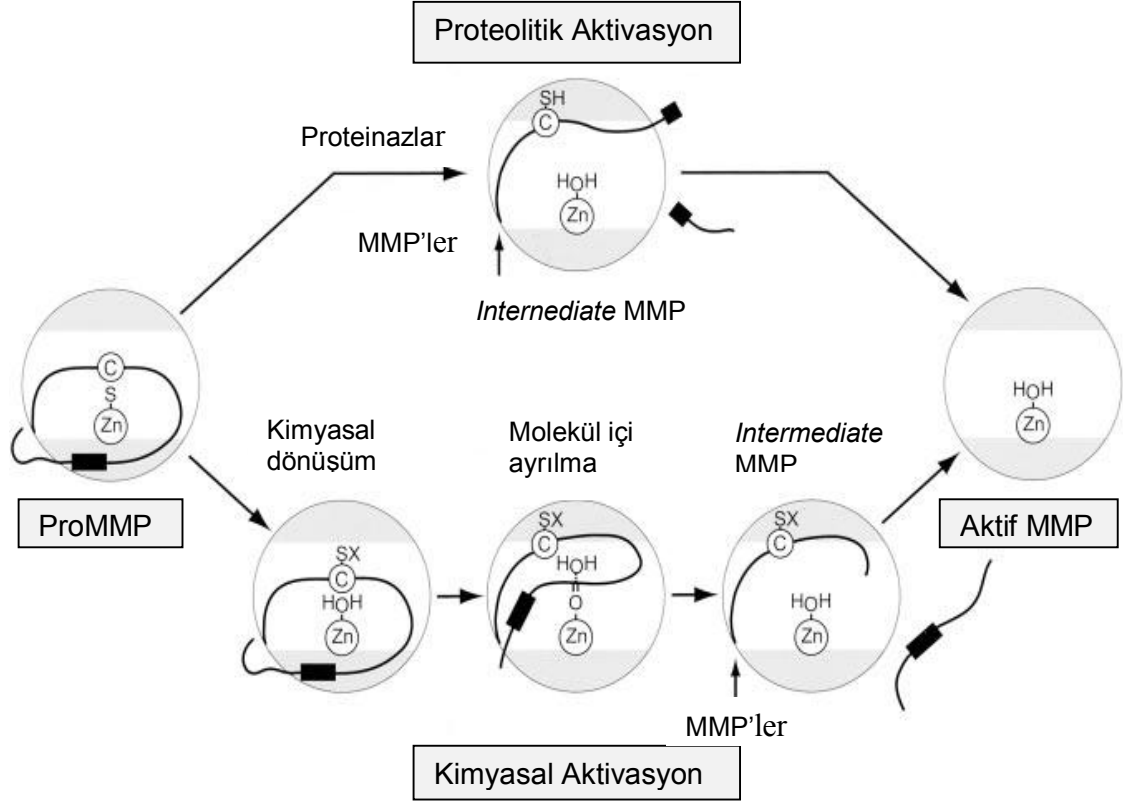
MMP'lerin proteolitik aktivasyonu birçok durumda kademelidir (Şekil 3). İlk proteolitik etki, propeptidin birinci ve ikinci sarmalları arasındaki bir korunmasız loop bölgesinde başlar. Cezbedici bölgenin ayırma özgüllüğü her bir MMP'de bulunan dizilim tarafından kodlanır. Propeptidin bir parçası ayrılınca, bu, kısmen aktive olmuş ara MMP'ler veya diğer aktif MMP'ler tarafından moleküller arası etkileşime izin verecek şekilde sistein anahtarı-çinko etkileşimine olanak sağlayarak propeptidin geri kalanını destabilize eder (21, 43). Böylece, aktivasyonun son basamağı bir MMP tarafından yürütülür.

Plazminin proMMP-1, proMMP-3, proMMP-7, proMMP-9, proMMP-10 ve proMMP-13'ü aktive ettiği bildirilmiştir (44). Aktive olan MMP'ler diğer MMP'lerin işlenmesinde rol alabilirler. TIMP'lerin MMP'ler tam olarak aktive olmadan önce ara MMP'lerle etkileşmek suretiyle MMP'lerin aktivasyonuna müdahale ettikleri göz önüne alındığında, kademeli aktivasyon sisteminin, destrüktif enzimleri kontrol eden daha hassas düzenleyici mekanizmalara uyum sağlamak için geliştirilmiş olabileceği düşünülebilir (45).

b. Hücre içi aktivasyon

ProMMP'lerin çoğunluğu hücrelerden sekrete edilir ve hücre dışında aktive edilir. İlk olarak Pei ve Weiss (46) proMMP-11'in (stromelizin 3) furin tarafından hücre içinde aktive edildiğini göstermiştir. ProMMP-11, propeptidin C-terminal ucunda furin'i tanıyan bir dizilime sahiptir. Altı adet MT-MMP, MMP-23 ve epilizin (MMP-28) gibi diğer bazı MMP'lerin de propeptidinde benzer bir temel motif vardır. Bu

proteinler genellikle aktif enzimler olarak salgılandıklarından dolayı gen ekspresyonları ve endojen inhibitörler tarafından inhibisyonları aktivitelerinin regülasyonu için çok önemlidir (1).



Şekil 3: ProMMP'lerin kademeli aktivasyonu. İnaktif zimojenler olarak sekrete edilen proMMP'ler proteinazlar tarafından (proteolitik aktivasyon) ya da proteolitik olmayan ajanlar tarafından (kimyasal aktivasyon) aktive edilirler. "Katalitik domain" gri ile, katalitik taraf çinkosunu da (Zn) içine alan aktif taraf yarığı beyaz ile gösterilmiştir. Propeptit, şematik olarak cezbedici bölgeyi (siyah dikdörtgen) ve sistein anahtarını da (C) içine alan siyah bir çizgi ile gösterilmiştir. SH, sisteinin sülfhidril'ini göstermektedir. Proteinazların aktivasyonu cezbedici bölgenin ayrılması ile başlatılır; bu MMP'yi kısmen aktive eder. Tam aktivasyon, moleküller arası işlemler sonucunda propeptidin tam olarak uzaklaştırılması ile sağlanır. Kimyasal aktivasyon, sistein anahtarı sülfhidrilinin (SX) dönüşümüne dayanır ve MMP'nin kısmi aktivasyonu ve propeptidin molekül içi ayrılması ile sonuçlanır. Tam aktivasyon, propeptidin geri kalan kısmının moleküller arası işlemler ile uzaklaştırılması sonucunda gerçekleşir.

c. ProMMP-2'nin hücre yüzey aktivasyonu

ProMMP-2 genel proteinazlarla kolayca aktive edilmez. ProMMP-2'nin esas aktivasyonu hücre yüzeyinde ve MT-MMP'ler aracılığı ile oluşur. Burada MT1-MMP, MT2-MMP, MT3-MMP, MT5-MMP ve MT6-MMP rol oynar (1). ProMMP-2'nin MT1-MMP aracılıklı aktivasyonu için TIMP-2'nin yardımı gereklidir. ProMMP-2, TIMP-2 ile "C-terminal domainleri"nden sıkı bir kompleks oluşturur, böylece kompleks içerisindeki TIMP-2'nin "N-terminal inhibitör domaini"nin hücre yüzeyindeki MT1-MMP'ye bağlanmasına izin verir. Hücre yüzeyine bağlı olan proMMP-2 daha sonra TIMP-2'den bağımsız olan bir MT1-MMP tarafından aktive edilir. Alternatif olarak, TIMP-2 tarafından inhibe edilen MT1-MMP proMMP-2'nin bir "reseptörü" olarak görev yapabilir. Bu MT1-MMP-TIMP-2-proMMP-2 kompleksi aktivasyon için yakındaki serbest bir MT1-MMP'ye sunulur. MT2-MMP tarafından proMMP-2 aktivasyonu direkttir ve TIMP-2'den bağımsızdır (1).

4. Matriks Metalloproteinazların Substrat Özgüllüğü

Genel olarak MMP'ler bir peptit bağımlı lösin (Leu), izölösin (Ile), metyonin (Met), fenil alanin (Phe) veya tirozin (Tyr) gibi hidrofobik bir yan zinciri olan bir kalıntıdan önce ayırır. Bu pozisyondaki şarj olmuş kalıntısı olan bir peptit bağı nadiren ayırır. Hidrofobik kalıntılar, MMP'ler arasında boyutu ve şekli belirgin olarak değişen S' özgüllük cebinin içine uyar. S' özgüllük cebinin yanı sıra diğer substrat temas yerleri de enzimin substrat özgüllüğünde rol alır (1).

5. Matriks Metalloproteinaz-Aracılıklı Ayrışma ile Oluşturulan Biyolojik Aktiviteler

MMP'lerin önemli bir fonksiyonu doku rezorpsiyonunda ESM'nin uzaklaştırılmasıdır. ESM ise basit bir ekstraselüler yapı iskelesi değildir; aynı zamanda büyüme faktörleri gibi biyolojik olarak aktif moleküllerin bir rezervuarı olarak rol oynar. Bazı ESM komponentlerinin proteolizis üzerinde gizli biyolojik fonksiyonları bulunabilir. Bu nedenle ESM komponentlerinin MMP'ler tarafından parçalanması hücrel çevreyi ve fenotipleri değiştirebilir (1). Örneğin; tip I kollajenin kollajenaz tarafından parçalanması osteoklast aktivasyonu, reepitelizasyon sırasında keratinosit migrasyonu ve doğum başlamadan önce amnion epitel hücrelerinin apoptozisi ile birliktedir (47-49). Laminin 5'in γ_2 zincirinin MMP-2- ve MT1-MMP-aracılıklı

ayrılması gizli bir promigratuvar bölgeyi açığa çıkarır ve normal meme epiteliyal hücrelerinin migrasyonunu artırır (50, 51). Periferik sinirlerin Schwann hücrelerinden salınan MMP-2, kondroitin sülfat proteoglikanları parçalar ve nörit gelişimini kolaylaştırır (52). Görüldüğü gibi, MMP'lerin fonksiyonları basit bir yıkım değil, son derece kompleks ve incedir. MMP'lerin substratı olan ve biyolojik aktiviteler sergileyen ESM dışı proteinlerin de sayılarının giderek arttığı göz önüne alındığında MMP'lerin sağlık ve hastalık durumlarındaki rollerinin karmaşıklığı daha iyi anlaşılacaktır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda MMP'lerin ESM komponentleri yanında ESM dışı molekülleri de substrat olarak kullandığına ve biyolojik aktivitelerini düzenlediğine ilişkin kanıtlar elde edilmiştir. Bunlar arasında IGF-BP ("insulin like growth factor-binding protein"; insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein), proTGF- β ("pro-transforming growth factor- β "; pro-transforme edici büyüme faktörü- β), gibi büyüme faktörü öncülleri ve bağlayıcı proteinler; proTNF- α ("pro-tumor necrosing factor- α "; pro-tümör nekroze edici faktör- α), proIL-1 β (pro-interlökin-1 β), ve IL-2 (interlökin-2) gibi sitokinler, E-kaderin, β_4 -integrin, sindekan-1, ICAM-1 (interselüler adezyon molekülü-1), α_v integrin gibi adezyon reseptörleri vardır. Bu yeni tanımlanan özellikler, MMP'lerin daha önce anlaşıldığından çok daha fazla fizyolojik ve patolojik olayla ilişkili olduğunu öngörmektedir (14, 53).

6. Endojen Matriks Metalloproteinaz İnhibitörleri

Doku metalloproteinaz inhibitörleri MMP'lerin özgül inhibitörleridir. Vertebralılarda dört tip TIMP (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4) belirlenmiştir ve salınmaları gelişim ve doku yeniden şekillenmesi sırasında düzenlenir. Dengesiz MMP aktivitelerinin bulunduğu patolojik koşullarda TIMP düzeylerindeki değişikliklerin önemli olduğu düşünülmektedir; çünkü direkt olarak MMP aktivitesinin düzeyini etkilerler (1).

TIMP'ler (21-29 kDa) her biri üç korunmuş disülfid bağı içeren, sırasıyla 125 ve 65 aminoasitlik bir "N- ve C-terminal domaini"ne sahiptirler. "N-terminal domaini" ayrı bir ünite olarak katlanır ve MMP'leri inhibe etme yeteneğine sahiptir. TIMP molekülünün şekli, MMP'nin aktif taraf yarığına, bir substratinkine benzer şekilde oturan bir kamaya benzer. Şekil 5'te MT1-MMP'nin "katalitik domaini"nin ve TIMP-2'nin yapıları ve birbirleriyle etkileşimleri gösterilmiştir. TIMP-2'nin "katalitik

domain" ile esas etkileşim yerleri N-terminalin dört kalıntısı ve onlara komşu CD-loop bölgesidir. N-terminalin dört kalıntısı katalitik bölge yarığına, bir substratinkine benzer şekilde omurga temasları yaparak bağlanır (1).

TIMP-1, TIMP-2 ve TIMP-4 eriyebilir durumda salınırken TIMP-3 ESM ile ilişkilidir. TIMP'ler, MMP aktivitesinin inhibitörleri olmalarının dışında biyolojik etkilere de sahiptirler. TIMP-2, aynı zamanda MT1-MMP aracılığıyla MMP-2'nin aktivasyonunda da rol alır (2).

TIMP-1'in MT1-MMP'yi inhibe edememesi dışında TIMP'ler şimdiye kadar test edilen tüm MMP'leri inhibe ederler (54).

Kardiyovasküler hastalıklarda ve kanserde gen tedavisi ile ya da direkt protein uygulanması ile TIMP'lerin bir tedavi yöntemi olarak uygulanması ile ilgili çalışmalar henüz erken bir fazdadır (55). Bir ateroskleroz fare modelinde TIMP-1'in adenoviral aşırı salınımı lezyonda gerilemeye sebep olmuştur (56). Ratlarda oluşturulan bir anevrizma modelinde TIMP-1'in lokal salınımı anevrizma rüptürünü önlemiştir (57).

7. Metalloproteinazların Doku İnhibitörlerinin Biyolojik Fonksiyonları

Metalloproteinaz inhibe edici aktivitelerinin yanında TIMP'ler diğer biyolojik fonksiyonlara da sahiptirler. TIMP-1 ve TIMP-2'nin eritroid güçlendirici ve hücre büyümesini artırıcı aktiviteleri vardır (58-61). TIMP-1'in fibroblastların nukleusunda bulunduğu, meme karsinomu hücrelerinin yüzeyine bağlandığı ve nukleusuna göç ettiği gösterilmiştir (62, 63). Nefron morfogenezisi sırasında TIMP-2 metanefrik mezenkimal gelişimde ve üreter tomurcuğunun oluşumunda rol alır (64). TIMP-1, TIMP-2 ve TIMP-3'ün aşırı salınımı tümör büyümesini inhibe eder (65). TIMP-2, bazal fibroblast büyüme faktörünün sebep olduğu endotelial hücre gelişimini inhibe eder. Bu aktiviteler de MMP inhibisyonundan ayrıdır ve mekanizmaları büyük oranda açıklanmamıştır (1).

TIMP-3 muhtemelen TNF- α hücre reseptörü 1, Fas ve TNF- α ilişkili apoptozisin stabilizasyonu ile proapoptotik aktiviteye sahiptir (66, 67). Diğer yandan TIMP-1 ve TIMP-2 ise antiapoptotik aktiviteye sahiptir. Makuler dejenerasyona bağlı körlüğe neden olan otozomal dominant bir hastalık olan Sorsby'nin fundus distrofisinde TIMP-3 mutasyonları saptanmıştır. Mutant TIMP-3 Bruch membranında birikmekte ve MMP inhibisyonunda azalma meydana gelmektedir; bunun da anjiyogenezisi artırdığı düşünülmektedir (68-70).

MMP'lerin özgül inhibitörlerinin yapılarının gelecekte açıklanması önemlidir. Bu inhibitörler yalnızca MMP'lerin biyolojik rollerine ışık tutmak için değil, aynı zamanda dengesiz ESM parçalanması ile ilgili hastalıklar için tedavi girişimlerinin geliştirilmesi için de yararlıdır (1).

B. VASKÜLER YENİDEN ŞEKİLLENMEDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR

“Vasküler yeniden şekillenme” kan damarlarının boyutunda ve/veya bileşimindeki kalıcı değişiklikleri tanımlamak için kullanılmakta olup, yalnızca kan damarlarının ortam koşullarına adapte olması ve daha sonra iyileşmesine olanak sağlamaz, aynı zamanda ateroskleroz ve restenoz gibi major kardiyovasküler hastalıkların da patogenezi açıklar. Fizyolojik ve patolojik yeniden şekillenme damar duvarının ESM iskeletinin yıkımını ve yeniden organizasyonunu gerektirir ve MMP'ler burada önemli rol oynarlar (14). Serum elastaz aktivitesinin artmasının ateroskleroz ve artmış kardiyovasküler hastalık riski ile, artmış MMP-2 ve MMP-9 aktivitesinin ise insanlarda ve hayvanlarda arterlerin elastik laminasının yıkılması ve anevrizma oluşumuyla ilişkisi gösterilmiştir (6). İmmünohistokimyasal olarak Marfan sendromunda aortada düz kas hücrelerinde MMP-2 salınımının artmış olduğu ve bu artışın düz kas hücre apoptozisi ve anevrizma ile ilişkisi gösterilmiştir (71).

Vasküler ve enflamatuar hücrelerin MMP'leri ürettiği gösterilmiştir; ancak bazal olarak ve herhangi bir uyarıya yanıt olarak sekrete edilen MMP'lerin türleri farklıdır. Normal kan damarlarının, insan endotel hücrelerinin ve düz kas hücrelerinin major hücresel öğeleri esas olarak *in vitro* MMP-2, TIMP-1 ve TIMP-2 üretirler (14).

İmmünohistokimyasal çalışmalar göstermiştir ki; hastalısız insan arterleri ve deneysel hayvan arterleri benzer şekilde, duvarı boyunca MMP-2 ve inhibitörleri olan TIMP-1 ve TIMP-2'yi salgırlar. Halbuki *in situ* enzimatik aktivite belirlenmemiştir, bu da zimojen çokluğunda MMP aktivitesinin sıkı kontrol altında olduğunu düşündürmektedir (72, 73). Diğer taraftan, hastalıklı insan arterlerinde bazı MMP'lerin fokal olarak artmış salınımı ve MMP aktivitesinin varlığı, deneysel ateroskleroz ve restenoz modellerinde de arteriyel morfolojik değişikliklerle birlikteliği gözlenmiştir. Bu nedenle MMP'lerin patolojik durumlarda kan damarlarının yeniden şekillenmesini kolaylaştırdığı düşünülmüştür (14).

C. VASKÜLER MATRİKS METALLOPROTEİNAZ SALINIMININ VE AKTİVİTESİNİN MAJOR UYARANLARI

Vasküler yeniden şekillenmenin major etkenleri olan hemodinamikler, travma, enflamasyon ve oksidatif stres MMP salınımını ve aktivasyonunu düzenler (14). Bassiouny ve ark. (74) tavşan karotis arterlerinde düşük akım durumu ile balon hasarını kombine ettikleri çalışmalarında düşük kan akımının, arteriyel proMMP-2 salınımını düzenlemede hasarlanmadan daha önemli olduğunu öne sürmüşlerdir. Bir sıçan modelinde karotis arter akımının kesilmesi, MMP-9 salınımının önemli derecede erken artışı ve yaygın yeniden şekillenme ile sonuçlanmıştır (75). Tersine, rat arteriyovenöz fistülü bölgesinde selektif olmayan bir MMP inhibitörü yaygın yeniden şekillenmeyi inhibe etmiştir (76). Domuz arterlerinde transmural basıncın yükselmesi in vitro olarak MMP-2 ve MMP-9'un matriks yıkıcı aktivitesini artırmıştır ki bu MMP'lerin hipertansiyonda gözlenen erken vasküler yeniden şekillenmede rolü olabileceğini düşündürür (77).

