

**T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**AKTİF VE KONTROL ALTINDA OLAN AKROMEGALİ
HASTALARINDA KATEPSİN-B, MATRİKS METALLOPROTEİNAZ
2 VE 9 DÜZEYLERİ VE IGF-1 İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Alper Çağrı KARCI

ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI BİLİM DALI

KOCAELİ – 2012

**T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**AKTİF VE KONTROL ALTINDA OLAN AKROMEĞALİ
HASTALARINDA KATEPSİN-B, MATRİKS METALLOPROTEİNAZ**

2 VE 9 DÜZEYLERİ VE IGF-1 İLE İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Alper Çağrı KARCI

ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI BİLİM DALI

**Tez Danışmanı Öğretim Üyesi: Prof.Dr. Zeynep CANTÜRK
İç Hastalıkları A.B.D Başkanı : Prof.Dr. Ahmet YILMAZ**

KOCAELİ – 2012

Etik Kurul onayının tarih ve numarası: 04.04.2011 KAEK 2/15

TEŞEKKÜR

Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları yan dal ihtisasım süresince bilgi, deneyim ve desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Zeynep CANTÜRK hocama ve Prof. Dr. Berrin ÇETİNARSLAN , Prof. Dr. İlhan TARKUN hocalarıma emeklerinden dolayı teşekkür ederim.

İhtisasım sırasında birlikte çalıştığım uzman ve asistan arkadaşlarıma ayrıca serviste ve poliklinikte yardımlarını esirgemeyen hemşire arkadaşlara ve hastane personeline teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan anneme, babama ve kardeşime teşekkürü bir borç bilirim.

Her zaman yanımda olan ve desteğini esirgemeyen değerli eşim Ebru Karcı'ya ve en güzel varlığım kızım Gökçe'ye sonsuz sevgilerimi gönderirim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa No

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	iv
Şekiller Dizini	v
Tablo Dizini	vi
1. Amaç ve Kapsam	1
2. Genel Bilgiler	4
2.1. Akromegali Tanımı ve Epidemiyolojisi	4
2.2. Akromegali Nedenleri	4
2.3. Akromegali'nin Klinik Özellikleri	6
2.4. Akromegali Tanısı	9
2.5. Akromegali Tedavisi	11
2.6. Akromegali Kür Kriterleri	13
2.7. Ekstrasellüler Matris ve Bazal Membran	16
2.8. Matris Metalloproteinazlar	17
2.8.1. Matris Metalloproteinazların Genel Özellikleri	17
2.8.2. Matris Metalloproteinazların Yapısı	17
2.8.3. Matris Metalloproteinazların Sınıflandırılması	19
2.8.4. Matris Metalloproteinazların Aktivitelerinin Düzenlenmesi	19
2.8.5. Matris Metalloproteinazların Endojen Doku İnhibitörleri	22
2.8.6. Jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9)	23
2.8.7 Matris Metalloproteinazlar ve Patolojik Etkileri	24
2.9. Katepsinler	25
2.9.2 Sistein Katepsinler	26
2.9.3. Katepsin B	31
2.10. Hipofiz tümörleri ile MMP-2, MMP-9 ve Katepsin B İlişkisi	32
3. Gereç ve Yöntem	35
4. Bulgular	37
5. Tartışma	49
6. Sonuçlar ve Öneriler	53

7. Özet	54
8. Abstract	55
9. Kaynaklar	56



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
ADAM	Disintegrin ve Metalloproteinaz
DA	Dopamin Agonisti
DI	Diabetes Insipidus
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ER	Endoplazmik Retikulum
GH	Büyüme Hormonu
GHRH	Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IGFBP-3	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayan Protein-3
MAPK	Mitojen Aktive Edilmiş Protein Kinazlar
MMP	Matriks Metalloproteinaz
MT-MMP	Membran Tip Matriks Metalloproteinaz
MR	Manyetik Rezonans
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
PRL	Prolaktin
RİA	Radioimmunoassay
SMR	Standardize Edilmiş Mortalite Oranı
SSA	Somatostatin Analogları
TIMP	Matriks Metalloproteinaz Endojen Doku İnhibitörleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1 : MMP enzimlerinin moleküler yapısı	18
Şekil 2 : MMP enzim aktivitesinin düzenlenmesi	21
Şekil 3 : MMP'lerin hücre yüzeyi ile ilişkili aktivasyon kaskadı	22
Şekil 4 : Katepsinlerin sentezi ve hücre içinde aktif hale gelmesi	30
Şekil 5 : Katepsin B için ROC eğrisi	43
Şekil 6 : MMP-2 için ROC eğrisi	45
Şekil 7 : MMP-9 için ROC eğrisi	46
Şekil 8 : GH, IGF-1, Katepsin B, MMP-2, MMP-9 ROC eğrilerinin Karşılaştırılması	47

