

Preeklampside Prolidaz Enzim Aktiviteleri

Prolidase Enzyme Activities in Preeclampsia

¹Berrak Güven, ¹Şerefden Açıkgöz, ²Ülkü Özmen Bayar, ¹İlker Sarıtekin

¹Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Zonguldak

²Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Zonguldak

Özet

Bu çalışmada preeklampside serum ve plasental doku prolidaz enzim aktiviteleri incelendi. Preeklampsili 24 ve sağlıklı gebe olan 25 kadından serum ve plasental doku örnekleri toplandı. Prolidaz enzim aktivitesi fotometrik metot kullanılarak tespit edildi. Anne yaşı, sistolik ve diyastolik kan basıncı, gebelik haftası ve fetal doğum ağırlığı gibi veriler değerlendirildi. Preeklampitik gebelerde kontrollere göre serum prolidaz aktiviteleri anlamlı olarak düşük ve plasenta prolidaz aktiviteleri ise anlamlı olarak yüksek bulundu. Plasenta prolidaz düzeyleri ve gebelik haftası, fetus doğum ağırlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon arasında izlendi. Sonuç olarak, preeklampitik plasentada kollajen turnover oranını artmış olduğu sonucuna varıldı. Ancak preeklampside prolidazın gebelik haftası ve fetus gelişimini nasıl etkilediğini gösteren ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Prolidaz, preeklampsia, plasenta

Abstract

The present study investigated serum and placental tissue prolidase enzyme activities in the preeclampsia. Serum and placental tissue samples from 24 women with preeclampsia and 25 women with healthy pregnancy were collected. Prolidase enzyme activity was determined using a photometric method. Data such as maternal age, systolic and diastolic blood pressure, gestational age and fetal birth weight were assessed. Serum prolidase activities were found significantly lower and placenta prolidase activities were significantly higher in preeclamptic pregnancy than those in controls. Statistically significant correlations were found between placenta prolidase levels and gestational age, fetal birth weight. In conclusion, we conclude that collagen turnover rate is increased in preeclamptic placenta. However, further studies are needed how prolidase affect gestational age and fetal birth weight in preeclampsia.

Key words: Prolidase, preeclampsia, placenta

GİRİŞ

Gebelikte görülen hipertansif bozukluklardan biri olan preeklampsia, tüm dünyada maternal ve fetal morbidite ile mortalitenin önemli nedenlerinden biridir (1). Preeklampsia gelişim sürecini aydınlatılabilmek ve tanısını koyabilmek için şu ana kadar pek çok belirteç çalışılmış ve halen çalışılmaya devam edilmektedir.

Ekstrasellüler matriks ve en önemli elemanı olan kollajen, plasentanin villöz yapısında önemli rol oynar (2). Prolidaz enzimi kollajen metabolizmasında görevli; eritrositler, lökositler, plazma, dermal fibroblastlar, böbrek, beyin, kalp, timüs ve uterusda olduğu tespit edilmiş olan bir enzimdir (3). Literatürde preeklampitik gebelerde kollajen metabolizması üzerine etkisi olan prolidaz enzimini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda preeklampitik gebelerin plasenta dokusunda ve serumlarında prolidaz enzimi düzeylerini incelemeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

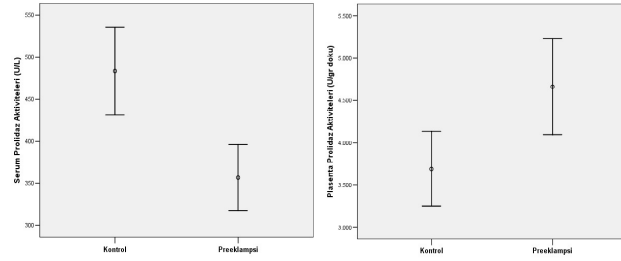
Çalışmamıza Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğine başvuran ve preeklampsia tanısı konulan 24 gebe alındı. Preeklampsia kesin tanısı Amerikan Obstetrisyenler ve Jinekologlar Derneği (ACOG) kriterlerine göre konuldu (4). Diyabet, renal hastalıklar, karaciğer hastalıkları, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, çoğul gebelik, HELLP sendromu, otoimmün hastalıklar ve fetusun yapısal, genetik anomalileri veya enfeksiyonları çalışmadan dışlanma kriteri olarak belirlendi. Herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 25 normotansif gebe kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna dair, Zonguldak