Hemodinamik çevredeki değişikliklerin safen ven greftlerinin başarısızlığında çok önemli olduğu düşünülmektedir. MMP'lerin potansiyel rolü ile ilgili araştırmalar, domuz safen veninin karotis arter pozisyonuna yerleştirilmesi sonrasında MMP-2 ve MMP-9 üretiminin arttığını göstermiştir (78).

Kollajen birikimi ile birlikte NO yıkımının, balon hasarı sonrasında tavşan femoral arterlerinin konstriktif yeniden şekillenmesinden sorumlu olduğu düşünülmüştür (79). Tavşanda arteriyovenöz fistül ile oluşturulan akıma bağlı yeniden şekillenme çalışmaları, NO'nun etkisinin MMP salınımının modülasyonu sonucunda ortaya çıktığını düşündürmüştür (80). Hastalıklı damarlarda aktive vasküler hücreler ve infiltre olan enflamatuar hücreler tarafından oluşturulan diğer reaktif türlerin varlığında ise NO'nun biyolojik etkilerinin modifiye edildiği gözlenmiştir (81). Örneğin; NO ve superoksidin eş zamanlı üretiminin, latent MMP'leri aktive ettiği ve TIMP-1'i parçaladığı bilinen peroksinitrit'i oluşturduğu gösterilmiştir (14). Böylece, normal koşullarda sağlıklı damarlarda NO üretimi MMP salınımını kontrol altında tutmaya yardım ederken, hastalıklı damarlarda NO sekonder reaksiyonlarının ürünleri MMP/TIMP dengesini matriks degradasyonu lehine çevirebilir. Dismutazların etkisi ile superoksit'ten oluşturulabilen hidrojen peroksit gibi diğer reaktif türler MMP aktivitesini de module edebilir (14).

Enflamatuar hücreler, MMP'lerin ve vasküler matriksi yıkan katepsinler gibi diğer proteazların önemli bir kaynağıdır. Ayrıca aktive makrofajlar vasküler hücrelerde MMP gen ekspresyonunu artıran sitokinleri sekrete ederler (14).

D. ATEROSKLEROZDA MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE VASKÜLER YENİDEN ŞEKİLLENME

İn vitro olarak insan ateromunda, fibröz kapsül kollajeninin köpük hücresi makrofajların ürettiği MMP'ler tarafından fokal olarak yıkıldığı, tavşanda geliştirilen deneysel aterosklerotik lezyon modelinde ise in vivo plak rüptürü gösterilmiştir (14).

Aterosklerotik plak gelişimi, hastalıklı arterin intima tabakasında hücre, ESM ve lipid birikimine yol açan yapısal değişiklikler sonucunda olur. Son zamanlarda farelerde yapılan çalışmalar MMP-2 ve MMP-9'un düz kas hücrelerinin migrasyonunda ve intimal hiperplazide rol aldıklarını göstermiştir (82, 83). Monositik hücrelerin formaldehit ile fikse edilmiş insan endotel hücre tabakası ile direkt etkileşiminin monosit MMP-9 üretimini birkaç kat artırdığı gösterilmiştir, fakat mekanizması açıklanamamıştır (84). İn vitro olarak T lenfositlerle endotel hücre tabakası arasındaki hücresel etkileşimin, T hücreleri tarafından bazal membranı parçalayan MMP-2 sekresyonunu tetiklediği gösterilmiştir. Bu sekreyon, endotel hücreleri tarafından VCAM-1'in ("vascular cell adhesion molecule-1"; vasküler hücre adezyon molekülü-1) salınımına bağlıdır (85). İnflamatuvar hücrelerin diapedezisi sırasında endotel hücre bazal membranının MMP tarafından yıkımı endotelin bariyer fonksiyonunda azalmaya ve böylece lipoproteinler de dahil plazma proteinlerinin geçişinde artışa katkıda bulunur (86). Damar duvarından infiltre olan hücreler ESM, okside olmuş lipidler ve birbirleriyle etkileşirler. Tüm bu etkileşimler makrofajlarda MMP üretimini artırır. Makrofajlar aynı zamanda komşu hücreler tarafından MMP üretimini ve sekrete edilmiş MMP zimojenlerinin aktivasyonunu da stimüle ederler. Gelişmekte olan aterosklerotik lezyonlardaki bu artmış MMP aktivitesi daha ileri yapısal değişiklikleri kolaylaştırır ve büyümelerine olanak sağlar (14).

Aynı zamanda MMP'lerin matriks yıkımına yol açarak aterosklerotik plakların zayıflamasına ve gevşemesine neden olmak suretiyle plak rüptürüne neden oldukları gösterilmiştir (2, 14). Akut koroner sendromlu hastalarda periferik kanda MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinin artmış olabileceği bildirilmiş ve bu nedenle plak zedelenme

olasılığının belirlenmesinde invazif olmayan test olarak kullanılabileceğini akla getirmiştir.

Balon anjiyoplasti sonrası gelişen restenozda da jelatinaz aktivitesindeki artışın ve buna bağlı kollajen kontentindeki azalma ve intimal kalınlaşmanın etkili olduğu bildirilmiştir (87). Rat karotis arter hasarı modelinde selektif olmayan bir MMP inhibitörünün verilmesinin düz kas hücresi migrasyonunu ve neointimal kalınlaşmayı azaltması da MMP'lerin vasküler matriksin ve özellikle internal elastik laminanın yıkımında rol alarak dış tabakalarda düz kas hücrelerinin göçüne olanak sağladığını desteklemiştir (88, 89).

MMP aktivitesinde artışa yol açan çeşitli etkenler MMP/TIMP oranında dengesizliğe yol açarak ESM yıkımına neden olarak ateroskleroz ve vasküler yeniden şekillenme gelişimine katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle MMP aktivitesinin veya MMP/TIMP dengesinin düzenlenmesinin aterosklerozun tedavisinde ve önlenmesinde yararlı olabileceği akla gelmektedir. Ancak deneysel balon hasarı sonrası arteriyel restenozun gelişmesini önlemek için çeşitli nonspesifik inhibitörlerinin kullanımı ile elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Batimastat ve GM 6001 gibi selektif olmayan sentetik MMP inhibitörlerinin kullanıldığı bazı çalışmalarda düz kas hücresi göçünde ve intimal hiperplazide belirgin azalma olduğu bildirilirken (89, 90-92), diğer çalışmalarda Batimastat ve onun ikinci kuşak oral türevi olan Marimastat'ın kullanımının restriktif yeniden şekillenmede belirgin bir inhibitör etki göstermesine karşın neointima oluşumuna etki etmediği gözlenmiştir (93, 94). Bakteriyel protein sentezini inhibe ederek antibiyotik etki gösteren doksisiklin ve diğer tetrasiklin türevlerinin güçlü MMP inhibitörleri olduğu gösterilmiştir. Doksisiklin verilmesi, ratlarda karotis arterde oluşturulan balon hasarı sonrasında arteriyel duvarda MMP-2 ve MMP-9'un aktivitesini azaltmış ve intimal hiperplaziyi inhibe etmiştir (95). Selektif MMP inhibitörlerinin henüz var olmaması nedeniyle bireysel olarak MMP'lerin rolleri hakkındaki bilgiler son derece kısıtlıdır (14). İnsan safen ven organ kültürüne TIMP-1 ve TIMP-2'nin adenoviral transfeksiyonunun MMP-2 ve MMP-9 üretimini veya düz kas hücresi proliferasyonunu inhibe etmeksizin MMP-2 ve MMP-9 jelatinolitik aktivitesini inhibe ettiği ve neointimal kalınlaşmayı azalttığı gösterilmiştir (96). Yakın zamanda yeşil çay kateşinlerinin MMP'leri inhibe ettiği ve kateşinlerin fizyolojik konsantrasyonlarda matriks proteinleri aracılığıyla düz kas hücresi invazyonunu bloke ettiği gösterilmiştir (2).

E. KALPTE EKSTRASELÜLER MATRİKS VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ SİSTEMLERİ

Kalbin interstisyumu bağ dokusu, stroma, sınırlar ve kan damarlarından oluşur. Bağ dokusu, esas olarak kollajenden, daha az miktarlarda da fibronektin, laminin ve elastinden oluşur. Fibriler kollajen matrisin organizasyonu, miyozitleri, miyofibrilleri, kas liflerini ve demetlerini çevreleyen, gruplandırıcı ve birleştiren çapraz lif ağları olarak tanımlanmaktadır (97). Miyokardiyal liflerde bulunan kollajen tipleri kollajen I, III ve V'tir. Kalbin kontraktıl ünıtları ile yakın temasta olduğundan dolayı ESM, ventrikül boyutu ve şeklinin yanı sıra diyastolik ve sistolik fonksiyonlarını da etkileme yeteneğine sahiptir (97).

MMP'lerin matris proteinlerini parçalama yetenekleri konusunda çakışmalar olmakla birlikte, koordine bir şekilde rol oynadıkları görülmektedir. Tipik olarak, kollajenazlar (MMP-1, MMP-8 ve MMP-13) nativ tip I, II ve III kollajenlerin her üç alfa zincirini tek bir spesifik noktada $\frac{3}{4}$ ve $\frac{1}{4}$ fragmanlarına ayırmak suretiyle yıkım sürecini başlatırlar. Fizyolojik sıcaklıklarda, ayrılan fragmanlar kendiliğinden helikal olmayan jelatin ürünlerine denatüre olurlar. Jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9) bu ürünleri, nonspesifik protezlar tarafından tekrar ayrıştırılacak olan daha küçük peptitlere dönüştürürler (97).

F. MİYOKARDİYAL YENİDEN ŞEKİLLENME

Miyokardiyal strete kardiyak hasara ve/veya ventriküler volüm veya basınçtaki kalıcı yükselmelere ikincil artış, miyokarddaki musküler, vasküler veya ESM komponentlerinde kompensatuvar bir yapısal yeniden şekillenmeyi başlatır. Bu yeniden şekillenme süreci, miyokardiyal komponentlerin relatif kompozisyonunun yanı sıra ventrikül duvarı ve kalp boşluklarının çaplarında ilerleyici değişikliklerden oluşur. Yükselmiş olan stresin büyüklüğüne ve süresine bağlı olmak üzere, var olan miyozitler genişler ve/veya sarkomer seri olarak eklenir ve ESM'in fibriler kollajen konsantrasyonu, tipleri ve çapraz bağlanmasında değişiklikler oluşur. Bu sürecin sonucu olarak, strese maruz kalan ventrikül başlangıçta yeterli fonksiyon, normal şekil ve ventriküler kitle/volüm oranını korur. Ancak daha sonra kalbin kompensasyon yeteneğinin tükendiği bir noktaya gelinir ve kalp yetersizliği başlar. Bu safhada, ventriküler duvar kalınlığı, artmış boşluk çapına göre orantısız dercede azalmıştır ve ventrikül küresel şekil almaya başlar. ESM miyokardın tüm diğer komponentleriyle

yakın temas halinde olduğundan dolayı, ventrikül şeklinin, boyutunun ve fonksiyonunun korunmasında çok önemli rol oynar. Matriks fibriler kollajen ağı ile yakın ilişkide bol miktarda latent MMP'ler vardır. Böylece, kollajen yıkımının kollajen sentezine üstün gelmesi için önemli miktarda MMP aktivasyonu olmalıdır. Son zamanlarda, MMP aktivasyonunun ve bunun sonucunda gerçekleşen fibriler kollajen yıkımının istenmeyen ventriküler yeniden şekillenmeden sorumlu olduğuna ve kardiyak mast hücrelerinin bu sürecin başlatılmasında önemli bir rol oynadığına dair veriler toplanmaktadır (97).

G. SOL VENTRİKÜL YENİDEN ŞEKİLLENMESİNDE VE KALP YETERSİZLİĞİNDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN VE DOKU İNHİBİTÖRLERİNİN ROLÜ

Hayvan deneylerinde MMP'lerle sol ventrikül yeniden şekillenme süreci arasında bir neden/sonuç ilişkisi olduğu açıkça gösterilmiştir. Ratlarda kronik hızlı pacing ile oluşturulan bir kalp yetersizliği modelinde miyokardiyal MMP'lerdeki artışın sol ventrikül yeniden şekillenmesi ve sonuç olarak ta pompa disfonksiyonuna neden olduğu gösterilmiştir (98, 99). Kardiyomiyopatik hamster modelinde ise özellikle ciddi kardiyak yeniden şekillenmenin olduğu kardiyomiyopatik sol ventrikül örneklerinde artmış in vitro MMP aktivitesinin bulunduğu gösterilmiştir (100). Spontan hipertansif kalp yetersizliği rat modelinde miyokardiyal MMP düzeylerindeki artışın kompanse sol ventrikül hipertrofisinden dekompanse dilate kardiyomiyopatiye dönüşüm aşamasında olduğu gözlenmiştir (101). Böylece, bazı hayvan modellerinde artmış MMP salınımı ve aktivitesi ile miyokardiyal yeniden şekillenme süreci ve yetersizliğe ilerleme arasında zamana bağımlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir.

Farelerde TIMP-1 delesyonu ile MMP'lerin inhibitör kontrolünün kaybının sol ventrikül dilatasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (102). Bazı hayvan modellerinde geniş spektrumlu MMP inhibisyonunun sol ventrikül yeniden şekillenme sürecini hafiflettiği gösterilmiştir (36).

Farelerde kronik volüm yüklenmesi sonucu meydana gelen bozulmuş kardiyak fonksiyonun MMP-9 aktivasyonuna yanıt olarak endokardiyal-endotelial apoptozis, kardiyak yeniden şekillenme ve endotel-miyozit ayrışması ile birlikte olduğu gösterilmiştir (103).

Kalp yetersizliğinde proMMP-2 ve proMMP-9 aktivite düzeylerinin ve TIMP-1 protein değerinin arttığı, TIMP-2 protein değerinin artmadığı, MMP konsantrasyonlarının NYHA'ya ("New York Heart Association") göre fonksiyonel kapasite sınıflaması ile korelasyon göstermediği, proMMP-2 düzeyi ile sol ventrikül volümü arasında pozitif korelasyon bulunduğu gösterilmiştir (104). Kalp yetersizliğinin klinik fazına bağımlı olmaksızın metalloproteinaz protein düzeylerinin yüksek bulunması, kalp yetersizliği olan hastalarda persistan ekstraselüler yeniden şekillenmenin varlığını düşündürmektedir (104). Yan ve ark. (105) ise kalp yetersizliği olan hastalarda plazma MMP-9 düzeylerinin yüksek olduğunu ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ile negatif, end-sistolik volüm değerleri ile pozitif korelasyon gösterdiğini, zaman içerisinde sol ventrikül fonksiyonlarındaki kötüleşme ile birlikte MMP-9 düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir (105). George ve ark. (106) da konjestif kalp yetersizliği olan 88 hastada serum MMP ve TIMP düzeylerini çalışmış ve MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerini kontrol grubundan yüksek bulurken, MMP-3 düzeyleri yönünden fark bulamamışlardır. Araştırmacılar çalışma parametrelerinde yalnızca MMP-2 ve NT-ProBNP düzeylerinin NYHA'ya göre fonksiyonel kapasite sınıflaması ile korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. MMP-2 ile NT-ProBNP düzeyleri ise korelasyon göstermemiştir. Serum MMP-2 düzeyi 352 ng/mL'nin üzerinde olan hastalarda mortalite ve kalp yetersizliğine bağlı hospitalizasyon oranının, bu eşik değerinin altında olan hastalara göre artmış olduğunu bildirmişlerdir. MMP-2 ve NT-ProBNP'nin 24 aylık izlem döneminde mortalitenin bağımsız belirleyicileri olduğu bulunmuştur. Yamazaki ve ark. (107) da konjestif kalp yetersizliği olan hastalarda kontrol grubuna göre serum MMP-2 düzeylerini yüksek bulmuşlardır. Wilson ve ark. (108) ise tersine konjestif kalp yetersizliği olan hastalarla kontrol grubu arasında plazma MMP-2 düzeyleri yönünden farklılık olmadığını, MMP-9 düzeyinde artma olduğunu göstermişlerdir.

Reinhardt ve ark. (109) kalp yetersizliği olan hastaların miyokardında MMP aktivitelerini çalışmışlar ve MMP-9 aktivitesinin hem koroner arter hastalığına bağlı, hem de idiyopatik dilate kardiyomyopatiye bağlı kalp yetersizliği olan hastalarda yüksek olduğunu, MMP-2'nin ise yalnızca idiyopatik dilate kardiyomyopati hastalarda artmış olduğunu, ancak transkripsiyonu gösteren MMP mRNA'sında herhangi bir artış olmadığını saptamışlardır. Bu nedenle artmış MMP aktivitesinin kaynağının yeni sentezdeki artıştan çok MMP'lerin latent formlarının aktivasyonu

olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca araştırmacılar bazı anjiyotensin konverting enzim inhibitörlerinin in vitro olarak MMP aktivitesini etkileyebildiklerini saptamışlardır.

Wang ve ark. (110) konjestif kalp yetersizliği olan hastalarda miyokardiyal MMP-2, MMP-3 ve MMP-9 salınımlarının, kalp yetersizliğinin ağırlık derecesi ile paralel olarak arttığını ve plazma TNF- α düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdiğini saptamışlar ve TNF- α değişikliklerinin MMP'lerin salınımını stimule ederek miyokardiyal yeniden şekillenmeye katkıda bulunduğunu ve konjestif kalp yetersizliğinin gelişmesine ve ilerlemesine yol açabileceğini bildirmişlerdir.

Mizon-Gerard ve ark. (111) tarafından sol ventrikül disfonksiyonu olan 444 erişkin hastada MMP gen polimorfizmleri çalışılmış ve MMP-3 5A/5A genotipi iskemik olmayan kalp yetersizliği olan hastalarda, MMP-9 polimorfizmi ise kalp yetersizliği etiyojisinden bağımsız olarak kardiyak mortalitenin belirleyicisi olarak bulunmuştur. Bu nedenle yazarlar MMP-3 ve MMP-9 polimorfizmlerinin çalışılmasının kalp yetersizliği olan hastalarda risk derecelendirmesinde önemli olduğunu ve MMP inhibisyonundan yarar görecektir hastaları seçmede yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir.

Çeşitli çalışmalarda kalp yetersizliği olan hastalarda sağlıklı kontrollere göre miyokardiyal TIMP-1 salınımının artmış, değişmemiş veya azalmış olduğu bildirilirken (112-114, 115), plazma TIMP-1 düzeyleri genel olarak yüksek bulunmuştur (104, 116, 117). Framingham Kalp Çalışmasında bildirilen TIMP-1 ile sol ventrikül kısalma fraksiyonu arasındaki ilişkinin aksine, Yan ve ark. (105) plazma TIMP-1 düzeyleri ile sol ventrikül yeniden şekillenmesinin göstergeleri arasında herhangi bir korelasyon gözlememişlerdir. TIMP-1'in daha çok kardiyak fibrozis, diyastolik disfonksiyon ve vasküler yeniden şekillenme için iyi bir marker olduğu akla yatkın görünmektedir (118, 119).

H. VOLÜM YÜKLENMESİ OLAN KALPTE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR

Mitral regürjitasyonu ve aortokaval fistül gibi volüm yüklenmesi durumlarında artmış miyokardiyal MMP düzeyleri bildirilmiştir (120, 121). Volüm yüklenmesi oluşturulan bir rat modelinde artmış miyokardiyal MMP zimografik aktivitesinin sol ventrikül volümü ve kitlesindeki değişikliklerle birlikte olduğu gösterilmiştir (121). Bu

çalışmalar, bir yüklenme stimulusu ile miyokardiyal MMP aktivitesinde erken dönemde tetiklenme meydana geldiğini, bunun daha sonra ekstraselüler miyozit desteğini değiştirdiğini düşündürmektedir. Ekstraselüler fibriler destek ve mimarideki bu değişiklikler de sırasıyla, hipertrofinin yapısal temeli olan miyozit boyutu ve geometrisindeki değişiklikleri kolaylaştırır (36).