TABLolar DİZİNİ

Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1 : Akromegali nedenleri	5
Tablo 2 : Akromegali’de görülen klinik belirti ve bulgular	7
Tablo 3 : Akromegali hastalarında tedavi stratejisi	12
Tablo 4 : Akromegali tedavi sonuçlarının değerlendirilmesi	14
Tablo 5 : Akromegali hastalarında uyumsuz GH ve IGF-1 nedenleri	15
Tablo 6 : Matriks Metalloproteinaz ailesi üyeleri	20
Tablo 7 : Clan C1A sistein katepsinlerin sınıflaması	27
Tablo 8 : Akromegali hastalarının yaş ve cinsiyet özellikleri	37
Tablo 9 : Akromegali hastalarının tanı süresi, adenom boyutu ve operasyon sayılarına ait özellikler	37
Tablo 10 : Akromegali hastalarında uygulanan tedavi özellikleri	38
Tablo 11 : Akromegali hastalarının diğer hipofiz hormon durumları	39
Tablo 12 : Akromegali seyrinde eşlik eden hastalıkların dağılımı	41
Tablo 13 : Aktif ve kontrol altındaki hastalarda MMP-2, MMP-9 ve katepsin B düzeylerinin karşılaştırılması	42
Tablo 14 : Katepsin B için ROC eğrisine göre kestirim noktaları	43
Tablo 15 : MMP-2 için ROC eğrisine göre kestirim noktaları	44
Tablo 16 : MMP-9 için ROC eğrisine göre kestirim noktaları	46
Tablo 17 : GH, IGF-1, MMP-2, MMP-9 ve katepsin B’nin ROC eğrisi altında kalan alan açısından karşılaştırılması	48

1 . AMAÇ ve KAPSAM

Akromegali, büyüme hormonu (GH) ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) artışına bağlı olarak gelişen ilerleyici kronik bir hastalıktır. Hastaların % 95' inden fazlasında neden GH salgılayan bir hipofiz adenomudur (1). Tanı anında akromegali hastalarının yaklaşık % 75'inin hipofiz bezinde makroadenom (adenom çapı 1 cm. ve üzeri) vardır (2). İspanya verilerini içeren 1196 akromegali hastanın yer aldığı bir çalışmada ise hipofizde makroadenom sıklığı %77 oranında bildirilmiştir (3).

Hipofiz adenomları çoğunlukla benign tümörler olmasına rağmen %30 kadarı sellar ve parasellar yayılım göstererek optik kiazma, kavernöz sinüs, klivus ve sfenoid sinüs gibi lokal yapılara invazyon gösterir ve invaziv hipofiz adenomu olarak adlandırılır (4,5). Fakat bu invazyonun nedeni tam olarak anlaşılabilmiş değildir. İnvaziv hipofiz adenomlarında en sık kullanılan belirteç Ki-67 proliferasyon indeksidir. Ki-67 proliferasyon indeksi yüksek (>% 3) olan adenomlar atipik adenom olarak adlandırılmakta ve agresif büyüme özelliği gösterebilmektedir (6,7). Çevre dokulara tümör invazyonu karışık bir süreçtir ve çoğunlukla daha agresif ve malign tümör davranışı ile ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda diğer kanserlerin invazyon ve metastaz sürecinde doğal bariyerler olan ekstraselüler matriks (ESM) ve bazal membranların yıkıldığı gösterilmiştir. Bu bariyerlerin yıkımında tümör hücreleri tarafından salgılanan ve proteazlar olarak adlandırılan serin proteazlar, katepsinler ve matriks metalloproteinazlar (MMP) rol oynamaktadır. Normal hipofiz dokusu ve hipofiz adenomları ESM içeren ve kanlanması çok olan tümörlerdir. Hipofiz adenomu oluşumunda ve invazyonunda da proteolitik enzimlerin rol oynayabileceği düşünülmüştür (8,9). İlk olarak Kawamoto ve arkadaşları 1996 yılında 2 farklı çalışmada invaziv hipofiz adenomlarında MMP-9 ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir (10,11). Bundan sonra yapılan farklı çalışmalarda da cerrahi sonrası çıkarılan hipofiz adenom dokularında MMP ekspresyonu ve boyanma derecelerini gösteren çalışmalar devam etmiştir. Bu çalışmalarda MMP ekspresyonu ile hipofiz