Bülent Ecevit Üniversitesi etik kurulundan onay alındı. Preeklampitik gebelerden tanı konulduğunda tedavi başlanmadan önce kan örnekleri alındı. Kontrol grubundaki sağlıklı gebelerden ise rutin antenatal muayene veya doğum öncesi kan örnekleri alındı. Kan örnekleri jelli biyokimya tüplerine toplandı, santrifüj edildikten sonra elde edilen serum örnekleri analiz edilene kadar -80 °C'de saklandı. Doğum gerçekleşikten sonra plasentanın santral bölgesinden alınan örnekler de -80 °C'de saklandı. Doku örnekleri Öztürk ve ark.'nın tanımladığı şekilde glass teflon homogenizatörle (Ultra Turrax IKA T18 Basic) homojenize edildi (5). Homojenize örnekler 9 000 × g ve 4 °C'de 30 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen supernatantlardan analizler yapıldı.

Serum ve doku prolidaz aktiviteleri tespiti için, Myara ve arkadaşlarının tanımladığı yöntem kullanıldı (6). Bu yöntem prolidazla oluşan prolin düzeylerinin spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır. Örnekler 50 mmol/l Tris-HCl buffer (pH 7.8) ile 6 kat dilüe edildi ve 2 saat 37 °C de inkübe edildi. Karışımın 0.1 ml'si alınıp üzerine tris/ MnCl₂ de hazırlanan 94 mmol/L Gly-Pro (Sigma) içeren önlüküasyon çözeltisinden 0.1 ml konup 30 dakika 37 °C'de inkübe edildi. Karşıma 0.45 mol/L TCA'dan 1 mL eklenerek reaksiyon durduruldu. Karışım 10 dk 1500 x g'de santrifüj edilip supernatantları ayrıldı. Supernatantlar prolin ölçümü için kullanıldı. Sonuçlar serumda U/L ve dokuda U/gram doku olarak verildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistik analizler SPSS 13 paket programı kullanılarak yapıldı. Tüm parametrelerin karşılaştırmasında Mann Whitney-U testi, korelasyon analizlerinde ise Spearman korelasyon analizi kullanıldı. İstatistiksel



Şekil 1. Preeklampsi ve kontrol grubuna ait prolidaz aktiviteleri

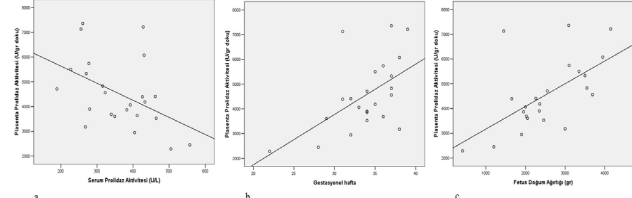
anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ olarak alındı.

BULGULAR

Çalışmamızda ait demografik bulgular Tablo 1'de sunulmuştur. Preeklampsi ve kontrol grubundaki anne yaşları arasında bir farklılık görülmedi. Preeklampsi grubunda sistolik tansiyon ve diyastolik tansiyon anlamlı olarak yüksek iken, USG'a göre belirlenmiş gestasyonel hafta ve fetus doğum ağırlığı anlamlı olarak düşük bulundu. Preeklampsi grubunda serum prolidaz düzeyleri (Ortalama±SD: 357±95 U/L) kontrol grubuna (Ortalama±SD: 484±135 U/L) göre anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.05$). Preeklampsi grubunda plasenta prolidaz düzeyleri (Ortalama±SD: 4661±1451 U/gr doku) kontrol grubuna (Ortalama±SD: 3691±1094 U/gr doku) göre anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.05$) (Şekil 1). Ayrıca preeklampsi grubunda plasental prolidaz ve serum prolidaz seviyeleri arasında anlamlı düzeyde negatif bir korelasyon olduğu görüldü ($r = -0.465$, $p = 0.022$). Preeklampsi grubu incelendiğinde, plasenta prolidaz düzeyleri ile hem gestasyonel hafta ($r = 0.540$, $p = 0.008$) hem de fetus doğum ağırlığı ($r = 0.633$, $p = 0.001$) arasında anlamlı bir ilişki bulundu (Şekil 2). Ancak serum prolidaz düzeyleri ile gestasyonel yaş ($r = -0.345$, $p = 0.107$) ve fetus doğum ağırlığı ($r = -0.312$, $p = 0.122$) arasında bir ilişki gözlenmedi.