I. HİPERTROFİK KARDİYOMİYOPATİDE GÖRÜLEN KARDİYAK YENİDEN ŞEKİLLENMEDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN ROLÜ

Sistolik disfonksiyonu olan (kısılma fraksiyonu (KF) %25'in altında olan) hipertrofik kardiyomyopati hastalarda, sistolik fonksiyonları korunmuş olan Hipertrofik kardiyomyopati hastalara ve kontrol grubuna göre plazma MMP-2 ve TIMP-2 düzeylerinin yüksek olduğu, hipertrofik kardiyomyopati hastalarda fonksiyonel kapasite azaldıkça MMP-2 konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir. MMP-3 ve MMP-9 düzeyleri açısından ise gruplar arasında fark bulunmadığı bildirilmiştir. Ayrıca MMP-2 ve TIMP-2'nin KF ile negatif, sol ventrikül çapı ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle hipertrofik kardiyomyopati hastalardaki kardiyak yeniden şekillenmeden sorumlu mekanizmalarla MMP-2 ve TIMP-2 salınımı ve aktivitesindeki değişikliklerin ilişkisi olabileceği öne sürülmüştür (122).

İ. DİLATE KARDİYOMİYOPATİ VE MİYOKARDİTTE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN AKTİVİTESİ

MMP aktivasyonunun ve bunun sonucunda ESM yıkımının kardiyomyopatik ve yetersizliği olan kalpte görülen dilatasyon, küreleşme ve artmış kompliyansa katkıda bulunduğunu gösteren klinik bulgular toplanmaktadır. Gunja-Smith ve ark. (123) dilate kardiyomyopati hastalardan alınan kalplerde kollajenaz ve jelatinaz aktivitesinde 30 kat artış ve TIMP düzeyinde göz ardı edilebilecek düzeylere kadar düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra diğer bazı araştırmacılar da dilate kardiyomyopatiye bağlı kalp yetersizliği olan hastalarda benzer şekilde MMP aktivitesinde artış ve TIMP düzeyinde azalma tespit etmişlerdir (112, 113, 124).

Kardiyomyopati doku örneklerinde, yetersizlik olmayan kontrol örneklerine göre TIMP-1 ve TIMP-3 düzeyleri azalmış iken, TIMP-2 düzeyleri değişmemiştir.

Ayrıca hem iskemik, hem de iskemik olmayan kardiyomiyopatide MMP-1/TIMP-1 kompleks oluşumunda mutlak bir azalma gözlenmiştir (114).

Cheung ve ark. (125) koksakivirus B3 miyokarditi oluşturulan farelerde kalp dokusunda MMP-2, MMP-9 ve MMP-12 transkripsiyonunun ve translasyonunun, MMP-2 ve MMP-9 aktivasyonunun arttığını, TIMP-3 ve TIMP-4 salınımının azaldığını, TIMP-1 ve TIMP-2’de ise değişiklik olmadığını, bunlara paralel olarak enfeksiyonun akut döneminde total kollajen miktarında artış görülürken daha sonraki dönemlerde ise fibriler yapının bozulduğunu bildirmişlerdir.

J. PULMONER HİPERTANSİYONDA MATRİKS METALLO-PROTEİNAZLAR VE DOKU İNHİBİTÖRLERİ

Pulmoner arteriyel hipertansiyon, pulmoner arterlerde persistan vazokonstriksiyon, düz kas gelişimi ve ESM yeniden şekillenmesi sonucunda gelişir. MMP’ler, ESM döngüsünde, düz kas hücresi ve endotelial hücre göçü ve proliferasyonunda rol alan matriks parçalayıcı enzimlerdir. Bu nedenle idiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyonda MMP’lerde ve doku inhibitörlerinde değişiklikler olup olmadığını araştırmak isteyen Lepetit ve ark. (9) idiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyonda MMP’ler ile TIMP’ler arasında dengesizlik bulunduğunu, kontrol grubuna göre özellikle TIMP-1’de ve aktif MMP-2 düzeyinde artış, MMP-3’te ise azalma olduğunu göstermişlerdir.

Hipoksi, matriksinlerin aktivitesini etkiler. Neonatal farelerin, akciğer gelişiminde duraklamaya yol açan bir stimulus olan kronik hipoksiye maruz bırakılmasının, MMP-2 artışı ile birlikte TIMP-2 azalmasına yol açtığı bildirilmiştir (126). İnsanlarda periferik vasküler hastalığı olan hastaların iskemik ampütasyon örneklerinde MMP-2 ve TIMP-2’nin artmış olduğu; doku iskemisinin matriks stabilizasyonundaki problemlerle birlikte ESM döngüsünde artışla bağlantılı olduğu ve bunun iskemik cilt ülserlerinin muhtemel bir mekanizması olduğu öne sürülmüştür (127). İnsan akciğer fibroblast hücre kültüründe hipoksinin MMP-2, TIMP, interlökin-6 ve tip-1 kollajen düzeylerini artırdığı, TGF-beta aracılığıyla da ESM birikimini artırmak suretiyle akciğer fibrozisine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (128). Kronik hipoksi, pulmoner damar duvarında kollajen metabolizmasını değiştirmek suretiyle pulmoner hipertansiyona neden olur. Bu kronik hipoksik pulmoner hipertansiyon reoksijenizasyon ile geri döndürülebilir. Ratlarda kronik orta derecede hiperoksinin ve

kronik hipoksiden kurtulmanın periferik pulmoner arter duvarındaki kollajen proteinleri üzerine benzer etkisinin olduğu gösterilmiştir (129).

Hipoksik ortama maruz bırakılan fare fibroblastlarında MMP-9 aktivitesinin ve MMP-9 messenger RNA (mRNA) düzeyinin azaldığı, MMP-2 mRNA düzeyinin veya aktivitesinin ise etkilenmediği, TGF-beta 1 tedavisinin MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinde artışa yol açtığı gösterilmiştir. Bu da hipoksinin, TGF-beta 1'in MMP-9 aktivitesi üzerine olan stimulatör etkisini baskıladığını, MMP-2 aktivitesini ise etkilemediğini ve MMP-9'un hipoksik koşullarda doku fibrozisi ve postoperatif adezyon oluşumunun patogeneğinde önemli rolü olduğunu düşündürmüştür (10).

Kronik hipoksik pulmoner hipertansiyon pulmoner arterlerin persistan vazokonstriksiyonu, aşırı muskularizasyonu ve ESM yeniden şekillenmesinden kaynaklanır. Pulmoner hipertansiyonda MMP salınımı ve aktivitesi artmıştır. Bu nedenle Vieillard-Baron ve ark. (130) kronik hipoksiye maruz bırakılan ratlarda akciğer MMP'lerinin inhibisyonu ile vasküler yeniden şekillenme ve pulmoner hipertansiyonun önlenip önlenemeyeceğini araştırmayı planlamışlar, ancak MMP inhibisyonunu sağlamak amacıyla akciğer TIMP-1 gen transferi veya doksisisiklin verilen ratların kontrollere göre daha yüksek pulmoner arter basıncına ve daha ciddi sağ ventrikül hipertrofisine sahip olduklarını gözlemlemişlerdir. Pulmoner hipertansiyonun kötüleşmesinin distal arterlerde artmış muskularizasyon ve periadventisyal kollajen birikimi ile birlikte olduğunu saptamış ve MMP'lerin pulmoner arter yeniden şekillenmesine karşı koruyucu bir etkilerinin olduğu sonucuna varmışlardır.

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Kardiyoloji Bilim Dalında Mart 2007-Haziran 2009 tarihleri arasında DKH tanısı alan, yaşları 3 ay-18 yıl arasında değişen ($57,1 \pm 6,2$ ay; ortalama \pm SEM), 41'i kız, 46'sı erkek, toplam 87 DKH olgusu alındı.

Kontrol grubu ise yaşları 3 ay-18 yıl arasında değişen ($78,4 \pm 8,3$ ay) 21'i kız, 26'sı erkek, toplam 47 sağlıklı çocuktan oluşuyordu. Kontrol grubu masum üfürüm nedeniyle başvuran çocuklardan oluşturulmuştu. Çalışma için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 2007/124 sayılı yazı ile onay alındı.

Hasta ve kontrol grubundaki çocukların tam bir fizik muayeneleri yapıldı; tam kan sayımı ve arteriyel oksijen saturasyonları çalışıldı; telekardiyogram ve elektrokardiyogramları değerlendirildi. Herbir hastaya ve kontrol grubundaki çocuklara tanısal bir transtorasik ekokardiyografik inceleme yapıldıktan sonra MMP ve TIMP düzeyleri ile ilişkileri araştırılacak olan ekokardiyografik ölçümler gerçekleştirildi.

Çalışma grubundaki hastalar;

Grup 1: Sağ ventrikülde volüm yüklenmesine yol açan DKH (atriyal septal defektli) 14 hasta,

Grup 2: Sol ventrikülde volüm yüklenmesine yol açan DKH'ları (ventriküler septal defektli ya da patent duktus arteriozusu olan) 30 hasta,

Grup 3: Pulmoner hipertansiyon gelişmiş olan soldan sağa şanlı DKH (ASD, VSD ya da PDA) olan 19 hasta,

Grup 4: Siyanotik DKH'ları (Fallot tetralojisi, büyük arterlerin transpozisyonu, trunkus arteriozus, triküspit atrezisi, pulmoner atrezi, total pulmoner venöz dönüş anomalisi ve eşlik eden diğer defektlerden oluşan kompleks kardiyak defektler) olan 24 hastadan oluşan dört gruba ayrılarak incelendi. Grup 1 ve 2'ye pulmoner hipertansiyonu olan hastalar alınmadı.

Sağ ventrikülde ve sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan hastalar (grup 1 ve 2) birbirleri ve kontrol grubu ile MMP ve TIMP düzeyleri yönünden karşılaştırılmak sureti ile MMP ve TIMP'lerin sağ ve sol ventrikül yeniden şekillenmesindeki rolleri araştırıldı. Ayrıca MMP'ler ile TIMP'ler arasında var olan dengedeki bozulmayı araştırmak amacıyla MMP/TIMP oranları hesaplanarak gruplar bu açıdan da incelendi.

Pulmoner hipertansiyonun MMP ve TIMP düzeylerine etkisini araştırmak amacıyla soldan sağa şanlı DKH olan pulmoner hipertansiyonsuz hastalar (grup 1 ve 2'deki hastaların toplamı) ile soldan sağa şanlı DKH olan ve pulmoner hipertansiyon gelişmiş olan hastalar (grup 3) birbirleri ile ve kontrol grubuyla karşılaştırıldılar. Pulmoner hipertansiyon tanı ölçütü olarak kalp kateterizasyonu ile saptanan ortalama pulmoner arter basıncının 25 mmHg'nın üzerinde olması alındı (131).

Ayrıca asiyantotik (grup 1 ve 2) ve siyantotik (grup 4) DKH da birbirleri ile ve kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

Tüm hasta gruplarında MMP ve TIMP düzeylerinin sağ ve sol ventrikül sistolik ve diyastolik fonksiyonları ile, kalp kateterizasyonu ile saptanan hemodinamik parametreler (atriyum ortalama basınçları, ventriküllerin sistolik ve diyastolik basınçları, pulmoner arter ve aorta sistolik, diyastolik ve ortalama basınçları, pulmoner ve sistemik kan akımları (sırasıyla Qp ve Qs) ve akımlar oranı (Qp/Qs), pulmoner ve sistemik direnç değerleri (sırasıyla Rp ve Rs) ve dirençler oranı (Rp/Rs), soldan sağa ve sağdan sola şant miktarları) ile, siyantotik hastalarda ek olarak hemoglobin, hematokrit, MCV (mean corpuscular volume; ortalama eritrosit volümü), RDW (red-cell distribution width; kırmızı küre dağılım genişliği) ve arteriyel oksijen satürasyonu (SO₂) düzeyleri ile korelasyonları değerlendirilerek hipoksinin derecesi ile ilişkileri araştırıldı.

A. EKOKARDİYOĞRAFİK DEğERLENDİRMELER

Ekokardiyografik çalışmalar Hewlet Packard Sonos 5500 ekokardiyografi cihazı ile 4- veya 8-MHz broad-band prob kullanılarak yapıldı. Standart görüntü ve teknikler kullanılarak ekokardiyografik olarak tam bir tanısal çalışma yapıldıktan sonra sol ventrikül sistolik fonksiyonları parasternal uzun eksen konumunda, M-mod papiller kas düzeyinden geçirilerek değerlendirildi. Sol ventrikül sistolik fonksiyon ölçümleri EF (ejection fraction; ejeksiyon fraksiyonu), FS (fractional shortening; kısalma fraksiyonu), LVIDd (left ventricular internal dimension at end diastole; sol ventrikül diyastol sonu iç çapı), LVIDs (left ventricular internal dimension at end systole; sol ventrikül sistol sonu iç çapı), LVmass-d (left ventricular diastolic mass; sol ventrikül diyastolik kitlesi) ve LVmass-s (left ventricular systolic mass; sol ventrikül sistolik kitlesi) değerlerini içermekteydi.

Sol ventrikül diyastolik fonksiyonları ise pulsed-wave Doppler metodu kullanılarak mitral erken (E) ve ikinci (A) akım pik hızlarının, E/A oranının, deselerasyon zamanının (DZ) ve izovolumetrik relaksasyon zamanının (İVRZ) hesaplanması ile ölçüldü.

Doku Doppler yöntemi ile sol ventrikülün ve sağ ventrikülün, eş zamanlı sistolik ve diastolik pik akım hızları körsir lateral mitral anulus ve lateral triküspit anulus bölgelerine yerleştirilmek suretiyle sistol sırasında ventrikül ejeksiyonu (mitral için S_m , triküspid için S_t), diyastol sırasında da hızlı pasif ventrikül dolumu (mitral için E_m , triküspid için E_t) ve atriyum kasılması ile oluşan ventrikül dolumu (mitral için A_m , triküspid için A_t) pik akım hızları kaydedilerek değerlendirildi. Ayrıca Tei ve ark.nın (132) tarif ettikleri yöntemle doku Doppler yöntemiyle heriki ventrikül için miyokard performans indeksi (MPI) hesaplandı. Çalışılan ekokardiyografik parametrelerle MMP ve TIMP değerleri arasındaki korelasyonlar değerlendirildi.

B. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

Çalışma ve kontrol gruplarından MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 düzeylerinin çalışılması için alınan venöz kan örneklerinin serumu ayrılarak çalışılıncaya kadar -70°C 'de deepfreeze'de saklandı. Bu örneklerde serum MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 düzeyleri, RayBiotech Kitleri (RayBiotech, Inc. Norcross, GA, USA) kullanılarak ELISA yöntemi ile çalışıldı.

C. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS 16.0 for Windows paket programı ile yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren parametreler için iki grup arasındaki karşılaştırmalar t-testi ile, çoklu karşılaştırmalar ANOVA testi ile yapıldıktan sonra ANOVA testinde fark bulunan durumlarda hangi gruplar arasında fark olduğunun değerlendirilmesinde Posthoc testler (Tukey ya da Tamhan testi) kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametreler için ise iki grup arasındaki karşılaştırmalar Mann Whitney-U testi ile, çoklu karşılaştırmalar Kruskal Wallis testi ile yapıldı. Çapraz tabloların analizinde ise X^2 testinden yararlanıldı. Korelasyonların değerlendirilmesinde normal dağılım gösteren parametreler için Pearson korelasyon testi, normal dağılım göstermeyen parametreler için ise Spearman testi kullanıldı. $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

IV. BULGULAR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediyatrik Kardiyoloji Bilim Dalında DKH tanısı alan 68 DKH olgusu çalışmaya alındı. Kontrol grubu ise 47 sağlıklı çocuktan oluşuyordu. Gruplara göre hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 2’de gösterilmiştir. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 2: Çalışma ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımları*

Gruplar	n	Cinsiyet (Kız/Erkek)	Yaş (Ay)	
			Ortalama± SEM	Alt-Üst Sınırlar
RV’de Volüm Yüklenmesi (Grup 1)	14	5/9	59,1±11,9	4,5-132
LV’de Volüm Yüklenmesi (Grup 2)	30	16/14	69,5±10,2	3,5-192
Soldan sağa şanlı DKH+ Pulmoner Hipertansiyon (Grup 3)	19	12/7	45,8±12,3	2,5-192
Siyanotik DKH (Grup 4)	24	8/16	49,3±13,9	3-216
Kontrol	47	21/26	78,4±8,3	3-216

* Tüm gruplar için $p>0,05$

RV: sağ ventrikül, LV: sol ventrikül

“Pulmoner hipertansiyonu olmaksızın sağ ventrikülde volüm yüklenmesi” ya da “sol ventrikülde volüm yüklenmesi” olan, “soldan sağa şanlı olan ve pulmoner hipertansiyon gelişmiş hastalar” ve “siyanotik DKH olan hastalardan” oluşan gruplara ayrılarak incelenen çalışma grubundaki hastaların tanıları Tablo 3’te özetlenmiştir.

Tablo 3: Çalışma Gruplarındaki Hastaların Tanıları

Gruplar	Tanı	n
Soldan Sağa Şanlı DKH (Pulmoner Hipertansiyonsuz) (n=44) RV'de Volüm Yüklenmesi Olan (Grup 1) LV'de Volüm Yüklenmesi Olan (Grup 2)	ASD	14
	VSD	17
	PDA	13
Soldan Sağa Şanlı DKH + Pulmoner Hipertansiyon (n=19) (Grup 3)	ASD	3
	VSD	5
	PDA	4
	VSD+PDA	7
Siyanotik DKH (n=24) (Grup 4)	Fallot tetralojisi	10
	Kompleks kardiyak defektler (BAT, trunkus arteriyozus, triküspit atrezisi, pulmoner atrezi, TPVDA v.b.)	14

BAT: Büyük arterlerin transpozisyonu, TPVDA: Total pulmoner venöz dönüş anomalisi

A. SAĞ VENTRİKÜLDE VE SOL VENTRİKÜLDE VOLÜM YÜKLENMESİ OLAN DOĞUMSAL KALP HASTALIKLARINDA SERUM MATRİKS METALLOPROTEİNAZ VE DOKU İNHİBİTÖRLERİNİN DÜZEYLERİ

Soldan sağa şanlı hastaların (grup 1 ve 2) ve kontrol grubunun serum MMP ve TIMP düzeyi ortalamaları Tablo 4'te gösterilmiştir. Serum MMP-2 düzeyi sağ ventrikülde volüm yüklenmesi olan DKH'lı hastalarda sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan hastalardan ve kontrol grubundan yüksek bulunmakla birlikte gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri ise sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan DKH'lı hastalarda sağ ventrikülde volüm yüklenmesi olan hastalardan ve kontrol grubundan yüksek olmakla birlikte gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). TIMP-2

düzeyleri sol ventrikülde ve sağ ventrikülde volüm yüklenmesi olan gruplarda kontrol grubundan düşük bulunmakla birlikte bu farklar da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Tablo 4: Volüm Yüklenmesi Olan Hastaların ve Kontrol Grubunun Serum MMP, TIMP Düzeyleri (pg/mL) ve MMP/TIMP Oranları (Ortalama \pm SEM) Yönünden Karşılaştırmaları*

	RV'de Volüm Yüklenmesi (Grup 1)	LV'de Volüm Yüklenmesi (Grup 2)	Kontrol
n	14	30	47
MMP2	2797,9 \pm 407,5	2567,1 \pm 279,9	2477 \pm 215,9
MMP9	697,2 \pm 65,9	743,9 \pm 64,7	723,8 \pm 62,9
TIMP1	357,4 \pm 137,5	376,0 \pm 94,0	344,1 \pm 76,3
TIMP2	89,7 \pm 22,9	108,9 \pm 23,2	125,5 \pm 20,6
MMP2/TIMP1	116,7 \pm 39,3	109,5 \pm 53,6	140,2 \pm 41,5
MMP2/TIMP2	47,1 \pm 8,2	36,4 \pm 5,1	35,2 \pm 3,8
MMP9/TIMP1	26,2 \pm 9,5	27,4 \pm 10,4	31,5 \pm 8,6
MMP9/TIMP2	11,2 \pm 1,5	10,4 \pm 1,3	10,3 \pm 1,1

* Tüm gruplar arasında $p>0,05$

RV: sağ ventrikül, LV: sol ventrikül

MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki dengenin DKH'larında nasıl bir değişim gösterdiğini araştırmak amacı ile MMP'lerin TIMP'lere oranları incelendiğinde de sağ ventrikülde ve sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan DKH grupları ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte gruplar arasındaki farklar şöyle idi: Ortalama MMP-2/TIMP-1 oranı sağ ventrikülde ve sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan DKH gruplarında kontrol grubundan düşüktü ($p>0,05$). Ortalama MMP-2/TIMP-2 oranı sağ ventrikülde volüm yüklenmesi olan grupta sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan gruba ve kontrol grubuna göre bir miktar yüksek idi ($p>0,05$). MMP-9/TIMP-1 oranı ortalaması sağ ventrikülde ve sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan DKH gruplarında kontrol grubundan bir miktar düşük bulundu

($p>0,05$). MMP-9/TIMP-2 oranı yönünden ise gruplar arasında belirgin bir farklılık yoktu ($p>0,05$).