tümör invazyonu arasındaki ilişki olmadığını gösteren çalışmalar olduğu gibi (12,14), invaziv hipofiz adenomlarında MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonunun arttığını gösteren çalışmalar da vardır (13,15). Hipofiz adenomlarıyla katepsin B ekspresyonu arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar da vardır. Fonksiyon göstermeyen hipofiz adenomlarının değerlendirildiği bir çalışmada katepsin B ekspresyonu ile hipofiz adenomu arasında bir ilişki gösterilememiştir (16). Bunun yanında başka bir çalışmada histolojik olarak atipik adenomlarda katepsin B ve L boyanma düzeyi tipik adenomlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Fakat bu çalışmada normal hipofiz dokusunda katepsin B ve L boyanma düzeyinin hipofiz adenomlarında görülen boyanma düzeyinden anlamlı olarak daha fazla olduğu görülmüştür (17).

Akromegali hastalarında çoğunlukla ilk tedavi seçeneği transsfenoidal yol ile cerrahidir. Fakat bazı özel durumlarda ise medikal tedavi primer seçenek olarak kullanılmaktadır. Cerrahi ile kontrol altına alınamayan hastalarda adjuvan olarak medikal tedavi verilmektedir. Cerrahi ve/veya medikal tedaviyle kontrol altına alınamayan hastalarda radyoterapi tedavi seçeneği olarak uygulanmaktadır (18). Akromegali hastalarında uygulanan tedaviye biyokimyasal cevabın izlenmesinde GH ve IGF-1 düzeyleri birlikte değerlendirilmelidir. Genel olarak GH ve IGF-1 düzeyleri uyumlu olmasına rağmen akromegali hastalarında tedavi sonrası GH ve IGF-1 arasındaki yaklaşık % 30 oranında uyumsuzluk görülmektedir (19-21). Bu uyumsuzluğun nedenleri GH ve IGF-1 ölçüm yöntemlerinde standardizasyonun olmaması, yeterli GH örneklemesinin yapılmaması, yaş ve cinsiyet etkisi, GH ve IGF-1 düzeylerini etkileyen komorbid hastalıkların varlığı ve bağlanma proteinlerinde genetik farklılıklardır (22-24). GH ve IGF-1 ölçümleri arasında uyumsuzluk görülen hastalarda hastalık aktivitesini belirlemek için bakılan insülin benzeri büyüme faktör bağlayıcı protein 3 (IGFBP-3) ve asit labil subünit ölçümü tek başına IGF-1 ölçümüne ek fayda sağlamamıştır (25,26). GH ve IGF-1 düzeyleri arasında uyumsuzluk görülen hastalarda hastalık aktivitesiyle çeşitli moleküllerin ilişkisi incelenmiştir. Yapılan bir çalışmada aktif akromegalili hastaların MMP-2 düzeylerinin sağlıklı kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu ve pegvisomant ile tedavi sonrasında MMP-2 düzeylerinin tedavi öncesi değerlere göre anlamlı şekilde düşüş gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışmada MMP-2 düzeyleri ve IGF-1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon görülmüştür

(27). 2010 yılında Darozewski ve arkadaşları akromegali hastalarında katepsin B ve sistein proteaz inhibitör aktivitelerinin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğunu göstermişlerdir (28).

Bu çalışmada aktif olan ve kontrol altındaki akromegali hastalarında MMP-2, MMP-9 ve katepsin B düzeylerini karşılaştırmayı ve bu belirteçlerin GH ve IGF-1 düzeyleri ile ilişkisini incelemeyi amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Akromegali Tanımı ve Epidemiyolojisi

Akromegali çoğunlukla hipofiz bezinde GH salgılayan bir adenoma bağlı olarak gelişen pek çok organ sisteminin etkilendiği, somatik ve metabolik bozuklukların eşlik ettiği nadir görülen bir hastalıktır (29). 1864 yılında Verga'nın prospektasia olarak tanımladığı bir vakadan sonra 1886 yılında Fransız nörolog Pierre Marie tarafından akromegalinin klinik özellikleri tanımlanmıştır (30,31). 1900 yılında Broca akromegali tanılı bir hastanın grafilerinde sellada genişleme olduğunu fark etmiştir (32). 1909 yılında ise Harvey Cushing tarafından akromegali tanılı bir hastaya transsfenoidal olarak parsiyel hipofizektomi uygulanmıştır (33).

