

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PULMONER ARTER BASINCININ
OKSİDATİF PARAMETRELER VE
PROLİDAZ İLE İLİŞKİSİ**

**Dr. Atilla ESMER
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Recep DEMİRBAĞ**

ŞANLIURFA - 2011

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PULMONER ARTER BASINCININ
OKSİDATİF PARAMETRELER VE
PROLİDAZ İLE İLİŞKİSİ**

**Dr. Atilla ESMER
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Recep DEMİRBAĞ**

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Kurulu (HÜBAK) tarafından **1129** proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA - 2011

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yetişmemde büyük katkıları olan kardiyoloji anabilim dalı başkanı, tez danışmanım ve değerli hocam, Prof. Dr. Recep Demirbağ'a;

Bilgilerinden istifade etme imkânı bulduğum diğer hocalarım Sayın Doç. Dr. Remzi Yılmaz'a, Doç. Dr. Ali Yıldız'a, Doç. Dr. Yusuf Sezen'e, Doç. Dr. Ünal Güntekin'e, Doç. Dr. Asuman Biçer Yeşilay'a ve Yrd. Doç. Dr. Zekeriya Kaya'ya,

Tez verilerinin çalışılmasında emeği geçen Prof. Dr. Nurten Aksoy hocamız başta olmak üzere diğer biyokimya çalışanlarına,

Uzmanlık eğitimim süresince çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, kardiyoloji kliniğinin hemşire ve personeline;

Sevgi ve desteklerini hep yanımda hissettiğim aileme teşekkür ederim.

Dr. Atilla ESMER

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar	v
ŞEKİLLER	vi
KISALTMALAR	vii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1. Pulmoner Hipertansiyon	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Pulmoner Hipertansiyonun Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri	3
2.1.3. Klinik Sınıflama	4
2.1.4. Pulmoner Hipertansiyonun Patolojisi	6
2.1.5. Pulmoner Hipertansiyonun Biyopatolojisi	6
2.1.6. Pulmoner Hipertansiyonda Tanı	7
2.1.6.1. Klinik Tablo	7
2.1.6.2. Ekokardiyografi	8
2.1.6.3. Ventilasyon/Perfüzyon Sintigrafisi, Yüksek Çözünürlüklü BT ve MRG	9
2.1.6.4. Sağ kalp kateterizasyonu ve vazoreaktivite testi	9
2.1.6.5. Pulmoner Hipertansiyonda Tanısal Algoritma	10
2.1.7. Pulmoner Hipertansiyonda Prognoz	11
2.1.7.1. Klinik, Ekokardiyografik ve Hemodinamik Parametreler	11
2.1.7.2. Biyokimyasal Göstergeler	13
2.1.8. Pulmoner Hipertansiyonda Tedavi	14
2.1.8.1. Genel Önlemler	14
2.1.8.2. İdiyopatik Pulmoner Arteriyel Hipertansiyonda Özgül İlaç Tedavisi	15
2.1.8.3. Diğer Pulmoner Hipertansiyon Gruplarında Tedavi	18
2.2. Oksidan ve Antioksidan Sistem	19

2.2.1. Oksidan sistem	19
2.2.1.1. Serbest Radikaller (Reaktif Oksijen Türleri)	19
2.2.1.1.1. Süperoksit Radikali (O ₂)	20
2.2.1.1.2. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	21
2.2.1.1.3. Hidroksil Radikali	21
2.2.1.1.4. Singlet Oksijen	22
2.2.1.1.5. Hipokloröz Asit (HOCl)	22
2.2.1.2. Reaktif Azot-Oksijen Türleri	23
2.2.1.3. Serbest Radikallerin Kaynakları	24
2.2.1.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Hücre Bileşenlerine Etkileri	25
2.2.1.4.1. Lipitler Üzerine Etkileri	25
2.2.1.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri	26
2.2.1.4.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri	26
2.2.1.4.4. Nükleik Asitler Üzerine Etkileri	27
2.2.2. Antioksidan Savunma	27
2.2.2.1. Süperoksit Dismutaz	29
2.2.2.2. Katalaz	29
2.2.2.3. Glutasyon, Glutasyon Peroksidaz, Glutasyon Transferaz, Glutasyon Redüktaz	30
2.2.2.4. E Vitamini, C Vitamini, β-Karoten, Flavonoidler, Diğer Antioksidanlar	30
2.2.3. Oksidan-Antioksidan Denge ve Oksidatif Stres	31
2.2.3.1. Total Oksidatif Stres (TOS)	32
2.2.3.2. Total Antioksidan Status/Seviye (TAS)	32
2.2.3.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)	32
2.2.4. Kalp Hastalıklarında Oksidatif Stresin Etkileri	33
2.2.4.1. Endotel disfonksiyonu	33
2.2.4.2. Ateroskleroz	33
2.2.4.3. Hipertansiyon	34
2.2.4.4. Kalp Yetersizliği	34
2.2.4.5. Reperfüzyon Hasarı	35
2.3. Prolidaz	36
2.3.1. Prolidazın Tanımı	36
2.3.1.1. Prolin	36
2.3.2. Prolidazın Yapısı	37
2.3.3. Prolidazın İzoenzimleri	38

2.3.4. Prolidaz İnhibitör ve Aktivatörleri	39
2.3.5. Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımındaki Önemi	39
2.3.6. Prolidazın Hastalıklarla İlişkisi	40
3. MATERYAL METOD	42
3.1. Hasta Seçimi	42
3.2. Biyokimyasal Tetkikleri	42
3.3. Ekokardiyografi İle Pulmoner Arter Basıncı Ölçümü	43
3.4. Oksidatif Parametreler Ve Prolidazın Ölçülmesi	43
3.5. İstatistiksel Analiz	44
4. BULGULAR	45
5. TARTIŞMA	51
6. KAYNAKLAR	53

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo-1: Pulmoner hipertansiyonun Dana Point toplantısından yapılan sınıflandırması	5
Tablo-2: Dünya Sağlık Örgütü fonksiyonel sınıflaması	12
Tablo-3: Pulmoner hipertansiyonda kullanılan prognoz belirteçleri	14
Tablo-4: Bazı reaktif oksijen türleri	20
Tablo-5: Antioksidanların başlıca etki mekanizmaları	28
Tablo-6: Antioksidanlar	28
Tablo-7: İnsan prolidaz I ve prolidaz II izoenzimlerinin doku dağılımları (% olarak)	39
Tablo-8: Çalışmaya alınan olguların genel demografik, klinik ve biyokimyasal verileri	46
Tablo-9: İki grupta sağ ve sol kalp boşluk boyutları, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu, ortalama pulmoner arter basıncı ve oksidatif parametre değerleri	47
Tablo-10: Pulmoner arter basıncının tüm olgularda, kontrol ve çalışma gruplarında ikili ve çoklu analizlerde ilişkili olduğu parametreler	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. Pulmoner Hipertansiyonda tanısal algoritma	11
Şekil 2. Pulmoner arteriyel hipertansiyon hastalarında kanıta dayalı tedavi algoritması	17
Şekil 3. Reaktif azot oksijen türleri	24
Şekil 4. Vücutta serbest radikallerin ana kaynakları ve vücuttaki etkileri	25
Şekil 5. Serbest radikal saldırısına karşı anti oksidan savunma sistemleri	29
Şekil 6. Prolinin metabolik yollarla bağlantısı	37
Şekil 7. Prolidaz enzimi ve prolin metabolizması.	38
Şekil 8. Grupların fonksiyonel sınıf düzeylerine göre grafiği	45
Şekil 9. Ortalama pulmoner arter basıncının oksidatif stres indeksi ile ilişkisi	49
Şekil 10. Tüm olgularda ortalama pulmoner arter basıncının yaş ile ilişkisi	49

KISALTMALAR

APAH	: Assosiated (ilişkili) pulmoner arter basıncı
BDH	: Bağ doku hastalığı
BNP	: Brain natriüretik peptid
DKH	: Doğumsal kalp hastalığı
DSÖ-FS	: Dünya sağlık örgütü fonksiyonel sınıflama
ERA	: Endotelin reseptör antagonisti
IPAH	: Idiopatik pulmoner arteryel hipertansiyon
KKB	: Kalsiyum kanal blokeri
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
KTEPH	: Kronik tromboembolik pulmoner hastalık
LV	: Sol ventrikül
MMP	: Matriks metalloproteinaz
NO	: Nitrik oksit
NT-proBNP	: N-terminal pro brain natriüretik peptid
OS	: Oksidative stres
OSI	: Oksidatif stres İndeksi
PA	: Pulmoner arter
PAB	: Pulmoner arter basıncı
PAH	: Pulmoner arteryel hipertansiyon
PHT	: Pulmoner hipertansiyon
PK(U)B	: Pulmoner kapiller kama (uç) basıncı
PVOH	: Pulmoner vasküler oklüziv hastalık
PVR/PVD	: Pulmoner vasküler rezistans (direnç)

RKÇ	: Randomize kontrollü çalışma
RV	: Sağ ventrikül
SKK	: Sağ kalp kateterizasyonu
SOD	: Süperoksit dismutaz
TAS	: Total antioksidan kapasite /status-seviye
TOS	: Total oksidatif stres/ kapasite
6 DYT	: 6 dakikalık yürüme testi

ÖZET

PULMONER ARTER BASINCININ OKSİDATİF PARAMETRELER VE PROLİDAZLA İLİŞKİSİ

Atilla ESMER, Kardiyoloji, Uzmanlık Tezi

Giriş ve amaç: Pulmoner kan basıncı yüksekliği etiyolojisi bilinmeyen kompleks bir hastalıktır. Pulmoner yatakta vasokonstriktör ve proliferatif cevabın belirginleşmesi ile karakterizedir. Prolidaz ve oksidatif parametrelerin bu süreçte nasıl bir rol aldığı veya nasıl bir değişim gösterdiği bilinmemektedir. Bu çalışma pulmoner arter kan basıncı ile prolidaz ve oksidatif parametrelerin ilişkisini araştırma üzere planlandı.

Materyal ve metot: Çalışmaya Kardiyoloji polikliniğine başvuran ve ekokardiyografi ile pulmoner arter basıncı ölçülen 192 olgu alındı. Ortalama pulmoner arter basıncı (PAB)= $79 - 0,45$ (Pulmoner kapak akselerasyon süresi kullanılarak), Ortalama PAB = $4 \times$ (Peak pulmoner regürjitasyon hızı)² veya Ortalama PAB = $0,61 \times$ PA sistolik basınç + 2 mmHg formülleri ile hesaplandı. Altta yatan nedene bakılmaksızın ortalama pulmoner arter basıncı 25 mmHg altında olan 98 ve üstünde olan 94 hasta alındı. Tüm olgularda prolidaz, total antioksidan seviye (TAS), total oksidan durum (TOS) bakılarak, oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplandı. Ayrıca tüm olguların ayrıntılı öykü ve fizik muayeneleri yapıldı. Yapılan istatistik değerlendirme ile bu parametrelerin iki grup arasında karşılaştırılması, pulmoner arter basıncı ile olan ilişkisi korelasyon analizleri ile değerlendirildi.

Bulgular: Pulmoner arter basıncı yüksek olan grubun yaş ortalaması daha yüksekti ($p=0,001$). TAS ve prolidaz değerleri ise her iki grupta benzerdi. Oksidan durumu gösteren TOS değerleri ($p=0,001$) ve OSİ düzeyi ($p<0,001$) pulmoner arter basıncı yüksek olan grup 2’de daha yüksekti. Lojistik regresyon analizlerinde pulmoner arter basıncı tüm olgularda sadece OSİ ($p=0,023$) ve yaş ($p=0,007$) ile bağımsız ilişkiliydi.

Sonuçlar: Pulmoner hipertansiyonda oksidatif stresin arttığı ve prolidazın ise değişmediğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Pulmoner arter sistolik basıncı, prolidaz, oksidatif stres indeksi, total oksidan seviye, total antioksidan kapasite, pulmoner hipertansiyon

ABSTRACT

THE RELATION BETWEEN PULMONARY ARTERY PRESSURE AND OXIDATIVE PARAMETERS AND PROLIDASE

Atila ESMER, Cardiology, Thesis

Background and aim: It has known that mechanism of increased pulmonary artery pressure is a complex and multifactorial process. It's characterized by proliferative and vasoconstrictive response of the pulmonary arterial wall. The role or changes the prolidase and oxidative parameters in pulmonary hypertension are not exactly known. The study was planned to research of these parameters in patients with pulmonary hypertension.

Material and methods: Study population (n=192) selected prospectively enrolled in the study among the patients who attending our cardiology clinic and measurement of pulmonary artery pressure by echocardiography. Mean pulmonary artery pressure (PAP) was calculated by $79 - 0,45$ (acceleration time of pulmonary valve) , $4 \times$ (peak velocity of pulmonary regurgitation)² or $0.61 \times$ PA systolic pressure + 2 mmHg formulas. The study consist of group I, 98 patients with mean pulmonary artery pressure under 25 mmHg, and group II, 94 patients with mean pulmonary artery pressure over 25 mmHg. Prolidase, total antioxidant capacity (TAC) and total oxidant status (TOS) measured, and oxidative stress index (OSI) was calculated in all patients. Also from all subjects were taken history and were done physical examination in detail . Comparisons of the all parameters between two groups were performed with statistical methods and correlation analyses were done.

Results: The mean age in group II was higher than in group I (p=0.001). The TAC and prolidase levels are similar in between two groups. TOS and OSI levels were higher in patients with pulmonary hypertension according to in the subjects with normal pulmonary hypertension. There is a positive association between pulmonary artery pressure and OSI (p=0.023) and age (p=0.007) in logistic regression analyses in all cases.

Conclusions: The study suggests that oxidative stress is increased and the prolidase activity is not changed in the pulmonary artery hypertension.

Key words: Pulmonary artery systolic pressure, prolidase, oxidative stress index, total antioxidant capacity, total oxidant capacity, pulmonary hypertension

1-GİRİŞ ve AMAÇ

Pulmoner arteriyel hipertansiyon; pulmoner arter basınç yüksekliği ile karakterize, kronik ve ilerleyici bir hastalıktır (1). Tanı ve tedavisinde sağlanan ilerlemelere rağmen halen önemli mortalite ve morbitide nedeni olmaya devam etmektedir. Alta yatan nedenlere göre sınıflandırılması yapılmasına rağmen, etiopatolojisi kesin olarak bilinmemektedir. Pulmoner hipertansiyonda en önemli patolojik değişiklik endotel fonksiyonlarında bozulma, özellikle de vasokonstriktör ve vasodilatatör arasındaki dengenin bozulmasıdır (2). Endotel fonksiyonunda bozulma vasokonstriksiyon, tromboz, ekstraellüler matriks üretimi, enflamasyonda ve düz kas hücre proliferasyonunda artışa yol açar (3,4). Bu değişikliklerin yanısıra pulmoner hipertansiyonda matriks metalloproteinazları (MMP) ve doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) arasında dengenin bozulduğu (5), MMP-2 ve MMP-1 aktivitesinin arttığı, MMP-3 aktivitesinin ise azaldığı bilinmektedir (6). Bu değişiklikler sonucunda pulmoner arter basıncı yükselmesini intima tabakasında fibrozis, mediya tabakasında hipertrofi ve adventisya tabakasında kollojen, elastin, fibronektin, and tenascin gibi ekstrasellüler matriks üretiminin artması ile gelen değişiklikler izlediği gösterilmiştir (7).

Prolidaz (EC 3.4.13.9) intestinal mukoza, böbrek, karaciğer, beyin, kalp, uterus, timus, eritrositler, lökositler, fibroblastlar ve plazma da bulunan sitozolik egzopeptidaz enzimidir. Kolagen katabolizmasında son basamakta oluşan prolin ve hidroksiprolini C-terminalinde bulunduran dipeptidlerin (X-Prolin veya X-Hidroksiprolin) yıkımını sağlar(8). Prolidaz enzimi kolagen metabolizması, matriks remodelingi ve hücre büyümesinde önemli rol oynar (9). Prolidazın atriyal fibrilasyon (10), koroner arter hastalığı (11), sol ventrikül hipertrofisi (12) ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde pulmoner hipertansiyon sürecinde görülen histopatolojik değişiklikler neticesinde kollojen yapım-yıkım arasındaki dengenin ve beraberinde prolidaz aktivitesinde de değişiminin olması öngörülebilir.

Sağlıklı bireylerde normal fizyolojik süreçte serbest oksijen radikalleri oluşurlar. Serbest radikallerin yüksek reaktivite özellikleri ve antioksidan sistem tarafında hızla yok edilmeleri nedeniyle ömürler kısadır. Serbest radikaller etkilerini oksidasyon yolu DNA'ya, proteinler ve lipidlerin oksidasyonu üzerinde göstermektedirler (13). Serbest radikallerin fazla üretildiği durumlarda mevcut antioksidan savunma sistemi serbest radikallerin etkisini tamamen önleyemez ve oksidatif stres olarak adlandırılan durum ortaya çıkar (14). Oksidatif

stres ateroskleroz (15), koroner arter hastalığı (16), kalp yetersizliği (17), ventriküler hipertrofi (18), respiratuar distres (19), iskemi-reperfüzyon hasarı (20) ve pulmoner ve sistemik hipertansiyon (3,21) patogenizinde etkin rol oynadığı bilinmektedir. Pulmoner hipertansiyonda hipoksi, iskemi, artmış enflamasyon ve inertlokinler etkisi, üretimi artan reaktif oksijen radikalleri dengenin oksidan tarafına kaymasına ve oksidatif stresin artmasına neden olur (22).

Bu veriler ışığında pulmoner arter basınç yüksekliği ile serum prolidaz aktivitesinde ve oksidatif stres markırlarında değişimin olacağı beklenmektedir. Böylece mevcut parametrelerin pulmoner hipertansiyon takibi, prognozun belirlenmesi ve tedaviye yanıtların değerlendirilmesi konusunda fikir vermesi hipotezi doğrulanmış olacaktır. Bu çalışma pulmoner arter basıncı yüksek ve normal olanlarda prolidaz, total antioksidan seviye (TAS), toplam oksidan stres (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ) gibi oksidatif parametrelerin değerlendirilmesi amacıyla planlandı. Ayrıca hesaplanan pulmoner arter basıncı ile korelasyonlarının olup olmadığı da araştırıldı.

2-GENEL BİLGİLER

2.1-Pulmoner Hipertansiyon

2.1.1- Tanım

Pulmoner hipertansiyon (PHT), pulmoner arteriyal basınçta (PAB) artış ile karakterize, uzun süreli, ilerleyici, tedavi edilmezse sağ ventrikül yetmezliğine ve ölüme yol açabilen bir hastalıktır (23). Pulmoner arter basıncı, pulmoner damarların kan akımına karşı oluşturdukları direnç ve pulmoner dolaşımdan geçen kan akımı tarafından belirlenir. Ortalama pulmoner arter basıncı (PPA), pulmoner kan akımı (QP) ve pulmoner vasküler rezistans (PVR) çarpımına ortalama sol atriyum basıncının (PLA) eklenmesi ile hesaplanır. Kısaca $PPA=PLA + (QP \times PVR)$ şeklinde formüle edilebilir (24).

PHT, dinlenme halinde sağ kalp kateterizasyonu (SKK) ile değerlendirilen ortalama pulmoner arter basıncında (PAB) ≥ 25 mmHg artış şeklinde tanımlanmaktadır (25,26). PAH'ın ele alındığı bütün randomize kontrollü çalışmalarda bu değer temel alınmaktadır. Dinlenme sırasında ölçülen normal ortalama PAB değerinin 14 ± 3 mmHg, normalin üst sınırının ise ~ 20 mmHg'dır (27). Ortalama PAB değerinin 21 ile 24 mmHg arasında olmasının anlamı net olarak bilinmemektedir. Egzersiz sırasındaki ortalama PAB değerinin >30 mmHg olması PHT olarak tanımlanmıştır (28).

2.1.2 Pulmoner Hipertansiyonun Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri

PHT prevalansı değişik kaynaklarda farklı oranlarda verilmektedir. Bazı Avrupa ülkelerinden bildirilen son verilerde genel nüfusta primer PAH prevalansının milyonda 15–50 arasında değiştiği belirtilmektedir (29). Bir ekokardiyografi laboratuvarında yapılan araştırmada, PHT prevalansının %10,5 olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışma da PHT saptanan olguların alt grup analizinde %78,7'sinde sol kalp hastalığı, %9,7'sinde akciğer hastalıkları ve hipoksi, %4,2'sinde PAH, %0,6'sında KTEPH saptanmış, %6,8'inde ise tanı belirlenememiştir (30). Değişik veriler arasında erişkin nüfusta hesaplanan en düşük PAH ve İdiopatik PAH prevalansları, sırasıyla milyonda 15 ve 5,9 olgudur (31).

Kronik kalp yetersizliği olanlarda işlevsel bozukluk sınıfı yükseldikçe PHT prevalansı da artmaktadır (32). Aynı şekilde sol taraftaki valvüler kalp hastalıklarında, defektin ve semptomların şiddeti arttıkça PHT prevalansı da artmaktadır. Şiddetli semptomatik mitral kapak hastalığı bulunanların hemen hepsinde ve semptomatik aort darlığı bulunan hastaların da %65'e yakın bir bölümünde PHT saptanabilmektedir(33,34).

İlerlemiş KOAH'ta, PHT prevalansı yüksektir (>%50), ancak PHT genellikle hafif şiddettedir (35). İnterstisyel akciğer hastalığında PH prevalansı %32 ile %39 arasında değişmektedir (36). Akciğerlerde amfizemle birlikte fibrozis bulunması durumunda PH prevalansı daha yüksek olabilmektedir (37).

Akut pulmoner embolili hastalarda KTEPH prevalansının %3,8'e kadar çıkmasına rağmen, gerçek KTEPH insidansının %0,5–2 arasında değiştğine inanılmaktadır (38).

2.1.3- Klinik Sınıflama

PHT sınıflamasında 1998 yılından itibaren dünya PAH konferanslarında önerilen Evian-Venice sınıflandırması benimsenmiştir (39). 2008 yılında Kaliforniya'nın Dana Point kentinde gerçekleştirilen dördüncü Dünya PHT Sempozyumu'nda bu sınıflandırmada bazı modifikasyonlar yapılmıştır (Tablo-1). Bu sınıflandırmalarda PHT saptanan klinik durumlar, patolojik, fizyopatolojik ve terapötik özelliklerine göre beş gruba ayrılmaktadır.

Pulmoner kapiller kama basıncının (PKB) >15 mmHg olduğu durumlar postkapiller PHT olarak adlandırılmakta olup, grup 2 (sol kalp hastalıklarına sekonder gelişen) PHT'ye ait bir bulgudur. PKB <15 mmHg ve kalp debisi normal ya da biraz azalmış ise bu durum prekapiller PHT olarak adlandırılmakta olup grup 1-3-4-5 PHT'ye ait bir bulgudur.