B. PULMONER HİPERTANSİYONU OLAN VE OLMAYAN SOLDAN SAĞA ŞANTLI DOĞUMSAL KALP HASTALIKLARINDA SERUM MATRİKS METALLOPROTEİNAZ VE DOKU İNHİBİTÖRLERİNİN DÜZEYLERİ

Soldan sağa şanlı, pulmoner hipertansiyonu olan ve olmayan hastaların birbirleri ile ve kontrol grubuyla serum MMP ve TIMP düzeyleri yönünden karşılaştırılması Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5: Pulmoner Hipertansiyonu Olan ve Olmayan Soldan Sağa Şanlı DKH Gruplarının ve Kontrol Grubunun Serum MMP, TIMP Düzeyleri (pg/mL) ve MMP/TIMP Oranları (Ortalama \pm SEM) Yönünden Karşılaştırılmaları

	Sol-Sağ Şanlı DKH (Pulmoner Hipertansiyonsuz)	Sol-Sağ Şanlı DKH + Pulmoner Hipertansiyon	Kontrol
n	44	19	45
MMP2	2640,6 \pm 228,6	3013,3 \pm 524,0	2477 \pm 215,9
MMP9	729,1 \pm 48,5	954,2 \pm 104,8	723,8 \pm 62,9
TİMP1	370,1 \pm 76,7	905,3 \pm 191,2 ^{a,b}	344,1 \pm 76,3
TİMP2	102,8 \pm 17,3	110,4 \pm 16,4	125,5 \pm 20,6
MMP2/TİMP1	111,9 \pm 37,7	30,0 \pm 14,8	140,2 \pm 41,5
MMP2/TİMP2	39,8 \pm 4,4	33,3 \pm 6,3	35,2 \pm 3,8
MMP9/TİMP1	27,0 \pm 7,5	8,0 \pm 3,3	31,5 \pm 8,6
MMP9/TİMP2	10,7 \pm 1,0	11,5 \pm 1,7	10,3 \pm 1,1

Kruskal-Wallis testi ile gruplar arası farklılık değerlendirildiğinde;

^a “Sol-Sağ şanlı DKH (PH’sız)” grubu ile “Sol-Sağ Şanlı DKH + Pulmoner Hipertansiyon” grubu karşılaştırıldığında $p<0,01$

^b “Sol-Sağ Şanlı DKH + Pulmoner Hipertansiyon” grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,01$. Diğer gruplar arası karşılaştırmalarda $p>0,05$

MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri pulmoner hipertansiyon gelişmiş olan hastalarda pulmoner hipertansiyonu olmayan hastalara ve kontrol grubuna göre yüksek olmakla

birlikte gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Pulmoner hipertansiyonu olan hastalardaki serum TIMP-1 düzeyleri, pulmoner hipertansiyonu olmayan hastalardakinden ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $905,3\pm 191,2$; $370,1\pm 76,7$ ve $344,1\pm 76,3$ pg/mL) ($p<0,01$). TIMP-2 düzeyleri yönünden ise gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Pulmoner hipertansiyonu olan hastaların ortalama MMP-2/TIMP-1 ve MMP-9/TIMP-1 oranları pulmoner hipertansiyonu olmayan hastalardan ve kontrol grubundan oldukça düşük olmasına rağmen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). MMP-2/TIMP-2 ve MMP-9/TIMP-2 oranları yönünden ise gruplar arasında herhangi bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

C. ASİYANOTİK VE SİYANOTİK DOĞUMSAL KALP HASTALIKLARINDA SERUM MATRİKS METALLOPROTEİNAZ VE DOKU İNHİBİTÖRLERİNİN DÜZEYLERİ

Soldan sağa şantlı asiyanotik DKH olan hastaların tümünü kapsayan (pulmoner hipertansiyon gelişen hastalar hariç) asiyanotik DKH grubu ile siyanotik DKH olan hastaların serum MMP ve TIMP düzeyleri Tablo 6'da görülmektedir. MMP-2 ve MMP-9 düzeyi ortalamaları siyanotik grupta asiyanotik DKH grubundan ve kontrol grubundan bir miktar düşük bulunmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Ortalama TIMP-1 düzeyi siyanotik grupta asiyanotik ve kontrol grubundan yüksek olmakla birlikte aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Asiyanotik ve siyanotik hastaların ortalama TIMP-2 düzeyleri kontrol grubununkinden daha düşük olmakla birlikte aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). En düşük düzey ise asiyanotik DKH grubunda saptandı.

Ortalama MMP-2/TIMP-1 oranı, siyanotik grupta daha belirgin olmak üzere hem asiyanotik hem de siyanotik DKH grubunda kontrol grubundan düşüktü, ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). MMP-2/TIMP-2, MMP-9/TIMP-1 ve MMP-9/TIMP-2 oranları yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 6: Asiyanotik, Siyanotik Hastaların ve Kontrol Grubunun Serum MMP, TIMP Düzeyleri (pg/mL) ve MMP/TIMP Oranları (Ortalama±SEM) Yönünden Karşılaştırılması*

	Asiyanotik DKH	Siyanotik DKH	Kontrol
n	44	24	47
MMP2	2640,6±228,6	2224,1±408,9	2477±215,9
MMP9	729,1±48,5	698,9±107,2	723,8±62,9
TIMP1	370,1±76,7	513,3±196,7	344,1±76,3
TIMP2	102,8±17,3	111,1±20,6	125,5±20,6
MMP2/TIMP1	111,9±37,7	70,5±21,9	140,2±41,5
MMP2/TIMP2	39,8±4,4	38,4±12,0	35,2±3,8
MMP9/TIMP1	27,0±7,5	27,1±12,0	31,5±8,6
MMP9/TIMP2	10,7±1,0	9,8±2,2	10,3±1,1

*Tüm gruplar arasında $p>0,05$

D. MATRİKS METALLOPROTEİNAZ VE DOKU İNHİBİTÖRLERİNİN DÜZEYLERİNİN EKOKARDİYOĞRAFİK, HEMODİNAMİK VE HİPOKSİ İLE İLGİLİ PARAMETRELERLE KORELASYONLARI

Çalışma gruplarının herbirinde serum MMP ve TIMP düzeylerinin ekokardiyografik ve hemodinamik parametrelerle ve siyanotik DKH grubunda ilaveten hipoksi ile ilgili parametrelerle korelasyonları Tablo 7’de özetlenmiştir.

Grup 1 (Sağ ventrikülde volüm yüklenmesine yol açan DKH): ASD’li hastaların MMP-2 düzeyleri ekokardiyografik ölçümlerden sadece sağ ventrikül MPI ile, MMP-9 düzeyleri sol ventrikül MPI ile, TIMP-2 düzeyleri ise LVPWd ve doku Doppler yöntemi ile ölçülen A_m değerleri ile negatif korelasyon göstermekte idi.

Hem MMP-9, hem de TIMP-1 düzeyleri hemodinamik parametrelerden soldan sağa şant miktarı ile negatif, R_p ve R_p/R_s değerleri ile ise pozitif korelasyon göstermekteydi; ayrıca MMP-9 düzeyleri Q_p/Q_s , TIMP-1 düzeyleri de Q_p değerleri ile negatif korelasyon göstermekte idi. TIMP-2 düzeyleri ise sadece RVP (s) değerleri ile negatif korele idi.

Tablo 7: Hasta Gruplarında Serum MMP, TIMP Düzeylerinin Ekokardiyografik Ölçümler, Hemodinamik ve Hipoksi ile İlgili Parametrelerle Korelasyonları[†]

Grup 1 (RV'de Volüm Yüklenmesi Olan DKH)

Ekokardiyografik parametreler:

MMP-2 ile RV MPİ: -0,547*
MMP-9 ile LV MPİ: -0,639*
TIMP-2 ile LVPWd: -0,697**, A_m: -0,570*

Hemodinamik parametreler:

MMP-9 ile Qp/Qs: -0,785*, Rp: 0,901**, Rp/Rs: 0,964**, L-R şant: -0,756*
TIMP-1 ile Qp: -0,786*, Rp: 0,847*, Rp/Rs: 0,786*, L-R şant: -0,893**
TIMP-2 ile: RVP (s): -0,829*

Grup 2 (LV'de Volüm Yüklenmesi Olan DKH)

Ekokardiyografik parametreler:

TIMP-1 ile DZ: 0,460*, E_m: -0,439*
TIMP-2 ile E/A: -0,452*

Hemodinamik parametreler:

MMP-2 ile AoP (s): 0,486*, AoP (d): 0,509*
TIMP-2 ile LVP (d): 0,802***

Grup 3 (Soldan Sağa Şanlı ve Pulmoner Hipertansiyon Gelişmiş Olan DKH)

Hipoksi ile ilgili parametreler:

Korelasyon saptanmadı.

Ekokardiyografik parametreler:

MMP-2 ile S_m: 0,469*
TIMP-1 ile RV MPİ: 0,465*

Hemodinamik parametreler:

MMP-2 ile Qp: -0,472*, Qp/Qs: -0,572**, Rp/Rs: 0,463*
MMP-9 ile LAP: 0,679*
TIMP-2 ile RVP (d): 0,602**

Grup 4 (Siyanotik DKH)

Hipoksi ile ilgili parametreler:

TIMP-2 ile MCV: 0,457*

Ekokardiyografik parametreler:

MMP-9 ile E_t: -0,415*, E/A_t: -0,0483*

Hemodinamik parametreler:

MMP-9 ile LAP: 0,714*, RAP: 0,583*, Qs: 0,770**, Rp: -0,786*, Rs: -0,881**
TIMP-1 ile RVP (s): -0,713**, Qs: 0,778**, Rs: -0,786**

[†] Yalnızca korelasyon saptanan parametreler tabloda gösterilmiştir; diğer parametreler arasında korelasyon bulunmamıştır. Tabloda verilen değerler r değerleridir.

* p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

RV: sağ ventrikül, LV: sol ventrikül, MPİ: miyokard performans indeksi, LVPWd: sol ventrikül arka duvar diyastolik kalınlığı, E/A: pulsed-wave Doppler ile ölçülen mitral erken (E) ve ikinci (A) akım pik hızlarının oranı, A_m: doku Doppler yöntemi ile ölçülen diyastolik atriyum kasılması ile oluşan ventrikül dolumu pik akım hızı (mitral için), E_m: doku Doppler yöntemi ile ölçülen diyastolik hızlı pasif ventrikül dolumu ile oluşan pik akım hızı (mitral için), S_m: doku Doppler yöntemi ile ölçülen sistolik ventrikül ejeksiyonu ile oluşan pik akım hızı (mitral için), E_t: doku Doppler yöntemi ile ölçülen diyastolik hızlı pasif ventrikül dolumu ile oluşan pik akım hızı (triküspid için), A_t: doku Doppler yöntemi ile ölçülen diyastolik atriyum kasılması ile oluşan ventrikül dolumu ile oluşan pik akım hızı (triküspid için), DZ: deselerasyon zamanı, Qp: pulmoner kan akımı, Qs: sistemik kan akımı, Rp: pulmoner direnç, Rs: sistemik direnç, LAP: sol atriyum basıncı, RAP: sağ atriyum basıncı, RVP (s): sağ ventrikül sistolik basıncı, RVP (d): sağ ventrikül diyastolik basıncı, LVP (d): sol ventrikül diyastolik basıncı, AoP (s): aorta sistolik basıncı, AoP (d): aorta diyastolik basıncı, L-R şant: soldan sağa şant miktarı, MCV: ortalama eritrosit volümü

Grup 2 (Sol ventrikülde volüm yüklenmesine yol açan DKH): TIMP-1 düzeyleri ekokardiyografik parametrelerden DZ ile pozitif, doku Doppler yöntemi ile ölçülen E_m ile ise negatif korelasyon göstermekteydi. TIMP-2 düzeyleri ise sadece E/A ile negatif korelasyon göstermekteydi.

MMP-2 düzeyleri hemodinamik parametrelerden aorta sistolik ve diyastolik basınçları ile zayıf, TIMP-2 düzeyleri ise sol ventrikül diyastolik basıncı ile kuvvetli pozitif korelasyon gösteriyordu.

Grup 3 (Soldan sağa şanlı ve pulmoner hipertansiyon gelişmiş olan DKH): Hipoksi ile ilgili çalışılan parametrelerden hiçbiri ile MMP ve TIMP düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı.

MMP-2 düzeyleri ekokardiyografik parametrelerden doku Doppler ile ölçülen S_m değeri ile, TIMP-1 düzeyleri ise sağ ventrikül MPI ile pozitif korelasyon göstermekteydi.

MMP-2 düzeyleri hemodinamik parametrelerden Q_p ve Q_p/Q_s değerleri ile negatif, R_p/R_s değerleri ile ise pozitif korelasyon gösteriyordu. MMP-9 düzeyleri sol atriyum basıncı ile, TIMP-2 düzeyleri ise sağ ventrikül diyastolik basıncı ile pozitif korelasyon göstermekteydi.

Grup 4 (Siyanotik DKH): Hipoksi ile ilgili çalışılan parametrelerden sadece MCV ile TIMP-2 düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı.

MMP-9 düzeyleri ekokardiyografik parametrelerden doku Doppler ile ölçülen E_t ve E/A_t değerleri ile negatif korele idi.

MMP-9 düzeyleri hemodinamik parametrelerden LA basıncı, sağ atriyum basıncı ve Q_s ile pozitif, R_p ve R_s değerleri ile ise negatif korelasyon gösteriyordu. TIMP-1 düzeyleri sağ ventrikül sistolik basınç ve R_s değerleri ile negatif, Q_s değerleri ile ise pozitif korelasyon göstermekteydi.

V. TARTIŞMA

Çeşitli hastalık durumlarında hastaların değerlendirilmesinde lokal MMP ve TIMP aktivitelerinin çalışılması kullanılabilir bir yöntem değildir ve dolaşımdaki MMP ve TIMP düzeyleri miyokardiyal MMP veya TIMP aktivitesini yansıtabilir. Serum MMP düzeylerinin yüksek olması, miyokarda yüksek olduklarının gösterildiği dönemde (36) miyokard dokusundan dökülmesine bağlı olabilir; ya da konjestif kalp yetersizliği olan hastalarda devreye girdiği düşünülen ve MMP sekresyonuna katkıda bulunabilen enflamatuar ve nörohormonal mekanizmaların aktivasyonuna bağlı olabilir.

ESM yıkımında fonksiyon gören bir grup çinko-bağımlı enzim olan MMP'ler, konjestif kalp yetersizliği ve kardiyomiyopatisi olan insanlarda ve hayvan modellerinde miyokardiyal yeniden şekillenmeye katkıda bulunmakla da suçlanmaktadır (12, 98, 123). İnsanlar ve kemiriciler birçok MMP tiplerine sahip olmakla birlikte kollajenazlar (MMP-1, MMP-8 ve MMP-13), stromelizinler (MMP-3 ve MMP-10) ve jelatinazların (MMP-2 ve MMP-9) özellikle miyokardiyal yeniden şekillenme ile ilgili oldukları kabul edilmektedir (133). Bu nedenle, MMP inhibitörleri kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde potansiyel bir terapötik yaklaşım olarak öne sürülmektedir (101, 134-138).

A. VOLÜM YÜKLENMESİ OLAN KALPTE MATRİKS METALLO-PROTEİNAZLAR VE DOKU İNHİBİTÖRLERİ

Kronik ventriküler volüm yüklenmesi, ventrikül ağırlığında, diyastol sonu volümünde ve fonksiyonlarında değişikliklere yol açmaktadır (12, 139). Bu karakteristik miyokardiyal yeniden şekillenmenin oluşması için ise interstisyel kollajen matrikste değişimlerin olması gerekir. Kronik volüm yüklenmesi veya hızlı "pacing" ile oluşturulan ventriküler yeniden şekillenmeye ESM'nin parsiyel yıkımı ile sonuçlanan MMP aktivitesi artışının öncülük ettiği gösterilmiştir (98, 140, 141).

Aorto-kaval fistül kullanılarak kronik biventriküler volüm yüklenmesi oluşturulan bir rat modelinde patofizyolojik seyrin, hiç ölüm görülmeyen bir başlangıç fazı (ilk 14 gün), konjestif kalp yetersizliği semptomları ortaya çıkıncaya kadar devam eden bir kompanse hipertrofik faz ve terminal bir dekompanse fazdan oluştuğu belirlenmiştir (139). Fistül oluşturulduktan sonra 12 saat içerisinde MMP aktivitesinde

önemli bir artış meydana geldiği ve iki haftaya kadar devam ettiği gözlenmiştir. Bunun sonucunda kollajen volüm fraksiyonu 3. güne kadar önemli derecede azalmıştır. Ancak bu hasar, tip I ve tip III kollajen gen ekspresyonunda belirgin artış meydana gelerek hızla tamir edilmiştir (142, 143). Sekizinci haftaya kadar sol ventrikül kitlesi, boyutu ve kompliyansı artmaya ve kontraktilite azalmaya devam ederken, tüm kompanse hipertrofi fazı boyunca MMP aktivitesi ve kollajen volüm fraksiyonu normal değerlerde kalmıştır. Dekompense fazda ise MMP aktivitesi artmış, ciddi fibrozis gelişmiş, sol ventrikül genişlemesi, kompliyans artışı ve kontraktilite azalması gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda da sağ ventrikülde volüm yüklenmesi olan ASD'li hastalarda serum MMP-2 düzeylerinin yükseldiği, sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan VSD'li ve PDA'lı hastalarda ise MMP-9 düzeylerinin yükseldiği gözlenmiştir.

Nagatomo ve ark. (11) köpeklerde korda rüptürü ile oluşturdukları mitral yetersizliğe bağlı akut volüm yüklenmesinde (ilk 6 saatte) ve mitral yetersizliğin geç döneminde (14 gün) akut ve uzamış volüm yüklenmesinin MMP'ler ve inhibitör kontrolü üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar MMP-9 aktivitesinin akut volüm yüklenmesinde 3 kattan fazla arttığını, uzamış volüm yüklenmesinde ise kontrol grubunun düzeylerine düştüğünü bildirmişlerdir. MMP aktivitesinin total MMP miktarına oranının ise akut volüm yüklenmesinde dört kattan fazla arttığı ve bu nedenle inhibitör kontrolün kaybını düşündürdüğü belirtilmiştir. Endojen MMP inhibitör kontenti miktarı ise değişmemiştir. Bizim çalışmamızda ise VSD ya da PDA'ya bağlı olarak sol ventrikülde volüm yüklenmesi mevcut olan hastalarda serum MMP-9 düzeylerinde artış, doku inhibitörlerinden ise TIMP-1'de artış, TIMP-2'de ise azalma olduğu gözlenmiştir.

