

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

**HİPERTANSİYONLU HASTALARDA KAN
PROLİDAZ AKTİVİTELERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kevser ELÇİ

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

**ŞANLIURFA
2007**

TEŞEKKÜR

Eđitimim boyunca yakın ilgi ve alakasını benden esirgemeyen, gúler yúzlú saygıdeğer danışman hocam sayın Doç.Dr.Nurten AKSOY'a, saygıdeğer hocalarım: Biyokimya Anabilimdalı Başkanı Prof.Dr.Özcan EREL, Prof.Dr.Abdurrahim KOÇYİĞİT ve Doç.Dr.şahin AKSOY'a, çalışmalarımda bana yardımcı olan sayın Doç.Dr.Recep DEMİRBAĞ'a, Öğr.Gör.Hakim ÇELİK, Arř.Gör.Dr.Ali Rıza OCAK, alışma arkadaşlarım Necla ÇELİK ve Abdullah TAřKIN'a, her türlü yardımı için dostum Niyet COřAR'a ve arkadaşlarım Mustafa GÖÇEBE ve Nebiye DONİ'ye, benden desteğini esirgemeyen eřim Sedat ELÇİ'ye, hayatımın neře kaynağı oğlum Sıtkı Eren'e, annelerin en iyisi annem Belkız GÖZÜBENLİ'ye, vefatı nedeniyle bu teşekkürümü okuyamayacak ama tezimin bitmesine en çok o sevinecekti, canım babama M.Kemal GÖZÜBENLİ'ye, manevi desteklerini esirgemeyen tüm çevreme ve maddi desteklerini bizden esirgemeyen Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Kurumu HÜBAK'a (proje no:778) sonsuz saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER	Sayfa
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.HİPERTANSİYON.....	3
2.1.1.Hipertansiyonun Tanımı.....	3
2.1.2.Hipertansiyonun Prevelansı.....	4
2.1.3.Hipertansiyonun Sınıflandırması.....	5
2.1.4.Hipertansiyonun Etiyolojisi Ve Etiyolojik Sınıflandırma.....	5
2.1.5.Hipertansiyon Nedenleri.....	6
2.2.PROLİDAZ.....	10
2.2.1.Prolidazın Tanımı.....	10
2.2.2.Prolin.....	10
2.2.3.Prolidazın Yapısı.....	13
2.2.4.İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve Gen Lokalizasyonu.....	14
2.2.5.Prolidazın İzoenzimleri.....	17
2.2.6.Prolidaz İnhibitörleri ve Aktivatörleri.....	19
2.2.7.Prolidazın Kollajen Yapım Ve Yıkımında Önemi.....	19
2.2.8.Prolidaz Aktivite Düzeyinin Ölçülmesinde Kullanılan Yöntemler.....	21
3.MATERYAL –METOD	23
3.1.Gereçler.....	23
3.1.1.Kullanılan Aletler.....	23
3.1.2.Kullanılan Maddeler.....	23
3.2.Yöntem.....	25
3.2.1.Örneklerin Hazırlanması.....	25
3.2.2.Prolidaz Aktivitesi Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar.....	25
3.2.3.Serum Prolidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi.....	25
3.2.4.Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması.....	27
4.BULGULAR	29
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	30
6.KAYNAKLAR	34

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablolar:	Sayfa
Tablo-1: 18 yaş ve üstü erişkinler için kan basıncının sınıflandırılması.....	5
Tablo-2: İnsan prolidaz I ve prolidaz II izoenzimlerinin doku dağılımları (%) (Cosmos ve Myara 1992) (45).....	18
Tablo-3: Prolidaz aktivitesi çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler.....	24
Tablo-4: Hasta ve kontrol gruplarındaki akışkanlıkların ve fiziksel değerlerin karşılaştırılması.....	29
Tablo-5: Hasta ve kontrol gruplarında prolidaz parametreleri.....	29
Şekiller:	Sayfa
Şekil-1: Prolin ve diğer amino asidin yapısal görünümü.....	11
Şekil-2: Memeli kollajeninde bulunan prolin ve hidroksiprolin izomerleri.....	12
Şekil-3: Prolinin metabolik yollarla bağlantısı (Scriver 1978) (35).....	13
Şekil-4: Prolidaz genini içeren kromozom 19 (Endo ve Taloue 1989) (37).....	15
Şekil-5: Prolidaz cDNA 'nın amino asit ve nükleotit dizisi (Endo ve Tanoue 1989) (37).....	16
Şekil-6: Kollajen yıkımında prolidaz ve prolinazın yeri (Myara ve Myara 1984) (49).....	20

Hipertansiyonlu Hastalarda Kan Prolidaz Aktiviteleri

Kevser ELÇİ

Biyokimya Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

Hipertansiyon toplumsal bir sağlık sorunudur. Erken tanı ile kontrol altına alınabilen, geç kalındığında, iskemik kalp hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar gibi ölümcül seyreden komplikasyonlara ya da organ hasarlarına yol açan küçümsenmemesi gereken ciddi bir hastalıktır. Prolidaz kollajen metabolizmasında yer alan spesifik bir iminopeptitdir. Spesifiktir çünkü; amino asitlerin C terminalindeki prolin ve hidroksprolin içeren dipeptidleri yıkan tek enzimdir. Bu nedenle enzim aktivitesindeki artışın bu iki amino asit bakımından oldukça zengin proteinimiz olan kollajenin yapım ve yıkım artışı ile bağlantılı olması beklenilir. Biz çalışmamızda hipertansiyonun kollajen doku üzerindeki etkilerini prolidaz enzim aktivitesini ölçerek belirlemeye çalıştık.

Çalışmada, hipertansif hastaların prolidaz aktiviteleri Chinard metodu ile ölçüldü. Serum prolidaz aktivitesi sağlıklı kontrollerde hipertansiyonlu hastalardan anlamlı olarak daha düşüktür ($p<0,01$). Bu bulgu bize hipertansiyonun kollajen doku hasarına neden olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda prolidazın da bir belirteç niteliği taşıyabileceği düşünülebilir.

Anahtar kelimeler:Hipertansiyon, prolidaz, kollajen

Blood Prolidase Activity Of The Patient With Hypertension

Kevser ELÇİ

Biochemistry Master Thesis

ABSTRACT

Hypertension is a social health problem. It is a serious disease that must not be underestimated causing mortal complications like ischemic heart diseases, cerebrovascular diseases or organ damages. Prolidase is a specific imidodipeptidase involved in collagen degradation. It is specific because prolidase is only enzyme that splits dipeptides with proline or hydroxyproline as their C-terminal amino acids. In our study we tried to determine the effects of the hypertension on collagen tissue with measuring prolidase activity.

In the study prolidase activity of patient was measured with Chinard method. Serum prolidase activity was significantly lower in patients with hypertension than in the healthy controls ($p < 0,01$). This finding suggested that hypertension causes the collagen tissue damage. In this position prolidase can be thought as an indicator.

Key Words: Hypertension, prolidase, collagen

1-GİRİŞ VE AMAÇ

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

Prolidaz hidrolazlar sınıfına ait bir enzim olup prolidaz eksikliği prolinin normal döngüsündeki bozulmayla sonuçlanır ve sonuç olarak toplam prolin eksikliği oluşur. Kollajen yapısındaki amino asitlerin yaklaşık %25'ini prolin ve hidroksiprolin oluşturduğundan yani her 5 amino asitten birini prolin veya hidroksiprolin olmasından dolayı, prolidaz eksikliği kollajenin bulunduğu dokularda anormalliklere sebep olacaktır. Kollajen de vücut proteinlerimizin %30 kadarını oluşturduğundan prolidaz eksikliği insan vücudu için önemlidir. Ayrıca prolidazın prolin veya hidroksiprolin içeren dipeptitleri ve tripeptitleri yıkan tek enzim olması da bu önemi bizim için daha da artırmaktadır.

Vücudumuzda önemli birçok dokunun yapısında yer alan kollajenin döngüsünde prolidaz spesifik bir enzim olduğu için önemi büyüktür. Kollajenin yıkımında ve prolinin kollajen yapımı döngüsüne yeniden katılımında prolidaz aktif görev almaktadır. Kollajen pek çok organ ve dokunun, ekstrasellüler matriksin yapısal bileşeni olması nedeniyle pek çok organ doku patolojisinde de etkilenmektedir.

Damarların duvarlarında genel olarak üç tabaka ayırt edilmektedir: İntima, media ve adventisiya. İntima, endotel, bazal lamina ve subendotel tabakalarından meydana gelir. İntima ile media tabakaları arasında, bilhassa orta çaplı arterlerde açık bir şekilde görülen, membrana elastika interna yani iç elastik zar yer almaktadır. Media tabakasında, farklı tip damarlarda oranları değişmek üzere, düz kas hücreleri, elastik lameller ve kollajen fibriller

bulunmaktadır. Yani damarlarımız büyük ölçüde kollajen doku içermektedir. Bu nedenle damar sistemini etkileyen patolojik durumlarda yapısal bir eleman olarak kollajen proteinin yapım-yıkım ve yeniden yapım döngüsünün de etkilenmesi beklenir.

Kanın vücut damarlarında normal dolaşımının sağlanması için bir basınç gereklidir. Diyastolik ve sistolik olarak iki kategoride incelediğimiz bu basıncın, özellikle sistoliğin, normal sınırlar içerisinde olmasına (80-120 mmHg) normotansiyon, normalden az olmasına (alt sınırın altında) hipotansiyon, fazla olmasına ise (üst sınırın üzerinde) hipertansiyon denir. Normotansiyon sınırları ideal sınırlar olup, hipertansiyon tanısı için iki veya daha fazla muayene sırasında, en az iki ölçümün ortalaması alınmalı ve değerlerin 90-140 mmHg'nın üstünde olması gerekmektedir. Kan basıncı yüksekliği (hipertansiyon) insanların çoğunun yaşamlarının bir sürecinde karşı karşıya kaldıkları önemli ve sık görülen bir sağlık problemidir. Hipertansiyon iyi kontrol edilemediğinde vücuttaki bir çok organın yapı ve fonksiyonunu ciddi şekilde etkileyebilecek komplike bir hastalıktır. 1960'lı yılların sonlarında gerçekleştirilen birçok çalışmada kısmen kontrol edilebilen hipertansiyonun dahi komplikasyon riskini azalttığı ortaya konduktan sonra bu konudaki çalışmalar hız kazanmıştır.

Hipertansiyon, dünyanın tüm coğrafi bölgelerinde görülebilen ve öncelikle erişkin popülasyonu ilgilendiren bir epidemi halini almıştır. Kıtalar ve bölgeler arasında farklar olmakla beraber 2000 yılı itibariyle dünya genelinde 20 yaş üzerinde erişkin nüfusun %26.4'ünün hipertansiyonu vardır. Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması'nın verilerine göre, 2003 yılı itibariyle ülkemizde 18 yaş üzeri erişkin nüfusta hipertansiyon görülme sıklığı %31.8'dir.

Biz bu çalışmamızda bir çok organ ve sistemi etkileyebilen hipertansiyonun kollajen doku üzerindeki etkilerini prolidaz enzim aktivitesini ölçerek belirlemeye çalıştık. Hipertansiyonlu hastalarda kan prolidaz aktivitesindeki değişiklikleri ölçerek, hipertansiyon ile prolidaz enzimi arasındaki ilişkiye açıklık getirmeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.HİPERTANSİYON

2.1.1.Hipertansiyonun Tanımı

Kan basıncı çok değişken olabilen kantitatif bir özelliktir (1-4). Arteriyel kan basıncının normal sayılan sınırların üzerine çıkmasına hipertansiyon denir. Kan basıncı genellikle aşağıdaki formülle hesaplanır (5).

$$\text{Kan basıncı} = \text{Kardiyak debi} * \text{periferik rezistans}$$

Anormal sayılması gereken kan basıncı düzeyi konusundaki tartışmalar sürmektedir. Normal kan basıncının kardiyovasküler komplikasyonların oluşacağı spesifik bir üst sınırı yoktur. Bu nedenle, hipertansiyonun tanımı görecelidir ama hastanın değerlendirilmesi ve tedavisinde klinik kullanım için gereklidir. Hipertansiyon, müdahalenin yararlarının maliyetten fazla olduğuna karar verilen kan basıncı düzeyi olarak da tanımlanmıştır (6,7). Esansiyel (primer, idiyopatik) hipertansiyon renovasküler hastalık, böbrek yetmezliği, feokromasitoma ve aldesteronizm gibi sekonder nedenlerin bulunmadığı yüksek kan basıncı olarak tanımlanır ve tüm hipertansiyon nedenlerinin %95'inden sorumludur (8). Bugün sistolik kan basıncının 140 mmHg, diyastolik kan basıncının da 90 mmHg veya üzerinde olması ya da kişinin antihipertansif ilaç kullanıyor olması hipertansiyon olarak tanımlanır (2,3). Sistolik kanbasıncının 130-139 mmHg ve diyastolik kan basıncının 85-89 mmHg arasında olması 'yükseknormal' kan basıncı (prehipertansiyon) olarak tanımlanır. Kan basıncı düzeyleri bu sınırlarda seyreden kişilerde zaman içinde hipertansiyon gelişme riski, daha düşük hipertansiyon değerlerine sahip kişilere göre iki kez daha fazladır (7).