Tablo-1: Pulmoner hipertansiyonun Dana Point toplantısından yapılan sınıflandırması (40)

1. Pulmoner arteriyel hipertansiyon

- İdiyopatik PAH
- Kalıtsal PAH
- Aşağıdaki durumlarla ilişkili:
 - Bağ dokusu hastalıkları
 - HIV
 - Portal hipertansiyon
 - İlaçlar
 - Şantlar
 - Şistosomiyazis
 - Kronik Hemolitik Anemi
- Yenidoğanın persistan PHT
- Venül/kapiller tutulumlu PAH (PVOD)

2. Sol kalp hastalığıyla birlikte PHT

- Sistolik ve diyastolik kalp hastalıkları
- Valvüler kalp hastalıkları

3. Akciğer hastalığı/hipoksemiyle birlikte PHT

- KOAH
- İnterstisyel akciğer hastalıkları
- Uyku bozukluğu ile giden hastalıklar
- Yüksek irtifada uzun süreli yaşam
- Gelişimsel anormallikler

4. Kronik trombotik ve/veya embolik hastalığa bağlı PHT

- Proksimal PA'nın TE obstrüksiyonu
- Distal PA'nın TE obstrüksiyonu
- Trombotik olmayan pulmoner embolizm

5. Etiyolojisi bilinmeyen veya birden fazla mekanizmaya bağlı PHT nedenleri

2.1.4- Pulmoner Hipertansiyonun Patolojisi

PHT grupları arasında patolojik özellikler bakımından benzerlikler olmakla beraber ayırt edici farklarda bulunmaktadır (41,42). PHT'da patolojik lezyonlar özellikle distal pulmoner arterlerde (<500 µm çapındaki) görülür. Damar duvarında medial hipertrofi, intimada proliferatif ve fibrotik değişiklikler (konsantrik, eksantrik), adventisya kalınlaşma ve trombotik lezyonlar meydana gelir. Genellikle pulmoner venlerde tutulum oldukça azdır. Pulmoner venleri etkileyen PVOH'nda tıkaçıcı fibrotik lezyonlar, venöz müskülarizasyon, yaygın kapiller proliferasyon, pulmoner ödem, gizli alveoler kanama, lenfatik dilatasyon ve lenf nodu büyümesi ve enflamatuvar infiltrasyonlar görülür.

Sol kalp hastalığına bağlı PHT'nda pulmoner venlerde genişleme ve kalınlaşma, pulmoner kapiller dilatasyon, interstisyel ödem, alveoler kanama, lenf damarlarında ve lenf nodlarında genişleme, distal pulmoner arterlerde medial hipertrofi ve intimal fibrozis gelişebilir.

Akciğer hastalıklarına ve/veya hipoksiye bağlı PHT olgularındaki patolojik değişiklikler arasında distal pulmoner arterlerde medial hipertrofi ve intimal obstrüktif proliferasyon yer alır. KTEPH pulmoner arterlerin media tabakasında normal organize trombüslerle ayırt edilir. Trombüsler lümeni bütünüyle tıkayabileceği gibi, farklı derecelerde darlık, ağ (web) ve bantlar da oluşturabilir (43). Tam tıkanmaların distalinde kalan alanların reperfüzyonunu sağlamak üzere kollateral damarlar gelişebilir. Ayrıca tıkalı olmayan alanlarda PAH'tan ayırt edilemeyen bir pulmoner arteriyopati (pleksiform lezyonlar da dâhil olmak üzere) gelişebilir (44).

2.1.5- Pulmoner Hipertansiyonun Biyopatolojisi

Çeşitli klinik PHT gruplarında gözlemlenen biyopatolojik özellikler kesin olarak henüz bilinmemekle birlikte, çeşitli biyokimyasal yolları ve hücre tiplerini ilgilendiren birden çok faktörün rolü olduğu kabul edilmektedir (45,46).

PHT görülen aşırı vazokonstriksiyonun düz kas hücrelerindeki potasyum kanallarının anormal işlevi ya da ekspresyonuyla ve endotel işlev bozukluğuyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Endotel işlev bozukluğu nitrik oksit(NO) ve prostasiklin gibi vazodilatatör ve antiproliferatif maddelerin üretiminde azalmaya ve tromboksan A2 ve endotelin-1 gibi vazokonstriktör ve proliferatif maddelerin aşırı üretilmesine yol açmaktadır. Bu değişim vasküler tonusu artırmakla birlikte, endotel, düz kas hücreleri ve fibroblastlar gibi çeşitli

hücrelerde proliferatif değişiklikler başlamaktadır. Adventisya tabakasında kolajen, elastin, fibronektin ve tenasin gibi ekstraselüler matriks bileşenlerinin üretiminde artış gözlemlenmektedir. PHT hastalarında protrombotik anormallikler trombositlerin de önemli bir rol aldığını düşündürmektedir (47).

Sol kalp hastalığına bağlı pulmoner hipertansiyonda PAB artışından sorumlu mekanizmalar arasında sol kalpte basınç artışının pasif geri iletimi de bulunmaktadır. PVR artışı pulmoner arterlerdeki vazomotor tonus artışına ve/veya pulmoner arteriyel direnç damarlarındaki yapısal sabit obstrüktif yeniden biçimlenmeye bağlıdır. Fizyopatolojik mekanizmalar arasında sol atriyum ve pulmoner venlerdeki gerilme reseptörlerinden kaynaklanan vazokonstriktif refleksler ve pulmoner arterlerde damar duvarı hücrelerinin vazokonstriksiyon ve proliferasyonunu destekleyebilen endotel işlev bozukluğu sayılabilir (48).

Akciğer hastalıklarına ve/veya hipoksiye bağlı PHT olgularında hipoksik vazokonstriksiyon, akciğerlerdeki aşırı havalanmanın yarattığı mekanik stres, kapiller kaybı, enflamasyon ve sigaranın toksik etkileri biyopatolojik ve fizyopatolojik mekanizma da rol oynamaktadır. Ayrıca, endotel kökenli vazokonstriktör-vazodilatör dengesizliğini destekleyen veriler de bulunmaktadır (46).

KTEPH'de en önemli biyopatolojik süreç, rezolüsyona uğramamış akut embolik kitlelerde daha sonra fibrozis gelişmesi ve pulmoner arterlerde buna bağlı olarak gelişen mekanik tıkanmalardır. Pulmoner tromboemboliler ya da in-situ tromboz, endotel hücreleri ya da trombositlerdeki anormallikler tarafından başlatılabilir ya da ağırlaştırılabilir. Tıkanıklık olmayan alanlardaki distal pulmoner arterlerde gözlemlenen obstrüktif lezyonlar aşındırıcı baskı (shear stres), basınç, enflamasyon ve sitokin ve vaskülotropik araçların salınması gibi farklı birçok faktörle ilişkili olabilir (49).

2.1.6 Pulmoner Hipertansiyonda Tanı

2.1.6.1 Klinik tablo

PHT'ye özgü semptom yoktur. Erken evrelerde genellikle semtomlar fark edilmez. En önemli belirtisi nefes darlığıdır. Ayrıca çabuk yorulma, halsizlik, bitkinlik, angina, senkop ve karında gerginlik gibi şikayetlerde görülebilir (50). Belirtiler erken dönemlerde eforla gelmekte iken ileri evrelerde dinlenme halinde dahi ortaya çıkabilmektedir. Fizik muayenede palpasyonla sol parasternal alanda sağ ventrikül aktivitesinin arttığı hissedilebilir. Dinlemekle

ikinci kalp sesinin pulmoner bileşeninde şiddetlenme, triküspit yetersizliğine bağlı pansistolik üfürüm, pulmoner yetersizliğe bağlı diyastolik üfürüm ve RV'ye ait üçüncü bir kalp sesi duyulabilir. Daha ileri evrelerdeki hastalar ise jügüler venöz dolgunluk, hepatomegali, periferik ödem ve asit tespit edilir. Akciğer sesleri genellikle normaldir.

EKG'de sıklıkla sağ aks sapması, sağ atriyal dilatasyon (P pulmonale), RV hipertrofisi ve ventrikül zorlanması (strain) bulgusu izlenir (50). Ayrıca atriyal flutter, hatta atriyal fibrilasyon ve ventriküler aritmilere rastlanılabilir (51).

Telegrafide sağ atriyumda ve RV'de büyüme bulguları, santral pulmoner arterlerde genişleme, buna karşılık periferik kan damarlarında kayıplar (budanma) görülebilir. İPAH hastalarının %90'ında tanı sırasında toraks grafisi anormaldir. Solunum fonksiyon testleri ve arteriyel kan gazları, altta yatan hava yolu ya da akciğer parankim hastalığının tabloya katkısını gösterir. PAH hastalarında genellikle akciğerde karbon monoksit difüzyon kapasitesi düşüktür (tipik olarak beklenenin %40–80'i arasında) ve akciğer hacimlerinde hafif ya da orta derecede azalma vardır (50).

2.1.6.2 Ekokardiyografi

Transtorasik ekokardiyografi, PHT'da kuşkulanan tüm olgularda mutlaka yapılmalıdır. PAB'ın hesaplanmasında triküspit doruk gerikaçış jet hızı temel alınır. Basitleştirilmiş Bernoulli denkleminde triküspit gerikaçış hızı ile triküspit yetersizliğindeki doruk basınç gradyanı arasındaki ilişki temel alınmaktadır $= 4 \times V^2$ (triküspit gerikaçış hızı). Bu denklem PA sistolik basınç hesaplanmasında sağ atriyal basıncın göz önünde bulundurulmasına olanak vermektedir: PA sistolik basınç = triküspit yetersizliği basınç gradyanı + hesaplanan sağ atriyal basınç. Sağ atriyal basınç, inferior vena kavanın çapının solunum sırasındaki değişkenliğine göre hesaplanması önerilse de günlük pratikte sabit bir değer olarak 10 mmHg (5-15 mmHg) esas alınmaktadır. Ortalama PAB değerinin (ortalama $PAB = 0.61 \times PA$ sistolik basınç + 2 mmHg) formülü ile hesaplanması mümkündür (52).

Ekokardiyografide triküspit yetersizliği dışında kalp odacıklarının boyutlarının artması, interventriküler septum biçim ve işlev anormallikleri, RV duvar kalınlığında artış ve geniş ana pulmoner arter de PHT'yi düşündürür. Sol kalp hastalığına bağlı sol atriyumda büyüme, mitral akış profilinde, pulmoner venöz akış profilinde ve mitral anüler doku doppler sinyallerinde karakteristik değişiklikler ve LV hipertrofisi saptanabilir (53).

2.1.6.3 Ventilasyon/Perfüzyon Sintigrafisi, Yüksek Çözünürlüklü BT ve MRG

KTEPH hastalarında ventilasyon/perfüzyon akciğer sintigrafisinin duyarlılığı BT'den daha yüksek olduğu için, tercih edilen tarama yöntemidir (54). Ventilasyon/perfüzyon sintigrafisinde normal ya da düşük olasılık sonucu alınması durumunda KTEPH tanısı %90–100 duyarlılıkla ve %94–100 özgüllükle dışlanabilir. Ventilasyon/perfüzyon sintigrafisinde özellikle perfüzyonda periferde eşleştirilemeyen ve segmental olmayan küçük defektler saptanabilir.

Yüksek çözünürlüklü BT akciğer parankimini ayrıntılı olarak görüntüler ve interstisyel akciğer hastalığı ve amfizem tanısını kolaylaştırır. Yaygın santral buzlu cam görünümü ve interlobüler septumlarda kalınlaşmayla tipik interstisyel ödem değişiklikleri PVOH'u düşündürür; ek olarak lenfadenopati ve plevral efüzyon bulguları gözlemlenebilir. İki taraflı yaygın interlobüler septum kalınlaşması ve sınırları belirsiz, küçük, sentrilobüler, nodüler opasiteler pulmoner kapiller hemanjiyomatozu düşündürür. Gereken durumlarda pulmoner anjiyografi uygulanabilir. Anjiyografi vaskülit ya da pulmoner arteriyovenöz malformasyon olasılıklarının değerlendirilmesinde yararlıdır (55).

Kardiyak manyetik rezonans görüntülemesi RV boyutları, morfolojisi ve işlevinin doğrudan değerlendirilmesini sağlar ve kan akışıyla ilgili atım hacmi, kalp debisi, PA distensibilitesi ve RV kitlesi gibi özelliklerin invaziv olmayan yoldan saptanmasına olanak verir. Özellikle izleme amacıyla sağ kalp hemodinamiğinin değerlendirilmesinde kullanılır (56).

2.1.6.4 Sağ Kalp Kateterizasyonu(SKK) ve Vazoreaktivite Testi

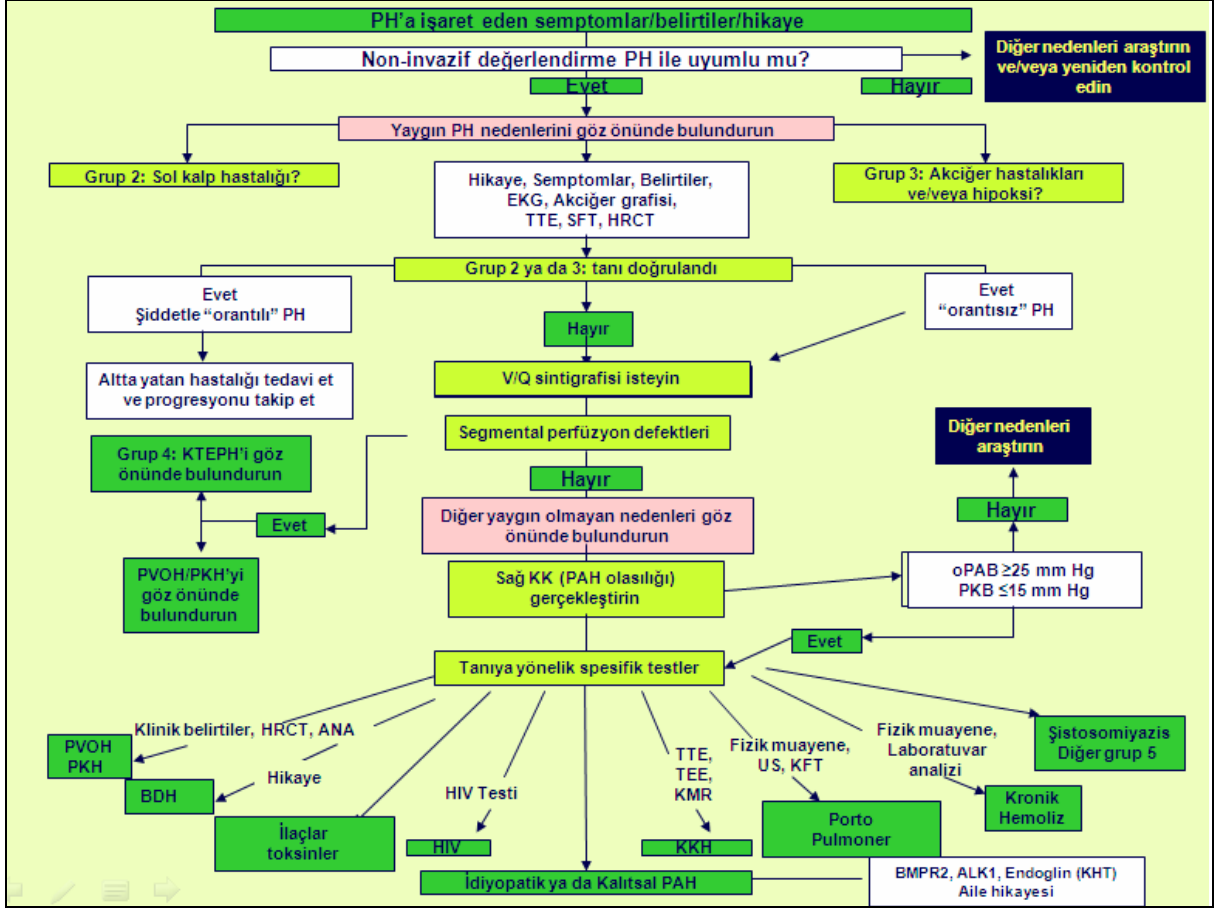
PHT tanısını doğrulamak, hemodinamik bozukluk derecesini değerlendirmek ve pulmoner dolaşımın vazoreaktivitesini test etmek için SKK yapılması gerekir. Deneyimli merkezlerde SKK girişimlerinde morbidite (%1,1) ve mortalite (%0,055) düşüktür (57). SKK sırasında şu değişkenler kaydedilmelidir: PAB (sistolik, diyastolik ve ortalama), sağ atriyal basınç, PKUB ve RV basıncı. Kalp debisi üç kez ölçülmeli ve oksijen tüketimi değerlendiriliyorsa ölçümlerde tercihen termodilüsyon ya da Fick yöntemi kullanılmalıdır. Sistemik-pulmoner şant olması durumunda Fick yönteminin kullanılması zorunludur. Superior vena kava, PA ve sistemik arter kanlarında oksijen satürasyonu da belirlenmelidir. Sol kalp hastalığına bağlı PHT ayırıcı tanısı için yeterli PKUB ölçümleri yapılmalıdır. PKUB değerinin >15 mmHg çıkması prekapiller PAH tanısını dışlar.

PAH'ta en güç ayırıcı tanılardan biri, LV ejeksiyon fraksiyonu normal, ancak diyastolik işlev bozukluğunun bulunduğu durumlardır. Bu hasta topluluğunda, dinlenme sırasında PKUB hafif yükselmiş ya da normal yayılım aralığının üst sınırında olabilir (58). PAH'ta tanısız SKK yapılırken, özellikle İPAH olgularına uzun süreli kalsiyum kanal blokleri (KKB) tedavisinden yarar görecektir hastaları saptamak için vazoreaktivite testinin yapılması da önerilmektedir (59). Vazoreaktivite testinde kısa etkili, güvenli, kolay uygulanabilen ve sistemik etkileri olmayan ilaçlar kullanılmalıdır. Günümüzde bu amaçla en yaygın kullanılan ilaç NO'dur (59). Bunun dışında intravenöz (i.v.) epoprostenol ya da i.v. adenozinde kullanılabilir (60).

Pozitif yanıt (pozitif akut yanıt veren hasta) kalp debisinin arttığı ya da değişmediği koşullarda ortalama PAB değerinde ≥ 10 mmHg azalma ile mutlak ortalama PAB değerinin ≤ 40 mmHg olması şeklinde tanımlanmaktadır (59). Bu ölçütlere göre hastaların yaklaşık %10'unda pozitif test sonucu elde edilmektedir. Test sonucu pozitif olan hastalar uzun süreli yüksek doz KKB tedavisinde fayda görmektedir. Diğer PHT altgruplarında (2., 3., 4. ve 5. klinik gruplarda) KKB'lere uzun süreli olumlu yanıt verecek hastaları saptamaya yönelik akut vazoreaktivite testleri yapılması tavsiye edilmemektedir.

2.1.6.5 Pulmoner Hipertansiyonda Tanısal Algoritma

Tanı koymada öncelikle sol kalp hastalığı ve akciğer hastalıklarına bağlı PHT tanısı konulmalı sonra KTEPH bağlı PHT olup olmadığı araştırılmalıdır. En son olarakta 1. Grubu oluşturan PAH'ın farklı tipleri ve 5. gruptaki daha seyrek görülen durumlar ayırt edilmektedir (Şekil-1). Efora bağlı dispne, senkop, angina ve/veya egzersiz kapasitesinde sınırlanma görülen hastalarda PHT'de şüphelenilmelidir. Bu olguların kardiyovasküler ve respiratuar risk faktörleri açısından sorgulanmaları gerekir. Sol kalp hastalığı ya da akciğer hastalıklarını ait fizik muayene bulguları olup olmadığına bakılır. EKG, toraks grafisi, transtorasik ekokardiyografi, solunum fonksiyon testleri (gerekirse noktürnal oksimetri de dâhil) ve yüksek çözünürlüklü toraks BT'si istenir. Bunlar ile tanı konulmaz ya da PHT'nin bu bulguların ağırlık derecesiyle "orantısız" olduğu kanısına varılırsa, daha seyrek görülen PHT nedenleri araştırılmalıdır. Ventilasyon/perfüzyon sintigrafisinde çoğul segmental perfüzyon defektleri saptanırsa, 4. grubu oluşturan KTEPH tanısından kuşkulandırılmalıdır. Nihai KTEPH tanısı için BT'li pulmoner anjiyografi, SKK ve seçilmiş olgularda pulmoner anjiyografi gerekecektir. Tanı ve tedavide değişikliğe neden olma olasılığı düşük olduğu için, PAH hastalarında rutin olarak akciğer biyopsisi yapılması önerilmemektedir (61).



Şekil-1: Pulmoner hipertansiyonda tanısal algoritma (61).

2.1.7. Pulmoner Hipertansiyonda Prognoz

2.1.7.1 Klinik, Ekokardiyografik ve Hemodinamik Parametreler

PAH'ın etiyolojisi prognozu anlamlı ölçüde etkiler (62). Dünya Sağlık Örgütü fonksiyonel sınıflaması (DSÖ-FS) (Tablo-2) sağkalım açısından güçlü bir tahmin göstergesi olmaya devam etmektedir. Tedavi edilmeyen İPAH ya da kalıtsal PAH hastalarına ait geçmiş veriler medyan sağkalımın DSÖ-FS IV'te 6 ay, DSÖ-FS III'te 2,5 yıl, DSÖ-FS I ve II'de ise 6 yıl olduğunu göstermektedir (26). Çok genç ya da ileri yaş (<14 yaş ya da >65 yaş), egzersiz kapasitesinde azalma, senkop, hemoptizi ve RV yetersizliği bulguları da İPAH'ta kötü prognozla bağlantılıdır.

Ekokardiyografide perikard efüzyonu, sağ atriyum alan indeksi/indeksli sağ atriyum alanı, eksantrik LV indeksi ve RV Doppler indeksi prognoz ile ilişkilidir. Triküspit geri kaçış

jet hızı temelinde hesaplanan sistolik PAB'in prognostik değeri yoktur. Triküspit anüler plan sistolik esneme mesafesinin (TAPSE) prognostik değeri olduğu bildirilmiştir (63).