Kronik volüm yüklenmesi olan kalpte ventriküler yeniden şekillenmeye yüksek MMP aktivitesinin katkıda bulunduğunu gösteren bu çalışmaların yanı sıra Chancey ve ark. (144) aorto-kaval fistül modelinde başlangıç fazında MMP aktivasyonunu önlemenin, sonraki ventriküler yeniden şekillenmeyi belirgin olarak hafiflettiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada ratlara aorto-kaval fistül oluşturulmadan iki hafta önce geniş spektrumlu bir MMP inhibitörü başlanarak cerrahi sonrası 8 haftaya kadar devam edilmiştir. MMP inhibisyonu, sol ventrikül ve akciğer ağırlık artışının ciddi olarak hafiflemesi, sol ventrikül kontraktilitesinin düzelmesi ve yapısal dilatasyonun önlenmesi ile sonuçlanmıştır. Tüm bu fonksiyonel veriler, MMP inhibisyonu sonucunda gelişen, istenmeyen miyokardiyal yeniden şekillenmenin önlenmesinin

konjestif kalp yetersizliği gelişimini önlemede faydalı olduğu hipotezini desteklemektedir. MMP inhibisyonu, sağ ventrikül ağırlığı üzerine ise belirgin bir normalleştirici etki yapmamıştır (144).

Diğer deneysel kalp yetersizliği modellerini kullanan benzer çalışmalarda da MMP inhibitörlerinin ventriküler dilatasyonu hafiflettiğine dair bulgular rapor edilmiştir (101, 134, 137). Bu bulgulara dayanılarak, hasarlanmanın veya yüksek duvar stresinin erken döneminde MMP aktivitesindeki yükselmelerin ve bunun sonucunda oluşan fibriler kollajen yıkımının, kalp yetersizliğine kadar giden ilerleyici bir yeniden şekillenme sürecinin başlamasından sorumlu olduğu sonucuna varılabilir (97).

Spinale ve ark. (134) ile McElmurray ve ark. (145) tarafından yapılan inhibisyon çalışmalarında ise hızlı “pacing” yapılan domuzlarda eş zamanlı olarak verilen MMP inhibitörü PD 166793 ile tedavinin sol ventrikül dilatasyonunun derecesini azalttığı, ancak interstisyel kollajende kalitatif bir artışa ve miyokardiyal katılıkta anormal bir artışa da yol açtığı gözlenmiştir. Yazarlar, ventriküler katılıktaki artışın tedavi edilen hayvanların kalplerinde daha fazla olan fibriler kollajen miktarına bağlı olabileceği sonucuna varmışlar ve MMP inhibisyonunun aynı zamanda normal kollajen yıkımını inhibe etmek suretiyle negatif etkilere sahip olduğunu düşünmüşlerdir. Oysa Peterson ve ark. (101) aynı MMP inhibitörü ile tedavi ettikleri spontan hipertansif kalp yetersizliği ratlarında miyokardiyal fibroziste bir azalma olduğunu göstermişlerdir.

Görüldüğü gibi gerek MMP’ler, gerekse doku inhibitörlerinin volüm yüklenmesi olan kalpteki değişimleri ile ilgili çelişkili çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalar hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalardır ve genel olarak kalp dokusunda MMP aktivasyonu ölçülerek yapılmış çalışmalardır. Yaptığımız literatür taramasında insanda, doğumsal kalp hastalıklarında dolaşan MMP ve TIMP düzeyleri çalışılarak yapılan herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Bizim çalışmamızda sağ ventrikül ya da sol ventrikül volüm yüklenmesi olan hastalardaki serum MMP ve TIMP düzeyleri kontrol grubu ya da diğer çalışma grupları ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemekle birlikte sağ ventrikülde volüm yüklenmesi olan grupta MMP-2 düzeyleri, sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan grupta ise MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri kontrol grubundan yüksek, TIMP-2 düzeyleri ise sağ ventrikülde ve sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan grupta kontrol grubundan düşük idi ($p>0,05$). Ortalama MMP-2/TIMP-1 oranları hem sağ ventrikülde hem de sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan grupta kontrol grubundan düşük, MMP-2/TIMP-2 oranı ise sağ

ventrikülde basınç yüklenmesi olan grupta kontrol grubundan yüksek idi. Ortalama MMP-9/TIMP-1 oranı hem sağ ventrikülde hem de sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan grupta kontrol grubundan düşük bulunurken MMP-9/TIMP-2 oranları ise volüm yüklenmesi olan gruplarla kontrol grubunda benzer bulundu. Bizim hastalarımız genel olarak kronik volüm yüklenmesine maruz kalan, ancak dekompanze faza girmemiş olan hastalardır. Çalışmamızda sağ ventrikülde volüm yüklenmesi olan hastalarda MMP-2 düzeylerinde yükselme, TIMP-2 düzeylerinde düşme, sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan hastalarda ise MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinde yükselme, TIMP-2 düzeylerinde düşme olduğu gözlenmiş olmasına rağmen bulunan farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu bulgularımız, hastalarımızın kronik volüm yüklenmesi döneminde olması ile uyumlu olabilir.

B. PULMONER HİPERTANSİYONDA MATRİKS METALLO-PROTEİNAZLAR VE DOKU İNHİBİTÖRLERİ

İdiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyonda görülen tipik lezyonlar, pulmoner damar yatağında adventisyal kalınlaşma, mediyal hipertrofi, neointima oluşumu ve pleksiform lezyonları kapsar. Hücre proliferasyonu ve ESM birikimi belirgindir (146). Bu değişikliklerin önemli bir komponenti, ESM bileşenlerinin sentezi ile proteolizi arasındaki kompleks bir etkileşim sonucu gelişen ESM yeniden şekillenmesidir. Deneysel modellerde yapılan bazı çalışmalarda pulmoner arteriyel hipertansiyonun ilerlemesine ve düz kas hücre migrasyonuna MMP'lerin katkıda bulunup bulunmadığı araştırılmıştır. Bazı çalışmalar, hayvanlarda pulmoner arteriyel hipertansiyon gelişimine MMP'lerin katkıda bulunduğu sonucuna varmışlardır (130, 147-149), ancak MMP inhibitörlerinin etkileri yönünden çalışmalar arasında farklılıklar görülmüştür. İdiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyonu olan insanlardaki MMP-TIMP dengesi hakkındaki bilgiler de kısıtlıdır. İdiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyon ESM komponentlerinin, özellikle de kollajenin birikimi ile karakterize olduğundan dolayı, Lepetit ve ark. (9), akciğer transplantasyonuna giden idiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyon hastalarının akciğer dokularında kollajenaz MMP-1, MMP-3, MMP-7, TIMP-1 ve TIMP-2 salınımını ve aktivitesini çalışmışlardır. Araştırmacılar, idiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyon hücrelerinde kontrol grubuna göre in vitro olarak, TIMP-1'in aşırı salındığını, MMP-3'ün az salındığını, MMP-1 salınımının ise iki grupta benzer olduğunu bildirmişlerdir. Total MMP-2 salınımı ve aktif MMP-2

oranında da artma olduğu saptanmış ve MMP-2'nin özellikle düz kas hücrelerinde ve elastik liflerde bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca MMP-3/TIMP-1 dengesizliği olduğu saptanmıştır. MT1-MMP ve TIMP-2 miktarları ise idiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyon hücreleri ile kontrol hücrelerinde benzer bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da Lepetit ve ark.nın sonuçlarını destekler şekilde serum TIMP-1 düzeyleri pulmoner hipertansiyonu olan hastalarda pulmoner hipertansiyonu olmayan hastaların ve kontrol grubunun yaklaşık 3 katı kadar yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). MMP-2 düzeylerinde ise diğer gruplara göre hafif bir yükselme bulunmakla birlikte belirgin bir farklılık gözlenmemiştir.

İdiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyonda internal elastik laminanın disrupsiyonu, ESM organizasyonunun bozulması ve düz kas hücre göçü, aktif MMP-2'nin direkt rolü olduğunu destekleyen güçlü delillerdir. Bu enzim sadece nonfibriler kollajeni parçalamakla kalmaz, aynı zamanda elastini de parçalar (150). Elastin parçalanmasının, konjenital kalp defekti ile birlikte pulmoner arteriyel hipertansiyonu olan hastalarda erken bir pulmoner vasküler anormallik olduğu gösterilmiştir (151).

Ratların hipoksiye maruz bırakılması, hipoksinin sona ermesi ile kısmen geri dönüşümlü olan pulmoner arteriyel yeniden şekillenmeye sebep olur. Thakker-Varia ve ark. (152), yeniden şekillenme gelişen pulmoner arterlerdeki artmış kollajenin posthipoksik dönemde parçalanmasına, endojen MMP'lerin aracılık ettiğini öne sürmüşlerdir. Bu araştırmacılar, hipoksiye maruz bırakılan ratlarda, hipoksik ortamdan çıkarıldıktan sonraki ilk birkaç gün içerisinde ana pulmoner arterlerinin kollajen içeriğinde hızlı bir düşüş olduğunu gözlemişlerdir. Normoksiye döndükten 1-3 gün sonra total proteolitik, kollajenolitik ve jelatinolitik aktivitelerde geçici artışlar ve stromelizin proteini ve 68-kDa jelatinazın salınımında artış belirlenmiştir. MMP'lerin salınımı ile vasküler kollajen içeriğindeki hızlı azalma arasındaki geçici korelasyon, kollajen rezorpsiyonu ile MMP aktivitesi arasında bir ilişkinin olduğunu düşündürmüştür. Bu çalışmada, pulmoner arter yeniden şekillenmesinin gerilemesi sırasında TIMP-1 proteinindeki değişiklikler de incelenmiştir. Normotansif pulmoner arterlerde TIMP-1 düşük düzeylerde salınmıştır, fakat geç hipertansif (10. gün) ve iyileşme dönemlerinde kontrollere göre arttığı gözlenmiştir. TIMP-1 düzeyinin, pik proteolitik aktivitelerin ve en yüksek MMP salınımının olduğu 13. günde en yüksek olduğu saptanmıştır. Pulmoner arterlerde MMP'lerin aktivasyonundan birkaç mekanizma sorumlu olabilir. Birincisi, hipoksiden normoksiye geçiş esnasında doku

oksijen basıncındaki değişiklik, latent MMP'leri aktive etmiş ve proteolitik aktiviteyi başlatmış olabilir. Oksijen serbest radikallerinin oluşumu, posthipoksik dönemde MMP aktivitesinin başlatılmasında tetikleyici olabilir. MMP salınımını etkileyen ikinci muhtemel mekanizma, posthipoksik dönemde kan basıncındaki azalma sonucunda hücreler üzerindeki mekanik kuvvetlerde oluşan değişikliklerle ilgili olabilir. Aynı ekibin daha önce yaptıkları bir çalışmada (153), izole pulmoner arterlerden statik mekanik gerilimin kaldırılması, proteolize ve MMP'lerin salınımına sebep olmuştur. Ana pulmoner arterlerde MMP salınımındaki değişimler, normoksiye dönüş sonrasında kan basıncı düştüğünde gelişen fizik kuvvetlerin bir sonucu olabilir (152).

Frisdal ve ark. (149) ise kronik hipoksiye maruz bırakılarak ve monokrotalin verilerek pulmoner hipertansiyon oluşturulan ratlarda MMP-2 salınımı ve aktivitesinin arttığını belirlemişlerdir. İmmüno lokalizasyon yapıldığında, MMP-2'nin ana pulmoner arterden distal damarlara kadar tüm pulmoner damarlarda mevcut olduğu ve intima, mediya ve adventisya tabakalarında kuvvetli boyanma gösterdiği gözlenmiştir. MMP-2 jelatinolitik aktivitesi, pulmoner hipertansiyonun ciddiyet derecesi ile korelasyon göstermiştir. Hipoksiye bağlı pulmoner hipertansiyonda MMP-2 aktivitesi zamana bağımlı bir artış göstermiştir. MMP-9 aktivitesinin ise ölçülemeyecek düzeyde ya da güçlkle belirlenebilecek düzeyde olduğu bildirilmiştir. Yazarlar, MMP salınımının, hem hipoksi (154), hem de monokrotalin sonrasında gözlenen inflamatuvar süreç tarafından tetiklenebilen (155), başta interlökin (IL)-1 α olmak üzere sitokinler tarafından düzenlendiğini öne sürmüşlerdir. Diğer muhtemel düzenleyici mekanizmanın ise fiziksel kuvvetler olabileceğini düşünmüşlerdir. Jelatinaz aktivitesi ile pulmoner hipertansiyonun ciddiyeti arasında korelasyon bulunması nedeniyle artmış basınç/gerilimin jelatinaz aktivitesini etkileyebileceğini düşünmüşlerdir. Pulmoner hipertansiyonda, MMP'ler düz kas hücre göçünü artırabilir ve aynı zamanda elastik internal laminanın parçalanmasına ve elastin komponenti de dahil olmak üzere yeni sentezlenmiş ESM döngüsünde artışa katkıda bulunabilirler (149).

Pulmoner hipertansiyonda MMP salınımının ve aktivitesinin artmış olduğunu gösteren çalışmalar olduğundan dolayı, Vieillard-Baron ve ark. (130) kronik hipoksiye maruz bırakılarak pulmoner hipertansiyon oluşturulan ratlarda akciğer MMP'lerinin inhibisyonunun, vasküler yeniden şekillenme ve pulmoner hipertansiyona katkıda bulunacağı ya da koruyucu rol oynayacağı hipotezini araştırmışlardır. Bu amaçla, kronik hipoksiye maruz bıraktıkları ratlara insan TIMP-1 (hTIMP-1) gen transferi veya

doksisiklin vererek akciğerde MMP inhibisyonu oluşturmuşlardır. Doksisiklin ya da hTIMP-1 gen transferi ile tedavi edilen ratlarda pulmoner arter basıncı kontrollerden daha yüksek ve sağ ventrikül hipertrofisi daha ciddi düzeyde bulunmuştur. Pulmoner hipertansiyondaki kötüleşme, distal arterlerde artmış muskularizasyon ve periadventisyal kollajen birikimi ile birlikte idi. Araştırmacılar, bu bulguların, hipoksik pulmoner hipertansiyon gelişimi sırasında MMP'lerin, ESM ve düz kas birikimini sınırlandırarak pulmoner arter yeniden şekillenmesine karşı koruyucu rol oynadıkları sonucuna varmışlardır. Pulmoner arterlerde neointima oluşumu ancak basınç sistemik seviyelere ulaştığı zaman oluşur (156). MMP inhibisyonuna yanıt olarak artmış pulmoner arter muskularizasyonu, artmış ESM depolanmasının direkt bir sonucu olabilir; hücre-ESM etkileşimlerinin sayısındaki bir artış, integrinler aracılığıyla iletilen mekanik tansiyonu artırmak suretiyle düz kas hücresi gelişimini uyarabilir (157). Alternatif olarak; artmış muskularizasyon, ESM birikimi tarafından meydana getirilen akıma karşı artmış dirence bir adaptasyon cevabı olabilir. İkinci hipotez, pulmoner arter duvar geriliminde bir artışa yanıt olarak düz kas hücre proliferasyonu olduğunu bildiren bir çalışma tarafından desteklenmektedir (158).

Son zamanlarda, akut pulmoner embolizme bağlı pulmoner hipertansiyonun tedavisinde pulmoner damarlardaki mekanik obstrüksiyonun giderilmesine odaklanılmakla birlikte nörojenik ve serotonin, endotelin-1 (ET-1) ve tromboksan A2 gibi vazokonstriktörlere bağlı gelişen arteriyoller vazokonstriksiyonun farmakolojik olarak inhibisyonu adjuvant bir tedavi yöntemi olarak öne sürülmektedir. Palei ve ark. (159) bir akut pulmoner embolizm rat modelinde MMP'lerin doksisiklin ile inhibisyonunun hemodinamik değişiklikleri azalttığını gözlemişlerdir. Bu nedenle aynı araştırmacılar (Souza-Costa ve ark.) (160) ratlarda yaptıkları deneysel çalışmada, L-arginin'in akut pulmoner embolizmin yol açtığı pulmoner hipertansiyon ve artmış akciğer MMP-2 ve MMP-9 aktiviteleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yazarlar akut pulmoner embolizmde akciğer MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerinde belirgin artışlar olduğunu saptamışlar ve L-arginin ile tedavinin akut pulmoner embolizmin yol açtığı pulmoner hipertansiyonu ve artmış akciğer MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerini geriletmediğini bildirmişlerdir. MMP'lerin ESM'nin birçok komponentlerini parçalayan enzimler oldukları bilinmekle birlikte bazı MMP'ler (MMP-1, MMP-2, MMP-3 ve MMP-9) vasküler düz kas hücrelerinde ve endotelial hücreler, makrofajlar, fibroblastlar, alveoler epitelyal hücreler gibi pulmoner dolaşımı etkileyen diğer birçok

hücrelerden de salınırlar (161). Normal akciğer dokusunda genellikle düşük düzeylerde MMP aktiviteleri bulunurken, inflamasyon ve akciğer hasarlanması durumlarında artmış MMP salınımı ve aktiviteleri bulunmaktadır (162). Bu nedenle, artmış akciğer MMP aktiviteleri inflamatuvar hücrelerin akciğer dokusuna göçünü yansıtabilir. Ayrıca aktive nötrofiller süperoksit ve diğer reaktif oksijen türlerini salıverirler, dolayısıyla da MMP'leri aktive ederler (14, 163). Diğer çalışmalarda (14, 164) damar duvarındaki artmış mekanik gerilmenin reaktif oksijen türlerinin oluşmasına yol açtığı ve böylece MMP'lerin salınımını artırdığı gösterilmiştir. Hayvan modellerinde akut pulmoner embolizmde artmış oksidatif stres gösterildiği için akut pulmoner embolizmin yol açtığı oksidatif stresin artmış akciğer MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerine neden olabileceği düşünülmüştür. L-arginin'in antioksidan mekanizmalar ile akciğerde MMP-2 ve MMP-9'u azalttığı ve böylece pulmoner hipertansiyon gelişimini geriletmediği düşünülmüştür. MMP-2 ve MMP-9'un ET-1-ilişkili peptitler gibi akut pulmoner embolizmde rol oynayan güçlü vazokonstriktörlerin salınımını kolaylaştırdığının gösterilmesi de (165, 166) bu hipotezi desteklemektedir. Ayrıca L-argininin akciğer MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerini azaltmasının kalsitonin geni-ilişkili peptit ve adrenomedullin gibi vazodilatatörlerin yıkımını azaltarak ta vazokonstriksiyonu, dolayısıyla pulmoner hipertansiyonu azaltabileceği ileri sürülmüştür (165, 167, 168).

L-arginin ratlarda, artmış ET-1 salınımının görüldüğü hipoksiye bağlı pulmoner hipertansiyonda da benzer etkiler göstermiştir (169). Spesifik bir MMP inhibitörü olan batimastat ta kronik hipoksik ratlarda oluşturulan pulmoner hipertansiyonda benzer faydalı etkiler oluşturmuştur (170).

Görüldüğü gibi literatürde genellikle deneysel hayvan modellerinde ve insanlarda yapılan az sayıdaki çalışmalarda farklı etiyolojilere bağlı pulmoner hipertansiyonda MMP-2 aktiviteleri yüksek bulunmuştur (9, 149, 160), MMP-9 aktiviteleri ile ilgili ise çelişkili sonuçlar mevcuttur (149, 160). Bizim çalışmamızda pulmoner hipertansiyonlu hastalarımızın serum TIMP-1 düzeyleri, hipoksiye maruz bırakılarak pulmoner hipertansiyon oluşturulan ratlarda (152) ve idiyopatik pulmoner hipertansiyonlu hastalarda (9) yapılan çalışmalarla uyumlu olarak pulmoner hipertansiyonu olmayan soldan sağa şanlı hastalardan ve sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0,01$). Yine literatür bilgileri ile uyumlu olarak pulmoner hipertansiyonu olan hastalarımızda serum MMP-2 düzeyleri yüksek bulunmuştur. Serum MMP-9 düzeyleri ise Frisdal ve ark. nın (149)

çalışmasının aksine, Souza-Costa ve ark. nın (160) sonuçlarını destekler şekilde yüksek bulunmuştur. Ancak çalışmamızda bulunan bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir. Pulmoner hipertansiyonlu olgularımızda MMP-2/TIMP-1 ve MMP-9/TIMP-1 oranlarının pulmoner hipertansiyonsuz gruptan ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşük bulunması da TIMP-1'deki yükselmenin MMP-2 ve MMP-9'daki yükselmeden daha ön planda olduğunu düşündürmektedir.