TARTIŞMA

Prolidaz, C-terminalinde prolin ve hidroksiprolin içeren, kollajenin intrasellüler ve ekstrasellüler yıkımından elde edilen, imidodipeptitleri yıkan sitozolik bir enzimdir. Prolidaz enzimi ile açığa çıkan prolin ve hidroksiprolin amino asitleri, kollajen dokusunun yaklaşık %25'ini oluşturur ve ekstrasellüler matrisin devamlılığının sağlanması için gereklidirler (7). Prolidaz enzimi kollajen turnoverında ve hücre büyümesinde önemli role sahiptir (8). Ayrıca prolidazın kollajen biyosentezinin düzenlenmesinde sınırlayıcı bir faktör olduğu düşünülmektedir (9). Çalışmamızda



Şekil 2. Plasental prolidaz ve serum prolidaz seviyeleri (a), plasenta prolidaz düzeyleri ve gestasyonel hafta (b), plasenta prolidaz düzeyleri ve fetus doğum ağırlığı (c) arasındaki korelasyonlar

literatürde ilk kez preeklampsi hastalarının plasenta dokularında ve serumlarında prolidaz aktivitelerini inceledik. Çalışmamızın sonuçlarına göre preeklampsi hastalarının plasenta dokularında yüksek, serumlarında ise düşük prolidaz aktiviteleri bulundu. Preeklampsi gebelikte ilişkili olarak görülen en yaygın patolojik bozukluktur. Preeklampside uterus ve plasenta damar duvarlarında yapısal olarak değişiklikler görülmektedir. Preeklampsi anneler tarafından doğum yapılan bebeklerin göbek kordonu arterleri incelendiğinde sağlıklı anneler tarafından doğurulanlara göre kollajen miktarı iki katından daha fazla oranda olduğu görülmüştür (10). Iwahashi ve ark. normal ve preeklampsi gebeleri karşılaştırdıkları bir çalışmada, gebelerin plasentalarında kollajen düzeylerini incelemişlerdir (11). Bu çalışmada preeklampsi gebelerin plasentalarında kollajen tip V'in kollajen tip I'e oranının arttığını göstermişlerdir. Kollajen miktarlarında bu değişen oranların trofoblastik hücre dağılımı ile fetusun beslenmesini engelleyerek preeklampsinin gelişim sürecinde etken olabileceğini ileri sürmüşlerdir (11). Bizim çalışmamızda gözlemlenen plasenta prolidaz aktivitesindeki artış, kollajen turnoverında bu değişen oranları destekler görünümündedir.

Literatürde preeklampsi gebelerin dışında plasentada prolidaz artışının gösterdiği bazı çalışmalar bulunmaktadır. Vural ve ark. erken gebelik kaybının olduğu gebelerde yaptıkları çalışmada, bizim çalışmamızla uyumlu bir şekilde, plasenta prolidaz düzeylerini yüksek, serum prolidaz düzeylerini düşük bulmuşlardır (12). Bu çalışmada kollajen turnover oranını değiştirdiği için yükselmiş plasenta prolidaz aktivitesi erken gebelik kaybı için etyopatolojik faktör olduğu ileri sürülmüş, ayrıca serum prolidaz düzeylerinin klinik bir belirteç olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Ancak biz çalışmamızda preeklampsi gebelerde plasenta prolidaz aktiviteleri ile gestasyonel hafta ve fetus doğum ağırlığı arasında pozitif korelasyon olduğunu gözlemledik. Birçok çalışma preeklampside uteroplasental sirkülasyonun azalması nedeniyle plasentada hipoksi oluştuğunu göstermiştir (13,14). Hipoksida, azalan