2.1.2. Hipertansiyonun Prevelansı

Hipertansiyon gittikçe önemi artan bir medikal ve halk sağlığı sorunudur. Prevalansı yaşla birlikte artmakta, 60-69 yaş arasında popülasyonun yarısında, 70 yaşının üstünde dörtte üçünde hipertansiyon bulunmaktadır (9)

Dünya çapında yaklaşık olarak 1 milyar kişide hipertansiyon olduğu ve yılda 7,1 milyon kişinin hipertansiyona bağlı olarak öldüğü tahmin edilmektedir (10). NHANES verilerine göre de ABD’de tedavi edilmesi gereken 50 milyon hipertansif hasta bulunmaktadır (11). Ülkemizde de TEKHARF çalışmasının verilerine göre hipertansiyon prevalansı erkeklerde %36.3, kadınlarda %49.1’dir (12).

Son yıllarda hipertansiyonu olduğunun farkında olan, antihipertansif tedavi gören ve kan basıncı kontrol altında olan hasta sayısı artmıştır. Bunun sonucunda koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği ve felç (paralizi) nedeni ile olan ölümler de azalmıştır. Fakat buna rağmen ABD’de hastaların %30’u hipertansiyonu olduğunun farkında değildir. Hipertansif hastaların %40’ından fazlası tedavi altında değildir ve tedavi altındakilerin de üçte biri kontrol altında değildir. Ayrıca koroner arter hastalığı ve felç nedeni ile ölümlerin oranındaki azalma da düşmekte, kalp yetmezliği prevalansı ve kalp yetmezliğine bağlı ölümler de artmaktadır. (9).

Toplumda hipertansiyonun insidansı ile ilgili veriler yetersizdir. Tanımlardaki ve ölçüm tekniklerindeki değişiklikler, farklı toplumlarda hipertansiyonun insidansının karşılaştırmalı olarak incelenmesini engellemiştir. Hipertansiyon insidansı yaşın ilerlemesi ile birlikte keskin bir şekilde artar ve yaşamın erken dönemlerinde erkeklerde kadınlara göre daha yüksek oranlar görülürken, yaşamın geç dönemlerinde bunun tam tersi söz konusu olur (8). Framingham Kalp Çalışması’nın verileri, 5209 denekte, 30 yıllık takip esnasında, kesin hipertansiyonun insidansında eğilimlerin ve insidansın analizine olanak sağlamıştır (13). Hipertansiyon insidansı, 30-39 yaşları arasındaki erkeklerde %3.3’ den ve kadınlarda %1.5’ den, 70-79 yaş arası erkeklerde %6.2’ye ve kadınlarda %8.6’ya yükselmiştir.

2.1.3. Hipertansiyonun Sınıflandırılması:

Erişkinlerde kan basıncı derecesinin sınıflandırılması niteldir. Pratikte tedaviye yaklaşım kolaylığı sağlamak için kan basıncı değerleri dikkate alınmaktadır.

JNC-VII raporunda 18 yaş ve üstündeki erişkinlerin kan basınçları dört dereceye ayrılmıştır (Tablo 1). Hipertansiyon tanısı için iki veya daha fazla muayene sırasında, en az iki ölçümün ortalamasına dayandırılmalıdır. Sınıflandırmada sistolik ve diyastolik kan basınçları farklı sınıflara düşerse, kişinin kan basıncı değerlendirilirken daha yüksek olan kan basıncı derecesi dikkate alınmaktadır.

Tablo-1. 18 yaş ve üstü erişkinler için kan basıncının sınıflandırılması

	Sistolik kan basıncı	Diastolik kan basıncı
Normal	<120 mmHg	<80 mmHg
Prehipertansiyon	120-139 mmHg	80-89 mmHg
Evre-1	140-159 mmHg	90-99 mmHg
Evre-2	\geq 160 mmHg	\geq 100 mmHg

2.1.4. Hipertansiyonun Etiyolojisi ve Etiyolojik Sınıflandırma

Hipertansiyonun etiyopatolojisi hakkındaki bilgiler hala çok kısıtlıdır. Bununla beraber öteden beri iki farklı hipertansiyon türü tanımlanmıştır. Bunlardan biri, hiçbir organ hastalığının başlatmadığı arteriyal hipertansiyon olup ‘primer’ veya ‘idiyopatik’ veya en sık kullanılan terimle ‘esansiyel hipertansiyon’dur.

Sekonder hipertansiyon ise arter basıncı yükselmesinin bir hastalığın çeşitli bulgularından birini oluşturduğu durumlardır. Bu durumda hipertansiyon, asıl hastalığın ikincil

bir yanı, ek bir fenomeni olduğundan bu tür kan basıncı yükselmelerinde sekonder hipertansiyon söz konusudur.

2.1.5. Hipertansiyonun Nedenleri

Hipertansiyon farklı hasta gruplarında yüksek kan basıncına yol açan değişik predispozan faktörlerin rol oynadığı heterojen bir hastalıktır. İnsanda kan basıncı varyasyonunun %25-40' ı genetik olarak belirlenir; bu süreçte kan basıncını hem yükselten, hemde düşüren genler rol oynar (14,4). Bir insanda kan basıncı fenotipi, yüksek düzeyde alkol tüketimi, tuz içeriği yüksek ve potasyum ile kalsiyum içeriği düşük diyetler, yaşlanma, sedanter yaşam tarzı, sosyoekonomik durum ve stres gibi çevresel ve demografik faktörlerle etkileşen ve kan basıncını yükselten ve düşüren gen gruplarının ekspresyonuna bağlıdır (15).

Psikolojik stresle ilişkili olarak sempatik sinir sistemi aktivitesinde artış, endotelin ve tromboksan gibi vazokonstriktörlerin ve sodyum tutucu hormonların aşırı üretimi, potasyum ve kalsiyum alımının yetersiz olması, artmış ve uygunsuz renin sekresyonu, prostoglandinler ve nitrik oksit gibi vazodilatatörlerin eksiklikleri, direnç damarlarında konjenital anomaliler, diabetes mellitus, insülin direnci, obezite, damar büyüme faktörlerinde aktivite artışı ve hücrel iyon transportunda değişme, gibi birçok patofizyolojik faktör ve genetik faktörler esansiyel hipertansiyonun oluşmasında rol oynar (8).

Yapılan çalışmalar hipertansiyon olgularının %92-95'inin esansiyel hipertansiyon olduğunu, %5-6 kadar hastada hipertansiyonun kronik böbrek parankim hastalığına bağlı olduğunu göstermiştir. Bu nedenle diğer tüm nedenler hipertansiyon etiolojisinde ancak %1-3 oranında rol oynamaktadır. Esansiyel (primer) hipertansiyon nedenleri tam olarak bilinmemekle beraber alkolün, obezitenin, genetik yapının, sodyum ve potasyumun, kalsiyum ve magnezyumun, fiziksel aktivitenin ve psikososyal faktörlerin etkisi vardır.

Kan basıncı varyasyonunun kalıtsal özelliği, kan basıncının ailesel agregasyonu (16), monozigot ve dizigot ikizlerde kan basıncı karşılaştırması ve biyolojik ve evlat edinilmiş kardeşlerin kan basıncını karşılaştıran epidemiyolojik çalışmalarda gösterilmiştir. Bu

çalışmalar, akrabalar arasında kan basıncı korelasyonunun, kan basıncı sınırları boyunca görüldüğünü (yüksek kan basıncı olan anne-babaların, düşük kan basıncına sahip anne-babaların düşük kan basıncına sahip çocukları olma eğilimleri ile aynı derecede yüksek kan basıncına sahip çocukları olma eğilimleri vardır) ortaya koymuştur (4). Bu bulgular, bir insanda kan basıncının, her birisi kan basıncını yükseltme etkisine sahip bir dizi gen ile belirlendiği kavramını destekler.

Kan basıncı varyasyonundan sorumlu olan spesifik genlerin araştırılması halen devam etmektedir. Hipertansiyonla ilişkili genetik çalışmalarda major bir problem, kan basıncının biyolojik varyabilitesidir. Ayrıca, kan basıncında diüurnal, mevsimsel ve postural varyasyonlar ve diyet ve uyanıklık durumu ile ilişkili varyabilite, optimal ölçüm tekniklerine rağmen fenotip belirlenmesinde zorluklar oluşturmaktadır. Hipertansiyonun moleküler ve genetik heterojenitesine ek olarak fenotip belirlenmesindeki bu zorluklar nedeniyle hipertansiyondan sorumlu major genler henüz tanımlanamamıştır.

Fizyolojik hipertansiyon çalışmaları ve kromozomal/genomik harita çalışmaları, yüksek kan basıncı ile ilişkilendirilen bazı aday genleri ortaya çıkarmıştır. Hipertansiyonun patofizyolojisinde rol oynamak açısından en güçlü göstergeler, anjiyotensinojen, anjiyotensin konverting enzim (ACE), beta2 adrenarjik reseptör ve G-proteini beta3 alt ünitesi için anjiyotensin-2 tip 1 reseptörü gibi renin-anjiyotensin sisteminin öğelerini kodlayan genlere aittir.

Erişkinlerde, çocuklarda ve adölesanlarda diğer potansiyel karıştırıcı faktörlerden bağımsız olarak obezite ve hipertansiyon arasında bir ilişki ortaya konmuştur. Vücut ağırlığında çocukluktan genç erişkinlik dönemine kadar bir artış, erişkin dönemi hipertansiyonunun majör bir göstergesidir. Prospektif çalışmalarda, vücut kitle indeksi (BMI), nisbi ağırlık, deri kıvrımı kalınlığı veya bel kalça oranı olarak ifade edilen obezite, hipertansiyonun önemli bir göstergesi olarak ortaya çıkmıştır (17). Hipertansif ve normotansif katılımcılarda, sistolik ve diyastolik kan basıncında anlamlı derecede toplu net değişiklikler, sırası ile -5.2/-5.2 mmHg ve -2.8/-2.3 mmHg olarak saptandı. Ancak bu çalışmalarda, tuz ve alkol tüketimindeki ve fiziksel aktivitedeki değişikliklerin katkısı üzerinde durulmamıştır.

Egzersiz kan basıncı üzerindeki etkilerini değerlendiren iyi planlanmış çalışmaların sayısı azdır. Gözlemsel epidemiyolojik çalışmalarda, fiziksel aktivitenin kalp krizi ve felç riskini azalttığını gösteren bariz bulgular vardır (18). Egzersizin kan basıncı üzerindeki etkileri, tamamen vücut ağırlığındaki değişiklikler yoluyla kontrol ediliyor olabilir. Klinik ve toplum sağlığı bakış açılarına göre, egzersizin kan basıncı üzerindeki bağımsız etkileri konusunun pratik önemi sınırlıdır.

Yatay kesit çalışmalarda alkol tüketimi ve kan basıncı arasında, yaş, obezite, sigara tüketimi, sosyal sınıf ve sodyum atılımından bağımsız olan sabit bir ilişki gözlenmiştir. Günde 35 gramdan daha fazla alkol tüketen kadınlarda alkol kullanmayanlara kıyasla risk iki kat daha fazladır. Günlük 20 gram alkol tüketimi kadınlarda hipertansiyon riskini yükseltmezken, bu düzeyin üzerindeki alkol tüketimi, riski progresif olarak yükselttiği klinik çalışmayla ortaya konmuştur (19). Alkolün kan basıncı üzerinde potansiyel etkileri belirsiz olmakla beraber muhtemel etkileri şunlardır:

- Alkolün direkt presör (kan basıncını yükseltici) etkisi
- Direnç damarlarının presör maddelere karşı duyarlaşması
- Sempatik sinir sisteminin uyarılması
- Adrenokortikoid hormonlarının üretiminde artış.