Yukarıda belirtilen deneysel hayvan çalışmalarında görüldüğü gibi pulmoner hipertansiyonda MMP inhibisyonu yapılmasının, pulmoner arter basıncını ve sağ ventrikül hipertrofini artırdığını (130) ya da aksine pulmoner hipertansiyonu geriletmediğini (160) gösteren birbiri ile çelişkili çalışmalar mevcuttur. Bizim çalışmamızda pulmoner hipertansiyonlu hastalarda saptanan ciddi TIMP-1 düzeyi yükselmesinin, pulmoner hipertansiyonda remodeling gelişmesine katkıda bulunduğunu ya da remodeling oluşturmak üzere artan MMP'leri inhibe ederek pulmoner hipertansiyon gelişimine karşı koruyucu etki yaptığını düşünmekteyiz. (Bizim çalışmamızda pulmoner hipertansiyonlu hastalarda saptanan ciddi TIMP-1 düzeyi yükselmesinin, pulmoner hipertansiyonda remodeling gelişmesine katkıda bulunduğunu, yoksa remodeling oluşturmak üzere artan MMP'leri inhibe ederek pulmoner hipertansiyon gelişimine karşı koruyucu etki mi yaptığını söylemek mümkün değildir.)

C. SİYANOTİK DOĞUMSAL KALP HASTALIKLARINDA MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE DOKU İNHİBİTÖRLERİ

Asiyantik DKH olan hastalar ile siyantik DKH olan hastalar birbirleri ile ve kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında da gruplar arasında istatistiksel olarak önemli herhangi bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Ancak serum MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri siyantik grupta asiyantik gruptan ve kontrol grubundan düşük, TIMP-1 düzeyi ise yüksek idi. TIMP-2 düzeyleri ise asiyantik ve siyantik gruplarda kontrol grubundan düşük idi. MMP-2/TIMP-1 oranı ortalaması da siyantik grupta daha belirgin olmak üzere hem siyantik, hem de asiyantik grupta kontrol grubundan düşük idi. Bu bulgular, siyantik doğumsal kalp hastalıklarında da TIMP-1 artışının ön planda olduğunu, belki de MMP-2 ve MMP-9'daki azalmanın TIMP-1 tarafından inhibisyona bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu bulguların daha ileri çalışmalarla değerlendirilmesine gereksinim vardır. Yaptığımız literatür taramasında siyantik ve

asiyanotik doğumsal kalp hastalıklarında MMP ve TIMP düzeylerinin araştırıldığı başka bir çalışmaya rastlayamadık.

D. MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE DOKU İNHİBİTÖRLERİNİN DÜZEYLERİ İLE EKOKARDİYOĞRAFİK, HEMODİNAMİK VE HİPOKSİ İLE İLGİLİ PARAMETRELERİN KORELASYONLARI

sağ ventrikülde volüm yüklenmesi olan hastalarda dikkat çeken korelasyonlar serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin Qp, Qp/Qs değerleri ve soldan sağa şant miktarı ile, TIMP-2 düzeylerinin sağ ventrikül sistolik basıncı ile, MMP-2 düzeylerinin ise sağ ventrikül MPI değerleri ile negatif korelasyon göstermesi idi. Özetle, soldan sağa şant, akciğer kan akımı ve sağ ventrikül fonksiyonundaki bozulma arttıkça MMP ve TIMP'ler azalmakta idi.

Sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan hastalarda ise MMP-2 düzeyleri aorta sistolik ve diyastolik basınçları ile, TIMP-2 düzeyleri de sol ventrikül diyastolik basınç değerleri ile pozitif korelasyon göstermekteydi.

Pulmoner hipertansiyon gelişmiş olan soldan sağa şanlı DKH olan hasta grubunda TIMP-1 düzeyleri sağ ventrikül MPI ile pozitif korelasyon göstermekteydi. Sağ ventrikül fonksiyon bozukluğunun artmasına paralel olarak TIMP-1 düzeylerinin arttığını gösteren bu korelasyon ile pulmoner hipertansiyonu olan hastalarda TIMP-1 düzeylerinin yüksek olması bulgumuz birbirini destekler niteliktedir.

Siyanotik DKH grubunda MMP-9 düzeyleri Rp ve Rs değerleri ile negatif korelasyon göstermekteydi. MMP ve TIMP düzeyleri ile hipoksiyi yansıtan hematolojik parametreler arasında ise herhangi bir korelasyon saptanmadı; sadece TIMP-2 düzeyleri bu hastalarda gözlenebilen demir eksikliğinin bir göstergesi olan MCV düzeyleri ile pozitif korelasyon göstermekteydi.

E. MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE DOKU İNHİBİTÖRLERİ İLE İLGİLİ GELECEKTEKİ TEDAVİ YAKLAŞIMLARI

“Geniş spektrumlu” olarak adlandırılan selektif olmayan MMP inhibitörleri geliştirilmiş ve doku düzeyinde MMP inhibisyonunu sağladıkları gösterilmiştir. Bu şekilde MMP aktivitesinin düzenlenmesi sol ventrikül yeniden şekillenmesinin ve konjestif kalp yetersizliğinin tedavisinde gelecek için bir terapötik hedef oluşturmaktadır. Ancak geniş spektrumlu MMP inhibitörlerinin kullanımı bazı

problemleri beraberinde getirmektedir. Birincisi, tüm MMP türlerinin uzun süreli olarak inhibisyonu normal doku yeniden şekillenmesini ve ekstraselüler protein döngüsünü de önleyecektir. İkincisi, tümör metastazı olan hastalarda geniş spektrumlu MMP inhibitörleri ile ilk klinik deneyimler istenmeyen bazı sistemik yan etkilerinin olduğunu göstermiştir (36). Gelişmekte olan konjestif kalp yetersizliğindeki patolojik miyokardiyal yeniden şekillenmeye katkısı olan belirli MMP türlerini hedef alan selektif inhibitörler, gelecek için daha önemli bir terapötik hedefi oluşturmaktadır. Ayrıca çeşitli klinik tabloların farklı dönemlerinde MMP düzeylerinin ve aktivasyonunun farklılıklar gösterebilmesinden dolayı miyokardiyal ESM'yi modüle etmeyi hedefleyen tedavi stratejileri hastalığa ve hastalığın dönemine özgül olmalıdır.

Gittikçe sayıları artan MMP'lerin substrat özgüllüklerinin ve inhibitörlerinin daha iyi anlaşılması faydalı olacaktır. MMP ve TIMP'lerin kardiyovasküler hastalıklardaki patofizyolojik rollerinin daha iyi bilinmesi, kalp-damar hastalıklarının önlenmesine ve istenmeyen sol ventrikül yeniden şekillenmesinin sınırlandırılmasına yönelik en uygun tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesini kolaylaştıracaktır.

Sonuç olarak; çalışmamızda pulmoner hipertansiyonu olan soldan sağa şanlı DKH olan olgularda serum TIMP-1 düzeylerinin pulmoner hipertansiyonu olmayan soldan sağa şanlı DKH olgularından ve kontrol grubundan istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kalpte volüm yüklenmesine yol açan çeşitli doğumsal kalp hastalıklarında ve siyanotik doğumsal kalp hastalıklarında serum MMP ve TIMP düzeylerinde değişimler olduğu gözlenmiş, dolayısıyla bu hastalıklarında görülen kardiyak yeniden şekillenmede MMP ve TIMP'lerin rolü olduğu düşünülmüştür; ancak bu değişikliklerin çoğunluğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu nedenle sonuçlarımızın daha geniş kapsamlı çalışmalarla desteklenmesine gereksinim vardır. Doğumsal kalp hastalıklarında görülen miyokardiyal yeniden şekillenmede MMP sistemindeki ve MMP/TIMP dengesindeki değişikliklerin daha iyi anlaşılması bu hastalıkların izlem ve tedavisine yeni bir görüş ve strateji getirecektir.

VI. SONUÇLAR

Çocuklarda soldan sağa şanlı doğumsal kalp hastalıklarında, pulmoner hipertansiyonda ve siyanotik doğumsal kalp hastalıklarında serum MMP-2, MMP-9, TIMP-1, ve TIMP-2 düzeylerini ve bu hastalıklarda MMP ve TIMP düzeylerinin sağ ve sol ventrikül sistolik ve diyastolik fonksiyonları, çeşitli hemodinamik parametreler ve hipoksinin derecesi ile ilişkilerini değerlendirerek MMP'lerin ve doku inhibitörlerinin doğumsal kalp hastalıklarının patofizyolojisindeki rollerini araştırmayı amaçlayarak yapılan çalışmada aşağıdaki sonuçlara varıldı:

1. Serum MMP-2 düzeyi sağ ventrikülde volüm yüklenmesi olan DKH'da sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan DKH'dan ve kontrol grubundan yüksek bulunmakla birlikte gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri ise sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan DKH'lı hastalarda sağ ventrikülde volüm yüklenmesi olan hastalardan ve kontrol grubundan yüksek olmakla birlikte gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). TIMP-2 düzeyleri sol ventrikülde ve sağ ventrikülde volüm yüklenmesi olan gruplarda kontrol grubundan düşük bulunmakla birlikte bu farklar da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).
2. Ortalama MMP-2/TIMP-1 oranı sağ ventrikülde ve sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan DKH gruplarında kontrol grubundan düşük, ortalama MMP-2/TIMP-2 oranı sağ ventrikülde volüm yüklenmesi olan grupta sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan gruba ve kontrol grubuna göre bir miktar yüksek, MMP-9/TIMP-1 oranı ortalaması sağ ventrikülde ve sol ventrikülde volüm yüklenmesi olan DKH gruplarında kontrol grubundan bir miktar düşük bulunmakla birlikte gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).
3. MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri pulmoner hipertansiyon gelişmiş olan soldan sağa şanlı hastalarda pulmoner hipertansiyonu olmayan soldan sağa şanlı hastalara ve kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).
4. Pulmoner hipertansiyonu olan soldan sağa şanlı hastalardaki serum TIMP-1 düzeyleri, pulmoner hipertansiyonu olmayan soldan sağa şanlı

hastalardakinden ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $905,3 \pm 191,2$; $370,1 \pm 76,7$ ve $344,1 \pm 76,3$ pg/mL) ($p < 0,01$). TIMP-2 düzeyleri yönünden ise gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0,05$).

5. Pulmoner hipertansiyonu olan soldan sağa şanlı hastaların ortalama MMP-2/TIMP-1 ve MMP-9/TIMP-1 oranları pulmoner hipertansiyonu olmayan soldan sağa şanlı hastalardan ve kontrol grubundan oldukça düşük olmasına rağmen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). MMP-2/TIMP-2 ve MMP-9/TIMP-2 oranları yönünden ise gruplar arasında herhangi bir fark bulunmadı ($p > 0,05$).
6. MMP-2 ve MMP-9 düzeyi ortalamaları siyanotik DKH grubunda asiyanotik DKH grubundan ve kontrol grubundan bir miktar düşük, ortalama TIMP-1 düzeyi siyanotik grupta asiyanotik DKH grubundan ve kontrol grubundan yüksek olmakla birlikte gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). Asiyanotik ve siyanotik DKH olan hastaların ortalama TIMP-2 düzeyleri kontrol grubununkinden daha düşük olmakla birlikte aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). En düşük düzey ise asiyanotik gruptaki idi.
7. Ortalama MMP-2/TIMP-1 oranı, siyanotik grupta daha belirgin olmak üzere hem asiyanotik hem de siyanotik DKH grubunda kontrol grubundan düşüktü, ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).
8. Sağ ventrikülde volüm yüklenmesine yol açan ASD'li hastaların MMP-2 düzeyleri ekokardiyografik ölçümlerden sadece sağ ventrikül MPI ile, MMP-9 düzeyleri sol ventrikül MPI ile, TIMP-2 düzeyleri ise LVPWd ve doku Doppler yöntemi ile ölçülen A_m değerleri ile negatif korelasyon göstermekte idi ($p < 0,05$). Hem MMP-9, hem de TIMP-1 düzeyleri hemodinamik parametrelerden soldan sağa şant miktarı ile negatif, Rp ve Rp/Rs değerleri ile ise pozitif korelasyon göstermekteydi; ayrıca MMP-9 düzeyleri Qp/Qs, TIMP-1 düzeyleri de Qp değerleri ile negatif korelasyon göstermekte idi ($p < 0,05$). TIMP-2 düzeyleri ise sadece RVP (s) değerleri ile negatif korele idi ($p < 0,05$).
9. Sol ventrikülde volüm yüklenmesine yol açan doğumsal kalp hastalıklarında (VSD'li ve PDA'lı hastalar) TIMP-1 düzeyleri ekokardiyografik parametrelerden DZ ile pozitif, doku Doppler yöntemi ile ölçülen E_m ile ise

negatif korelasyon göstermekteydi ($p<0,05$). TIMP-2 düzeyleri ise sadece E/A ile negatif korelasyon göstermekteydi ($p<0,05$). MMP-2 düzeyleri hemodinamik parametrelerden aorta sistolik ve diyastolik basınçları ile, TIMP-2 düzeyleri ise sol ventrikül diyastolik basıncı ile pozitif korelasyon gösteriyordu ($p<0,05$).

10. Pulmoner hipertansiyon gelişmiş olan soldan sağa şantlı doğumsal kalp hastalıklarında hipoksi ile ilgili çalışılan parametrelerden hiçbiri ile MMP ve TIMP düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı ($p>0,05$). MMP-2 düzeyleri ekokardiyografik parametrelerden doku Doppler ile ölçülen S_m değeri ile, TIMP-1 düzeyleri ise sağ ventrikül MPİ ile pozitif, hemodinamik parametrelerden Q_p ve Q_p/Q_s değerleri ile negatif, R_p/R_s değerleri ile ise pozitif korelasyon gösteriyordu ($p<0,05$). MMP-9 düzeyleri LA basıncı ile, TIMP-2 düzeyleri ise sağ ventrikül diyastolik basıncı ile pozitif korelasyon göstermekteydi ($p<0,05$).
11. Siyanotik DKH grubunda hipoksi ile ilgili çalışılan parametrelerden yalnız MCV ile TIMP-2 düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı ($p<0,05$). MMP-9 düzeyleri ekokardiyografik parametrelerden doku Doppler ile ölçülen E_t ve E/A_t değerleri ile negatif, hemodinamik parametrelerden LA basıncı, sağ atriyum basıncı ve Q_s ile pozitif, R_p ve R_s değerleri ile ise negatif korelasyon gösteriyordu ($p<0,05$). TIMP-1 düzeyleri sağ ventrikül sistolik basınç ve R_s değerleri ile negatif, Q_s değerleri ile ise pozitif korelasyon göstermekteydi ($p<0,05$).

Sonuç olarak; çalışmamızda pulmoner hipertansiyonun patogenezinde TIMP-1'in önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kalpte volüm yüklenmesine yol açan ve siyanotik DKH'da serum MMP ve TIMP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte değişimler olduğu gözlenmiş, bu hastalıklarda görülen kalbin yeniden şekillenmesinde MMP ve TIMP'lerin rolü olabileceği düşünülmüştür.

VII. KAYNAKLAR

1. Visse R, Nagase H. (2003): Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: Structure, function, and biochemistry. *Circ Res*, 92: 827-839.
2. Kuzuya M, Iguchi A. (2003): Role of matrix metalloproteinases in vascular remodelling. *J Atheroscler Thromb*, 10: 275-282.
3. Stetler WG. (1999): Matrix metalloproteinases in angiogenesis; a moving target for therapeutic intervention. *J Clin Invest*, 103: 1237-1241.
4. Beaudoux J, Giral P, Bruckert E. (2004): Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med*, 42: 121-131.
5. Brauer PR. Matrix metalloproteinase type-2 expression during early neural crest cell migration. <http://bifl1.creighton.edu/faculty/brauer.html#Cai>.
6. Wallace YS, McEniery CM, Dakham Z, Pusalkar P, Maki-Petaja K, Ashby MJ, Cockcroft JR, Wilkinson IB. (2005): Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25: 372-378.
7. Noji Y, Shimizu M, Ino H, Higashikata T, Yamaguchi M, Nohara A, Horita H, Shimizu K, Ito Y, Matsuda T, Namura M, Mabuchi H. (2004): Increased matrix metalloproteinase-2 in patients with hypertrophic cardiomyopathy with systolic dysfunction. *Circ J*, 68: 355-360.
8. Altieri P, Brunelli C, Garibaldi S, Nicolino A, Ubaldi S, Spallarossa P, Olivotti L, Rossettin P, Barsotti A, Ghigliotti G. (2003): Metalloproteinases 2 and 9 are increased in plasma of patients with heart failure. *Eur J Clin Invest*, 33: 648-656.
9. Lepetit H, Eddahibi S, Fadel E, Frisdal E, Munaut C, Noel A, Humbert M, Adnot S, D'Ortho MP, Lafuma C. (2005): Smooth muscle cell matrix metalloproteinases in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J*, 25: 834-842.
10. Saed GM, Zhang W, Diamond MP. (2000): Effect of hypoxia on stimulatory effect of TGF-beta 1 on MMP-2 and MMP-9 activities in mouse fibroblasts. *J Soc Gynecol Invest*, 7: 348-354.

11. Nagatomo Y, Carabello BA, Coker ML, McDermott PJ, Nemoto S, Hamawaki M, Spinale FG. (2000): Differential effects of pressure or volume overload on myocardial MMP levels and inhibitory control. *Am J Physiol*, 278: H151-H161.
12. Brower GL, Janicki JS. (2001): Contribution of ventricular remodelling to pathogenesis of heart failure in rats. *Am J Physiol*, 280: H674-H683.
13. Ovechkin AV, Tyagi N, Rodriguez WE, Hayden MR, Moshal KS, Tyagi SC. (2005): Role of matrix metalloproteinase-9 in endothelial apoptosis in chronic heart failure in mice. *J Appl Physiol*, 99: 2398-2405.
14. Galis ZS, Khatri JJ. (2002): Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis. The good, the bad, and the ugly. *Circ Res*, 90: 251-262.
15. Spinale FG, Coker ML, Bond BR, Zellner JL. (2000): Myocardial matrix degeneration and metalloproteinase activation in the failing heart: a potential therapeutic target. *Cardiovasc Res*, 46: 225-238.
16. Martignetti JA, Aqeel AA, Sewairi WA, Boumah CE, Kambouris M, Mayouf SA, Sheth KV, Eid WA, Dowling O, Harris J, Glucksman MJ, Bahabri S, Meyer BF, Desnick RJ. (2001): Mutation of matrix metalloproteinase 2 gene (MMP2) causes a multicentric osteolysis and arthritis syndrome. *Nat Genet*, 28: 261-265.
17. Longo GM, Xiong W, Greiner TC, Zhao Y, Fiotti N, Baxter BT. (2002): Matrix metalloproteinases 2 and 9 work in concert to produce aortic aneurysms. *J Clin Invest*, 110: 625-632.
18. Allaire E, Hasenstab D, Kenagy RD, Starcher B, Clowes MM, Clowes AW. (1998): Prevention of aneurysm development and rupture by local overexpression of plasminogen activator inhibitor-1. *Circulation*, 98: 249-255.
19. Blakenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, Bickel C, Smieja M, Hafner G, Meyer J, Cambien F, Tiret L; AtheroGene Investigators. (2003): Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation*, 107: 1579-1585.
20. Montaner J, Molina CA, Monasterio J, Abilleira S, Arenillas JF, Ribo M, Quintana M, Alvarez-Sabin J. (2003): Matrix metalloproteinase-9 pretreatment levels predicts intracranial hemorrhagic complications after thrombolysis in human stroke. *Circulation*, 107: 598-603.