Tablo-2: Dünya Sağlık Örgütü fonksiyonel sınıflaması fonksiyonel sınıflaması

<p>Sınıf I</p> <p>Pulmoner hipertansiyonu olan, ancak buna bağlı fiziksel aktivite kısıtlanması olmayan hastalar. Olağan fiziksel aktiviteler beklenenin üzerinde dispne ya da halsizlik, göğüs ağrısı ya da bayılma hissine neden olmaz.</p>
<p>Sınıf II</p> <p>Pulmoner hipertansiyonu olan ve buna bağlı hafif fiziksel aktivite kısıtlanması olan hastalar. Hasta dinlenme sırasında rahattır. Olağan fiziksel aktiviteler beklenenin üzerinde dispne ya da halsizlik, göğüs ağrısı ya da bayılma hissine neden olur.</p>
<p>Sınıf III</p> <p>Pulmoner hipertansiyonu olan ve buna bağlı belirgin fiziksel aktivite kısıtlanması olan hastalar. Hasta dinlenme sırasında rahattır. Olağan düzeyin altında fiziksel aktivite beklenenin üzerinde dispne ya da halsizlik, göğüs ağrısı ya da bayılma hissine neden olur.</p>
<p>Sınıf IV</p> <p>Pulmoner hipertansiyonu olan ve semptomlar gelişmeden hiçbir fiziksel aktivitede bulunamayan hastalar. Bu hastalarda sağ kalp yetersizliği bulguları vardır. Dispne ve/veya halsizlik dinlenme sırasında bile gözlemlenebilir. Her türlü fiziksel aktivitede rahatsızlık artar.</p>

Dinlenme sırasında SKK ile ölçülen hemodinamik değerler prognoz açısından tahmin göstergesidir (26). Bunlar arasında PA oksijen saturasyonu, sağ atriyal basınç, kalp debisi, PVR ve belirgin bir vazoreaktivite yanıtı bulunmaktadır. PAH hastalarında objektif egzersiz kapasitesi değerlendirilmesinde, genellikle 6 dakikalık yürüme testi (6DYT) ve kardiyopulmoner egzersiz testi kullanılır. Yürünen mesafe yanında, efor dispnesi (Borg ölçeği) ve parmaktan ölçülen O₂ saturasyonu kaydedilmektedir. PAH'ta 332 m'nin altında yürüme mesafeleri ve %10'un üzerinde O₂ desaturasyonu olumsuz prognoz göstergeleridir (64-66). Kardiyopulmoner egzersiz testinde her basamakta sürekli olarak gaz değişimi ve ventilasyon kaydedilmektedir. İPAH hastalarında doruk O₂ kullanımının (<10,4 ml O₂/kg/dak) ve egzersiz sırasında doruk sistolik arter basıncının (<120 mmHg) bağımsız kötü prognoz göstergeleri olduğu belirlenmiştir (67).

2.1.7.2 Biyokimyasal Göstergeler

Serum ürik asit düzeyi, iskemik dokularda oksidatif metabolizma bozukluğunun göstergesidir. İPAH hastalarında yüksek ürik asit düzeylerinin olumsuz sağkalımla bağlantılı olduğu belirlenmiştir (68). Atriyal natriüretik peptid (ANP) ve beyin natriüretik peptidi (BNP) benzer fizyolojik özelliklere sahiptir. Her ikisi de vazodilatasyona ve natriürece neden olmakta ve miyokartdan duvar stresine yanıt olarak salınmaktadır. PHT’de RV yetersizliği başlıca ölüm nedenidir ve BNP/NT-proBNP düzeyleri RV işlev bozukluğunun ağırlık derecesini yansıtmaktadır. Yapılan bir araştırmada başlangıç ve tedavi sonrası azalan BNP değerinin prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (69).

Yüksek plazma kardiyak troponin T ve troponin I düzeyleri özgül miyokart hasarı göstergeleri olarak kabul edilmiştir ve bu değerler akut koroner sendromlarda ve akut pulmoner embolide prognoz göstergeleridir. PAH’lı 51 hastayı ve KTEPH’li 5 hastayı kapsayan tek bir çalışmada 2 yıllık izleme döneminde yüksek kardiyak troponin T değerlerinin ölümcül sonlanım açısından bağımsız tahmin göstergesi olduğu belirlenmiştir (70).

Sonuç olarak, PAH hastalarında prognoz açısından bilgi veren birkaç biyolojik gösterge bulunmaktadır, ancak bu göstergelerin günlük klinik uygulamalardaki yararı henüz kesinleşmemiştir. Tablo-3’de prognostik önemi bilinen ve izlemede yaygın biçimde kullanılan bir dizi parametre sıralanmıştır.

Tablo-3: Pulmoner hipertansiyonda kullanılan prognoz belirteçleri

Daha iyi prognoz	Prognozun belirleyicileri	Daha kötü prognoz
Yok	Sağ V yetmezliği klinik kanıtı	Var
Yavaş	Semptomların ilerleme hızı	Hızlı
Yok	Senkop	Var
I, II	WHO-Fonksiyonel Sınıf	IV
Daha uzun (>500 m) ^a	6DYT	Daha kısa (<300 m)
Pik O ₂ tüketimi >15 mL/dak/kg	Kardiyopulmoner egzersiz testi	Pik O ₂ tüketimi <12 mL/dak/kg
Normal ya da normale yakın	BNP ve NT-proBNP seviyeleri	Çok yüksek ve yükselmeye devam etmekte
Perikardiyal efüzyon yok TAPSE ^b >2,0 cm	Ekokardiyografik bulgular ^b	Perikardiyal efüzyon mevcut TAPSE ^b <1,5 cm
Sağ AB < 8 mmHg ve KI ≥ 2,5 L/dak/m ²	Hemodinamik parametreler	Sağ AB >15 mmHg ve KI ≤ 2,0 L/dak/m ²

^aYaşa bağlıdır.

^bHastaların çoğunda ölçülebilir olduklarından TAPSE ve perikardiyal efüzyon seçilmiştir.

BNP = Beyin Natriüretik Peptidi; KI = Kardiyak İndeks; 6DYT = 6 Dakika Yürüme Testi; Sağ AB = Sağ Atriyal Basınç;

TAPSE = Triküspit Annüler Düzlem Sistolik Gezinimi; WHO-FS = WHO Fonksiyonel Sınıfı.

2.1.8. Pulmoner Hipertansiyonda Tedavi

2.1.8.1. Genel Önlemler

Son yıllarda PAH tedavisinde sağlanan gelişmeler hastaların semptomatik durumunda anlamlı düzelme sağlanmış ve klinik tablonun kötüleşme hızını yavaşlatmıştır. PHT hastalarını kapasayn çalışmaların meta-analizlerinde özgül ilaç tedavisi uygulanan hastalarda mortalitenin %43 azaldığı, hastaneye yatış oranında da %61 azalma olduğu bildirilmiştir (71). Bu tedavilere rağmen PHT tam iyileşme sağlanamayan kronik bir hastalık olmaya devam etmektedir.

Hastalar semptomlar elverdiği ölçüde aktif olmaya teşvik edilmelidir. Hafif soluksuz kalma kabul edilebilir, ancak hastalar şiddetli nefes darlığına, efora bağlı sersemlik haline ve göğüs ağrısına neden olacak düzeyde efordan kaçınmalıdır. Yapılan bazı çalışmalarda egzersiz programı uygulanmış PHT'lı hastalarda egzersiz kapasitesinin arttığı gösterilmiştir (72,73). PHT hastalarında gebeliğin %30–50 mortalite riski dolayısıyla kontrendikasyon

oluşturduğu konusunda görüş birliği bulunmaktadır (74,75). PAH hastalarında influenza ve pnömoksik pnömoni aşıları tavsiye edilmektedir.

2.1.8.2. İdiyopatik Pulmoner Arteriyel Hipertansiyonda Özgül İlaç Tedavisi

Kalsiyum kanal blokerleri

İPAH hastalarının yalnızca vazoreaktivite testine olumlu yanıt alınan küçük bir bölümünde KKB'lerin(nifedipin, diltiazem) yararlı olduğu gösterilmiştir (59). KKB seçiminde hastanın başlangıçtaki kalp hızı temel alınmakta, görece bradikardi bulunan hastalarda nifedipin ve amlodipin, görece taşikardi bulunan hastalarda ise diltiazem tercih edilmelidir.

Prostanoidler

Prostasiklin ağırlıklı olarak endotel hücreleri tarafından üretilir ve bütün damar yataklarında güçlü vazodilatasyona neden olur. Bu bileşik en güçlü endojen trombosit agregasyonu inhibitörüdür ve hem sitoprotektif, hem de antiproliferatif etkinliği olduğu düşünülmektedir (76).

İloprost kimyasal olarak stabil bir prostasiklin analogudur. PAH ve KTEPH hastalarında gün boyunca tekrarlanan iloprost inhalasyonları (6–9 kere, 2,5–5 mg/inhalasyon, günde medyan 30 mg) plasebo inhalasyonu ile karşılaştırıldığında egzersiz kapasitesinde artış, semptomlarda, PVD'de ve klinik olaylarda da düzelme olduğu gösterilmiştir (77).

Treprostnil epoprostenolün bir trisiklik benzidin analogudur ve hem i.v. yoldan, hem de subkütan yoldan uygulanabilmektedir. PAH hastalarında geniş bir RKC'da treprostnilin egzersiz kapasitesi, hemodinamik durum ve semptomlarda iyileşme sağlandığı gösterilmiştir (78).

Endotelin reseptör antagonistleri (ERA)

PHT hastalarında plazmada ve akciğer dokusunda endotelin sisteminin aktive olmaktadır (79). Endotelin-1, pulmoner vasküler düz kas hücrelerinde iki ayrı reseptör izoformu olan endotelin-A ve endotelin-B reseptörlerine bağlanarak vazokonstriktör ve mitojen etkiler oluşturur.

Bosentan oral yoldan aktif hem endotelin-A hemde endotelin- B reseptör antagonistidir. Bosentanın kullanıldığı hastalarda egzersiz kapasitesi, işlevsel sınıf, hemodinamik durum, ekokardiyografi ve Doppler değişkenleri ve klinik tablonun ağırlaşmasına kadar geçen süre açısından düzelme sağladığı gösterilmiştir (80-84). Uzun

sürekli gözlem çalışmalarında erişkin İPAH hastalarında bosentanla sağlanan etkinin zaman içinde sürdüğü gösterilmiştir (85).

Sitaksentan oral yoldan etkin seçici bir endotelin-A reseptör antagonisti olup, İPAH ve BDH ya da DKH ile bağlantılı DSÖ-FS II ve III PHT hastalarda egzersiz kapasitesinde ve hemodinamik durumda düzelmeler sağladığı gösterilmiştir (86).

Ambrisentan, endotelin-A reseptörü için seçici olan, propanoik asit sınıfından sülfonamid olmayan bir ERA'dır. Ambrisentan bir pilot çalışmada ve iki geniş kapsamlı RKÇ'de (ARIES 1 ve 2), değerlendirilmiş ve İPAH ve BDH ve HIV enfeksiyonu ile bağlantılı PHT hastalarında semptomlar, egzersiz kapasitesi, hemodinamik durum ve klinik tablonun ağırlaşmasına kadar geçen süre açısından etkin olduğu gösterilmiştir (87).

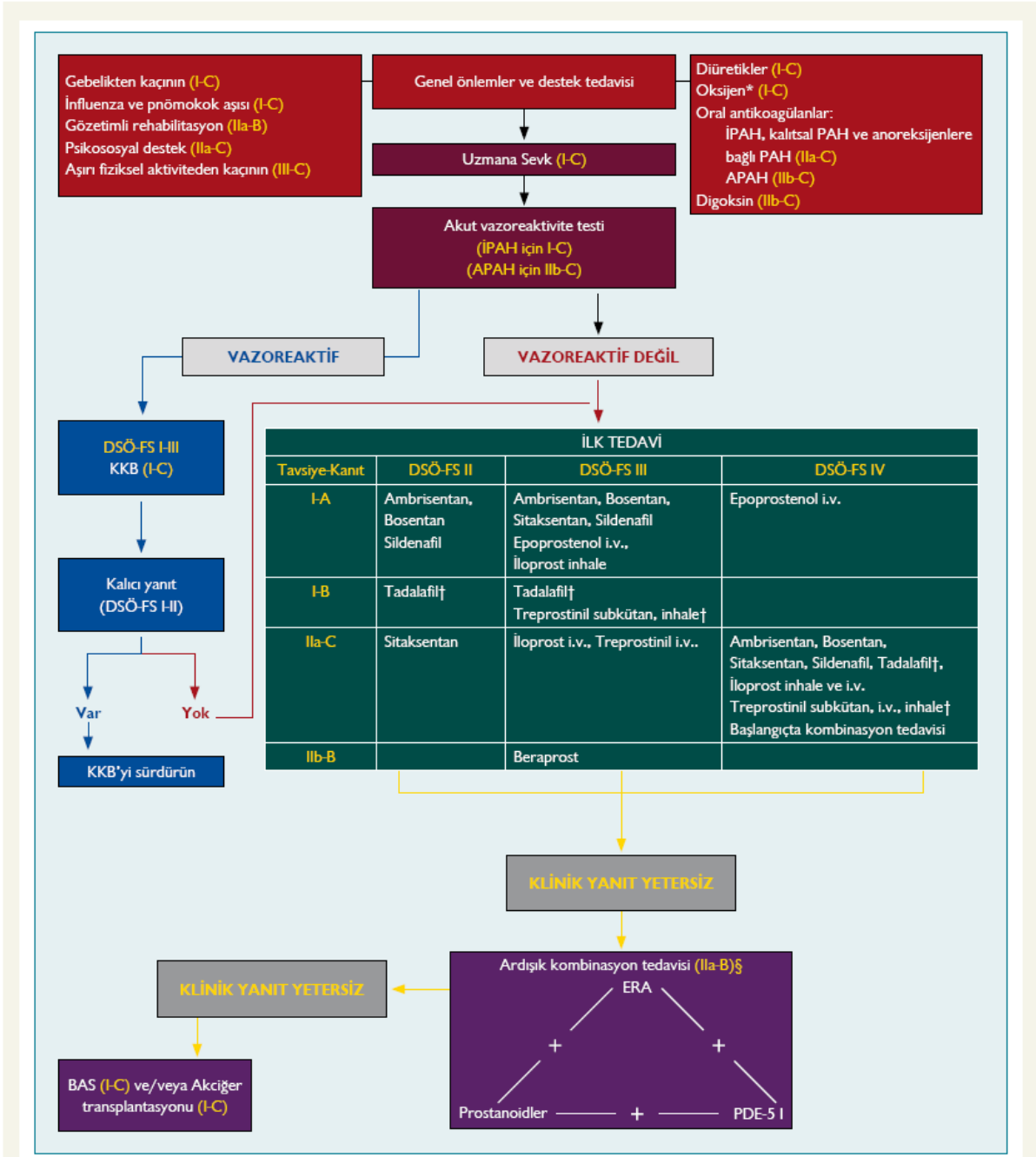
Fosfodiesteraz tip-5 inhibitörleri

cGMP yıkımından sorumlu enzim olan fosfodiesteraz tip-5 inhibisyonu vazodilatasyona yol açmaktadır. Ayrıca antiproliferatif etki yapmaktadır (88,89). Sildenafil oral yoldan aktif, güçlü bir seçici fosfodiesteraz tip-5 inhibitörüdür. İPAH'ta ve BDH, DKH ve KTEPH ile bağlantılı PHT'de olumlu etki yaptığı bildirilmiştir (90-92). Günde üç kez sildenafil tedavisi uygulanan 278 PHT hastasını kapsayan SUPER-1 çalışmasında, egzersiz kapasitesi, semptomlar ve hemodinamik durumda iyileşme olduğu gözlemlenmiştir (93). Tadalafil uygulanan 406 PHT hastasının değerlendirildiği PHIRST çalışmasında, egzersiz kapasitesi, semptomlar, hemodinamik durum ve klinik tablo da sonuçlar elde edilmiştir (94).

Diğer Tedaviler

Eisenmenger sendromlu İPAH hastalarında tedavi amacıyla atriyal septostomi ile sağ sol şant oluşturulması sağ kalp odacıklarındaki basıncı azaltabilir ve LV önyükünü ve kalp debisini artırabilir. Ancak balonlu atriyal septostominin uzun süreli sağkalım üzerindeki etkileri gösterilmemiştir (95).

İPAH hastalarının %25'e yakın bir bölümünde özgül tedavinin başarısız olduğunu göstermektedir. DSÖ-FS III ya da IV olmaya devam eden hastalarda prognoz kötüdür ve transplantasyona adaydırlar (96). Her durumda, maksimum ilaç tedavisine rağmen prognozun kötü olduğuna işaret eden özellikler saptanan hastalar transplantasyon listesine alınmak üzere sevk edilmelidir. PHT için hem kalp-akciğer, hem de çifte akciğer transplantasyonu yapılmaktadır.



Şekil 2 Pulmoner arteriyel hipertansiyon hastalarında (yalnızca 1. gruptaki hastalarda) kanıta dayalı tedavi algoritması . *Arteriyel kan O₂ basıncını ≥8 kPa (60 mmHg) düzeyinde tutmak için. †Avrupa Birliği'nde ilaç ruhsatlandırma kurumu incelemesi altında. § DSÖ-FS II için IIa-C. APAH = diğer hastalıklarla bağlantılı pulmoner arteriyel hipertansiyon; BAS = balonlu atriyal septostomi; KKB = kalsiyum kanal blokeri; ERA = endotelin reseptör antagonisti; İPAH = idiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyon; PDE5 I = fosfodiesteraz tip-5 inhibitörü; DSÖ-FS = Dünya Sağlık Örgütü fonksiyonel sınıfı.

Şekil-2'de PAH hastalarına yönelik bir tedavi algoritması sunulmuştur (97).

2.1.8.3. Diğer Pulmoner Hipertansiyon Gruplarında (2., 3. ve 4. grup) Tedavi

Sol kalp hastalığına bağlı PHT’de bir dizi ilaçla (diüretikler, nitratlar, hidralazin, ACE inhibitörleri, β -adrenoseptör blokerleri, nesiritid ve inotrop maddeler) ya da girişimlerle (LV destek cihazı implantasyonu, valvüler cerrahi, resenkronizasyon tedavisi ve kalp transplantasyonu) sol taraftaki dolum basınçları düşürülerek PAB hızlı ya da yavaş bir biçimde azaltılabilir.

Halen KOAH ya da interstisyel akciğer hastalıklarıyla bağlantılı PHT için özgül herhangi bir tedavi bulunmamaktadır. KOAH’ta uzun süreli O₂ uygulamasının PHT’deki ilerlemeyi kısmen azalttığı gösterilmiştir. KOAH ya da interstisyel akciğer hastalığı ve bununla bağlantılı PHT bulunan hastalardan hipoksemik olanlarda tercih edilecek tedavi seçeneği, uzun süreli O₂ tedavisidir (98).

KTEPH hastalarına yaşam boyunca antikoagülasyon uygulanmalıdır; genellikle bu amaçla vitamin K antagonistleri INR değerinin 2.0 ve 3.0 olacak şekilde kullanılır. Tam iyileşme potansiyeli taşıyan pulmoner endarterektomi KTEPH hastalarında tercih edilen tedavi seçeneğidir. Seçilmiş bazı KTEPH hastalarında şu durumlarda: (1) hastanın cerrahi girişime uygun olmaması; (2) hemodinamik durumu iyileştirmek için ameliyat öncesi tedavinin kabul edilmesi; (iii) hastanın pulmoner endarterektomi cerrahisi sonrasında semptomatik rezidüel/yineleyen PHT ile başvurması durumlarına ilaç tedavisi önerilir. Bugüne kadar ilaç tedavisinin güvenlik ve etkinliğini değerlendiren yegâne rastgele yöntemli, plasebo kontrollü klinik çalışma BENEFIT çalışmasıdır; bu çalışmada, inoperabl KTEPH hastalarında 16 hafta boyunca uygulanan bosentan tedavisinin etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada bosentan grubunda PVD’nin anlamlı ölçüde düştüğü gözlemlenmiş, ancak 6DYT, işlevsel sınıf ya da klinik tablonun ağırlaşmasına kadar geçen süre açılarından anlamlı değişiklik olmamıştır. Pulmoner endarterektomi için uygun olmayan olgularda iki taraflı akciğer transplantasyonu bir seçenek olabilir (99).

2.2. Oksidan ve Antioksidan Sistem

2.2.1. Oksidan sistem

2.2.1.1. Serbest Radikaller (Reaktif Oksijen Türleri)

Atomlarda orbital denem yörüngelerde birbirine zıt yönde dönen bir çift elektron (e) vardır. En dış yörüngede çiftlenmemiş tek elektron bulunan atomlara veya moleküllere serbest radikal denir (100). Serbest radikal, molekülün kimyasal simgesinin sağ üst köşesine konan nokta veya çizgiyle gösterilir (R^{\cdot} ve R^{\cdot}) (101).

Serbest radikaller bu ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif olup, çevrelerindeki atom ve moleküllere adeta saldırırlar. Çok kısa ömürlü olmalarına karşın, radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girip onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatıp, birçok radikal oluşturmalarından dolayı oldukça tehlikelidirler. Bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Vücutta meydana gelen fizyolojik reaksiyonlar sonucunda çeşitli serbest radikaller oluşabilmektedir. En sık karşılaşılan radikaller oksijen kaynaklıdır. Bunun yanında azot, karbon ve kükürt kökenli radikallerde mevcuttur (102, 103).

Organizmada adenozin trifosfat (ATP) üretilmesi, oksidasyon tepkimeleri ve detoksifikasyonda gibi birçok olayda oksijen önemli bir rol oynamaktadır. Ancak bu kimyasal olaylar sırasında oksijen tek elektronlar olarak serbest oksijen radikallerine ve bunların da çeşitli reaksiyonları ile diğer reaktif oksijen türlerine dönüşebilmektedir. Sonuçta organizmada özellikle hücrelerin lipitleri, proteinleri ve deoksiribonükleik asitlerine (DNA) yönelik zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana gelebilmektedir. Reaktif oksijen türleri (Tablo-4), serbest oksijen radikallerini ve bir kısım radikal olmayan oksijen kaynaklı ürünleri kapsayan bir terimdir (104-107).

Tablo-4: Bazı reaktif oksijen türleri

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Süperoksit ($O_2^{\bullet -}$)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
Hidroksil (OH^{\bullet})	Hipokloröz asit ($HOCl$)
Nitrik oksit (NO^{\bullet})	Peroksinitrit ($ONOO^-$)
Lipit Peroksil (LOO^{\bullet})	Lipit Hidroperoksit ($LOOH$)
	Singlet oksijen ($O_2^{\uparrow\downarrow}$)

Serbest radikaller hem süperoksit anyon (O_2^-), nitrik oksit (NO), hidroksil (OH), hipoklorit (ClO^-) ve peroksinitrit ($ONOO^-$), gibi kararsız hemde hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi kararlı halde bulurlar.

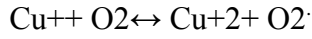
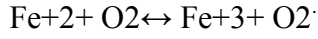
2.2.1.1.1 Süperoksit Radikali (O_2)

Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alarak indirgenmesi ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali, O_2^{-2}), iki elektron alması ile de peroksi anyonu (O_2^{-2}) oluşur.(108).

Mitokondriyal elektron transport sisteminde, oksijen elektron alarak suya (H_2O) indirgenir. Bu ATP oluşum sürecinde, oksijenin yaklaşık olarak %1-3'ü süperoksit radikale dönüşür (109). Diğer üretim yolağında mitokondriyal elektron transfer zincirinde redükte nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)'in okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+)'e okside olması sırasında koenzim Q'dan ($CoQH^{\bullet}$) oksijene elektron aktarılması ile süperoksit radikali oluşumudur (110,111).