Akromegali 3-4/1 milyon insidansa ve 40-125/1 milyon prevalansa sahiptir. Akromegalide ortalama tanı yaşı 40-45 yaşları arası olup, kadın ve erkekte eşit sıklıkta görülmektedir (34,35). Akromegali başlangıcı sinsi ve progresyonu yavaş bir hastalık olduğu için semptomların başlangıcı ile tanı arasında ortalama 7 ila 10 yıl arasında bir süre geçmektedir (36).

2.2 Akromegali Nedenleri

Akromegalinin en sık nedeni ön hipofiz bezinden kaynaklanan ve aşırı GH sekresyonuna yol açan somatotrop adenomlardır. Nadiren hipofiz dışı nedenlerde GH ve büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) sekresyonuna yol açarak akromegali kliniğine yol açabilirler. Akromegali nedenleri Tablo 1'de gösterilmiştir (1). Akromegalili hastaların % 30'unda prolaktin (PRL) düzeyleri artmıştır. Bazı adenomlarda GH ve PRL farklı hücrelerden salgılanırken, bazılarında aynı hücreler tarafından salgılanmaktadır yapılmaktadır. Ayrıca adenomun hipofiz sapına bası oluşturması da PRL artışına yol açabilir.

Tablo 1. Akromegali nedenleri (1).

1. Primer GH Artışı

GH adenomu
Karışık GH ve PRL adenomu
Mammomatotrop adenom
Plurihormonal adenom
GH hücre karsinomu

Ailesel Sendromlar

Ailesel akromegali
Multipl Endokrin Neoplazi tip 1
Mc-Cune Albright sendromu
Carney kompleksi

2. Hipofiz Dışı GH Artışı (Ektopik veya İyatrojenik)

Pankreas adacık hücre tümörü
Lenfoma
İyatrojenik

3. GHRH Artışı

A. Santral Ektopik (< 1 %)

Hipotalamik hamartoma, koristoma, ganglionöroma

B. Periferik Ektopik (< 1 %)

Bronşiyal karsinoidler, pankreas adacık hücre tümörü, küçük hücreli akciğer kanseri, medüller tiroid karsinomu, feokromositoma

Nadiren GH sekresyonuyla birlikte adrenokortikotropik hormon (ACTH), tiroid stimüle edici hormon (TSH) sekresyonuna yol açan plurihormonal (çoklu hormon salgılayan) hipofiz adenomları da görülebilir (37).

2.3 Akromegalinin Klinik Özellikleri

Akromegalide görülen klinik belirti ve bulgular hipofiz adenomunun kitle etkisine bağlı olarak ve GH ve IGF-1 artışı sonucunda ortaya çıkar. 164 hastalık bir seride hastaların % 35'inin dış görünümünde akromegalik değişiklikler nedeniyle hastaneye başvurduğu bildirilmiştir(4). Naborro'nun 256 hastayı içeren derlemesinde ise hastaların sadece %13'ünün akrall değişiklikler nedeniyle başvurduğu belirtilmiştir (38). Akromegali seyrinde görülebilen, vücutta pek çok organ sisteminin etkilenmesi sonucu ortaya çıkan belirtiler ve klinik bulgular tablo 2'de gösterilmiştir (1).

Akromegali hastalarının yaklaşık %55'inde baş ağrısı görülmekte ve çoğunlukla tümörün suprasellar yayılımı sonucu duranın gerilmesine bağlı olarak meydana gelmektedir. Nadiren kavernoöz sinüs invazyonuna bağlı trigeminal sinir irritasyonu sonucu baş ağrısı gelişebilmektedir (1,2,35). Suprasellar yayılım gösteren makroadenomlar optik kiazmaya bası oluşturarak görme alanı bozukluklarına yol açmakta, kavernoöz sinüs invazyonu sonucu 3. ve 4. kranial sinir hasarına bağlı oftalmopleji gelişebilmekte ve makroadenomun normal hipofiz bezine basısı nedeniyle hipofiz hormon eksiklikleri gelişebilmektedir. En çok gonadotropinler etkilenmekte olup ve hastalar hipogonadizm semptomları ile başvurabilmektedir. 363 hastayı içeren bir çalışmada erkeklerin % 49 unda ve kadınların % 57 sinde hipogonadizm saptanmıştır (39,40).