Kalsiyum alımını kan basıncı üzerindeki etkisi ile ilgili klinik çalışmaların verileri çelişkilidir ve genel etki minimal düzeydedir. Yine de klinik çalışma verileri, hamileliğin indüklediği hipertansiyon ve pre-eklamsi riski üzerinde yararlı bir etkiyi desteklemektedir. Gözlemsel çalışmalarda, magnezyum alımı ile kan basıncı arasında zayıf bir ilişki vardır.

Tuz gibi diyet faktörlerin yaşın ilerlemesi ile birlikte kan basıncında yükselmeye ve esansiyel hipertansiyonun gelişimine katkısının aydınlatılması zor olmuştur, çünkü özgür yaşayan deneklerde diyetle alınan maddelerin ölçümü doğru yapılamaz. Ancak bu zorluklara rağmen, günümüzde tuz alımının kan basıncı regülasyonunda çok önemli bir rol oynadığına dair bulgular şaşırtıcıdır. INTERSALT çalışmasında, idrarda sodyum atılımı (tuz alımının bir göstergesi) ve kan basıncı arasında pozitif ilişkiler gözlemlendi. (popülasyon içinde ve popülasyonlar arasında) (20). Popülasyon içinde daha yüksek sodyum atılımı olanlarda, daha

yüksek kan basıncı olma eğilimi vardı; daha yüksek ortalama sodyum atılımı olan popülasyonlarda, daha yüksek ortalama kan basınçları saptandı. Tüm yaşlardaki erkek ve kadınlarda sodyum alımında 100 mmol/gün (yaklaşık 6 gram) artış, sistolik kan basıncında 6 mmHg' lığ ortalama bir artışla ilişkili bulundu. İlişki oranları daha yaşlı kişilerde (40-59 yaş), daha genç kişilere göre daha yüksekti. Bu çalışmanın ana bulgusu, popülasyonlarda sodyum atılımı ve yaşın ilerlemesi ile kan basıncında yükselme arasında sabit ve yüksek düzeyde bir ilişki olmasıdır. 50-59 yaşları arasındaki kişilerde, günlük tuz alımında 3 gram azalmanın (diyetle orta derecede tuz kısıtlaması ile elde edilebilecek olan), sistolik kan basıncını ortalama olarak 5 mmHg azaltacağı hesaplanmıştır. Batı ülkelerinin çoğunda, kan basıncında toplum genelinde bu miktarda ortalama bir azalma, felç insidansını %25 ve iskemik kalp hastalığı insidansını %15 oranında azaltır. Bu nedenle, nispeten az miktarda tuz kısıtlamasının potansiyel klinik etkisi ve toplum sağlığı açısından etkisi önemli düzeydedir. Özetle, tanı konmuş hipertansiyonu olan ve yüksek-normal kan basıncı olan hastalara tuz alımını kısıtlamaları önerilebilir. Diyetimizdeki tuzun çoğu, ekmekek, bisküvi ve mısır gevreği gibi işlenmiş besinlerde gizlidir.

Sodyum alımı, potasyum alımı ve kan basıncı arasındaki ilişki karmaşıktır ve tam olarak çözümlenememiştir. Sodyum ve potasyumun birbiri ile ilişkili olma olasılığı, INTERSALT gibi çalışmalarda, sodyum/potasyum oranı ve kan basıncı arasında sabit bir ilişkinin ortaya konması ile vurgulanmıştır.

Psikososyal faktörlerin, hipertansiyonun gelişmesine katkıda bulunduğunu gösteren bulgular olmasına rağmen, bu faktörlerin diğer diyet ve çevre faktörlerine göre önemi belli değildir. Araştırmalar, psikososyal stresin kan basıncı üzerindeki muhtemel direkt etkileri üzerinde odaklanmış olmasına rağmen, fakirlik, işsizlik, ve eğitimsizlik gibi "stresör"lerin, hipertansiyonla bağlantılı olan aşırı yemek, yüksek düzeyde tuz içerikli diyet ve fiziksel inaktivite gibi yaşam tarzı özellikleri üzerindeki etkileri de göz önünde tutulmalıdır. Milli Sağlık ve Beslenme İnceleme I Epidemiyolojik Takip Çalışması'nda, anksiyete ve depresyonun hipertansiyon açısından risk faktörü olarak rolleri incelenmiştir (21). Başlangıçta hipertansiyon bulgusu olmayan 2992 erkek ve kadından oluşan bir kohort 7-16 yıl boyunca takip edilmiş. Hipertansiyonu etkileyen diğer tüm risk faktörlerinin ayarlandığı analizlerde

hem beyaz ırkta hem de siyah ırkta, anksiyete ve depresyonun hipertansiyon için bağımsız belirleyiciler olduğu ortaya konmuştur.

2.2.-PROLİDAZ

2.2.1.Prolidazın Tanımı

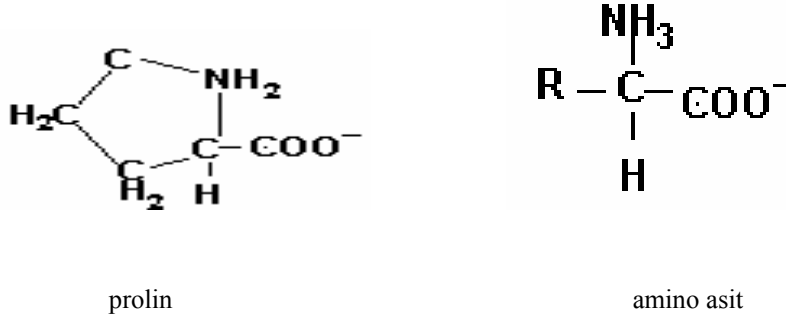
Prolidaz hidrolazlar sınıfına ait bir enzimdir (22,23). Uluslararası sınıflandırmaya göre; EC 3.4.13.9 sınıfında yer alır. Hidrolazlar çeşitli bağların hidrolizini kataliz ederler. Bu bağlar; C-O, C-N, C-C ve fosforik anhidrit bağını da içeren bazı bazlardır. Prolidaz enzimi karboksil terminal pozisyonundaki prolin veya hidroksiprolin içeren dipeptitlerin hidrolizini katalizler.

1937 yılında Bergmann ve Fruton glisin-prolin'in önceden bilinen peptidazlardan farklı, intestinal mukozal bir enzim tarafından hidroliz edildiğini saptamışlardır (24). O tarihten itibaren prolidaz adı verilen bu enzimin pek çok memeli dokusunda varlığı gösterilmiştir (25,26). Enzim yaklaşık 60 yıl önce bulunmasına rağmen önemi 25 yıl önce eksikliği çalışmaları yapıldığında anlaşılmıştır (27).

2.2.2.Prolin

Prolin esansiyel olmayan bir imino asittir. Glutamatın halka yapısındaki bir türevidir. Prolin sentezinde glutamatın γ -karboksi grubunun ATP ile tepkimeye katılması sonucu γ -glutamilfosfat oluşmaktadır. Bunun NADPH ile indirgenmesi sonucu oluşan glutamat γ -semialdehit sonra kendiliğinden Δ^1 -prolin-5-karboksilat oluşturmak üzere halkalaşmakta ve bu yapı indirgenerek prolini oluşturmaktadır. Prolin katabolizmasında prolin oksidaz ile prolinden oluşan Δ^1 -prolin 5-karboksilat, glutamat γ -semialdehit ile ornitine transamine olabilmekte veya glutamata oksitlenmektedir (28).

Prolinin diğ er amino asitlerden farkı R grubunun hem amino grubu hemde α karbon grubuna bağlı olarak siklik bir yapıya yol ağmasıdır (Ş ekil-1).



Ş ekil-1. Prolin ve diğ er amino asidin genel yapısal görünümü

Benzersiz yapısal özellikten dolayı prolin bir peptit sekansına girdiğ i zaman önemli konfarmasyonel özellikler gösterir. Bu aminoasidin siklik yapısı polipeptit omurganın yapısal yönlerine temel sınırlamalar getirmektedir. Prolin siklik yapısının sonucu olarak hiçbir fonksiyonel grup içermez ki bu durumda hidrojen bağına veya peptit bir bağın 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 bileş eni olan kollejen prolinin yapısal özelliklerine belirgin bir şekilde bağlıdır (29).

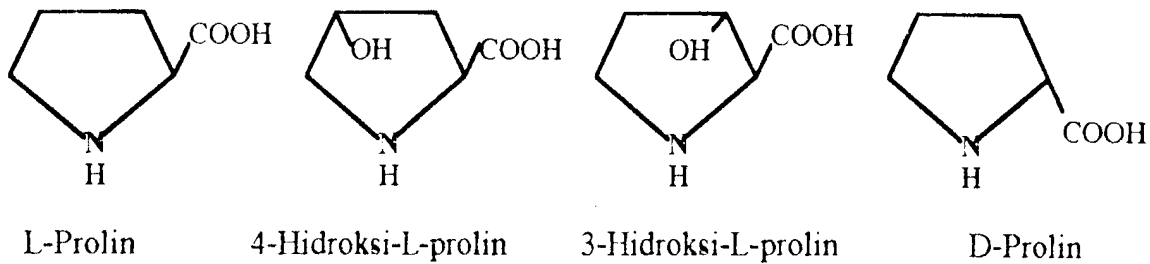
Prolinin siklik yapısı α karbon ve Nitrojenin bir peptit bağındaki rotasyon açısını sınırlamaktadır ki normal olarak bitiş ik amino asitlerin reel grupları arasındaki siterik engelleme veya elektrostatik repulsiyona bağlıdır. Prolin potansiyel bir yapı kırıcı olan ve peptit zincirlerinin yönünü değ iştirme eğ ilimine sahip peptit zincir iç ine sabit bir eğ im takdim eder. Proteinlerin yüzeyindeki ters bir dönüş veya saç tokası eğ imi şeklinde önemli yapısal olayın proteinler iç indaki en önemli sonucu prolin tarafından oluşturulmasıdır (31,32).

Prolin ve hidroksiprolin, kollajen yapısında yer alan en önemli amino asittir. Prolin türevleri olan 3-hidroksiprolin ve 4-hidroksiprolin karış ık fonksiyonlu oksijenazlar kullanılarak polipeptit zincirinde bulunan prolin kalıntılarından elde edilmektedir.

Hidroksiprolinin hidroksiprolin oksidaz ile parçalanması sonucunda gliksalat ve pirüvat oluşmaktadır. Hidroksiprolin hidrojen yapım ve yıkımında açığa çıkar (28).

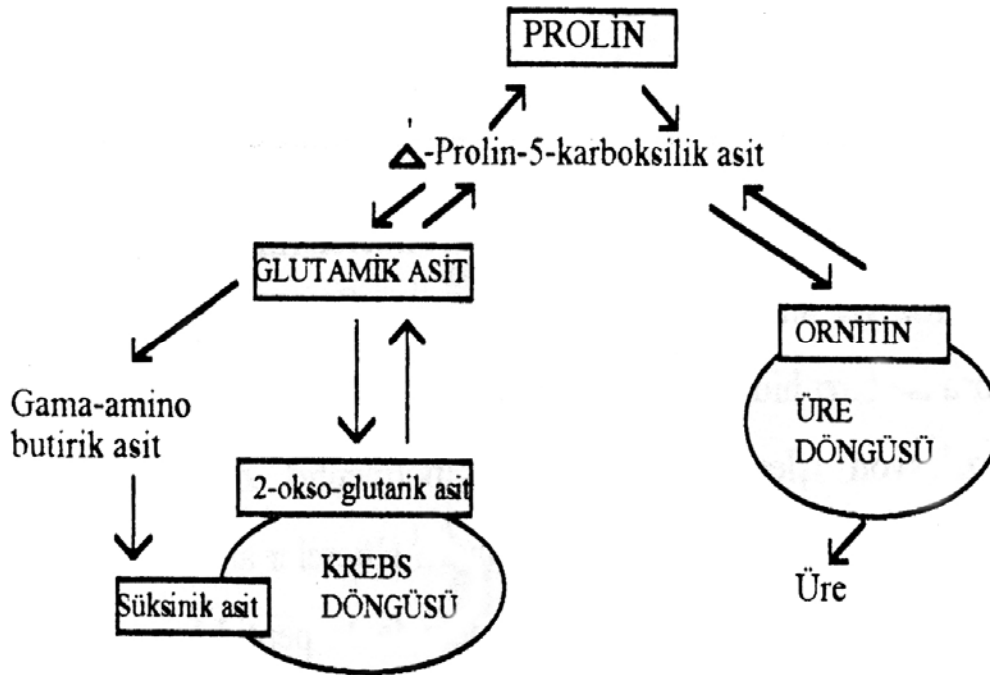
Prolin biyolojik olarak aktif peptitlerin enzimatik degradasyona karşı koruma sağlamaktadır. Bu durum peptit veya protein prekürsörlerinin post transyasyonel modifikasyonlarının regülasyonunda açıkça bellidir. Polipeptit zincirinin içinde yerleşik olan prolin amino asitler, zincirlerin enzimatik süreci öncesinde modifikasyon bölümünde bulunur ve polipeptit zincirinin hassasiyetine protelize sınırlayan yapısal unsurlar olarak hareket eder. Bu durum peptitlerin post-translasyonel modifikasyonunda görev alan ekzopeptidazların özelliği ile ilişkili araştırmalarda gösterilmiştir. Pek çok biyolojik olarak aktif peptitlerin amino ucuna yakın yerlerde ortaya çıkan prolin gözlemiyle desteklenmektedir (33,34).