Süperoksit radikali yukarıdan belirtilen yollar dışında enzimatik yollar veya otooksidasyon tepkimeleri sonucunda da meydana gelebilmektedir (112,113). Hipoksantinden ksantin oluşumu ve ksantinden ürik aside değişim basamaklarında etkili olan ksantin oksidaz süperoksit radikal oluşumunun enzimatik yolla oluşumuna örnek gösterilebilir. İskemi durumlarında adeninin ksantin oksidaz aktivitesi aracılığıyla süperoksit oluşumu artmaktadır (114,115).

Moleküler oksijen varlığında non-enzimatik otooksidasyonla süperoksit oluşumuna metalloproteinler, hormonlar, Fe^{+2} ve Cu^+ aracılık etmektedir (116,117).

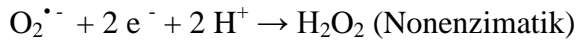
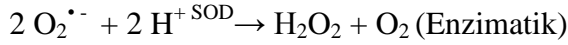


Süperoksit radikali, hemen tüm aerobik hücrelerde oluşan, indirgen ve orta derecede yükseltgen olan bir ajandır. Süperoksitin kendisi direkt olarak zararlı değildir, hidrojenperoksit kaynağı olması açısından önem arz etmektedir (116). Uzun bir yarı ömre sahip olup, lipofilik özellik gösterir. Bu özelliğinden dolayı da oluştuğu yerden uzak bölgelere difüzyonla yayılabilmektedir (118).

2.2.1.1.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit meydana gelir. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H₂O₂) oluşturur (119).

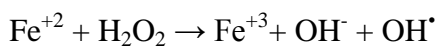
Hidrojen peroksit; enzimatik (süperoksit dismutaz (SOD) enzimi) veya enzimatik olmayan yollardan meydana gelebilmektedir (120).



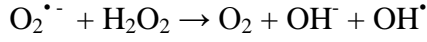
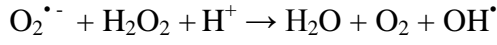
H₂O₂ lipitde çözünebilir olmasından dolayı hücre membranlarından rahatlıkla geçebilme özelliğine sahiptir. Paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özelliği taşımaz. Ancak hidroksil (OH[•]) ve hipokloröz asitin (HOCl) kaynağı olduğu için reaktif oksijen türleri içinde anılır (105).

2.2.1.1.3. Hidroksil Radikali

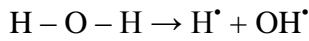
Hidroksil radikali biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir (102). Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları veya radyasyon maruziyeti sonrasında meydana gelir (105,116). Fenton reaksiyonunda geçiş metalleri ile H₂O₂ reaksiyona girer, metal okside olurken OH[•] oluşur.



Haber-Weiss reaksiyonunda da süperoksit ile hidrojen peroksitin enzimatik olmayan yoldan tepkimeye girmesiyle de OH[•] oluşur (116).



Dokular radyasyona maruz kaldıklarında da hidroksil radikali oluşabilir. Enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorblanır ve radyasyon ile oksijen-hidrojen arasında kovalent bağ yıkılır. Sonuçta hidrojen (H[•]) ve OH[•] meydana gelir (102).



OH[•] radikalleri başta lipid, protein ve nükleik asitler (DNA ve RNA) olmak üzere hemen hemen bütün hücrel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. DNA da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler oluşturduğu ve bu oluşan ürünlerin bazılarının mutajenik oldukları görülmüştür. Bir dizi reaksiyona katılabilen OH[•]DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar (121,122).

2.2.1.1.4. Singlet Oksijen

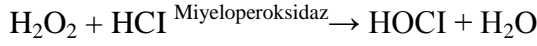
Normal şartlarda atomlarda her orbitalde birbirine zıt yönde dönen çift elektron vardır. Dolayısıyla oksijen iki ayrı obitalde aynı yönde dönen çiftlenmemiş iki tane tek elektron taşımaktadır. Oksijen elektronlarından birinin kendi dönüş yönünün tersi yönde dönmesi neticesi singlet oksijen ($O_2^{\uparrow\downarrow}$) oluşabilmektedir (123). Singlet oksijen prostaglandin endoperoksit sentaz, bazı sitokrom p450 tepkimeleri ve miyelo/kloro/laktoperoksidaz gibi enzimatik reaksiyonlar, pigmentlerin (flavin içeren nükleotidler, retinal, bilirubin) oksijenli ortamda ışığı absorplaması ve dismutasyon tepkimeleri durumlarında oluşabilmektedir (124).

Singlet oksijen serbest radikal olmamakla birlikte radikal reaksiyonlarını indüleyebildikleri için reaktif oksijen türleri sınıfına dâhil edilmişlerdir (116).

2.2.1.1.5. Hipokloröz Asit (HOCl)

Çeşitli etkenlere karşı savunma amaçlı meydana gelen olaylar ile beraber fagositer hücrelerde aktivasyon meydana gelir. Fagositer hücre aktivasyonu sırasında oluşan bu serbest

radikaller savunma sisteminin bir parçası olup, yabancı mikroorganizmalara karşı vücudun korunmasında etkin rol oynarlar (105,125). Özellikle nötrofiller miyeloperoksidaz enzimleri aracılığıyla önce O₂'in oluştururlar ve daha sonra dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirilerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'i meydana getirirler. HOCl ise miyeloperoksidaz enzimi aracılığıyla olmaktadır (102,105).



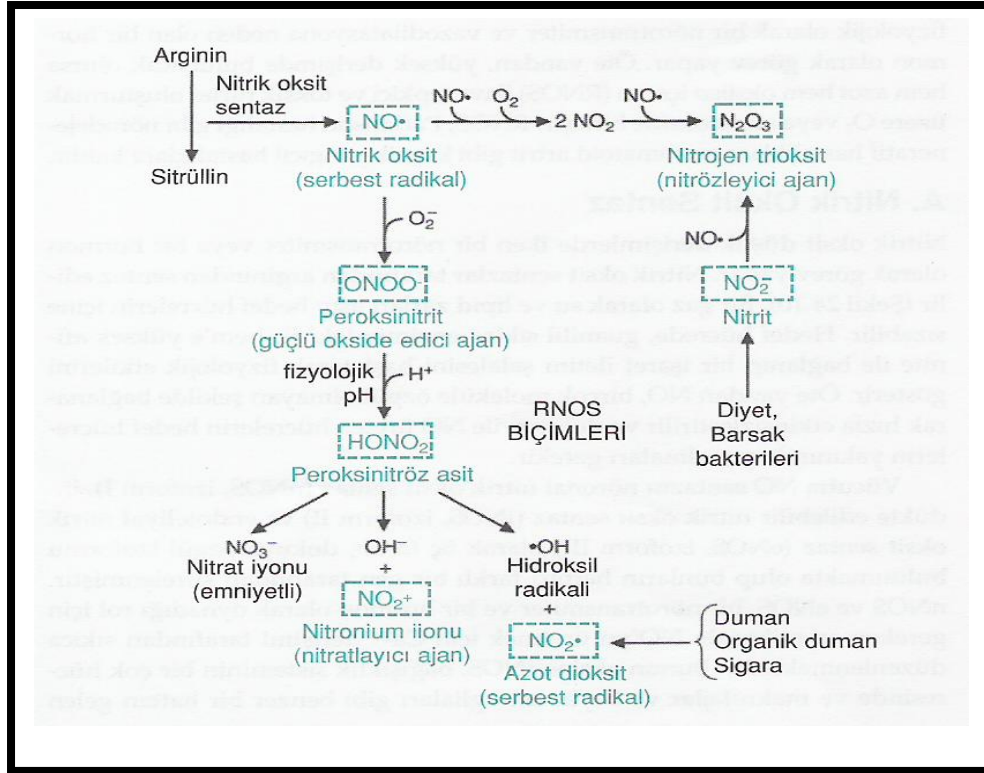
HOCl güçlü bir toksin olup, halojenasyon ve oksidasyon tepkimeleri ile bakterileri tahrip eder. Demir-kükürt merkezleri, hem-proteinlerinin sülfidril gruplarının okside eder. Proteinlerin peptid bağlarını parçalar (105).

2.2.1.2. Reaktif Azot-Oksijen Türleri (NO, NO₂, NO⁺, NO⁻)

NO; bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır (126).

Nitrik oksit (NO[•]) argininden nitrik oksit sentazlar tarafından sentezlenir (127). Lipit zarlardan kolaylıkla hücre içine geçmekte, hem hidrofilik hem de lipofilik özellik taşımaktadır (128). Yüksek konsantrasyonda oksijen veya süperoksit ile reaksiyona girerek diğer reaktif azot-oksijen türleri oluşturmaktadır (105). Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir ve çok önemli fizyolojik işlevleri gerçekleştirir (Şekil-3) (129).

Peroksinitrit (ONOO⁻) nitrik oksitin, süperoksitle reaksiyonu sonucunda meydana gelir, oksitleyici bir ajan olup, doğrudan proteinlere zararlı etkileri olan moleküllerdir. Ayrıca azot dioksit (NO₂[•]), OH[•] ve nitronyum iyonu (NO₂⁺) gibi toksik ürünlere dönüşürler (130).



Şekil-3. Reaktif azot-oksijen türleri

2.2.1.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller organizmada normal olarak meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında oluştuğu gibi çeşitli dış kaynaklı etkenlerle de oluşabilir. Hücre organellerinin her biri farklı miktarda radikal oluşumuna sebep olurlar. Bunların yanısıra radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini artırırlar. Sitokrom P₄₅₀, sitokrom-b₅, ksantin oksidaz, triptofan-20 dioksijenaz, lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, hemoglobin, flavoproteinler, lipid peroksidasyonu, oksidatif stress yapan iskemi, travma ve intoksikasyon gibi durumlar, mitokondrial elektron transport sistemi, moleküler otooksidasyon yapan tiol, hidrokinon, katekolamin, flavin ve antibiyotik gibi moleküllerin hepsi hücrel serbest radikalleri oluştururlar (118).

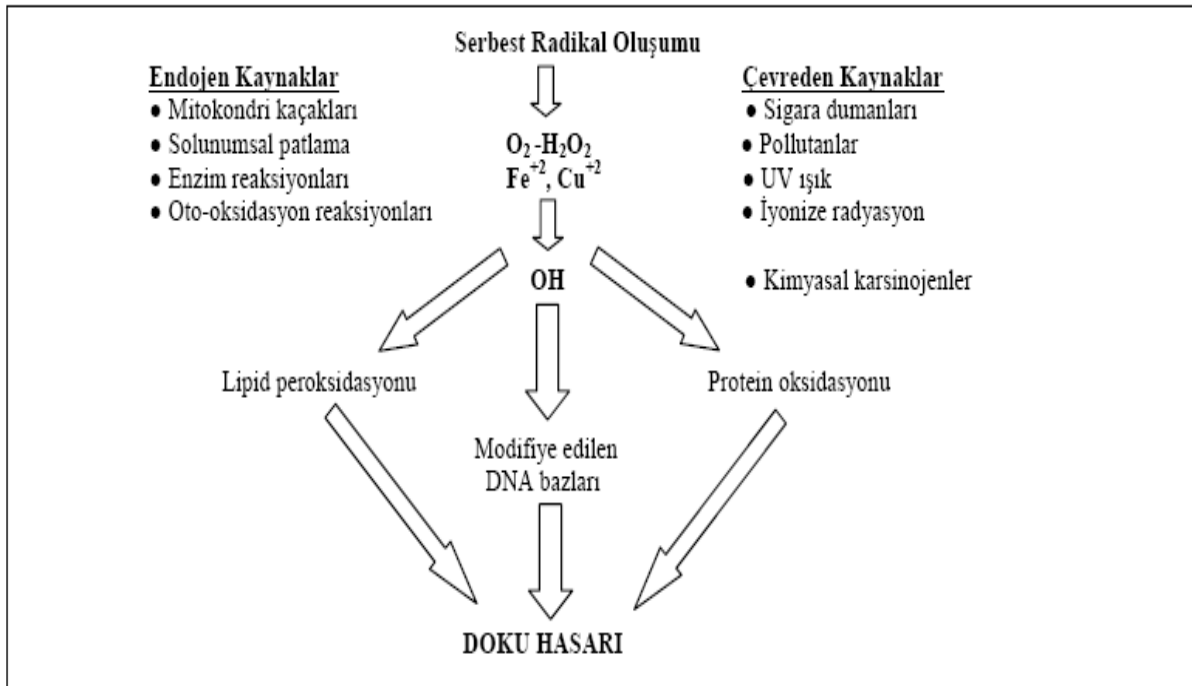
Fizyolojik olarak reaktif oksijen türlerinin temel kaynağı normal oksijen metabolizmasıdır. Dolayısıyla fizyolojik koşullar altında mitokondriyal elektron transport sistemi serbest radikal üretiminin en önemli kısmını oluşturmaktadır (131).

Kimyasal ajanların serbest radikal oluşturmadaki en önemli mekanizmaları, mikrozomal sitokrom P₄₅₀ sistemi ile aktivasyonudur. Bu sistem, molekülleri indirgeyerek veya oksitleyerek serbest radikal oluşturur (132).

Radyasyon, sigara dumanı, zehirli gazlar, bazı ilaçlar, kanserojen maddeler ve pestisitler en önemli ekzojen serbest radikal üretim kaynakları olarak bilinirler (133).

2.2.1.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Hücre Bileşenlerine Etkileri

Lipitler, proteinler ve nükleik asitler gibi hücre bileşenleri oksidatif etkileşim sonucu hücrede harabiyete neden olabilmektedir (Şekil-4) (134).



Şekil-4: Vücutta serbest radikallerin ana kaynakları ve vücuttaki etkileri

2.2.1.4.1. Lipitler Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipidler üzerine yaptığı etkidir ki bu lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır (135). Lipit peroksidasyonu, hücre organellerinin zarlarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri tarafından oksidatif yıkımdır. Lipit peroksidasyonu bir kez başladı mı zincir tepkimesi şeklinde devam etmekte ve sonuçta zarlardaki normal yapı bozulmakta, hücre harabiyeti giderek artmaktadır (105).

Hücre membranlarının bütünlüğü lipit peroksidasyonu sonucunda bozulur ve hücre geçirgenliği artar (134). Hücre içine aşırı kalsiyum girer ve fazla kalsiyum proteazları aktive ederek hücre hasarını arttırır. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime neden olur. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki göstermenin yanısıra duyarlı aminoasit kalıntılarını (metionin, histin, sistein, lizin) okside eder veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler (136). Ayrıca mitokondriyal zar bütünlüğünün bozulmasını daha fazla serbest radikal üretimi ve hasar şiddetinin artması takip eder (134).

2.2.1.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Reaktif oksijen türlerinin proteinlere etkisi, proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Lizin, prolin, histidin, metiyonin, arginin ve sistein gibi aminoasitler ve peptid bağları oksidatif harabiyete oldukça duyarlıdır. Oksidatif harabiyet sonucu proteinlerin temel yapısı bozulur ve bunun sonucunda, aminoasit yan zincirlerinde hidroksil ve karbonil grupları oluşur ve proteinler parçalanır. Böylece proteinlerin proteolize yatkınlığı artar (137).

Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler. Serbest radikallerin etkisiyle IgG ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler (138)

Sisteinin sülfidril gruplarının oksidasyonu sonucunda serbest radikal harabiyetine karşı koruyucu etkisi bulunan glutatyonunda (γ -glutamil-sisteinil-glisin) yapısında bozulmalar meydana gelir. Bunun sonucunda oksidatif harabiyetin şiddeti daha fazla artmaktadır (105).

2.2.1.4.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak, süperoksit ve hidrojen peroksiti meydana getirirler. Karbonhidrat oksidasyon ürünü olan okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (139). Glikozaminoglikan olan ve sinovyal sıvının viskozitesinde önemli rol oynayan hyalüronik asitin reaktif oksijen türleri ile etkilenmesi sonucu bağ dokusu stabilitesi bozulur. Synovial sıvıya geçen PMNL'lerden extrasellüler sıvıya salınan H₂O₂ ve O₂ buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronoik asidi parçalarlar (140).

2.2.1.4.4. Nükleik Asitler Üzerine Etkileri

Reaktif oksijen türleri nükleik asitlerin de yapısında hasara yol açabilmektedir. Bu yapısal hasar DNA'da baz değişiklikleri ile kendini göstermektedir. Bu değişiklikler başlıca pürin, pirimidin bazları ile deoksiriboz şekerinde parçalanmayı ve DNA zincir kopmalarını kapsar. Oksidatif hasar sonucu DNA ve protein arasında çapraz bağlanma oluşabilir (141,142).

Günümüzde birçok oksidatif olarak değişikliğe uğramış DNA molekülü tanımlanmıştır. Bunlar içerisinde üzerinde en kapsamlı çalışılan DNA lezyonu 8-hidroksiguanindir. Guaninin hidroksil radikali tarafından 8-hidroksiguanine çevrilmesi sonucu DNA'nın yapısı değişmektedir. 8-hidroksideoksiguanozin nükleoziti oksidatif DNA hasarını değerlendirilmesinde çok sık kullanılan bir belirteçtir (143).

2.2.2. Antioksidan Savunma

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı onlemek için vucutta "antioksidan savunma sistemleri veya antioksidanlar" adı verilen birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Eğer serbest radikaller nötrale edilmezlerse vucutta ciddi hasarlara neden olabilirler. Bu hasarlar; hücre membran bütünlüğünün bozulması, membran lipid ve proteinlerinin denaturasyonu, nükleik asitlerin (DNA/RNA) mutasyonu ve immun sistemin supresyonudur. Organizmada oksidan ürünlere karşı savunma; serbest radikal reaksiyonlarının sonlandırılması, serbest radikal reaksiyonlarının sınırlandırılması ve oluşan serbest radikallerin detoksifikasyonu şeklinde meydana gelir. Antioksidanların etki mekanizmaları tablo-5'de gösterilmiştir.

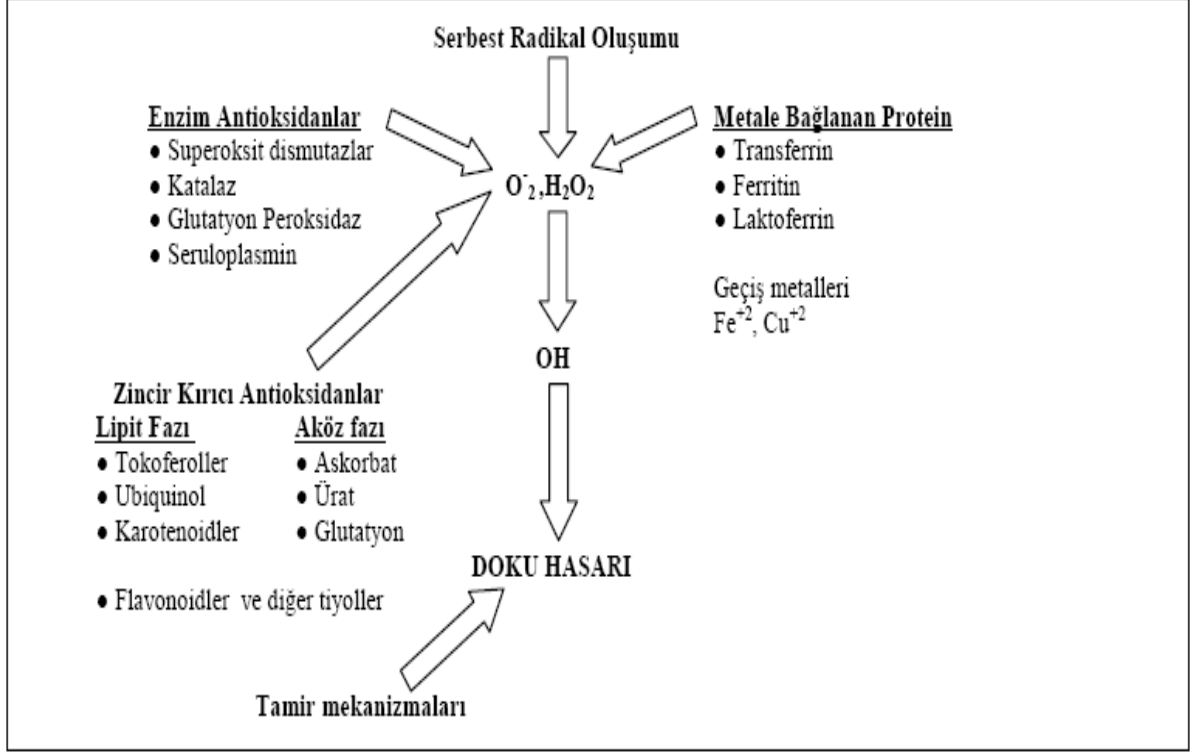
Tablo-5: Antioksidanların baslıca etki mekanizmaları (144)

1. **Toplayıcı etki:** Serbest oksijen radikallerini tutma veya daha zayıf bir moleküle çevirme işlemidir. Antioksidan enzimler bu tip etki gösterirler.
2. **Bastırıcı etki:** Serbest oksijen radikallerine bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif hale dönüştürme işlemidir. A vitamini ve flavanoidler bu tip etki gösterirler.
3. **Zincir kırıcı etki:** Serbest oksijen radikallerinin zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleme işlemidir. Hemoglobin, seruloplazmin, E vitamini ve mineraller bu tip etki gösterirler.
4. **Onarıcı etki:** Serbest oksijen radikallerinin yapmış olduğu hasarı tamir etme işlemidir.

Antioksidan sistemi; enzimleri, yağda ve suda çözünen radikal tutucuları ve metalleri bağlayan proteinleri içerir (Tablo-6 ve Şekil-5) (134,145).

Tablo-6: Antioksidanlar (134)

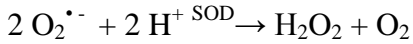
Enzimler	Yağda çözünen radikal tutucular	Suda çözünen Radikal tutucular	Metal iyonlarını bağlayan proteinler
Süperoksit dismutaz	E vitamini	Glutasyon	Transferrin
Katalaz	β -Karoten	C vitamini	Ferritin
Glutasyon peroksidaz	Flavonoidler	Ürik asit	Seruloplazmin
Glutasyon transferaz	Bilirubin		Albümin
Glutasyon redüktaz			Haptoglobulin



Şekil-5: Serbest radikal saldırısına karşı anti-oksidan savunma sistemleri

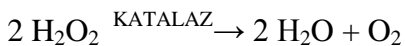
2.2.2.1. Süperoksit Dismutaz

SOD, glutatyon peroksidaz ve katalaz oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı başlıca enzimatik savunma mekanizmalarıdır (146). SOD enzimi substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzimdir. Süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Böylece geçiş metal iyonlarının indirgenmesi engellenmektedir (116).



2.2.2.2. Katalaz

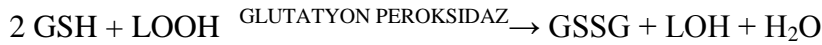
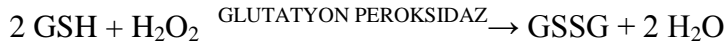
Katalaz, yapısında 4 adet demir-hem bileşiği içeren bir enzimdir. Hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene parçalanmasında etkilidir. Fagositoz yapan hücreler tarafından hidrojen peroksitten miyeloperoksidaz enzimi aracılığıyla üretilen HOCl oluşumunu önler (105).