Akrall ve yumuşak dokularda büyüme ve ciltte kalınlaşma akromegalili hastaların büyük çoğunluğunda görülmektedir. El ve ayaklarda büyüme olmakta, frontal kemikte belirginleşme, maksiller genişleme, burunda büyüme, dişlerin ayrılması, ve prognatizm akromegalik hastalarda kaba bir yüz görünümünün ortaya çıkmasına yol açmaktadır (41). Kötü kokulu aşırı terleme ve yağlı cilt yapısı hastaların % 60-80'inde vardır (42). Sinoviyal doku ve kıkırdakta büyüme diz, ayak bileği, kalçave diğer eklemlerde hipertrofik artropatiye yol açmakta, sırt ve eklem ağrıları görülmektedir (43).

Tablo 2. : Akromegalide görülen klinik belirti ve bulgular (1)

<p>Lokal tümör etkisi Hipofizde genişleme Görme alanı defekti Kranial sinir felci Baş ağrısı</p> <p>Kas iskelet sistemi Akral büyüme Deri kalınlığında artış Yumuşak doku hiperplazisi Gigantizm Prognatizm Çene maloklüzyonu Artralji, artrit Karpal tünel sendromu Akroparestezi Proksimal myopati Frontal kemik hipertrofisi</p> <p>Cilt Hiperhidrozis Yağlı cilt Cilt katlantıları</p> <p>Gastrointestinal sistem Kolon polipi Safra taşı (tedavi ile)</p> <p>Kardiyovasküler sistem Sol ventrikül hipertrofisi Asimetrik septal hipertrofi Kardiyomiyopati Hipertansiyon Konjestif kalp yetmezliği</p> <p>Pulmoner sistem Uyku bozuklukları Uyku apnesi (santral ve obstruktif) Narkolepsi Kifoskolyoz nedeniyle restriktif tipte kısıtlanma</p>	<p>Viseromegali Dil Tiroid bezi Tükürük bezleri Karaciğer Dalak Böbrek Prostat</p> <p>Endokrin ve metabolik sistem Üreme sistemi Menstruel bozukluklar Galaktore Azalmış libido, impotans MEN Tip 1 Hiperparatiroidizm Pankreas adacık hücre tümörü Karbonhidrat metabolizması Bozulmuş glukoz toleransı İnsülin direnci ve hiperinsülinemi Diabetes mellitus Lipid Hipertrigliseridemi Mineral Hiperkalsümi 25 hidroksi Vitamin D₃ düzeylerinde artış Elektrolit Düşük renin düzeyi Artmış aldosteron düzeyi Tiroid Nodüler guatr Düşük tiroksin bağlayıcı globulin düzeyi</p> <p>Malignansi Kolon kanseri Tiroid kanseri Meme kanseri</p>
---	---

Hastaların yaklaşık % 60-70'inde uyku apne sendromu bulunmaktadır. Uyku apnesi çoğunlukla makroglossiye ve farenks ve larenkste yumuşak doku hipertrofisine bağlı olarak obstrüktif tiptedir. Fakat bir grup hastada GH ve IGF-1'in solunum kontrol merkezine etkileri nedeniyle santral tip uyku apne sendromu görülebilmektedir (44). Akromegali hastalarında en sık görülen kardiyak tutulum şekli konsantrik biventriküler hipertrofidir. Hastanın yaşı ve hastalığın süresi hipertrofi derecesiyle yakından ilişkilidir. Hastalığın erken dönemlerinde diastolik disfonksiyon görülürken hastalığın ilerlemesiyle sistolik fonksiyonlarda bozulma da klinik tabloya eklenebilir. Tanı veya tedavinin geciktiği hastalarda dilate kardiyomiyopati ve konjestif kalp yetmezliği gelişmektedir. Hastalarda kalp kapak tutulumları ve % 40 oranında aritmiler görülür. Akromegali hastalarında aldosteron düzeyinde artış olması böbreklerden sodyum ve su tutulumunda artışa neden olarak plazma volümünde artışa yol açmaktadır. Bu nedenle hastaların yarıya yakınında hipertansiyon görülmektedir (45). Akromegalide GH artışı insülin direncine neden olmakta, bunun sonucunda % 46'ya varan oranda bozulmuş glukoz toleransı, % 56'ya varan oranda diyabetes mellitus varlığı gelişmektedir (3,35,46).

Akromegali hastalarında kolonda polip görülme sıklığı aynı yaştaki kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (47). Yapılan retrospektif çalışmalar kolon kanseri başta olmak üzere kanser sıklığının arttığını gösterse de, bu konu halen tartışmalıdır. Fakat akromegali hastalarında kolon kanseri varsa mortalite oranının genel popülasyon için beklenenden 2.47 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir (48).