Prolin ve hidroksiprolin prolidino halkasındaki azot atomuna bir hidrojen atomunun girmesi ile oluşmaktadır. Bunlar genelde imino asit ismiyle adlandırılır. L-prolin amino asitlerin hücre dışı havuzunun temel bileşenidir. Bunu sadece glutamin ve alanin amino asitleri takip eder. Hidroksiprolin öncelikle vücut sıvılarında oligopeptitlerde bulunmaktadır. İnsanlarda hidroksiprolinin yapısı 4-hidroksi –L-prolin şeklindedir ve vücut sıvılarında daha az bulunur. Protein yapısında bulunan hidroksiprolin peptide bağlı prolinin hidroksillenmesi ile oluşmaktadır (35).



Şekil-2. Memeli kollajeninde bulunan prolin ve hidroksiprolin izomerleri

Prolin ayrıca Krebs ve üre döngüsüyle metabolik olarak bağlantılıdır. Δ -prolin-5-karboksilik asit prolin metabolizmasında iki döngüyü birbirine bağlayan bir pozisyondadır. Prolinin karbon zincirinden Krebs döngüsüne geçişi, tüm dokularda bilinen klasik yoldan 2-oksaglutarik asit metabolizması ile olur (36).



Şekil-3. Prolinin metabolik yollarla bağlantısı (Scriver 1978)(36)

2.2.3.Prolidazın Yapısı

Prolidaz enzimi bir çok memeli dokusunda ve mikroorganizmalarda dağılım gösterir. Doğal, sitoplazmik, homodimerik bir metaloenzimidir. Mn^{+2} prolidaz enzimi aktivitesini 5-10 kat arttırmaktadır (35). Mn^{+2} 'a ek olarak enzimin maksimum aktivitesi için aktif merkezinde arjinin ve anyonik amino asit artıklarının olması gerekir (35).

Proteazlar hep monomer yapıda olmasına rağmen tüm prolidazlar dimer yapı gösterirler ve ancak bu şekilde katalitik aktivite gösterirler (37). Prolidaz glikoprotein yapısındadır ve ağırlık olarak %5 karbonhidrat içermektedir. Prolidazın saptanan sekonder yapısında α -heliks (%33), β -tabakalı (%41) ve 30 potansiyel beta bağlantı bölgelerine eşit bir şekilde dağılmış hidrofobik ve hidrofilik alanlar bulunmaktadır. Enzimin primer sırası bilinen proteinlere benzemez fakat bazı sıraları (%29'dan fazlası) F_1 -ATP az'ın α ve β subünitelerinin sırasına benzerlik göstermektedir (35,38).

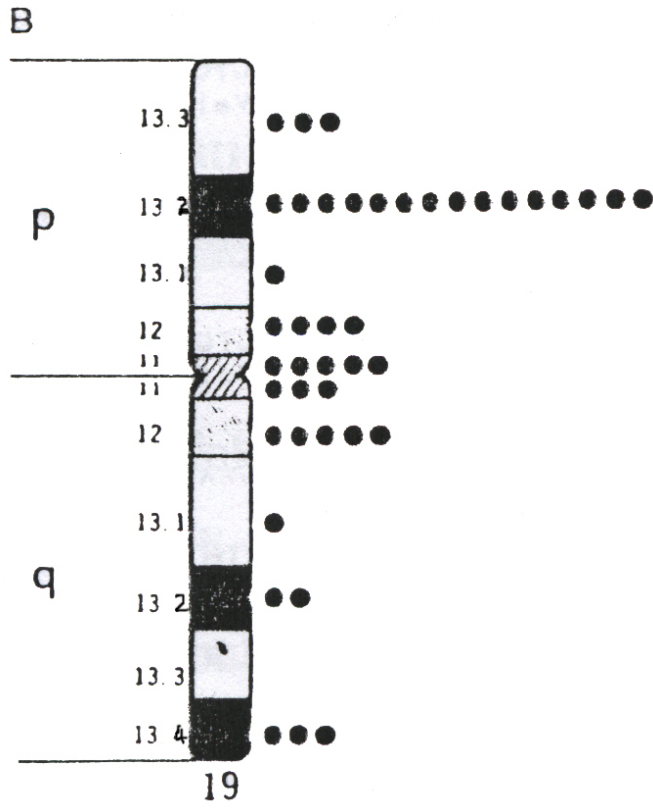
Prolidaz enziminin aktif merkezinde tiyol grubu yer alır ve bu grup bloke edilirse aktivite düşer. Buda sisteinin enzimin aktivitesi için gerekli olduğunu gösterir. Doğal enzim için optimum Ph:7,6-7,8'dir ve izoelektirik nokta pH:4,4-4,5 olarak saptanmış olup bu değer yapıdaki asidik amino asitlerin varlığını belirtmektedir (35). Enzimin karakteristiği araştırıldığında DEAE (Dietilaminitil selüloz dizi kromatografisi) kromatografisinde prolidazın iki pik verdiği görülür (37).

Bai Hu 1992 yılında yapmış olduğu çalışmada prolidazda her monomer için iki aktif bölgenin olduğunu saptamış ve enzimin duruma bağlı olarak bu iki aktif bölgenin substrat spesifikliği ve Mn^{+2} ile preinkübasyon ortamındaki aktivasyon bakımından da farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur (37).

2.2.4.İnsan Prolidazının Primer Yapısı Ve Gen Lokalizasyonu

Prolidaz geni sembolü PEPD'dir ve insanda 19 numaralı kromozomun kısa kolunda lokalizedir (19p 13,2 bölgesi). İnsan cDNA 'sı 1482 baz çiftinin okunmasıyla oluşur bu da 493 amino aside karşılık gelmektedir (38). Enzimin komplementer DNA klonları insan karaciğeri ve plesental cDNA bankalarında izole edilmiştir.

Prolidazın nükleotit sırası saptanmıştır. Enzim amino asit olarak X-Ala-Ala-Ala sırası ile başlamaktadır (39). Prolidaz geni (PEPD) polimorfik allelleri içerir, bu aktiviteyi engellemez ve nadir alleller prolidaz eksikliğine neden olmaktadır (35). Amino asit sırasının saptanması ve gen lokalizasyonu enzimin eksikliğinin sebep olduğu kalıtsal hastalığın temelini anlaşılması bakımından önemlidir. Prolidazın genomik sırası oldukça geniştir. En az 130 kb ve 15 ekson içermektedir. Ekson intron bağlantılarındaki tüm konformasyonlar GT/AG kuralına uymaktadır. Kodlama sırası genomik sıranın % 2 'sinden oluşur. Ekson uzunluğu 45 bp'den 528 bp'ye kadar ulaşır.



Şekil-4. Prolidaz genini içeren kromozom 19(Endo ve Taloue 1989)(39)

-15 CCGGTGCCGGGCGAAC -1

+1 ATGGCGGGCCACCGACCCCTCGTTTTGGCTGGGGAATGAAACCCCTGAAGGTGCCGCTGGCGCTCTTTCCTTGAACCGGCAGCCCTG 90
+1 MetAlaAlaAlaThrGlyProSerPheTrpLeuGlyAsnGluThrLeuLysValProLeuAlaLeuPheAlaLeuAsnArgGlnArgLeu 30

K20 K23

TGTGAGCGGCTGCGGAAGAACCCTGCTGTGCAGGCCGGCTCCATCGTGGTCCTGCAGGGCGGGGAGGAGACTCAGCGCTACTGCACCGAC 180
CysGluArgLeuArgLysAsnProAlaValGlnAlaGlySerIleValValLeuGlnGlyGlyGluGluThrGlnArgTyrCysThrAsp 80

ACCGGGTCTCTTCTCCAGGAGTCTTCTTTCACTGGGCGTTCCGGTGTCACTGAGCCAGGCTGCTATGGTGTATCGATGTTGACACT 270
ThrGlyValLeuPheLeuGlnGluSerPhePheHisTrpAlaPheGlyValThrGluProGlyCysTyrGlyValIleAspValAspThr 90

GGGAAGTCGACCCTGTTTGTGCCAGGCTTCTGCCAGCCATGCCACCTGGATGGGAAAGATCCATTCCAAGGAGCACTTCAAGGAGAAG 360
GlyLysSerThrLeuPheValProArgLeuProAlaSerHisAlaThrTrpMetGlyLysIleHisSerLysGluHisPheLysGluLys 120

K15

TATGCCGTGGACGCGTCCAGTACGTAGATGAGATTGCCAGCGTCTGACGTCACAGAAGCCCTCTGTCTCTCACTTTGCGTGGCGTC 450
TyrAlaValAspAspValGlnTyrValAspGluIleAlaSerValLeuThrSerGlnLysProSerValLeuLeuThrLeuArgGlyVal 150

AACACGGACAGCGGAGTGTCTGCAGGGAGGCTCCTTTGACGGCATCAGCAAGTTCGAAGTCAACAATACCATTCTCACCCAGAGATC 540
AsnThrAspSerGlySerValCysArgGluAlaSerPheAspGlyIleSerLysPheGluValAsnAsnThrIleLeuHisProGluIle 180

GTTGAGAGCCGAGTGTAAAGACGGATATGGAGCTGGAGGTTCTGCGTATACCAATAAAATCTCCAGCGAGGCCACCGTGAGGTAATG 630
ValGluSerArgValPheLysThrAspMetGluLeuGluValLeuArgTyrThrAsnLysIleSerSerGluAlaHisArgGluValMet 210

AAGGCTGTAAGAATGGGAATGAAAGAATATGGGTTGAAAGCCCTCTTCGAGCACTACTGCTACTCCGGGGGGCGCATGCCACAGCTCC 720
LysAlaValLysValGlyMetLysGluTyrGlyLeuGluSerLeuPheGluHisTyrCysTyrSerArgGlyGlyMetArgHisSerSer 240

K28 (Glu)

TACACCTGCATCTGCGGAGTGGTGAAGTCAAGCTGCTACTACGACACGCGGAGCTCCCAACGACCGAAGCAGATCCAGAATGGG 810
TyrThrCysIleCysGlySerGlyGluAsnSerAlaValLeuHisTyrGlyHisAlaGlyAlaProAsnAspArgThrIleGlnAsnGly 270

GATATGTGCCTGTTTCGACATGGGCGGTGAGTATTACTCTGTGCTTCCGACATCACCTGCTCCTTTCCCGCAACGGCAAGTTCACTGCA 900
AspMetCysLeuPheAspMetGlyGlyGluTyrTyrSerValAlaSerAspIleThrCysSerPheProArgAsnGlyLysPheThrAla 300

GACCAGAAGCCGCTCTATGAGGCACTGCTGCTGAGCTCCCGTCCGCTCATGGGTGCCATGAAGCCAGGTGACTGGTGGCTGACATGCAC 990
AspGlnLysAlaValTyrGluAlaValLeuLeuSerSerArgAlaValMetGlyAlaMetLysProGlyAspTrpTrpProAspMetHis 330

CGCCTGGCTGACCGCATCCACCTGGAGGAGCTGGCCACATGGGCATCTGAGCGGCAGCGTGGACGCCATGGTCCAGGCTCACCTGGGG 1080
ArgLeuAlaAspArgIleHisLeuGluGluLeuAlaHisMetGlyIleLeuSerGlySerValAspAlaMetValGlnAlaHisLeuGly 360

GCCGTGTTTATGCCTCAGGGCTTGGCCACTTCTCGGCAATTGACGTGCACGACGTTGGAGGCTACCCAGAGGGCGTGGAGCGCATCGAC 1170
AlaValPheMetProHisGlyLeuGlyHisPheLeuGlyIleAspValHisAspValGlyGlyTyrProGluGlyValGluArgIleAsp 390