2.2.2.3. Glutasyon, Glutasyon Peroksidaz, Glutasyon Transferaz, Glutasyon Redüktaz

Glutasyon (GSH) glutamat, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptiddir. Proteinlerdeki sülfidril gruplarının oksidasyona karşı korunması ve aminoasitlerin hücre içine taşınmasında etkilidir. Glutasyon antioksidan molekül olarak reaksiyonlara doğrudan katılmakla birlikte antioksidan savunmada rol oynayan glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz ve glutasyon transferaz gibi enzimlerin fonksiyonları içinde gereklidir (134).

Glutasyon peroksidaz aracılığıyla iki glutasyon molekülünün okside olmasıyla tek bir glutasyon disulfid molekülü (GSSG) oluşur. Ve devamında hidrojen peroksit suya veya lipit hidroperoksit ise toksik olmayan alkol ve suya indirgenir(134).



Esas olarak sitozol ve mitokondride bulunan glutasyon peroksidazın en önemli görevi peroksizomlar dışında oluşan hidrojen peroksitin uzaklaştırılmasıdır (105).

Okside olmuş glutasyon, glutasyon redüktaz ile tekrar glutasyona indirgenebilmektedir. Böylece antioksidan savunmada glutasyon tekrar etkin olabilmektedir. Bu tepkimede glutasyonun indirgenmesinde gerekli olan elektron NADPH'dan gelmektedir (105,120).



Glutasyon transferazların yabancı maddelerin biyotransformasyonunda önemli rolleri vardır. Bazı reaksiyonlarda glutasyon peroksidaz gibi aktivite göstererek lipit hidroperoksitin indirgenmesinde rol oynarlar (134).



2.2.2.4. E Vitamini, C Vitamini, β-Karoten, Flavonoidler, Diğer Antioksidanlar

Diyette en çok bitkisel yağlar, karaciger, yumurta sarısında bulunan E vitamini (α-tokoferol); serbest radikal zincir reaksiyonlarını enzim gereksinimi olmadan sonlandırır.

Özellikle lipit peroksil radikallerine tek elektron vererek lipit peroksidasyonunun sonlanmasında ve membran bütünlüğünün korunmasında etkilidir (116). Diyetle en çok portakal, limon, domates, patates ve yeşil sebzelerde bulunan C vitamini organizmada askorbik asitten dehidroaskorbik asite okside olmaktadır (147,148).



Bu oksidasyon esnasında açığa çıkan tek elektronlar serbest radikallere bağlanmakta ve böylece antioksidan etki göstermektedir. Oksidasyonu sırasında ortaya çıkan bu tek elektronuyla E vitamininin tazelenmesine katkıda bulunmaktadır. Bu etkisiyle lipit peroksidasyonunun sonlanmasına da etkili olabilmektedir (105).

Karoten; A vitamininin öncüsüdür. Antioksidan etkisini; singlet oksijeni inaktive etmesi, peroksil radikalleriyle direkt olarak reaksiyona girmesi ve lipit peroksidasyonunu önlemesi ile göstermektedir (149).

Meyve kabukları, soğan ve yeşil çayda bol miktarda bulunan flavonoidler ksantin oksidaz enzimi inhibisyonuyla süperoksit üretimini azaltırlar. Süperoksite veya lipit peroksid radikallerine elektron vererek, demir veya bakır gibi metalleri bağlayarak Fenton reaksiyonuna katılmalarını engellemeleri ile antioksidan etki göstermektedirler (105).

Yukarıda belirtilenlerin dışında transferrin, ferritin, haptoglobulin, ürik asit, albumin ve bilirubin antioksidan özellik gösterebilmektedirler. Transferrin ve ferritin demiri bağlayarak, seruloplazmin ve albumin bakırı bağlayarak bu metallerin Fenton reaksiyonuna katılmaları engellerler. Haptoglobulin hem metalloproteinini bağlamakta ve böylece otooksidasyon engellenmektedir. (113).

Pürinlerin yıkımıyla oluşan ürik asit; kanda, tükürük ve akciğeri kaplayan sıvılarda serbest radikal tutucusu olarak işlev görmektedir (105).

2.2.3. Oksidan-Antioksidan Denge ve Oksidatif Stres

Reaktif oksijen türleri, metabolik ve fizyolojik süreçler ve organizmada zararlı oksidatif reaksiyonlarda meydana gelebilir. Bunlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalarla uzaklaştırılır. Bazı durumlarda, oksidanlardaki artış ve antioksidanlarda azalma sonucunda (oksidan/antioksidan denge) oksidatif taraf lehine kayar. Sonuçta pek çok hastalığa neden olan oksidatif stres meydana gelir (150,151).

2.2.3.1 Total Oksidatif Stres (TOS)

Oksidatif stres; vücudumuzda mevcut oksidative-antioksidative dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durumdur. Oksidatif stresin toplam değeri; total oksidatif stres veya total oksidan status/seviye (TOS) olarak ifade edilir. Bu fenomen, aşırı reaktif oksijen ve/veya nitrojen türlerinin üretimi veya antioksidan tampon mekanizmasının eksikliği sonucu oluşur.

2.2.3.2 Total Antioksidan Status/Seviye (TAS)

Normal koşullarda organizma, endojen ve eksojen serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. TAS'e en büyük katkı plazmada bulunan antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi proteinler yanında serbest radikalleri kapatan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Albumin, ürik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin % 85'inden fazlasını oluşturur. Plazmada antioksidanlar etkileşim içinde olup bir arada sinerjik bir etki oluştururlar.

Total antioksidan seviyesinin ölçümü, antioksidanların tek tek seviyelerinin ölçümünden daha değerli bilgiler verir. Bu yüzden kanın antioksidan düzeyi durumunu saptamada bireysel antioksidanlardan ziyade bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (152,153).

2.2.3.3 Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

Total peroksitlerin, total antioksidanlara bölünmesiyle elde edilen oransal bir indekstir. OSI'nin yüksek olması oksidatif stresin arttığını gösterir (154).

$$\text{Oksidatif Stres İndeksi(OSI)} = \frac{\text{Total Oksidatif Stres(TOS)}}{\text{Total Antioksidan Status(TAS)}}$$

2.2.4. Kalp Hastalıklarında Oksidatif Stresin Etkileri

2.2.4.1 Endotel disfonksiyonu

Endotel çeşitli mediyatörler salgılar. Bu mediyatörler vasküler tonus, trombosit adezyonu, inflamasyon, fibrinoliz ve vasküler proliferasyonu regüle ederler. Endotelin fonksiyonunda bozulma bu olayların akışını bozar ve kardiyovasküler hastalıklara zemin hazırlar (155).

Oksidatif stres sonucu etkilenmiş endotel hücreleri tarafından sentezlenen proinflamatuvar moleküller arasında vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) sıralanabilir (156). Serbest oksijen radikalleri, NO inaktivasyonu ile vazomotor fonksiyonu etkilerler (157). Endotel kaynaklı büyüme faktörlerinin artışı hücre proliferasyonuna ve apoptotik sinyal aktivasyonu ile endotel hücre kaybına neden olur (158).

2.2.4.2. Ateroskleroz

Hiperlipidemi, DM, HT, sigara ve yaşlanma gibi ateroskleroz risk faktörleri endotel, düz kas hücresi ve adventisyal hücrelerden serbest oksijen radikallerinin salınımını indükler. Serbest oksijen radikalleri de vasküler düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonuna, adezyon molekülü ekspresyonuna, endotelde apoptoz, düşük dansiteli lipoprotein oksidasyonu (okside LDL) ve proteolitik matriks metalloproteinazların (MMP) aktivasyonuna yol açarak aterogenez sürecine etki ederler (159).

Aterogenezu başlatan olaylarda sorumlu tutulan mekanizmalarda bir de LDL'nin oksidatif modifikasyonudur (160). LDL oksidasyonu serbest radikaller ve bazı enzimler sayesinde başlatılır ve hızlandırılır. LDL oksidasyonunun arter duvarındaki mikro-ortamda, anti-oksidanlar tükendiği zaman meydana geldiği düşünülmektedir (161). Damar duvarındaki bütün hücreler (endotel ve düz kas hücreleri, makrofajlar ve lenfositler) LDL'yi modifiye edebilirler (162). Okside LDL'nin makrofajlar tarafından hızla fagosite edilerek köpük hücresine dönüşürler. Okside LDL arteriyel endotel hücreleri için sitotoksik olup nitrik oksit salınımını ve buna bağımlı endotel kaynaklı vazodilatasyonu inhibe eder. Akut koroner sendrom ve karotis aterosklerozu olan kişilerde sağlıklı bireylere göre daha yüksek miktarda okside-LDL düzeylerine rastlanılmıştır (163). Ayrıca insan koroner arterlerinden elde edilen

örneklerde süperoksit dismutaz aktivitesinde azalmanın gösterilmiş olması, oksidatif stres ve ateroskleroz ilişkisinin güçlü bir kanıtıdır (164).

2.2.4.3. Hipertansiyon

Damar endoteli; kimyasal, hormonal ve hemodinamik değişikliklere bağlı fonksiyonundaki düzenlemeler ile vasküler homeostaz kontrolünü sağlar. Endotel ile ilişkili (prostaglandinler, endotelden salınan hiperpolarize edici faktör ve nitrik oksit) vazodilatatör sistem ile vazokonstriktör sistem arasındaki dengenin bozulması hipertansiyona neden olmaktadır. Özellikle serbest oksijen radikali artışına bağlı NO yıkımındaki artış HT'da kritik rol oynamaktadır. Yapılan birçok çalışmada, HT'sif olgularda oksidatif stresin mikrovasküler düzeyde arttığı, NAD(P)H oksidaz ve ksantin oksidazın yükseldiği gösterilmiştir (165,166).

SOD endotel disfonksiyonunu düzeltebilmekte ve kan basıncını düşürebilmektedir (167). Hipertansif popülasyonda serum SOD aktivitesinde düşmenin meydana geldiği bilinmektedir (168). Hipertansiyonun neden olduğu böbrek hasarı, kardiyak hipertrofi, inmenin gelişmesinde süperoksit anyonlar rol oynamaktadır (165). Kan basıncı normal olan sıçanlarda, tuz yüklemesi ile dirençli damarlarda serbest oksijen radikali üretim artışı ortaya konmuştur. Ayrıca, hipertansiyonda vazokonstriktör siklooksijenaz ürünlerinin artış olmaktadır. Ksantin oksidaz yolundan oluşan süperoksit ve hidroksil radikalleri bu olayda rol almaktadır. Tüm bunlar, reaktif oksijen türlerinin hipertansiyondaki önemini ortaya koymaktadır (169).

2.2.4.4. Kalp Yetersizliği

KY gelişen hastalarda SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz ve E vitamini gibi miyokardiyal antioksidanlar azalırken, serbest oksijen radikalleri ve OS'nin arttığı gösterilmiştir (170). İlaç tedavisiyle antioksidan rezervde artmanın, bu karşılık oksidatif streste azalmanın olduğu gösterilmiştir (171). Son dönem KY ve geçirilmiş Mİ olan hastalarda miyositlerin apoptozu söz konusudur. Ayrıca, in vitro çalışmalar ve ha

yvan modellerinde, iskemi/reperfüzyon, MI ve kronik basınç yüklenmesi oluşturulan olgularda meydana getirilen OS'in apoptoz yoluyla miyosit kaybına neden olduğu saptanmıştır. OS'nin apoptozdaki rolü birçok hücre tipinde ortaya konmuştur. Adriamisin, ultraviyole radyasyon ve tümör nekroz faktörü serbest radikal oluşturarak apoptozu

hızlandırır. Öte yandan SOD, E vitamini ve troloks gibi antioksidanların da apoptozu engellediği gösterilmiştir (172-175).

2.2.4.5. Reperfüzyon Hasarı

Tıkanan koroner arterin açılmasından sonrasında oksijenden zengin kanın gelmesini takip eden süreçte miyokard hücre hasarının artmasına reperfüzyon hasarı denir. Bu hasarda endotel hücreleri, kan hücreleri ve kardiyak miyositlerden artmış serbest oksijen radikali oluşumu sorumlu tutulmaktadır (176). İskemi sonrası miyokardda serbest oksijen radikal artışının gösterilmesi bu durumu destekleyen bir bulgudur. Hayvan deneylerinde, serbest oksijen radikal oluşumunun reperfüzyonun başlamasından 10-30 saniye sonra ortaya çıktığı, en fazla görülen radikalin endotelden kaynaklanan süperoksit tip olduğu ve bazı lipit radikallerin üç saate kadar oluşmaya devam edebildiği görülmüştür (177). Farklı bir reperfüzyon örneği olan koroner baypas sonrası reperfüzyonda da serbest oksijen radikali oluşumunda artış ve bununla ilgili bulgular gösterilmiştir (178).

2.3. Prolidaz

2.3.1.Prolidazın Tanımı

Prolidaz enzimi (EC.3.4.13.9) imidodipeptitlerin yıkımından sorumlu sitozolik bir ekzopeptidazdır. İmidodipeptitler kollajenin yıkımı sonucu açığa çıkan ve C-terminalinde prolin ya da hidroksiprolin bulunan dipeptitlerdir (179). Prolidaz hidrolazlar sınıfına ait bir enzim olup karboksil terminal pozisyondaki prolin veya hidroksiprolin içeren dipeptitlerin hidrolizini katalizler.

İlk olarak 1937 yılında glisin-prolin hidrolizini gerçekleştirdiği tespit edilen prolidaz enziminin pek çok memeli dokusunda varlığı gösterilmiştir (180). Ancak son 30 yılda prolidaz üzerine yapılan çalışmaların artmasıyla bu enzime olan ilgi artmıştır.

Organizmadaki tüm proteinin yaklaşık %30'unu oluşturan kollajenin %25'i prolin veya hidroksiprolinden oluşur. Kollajenin spesifik proteinazlar tarafından parçalanmasıyla açığa çıkan dipeptitler, prolidaz gibi dipeptidazlar ile yıkılırlar. İmidodipeptitlerin prolidaz ile yıkımı sonucu açığa çıkan prolinin %90-95'i yeniden kullanıma kazandırılırken, hidroksiprolin idrarla atılır (179)

2.3.1.1. Prolin

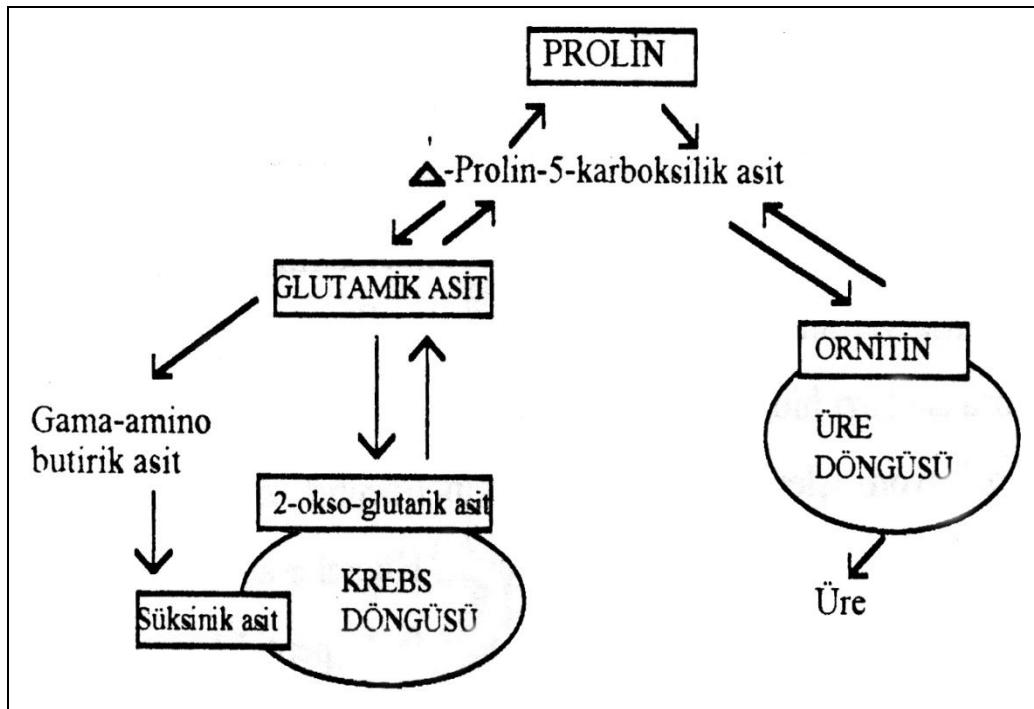
Prolin esansiyel olmayan bir imino asit olup glutamatın halka yapısındaki bir türevidir. Prolinin diğer amino asitlerden farkı R grubunun hem amino grubu hemde α karbon grubuna bağlı olarak siklik bir yapıda olmasıdır. Benzersiz yapısal özellikten dolayı prolin bir peptit sekansına girdiği zaman önemli konformasyonel özellikler gösterir. Prolin siklik yapısının sonucu olarak hiçbir fonksiyonel grup içermediğinden hidrojen bağına veya peptit bir bağına rezonans stabilizasyonuna katılmayı engeller. Bu nedenle prolin α helix veya β tabakalı sekonder yapılarına uyumlu olmayan tek amino asittir. Kemik, tendon ve destekleyici membran dokularını ana bileşeni olan kollejeninde prolinin bu yapısal özellikleri ön plana çıkmaktadır (181).

Prolin potansiyel bir yapı kırıcı olan ve peptit zincirlerinin yönünü değiştirme eğilimine sahip peptit zincir içerir. Proteinlerin yüzeyindeki ters dönüş veya saç tokası eğimi şeklindeki yapılarda prolinin önemli bir etkisi bulunmaktadır (182). Prolin biyolojik olarak aktif peptitlerin enzimatik degradasyona karşı koruma sağlamaktadır. Bu durum peptit veya protein prekürsörlerinin post transyasyonel modifikasyonlarının regülasyonunda açıkça

bellidir (183).

Prolin ayrıca Krebs ve üre döngüsüyle metabolik olarak bağlantılıdır. Prolinin karbon zincirinden Krebs döngüsüne geçişi, tüm dokularda bilinen klasik yoldan 2-oksaglutarik asit metabolizması ile olur (184).

Hidroksiprolin de prolin gibi kollajen yapısında yer alan önemli bir amino asittir. Hidroksiprolinin hidroksiprolin oksidaz ile parçalanması sonucunda glioksalat ve pirüvat oluşmaktadır. Hidroksiprolin hidrojen yapım ve yıkımında açığa çıkar (Şekil-6) (185).

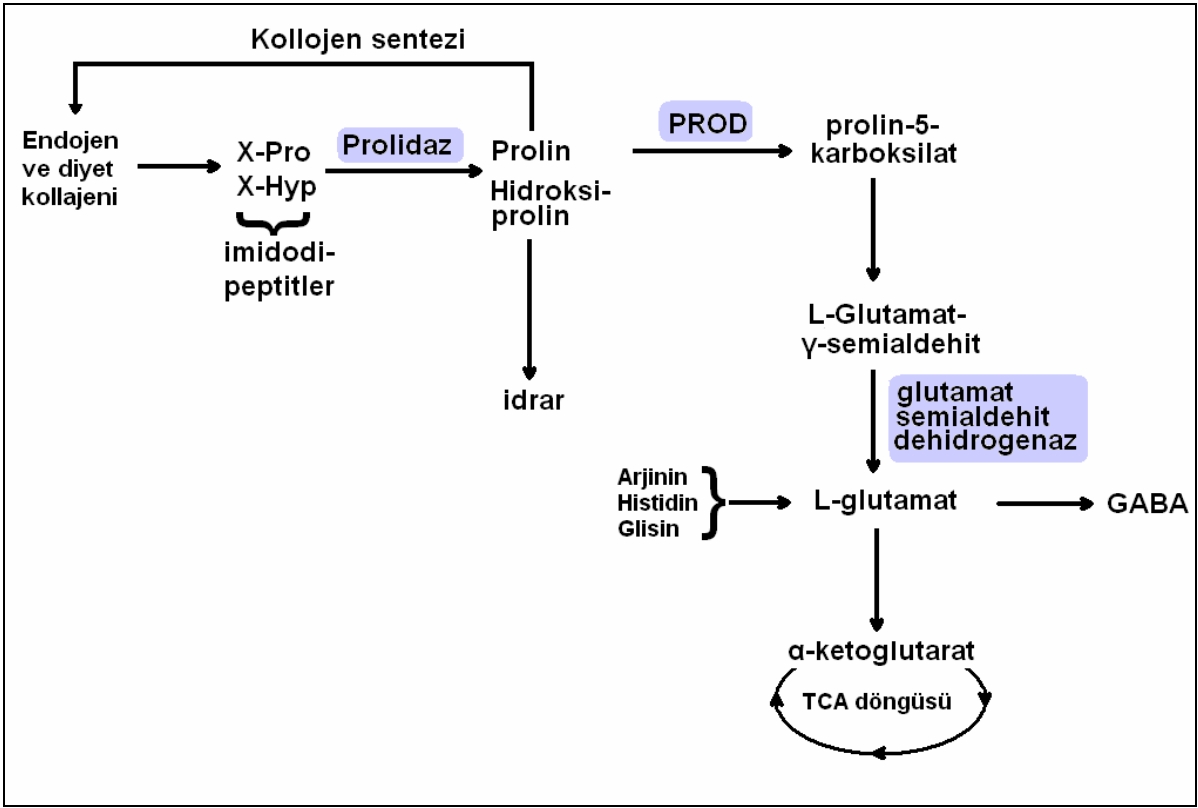


Şekil-6: Prolinin metabolik yollarla bağlantısı (184).

2.3.2. Prolidazın Yapısı

Prolidaz enzimi birçok memeli dokusunda ve mikroorganizmalarda dağılım gösterir. Doğal, sitoplazmik, homodimerik bir metaloenzim olan prolidazın aktivitesi Mn^{+2} ile 5-10 kat artmaktadır. Bunun yanında enzimin maksimum aktivitesi için aktif merkezinde arjinin ve anyonik amino asit artıklarının olması gerekir (Şekil-7) (186).

Proteazlar hep monomer yapıda olmasına rağmen tüm prolidazlar dimer yapı gösterirler ve ancak bu şekilde katalitik aktivite gösterirler (187). Prolidaz glikoprotein yapısındadır ve ağırlık olarak %5 karbonhidrat içermektedir. Prolidazın sekonder yapısında α -heliks (%33), β -tabakalı (%41) ve 30 potansiyel beta bağlantı bölgelerine eşit bir şekilde dağılmış hidrofobik ve hidrofilik alanlar bulunmaktadır (188).