Büyük retrospektif serilerde akromegali hastalarında mortalitenin genel popülasyona göre arttığı gösterilmiştir. Mortalitenin en önemli nedenleri kardiyovasküler hastalıklar, solunum sistemi hastalıkları ve kanserdir. 2008 yılında yayınlanan ve 16 çalışmanın incelendiği bir meta analizde akromegali hastalarında standardize edilmiş mortalite oranı (SMR) 1.72 olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada radioimmunoassay (RIA) yöntemiyle ölçülen bazal GH düzeyi 2.5 ng/ml ve altında olan hastalarda SMR 1.1 olarak bulunurken, bazal GH düzeyi 2.5 ng/ml üzerinde olanlarda SMR 1.9 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada IGF-1 düzeyi yaşa ve cinsiyete göre normal aralıkta olan hastalarda SMR 1.1 olarak bulunurken, IGF-1 düzeyi yüksek olan hastalarda SMR 2.5 olarak bulunmuştur (49,50).

2.4 Akromegali Tanısı

Klinik özelliklere göre akromegaliden şüphelenildiyse bir sonraki basamak biyokimyasal olarak akromegali varlığını göstermek olmalıdır. Normal insanlarda GH pulsatil ve diüurnal olarak salgılanır ve açlık, egzersiz, stres ve uyku gibi faktörler GH sekresyonunu uyarır. GH'un yarılanma süresi kısa olduğu için plazmadan klerensi de hızlıdır. Bu özellikler sonucunda GH seviyeleri gün içerisinde değişkenlik göstermektedir. Karaciğer hastalığı, malnutrisyon ve kontrolsüz diyabetes mellitus gibi hastalıklar varlığında GH seviyeleri yüksek bulunabilir. Bu nedenlerden dolayı akromegali tanısında bazal ve rastgele ölçülen GH değeri kullanılmamalıdır (51). GH sekresyonunda artış karaciğerde IGF-1 sentezini de artırmaktadır. IGF-1 düzeyleri GH gibi gün içerisinde değişkenlik göstermez ve gün içerisindeki entegre GH sekresyon durumunu yansıtır. Serum IGF-1 düzeyleri akromegalili hastalarda artmıştır ve hastaların sağlıklı insanlardan ayırımında faydalıdır. Bu nedenle akromegali tarama testi olarak kullanılmaktadır. GH düzeyleri 20µg/L'nin üzerine çıkınca IGF-1 konsantrasyonları plato çizmeye başlar. Normal insanlarda IGF-1 düzeyleri puberte sırasında en yüksek iken ilerleyen yaşla birlikte azalır. Bu nedenle IGF-1 düzeylerini doğru ve güvenilir olarak değerlendirebilmek için her iki cins için yaş uyumlu referans aralıklarının belirlenmesi gerekmektedir. Karaciğer yetmezliği, malnutrisyon, kötü kontrollü diyabetes mellitus ve oral östrojen kullananlarda IGF-1 düzeyi düşük ölçülebilir. Gebelerde plasentadan salgılanan GH nedeniyle IGF-1 değerleri yükselmektedir (52-54).

Bazal, rastgele ölçülen GH düzeyinin akromegali tanısında kullanımı sınırlı olmakla birlikte, 75 gram glukoz ile yapılan oral glukoz tolerans testi (OGTT) ile GH supresyonunun değerlendirilmesi altın standart olarak kabul edilmektedir. 2000 yılında Akromegali Konsensus Grubu tarafından oluşturulan konsensus raporunda OGTT sırasında RIA yöntemi ile ölçülen en düşük GH düzeyinin 1 µg/ L altına düşmesi supresyon için yeterli olarak kabul edilmekteydi. Fakat günümüzde GH ölçümü için radyoimmünetrik veya kemiluminesent gibi ultrasensitif yöntemlerin kullanılması ile OGTT sırasında en düşük GH düzeyinin 0.3 µg/L veya 0.4 µg/L'nin altına düşmesi normal cevap olarak kabul edilmektedir (55-57). Sonuç olarak

akromegali tanısı için IGF-1 düzeyinin yaş ve cinsiyete göre normal aralığın üzerinde olması ile birlikte OGTT sırasında ultrasensitif yöntemlerle ölçülen en düşük GH düzeyinin 0.4 µg/L'nin üzerinde olması gerekmektedir (57).