Tablo 1. Preeklampsi ve kontrol grubuna ait demografik bilgiler

	Preeklampsi (n=24)	Kontrol (n=25)	p
Anne yaşı (yıl)	30.8±5.22	28.7±4.77	0.174
Gestasyonel hafta (USG)	33±4.67	37.2±1.50	0.001
Sistolik tansiyon (mmHg)	156.3±17.2	110.3±10.3	0.001
Diastolik tansiyon (mmHg)	95.7±9.16	71.1±8.54	0.001
Fetus doğum ağırlığı (gr)	2428±922	3170±394	0.001

hücre içi oksijen konsantrasyonuna cevap olarak artan hipoksi ile tetiklenen faktör (HIF) ve ona bağlı transkripsiyon faktörleri fizyolojik cevabın oluşmasında önemli rol oynarlar (15). Prolidazın aşırı ekspresyonunun da hipoksi ile tetiklenen faktör (HIF-1a) seviyesi ve vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) gibi HIF-1a bağımlı gen ürünlerini yükselterek etki gösterdiği gösterilmiştir (16). Bu faktörler eritropoezis ve angiogenezisin oluşumunu sağlayarak azalmış oksijen miktarına karşı plasentanın adaptasyonunu sağlar (17). Bu nedenle plasentadaki prolidaz artışının plasental adaptasyonu sağlayarak fetüsün gelişiminde katkı sağladığını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, preeklampside plasentada artmış prolidaz seviyeleri, plasentada değişen kollajen turnover oranını desteklemektedir. Ancak prolidazın preeklampitik gebelerde gebelik haftasına ve fetüs gelişimini nasıl etkilediğini gösteren ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) Practice bulletin: Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol* 2002;99(1):159-67.
2. Amenta PS, Gay S, Vaheri A, Martinez-Hernandez A. The extracellular matrix is an integrated unit: ultrastructural localization of collagen types I, III, IV, V, VI, fibronectin, and laminin in human term placenta. *Coll Relat Res* 1986;6(2):125-52
3. Zanaboni G, Dyne KM, Rossi A, Monafò V, Cetta G. Prolidase deficiency: biochemical study of erythrocyte and skin fibroblast prolidase activity in Italian patients. *Haematologica* 1994;79(1):13-8
4. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy: Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1-22.
5. Ozturk E, Balat O, Acılmış YG, Özcan C, Pence S, Erel Ö. Measurement of the placental total antioxidant status in preeclamptic women using a novel automated method. *J Obstet Gynaecol Res* 2011;37(4):337-42.
6. Myara I, Myara A, Mangeot M et al. Plasma prolidase activity: a possible index of collagen catabolism in chronic liver disease. *Clin Chem* 1984; 30:211-15.
7. Kurien BT, Patel NC, Porter AC, D'Souza A, Miller D, Matsumoto H, Wang H, Scofield RH. Prolidase deficiency and the biochemical assays used in its diagnosis. *Anal Biochem* 2005;349(2): 165-75.
8. Myara I, Charpentier C, Gantier M, Lemonnier A: A cell density affects prolidase and prolinase activity and intracellular amino acid levels in cultured human cells. *Clin Chim Acta* 1985;150: 1-9.
9. Surazynsk A, Miłtyk W, Palka J, Phang JM. Prolidase-dependent regulation of collagen biosynthesis. *Amino Acids* 2008;35:731-8
10. Bańkowski E, Romanowicz L, Jaworski S. Collagen of umbilical cord arteries and its alterations in EPH-gestosis. *Journal of Perinatal Medicine* 1993;21(6): 491-8
11. Iwahashi M, Ooshima A, Nakano R. Increase in the relative level of type V collagen in the placenta of patients with pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod* 1997;3(8):725-8.
12. Vural M, Toy H, Camuzcuoglu H, Aksoy N. Comparison of prolidase enzyme activities of maternal serum and placental tissue in patients with early pregnancy failure. *Arch Gynecol Obstet* 2011;283(5):953-8.
13. Lunell NO, Nylund LE, Lewander R, Sarby B. Uteroplacental blood flow in preeclampsia measurements with indium-113m and a computer-linked gamma camera. *Clin Exp Hypertens B* 1982;1(1):105-17
14. Soleymanlou N, Jurisica I, Nevo O, et al. Molecular evidence of placental hypoxia in preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(7):4299-308.
15. Zamudio S, Wu Y, Ietta F, et al. Human placental hypoxia-inducible factor-1alpha expression correlates with clinical outcomes in chronic hypoxia in vivo. *Am J Pathol* 2007;170(6):2171-9.
16. Surazynski A, Donald SP, Cooper SK, et al. Extracellular matrix and HIF-1 signaling: the role of prolidase. *Int J Cancer* 2008;122(6):1435-40.
17. Zamudio S. The placenta at high altitude. *High Alt Med Biol* 2003;4:171-91.