Şekil-7: Prolidaz enzimi ve prolin metabolizması. Prolin yeniden kollajen sentezine katılabileceği gibi glutamata da metabolize olabilir. Pro: Prolin, Hyp: Hidroksiprolin

2.3.3. Prolidazın İzoenzimleri

Prolidazın substrat spesifitesi ile kimyasal özellikler bakımından farklılıklar gösteren 2 formu (prolidaz I ve prolidaz II) bulunmaktadır. Prolidaz I birbirini tamamlayan eşit molekül ağırlığında 2 subüniteden oluştuğu (56kDa) bulunmuştur. Prolidaz II ise birbirine eş iki subüniteden (95 kDa) oluştuğu gözlenmiştir(189).

Prolidaz I tüm dokularda bulunur. Tüm iminodipeptitlerle reaksiyona girmesine rağmen gly-pro-dipeptide afinitesi daha yüksektir. Aksine prolidaz II ise gly-pro dipeptidine karşı düşük bir afinite gösterir (182). Prolidaz II'nin en yüksek aktiviteyi gly-pro yerine met-pro 'ya karşı gösterdiği saptanmıştır (190). Cosson ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda prolidaz I ve prolidaz II'yi kromatografik olarak ayırdıktan sonra izoenzimlerin farklı doku dağılımları gösterdiklerini bulmuşlardır (Tablo 7) (191).

Tablo-7 . İnsan prolidaz I ve prolidaz II izoenzimlerinin doku dağılımları (% olarak) (191)

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

2.3.4. Prolidaz İnhibitör ve Aktivatörleri

Prolidaz aktivasyonu için Mn^{+2} iyonu gereklidir. Fe^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} , Cd^{+2} , Ag^{+1} , Hg^{+2} , Pb^{+2} ve Pt^{+4} iyonları prolidaz aktivasyonunu inhibe ederler. Ortalama 0,001-0,0004 M aralığındaki konsantrasyonlarda glutatyonun optimal stabilizasyon ve aktivite sağladığı, yüksek konsantrasyonunun ise inhibisyona sebep olduğu bulunmuştur. Ayrıca iyodoasetamin ve p-kloromerküri benzoatın da enzimi inhibe ettiğine değinmişlerdir (192).

2.3.5. Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımındaki Önemi

Kollajen yıkımı interstisyel kollajenaz enziminin kollajen molekülünün amino ucuna yakın bir yüzeyine bağlanmasıyla başlar. Üçlü sarmal yapıdaki kollajen molekülüne etkili enzim orijinal kollajen molekülünün %25 ve %75 kadarını taşıyan iki adet sarmak yapıda molekül açığa çıkarmaktadır. Sarmal yapıları dayanıklı olmayan bu küçük moleküllerin vücutta parçalanması ile elde edilen polipeptitler, proteazlar tarafından daha küçük petitler

veya serbest amino asitlere yıkılmaktadır (185).

Prolidazın bütün biyolojik fonksiyonunun prolin döngüsüyle beraber kollajen dejenerasyon ürünleri ve diğer Xaa – Pro dipeptidlerin metabolizması olduğuna inanılmaktadır. Prolidaz C-terminalinde amino asidi prolin veya hidroksiprolin olan dipeptidleri hücre içinde hidroliz eder. Prolin yeniden döngüye girer ve yeni protein sentezinde kullanılırken hidroksiprolin idrarla atılmaktadır (193).

Kollajen dokudaki amino asitlerin yaklaşık %25'ini prolin ve hidroksiprolin oluşturduğundan, prolidaz kollajen yıkımında önemli rol oynamaktadır (194). Prolidaz hücre içi protein yıkımının son basamağında, özellikle yüksek miktarda prolin içeren prekollajenin yıkımı aşamasında rol oynamaktadır (195). Enzim için substrat kaynağı kollajen olup imminopeptidler kollajenin yıkımının son basamağında ortaya çıkmaktadır (196).

Prolidaz beslenme ile alınan proteinlerden ve vücuttaki depo kollajeninden imino asitlerin geri kazanılmasında önemli rol oynar (197). Prolidaz C-ucunda prolin veya hidroksiprolinin imino azotunu içeren peptid bağı bulunduran bileşiklerin hızla hidrolizini katalizleyen tek enzim olduğu için spesifitesi yüksektir (192).

2.3.6. Prolidazın Hastalıklarla İlişkisi

Prolidaz eksikliğinde prolinin normal döngüsü bozulur, fazla miktarda prolin ve hidroksiprolin üre ile dışarı atılır. Sonuç olarak toplam prolin eksikliği oluşur (198). Prolidaz eksikliği kronik deri ülserleri, tekrarlayan enfeksiyonlar, zihinsel gerilik, splenomegali, karakteristik bir yüz görünümü (örneğin zayıf saclar, yassı burun, duz alın, kalın dudaklar, hipertelorizm) gibi çeşitli klinik bulgularla ilişkilidir (199).

Kardiyak matrikste en yoğun bulunan ekstraselluler matriks proteinleri olan tip I ve tip III kollajen total kollajen miktarının yaklaşık %80-90'nı oluşturur. Miyokardiyal fibrozis, hipertrofi ve infarktüse bağlı kardiyak hasar durumunda tipI/III kollajen oranı değişir (200). Aterosklerozda kollajen yapımı enflamatuar hücrelerin bu alana göçü ve salgıladıkları sitokinlere (transforming growth factor- β 1(TGF- β 1) ve interlökin- 1β (IL- 1β) bağlı olarak uyarılır ve kardiyak dokuda fibrozis gelişimi ile sonuçlanır. Kardiyak ileti sistemindeki yapısal değişiklikler ise iletim bozukluklarına neden olmaktadır (201-203). Kollajen yıkımının son basamağı prolidaz aracılığı ile olmaktadır. Prolidaz kollajen sentezi ve hücre gelişiminde rol alan prolinin dönüşümünde önemli rol oynamaktadır.

Normal serum prolidaz değerleri 1000U/L'nin altındadır. 1500 U/L'yi aşan değerler kronik karaciğer hastalıklarında görülür. Diyabetiklerde serum prolidaz aktivitesinin oldukça

düşük olduğu saptanmıştır (204). Siroz hastalarında serum prolidaz seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunduğu ve kollajen turnoverinin insan karaciğerinde siroz gelişimi ile değiştiği ve prolidaz aktivitesinin bu dejeneratif karaciğer hastalığında kollajen metabolizmasının bozukluklarını yansıtabileceği ortaya konmuştur (205). Kronik etanol ve selenyum verilen sıcanların karaciğerinde prolidaz I aktivitesi kontrollere oranla yüksek bulunmuştur. Prolidaz enziminin genetik eksikliğinin sonucunda mental retardasyon, tekrarlayan enfeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığı bildirilmiştir (197,199). Prolidaz eksikliği olan kişilerde prolidaz I aktivitesinin deri fibroblast kültürlerinde ve kan hücrelerinde azaldığı gösterilmiştir. Prolidaz aktivitesi birçok dokuda ve amniyotik sıvıda belirlenmiştir (206). Kemik hastalıklarında hiçbir zaman yüksek prolidaz değerlerine rastlanmamıştır (207). Oono ve ark. kronik yara iyileşmesinde prolidaz enzim aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir (208).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Hasta Seçimi

Prospektif olarak yapılan çalışmaya kardiyoloji kliniğine başvuran ve yapılan değerlendirmeler sonucundan ortalama pulmoner arter basıncı ölçülen 18-85 yaş arası olgular alındı. Pulmoner arter ortalama basıncı <25 mmHg olanlar kontrol grubu (grup 1, n=98), ortalama pulmoner arter basıncı \geq 25 mmHg olanlar ise çalışma grubu (grup 2, n=94) olmak üzere 192 olgu çalışmaya alındı. Tüm şahısların ayrıntılı sorgulaması ve fizik muayenesi yapıldı. Kronik böbrek yetmezliği, malignitesi, karaciğer hastalığı, hipotiroidi veya hipertiroidisi olanlar, doğum kontrol ilacı ve antioksidan ilaç alanlar ve hamileler çalışmaya alınmadı. Ekokardiyografi ile pulmoner arter basıncı ölçülemeyen olgular da çalışma dışı bırakıldı. Olgular efor kapasitesine, aşırı efor gerektiren işlerde nefes darlığı olanlar fonksiyonel sınıf I, günlük aktivitelerin sonunda nefes darlığı olanlar fonksiyonel sınıf II, günlük aktivite başında nefes darlığı olanlar fonksiyonel sınıf III, dinlenme anında nefes darlığı olanlar ise fonksiyonel sınıf IV olarak kabul edildi. Fonksiyonel sınıf IV olan olgularda çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmaya Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı sonrası başlandı. Tüm olgular yapılacak işlemler ile ilgili olarak ayrıntılı bilgilendirildi ve yazılı onayları alındı.

Vücut kitle indeksi kilogram cinsinden ağırlığın, metre cinsinden boy uzunluğunun karesine bölümüyle hesaplandı (kg/m^2). Halen aktif sigara içiyor olanlar sigara içimi pozitif olarak kabul edildi. Olgular risk faktörleri sorgulanıp kaydedildi. Önceden antidiyabetik ilaç alanlar ile ölçülen kan şekeri >125 mg/dl olanlar diyabetik olarak değerlendirildi. Kan basıncı sağ koldan standart manşon ve sfignomanometre ile iki defa ölçüldü. İki ölçümün ortalaması alınarak ortalama sistolik ve diyastolik kan basınçları elde edildi. Ölçülen kan basıncı >140/90 mmHg olanlar ile antihipertansif ilaç alanlarda hipertansiyon var olarak değerlendirildi.

3.2. Biyokimyasal Tetkikleri

Ayrıntılı ekokardiyografik değerlendirme sonrası uygun ve gönüllü olgularda aç karnına hastalarda, rutin biyokimyasal tetkikler bakıldı. Ayrıca heparinli bir tüpe 5-8 cc kan alındı. Tam kan sayımı, açlık kan şekeri, üre, kreatinin, Na, K, albümin, total bilirubin,

transaminazlar, total kolesterol, trigliserit, yüksek ve düşük dansiteli lipoprotein kolesterolleri kaydedildi. Heparinli tüpe alınan kanlar hemen santrifüj edilip serumlara ayrıldı. Serum örnekleri istenen olgu sayısına ulaşınca kadar -80 derecede saklandı. Toplam antioksidan seviye, toplam oksidan stres ve prolidaz aktivitesine bakıldı.

3.3. Ekokardiyografi İle Pulmoner Arter Basıncı Ölçümü

Ekokardiyografik ölçümler sol lateral dekübitüs pozisyonunda, Vivid S6 cihazında (GE Vingmed, Horten, Norway) 3-MHz frekanslı transduser kullanılarak gerçekleştirildi. Ölçümlerde göğüs üzerinde farklı noktalarda M-mod, iki boyutlu, renkli ve kontünü Doppler kullanıldı. Doppler ekokardiyografik kayıtlar parastrenal, apikal ve subkostal pozisyonlardan elde edildi. Pulmoner arter basıncı pulmoner yetersizliği üzerinde hesaplandı. Bu hesaplamada; ortalama pulmoner arter basıncı= $79 - 0,45(\text{Pulmoner kapak akselerasyon süresi kullanılarak})$ veya Ortalama PAP = $4 \times (\text{Peak pulmoner regürjitasyon hızı})^2$ formülleri sıklıkla kullanıldı. Bu şekilde hesaplanmayan olgularda ise; Ortalama PAB= $0,61 \times \text{PA}$ sistolik basınç + 2 mmHg kullanıldı. Pulmoner arter sistolik basıncı ise triküspit yetersizliği üzerinde elde edildi. Triküspit yetmezliğine ait maksimal velosite ve bunun üzerinden Bernoilli eşitliği (Basınç= $4 \cdot V^2$ (akımın m/sn cinsinden karesi)) ile sistolik triküspit gradyanı bulundu. Pulmoner arter sistolik basıncı triküspit kapaktan elde edilen sistolik gradyana sağ atriyal basınç (5-15 mmHg) değerinin eklenmesi ile elde edildi. Sağ atriyal basınç belirlenirken vena kava inferiorun çapı ve solunumsal çap değişkenliğinin derecesi göz önüne alındı.

3.4. Oksidatif Parametreler Ve Prolidazın Ölçülmesi

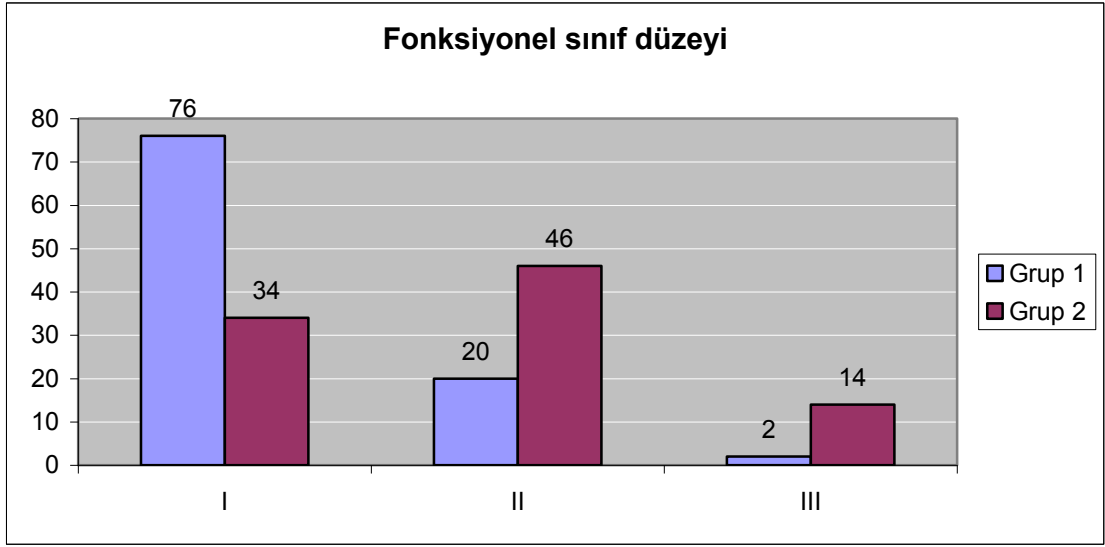
Fe^{2+} -o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksid ile Fenton tipi reaksiyonunda hidroksit (OH) radikali ortaya çıkmaktadır. Bu radikalın düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyon meydana getirdiği renk değişikliği ölçülerek TAS değerlendirildi. Reaksiyon hızı standart yöntem olan Trolox ile kalibre edildi. Birimi Trolox equivalent/L. Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyon oksitlerler. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenol orange ile oluşturduğu rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle de TOS hesaplandı. Birim $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv./L}$. Total oksidan seviyenin total antioksidan kapasiteye bölünmesiyle de OSİ değeri elde edildi.

3.5. İstatistiksel Analiz

Normal dağılım gösteren sayısal veriler ortalama \pm standart sapma, normal dağılım göstermeyenler median ve interquartil range, kategorik değişkenler ise sayı veya yüzde şeklinde ifade edildi. Sayısal verilerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemle (One-Sample Kolmogorov-Smirnov testi ile) incelendi. Normal dağılım gösteren yaş, VKİ, total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, TAS ve lökosit değerleri student t testi kullanılarak karşılaştırıldı. Üre, kreatinin, açlık kan şekeri, trigliserit, sistolik ve diyastolik kan basınçları, hemoglobin, ejakasyon fraksiyonu, pulmoner arter basıncı, TOS, OSİ ve prolidaz normal dağılım göstermediğinden bu parametrelerin gruplar arası karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ve Bonferroni düzeltmesi kullanıldı. Gruplara arasında kategorik verilerin görülme sıklıkları bakımından fark olup olmadığı yerine göre Ki-kare ya da Fisher testleri kullanılarak karşılaştırıldı. Pulmoner arter basıncı ile diğer parametreler arasındaki ilişkiler (normal dağılmayan veriler olduğundan) için korelasyon katsayıları ve istatistiksel anlamlılıklar Spearman testi ile hesaplandı. Çok değişkenli analizde pulmoner kan basıncı değerinin bağımsız ön gördürücülerini tespitinde binary lojistik regresyon analizi kullanıldı. *P* değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS versiyon 11,5 yazılımı kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Tüm olgularda iki hasta da konjenital kalp hastalığı, 48 hastada koroner arter hastalığı, 41 hastada KOAH, 13 hastada atriyal fibrilasyon mevcuttu. Fonksiyonel sınıfı I grup 1’de sınıf II ve III ise grup 2’de daha fazlaydı (Şekil-8).



Şekil-8: Grupların fonksiyonel sınıf düzeylerine göre grafiği

Her iki gruba ait genel risk faktörleri, klinik ve biyokimyasal bilgiler tablo-8’de gösterilmiştir. Gruplar arasında cinsiyet dağılımı, BMİ, diyabet ve hipertansiyon varlığı, sigara içimi oranı, açlık kan şekeri, kreatinin, HDL kolesterol ve beyaz küre değerleri benzerdi (hepsi için $p>0,05$). Pulmoner arter basıncı yüksek olan grubun yaş ortalaması daha yüksekti ($p=0,001$). KOAH görülme oranı grup-2’de daha yüksekti. Trigliserit, total kolesterol ve LDL kolesterol değerleri ise ortalama pulmoner arter basıncı normal olan grupta daha yüksek olarak izlendi.

Başvuru semptomlarında nefes darlığı (%75 karşılık %25, $p=0,001$) ve öksürük (%30 karşılık %18, $p=0,042$) pulmoner arter basıncı yüksek olan grupta anlamlı derecede daha yüksekti. Angina ve çarpıntı şikâyetleri ise heriki grupta benzerdi.

Olguların fizik muayenelerinde sistolik üfürüm, venöz dolgunluk, hepatomegali, akciğer bulguları gibi bulgular beklendiği gibi pulmoner arter basıncı yüksek olan grupta anlamlı derecede daha yüksek izlendi

Tablo-8: Çalışmaya alınan olguların genel demografik, klinik ve biyokimyasal verileri

	GRUP I n=98	GRUP II N=94	P Değeri
Cinsiyet (Erkek %)	48	43	0,272
Yaş (yıl)	53 ± 13	59 ± 15	0,001
BMI (kg/m2)	28 ± 4	27 ± 5	0,125
Diyabetes mellitus (%)	16	18	0,434
Hipertansiyon (%)	47	54	0,326
Sigara (%)	28	38	0,075
KOAH (%)	14	29	0,010
Diüretik kullanım (%)	12	37	<0,001
Aspirin kullanım (%)	40	55	0,031
Beta bloker kullanım (%)	40	51	0,077
ACE-I/ARB kullanım (%)	45	55	0,097
KKB kullanım (%)	16	17	0,525
Statin kullanım (%)	34	19	0,012
Üre (mg/dL)	29 (15)	34 (19)	0,057
Kreatinin (mg/dL)	0,70 (0,10)	0,70 (0,20)	0,732
Açlık kan şekeri (mg/dL)	99 (19)	100 (23)	0,179
Trigliserit (mg/dl)	158 (114) [†]	109 (83) [†]	0,001
Total kolesterol (mg/dL)	199 ± 45	177 ± 45	0,003
LDL-Kolesterol (mg/dL)	117 ± 39	106 ± 34	0,034
HDL-Kolesterol (mg/dL)	42 ± 10	40 ± 9	0,160
WBC sayısı	8330 ± 2053	8222 ± 2172	0,730

Kategorik değişkenler yüzde, normal dağılım gösterenler ortalama ± standart sapma ve anormal dağılım gösternler median ve interquartil range olarak belirtildi.

P değeri cinsiyet, diyabet, hipertansiyon, sigara, KOAH ve kullanılan ilaçlar için Ki-kare; yaş, VKİ, bel çevresi, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve lökosit sayısı için paired t testi; trigliserid, üre, kreatinin ve açlık kan şekeri değerleri için Mann-Whitney U test sonucunda elde edildi.

ACE-I/ARB; Angiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü/anjiotensin reseptör blokleri, HDL; Yüksek dansiteli lipoprotein, KAH; Koroner arter hastalığı, KKB; Kalsiyum kanal bloker, KOAH; Kronik obstruktif akciğer hastalığı, LDL; Düşük dansiteli lipoprotein, BMI; Vücut kitle indeksi, WBC; Beyaz küre sayısı.

İlaç kullanma oranlarında ise; pulmoner arter basıncı yüksek olan grupta diüretik ($p<0,001$) ve aspirin ($p=0,031$) kullanım oranları daha yüksekti. Kalsiyum kanal blokerleri ($p=0,525$) ve beta blokerler ($p=0,077$) ile anjiotensinogen blokajı yapan ilaç ($p=0,097$) kullanımları ise heriki grupta benzerdi. Lipit düşürücü ilaç kullanımı kontrol grubunda çalışma grubuna göre daha yüksekti (%34'e karşılık %19 ve $p=0,012$).

Ekokardiyografik ölçümler, oksidatif parametreler ve prolidaz değerleri tablo-9'da yer almaktadır. Sol atriyum, sağ kalp boşlukları çalışma grubunda kontrollere göre daha yüksekti (hepsi için $p<0,001$). Sol kalp ejeksiyon fraksiyonu ise kontrol grubunda daha yüksekti ($p<0,001$). TAS ve pirolidaz değerleri ise heriki grupta benzerdi. Oksidan durumu gösteren TOS değerleri ($p=0,001$) ve OSI düzeyi ($p<0,001$) pulmoner arter basıncı yüksek olan grup 2'de daha yüksekti.

Tablo-9: İki grupta sağ ve sol kalp boşluk boyutları, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu, ortalama pulmoner arter basıncı ve oksidatif parametre değerleri

	Grup I (n=98)	Grup II (n=94)	P
Ortalama PAB, mmHg	15 (20)	30 (10)	<0,001
Ejeksiyon fraksiyonu (%)	63 (5)	60 (16)	<0,001
Sol atriyum çapı, mm	36 (4)	40 (8)	<0,001
Sağ atriyum çapı, mm	33 (3)	38 (10)	<0,001
Sağ ventrikül, mm	32 (3)	36 (3)	<0,001
Pulmoner arter çapı, mm	22 (3)	24 (3)	<0,001
TAS, $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L	0,92 \pm 0,13	0,89 \pm 0,17	0,159
TOS, mmol Trolox Eq/L	23,27 (7,51)	26,36 (9,85)	0,001
OSİ, arbitrary unit	2,51 (0,87)	2,91(1,39)	<0,001
Pirolidaz, U/L	698,67(26,71)	704,45(33,36)	0,232

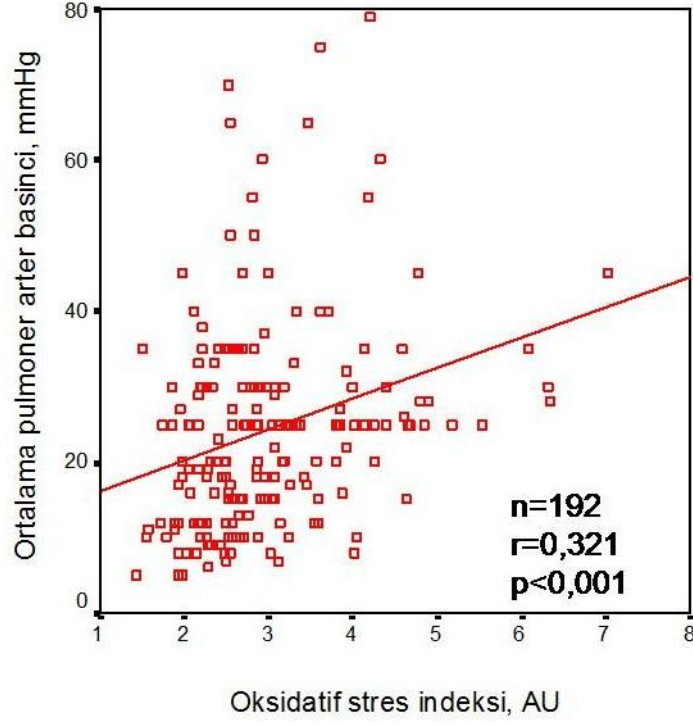
Normal dağılım gösteren TAS ortalama \pm standart sapma ve diğer parametreler median ve inerquartil range olarak belirtildi.