GAGCCCGGCTGCGGAGCCTGCGCACTGCACGGCACCTGCAGCCAGGATGGTGTCCACCGTGGAGCCGGGCATCTACTTTCATCGACCAC 1260
GluProGlyLeuArgSerLeuArgThrAlaArgHisLeuGlnProGlyMetValLeuThrValGluProGlyIleTyrPheIleAspHis 420

CTCCTGGATGAGGCCCTGGCGGACCGGCGCGCCCTCTTCTTAACCCGAGGCTCTGCAGCGCTTTCCGGGTTTTGGCGGGTCCGC 1350
LeuLeuAspGluAlaLeuAlaAspProAlaArgAlaSerPheLeuAsnArgGluValLeuGlnArgPheArgGlyPheGlyGlyValArg 450

ATCAGGAGGACGTCGTGGTATCGACAGCGCATAGAGCTGCTGACCTGCGTGCAGCGCTGTGGAAGAGATTGAAGCATGCATGGCA 1440
IleGluGluAspValValValIleAspSerGlyIleGluLeuLeuThrCysValProArgThrValGluGluIleGluAlaCysMetAla 480

GGCTGTGACAAGGCCTTTACCCCTTCTCTGCCCCAAGTAGAGCCAGCCAGAAATCCAGCGCACCTGGGGGCTGGCCTTGAACCTC 1530
GlyCysAspLysAlaPheThrProPheSerGlyProLys***

K8 493

TTTTCGTGATGGGCAAGCTGCTGGTCAAGTCCAGTACGAGAGACGGCACCCAGAATCAGATCCAGCTTCCGCATTTGATCAGACCA 1620

AACAGTGTGTTTCCCGGGAGGAAACACTTTTTTAATTACCCTTTTGCAGGCACCACCTTTAATCTGTTTTATACCTTGCTTATTAAT 1710

GAGCGACTTAAAAATGATTGAAAAAATAGTGTCTTTAGTAGCAAGTAAAAATGTGTCTTGTCTATTATATTCCTTTCCAGGAAAAG 1800

AAGCATTCTGATACTTTCTGTCAAAAAATCAATATGCAGAAATGGCATTGCAATAAAAGGTTTCTAAAAATGAAAAAAAAAAAAAAAAAA 1890

AA

Şekil-5. Prolidaz cDNA'nın amino asit ve nükleotit dizisi (Endo veTanoue 1989)(39)

2.2.5.Prolidazın İzoenzimleri

Dietiaminoetil selüloz dizi kromatografisi (DEAE) ile kültürlü deri fibroblastları ve normal insan eritrositlerinden ayrıştırılan prolidazın 2 formunun olduğu görülmüştür (13). Bunlar prolidaz I ve prolidaz II olarak isimlendirilmiştir. Bu iki izoenzim substrat spesifitesi ile bazı kimyasal özellikler bakımından farklılıklar gösterirler (40). Bu iki izoenzimi ilk izole eden Butterworth ve Priestman olmuştur (1985). Sonra Myara ve arkadaşları 1987 ve 1989 yılında (41,42), Ohhashi ve arkadaşları ise 1990 yılında izoenzimleri izole etmeyi başarmışlardır (43).

İzoenzimlerin molekül ağırlıkları saptanmış ve prolidaz I'in molekül ağırlığının 112 kDa olduğu ve birbirini tamamlayan eşit molekül ağırlığında 2 subüniteden oluştuğu (56kDa) bulunmuştur (40,43). Prolidaz II 'nin ise molekül ağırlığının 185 kDa olduğu ve birbirine eş iki subüniteden (95 kDa) oluştuğu gözlenmiştir (43-46).

Prolidaz I tüm insan dokularında bulunur.Yapılan çalışmalarda prolidaz I 'in tüm iminodipeptitlerle reaksiyona girmesine rağmen gly-pro dipeptitini tercih ettiği bulunmuştur. Cosson ve arkadaşları 1992 'de prolidaz II nin gly-pro dipeptidine karşı düşük bir aktivite gösterdiğini ve bu izoenzimin plazmada bulunmadığını kaydederek preinkübasyonun uzaması ile aktivitenin önemli ölçüde düştüğünü göstermişlerdir (31). Prolidaz II'nin en yüksek aktiviteyi gly-pro yerine met-pro 'ya karşı gösterdiği saptanmıştır (40).

Prolidaz I'i in vitro tespit etmek için optimum şartlar; 1Mm $MnCl_2$ konsantrasyonunda 24 saat $37^{\circ}C$ 'de preinkübasyon olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Mn^{+2} konsantrasyonunun yükseltilecek zamanın azaltılabileceğini yada yüksek preinkübasyon ısısı, düşük $MnCl_2$ konsantrasyonu ve düşük preinkübasyon zamanı kullanılabileceği kaydedilmiştir (47). Cosson ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda prolidaz I ve prolidaz II'yi kromatografik olarak ayırdıktan sonra izoenzimlerin farklı doku dağılımları gösterdiklerini bulmuşlardır (Tablo 2)(48).

Tablo-2. İnsan prolidaz I ve prolidaz II izoenzimlerinin doku dağılımları (%) (Cosmos ve Myara 1992)
(48)

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

Araştırmacılar karaciğer kaynaklı prolidaz II'nin karaciğerde inhibe edildiğini saptamışlardır (43). Bu inhibisyona ise plazma proteinlerinin sebep olduğunu belirtmişlerdir. Haptoglobilin, α_2 makroglobulin ve α_1 antitripsinin prolidaz II'nin aktivitesinde etkili olmadığı fakat saf albuminin altı saatlik inkübasyondan sonra aktiviteyi ortadan kaldırdığı görülmüştür. Albuminin bu inhibitör etkisine dayanarak insan plazmasında prolidaz II'nin aktivitesinin olmadığı açıklanmıştır (48).

Saf insan böbrek prolidaz I'in agaroz jel elektroforezindeki görüldüğü bölge α_1 globulin bölgesidir. İzoelektrik noktasının 4,65 olduğu titrasyon eğrisinden bulunmuştur. Bu nokta insan ve hayvan dokularındaki diğer prolidazlar içinde geçerli olmaktadır.

Çeşitli insan dokularından alınan prolidaz I izoenzimi tavşan immunglobulinleri ile çapraz reaksiyon verir fakat aynı immunglobulinler prolidaz II ile reaksiyon vermez. Bu durum hepatik fibrozis ve prolidaz eksikliği olan hastaların dokuları ve plazmalarından prolidaz I araştırmalarında bir spesifik immünoassay yöntem geliştirilebileceğini akla getirmiştir (47).

2.2.6.Prolidaz İnhibitörleri Ve Aktivatörleri

Yapılan çalışmalarda enzimin aktivasyonu için gerekli olan Mn^{+2} iyonu yerine başka metal iyonlarının ilavesi ile inhibisyon olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmalar domuz böbrek prolidazı üzerinde 1957 yılında yapılmıştır. Fe^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} , Cd^{+2} , Ag^{+1} , Hg^{+2} , Pb^{+2} ve Pt^{+4} iyonlarının prolidazı inhibe ettiği bulunmuştur. Ortalama 0,001-0,0004M aralığındaki konsantrasyonlarda glutatyon kullanıldığında optimal stabilizasyon ve aktivite sağlandığı ancak glutatyonun yüksek konsantrasyonunun inhibisyona sebep olduğu bulunmuştur. Aynı araştırmacılar iyodoasetamin ve p-kloromerküri benzoatın da enzimi inhibe ettiğine değinmişlerdir (26).

Prolidazın substrat analogu olan asetilprolin ve trans-1,2 siklopentadikarboksilik asit tarafından kompetatif inhibisyonunda K_1 'in pH 'ya bağlı olarak izledikleri yolu araştırdıklarında enzimin fonksiyonel grubu ile substratın pKa: 6,6 'da bağlandığını bununla birlikte bu maddelerin inhibisyonunun farklı yollar izlediğini görmüşlerdir (49,50).

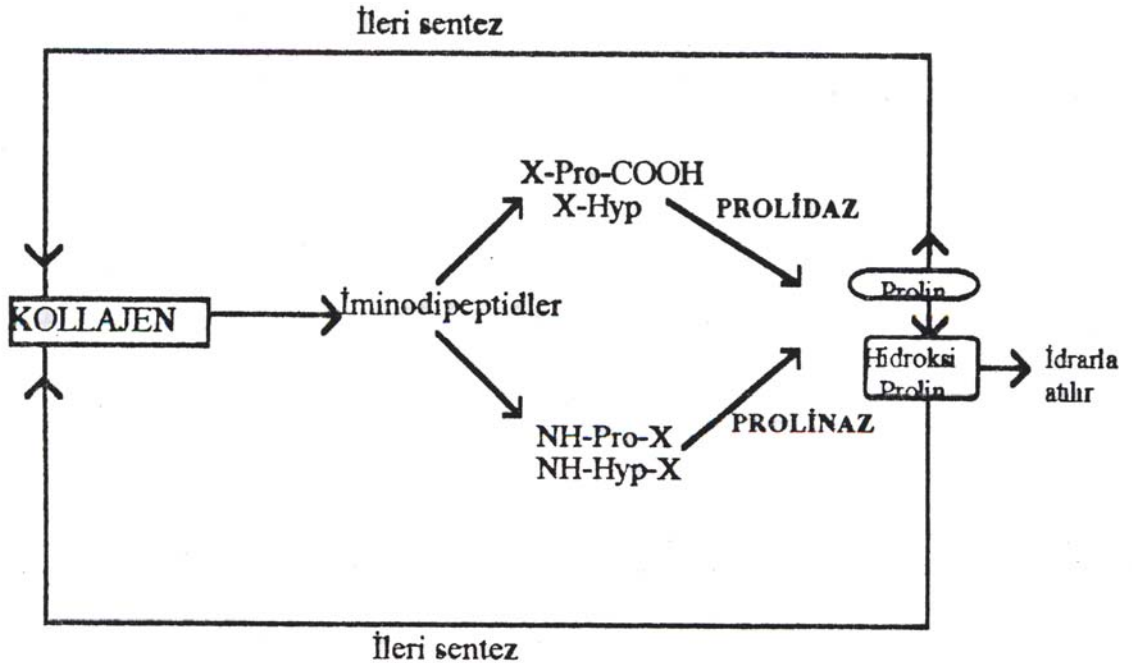
1988 yılında ise yapılan bir çalışmaya göre Mn^{+2} ve Fe^{+2} metal iyonlarının enzim aktivitesine önemli bir etkisi olmadığı bulunmuştur. Bundan başka Co'nin Leu-Pro dışındaki substratlara karşı prolidazı inhibe eder. Cu^{+2} , Hg^{+2} , Cd^{+2} , Zn^{+2} , Pb^{+2} iyonlarının da enzimi önemli derecede inhibe ettiği gözlenmiştir (51).

2.2.7.Prolidazın Kollajen Yapım Ve Yıkımında 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 peptitler veya serbest amino asitlere yıkılmaktadır (28).

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 hidroksprolin olan dipeptidleri hücre içinde hidroliz eder. Prolin yeniden döngüye girer ve yeni protein sentezinde kullanılırken hidroksprolin idrarla atılmaktadır (22,52).

Kollajen dokudaki amino asitlerin yaklaşık %25'ini prolin ve hidroksprolin oluşturduğundan, prolidaz kollajen yıkımında önemli rol oynamaktadır (53,54). Prolidaz hücre içi protein yıkımının son basamağında, özellikle yüksek miktarda prolin içeren prekollajenin yıkımı aşamasında rol oynamaktadır (47,48). Enzim için substrat kaynağı kollajen olup iminopeptidler kollajenin yıkımının son basamağında ortaya çıkmaktadır (55). Kollajen yıkımında prolidaz ve prolinazın yeri aşağıdaki şekilde görülmektedir (Şekil -6).



Şekil-6. Kollajen yıkımında prolidaz ve prolinazın yeri (Myara ve Myara 1984)(53)

Prolidaz beslenme ile alınan proteinlerden ve vücuttaki depo kollajeninden imino asitlerin geri kazanılmasında önemli rol oynar (56). Prolidaz C-ucunda prolin veya hidroksiprolinin imino azotunu içeren peptid bağı bulunduran bileşiklerin hızla hidrolizini katalizleyen tek enzim olduğu için spesifitesi yüksektir (26). Prolidaz eksikliği prolinin normal döngüsündeki bozulmayla sonuçlanır. Prolidaz eksikliğinde büyük miktarda prolin ve hidroksiprolin üre ile dışarı atılır. İminopeptidler gibi amino asitleri bağlar ve sonuç olarak toplam prolin eksikliği oluşur. Prolidaz enzim aktivitesi eritrosit, lökosit ve fibroblastlarda çok düşüktür. Etkilenen hasta bireylerde prolidaz enzim aktivitesi saptanamaz. İminopeptiduri, aynı zamanda raşitizm, hiperparatiroidizm ve paget hastalığı gibi durumlarda tanımlanır. Fakat İminopeptiduri prolidaz eksikliğinde çok daha yüksektir.