GH ve IGF-1 ölçümlerinde kullanılan yöntem, kullanılan kalibratör, ölçülen birim, normal popülasyonun referans aralıkları arasında farklılıklar olması yorum gücüne ve standardizasyon eksikliğine neden olmaktadır. GH ölçümlerinin değerlendirilmesini iyileştirmek için ilk basamak olarak Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün uluslararası standart olarak önerdiği IS 98/574'ün referans kalibratör olarak kullanılması kuvvetli bir şekilde önerilmektedir. Ölçülen GH sonuçları mutlaka mikrogram/litre (µg/L) cinsinden verilmelidir. Kullanılan yöntemler ilk olarak GH'un 22 kDa izoformunu ölçmek için veya ikinci seçenек olarak GH'nun multipl izoformlarını ölçmek için standardize edilmelidir (58). Fakat aynı ve DSÖ tarafından önerilen standart kalibratör kullanılmasına rağmen aynı kişilerin farklı assaylerde ölçülen GH düzeyleri farklılık gösterebilmektedir. Yapılan bir çalışmada Immulite 2000 assay ile ölçülen GH sonuçları, Nichols Advantage assay ile ölçülen GH sonuçlarından 2.3 kat daha yüksek bulunmuştur. Bu nedenle kullanılan assaye göre GH eşik değerlerinin belirlenmesi gerektiği ve ayrıca yaş, cinsiyet ve vücut kitle indeksine uyarlanmış normal GH değerlerinin geliştirilmesine gerek duyulduğu vurgulanmıştır. Çünkü sağlıklı insanlarda GH düzeyleri kadınlarda erkeklerden, gençlerde yaşlılardan ve zayıf kişilerde aşırı kilolu ve obezlerden yüksek bulunmuştur (22).

IGF-1 ölçümlerini düzeltmek için DSÖ'nün ilk uluslararası standart molükülü olan rekombinant IS 02/254 kullanılmalıdır. Ayrıca IGF-1 ölçümlerini daha da iyileştirmek için çok yüksek spesifitede antikolar kullanılmalı ve IGF-1 bağlayan proteinlerin etkisi ortadan kaldırılmalıdır. İstatistiksel olarak doğru seçilmiş kontrol popülasyonu kullanarak (en az 1000 kişi) ve bu popülasyonu dekatlara ayırarak IGF-1 değerlendirilmesi için normal referans aralık belirlenmelidir. Cinsiyet ve vücut kitle indeksinin etkileri çok azdır ve normal IGF-1 değerleri için uyarılama yapmaya gerek yoktur (54,59,60).

Biyokimyasal olarak akromegali tanısı doğrulandıktan sonra en sık etiyolojik neden olan hipofiz adenomlarını göstermek için hipofizi bez manyetik rezonans (MR) ile görüntülenmelidir. Eğer hipofizde adenom görülemezse ektopik GH

sekresyonu akla gelmelidir. MR ile hipofizde adenom görülmez fakat sellada somatotrop hiperplazi düşündürülen genişleme görülür ise ektopik GHRH salgılayan bir odağın varlığı düşünülmeli ve GHRH seviyesi ölçülmelidir (61).

2.5 Akromegali Tedavisi

Akromegali tedavisinde başlıca amaçlarımız şunlardır :