OSİ; Oksidatif stres indeksi, PAB; Pulmoner arter sistolik basıncı, TAS; Total antioksidan seviye, TOS; Total oksidan seviye,

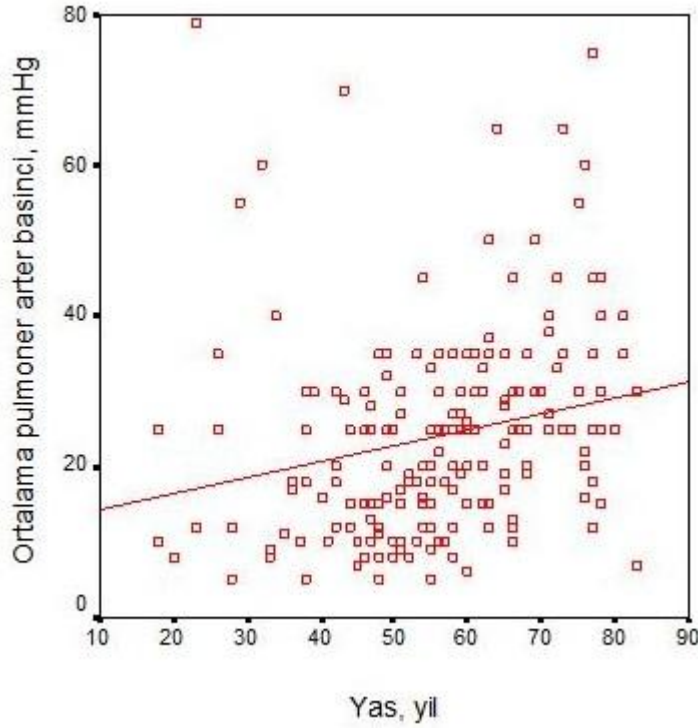
Pulmoner arter basıncı ile ilişki gösteren, klinik ve laboratuvar parametreleri tablo-10'da yer almaktadır. Lojistik regresyon analizlerinde pulmoner arter basıncı tüm olgularda sadece OSI ($p=0,023$) ve yaş ($p=0,007$) ile bağımsız ilişkilidir.

Tablo-10: Pulmoner arter basıncının tüm olgularda, kontrol ve çalışma gruplarında ikili ve çoklu analizlerde ilişkili olduğu parametreler

	Pearson Korelasyon katsayısı	p değeri	Çok değişkenli β regresyon katsayısı	p değeri
Tüm olgularda				
Total antioksidan seviye	-0,094	0,196		
Total oksidan status	0,276	<0,001	-0,010	0,818
Oksidatif stres indeksi	0,321	<0,001	0,729	0,023
Prolidaz	0,066	0,363		
KOAH	0,204	0,005	-0,431	0,301
Yaş	0,335	<0,001	0,036	0,007
Üre	0,161	0,031	0,020	0,170
Kontrol grubu				
Total antioksidan seviye	-0,101	0,323		
Total oksidan status	0,328	0,001	0,367	0,482
Oksidatif stres indeksi	0,325	0,001	-0,098	0,871
Prolidaz	-0,201	0,041	0,012	0,903
Yaş	0,335	0,001	0,255	0,009
Çalışma grubu				
Total antioksidan seviye	-0,012	0,910		
Total oksidan status	-0,080	0,442		
Oksidatif stres indeksi	-0,096	0,356		
Prolidaz	-0,035	0,737		



Şekil-9: Ortalama pulmoner arter basıncının oksidatif stres indeksi ile ilişkisi



Şekil-10: Tüm olgularda ortalama pulmoner arter basıncının yaş ile ilişkisi ($r=0,335$; $p<0,001$)

Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde, pulmoner arter basıncı grup I'de TOS, OSI, prolidaz ve yaşı ile anlamlı korelasyonu izlenirken, grup II'de böyle bir ilişki saptanmadı. Çoklu korelasyon analizlerinde sadece grup I'de yaş diğerlerinden bağımsız olarak ortalama pulmoner arter basıncı ile ilişkili bulundu ($\beta=1,135$, $p=0,037$) (Şekil-10).

Pulmoner arter basıncının OSI ile olan pozitif ilişkisi şekil-9'da, yaş ile olan korelasyon grafiğinde şekil-10'da yer almaktadır.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın sonucunda, 1. Pulmoner arter basıncı yüksek olanlarda oksidanların arttığı ve denginin oksidatif stres lehine arttığı, 2. Pirolidaz enzim düzeylerinin ise benzer olduğu, 3. Yaşla beraber pulmoner arter basıncının artış gösterdiği anlaşılmıştır.

Pumoner hipertansiyon nedeni ne olursa olsun en erken endotel fonksiyonlarında bozulma meydana gelir. Endotelde salgılanan nitrikoksit ve prostsiklin gibi damar genişletici özelliği olan mediatörlerin salınımında azalma damar büzücü etkileri olan endotelin, thromboksan A₂ ve serotonin etkinliğinde artış meydana gelmektedir (209). Bu olayları takiben pulmoner vasküler yatakta reaktif radikal üretiminde artışların olduğu, oksidatif stresin vasküler remodeling süresinde rol oynadığı bilinmektedir. Fareler üzerinde yapılan çalışmada pulmoner vasküler yatakta angiotensin-II aktivasyonu NADPH oksidaz enzimi üzerinde reaktif oksijen radikallerin üretimini ve oksidatif strese yol açtığı görülmüştür (21). Ciddi PHT'lu olgularda hipoksi, iskemi ve artmış enflamasyon aracılığı ile serbest radikal üretiminin artışı ile dengenin oksidanlar lehine kaydığı belirtilmiştir (22). Nitrik oksite ve prostoglandin sentezinde azalmanın olması da oksidatif stresin artmasında rol oynamaktadır (22). Bu çalışmamızda oksidatif stresin oksidanlardaki artışa paralel artmış olması pulmoner hipertansiyonda oksidatif stresin arttığını gösteren çalışma sonuçları ile uyumludur. Yaşla birlikte pulmoner arter basınç yükselmesine neden olabilecek hastalıkların ortaya çıkabilmesine bağlı olarak pulmoner arter basıncı yükselmesi beklenebilir. Yaş dışlandığı halde TOS ve OSI ile bağımsız ilişki göstermesi, ayrıca kullanılan ilaçlar ve risk faktörleri ile TOS ve OSI'nin ilişki göstermemesi ilaç ve yaş etkisinden bağımsız olarak oksidatif stresin PHT'de arttığını düşündürmektedir.

PHT'li akciğerlerde yapılan histolojik incelemede antioksidan enzim olan süperoksit dismutaz enziminin normal akciğer vaskular dokusuna göre azaldığı görülmüştür (210). Antioksidan etkili veya endotel fonksiyonlarında düzelmeye sağlayan ilaç kullanımları sonrası pulmoner arter basıncında düşmenin olması, antioksidanların pulmoner vasküler remodelingde olumlu etkileri olacağını gösterir (211,212). Kendi çalışmamızda antioksidan kapasiteyi gösteren TAS değerleri anlamlı olmamakla beraber kontrol grubunda çalışma grubuna göre daha yüksek olması, antioksidan tedavinin pulmoner kan basıncı yükselmesinde faydalı olacağını düşündürmektedir.

Pulmoner hipertansiyonda ekstrasellüler matriks proteinlerinde artış olduğu, idyopatik PHT olgularında metalloproteinaz I, II ve III düzeyinde değişimin olduğu bildirilmiştir (6). Diğer pulmoner hipertansiyon alt gruplarındaki değişimin nasıl olduğuna dair yeterince

çalışma bulunmamaktadır. Cowen ve arkadaşları metalloproteinaz ve serin elastaz aktivitesinin azaltılmasının pulmoner vasküler yatak üzerine olumlu etkileri olacağını göstermişlerdir (213). Çalışma grubumuzdaki hastaların çoğunluğu sol kalp hastalığı ve akciğer hastalığına sekonder gelişen hastalarda oluşmaktaydı. Bu hasta gruplarında pirolidazın değerlendirildiği ilk çalışma olması açısından önemlidir. Pulmoner kan basıncı yüksek ve normal olanlarda prolidaz aktivite düzeyleri benzer bulundu. Bu sonuç prolidazın bu süreçte etkin rol oynamadığını düşündürmektedir.

5.1. Çalışmanın Sınırlamaları

Çalışmaya alınan olgu özelliklerinin heterojen olması, örneklem sayımızın düşük olması nedeniyle alt grup analizlerinin yeterince yapılamaması, oksidatif parametreler üzerinde etkili olduğu bilinen diyet ve egzersiz alışkanlıklarının yeterince değerlendirilmemiş olması ve pulmoner arter basıncının ekokardiyografik olarak ölçülmesi çalışmanın en önemli sınırlamalarını oluşturmaktadır. Çalışma ve kontrol grupları arasında yaş farkının olması ise çalışmamızın diğer bir sınırlamasıdır. Ancak yaş dikkate alınmadığında bile OSI pulmoner arter basıncı ile anlamlı pozitif ilişki göstermekteydi. Ancak pulmoner arter basıncının mı oksidatif stresi arttırdığı veya artan oksidatif stresin mi pulmoner arter basıncını yükselttiğini söylemek oldukça zordur. Prolidaz enzimi alt grup analizlerinin yapılmaması ise çalışmanın diğer eksikleri arasındadır.

5.2. Sonuç

Tam açıklanamamasına rağmen oksidatif stresin ve oksidanların pulmoner arter basıncının yükselmesinde rol oynadığı, prolidaz düzeylerinde değişme olmakla beraber etyopatogeneizde oksidatif parametreler kadar etkin rol oynamadığını düşündürmektedir. Artmış oksidatif stresin pulmoner arter basıncı yükselmesinin nedeni mi sonucu mu olduğunun ispatlanabilmesi için daha çok sayıda olgu katılımlı çalışmalar gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Crosswhite P, Sun Z.J. Nitric oxide, oxidative stress and inflammation in pulmonary arterial hypertension. *Hypertens* 2010;28:201-12.
2. Budhiraja R, Tuder RM, Hassoun PM. Endothelial dysfunction in pulmonaryhypertension. *Circulation* 2004;109:159-65
3. Demarco VG, Whaley-Connell AT, Sowers JR, Habibi J, Dellsperger KC. Contribution of oxidative stress to pulmonary arterial hypertension. *World J Cardiol* 2010;2:316-24.
4. Morrell N, Adnot S, Archer S, Dupuis J, Jones P, MacLean MR, et al. Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:20–31.
5. Tang WL, Guo H, Yang J, Chen B, Wang X. Suppression of tissue inhibitors of metalloproteinases may reverse severe pulmonary arterial hypertension. *Cytotherapy* 2011;13:499-502.
6. Lepetit H, Eddahibi S, Fadel E, Frisdal E, Munaut C, Noel A et al. Smooth muscle cell matrix metalloproteinases in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2005;25:834-42.
7. Archer S, Rich S. Primary pulmonary hypertension: a vascular biology and translational research “Work in progress”. *Circulation* 2000;102:2781–91.
8. Özcan Ö, Gültepe M, İpçioğlu OM, Bolat B, Kayadibi H. Prolidazın Mutlak Aktivitesini Değerlendirmede Fotometrik Enzim Aktivitesi Ölçüm Metodunun Optimizasyonu. *Türk Biyokimya Dergisi* 2007;32:12–6.
9. Palka JA, Phang JM. Prolidase activity in fibroblasts is regulated by interaction of extracellular matrix with cell surface integrin receptors. *J Cell Biochem* 1997; 67:166–75.
10. Rabus M, Demirbag R, Yildiz A, Tezcan O, Yılmaz R, Ocak AR, et al. Association of prolidase activity, oxidative parameters, and presence of atrial fibrillation in patients with mitral stenosis. *Arch Med Res* 2008;39:519-24.
11. Yildiz A, Demirbag R, Yılmaz R, Gur M, Altıparmak İH, Akyol S, ve ark. The association of serum prolidase activity with the presence and severity of coronary artery disease. *Coron Artery Dis* 2008;19:319-25.
12. Demirbag R, Yildiz A, Gur M, Yılmaz R, Elçi K, Aksoy N. Serum prolidase activity in patients with hypertension and its relation with left ventricular hypertrophy. *Clin Biochem* 2007;40:1020-5.
13. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001;54:176-86.

14. Janos Z, Krishnamurti D. Oxidative Stress and Disease 10: Nutrients and cell signaling. Taylor & Francis, 2005: Önsöz.
15. Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2003;91:7-11.
16. Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Kocyigit A, Celik H, Guzel S, et al. Lymphocyte DNA damage in patients with acute coronary syndrome and its relationship with severity of acute coronary syndrome. *Mutat Res* 2005;578:298-307.
17. Van Hardeveld C, Paulus WJ, Simonides WS. Right-ventricular failure is associated with increased mitochondrial complex II activity and production of reactive oxygen species. *Cardiovasc Res* 2007;75:770-81.
18. Redout EM, van der Toorn A, Zuidwijk MJ, van de Kolk CW, van Echteld CJ, Musters RJ, et al. Antioxidant treatment attenuates pulmonary arterial hypertension-induced heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010;298:1038-47.
19. Weiland JE, Davis WB, Holter JF, Mohammed JR, Dorinsky PM, Gadek JE. Lung neutrophils in the adult respiratory distress syndrome. Clinical and pathophysiologic significance. *Am Rev Respir Dis* 1986;133:218-25.
20. Adkins WK, Taylor AE. Role of xanthine oxidase and neutrophils in ischemia-reperfusion injury in rabbit lung. *J Appl Physiol* 1990;69:2012-8.
21. DeMarco VG, Habibi J, Whaley-Connell AT, Schneider RI, Heller RL, Bosanquet JP, et al. Oxidative stress contributes to pulmonary hypertension in the transgenic (mRen2)²⁷ rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:2659-68
22. Bowers R, Cool C, Murphy RC, Tudor RM, Hopken MW, Flores SC, et al. Oxidative stress in severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:764-9.
23. Chin KM, Rubin LJ. Pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1527-38.
24. Grossman W, Braunwald E: Pulmonary hypertension. In: Braunwald E ed. *Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine* 3rd ed. W: B: Saunders company 1997; p:780-806.
25. Hatano S, Strasser T. World Health Organization 1975. Primary pulmonary hypertension. Geneva: WHO; 1975.
26. D'Alonzo GE, Barst RJ, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, et al. Survival in patients with primary pulmonary hypertension. Results from a national prospective registry. *Ann Intern Med* 1991;115:343-9.
27. Kovacs G, Berghold A, Scheidl S, Olschewski H. Pulmonary arterial pressure during rest and exercise in healthy subjects. A systematic review. *Eur Respir J* 2009;doi: 10.1183/09031936.00145608.

28. Naeije R, Melot C, Niset G, Delcroix M, Wagner PD. Mechanisms of improved arterial oxygenation after peripheral chemoreceptor stimulation during hypoxic exercise. *J Appl Physiol* 1993;74:1666–71.
29. Peacock AJ, Murphy NF, McMurray JJV, Caballero L, Stewart S. An epidemiological study of pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2007;30:104–9.
30. Gabbay E, Yeow W, Playford D. Pulmonary arterial hypertension (PAH) is an uncommon cause of pulmonary Hypertension (PH) in an unselected population: the Armadale echocardiography study. *Am J Resp Crit Care Med* 2007;175:713.
31. Humbert M, Sitbon O, Chaouat A, Bertocchi M, Habib G, Gressin V, et al. Pulmonary arterial hypertension in France: results from a national registry. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:1023–30.
32. Ghio S, Gavazzi A, Campana C, Inserra C, Klersy C, Sebastiani R, et al. Independent and additive prognostic value of right ventricular systolic function and pulmonary artery pressure in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:183–8.
33. Oudiz RJ. Pulmonary hypertension associated with left-sided heart disease. *Clin Chest Med* 2007;28:233–41.
34. Vahanian A, Baumgartner H, Bax J, Butchart E, Dion R, Filippatos G, et al. Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology; ESC Committee for Practice Guidelines. Guidelines on the management of valvular heart disease: The Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007;28:230–68.
35. Chaouat A, Bugnet AS, Kadaoui N, Schott R, Enache I, Ducolone A, et al. Severe pulmonary hypertension and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:189–94.
36. Lettieri CJ, Nathan SD, Barnett SD, Ahmad S, Shorr AF. Prevalence and outcomes of pulmonary arterial hypertension in advanced idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* 2006;129:746–52.
37. Cottin V, Nunes H, Brillet PY, Delaval P, Devouassoux G, Tillie-Leblond I, et al. Combined pulmonary fibrosis and emphysema: a distinct underrecognised entity. *Eur Respir J* 2005;26:586–93.
38. Pengo V, Lensing AW, Prins MH, Marchiori A, Davidson BL, Tiozzo F, et al. Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after pulmonary embolism. *N Engl J Med* 2004;350:2257–64.
39. Simonneau G, Galie` N, Rubin LJ, Langleben D, Seeger W, Domenighetti G, et al. Clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:5–12.
40. Simonneau G, Robbins I, Beghetti M, Channick RN, Delcroix M, Denton CP, Elliott CG, Gaine S, Gladwin MT, Jing ZC, Krowka MJ, Langleben D, Nakanishi N, Souza R. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:43–54.

41. Pietra GG, Capron F, Stewart S, Leone O, Humbert M, Robbins IM, et al. Pathologic assessment of vasculopathies in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:25–32.
42. Tuder RM, Abman SH, Braun T, Capron F, Stevens T, et al. Pulmonary circulation: development and pathology. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:3–9.
43. Fedullo PF, Auger WR, Kerr KM, Rubin LJ. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2001;345:1465–72.
44. Galie N, Kim NHS. Pulmonary microvascular disease in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:571–6.
45. Humbert M, Morrell NW, Archer SL, Stenmark KR, MacLean MR, Lang IM, et al. Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:13–24.
46. Morrell N, Adnot S, Archer S, Dupuis J, Jones P, MacLean MR, et al. Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54:20–31.
47. Hassoun PM, Mouthon L, Barbera JA, Eddahibi S, Flores SC, Grimminger F, et al. Inflammation, growth factors, and pulmonary vascular remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:10–9.
48. Delgado JF, Conde E, Sanchez V, Lopez-Rios F, Gomez-Sanchez MA, Escribano P, et al. Pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension due to chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2005;7:1011–6.
49. Lang IM. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension—not so rare after all. *N Engl J Med* 2004;350:2236–8.
50. Rich S, Dantzker DR, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, et al. Primary pulmonary hypertension. A national prospective study. *Ann Intern Med* 1987;107:216–23.
51. Tongers J, Schwerdtfeger B, Klein G, Kempf T, Schaefer A, Knapp JM, et al. Incidence and clinical relevance of supraventricular tachyarrhythmias in pulmonary hypertension. *Am Heart J* 2007;153:127–32.
52. Fisher MR, Forfia PR, Chamera E, Houston-Harris T, Champion HC, Girgis RE, et al. Accuracy of Doppler echocardiography in the hemodynamic assessment of pulmonary hypertension. *Am J Resp Crit Care Med* 2009;179:615–21.
53. Paulus WJ, Tschope C, Sanderson JE, Rusconi C, Flachskampf FA, Rademakers FE, et al. How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007;28:2539–50.
54. Tunariu N, Gibbs SJR, Win Z, Gin-Sing W, Graham A, Gishen P. Ventilation-perfusion scintigraphy is more sensitive than multidetector CTPA in detecting chronic thromboembolic

- pulmonary disease as a treatable cause of pulmonary hypertension. *J Nucl Med* 2007;48:680–4.
55. Resten A, Maitre S, Humbert M, Rabiller A, Sitbon O, Capron F, et al. Pulmonary hypertension: CT of the chest in pulmonary venoocclusive disease. *Am J Roentgenol* 2004;183:65–70.
56. Marcus JT, Gan CT, Zwanenburg JJ, Boonstra A, Allaart CP, Goette MJW, et al. Interventricular mechanical asynchrony in pulmonary arterial hypertension: left-to-right delay in peak shortening is related to right ventricular overload and left ventricular underfilling. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:750–7.
57. Hoeper MM, Lee SH, Voswinckel R, Palazzini M, Jais X, Marinelli A, et al. Complications of right heart catheterization procedures in patients with pulmonary hypertension in experienced centers. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2546–52.
58. Paulus WJ, Tschope C, Sanderson JE, Rusconi C, Flachskampf FA, Rademakers FE, et al. How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007;28:2539–50.
59. Sitbon O, Humbert M, Jais X, Ioos V, Hamid AM, Provencher S, et al. Long-term response to calcium channel blockers in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2005;111:3105–11.
60. Galie N, Ussia G, Passarelli P, Parlangeli R, Branzi A, Magnani B. Role of pharmacologic tests in the treatment of primary pulmonary hypertension. *Am J Cardiol* 1995;75:55–62.
61. *European Heart Journal* (2009) 30, 2493–2537 doi:10.1093/eurheartj/ehp297
62. McLaughlin VV, Presberg KW, Doyle RL, Abman SH, McCrory DC, Fortin T, et al. Prognosis of pulmonary arterial hypertension ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2004;126:78–92.
63. Forfia PR, Fisher MR, Mathai SC, Houston-Harris T, Hemnes AR, Borlaug BA, Chamera E, Corretti MC, Champion HC, Abraham TP, Girgis RE, Hassoun PM. Tricuspid annular displacement predicts survival in pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:1034–41.
64. Miyamoto S, Nagaya N, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F, Fujita M, et al. Clinical correlates and prognostic significance of six-minute walk test in patients with primary pulmonary hypertension. Comparison with cardiopulmonary exercise testing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:487–92.
65. Sitbon O, Humbert M, Nunes H, Parent F, Garcia G, Herve P, et al. Long-term intravenous epoprostenol infusion in primary pulmonary hypertension: prognostic factors and survival. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:780–8.