21. Suzuki K, Enghild JJ, Morodomi T, Salvesen G, Nagase H. (1990): Mechanisms of activation of tissue procollagenase by matrix metalloproteinase 3 (stromelysin). *Biochemistry*, 29: 10261-10270.
22. Ohuchi E, Imai K, Fujii Y, Sato H, Seiki M, Okada Y. (1997): Membrane type 1 matrix metalloproteinase digests interstitial collagens and other extracellular matrix molecules. *J Biol Chem*, 272: 2446-2451.
23. Pepper MS. (2001): Extracellular proteolysis and angiogenesis. *Thromb Haemost*, 86: 346-355.
24. Sekine-Aizawa H, Iwata N, Saido TC. (2001): Matrix metalloproteinase (MMP) system in brain: identification and characterization of brain-specific MMP highly expressed in cerebellum. *Eur J Neurosci*, 13: 935-948.
25. Velasco G, Cal S, Merlos-Suárez A, Ferrando AA, Alvarez S, Nakano A, Arribas J, López-Otín C. (2000): Human MT6-matrix metalloproteinase: identification, progelatinase A activation, and expression in brain tumors. *Cancer Res*, 60: 877-882.
26. Pei D. (1999): Leukolysin/MMP25/MT6-MMP: a novel matrix metalloproteinase specifically expressed in the leukocyte lineage. *Cell Res*, 9: 291-303.
27. Shapiro SD, Kobayashi DK, Ley TJ. (1993): Cloning and characterization of a unique elastolytic metalloproteinase produced by human alveolar macrophages. *J Biol Chem*, 268: 23824-23829.
28. Shipley JM, Wesselschmidt RL, Kobayashi DK, Ley TJ, Shapiro SD. (1996): Metalloelastase is required for macrophage-mediated proteolysis and matrix invasion in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 93: 3942-3946.
29. Péndas AM, Knäuper V, Puente XS, Llano E, Mattei MG, Apte S, Murphy G, López-Otín C. (1997): Identification and characterization of a novel human matrix metalloproteinase with unique structural characteristics, chromosomal location, and tissue distribution. *J Biol Chem*, 272: 4281-4286.
30. Kolb C, Mauch S, Peter HH, Kranwinkel U, Sedlacek R. (1997): The matrix metalloproteinase RASI-1 is expressed in synovial blood vessels of a rheumatoid arthritis patient. *Immunol Lett*, 57: 83-88.

31. Li W, Gibson CW, Abrams WR, Andrews DW, DenBesten PK. (2001): Reduced hydrolysis of amelogenin may result in X-linked amelogenesis imperfect. *Matrix Biol*, 19: 755-760.
32. Pei D, Kang T, Qi H. (2000): Cystein array matrix metalloproteinase (CA-MMP)/MMP-23 is a type II transmembrane matrix metalloproteinase regulated by a single cleavage for both secretion and activation. *J Biol Chem*, 275: 33988-33997.
33. Marchenko GN, Strongin AY. (2001): MMP-28, a new human matrix metalloproteinase with an unusual cystein-switch sequence is widely expressed in tumors. *Gene*, 265: 87-93.
34. Lohi J, Wilson CL, Roby JD, Parks WC. (2001): Epilysin, a new human matrix metalloproteinase (MMP-28) expressed in testis and keratinocytes and in response to injury. *J Biol Chem*, 276: 10134-10144.
35. Saarialho-Kere U, Kerkela E, Jhkola T, Suomela S, Keski-Oja J, Lohi J. (2002): Epilysin (MMP-28) expression is associated with cell proliferation during epithelial repair. *J Invest Dermatol*, 119: 14-21.
36. Spinale FG. (2002): Matrix metalloproteinases: Regulation and dysregulation in the failing heart. *Circ Res*, 90: 520-530.
37. Briknarova K, Gehrmann M, Bányai L, Tordai H, Patthy L, Llians M. (2001): Gelatin-binding region of human matrix metalloproteinase-2: solution structure, dynamics, and function of the COL-23 two-domain construct. *J Biol Chem*, 276: 27613-27621.
38. Olson MW, Gervasi DC, Mohashery S, Fridman R. (1997): Kinetic analysis of the binding of human matrix metalloproteinase-2 and -9 to tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1 and TIMP-2. *J Biol Chem*, 272: 29975-29983.
39. Roeb E, Schleinkofer K, Kernebeck T, Potsch S, Jansen B, Behrmann I, Matern S, Grotzinger J. (2002): The matrix metalloproteinase 9 (mmp-9) hemopexin domain is a novel gelatin binding domain and acts an antagonist. *Biol Chem*, 277: 50326-50332.
40. Van Wart HE, Birdekal-Hansen H. (1990): The cystein-switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87: 5578-5582.

41. Chen LC, Noelken ME, Nagase H. (1993): Disruption of the cystein-75 and zinc ion coordination is not sufficient to activate the precursor of human matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1). *Biochemistry*, 32: 10289-10295.
42. Gu Z, Kaul M, Yan B, Kridel SJ, Cui J, Strongin A, Smith JW, Liddington RC, Lipton SA. (2002): S-Nitrosylation of matrix metalloproteinases: signaling pathway to neuronal cell death. *Science*, 297; 1186-1190.
43. Nagase H, Enghild JJ, Suzuki K, Salvesen G. (1990): Stepwise activation mechanisms of the precursor of matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) by proteinases and (4-aminophenyl) mercuric acetate. *Biochemistry*, 29: 5783-5789.
44. Lijnen HR. (2001): Plasmin and matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *Thromb Haemost*, 86: 324-333.
45. Suzuki K, Kan CC, Hung W, Gehring MR, Brew K, Nagase H. (1998): Expression of human pro-matrix metalloproteinase 3 that lacks the N-terminal 34 residues in *Escherichia coli*: autoactivation and interaction with tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1). *Biol Chem*, 379: 185-191.
46. Pei D, Weiss SJ. (1995): Furin-dependent intracellular activation of the human stromelysin 3 zymogen. *Nature*, 375: 244-247.
47. Holliday LS, Welgus HG, Fliszar CJ, Veith GM, Jeffrey JJ, Gluck SL. (1997): Initiation of osteoclast bone resorption by interstitial collagenase. *J Biol Chem*, 272: 22053-22058.
48. Pilcher BK, Dumin JA, Sudbeck BD, Krane SM, Welgus HG, Parks WC. (1997): The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *J Cell Biol*, 137: 1445-1457.
49. Lei H, Furth EE, Kalluri R, Chiou T, Tilly KI, Tilly JL, Elkon KB, Jeffrey JJ, Strauss JF III. (1996): A program of cell death and extracellular matrix degradation is activated in the amnion before the onset of labor. *J Clin Invest*, 98: 1971-1978.
50. Giannelli G, Falk-Marzillier J, Schiraldi O, Stetler-Stevenson WG, Quaranta V. (1997): Induction of cell migration by matrix metalloproteinase-2 cleavage of laminin-5. *Science*, 277: 225-228.

51. Koshikawa N, Giannelli G, Cirulli V, Miyazaki K, Quaranta V. (2000): Role of cell surface metalloproteinase MT1-MMP in epithelial cell migration over laminin-5. *J Cell Biol*, 148: 615-624.
52. Krekoski CA, Neubauer D, Graham JB, Muir D. (2002): Metalloproteinase-dependent predegeneration in vitro enhances axonal regeneration within acellular peripheral nerve grafts. *J Neurosci*, 22: 10408-10415.
53. Stamenkovic I. (2003): Extracellular matrix remodeling: the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol*, 200: 448-464.
54. Will H, Atkinson SJ, Butler GS, Smith B, Murphy G. (1996): The soluble catalytic domain of membrane type 1 matrix metalloproteinase cleaves the propeptide of progelatinase A and initiates autoproteolytic activation: regulation by TIMP-2 and TIMP-3. *J Biol Chem*, 271: 17119-17123.
55. Baker AH, Edwards DR, Murphy G. (2002): Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *J Cell Sci*, 115: 3719-3727.
56. Rouis M, Adamy C, Duverger N, Lesnik P, Horellou P, Moreau M, Emmanuel F, Caillaud JM, Laplaud PM, Datchet C, Chapman MJ. (1999): Adenovirus-mediated overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 reduces atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*, 100: 533-540.
57. Allaire E, Forough R, Clowes M, Starcher B, Clowes AW. (1998): Local overexpression of TIMP-1 prevents aortic aneurysm degeneration and rupture in a rat model. *J Clin Invest*, 102: 1413-1420.
58. Gasson JC, Golde DW, Kaufman SE, Westbrook CA, Hewick RM, Kaufman RJ, Wong GG, Temple PA, Leary AC, Brown EL, et al. (1985): Molecular characterization and expression of the gene encoding human erythroid-potentiating activity. *Nature*, 315: 768-771.
59. Stetler-Stevenson WG, Bersch N, Golde DW. (1992): Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) has erythroid-potentiating activity. *FEBS Lett*, 296: 231-234.
60. Hayakawa T, Yamashita K, Tanzawa K, Uchijima E, Iwata K. (1992): Growth-promoting activity of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) for a wide range of cells: a possible new growth factor in serum. *FEBS Lett*, 298: 29-32.

61. Hayakawa T, Yamashita K, Ohuchi E, Shinagawa A. (1994): Cell growth-promoting activity of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 (TIMP-2). *J Cell Sci*, 107: 2373-2379.
62. Zhao WQ, Li H, Yamashita K, Guo XK, Hoshino T, Yoshida S, Shinya T, Hayakawa T. (1998): Cell cycle-associated accumulation of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) in the nuclei of human gingival fibroblasts. *J Cell Sci*, 111: 1147-1153.
63. Ritter LM, Garfield SH, Thorgeirsson UP. (1999): Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) binds to the cell surface and translocates to the nucleus of human MCF-7 breast carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 257: 494-499.
64. Barasch J, Yang J, Qiao J, Tempst P, Erdjument-Bromage H, Leung W, Oliver JA. (1999): Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 stimulates mesenchymal growth and regulates epithelial branching during morphogenesis of the rat metanephros. *J Clin Invest*, 103: 1299-1307.
65. Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. (1997): Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol*, 74: 111-122.
66. Bond M, Murphy G, Bennett MR, Newby AC, Baker AH. (2002): Tissue inhibitor of metalloproteinase-3 induces a Fas-associated death domain-dependent type II apoptotic pathway. *J Biol Chem*, 277: 13787-13795.
67. Ahonen M, Poukkula M, Baker AH, Kashiwagi M, Nagase H, Erikson JE, Kähäri VM. (2003): Tissue inhibitor of metalloproteinase-3 induces apoptosis in melanoma cells by stabilization of death receptors. *Oncogene*, 22: 2121-2134.
68. Weber BH, Vogt G, Pruett RC, Stohr H, Felbor U. (1994): Mutations in the tissue inhibitor of metalloproteinase-3 (TIMP-3) in patients with Sorby's fundus dystrophy. *Nat Genet*, 8: 352-356.
69. Tabata Y, Isashiki Y, Kamimura K, Nakao K, Ohba N. (1998): A novel splice site mutation in the tissue inhibitor of metalloproteinase-3 gene in Sorby's fundus dystrophy with unusual clinical features. *Hum Genet*, 103: 179-182.
70. Qi JH, Ebrahim Q, Yeow K, Edwards DR, Fox PL, Anand-Apte B. (2002): Expression of Sorby's fundus dystrophy mutations in human retinal pigment

epithelial cells reduces matrix metalloproteinase inhibition and may promote angiogenesis. *J Biol Chem*, 277: 13394-13400.

71. Nataatmadja M, West M, West J, Summers K, Walker P, Nagata M, Watanabe T. (2003): Abnormal extracellular matrix protein transport associated with increased apoptosis of vascular smooth muscle cells in Marfan syndrome and bicuspid aortic valve thoracic aortic aneurysm. *Circulation*, 108 (Suppl II): II-329-II-334.
72. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. (1994): Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*, 94: 2493-2503.
73. Galis Z, Sukhova G, Libby P. (1995): Microscopic localization of active proteases by in situ zymography: detection of matrix metalloproteinase activity in vascular tissue. *FASEB J*, 9: 974-980.
74. Bassiouny HS, Song RH, Hong XF, Singh A, Kocharyan H, Glagov S. (1998): Flow regulation of 72-kD collagenase IV (MMP-2) after experimental arterial injury. *Circulation*, 98: 157-163.
75. Godin D, Ivan E, Johnson C, Magid R, Galis ZS. (2000): Remodeling of carotid artery is associated with increased expression of matrix metalloproteinases in mouse blood flow cessation model. *Circulation*, 102: 2861-2866.
76. Abbruzzese TA, Guzman RJ, Martin RL, Yee C, Zarins CK, Dalman RL. (1998): Matrix metalloproteinase inhibition limits arterial enlargements in a rodent arteriovenous fistula model. *Surgery*, 124: 328-335.
77. Chesler N, Ku D, Galis ZS. (1999): Transmural pressure induces matrix-degrading activity in porcine arteries ex vivo. *Am J Physiol*, 277: H2002-H2009.
78. Southgate KM, Mehta D, Izzat MB, Newby AC, Angelini GD. (1999): Increased secretion of basement membrane-degrading metalloproteinases in pig saphenous vein into carotid artery interposition grafts. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19: 1640-1649.
79. Lafont A, Durand E, Samuel JL, Besse B, Addad F, Levy BI, Desnos M, Guerot C, Boulanger CM. (1999): Endothelial dysfunction and collagen accumulation: two independent factors for restenosis and constrictive remodeling after experimental angioplasty. *Circulation*, 100: 1109-1115.

80. Tronc F, Mallat Z, Lehoux S, Wassef M, Esposito B, Tedgui A. (2000): Role of matrix metalloproteinases in blood flow-induced arterial enlargement: Interaction with NO. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20: e120-e126.
81. Cai H, Harrison DG. (2000): Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res*, 87: 840-844.
82. Cho A, Reidy MA. (2002): Matrix metalloproteinase-9 is necessary for the regulation of smooth muscle cell replication and migration after arterial injury. *Circ Res*, 91: 845-851.
83. Kuzuya M, Kanda S, Sasaki T, Tamaya-Mori N, Cheng XW, Itoh T, Itohara S, Iguchi A. (2003): Deficiency of gelatinase A suppresses smooth muscle cell invasion and development of experimental intimal hyperplasia. *Circulation*, 108: 1375-1381.
84. Amorino GP, Hoover RL. (1998): Interactions of monocytic cells with human endothelial cells stimulate monocytic metalloproteinase production. *Am J Pathol*, 152: 199-207.
85. Romanic AM, Madri JA. (1994): The induction of 72-kD gelatinase in T cells upon adhesion to endothelial cells is VCAM-1 dependent. *J Cell Biol*, 125: 1165-1178.
86. Rosenberg GA, Estrada GA, Dencoff JE. (1998): Matrix metalloproteinases and TIMPs are associated with blood-brain barrier opening after reperfusion in rat brain. *Stroke*, 29: 2189-2195.
87. Coats WD Jr, Whittaker P, Cheung DT, Currier JW, Han B, Faxon DP. (1997): Collagen content is significantly lower in restenotic versus nonrestenotic vessels after balloon angioplasty in the atherosclerotic rabbit model. *Circulation*, 95: 1293-1300.
88. Bendeck MP, Zempo N, Clowes AW, Galardy RE, Reidy MA. (1994): Smooth muscle cell migration and matrix metalloproteinase expression after arterial injury in the rat. *Circ Res*, 75: 539-545.
89. Bendeck MP, Irvin C, Reidy MA. (1996): Inhibition of matrix metalloproteinase activity inhibits smooth muscle cell migration but not neointimal thickening after arterial injury. *Circ Res*, 78: 38-43.
90. Zempo N, Koyama N, Kenagy RD, Lea HJ, Clowes AW. (1996): Regulation of vascular smooth muscle cell migration and proliferation in vitro and in injured

- rat arteries by a synthetic matrix metalloproteinase inhibitor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 16: 28-33.
91. Margolin L, Fishbein I, Banai S, Golomb G, Reich R, Perez LS, Gertz SD. (2002): Metalloproteinase inhibitor attenuates neointima formation and constrictive remodeling after angioplasty in rats: augmentative effect of $\alpha_v\beta_3$ receptor blockade. *Atherosclerosis*, 163: 269-277.
 92. Li C, Cantor WJ, Nili N, Robinson R, Fenkell L, Tran YL, Whittingham HA, Tsui W, Cheema AN, Sparkes JD, Pritzker K, Levy DE, Strauss BH. (2002): Arterial repair after stenting and the effects of GM6001, a matrix metalloproteinase inhibitor. *J Am Coll Cardiol*, 39: 1852-1858.
 93. de Smet BJ, de Kleijn D, Hanemaaijer R, Verheijen JH, Robertus L, van Der Helm YJ, Borst C, Post MJ. (2000): Metalloproteinase inhibition reduces constrictive arterial remodeling after balloon angioplasty: a study in the atherosclerotic Yucatan micropig. *Circulation*, 101: 2962-2967.
 94. Sieravogel MJ, Pasterkamp G, Velema E, de Jaegere PP, de Smet BJ, Verheijen JH, de Kleijn DP, Borst C. (2001): Oral matrix metalloproteinase inhibition and arterial remodeling after balloon dilation: An intravascular ultrasound study in the pig. *Circulation*, 103: 302-307.
 95. Bendeck MP, Conte M, Zhang M, Nili N, Strauss BH, Farwell SM. (2002): Doxycycline modulates smooth muscle cell growth, migration, and matrix remodeling after arterial injury. *Am J Pathol*, 160: 1089-1095.
 96. George SJ, Baker AH, Angelini GD, Newby AC. (1998): Gene transfer of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 inhibits metalloproteinase activity and neointima formation in human saphenous veins. *Gene Ther*, 5: 1552-1560.
 97. Janicki JS, Brower GL, Gardner JD, Forman MF, Stewart Jr. JA, Murray DB, Chancey AL. (2006): Cardiac mast cell regulation of matrix metalloproteinase-related ventricular remodeling in chronic pressure or volume overload. *Cardiovasc Res*, 69: 657-665.
 98. Spinale FG, Coker ML, Thomas CV, Walker JD, Mukherjee R, Hebbar L. (1998): Time-dependent changes in matrix metalloproteinase activity and expression during the progression of congestive heart failure: relation to ventricular and myocyte function. *Circ Res*, 82: 482-495.

99. Coker ML, Thomas CV, Clair MJ, Hendrick JW, Krombach RS, Galis ZS, Spinale FG. (1998): Myocardial matrix metalloproteinase activity and abundance with congestive heart failure. *Am J Physiol*, 274: H1516-H1523.
100. Dixon IMC, Ju H, Reid NL, Scammell-La Fleur T, Werner JP, Jasmin G. (1997): Cardiac collagen remodeling in the cardiomyopathic Syrian hamster and the effect of losartan. *J Mol Cell Cardiol*, 29: 1837-1850.
101. Peterson JT, Hallak H, Johnson L, Li H, O'Brien PM, Sliskovich DR, Bocan TM, Coker ML, Etoh T, Spinale FG. (2001): Matrix metalloproteinase inhibition attenuates left ventricular remodeling and dysfunction in a rat model of progressive heart failure. *Circulation*, 103: 2303-2309.
102. Roten L, Nemoto S, Simsic J, Coker ML, Rao V, Baicu S, Defreyte G, Soloway PJ, Zile MR, Spinale FG. (2000): Effects of gene deletion of the tissue inhibitor of the matrix metalloproteinase-type 1 (TIMP-1) on left ventricular geometry and function in mice. *J Mol Cell Cardiol*, 32: 109-120.
103. Ovechkin AV, Tyagi N, Rodriguez WE, Hayden MR, Moshal KS, Tyagi SC. (2005): Role of matrix metalloproteinase-9 in endothelial apoptosis in chronic heart failure in mice. *J Appl Physiol*, 99: 2398-2405.
104. Altieri P, Brunelli C, Garibaldi S, Nicolino A, Ubaldi S, Spallarossa P, Olivotti L, Rossettin P, Barsotti A, Ghigliotti G. (2003): Metalloproteinases 2 and 9 are increased in plasma of patients with heart failure. *Eur J Clin Invest*, 33: 648-656.
105. Yan AT, Yan RT, Spinale FG, Afzal R, Gunasinghe HR, Arnold M, Demers C, McKelvie RS, Liu PP. (2006): Plasma matrix metalloproteinase-9 level is correlated with left ventricular volumes and ejection fraction in patients with heart failure. *J Cardiac Failure*, 12: 514-519.
106. George J, Patal S, Wexler D, Roth A, Sheps D, Keren G. (2005): Circulating matrix metalloproteinase-2 but not matrix metalloproteinase-3, matrix metalloproteinase-9, or tissue inhibitor of metalloproteinase-1 predicts outcome in patients with congestive heart failure. *Am Heart J*, 150: 484-487.
107. Yamazaki T, Lee JD, Shimizu H, Uzui H, Ueda T. (2004): Circulating matrix metalloproteinase-2 is elevated in patients with congestive heart failure. *Eur J Heart Fail*, 6: 41-45.