Prolidaz eksikliği cilt ve diğer kollajen dokulardaki anormalliklerle karakterize bir sendromla sonuçlanır (57). İdrara salınan peptidler prolidaz için substrat olarak görev yaparlar (58). Bu nadir genetik prolidaz eksikliği otozomal resesif olarak kalıtsaldır (59,60). Prolidaz geni başka bir kalıtsal rahatsızlık olan miyotonik distrofi ile ilgili olması açısından önemlidir. Prolidaz enzimi uzun zamandan beri bilinmesine rağmen önemi son yıllarda eksikliği çalışmalarıyla iyice anlaşılmıştır (57,61). Bu yüzden bu konuda az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmaların çoğu da eritrosit prolidazı ile ilgili olup serum prolidazı hakkında çok şey bilinmemektedir. Prolidaz enziminin genetik eksikliğinin sonucunda mental gerilik , tekrarlayan infeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığı bildirilmiştir (62,56). Prolidaz eksikliği olan kişilerde prolidaz I aktivitesinin deri fibroblast kültüründe ve kan hücrelerinde azaldığı da gösterilmiştir (63).

2.2.8.Prolidaz Aktivite Düzeyinin Ölçülmesinde Kullanılan Yöntemler

Alparslan ve arkadaşları 1993 yılında viral hepatit, kronik aktif hepatit ve sirozlu hastaların serum prolidaz aktivitesini Chinard metoduyla ölçmüşlerdir. Bu hastaların serum prolidaz aktiviteleri bu metotla ölçülmüş ve değerleri kontrol grubundan anlamlı derecede farklı bulunmuştur.

1989 yılında yapılan bir çalışmada ise prolidaz eksikliğinin moleküler analizini yaptıkları çalışmada prolidaz aktivitesini fare monoklonal IgG'leri ile hazırlanmış agaroz kullanarak immün presipitasyon yöntemi ile saptamışlardır (38).

Radzicka ve grubu ise prolidaz inhibitörleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, pH:6'da K⁺-MES (4-morfolino etanosülfirik asidin monopotasyum tuzu) tamponunda 222 nM'de Gly-Pro dipeptidinin kromofor grubunun kaybolması temeline dayanan devamlı spektrofotometrik bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemi Mock ve arkadaşları da, N-açıl prolinin prolidaz ile parçalanmasındaki pH'nın rolünü araştırdıkları çalışmada kullanmışlardır (49,52).

Başka bir çalışmada ise deri fibroblast kültürü ile elde edilen prolidazın aktivitesi kapiller elektroforez ile saptanmıştır. Ayrıca sonuçlar kolorimetrik bir yöntem olan Chinard ile de tekrarlanmıştır (64).

Bu konuda yapılan bir çok çalışmada enzim aktivitesi ölçümünde modifiye edilmiş Chinard yöntemi kullanılmıştır (65,66,23). Chinard metodu olan kolorimetrik yöntem serbest prolin oluşumunu ölçen etkin bir metoddur (35).

3-MATERYAL –METOD

Bu çalışmamızda özetle; Harran Üniversitesi Tıp Fakültesine Araştırma ve Uygulama Hastanesi kardiyoloji polikliniğine başvuran 30 gönüllü hipertansiyon hastasından ve yaş, kilo ve cinsiyetleri birbirine benzer nitelikte 30 kontrol vakasından bilgileri dahilinde kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Elde edilen serum örnekleri çalışılincaya kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi. Çalışma günü serum örnekleri çözüldü ve prolidaz düzeyleri çalışıldı.

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Kullanılan Aletler:

Santrifüj	Universal 30 rf [®]
Vorteks	DCA-VF-2 [®]
Visible spektrofotometre	Jasco V-530 UV/Vİ3 Spektrofotometri [®]
Hassas terazi	Sartorius [®]
Su banyosu	Nüve BM 402 [®]
Derin dondurucu ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$)	New Brunswick Scientific (-85°C Ultra Low Freezer
pH metre	Hanna
EKO Cihazı	ALOKO ProSobnd 5000
EKG Cihazı	SCHILLER at-2 plus

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler:Prolidaz aktivitesi çalışmasında kullanılan maddeler Tablo-3'de gösterilmiştir.

Tablo-3. Prolidaz Aktivitesi Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

<u>Madde Adı</u>	<u>Formülü</u>	<u>Firma ve Katalog no</u>
Prolin	$C_5 H_2NO_2$	Sigma P-0380
Glisil-Prolin	$C_7 H_2N_2O_3$	Sigma G-3002
Glasiyel asetik asit	CH_3COOH	Merck 541
Ortofosforik asit	H_3PO_4	Merck 564
Ninhidrin	$C_9H_6O_4$	Sigma N4876
Mangan klorür (II)hidrat	$MnCl_2H_2O$	Merck5917
Trizma HCl	$C_4H_{11}NO_3HCl$	SigmaT-3253
Triklorasetik asit	$C_2HCl_3O_2$	Fluka 91232
Prolidaz (Porcine Kidney)	100 ünite 2.4 mg	Sigma P-6675
Demir(II) klorür	$FeCl_2$	CarloErba 51575
Çinko Asetat (II) hidrat	$ZnC_4H_6O_4 \cdot 2H_2O$	Fluka 96458
Magnezyum klorür	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	Riedel (IV) hidrat
EDTA (Triplex III)	$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$	Merck 8421
TRIZMA BASE	$C_4H_{11}NO_3$	Sigma 93349

3.2.YÖNTEM

3.2.1. Örneklerin Hazırlanması:

Çalışmada kullanılan kan örnekleri, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesine Araştırma ve Uygulama Hastanesi kardiyoloji polikliniğine başvuran 30 gönüllü hipertansiyon hastasından ve yaş, kilo ve cinsiyetleri birbirine benzer nitelikte 30 kontrol vakasından alındı ve serumları ayrıldı. Serum prolidaz aktivitesi düzeyi ölçülene kadar -80 °C'de saklandı.

3.2.2.Prolidaz Aktivitesi Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar:

1. 0.45 mol/L Trikloroasetik asit (TCA)
2. 1 mM L-Prolin standartı 0.012 g/100 ml 0.45 m/L TCA içinde hazırlandı.
3. 1 mmol/L $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, 0.132 g tartılıp pH:8 olan 0.05mol/L Tris tamponuyla litreye tamamlandı.
4. 0.05 mol/L Tris HCl tamponu: 0.7850 birim Tris-HCl bir miktar distile suda çözülür, 1N NaOH ile pH:8' e ayarlanır ve distile su ile litreye tamamlanır.
5. Glisil - L prolin (100 mmol/ L): 1,720g glisil-L-prolindipeptidi tartılıp, 100 ml Tris tamponunda eritilir. pH:8 'e ayarlanır.Taze hazırlanır.
6. Chinard çözeltisi: 60 ml glisial asetik asit, 40 ml 6 mol/ L ortofosforik asit, 2.5 g ninhidrin 70 °C'de bu karışımda eritilir.
7. 100mM Trizma-HCl tamponu: 7,88 g tartılır. pH:8'e ayarlanır ve distile su ile 500ml'ye tamamlanır(23,48,67-75).

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

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



Deney 3 basamaktan oluşur:

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

Her örnek için serum 1:6 oranında Tris-HCl, MnCl₂ ile 37 °C’de preinkübasyon için 2 saat bekletildi. Daha sonra inkübasyonlu ve inkübasyonsuz diye iki ayrı tüp hazırlandı ve aşağıdaki işlemler uygulandı.

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

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

<u>Ayıracılar</u>	<u>Kör</u>	<u>Standart</u>	<u>İnkübasyonlu</u>	<u>İnkübasyonsuz</u>
Gasiyal asetik asit (ml)	2,5	2.5	2.5	2.5
Süpernatant (ml)			1	1
Chinard reaktifi	0.5	0.5	0.5	0.5
Standart		1		

Yukarıdaki işlemler uygulandıktan sonra tüplerin ağzı kapatılıp 20 dk 90 °C 'de tutulur ve daha sonra buzlu su banyosunda soğutulup 515 nm'de okutulur (71,73,74,76).

3.2.4.Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması:

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

A: İnkübasyon tüpü absorbans değeri

B: Sıfır zaman tüpü absorbans değeri(inkübasyonsuz)

[S] : Standart konsantrasyonu (mmol/l)

S: standart absorbans değeri

Faktör : Preink. Ortamındaki sulandırma x İnk. Ortamındaki sulandırma

İnkübasyon zamanı

F: 40x15

30'

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

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

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

4-BULGULAR

Kan örneklerinin prolidaz enzim düzeyleri kolorimetrik bir yöntem olan Chinard yöntemi ile ölçüldü.

Demografik ve karakteristik bilgiler Tablo-4’de verilmiştir. Tablo-4’de hasta ve kontrol grupları arasında yaş, cinsiyet, sigara ve kilo değerlerinin benzer olduğu görülmektedir.

Tablo-4. Hasta ve kontrol gruplarındaki akışkanlıkların ve fiziksel değerlerin karşılaştırılması

	Kontrol (n=30) Ortalama ± S.D.	Hasta (n=30) Ortalama ± S.D.	<i>p</i>
Cinsiyet (E/K)	20/10	14/16	>0,05
Yaş (yıl)	50,00 ± 7,28	52,53 ± 8,56	>0,05
Sigara (+/-)	8/22	10/20	>0,05
Kilo	64,96 ± 11,59	65,70 ± 11,63	>0,05

Tablo-5’de kontrol ve hasta gruplarının prolidaz seviyeleri görülmektedir ve görüldüğü gibi hasta grubunda prolidaz seviyeleri kontrol grubu prolidaz seviyelerinden istatistiksel olarak yüksektir ($p<0,01$).

Tablo-5. Hasta ve kontrol gruplarında prolidaz parametreler

	Kontrol (n=30) Ortalama ± S.D.	Hasta (n=30) Ortalama ± S.D.	<i>p</i>
Prolidaz (U/l)	44,10 ± 4,92	50,49 ± 8,82	0,01

5-TARTIŞMA VE SONUÇ

Hipertansiyon insanların çoğunun yaşamlarının bir sürecinde karşı karşıya kaldıkları önemli bir sağlık sorunudur ve bu sorun tüm dünyada öncelikle erişkin popülasyonunu ilgilendiren bir epidemi halini almıştır. Hipertansiyon prevalans değerlerinin yüksekliği dikkat çekicidir ve dünyada yılda 7.1 milyon kişinin hipertansiyona bağlı olarak öldüğü tahmin edilmektedir ki buda bize hipertansiyonun nedenli ciddiye alınması gereken bir problem olduğunu göstermektedir (10). Tüm dünyada yaklaşık tahmini hipertansiyon prevalansı 700 milyon yalnız Çin’de ise 90 milyondur. Ayrıca bugün hipertansiyonun mutlak tedavi edilmesi gereken bir sorun olduğu, kontrol altında tutulmayan hipertansiyonun ciddi riskler oluşturduğu ve buna bağlı olarak mortalite ve morbidite oranının yüksek olduğu bilinmektedir (67,77-79). Pickering 1972 yılında normal ve anormal kan basıncı arasında bir sınır olmadığını, mortalite ve arteriyel basınç ilişkisinin nicel olduğunu ve kan basıncı arttıkça prognozun kötüleştiğini belirtmiştir (6).

Kişinin yaşı, cinsiyeti ve ırkı hipertansiyon sıklığı konusunda belirleyici faktörlerdir. Toplumda ortalama kan basıncı değerleri yaş ilerlemesi ile sürekli artış gösterir (77). Amerika Birleşik Devletleri’nde yapılan geniş kapsamlı dünyanın kabul ettiği Framingham çalışmasına göre yaşlıların %75’i hipertansiftir (65). Kişinin yaşının hipertansiyona olan katkısı öncelikle damarlarda yaşlanmaya eşlik eden anormalliklerdir. Bu durum özellikle atardamar duvarlarındaki esneklik kaybı ile açıklanabilir. Hipertansiyona bağlı komplikasyonlar doğrudan yüksek kan basıncı değerlerine bağlı olabileceği gibi, hipertansiyonun kolaylaştırdığı ve zemin hazırladığı arteriyoskleroza da bağlı olabileceği belirtilmiştir (67,78). Hipertansiyon, arteriyoskleroz gelişimi ve buna bağlı miyokard infarktüsü ve inme kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörüdür (67,78). Özellikle yaşlılarda ilk beş ölüm nedenlerinden olan iskemik kalp hastalıkları ve serebrovasküler hastalıkların önlenmesi açısından hipertansiyon erken tanı ve regülasyonunun yaşamsal değeri vardır (78,79).