66. Paciocco G, Martinez F, Bossone E, Pielsticker E, Gillespie B, Rubenfire M. Oxygen desaturation on the six-minute walk test and mortality in untreated primary pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2001;17:647–52.
67. Wensel R, Opitz CF, Anker SD, Winkler J, Hoffken G, Kleber FX, et al. Assessment of survival in patients with primary pulmonary hypertension: importance of cardiopulmonary exercise testing. *Circulation* 2002;106:319–24.
68. Voelkel MA, Wynne KM, Badesch DB, Groves BM, Voelkel NF. Hyperuricemia in severe pulmonary hypertension. *Chest* 2000;117:19–24.
69. Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F, et al. Plasma brain natriuretic peptide as a prognostic indicator in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 2000;102:865–70.
70. Torbicki A, Kurzyna M, Kuca P, Fijalkowska A, Sikora J, Florczyk M, et al. Detectable serum cardiac troponin T as a marker of poor prognosis among patients with chronic precapillary pulmonary hypertension. *Circulation* 2003;108:844–8.
71. Galie N, Manes A, Negro L, Palazzini M, Bacchi Reggiani ML, et al. A meta-analysis of randomized controlled trials in pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J* 2009;30:394–403.
72. Loewe B, Graefe K, Ufer C, Kroenke K, Gruening E, Herzog W, et al. Anxiety and depression in patients with pulmonary hypertension. *Psychosom Med* 2004;66: 831–6.
73. Mereles D, Ehlken N, Kreuzer S, Ghofrani S, Hoeper MM, Halank M, et al. Exercise and respiratory training improve exercise capacity and quality of life in patients with severe chronic pulmonary hypertension. *Circulation* 2006;114:1482–9.
74. The Task Force on the Management of Cardiovascular Diseases During Pregnancy of the European Society of Cardiology. Expert consensus document on management of cardiovascular diseases during pregnancy. *Eur Heart J* 2003;24:761–81.
75. Bedard E, Dimopoulos K, Gatzoulis MA. Has there been any progress made on pregnancy outcomes among women with pulmonary arterial hypertension? *Eur Heart J* 2009;30:256–65.
76. Jones DA, Benjamin CW, Linseman DA. Activation of thromboxane and prostacyclin receptors elicits opposing effects on vascular smooth muscle cell growth and mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Mol Pharmacol* 1995;48:890–96.
77. Olschewski H, Simonneau G, Galie N, Higenbottam T, Naeije R, Rubin LJ, et al. For the AIR Study Group. Inhaled iloprost in severe pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2002;347:322–9.
78. Simonneau G, Barst RJ, Galie N, Naeije R, Rich S, Bourge RC, et al. Continuous subcutaneous infusion of treprostinil, a prostacyclin analogue, in patients with pulmonary arterial hypertension. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:800–4.

79. Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, et al. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1993;328:1732–9.
80. Channick RN, Simonneau G, Sitbon O, Robbins IM, Frost A, Tapson VF, et al. Effects of the dual endothelin-receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary hypertension: a randomised placebo-controlled study. *Lancet* 2001;358:1119–23.
81. Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, Galie N, Black CM, Keogh A, et al. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2002;346:896–903.
82. Humbert M, Barst RJ, Robbins IM, Channick RN, Galie N, Boonstra A, et al. Combination of bosentan with epoprostenol in pulmonary arterial hypertension: BREATHE-2. *Eur Respir J* 2004;24:353–9.
83. Galie` N, Rubin LJ, Hoeper M, Jansa P, Al-Hiti H, Meyer GMB, et al. Treatment of patients with mildly symptomatic pulmonary arterial hypertension with bosentan (EARLY study): a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2008;371:2093–100.
84. Galie N, Beghetti M, Gatzoulis MA, Granton J, Berger RMF, Lauer A, et al. for the Bosentan Randomized Trial of Endothelin Antagonist Therapy. Bosentan therapy in patients with Eisenmenger syndrome: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Circulation* 2006;114: 48–54.
85. McLaughlin VV, Sitbon O, Badesch DB, Barst RJ, Black C, Galie N, et al. Survival with first-line bosentan in patients with primary pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2005;25:244–9.
86. Benza RL, Barst RJ, Galie N, Frost A, Girgis RE, Highland KB, et al. Sitaxsentan for the treatment of pulmonary arterial hypertension: a one year, prospective, open label, observation of outcome and survival. *Chest* 2008;134:775–82.
87. Galie N, Olschewski H, Oudiz RJ, Torres F, Frost A, Ghofrani HA, et al. Ambrisentan for the treatment of pulmonary arterial hypertension. Results of the ambrisentan in pulmonary arterial hypertension, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter, efficacy (ARIES) study 1 and 2. *Circulation* 2008;117:3010–9.
88. Wharton J, Strange JW, Moller GMO, Growcott EJ, Ren X, Franklyn AP, et al. Antiproliferative effects of phosphodiesterase type 5 inhibition in human pulmonary artery cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:105–13.
89. Tantini B, Manes A, Fiumana E, Pignatti C, Guarnieri G, Zannoli R, et al. Antiproliferative effect of sildenafil on human pulmonary artery smooth muscle cells. *Basic Res Cardiol* 2005;100:131–8.
90. Bhatia S, Frantz RP, Severson CJ, Durst LA, McGoon MD. Immediate and longterm hemodynamic and clinical effects of sildenafil in patients with pulmonary arterial hypertension receiving vasodilator therapy. *Mayo Clin Proc* 2003;78:1207–13.

91. Michelakis ED, Tymchak W, Noga M, Webster L, Wu XC, Lien D, et al. Long-term treatment with oral sildenafil is safe and improves functional capacity and hemodynamics in patients with pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2003;108:2066–9.
92. Ghofrani HA, Schermuly RT, Rose F, Wiedemann R, Kohstall MG, Kreckel A, et al. Sildenafil for long-term treatment of nonoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:1139–41.
93. Galie N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D, et al. the Sildenafil Use in Pulmonary Arterial Hypertension (SUPER) Study Group. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *New Engl J Med* 2005;353:2148–57.
94. Galie` N, Brundage B, Ghofrani A, Oudiz R, Simonneau G, Safdar Z, Shapiro et al. Tadalafil therapy for pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2009;119:2894–903.
95. Kurzyna M, Dabrowski M, Bielecki D, Fijalkowska A, Pruszczyk P, Opolski G, et al. Atrial septostomy in treatment of end-stage right heart failure in patients with pulmonary hypertension. *Chest* 2007;131:977–83.
96. McLaughlin VV, Shillington A, Rich S. Survival in primary pulmonary hypertension: the impact of epoprostenol therapy. *Circulation* 2002;106:1477–82.
97. Barst RJ, Gibbs JS, Ghofrani HA, Hoeper MM, McLaughlin VV, Rubin LJ, et al. Updated evidence-based treatment algorithm in pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:78–84.
98. Weitzenblum E, Sautegeau A, Ehrhart M, Mammosser M, Pelletier A. Long-term oxygen therapy can reverse the progression of pulmonary hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1985;131:493–8.
99. Jais X, D'Armini AM, Jansa P, Torbicki A, Delcroix M, Ghofrani HA, et al. Bosentan for treatment of inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension: BENEFiT (Bosentan Effects in iNoperable Forms of chronIc Thromboembolic pulmonary hypertension), a randomized, placebocontrolled trial. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:2127–34.
100. Cros CE, Halliwell B, Borish ET. Oxygen radicals and human disease. *J Annals Int Med* 1997;107:526-45.
101. Meister A. Glutathione Ascorbate and cellcycle regulation. *FEBBS Letters* 1994; p:1-4.
102. Ruzyllo W, Ford I, Tendera M. Antianginal and antiischemic effects of the If current inhibitor ivabradine compared to amlodipine as monotherapies in patients vwith chronic stable angina. *Eur Heart J* 2004;25:138.
103. Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants. *Nutrition* 2000;16:716-18.
104. Fridovich I. Oxygen toxicity: a radical explanation. *J Exp Biol* 1998;201:1203-9.

105. Smith C, Marks AD, Lieberman M. Oksijen toksisitesi ve serbest radikal örsentisi. Bölüm 24. Marks' Temel Tıbbi Biyokimyası Klinik Yaklaşım Kitabında. İnal ME, Atik U, Aksoy N, Haşimi A (çeviri editörleri). İkinci baskı. Güneş Tıp Kitabevleri 2007; p:439-57.
106. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev* 1994;52:253-65.
107. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* 2006;97:1634-58.
108. Cross C, Halliwell B, Borish E, Pryor Wa, Ames B, Saul R, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987;107:526-45.
109. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:44-84.
110. Vincent AM, Russel JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine Reviews* 2004;25: 612-8.
111. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 1995;64:97-112.
112. McCord JM, Fridovich I. The biology and pathology of oxygen radicals. *Ann Intern Med* 1978;89:122-7.
113. Sözmén EY. Yaşlanma biyokimyası. İnsan Biyokimyası Kitabında. Onat T, Emerk K, Sözmén EY (editörler). Palme Yayıncılık 2002; p:665-74.
114. Granger DN, Stokes KY, Shigematsu T, Cerwinka WH, Tailor A, Krieglstein CF. Splanchnic ischaemia-reperfusion injury: mechanistic insights provided by mutant mice. *Acta Physiol Scand* 2001;173:83-91.
115. Ward A, McBurney A, Lunec J. Evidence for the involvement of oxygen-derived free radicals in ischaemia-reperfusion injury. *Free Radic Res* 1994;20:21-8.
116. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993;49:481-93.
117. Misra HP, Fridovich I. The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin. *J Biol Chem* 1972;247:6960-2.
118. Gutteridge J. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; p:1819-28.
119. Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *J. Amino Acids* 2003;25:207-18.
120. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001;54:176-86.

121. Dizdarođlu M. Mechansms of oxidative DNA damage; lesion and their measurement. Kluver academic/plenum publihers 1999;302:67-87.
122. Dizdarođlu M. Chemical Determination of Free Radical-Induced Damage to DNA. J Free Radical Biology & Medicine 1993;61:225-42,.
123. Pryor WA, Houk KN, Foote CS, Fukuto JM, Ignarro LJ, Squadrito GL, et al. Free radical biology and medicine: it's a gas, man! Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2006;291:491-511.
124. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi 2002;33:110-8.
125. DeCoursey TE, Ligeti E. Regulation and termination of NADPH oxidase activity. Cell Mol Life Sci 2005;62:2173-93.
126. Myatt L, Rosenfield RB, Eis ALW.: Nitrotyrosine residues in placenta: Evidence of peroxynitrite formation and action. J. Hypertension 1996;28:488-93.
127. Ghafourifar P, Cadenas E. Mitochondrial nitric oxide synthase. Trends Pharmacol Sci 2005;26:190-5.
128. Chiueh CC. Neuroprotective properties of nitric oxide. Ann N Y Acad Sci 1999;890:301-11.
129. Moncada S, Palmer RMJ, Higs EA: Nitric oxide. Physiology, patophysiology and pharmacology. J.Pharmacol Rewiev 1991;43:109-37.
130. Squadrito GL, Pryor WA. Oxidative chemistry of nitric oxide: the roles of superoxide, peroxynitrite, and carbon dioxide. Free Radic Biol Med 1998;25:392-403.
131. Canbas A. Gıda Bilimi ve Teknolojisi. Ziraat Fakültesi Yayını No:78, 1983; Ç. Ü.Adana.
132. Sies H, De Groot H. Role of Reactive Oxigen Species in Toxicity. J Toxicology 1992;64:547-51.
133. Stevenson MA, Pollock SS, Coleman CN, Calderwood SK. J Cancer Res 1994;54:12-5.
134. Uysal M. Serbest radikaller ve oksidatif stres. Biyokimya Kitabında. Gürdöl F, Ademođlu E (editörler). Nobel Tıp Kitapevleri. Birinci baskı 2006; p:829-835.
135. Ball S, Weindruch R, Walford L. Antioxidants and immun response. J Free radicals, Aging and Dejenerative Diseases 1986; p:427-56.
136. Braughler M, Chose L, Pregenter F. Oxidation of ferraus iron during peroxidation of lipid substrates. J Biochemica Biohysica Acta 1987;921:457-64.
137. Gülbahar Ö. Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi. Türk Geriatri Dergisi 2007;101:43-8.

138. Mccord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993;26:351-7
139. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals, *Jpn J Physiol* 1996;46:15-32.
140. Winrow VR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR. Free radicals in Inflammation. Second messengers and mediators of tissue destruction. *British Medical Bulletin* 1993; p:506-22.
- 141 . Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J* 2003;17:1195-214.
- 142 .Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res* 2004;567:1-61.
- 143 .Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci P. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radic Biol Med* 2005;39:841-52.
144. Seven A, İnci F, Civelek S, Burcak G, inci E, Korkut N: Larenks kanserli olgularda lipid peroksidasyon ve antioksidan statu gostergerlerinin dokuda incelenmesi. *Turk ORL arsivi* 1998;36:33-6.
145. Percival M. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights* 1998;31:1-4.
146. Ceballos L, Triver JM, Nicole A. Age corralated modifications of cupper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activies in human erythrocytes. *J Clin Chem* 1992;36:66-70.
147. Halliwell B. Vitamin C and genomic stability. *Mutat Res* 2001;475:29-35.
- 148 .Özer NK. Vitaminler. İnsan Biyokimyası Kitabında. Onat T, Emerk K, Sözmen EY (editörler). Palme Yayıncılık 2002; p:513-25.
- 149 .Burton GW. Antioxidant action of carotenoids. *J Nutr* 1989;119:109-11.
150. Harma M, Harma M, Erel O. Oxidative stress in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:656-7.
151. Yanık M, Erel O, Kati M. The relationship between potency of oxidative stres and severity of depression. *Acta Neuropsychiatr* 2004;16:200-3.
152. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, et al: Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: Critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med* 2000;29:1106-14.
153. Erel O: A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004;37:112-9.

154. Demirbag R, Yilmaz R, Erel O, Gultekin U, Asci D, Elbasan Z. The relationship between potency of oxidative stress and severity of dilated cardiomyopathy. *Can J Cardiol* 2005;21:851-5.
155. Nedeljkovic ZS, Gokce N, Loscalzo J. Mechanisms of oxidative stress and vascular dysfunction. *Postgrad Med J* 2003;79:195-200.
156. Kunsch C, Medford RM. Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circ Res* 1999;85:753-66.
157. Piatti P, Monti LD. Insulin resistance, hyperleptinemia and endothelial dysfunction in coronary restenosis. *Curr Opin Pharmacol* 2005;5:160-4.
158. Irani K. Oxidant signaling in vascular cell growth, death, and survival: a review of the roles of reactive oxygen species in smooth muscle and endothelial cell mitogenic and apoptotic signaling. *Circ Res* 2000;87:179-83.
159. Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2003;91:7-11.
160. Witztum JL, Horkko S. The role of oxidized LDL in atherogenesis: immunological response and antiphospholipid antibodies. *Ann N Y Acad Sci* 1997;811:88-99.
161. Heinecke JW. Mechanisms of oxidative damage of low density lipoprotein in human atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1997;8:268-74.
162. Folcik VA, Nivar-Aristy RA, Krajewski LP, Cathcart MK. Lipoxygenase contributes to the oxidation of lipids in human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1995;96:504-10.
163. Salonen JT, Yla-Herttuala S, Yamamoto R, Butler S, Korpela H, Salonen R, et al. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet* 1992;339:883-7.
164. West N, Guzik T, Black E, Channon K. Enhanced superoxide production in experimental venous bypass graft intimal hyperplasia: role of NAD(P)H oxidase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:189-94.
165. Rathaus M, Bernheim J. Oxygen species in the microvascular environment: regulation of vascular tone and the development of hypertension. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:216-21.
166. Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griendling KK, et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest* 1996;97:1916-23.
167. Schnackenberg CG, Welch WJ, Wilcox CS. Normalization of blood pressure and renal vascular resistance in SHR with a membrane-permeable superoxide dismutase mimetic: role of nitric oxide. *Hypertension* 1998;32:59-64.

168. Jun T, Ke-yan F, Catalano M. Increased superoxide anion production in humans: a possible mechanism for the pathogenesis of hypertension. *J Hum Hypertens* 1996;10:305-9.
169. Lenda DM, Sauls BA, Boegehold MA. Reactive oxygen species may contribute to reduced endothelium-dependent dilation in rats fed high salt. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279:7-14.
170. Hill MF, Singal PK. Antioxidant and oxidative stress changes during heart failure subsequent to myocardial infarction in rats. *Am J Pathol* 1996;148:291-300.
171. Khaper N, Singal PK. Effects of afterload-reducing drugs on pathogenesis of antioxidant changes and congestive heart failure in rats. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:856-61.
172. Singal PK, Khaper N, Palace V, Kumar D. The role of oxidative stress in the genesis of heart disease. *Cardiovasc Res* 1998;40:426-32.
173. Benjamin IJ, Schneider MD. Learning from failure: congestive heart failure in the postgenomic age. *J Clin Invest* 2005;115:495-9.
174. Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest* 2005;115:500-8.
175. Kaul N, Siveski-Iliskovic N, Hill M, Slezak J, Singal P. Free radicals and the heart. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1993;30:55-67.
176. Lucchesi BR. Modulation of leukocyte-mediated myocardial reperfusion injury. *Annu Rev Physiol* 1990;52:561-76.
177. Zweier JL, Kuppusamy P, Lutty GA. Measurement of endothelial cell free radical generation: evidence for a central mechanism of free radical injury in postischemic tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:4046-50.
178. Flitter WD. Free radicals and myocardial reperfusion injury. *Br Med Bull* 1993;49:545-55.
179. Kurien, B., Patel, N.C., Porter, A.C., D'Souza, A., Miller, D., Matsumoto, H, et al. Prolidase Deficiency and The Biochemical Assays Used in Its Diagnosis, *Analytical Biochemistry* 2006;349:165–75.
180. Davis NC, Smith EL: Purification and Some Properties of Prolidase of Swine Kidney, *J Biol Chem* 1957;244:261-75,
181. Bornstein P, *Ann REV Biochem* 1974;43:567-603,
182. Yaron A, Naider F. Proline-Dependent structural and biological properties of peptides and proteins. *Crit. Rev. Biochem Mol Biol* 28; p:31-81
183. Yüreğir G. : *Temel Biyokimya I. 3. Baskı, Çukurova. Üniv. Tıp fakültesi Yayınları, Adana, 1988; p:152-3*

184. Scriver CR. : Disorder of proline and hydroxyproline Metabolism. In: the metabolic Basis of Inherited Disease (4th Ed.) STANBURY, J. B. Et all 1978; p:336-61.
185. Onat T, Emerk K, Sözman EY. İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara, 2002
186. Phang JM., Yeh GC., Scriver. Disorders of Proline and Hydroxyproline Metabolism. In: The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease, (7th Ed) Scriver RC., Bland et al., Sly WS., (Eds) Mc Graw Hill, Montreal 1995; p:1125-41.
187. Mock WL, Zhuang H. : Chemical Modification Locates Guanidinyl and Carboxylate Groups Within The Active site of prolydase. Biochem biophys Res Com 1991;180:401-6.
188. Endo F., Tanoue A.: Primary Structure and Gene Localization of Human Prolidase. J Biol Chem 1989;264:4476-81.
189. Ohhashi T, Ohno T : Characterization of prolydase I and II From erythrocytes of a control, a patient with prolydase deficiency and her Mother. Clin Chim Acta 1990;187:1-10.
190. Sugahara K, Ohno T : The Use of liquid chromatography Mass spectrometry for the identification and Quantification of Urinary immunodipeptidase in prolydase deficiency . Eur J Clin-Chem Clin Biochem 1993;31:317-22.
191. Cesson C, Myara I. : Only prolydase I Activity is present in human plasma. Int J Biochem 1992;24:427-32.
192. Boright A, Scriver CR: Prolidase Deficiency: Biochemical Classification of Alleles Am J Hum Genet 1989;44:731-40.
193. Milligan A, Brown G. : Prolidase Deficiency : a Case Report and Literature Review. Brit J Dermatol 1989;121:405-9.
194. Myara I, Myara A. : plasma prolydase activity: A Possible Index of Collagen Catabolism in Chronic Liver Disease. Clin Chem 1984;30:211-5.
195. Myara I, Cosson C., Moatti, N., Lemonnier, A. : Human kidney prolydase-purification, preincubation properties and immunological reactivity. Int J Biochem 1994;26:207-14.
196. Berardesca E, Fidell D : Blood transfusions in the therapy of case of prolydase deficiency. Brit J Dermatol 1992;126:193-5.
197. Atara J, Umemura S, Yamamoto Y, Hagiya M, Nohara N: Prolidase deficiency: Its dermatological manifestations and some additional biochemical studies. Arch Dermatol 1979;115:62.
198. Endo F, Matsuda I : Human erythrocyte Prolidase and prolydase deficiency. Pediatr Res 1982;16:227-31.
199. Powell GF, Rasco MA, Maniscalco RM: A prolydase deficiency in man with iminopeptiduria. Metabolism 1974;23:505.

200. Hein SSchaper J. The extracellular matrix in normal and diseased myocardium. *J Nucl Cardiol* 2001;8:188-96.
201. Caufield JBBorg TK. The collagen network of the heart. *Lab Invest* 1979;40:364-72.
202. Hardenbergh PHMunley MTBentel GCet al. Cardiac perfusion changes in patients treated for breast cancer with radiation therapy and doxorubicin: preliminary results. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 2001;49:1023-8.
203. Shultz-Hector S. Radiation-induced heart disease: review of experimental data on dose response and pathogenesis. *Int J Radiat* 1992;61:149-60.
204. Aksoy N. Celik H. Selek S. Guzel S.Aslan M. Elci K. *Turk J Biochem* 2005;30:1-172.
205. Celik H, Aksoy N, Aslan M, Naligul Y, Barut S. *Turk J Biochem* 2005;29:1-172.
206. Gurdol F, Genc S, Yalcın O, Gultepe M: The presence of prolidase activity in amniotic fluid and its evaluation as a maturity test. *Biol Neonate* 1995;67:34.
207. Zuyderhoudtf. M.C.BrugmanA. M.SmithJ. J.H.JongL. Plasma prolidase in the rat; noindex of liver fibrosis. *Clinical Chemistry* 1985;31:4.
208. OonoT.FujiwaraY.YoshiokaT.ArataJ. Prolidase activity in chronic wound and blister fluids. *J Dermatol* 1997;24:626-9.
209. Morrell NW, Adnot S, Archer SL, Dupuis J, Jones PL, MacLean MR, et al. Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:20-31.
210. Steinhorn RH, Albert G, Swartz DD, Russell JA, Levine CR, Davis JM. Recombinant human superoxide dismutase enhances the effect of inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:834–9.
211. Nishimura T, Vaszar LT, Faul JL, Zhao G, Berry GJ, Shi L, et al. Simvastatin rescues rats from fatal pulmonary hypertension by inducing apoptosis of neointimal smooth muscle cells. *Circulation* 2003;108:1640-5
212. Murata T, Kinoshita K, Hori M, Kuwahara M, Tsubone H, Karaki H. Statin protects endothelial nitric oxide synthase activity in hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:2335-42
213. Cowan KN, Jones PL, Rabinovitch M. Elastase and matrix metalloproteinase inhibitors induce regression, and tenascin-C antisense prevents progression, of vascular disease. *J Clin Invest* 2000;105:21–34.