108. Wilson EM, Gunasinghe HR, Coker ML, Sprunger P, Lee-Jackson D, Bozkurt B, Deswal A, Mann DL, Spinale FG. (2002): Plasma matrix metalloproteinase and inhibitor profiles in patients with heart failure. *J Card Fail*; 8: 390-398.
109. Reinhardt D, Sigusch HH, Henße J, Tyagi SC, Körker R, Figulla HR. (2002): Cardiac remodelling in end stage heart failure: upregulation of matrix metalloproteinase (MMP) irrespective of the underlying disease, and evidence for a direct inhibitory effect of ACE inhibitors on MMP. *Heart*, 88: 525-530.
110. Wang XM, Yang LX, Zhu SJ, Yang YJ, Guo CM, Qi F, Wei L, Shi YK, Wang Y, Ren L. (2004): Tumor necrosis factor alpha and myocardial matrix metalloproteinases in left ventricular remodeling. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, 43: 828-831 (Abstract).
111. Mizon-Gerard F, de Groote P, Lamblin N, Hermant X, Dallongeville J, Amouyel P, Bauters C, Helbecque N. (2004): Prognostic impact of matrix metalloproteinase gene polymorphisms in patients with heart failure according to the aetiology of left ventricular systolic dysfunction. *Eur Heart J*, 25: 631-633.
112. Thomas CV, Coker ML, Zellner JL, Handy JR, Crumbley AJ, Spinale FG. (1998): Increased matrix metalloproteinase activity and selective upregulation in LV myocardium from patients with end-stage dilated cardiomyopathy. *Circulation*, 97: 1708-1715.
113. Li YY, Feldman AM, Sun Y, McTiernan CF. (1998): Differential expression of tissue inhibitors of metalloproteinases in the failing human heart. *Circulation*, 98: 1728-1734.
114. Spinale FG, Coker ML, Heung LJ, Bond BR, Gunasinghe HR, Etoh T, Goldberg AT, Zellner JL, Crumbley AJ. (2000): A matrix metalloproteinase induction/activation system exists in the human left ventricular myocardium and is upregulated in heart failure. *Circulation*, 102: 1944-1949.
115. Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, Kai M, Seki Y, Kuwahara F, Ueno T, Sugi K, Imaizumi T. (1998): Peripheral blood levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*, 32: 368-372.

116. Wilson EM, Gunasinghe HR, Coker ML, Sprunger P, Lee-Jackson D, Bozkurt B, Deswal A, Mann DL, Spinale FG. (2002): Plasma matrix metalloproteinase and inhibitor profiles in patients with heart failure. *J Card Fail*, 8: 390-398.
117. Squire IB, Evans J, Ng LL, Loftus IM, Thompson MM. (2004): Plasma MMP-9 and MMP-2 following acute myocardial infarction in man: correlation with echocardiographic and neurohumoral parameters of left ventricular dysfunction. *J Card Fail*, 10: 328-333.
118. Li YY, Feng Y, McTiernan CF, Pei W, Moravec CS, Wang P, Rosenblum W, Kormos RL, Feldman AM. (2001): Downregulation of matrix metalloproteinases and reduction in collagen damage in the failing human heart after support with left ventricular assist devices. *Circulation*, 104: 1147-1152.
119. Sundstrom J, Evans JC, Benjamin EJ, Levy D, Larson MG, Sawyer DB, Siwik DA, Colucci WS, Wilson PW, Vasan RS. (2004): Relations of plasma total TIMP-1 levels to cardiovascular risk factors and echocardiographic measures: the Framingham heart study. *Eur Heart J*, 25: 1509-1516.
120. Nagatomo Y, Carabello BA, Coker ML, McDermott PJ, Nemoto S, Hamawaki M, Spinale FG. (2000): Differential effects of pressure or volume overload on myocardial MMP levels and inhibitory control. *Am J Physiol*, 278: H151-H161.
121. Brower GL, Janicki JS. (2001): Contribution of ventricular remodeling to pathogenesis of heart failure in rats. *Am J Physiol*, 280: H674-H683.
122. Noji Y, Shimizu M, Ino H, Higashikata T, Yamaguchi M, Nohara A, Horita H, Shimizu K, Ito Y, Matsuda T, Namura M, Mabuchi H. (2004): Increased matrix metalloproteinase-2 in patients with hypertrophic cardiomyopathy with systolic dysfunction. *Circ J*, 68: 355-360.
123. Gunja-Smith Z, Morales AR, Romanelli R, Woessner Jr JF. (1996): Remodeling of human myocardial collagen in idiopathic dilated cardiomyopathy-Role of metalloproteinases and pyridinoline cross-links. *Am J Pathol*, 148: 1639-1648.
124. Reddy HK, Tjahja IE, Campbell SE, Janicki JS, Hayden MR, Tyagi SC. (2004): Expression of matrix metalloproteinase activity in idiopathic dilated

- cardiomyopathy: a marker of cardiac dilatation. *Mol Cell Biochem* 264: 183-191.
125. Cheung C, Luo H, Yanagawa B, Leong HS, Samarasekera D, Lai JCK, Suarez A, Zhang J, McManus BM. (2006): Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in coxsackievirus-induced myocarditis. *Cardiovasc Pathol* 15: 63-74.
126. Ryu J, Vicencio AG, Yeager ME, Kashgarian M, Haddad GG, Eickelberg O. (2005): Differential expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human and mouse lung development. *Thromb Haemost*, 94: 175-183.
127. Dalton SJ, Mitchell DC, Whiting CV, Tarlton JF. (2005): Abnormal extracellular matrix metabolism in chronically ischemic skin: a mechanism for dermal failure in leg ulcers. *J Invest Dermatol*, 125: 373-379.
128. Papakonstantinou E, Aletras AJ, Roth M, Tamm M, Karakiulakis G. (2003): Hypoxia modulates the effects of transforming growth factor-beta isoforms on matrix-formation by primary human lung fibroblasts. *Cytokine*, 24: 25-35.
129. Novotna J, Bibova J, Hampl V, Deyl Z, Herget J. (2001): Hyperoxia and recovery from hypoxia alter collagen in peripheral pulmonary arteries similarly. *Physiol Res*, 50: 153-163.
130. Vieillard-Baron A, Frisdal E, Eddahibi S, Deprez I, Baker AH, Newby AC, Berger P, Levame M, Raffestin B, Adnot S, d'Ortho MP. (2000): Inhibition of matrix metalloproteinases by lung TIMP-1 gene transfer or doxycycline aggravates pulmonary hypertension in rats. *Circ Res*, 87: 418-425.
131. Rosenzweig EB, Barst RJ. (2008): Clinical management of patients with pulmonary hypertension. In: Allen HD, Driscoll DJ, Shaddy RE, Feltes TF, editors. *Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children, and Adolescents*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, p. 1355-1368.
132. Tei C, Ling LH, Hodge DO, Bailey KR, Oh JK, Rodeheffer RJ, Tajik AJ, Seward JB. (1995): New index of combined systolic and diastolic myocardial performance: a simple and reproducible measure of cardiac function – a study in normals and dilated cardiomyopathy. *J Cardiol*, 26: 357-366.

133. Mann DL, Spinale FG. (1998): Activation of matrix metalloproteinases in the failing human heart: breaking the tie that binds. *Circulation*, 98: 1699-1702.
134. Spinale FG, Coker M, Krombach S, Mukherjee R, Hallak H, Houck WV, Clair MJ, Kribbs SB, Johnson LL, Peterson JT, Zile MR. (1999): Matrix metalloproteinase inhibition during the development of congestive heart failure: effects on left ventricular dimensions and function. *Circ Res*; 85: 364-376.
135. Karwowski JK, Markezich A, Whitson J, Abbruzzese TA, Zarins CK, Dalman RL. (1999): Dose-dependent limitation of arterial enlargement by the matrix metalloproteinase inhibitor RS-113,456. *J Surg Res*, 87: 122-129.
136. Celentano DC, Frishman WH. (1997): Matrix metalloproteinases and coronary artery disease: a novel therapeutic target. *J Clin Pharmacol*, 37: 991-1000.
137. Rohde LE, Ducharme A, Arroyo LH, Aikawa M, Sukhova GH, Lopez-Anaya A, McClure KF, Mitchell PG, Libby P, Lee RT. (1999): Matrix metalloproteinase inhibition attenuates early left ventricular enlargement after experimental myocardial infarction in mice. *Circulation*, 99: 3063-3070.
138. Abbruzzese TA, Guzman RJ, Martin RL, Yee C, Zarins CK, Dalman RL. (1998): Matrix metalloproteinase inhibition limits arterial enlargements in a rodent arteriovenous fistula model. *Surgery*, 124: 328-334.
139. Brower GL, Henegar JR, Janicki JS. (1996): Temporal evaluation of the left ventricular remodeling and function in rats with chronic volume overload. *Am J Physiol*, 271 (5 pt 2): H2071-H2078.
140. Janicki JS, Matsubara BB, Kabour A. (1993): Myocardial collagen and its functional role. *Adv Exp Med Biol*, 346: 291-298.
141. Janicki JS, Brower GL, Henegar JR, Wang L. (1995): Ventricular remodeling in heart failure: the role of myocardial collagen. *Adv Exp Med Biol*, 382: 239-245.
142. Brower GL, Chancey AL, Thanigaraj S, Matsubara BB, Janicki JS. (2002): Cause and effect relationship between myocardial mast cell number and matrix metalloproteinase activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 283: H518-H525.

143. Dolgilevich SM, Siri FM, Atlas SA, Eng C. (2001): Changes in collagenase and collagen gene expression after induction of aortocaval fistula in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 281: H207-H214.
144. Chancey AL, Brower GL, Peterson JT, Janicki JS. (2002): Effects of matrix metalloproteinase inhibition on ventricular remodeling due to volume overload. *Circulation*; 105: 1983-1988.
145. McElmurray JH 3rd, Mukherjee R, New RB, Sampson AC, King MK, Hendrick JW, Goldberg A, Peterson TJ, Hallak H, Zile MR, Spinale FG. (1999): Angiotensin-converting enzyme and matrix metalloproteinase inhibition with developing heart failure: comparative effects on left ventricular function and geometry. *J Pharmacol Exp Ther*, 291: 799-811.
146. Archer S, Rich S. (2000): Primary pulmonary hypertension: a vascular biology and translational research "Work in progress". *Circulation*, 102: 2781-2791.
147. Cowan KN, Jones PL, Rabinovitch M. (2000): Elastase and matrix metalloproteinase inhibitors induce regression, and tenascin-C antisense prevents progression, of vascular disease. *J Clin Invest*, 105: 21-34.
148. Vieillard-Baron A, Frisdal E, Raffestin B, Baker AH, Eddahibi S, Adnot S, D'Ortho MP. (2003): Inhibition of matrix metalloproteinases by lung TIMP-1 gene transfer limits monocrotaline-induced pulmonary vascular remodeling in rats. *Hum Gene Ther*, 14: 861-869.
149. Frisdal E, Gest V, Vieillard-Baron A, Levame M, Lepetit H, Eddahibi S, Lafuma C, Harf A, Adnot S, d'Ortho M-P. (2001): Gelatinase expression in pulmonary arteries during experimental pulmonary hypertension. *Eur Respir J*, 18: 838-845.
150. Overall CM, Lopez-Otin C. (2002): Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nat Rev Cancer*, 2: 657-672.
151. Rabinovitch M, Bothwell T, Hayakawa BN, Williams WG, Trusler GA, Rowe RD, Olley PM, Cutz E. (1986): Pulmonary artery endothelial abnormalities in patients with congenital heart defects and pulmonary hypertension. A correlation of light with scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. *Lab Invest*, 55: 632-653.

152. Thakker-Varia S, Tozzi CA, Poiani GJ, Babiarz JP, Tatem L, Wilson FJ, Riley DJ. (1998): Expression of matrix-degrading enzymes in pulmonary vascular remodeling in the rat. *Am J Physiol*, 275:L398-L406.
153. Tozzi CA, Chen B, Thakker-Varia S, Riley DJ. (1993): Reduction in wall tension in isolated pulmonary arteries stimulates proteolysis (Abstract). *FSAEB J*, 7: A775.
154. Shreeniwas R, Koga S, Karakurum M. (1992): Hypoxia-mediated induction of endothelial cell interleukin-1 α . An autocrine mechanism promoting expression of leukocyte adhesion molecules on the vessel surface. *J Clin Invest*, 90: 2333-2339.
155. Rabinovitch M. (1991): Investigational approaches to pulmonary hypertension. *Toxicol Pathol*, 19: 458-468.
156. Tanaka Y, Schuster DP, Davis EC, Patterson GA, Botney MD. (1996): The role of vascular injury and hemodynamics in rat pulmonary artery remodeling. *J Clin Invest*, 98: 434-442.
157. Lee KM, Tsai KY, Wang N, Ingber DE. (1998): Extracellular matrix and pulmonary hypertension: control of vascular smooth muscle cell contractility. *Am J Physiol*, 274: H76-H82.
158. Kolpakov V, Rekhter MD, Gordon D, Wang WH, Kulik TJ. (1995): Effect of mechanical forces on growth and matrix protein synthesis in the *in vitro* pulmonary artery: analysis of the role of individual cell types. *Circ Res*, 77: 823-831.
159. Palei AC, Zaneti RA, Fortuna GM, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. (2005): Hemodynamic benefits of matrix metalloproteinase-9 inhibition by doxycycline during experimental acute pulmonary embolism. *Angiology*, 56: 611-617.
160. Souza-Costa DC, Zerbini T, Palei AC, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. (2005): L-arginine attenuates acute pulmonary embolism-induced increases in lung matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9. *Chest*, 128:3705-3710.
161. Jeffery TK, Morrell NW. (2002): Molecular and cellular basis of pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Prog Cardiovasc Dis*, 45: 173-202.

162. Ohbayashi H. (2002): Matrix metalloproteinases in lung diseases. *Curr Protein Pept Sci*, 3: 409-421.
163. Van Den Steen PE, Dubois B, Nelissen I, Rudd PM, Dwek RA, Opdenakker G. (2002): Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 37: 375-536.
164. Grote K, Flach I, Luchtefeld M, Akin E, Holland SM, Drexler H, Schieffer B. (2003): Mechanical stretch enhances mRNA expression and proenzyme release of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) via NAD(P)H oxidase-derived reactive oxygen species. *Circ Res*, 92: e80-86.
165. Fernandez-Patron C, Radomski MW, Davidge ST. (1999): Vascular matrix metalloproteinase-2 cleaves big endothelin-1 yielding a novel vasoconstrictor. *Circ Res*, 85: 906-911.
166. Fernandez-Patron C, Zouki C, Whittal R, Chan JS, Davidge ST, Filep JG. (2001): Matrix metalloproteinases regulate neutrophil-endothelial cell adhesion through generation of endothelin-1[1-32]. *FASEB J*, 15: 2230-2240.
167. Fernandez-Patron C, Stewart KG, Zhang Y, Koivunen E, Radomski MW, Davidge ST. (2000): Vascular matrix metalloproteinase-2-dependent cleavage of calcitonin gene-related peptide promotes vasoconstriction. *Circ Res*, 87: 670-676.
168. Martinez A, Oh H, Unsworth EJ, Bregonzio C, Saavedra JM, Stetler-Stevenson WG, Cuttitta F. (2004): Matrix metalloproteinase-2 cleavage of adrenomedullin produces a vasoconstrictor out of a vasodilator. *Biochem J*, 383: 413-418.
169. Fagan JM, Rex SE, Hayes-Licitra SA, Waxman L. (1999): L-arginine reduces right heart hypertrophy in hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Biochem Biophys Res Commun*, 254: 100-103.
170. Herget J, Novotna J, Bibova J, Povysilova V, Vankova M, Hampl V. (2003): Metalloproteinase inhibition by Batimastat attenuates pulmonary hypertension in chronically hypoxic rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 285: L199-208.

ÖZGEÇMİŞ

1953 Siirt-Aydınlı doğumludur. 1968 yılına kadar Siirt Lisesinde öğrenim gördükten sonra Van Atatürk Lisesinden mezun oldu. 1969 yılında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde başladığı yedi yıllık Tıp Öğrenimini 1976 yılında tamamladı. 1976 yılında Hacettepe Üniversitesi Eskişehir Tıp Fakültesinde Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları İhtisasına başladı. 1978 yılında Eskişehir'de Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde ihtisasına devam ederek 1980 yılında Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı oldu. 1981 yılına kadar Uzman Başasistan olarak görev yaptıktan sonra askerlik görevini Amasya'da Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı olarak yerine getirdi. 1983'te Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalına Öğretim Görevlisi ve ardından Yardımcı Doçent olarak atandı. Ayrıca Endokrinoloji sorumlusu olarak görev yaptı. 1985-1986 yıllarında Suudi Arabistan Cidde Aljazira Medical Center'da çalıştı. Aynı dönemde 1.5 yıl Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Başhekim Yardımcısı olarak görev aldı. 1986 yılında görevlendirildiği Pediatrik Kardiyoloji Ünitesi sorumluluğuna, 1993 yılından beri Pediatrik Kardiyoloji Bilim Dalı kurucu ve başkanı olarak devam etmektedir. 1987'de Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Kardiyoloji Ünitesi'nde 3 aylık bir süre çalıştı. Dr.Z.Kılıç 1988'de Doçentlik, 1994'te Profesörlük ünvanlarına hak kazandı.

1995-1997 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Kardiyoloji Bilim Dalı'nda Çocuk Kardiyoloji yan dal öğrenimi gördü.

Mayıs 1998-Ekim 2001 tarihleri arasında Osmangazi Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Başhekimlik ve Yönetim Kurulu Üyelik görevlerini yürütmüştür.

Türkiye Milli Pediatri Derneği, Türk Kardiyoloji Derneği ve Pediatrik Kardiyoloji Dernekleri üyesidir. "Eskişehir İli Çocuklarında Koroner Risk Faktörleri" adlı Tübitak destekli çalışmanın yürütücülüğünü yaptı. TÜBİTAK ve TICAM teşvik programı çerçevesinde ödülleri mevcuttur. Ayrıca Başhekimliği süresince Osmangazi Üniversitesi Hastanesinde kalite çalışmalarını yönlendirdi ve Kalite Güvence Belgesini alan 2. Kamu Üniversitesi Hastanesi oldu. Ayrıca Kal-DER'in organize ettiği Kalite Ödülüne ilk başvuran üniversite hastanesi yöneticisi özelliği sağlık yöneticisi ödülüne aday gösterildi. 2001 yılında Kamu Üniversite Hastaneleri yöneticileri arasında, Sağlık Yönetimi Ödülünü aldı.

Dr. Zübeyir Kılıç'ın 22 adet uluslararası dergide ve kongre özet kitabında yayınlanmış 105 adet ulusal dergi ve kongre özet kitabında yayınlanmış makale ve bildirisi; ayrıca yönetim ve kalite sistemleri ile ilgili 5 adet olmak üzere toplam 132 adet yayını bulunmaktadır.

Evli ve 3 çocuk babası olan Dr. Zübeyir Kılıç İngilizce ve Arapça bilmektedir.