Hipertansiyonun neden olduğu hedef organ hasarları da toplumda önemli bir sağlık problemidir. Hipertansiyon ateroskleroz gelişimi ve buna bağlı miyokard infarktüsü ile felç gibi kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (78,67). Hipertansiyon seyrinde %50 kardiyak, %30 serebrovasküler, %5.10'u ise böbrek hastalıkları ile ilgili hedef organ hasarı gelişebilir (80,81). Hipertansiyonun arter duvarında yaptığı temel yapısal değişiklik, özellikle direnç arteriyollerinde gözlenen anormal hiperplazi ve hipertrofi yanıtıdır. Hipertansiyona bağlı gelişen hedef organ hasarlarında, bu yanıtın yansıması olan küçük damar aterosklerozunun rolü olduğu aşikardır. Ancak hipertansiyona bağlı gelişen diğer arter lezyonlarında organ hasarına katkıda bulunmaktadır.

Hipertansiyonda organ hasarı arter duvarlarının yırtılması sonucu kanama ile veya arteriyel akımın azalması ya da durmasına yol açan trombuslar sonucu iskemi ile olur. Hipertansiyona bağlı ateroskleroz ve akut komplikasyonların gelişiminde plateletlerin anahtar rol oynadığı gösterilmiştir (78,82,83). Ateroskleroz gelişiminde ilk aşama, plateletlerin endotele adezyonudur (84,85). Ateroskleroz bilindiği üzere arter duvarının sertleşerek esnekliğini yitirmesiyle oluşan bir hastalıktır ki bu sertleşme kan basıncının yükselmesine de neden olur. Hipertansiyon da arter duvarında daha çok kolesterol birikimine neden olur. Kolesterolün zedeleyici etkisi ile ortaya çıkan iltihabi tepki olası bir arteriyoskleroz nedenidir. Ateroskleroz orta ila büyük arterlerde arter duvarında yıkım meydana getirir. Framingham çalışma verileri de hipertansif erkeklerin %70, kadınların %60'ından fazlasının obez olduğu bildirilmektedir. Aynı çalışma sonuçlarına göre ideal kilonun %20 üstünde hipertansiyon gözlenme olasılığının 8 kat arttığını göstermişlerdir (86,87). Ateroskleroz gelişimi hipertansiyon, obezite, dislipidemi ve diabetes gibi risk faktörleri ile yakın alakalının olduğu gösterilmiştir (88).

Damar duvarlarında özellikle de media ve interna tabakalarında önemli ölçüde kollajen doku mevcut olduğundan, hipertansiyon da arter lezyonlarına neden olduğundan hipertansiyonun kollajen doku yıkımına neden olması ve bu yıkımdan dolayı prolinin döngüye yeniden katılarak kollajen biyosentezi için prolidaz enzim aktivitesinde artış olması direk bir sonuç gibi gözükmektedir. Kollajendeki prolinin %90-95'i kollajen yıkımındaki prolinin geri dönüşümü ile sağlanır.(36). Daha önceki çalışmalarda serum prolidaz aktivitesinin karaciğer sirozunda ve hasarında arttığı bildirilmiştir (89). Kronik etanol ve

selenium verilen sıçanların karaciğerlerinde prolidaz I aktivitesi kontrollere oranla artmış bulunmuştur (90). Aynı şekilde CCl₄ uygulanan sıçanların karaciğerlerinde prolidaz I aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (91). Yıldız ve arkadaşları kronik yaralarda uygulanan hiperbarik oksijen tedavisinde (HBO₂) ise serum ve doku örneklerinde, prolidaz enzim değerleri ölçüldüğünde tedavi sonrasında, tedavi öncesine göre azalma gözlenmiştir.(92)

1898'de Marcus Gunn hipertansiyon ile ilişkili olarak retinal damarlarda oluşan değişiklikleri tanımlamıştır. Ayrıca arteriyollerdeki daralmaya ve damar çapında düzensizliklere işaret etmiştir (66). Daha önce giriş bölümünde bahsedildiği gibi kollajen damar duvarında olduğu gibi bağ dokularında hücre dışı matriksin de başlıca yapısal komponentidir. Kollajen lifleri kemik, diş, kıkırdak, tendon ve deri gibi doku ve organların destek proteini olup insan vücudunda geniş ölçüde yer alır ki bu da bize kolajenin organizmamızda önemini gösterir.

Prolidaz kollajen yapısındaki prolinin glisil ile yaptığı peptid bağıny yıkan tek enzim olmasından dolayı prolidaz aktivitesinin kollajen turnover hızı ile direkt olarak ilişkili olması bekleriz (26). İyidoğan ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda serum prolidaz aktivitesinin klinik laboratuvarlarda kemik yapım ve yıkımının bir göstergesi olabileceğini tespit etmişlerdir (94,93). Oono ve arkadaşları kronik yara iyileşmesinde prolidaz enzimi değerinin yaradan alınan sıvı örneklerinde ve blister oluşan hastalıklarda, blister içi sıvı örneklerinde arttığını bildirmişlerdir (95). Chamson ve grubu prolidaz eksikliğinde en önemli değişikliğin kollajen yıkımının hızla artması olduğunu saptamışlardır. Bu olayın gerçekte bağ dokusu hastalığının değil, kollajen biosentezinin azalan prolin havuzu tarafından kısıtlanmasından kaynaklandığını düşünmektedirler (96) .

Bütün bu bilgiler ışığında düşünülecek olduğunda prolidaz enzim aktivitesi ve hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişkinin varlığı düşünülebilir. Bizde bu düşünceden yola çıkarak hipertansiyon ile prolidaz arasındaki ilişkiye açıklık getirmek ve hipertansiyonun kollajen doku üzerine etkisini tespit etmek, ayrıca hipertansiyonlu hastalarda prolidaz aktivitesi ölçümleri ile ilgili literatürlere rastlamamış olmamızdan dolayı sonraki çalışmalara ışık tutmak istedik..

Biz çalışmayı yaparken öncelikle prolidaz enziminin ölçümü için Chinard yöntemini kullandık. Sonuç olarak çalışmada hasta grubunun değerleri ile kontrol grubu değerleri istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve hasta grubunda sonuçlar anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($P<0.01$). Bu bulgu bize hipertansiyonun kollajen doku hasarına neden olduğunu ve hipertansiyonda prolidaz aktivitesinin arttığını göstermektedir. Serum prolidaz aktivitesinin ölçümünün kolay uygulanabilir olması ve enzim aktivitesini sağlıklı erişkinlerde büyük varyasyonlar göstermemesi prolidaz enziminin hipertansiyon vakalarında kollajen doku hasarının değerlendirilmesi açısından kullanılabileceği ihtimalini göstermektedir. Böylece gerek hipertansiyonun erken kontrol altına alınması gerekse komplikasyonları hakkında önceden fikir edinilebilmesi açısından uygulanabilir bir test olarak değerlendirilebileceğini ortaya koyduk.

KAYNAKLAR

- 1- Oparil S, Calhoun DA. High blood pressure. In: Dale DC, Federman DD, eds. Scientific American medicine. New York: Scientific American, 1997; vol. 1, sect. 1, subsect 2:1
- 2- Joint National Committee on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC VI). Arch Inter Med 1997;157:2413-46
- 3- Guidelines Subcommittee of the WHO-International Society of Hypertension. Guidelines for the Management of Hypertension. J Hypertens 1999;17:151-83
- 4- Harrap SB, Genetics. LN, Oparil S, Weber MA, eds. Hypertension: companion to Brenner and Rector's The kidney. Philadelphia, PA : WB Saunders, 1999: ch. 4.
- 5- Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine 6th Edition Eugene Braunwald, Douglas P. Zipes, Peter Libby, Norman M. Kaplan . Chapter 28. Page 941-972.
- 6- Pickering G: Hypertension. Definitions, natural histories and consequences. Am J Med 1972;52:570-83
- 7- Cecil Textbook of Medicine, 22nd edition, Ch. 63 Arterial Hypertension pp:346-363
- 8- Crawford Kardiyoloji 1. Baskı 2. Cilt, Michael H Crawford, John P DiMarco, Bölüm 3: Hipertansif Kalp Hastalığı, Sayfa: 1.1-11.16.
- 9- Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Gren LA, Izzo JI JR, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT JR, Rochaella EJ. Seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. Hypertension. 2003;42(6):1206-1252.
- 10- Guilbert JJ. World Health Report 2002: Reducing risks, promoting healthy life. Educ Health (Abingdon). 2003;16(2):230.
- 11- Burt VL, Whelton P, Roccella EJ, Brown C, Cutler JA, Higgins M, Horan MJ, Labarthe D. Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991. Hypertension. 1995;25(3):305-313.
- 12- Onat A, Sansoy V, Soydan İ, Tokgözoğlu L, Adalet K. TEKHARF, oniki yıllık izleme deneyimine göre Türk erişkinlerinde kalp sağlığı. İstanbul Türkiye, 2003.
- 13- Dannenberg AL, Garrison RJ, Kannel WB. Incidence of hypertension in the Framingham Study. Am J Public Health 1988;78:676-9.

- 14- Lifton RP. Molecular genetics of human blood pressure variation. *Science* 1996;272:676-80.
- 15- Carretero OA, Oparil S. Essential hypertension: part 1: definition and etiology. *Circulation* 2000; 101:329-35.
- 16- Karet FE, Lifton RP. Mutations contributing to human blood pressure variation. *Rec Progr Hormone Res* 1997;52:263-76.
- 17- Ebrahim S, Smith GD. Lowering blood pressure: a systematic review of sustained effects of nonpharmacological interventions. *J Public Health Med* 1998;20:441-8
- 18- Shaper AG, Wannamethee G, Weatherall R. Physical activity and ischaemic heart disease in middle-aged British men. *Br Heart J* 1991;66:384-94.
- 19- Witteman JC, Willett WC, Stampfer MJ, et al. Relation of moderate alcohol consumption and risk of hypertension in women. *Am J Cardiol* 1990;65:633-7.
- 20- INTERSALT: an international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. Intersalt Cooperative Research Group. *BMJ* 1988;297:319-28.
- 21- Jonas BS, Franks P, Ingram DD. Are symptoms of anxiety and depression risk factors for hypertension? Longitudinal evidence from the National Health and Nutrition Examination Survey 1 Epidemiologic Follow-up Study. *Arch Fam Med* 1997;6:43-9.
- 22- Milligan A , Brown G. :Prolidase Deficiency : a Case Report and Literature Review. *Brit J. Dermatol*, 121:405 –409, 1989
- 23- Dolenga M., Hechtman P.: Prolidase Deficiency in Cultured Human Fibroblasts: Biochemical Pathology and Iminodipeptid Enhanced Growth. *Pediatr Res*. 32(4): 479-482, 1992.
- 24- Bergmann M, Fruton J S, *J Biol Chem*.1937 .118, 405-415.
- 25- Davis NC, Smith EL: Purification and Some Properties of Prolidase of Swine Kidney, *J. Biol Chem*, 244:261-275, 1957
- 26- Boright A, Scriver CR: Prolidase Deficiency: Biochemical Classification of Alleles *Am J Hum Genet* 44:731-740, 1989
- 27- Alparslan S, Gültepe M: Serum Prolidase Activity: Its Value as an Indicator of Collagen Accumulation in Chronic Liver Diseases. *Biyokimya Dergisi*, 18(1):1-9, 1993
- 28- Onat T, Emerk K, Sözmén EY. *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, Ankara, 2002
- 29- Bornstein P, *Ann. REV. Biochem* 1974;43, 567-603,

- 30- Muszynska A., Wolczynski S, Pakla J. The mechanism for anthracycline-induced inhibition of collagen biosynthesis. *Eur J Pharmacol*, 2001; 411:1-2, 17-25.
- 31- Yaron A, Naider F. Proline-Dependent structural and biological properties of peptides and proteins. *Crit. Rev. Biochem Mol. Biol* 28,31-81
- 32- Crawford JL, Lipscomb WN, Schellman CG. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* , 1973. 70,538-543
- 33- Persson B, Flinta C, Von Heijne G, Jorvall E. *EUR. J. Biochem* 152 (1985) 523-527
- 34- Yüreğir G. : Temel Biyokimya I. 3. Baskı, Çukurova. Üniv. Tıp fakültesi Yayınları, Adana, 1988, 152-153
- 35- Phang JM., Yeh GC., Scriver.: Disorders of Proline and Hydroxyproline Metabolism. In: *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, (7th Ed) Scriver RC., Blandet al., Sly WS., (Eds) Mc Graw Hill, Montreal 1995, 1125-1141.
- 36- Scriver CR. : Disorder of proline and hydroxyproline Metabolism. In: *the metabolic Basis of Inherited Disease* (4th Ed.) STANBURY, J. B. Et all. 336-361. 1978
- 37- Mock WL, Zhuang H. : Chemical Modification Locates Guanidinyl and Carboxylate Groups Within The Active site of prolidase *Biochem biophys Res Com.* 180(1): 401-406, 1991
- 38- Endo F., Tanoue A.: Primary Structure and Gene Localization of Human Prolidase. *J Biol Chem.* 264: 4476-4481, 1989.
- 39- Endo F , Tanoue A. : structural organization of the gene for human prolidase (Peptidase D) and Demonstration of a partial gene deletion in a patient with prolidase deficiency . *J. Biol chem*, 265(19): 11306-11311, 1989
- 40- Sugahara K , Ohno T : The Use of liguit chromatography Mass spectrometry for the identification and Quantification of Urinary immunodipeptidase in prolidase deficiency . *Eur J clin-Chem Clin Biochem* 31: 317-322, 1993
- 41- Myara I, Charpentier C, Lemonnier A. Optimal conditions for prolidase assay by localization of human prolidase. *J Biol Chem*, 1989, 264(8): 4476 ~ 4481 ...
- 42- Myara I. Effect of long preincubation on the two forms of human erythrocyte prolidase. *Clin Chim Acta.* 1987 Dec;170(2-3):263-270
- 43- Ohhashi T , Ohno T : Characterization of prolidase I and II From erythrocytes of a control, a patient with prolidase deficiency and her Mother. *Clin Chim Acta*, 187:1-10, 1990

- 44- Cheng TC, DeFrank JJ, Rastogi VK, Alteromonas prolidase for organophosphorus G-agent decontamination. *Chem Biol Interact*, 1999; 119-120, 455-62.
- 45- Bielawska A., Bielawski K, Chrzanowski K, et al., Prolidase-activated prodrug for cancer chemotherapy cytotoxic activity of proline analogue of chlorambucil in breast cancer MCF-7 cells. *Farmaco*, 2000; 55:11-12, 736-41.
- 46- Cauci S, McGregor J, Thorsen P, et al., Combination of vaginal pH with vaginal prolidase and prolidase activities for prediction of low birth weight and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*, 2005; 192:2, 489-96.
- 47- Myara I. , Cosson C. , Moatti, N. , Lemonnier, A. : Human kidney prolidase-purification, preincubation properties and immunological reactivity. *Int. J Biochem.* 26(2): 207-214, 1994.
- 48- Cesson C, Myara I. : Only prolidase I Activity is present in human plasma. *Int. J Biochem.* 24(3):427-432, 1992
- 49- Mock WL., Green PC.:Mechanism and Inhibition of prolidase. *J Biol Chem*, 265 (32):19606-19610,1990
- 50- Mock W.L., Green P.C., Boyer K.D.:Specificity and pH Dependence for Acylproline Cleavage by Prolidase. *J Biol Chem*, 265(32).19600-19605,1990.
- 51- Oono T , Arata J. Characteristics of prolidase and prolidase in prolidase-deficient patients with some preliminary studies of their role in Skin. *J dermatol.* 15 212-219, 1988
- 52- Radzicka A.,Wolfenden R.:Analogues of Intermediates in the Action of Pig Kidney Prolidase.*Biochemistry.* 30:4160-4164, 1991.
- 53- Myara I, Myara A. : plasma prolidase activity: A Possible Index of Collagen Catabolism in Chronic Liver Disease. *Clin Chem.* 30(2):211-215, 1984
- 54- Ayad S, Sandell LJ. Collagens of the intervertebral disk: Structure, Function, and Changes During Aging and Disease. In: Weinstein JN, Gordon SL, editors. *Low Back Pain: A Scientific and Clinical Overview*. First ed. Rosemont, IL: American Academy of Orthopedic Surgeons; 1996. p. 539-56.
- 55- Berardesca E, Fidell D : Blood transfusions in the therapy of case of prolidase deficiency. *Brit J Dermatol.* 126:193-195, 1992
- 56- Atara J Umemura S, Yamamoto Y, Hagiyaama M, Nohara N: Prolidase deficiency:Its dermatological manifestations and some additional biochemical studies.*Arch Dermatol* 115:62,1979.
- 57- Endo F, Matsuda I: Human erythrocyte Prolidase and prolidase deficiency. *Pediatr Res*, 16: 227-231, (1982)

- 58- Ogata A. , Tanaka T , Tomoda E, Murayama F, Endo, F Kukuchi I. (1981) *Arah. Dermatol.* 117, 687-697
- 59- Tanoue A, Endo F. A Single Nuucleotide Change in the Prolidase Gene in Fibroblast from Two Ptients with Polipeptid Defiency .*J, Clin in vest* 86: 351-355,1990.
- 60- Marini JC. Genetic Risk Factors for Lumbar Disk Disease. *Jama*; 285: 1886-8,2001
- 61- Kodama H , Ohhashi T.: Characteristics and Partial Purification of Prolidase and Deficiency.Effect of Glycyl-l-Proline on the Degradation of Newly Synthesized Collagen *Clin Physiol Biochem.*7:128-136, 1989.
- 62- Powell GF, Rasco MA, Maniscalco RM: A prolidase deficiency in man with iminopeptidurea.*Metabolism* 23.505 (1974).
- 63- Butterworth J, Priestman DA. Precense in human cells and tissues of two prolidases and their alteration in prolidase deficiency.*J Inherit Metod Dis* 8:193,1985
- 64- Zanaboni G., Viglio S.: Direct Monitoring of Prolidase Activity in Cultured Skin Fibroblasts Using Capillary Electrophoresis. *J Chromatogr.* 695 77-84,1997.
- 65- Kodama H., Mikasa H.:Biocheemical Investigations on Prolidase and Prolinase in Erythrocytes from Patients with Prolidase Deficiency. *Clin Chim Acta*, 173:317-324,1988.
- 66- Tso M.O, Jampol L.M. Pathophysiology of hypertensive retinopathy *Journal of American Academy of Ophtalmology* Volume89, Issue10, pages 1132-1145
- 67- Surazynski A, Pakla J and Wolczynski S. Phosphorylation of prolidase increases the enzyme activity. *Mol Cell Biochem*, 2001; 220:1-2, 95-101.
- 68- Myara I., Charpentier C, Gautier M, et al., Cell density affects prolidase and prolinase activity and intracellular amino acid levels in cultured human cells. *Clin Chim Acta*, 1985; 150:1, 1-9.
- 69- Madazli R., Atis A, Uzun H, et al., Mid-trimester amniotic fluid angiogenin, lactate dehydrogenase and fibronectin in the prediction of preterm delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2003; 106:2, 160-4.
- 70- Palka JA. Phang JM.Prolidase in human breast cancer MCF-7 cells.*Cancer Lett*, 1998 ;127:1-2,63-70
- 71- Forlino A., Lupi A, Vaghi P, et al., Mutation analysis of five new patients affected by prolidase deficiency: the lack of enzyme activity causes necrosis-like cell death in cultured fibroblasts. *Hum Genet*, 2002; 111:4-5, 314-22.

- 72- Karna E., Pakla J, Wolczynski S. Doxycycline-induced inhibition of prolydase activity in human skin fibroblasts and its involvement in impaired collagen biosynthesis. *Eur J Pharmacol*, 2001; 430:1, 25-31.
- 73- Yallampalli C, Dong YL, Gangula PR, et al., Role and regulation of nitric oxide in the uterus during pregnancy and parturition. *J Soc Gynecol Investig*, 1998; 5:2, 58-67.
- 74- Erbağcı A, Araz M, Erbağcı A, et al., Serum prolydase activity as a marker of osteoporosis in type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem*, 2002; 35:4, 263-8.
- 75- Karna E, Milyk W, Wolczynski S, et al., The potential mechanism for glutamine-induced collagen biosynthesis in cultured human skin fibroblasts. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2001; 130:1, 23-32.
- 76- Surazynski A, Pakla J, Wrzesniok D, et al., Melanin potentiates daunorubicin induced inhibition of collagen biosynthesis in human skin fibroblasts. *Eur J Pharmacol*, 2001; 419:2-3, 139-45.
- 77- Labarthe DR: Hypertension. Wallace RB, Doebbelig BN(Ed): Public Health & Preventive Medicine Fourteenth edition. Stamford, Connecticut, 1998; 949-957.
- 78- Moser M. Hypertension treatment and the prevention of coronary heart disease in the elderly. *American Family Physician* 1999. <http://www.offp.org/offp/990301ap/1248.html>.
- 79- O'Brian R, Mc Dermott G. The second Australian National Blood Pressure Study-ANBP2. <http://www.health.adelaide.edu.au/ANBP2/main.htm>.
- 80- Andrew MD, Lip GYH, Blann D. Relation Endothelium, thrombogenesis and haemorrhage in systemic hypertension to ethnicity and left ventricular hypertrophy. *Am J Cardiol*, 80: 1566-1571, 1997.
- 81- Gifford RWJ, Kirkendall W, O'Connor DT, Weidman W. Office evaluation .A statement for health professionals by a writing group of the Council for High Blood Pressure Research, American Heart Association. *Circulation* 1989;79:721-731
- 82- Valkila EH, Salenius JP, Koivula TA. Platelet indices in patients with occlusive carotid artery disease. *Angiology*. 1994;45(5):361-365.
- 83- Pathansali R, Smith N, Bath P. Altered megakaryocyte-platelet haemostatic axis in hypercholesterolaemia. *Platelets*. 2001;12(5):292-297.
- 84- Lefkowitz J, Plow EF, Topol EJ. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine. *N Engl J Med*. 1995;332(23):1553-1559.
- 85- Grove EL, Orntoft TF, Lassen JF, Jensen HK, Kristensen SD. The platelet polymorphism PLA2 is a genetic risk factor for myocardial infarction. *J Intern Med*.

- 2004;255(6):637-644.
- 86- Swales JD. Manuel of Hypertension. Blackwell Science, Oxford, 1995: 1-3, 119-123, 153-160.
- 87- Sharma AM, Engeli S. Managing big issues on lean evidence :treating obesity hypertension. *Nephrol Dial Transplant* 17:353-355,2002.
- 88- Matsumoto K, Miyake S, Yano M, Ueki Y, Yamaguchi Y, Akazawa S, Tominaga Y. Insulin resistance and arteriosclerosis obliterans in patients with NIDDM *DiabetesCare*20(11): 1738 1784,1997,
- 89- Brosset B, Myara I, Fabre M, Lemonnier A:Plasma prolidase and prolinase activity in alcoholic liver disease.*Clin Chim Acta* 175:291 (1988)
- 90- Söner Y, Gürdöl F, Tuğrul Y, Bekpınar S:Prolidase I activity in liver tissue: effects of ethanol and selenium. *Res Commun Alcolhol Subs Abuse* 16:125 (1995).
- 91- Myara I, Miech G, Fabre M, Mangeot M, Lemonnier A:Changes in prolinase and prolidase activity during CCl₄ administration inducing liver cytolsis and fibrosis in rat *Br J Exp Pathol* 68:7 (1987)
- 92- Yıldız A. Hiperbarik oksijen tedavisinde prolidaz enzim seviyeleri.*Gülhane Tıp Dergisi*,2004;46(2):144-148
- 93- İyidoğan YÖ, Gürdöl F, Öner P: Serum prolidaz I aktivitesinin kemik yapım-yıkım indeksi olarak değerlendirilmesi.*İst.Tıp Fak.Mecmuası* 62:2, 1999.
- 94- Kir ZO, Öner P, İyidogan YO, et al., Serum prolidase I activity and some bone metabolic markers in patients with breast cancer: in relation to menopausal status. *Clin Biochem*, 2003; 36:4, 289-94.
- 95- Oono T, Fujiwara Y, Arata J. Prolidase activityin chronic wound and blister fluids. *J Dermatol*.24(10):626-9, 1197
- 96- Chamson A, Voigtlander V :Collagen Biosynthesis Anomalies in Prolidase Deficiency.Effect of Glycl-L-Proline on the Degradation of Newly Synthesized Collagen.*Clin Physiol Biochem*. 7:128-136,1989