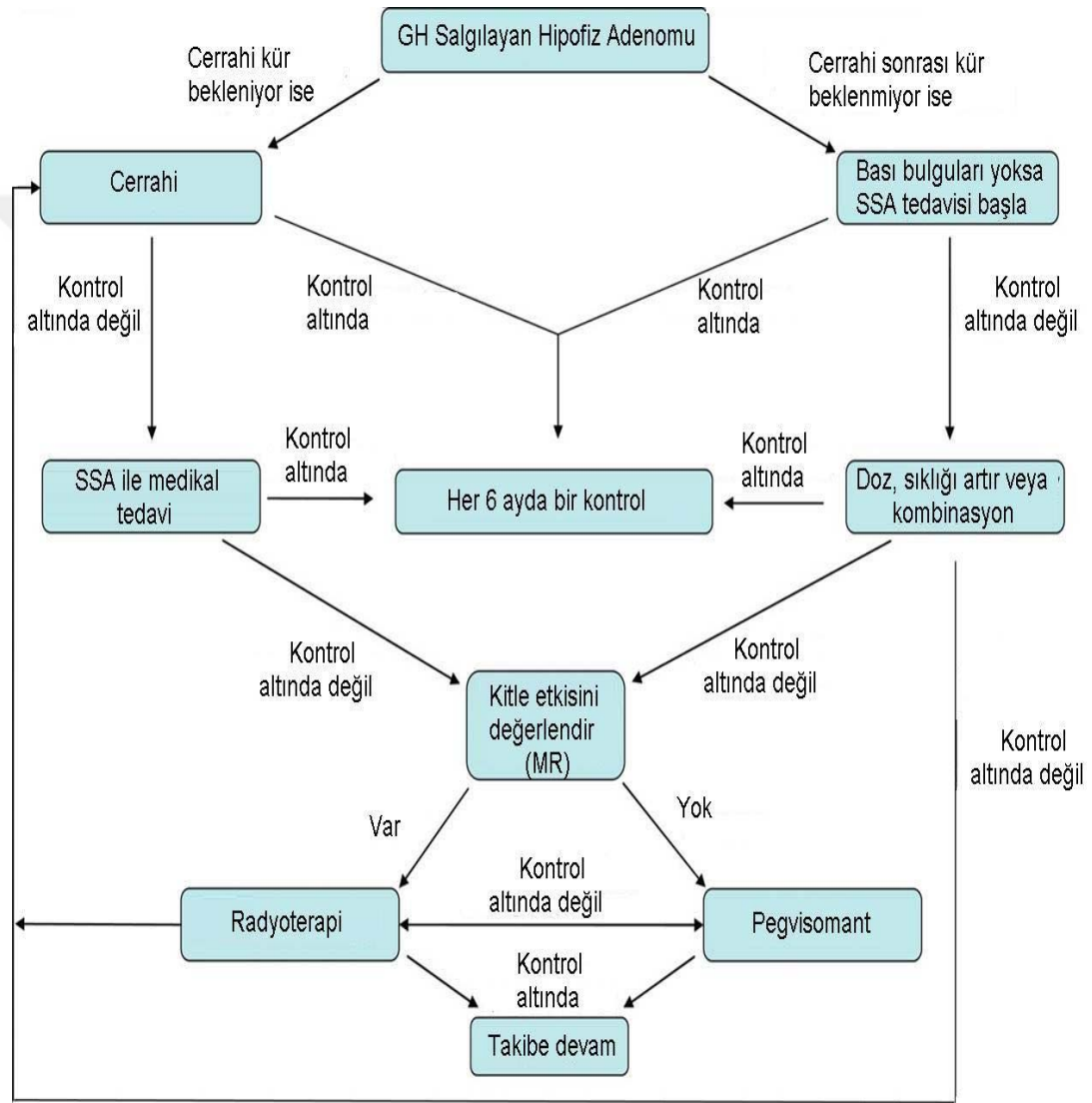
- 1 – Hastalık belirti ve bulgularının gerilemesi veya kaybolması
- 2 – Tümör boyutunun kontrolü ve kitle etkisinin ortadan kaldırılması
- 3 – Hastalık aktivitesini gösteren biyokimyasal kriterlerin hedef düzeylere getirilmesi
- 4 – Birlikte görülen hastalıkların düzeltilmesi veya önlenmesi
- 5 – Mortalitenin azaltılması

Akromegalide mikroadenom, kavernoöz sinüs veya kemik invazyonu yapmayan makroadenom ve kitle etkisine yol açan makroadenom varlığında ilk tedavi seçeneği transsfenoidal yol ile cerrahidir. Eşlik eden hastalıklar nedeniyle cerrahi için anestezi riski yüksek olan veya cerrahi ile kür şansı az olarak değerlendirilen bazı bulgusu yapmayan makroadenom varlığında primer medikal tedavi olarak somatostatin analogları (SSA) kullanılabilir. Ayrıca cerrahi kür şansı az olan hastalarda kitleyi küçültmek amacıyla cerrahi de ilk seçenek olarak önerilebilir (18). Transsfenoidal cerrahi sonrası kür oranı mikroadenomlar için %70-80 oranındayken, makroadenomlar için yaklaşık % 50 olarak bildirilmektedir (62, 63).

Cerrahi sonrası kontrol altına alınamayan hastaların tedavisinde kullanılan üç grup ilaç bulunmaktadır. Bu ilaçlar SSA, dopamin agonistleri (DA) ve GH reseptör antagonistleridir. Cerrahi sonrası kontrol altına alınamayan hastalarda ve primer medikal tedavide en çok SSA'lar kullanılmaktadır. Klinik pratikte en sık kullanılan oktreotide LAR ve lanreotide autogel somotastatin reseptör subtip 2 ve 5'e bağlanarak GH sekresyonunda azalmaya yol açarlar. SSA kullanan hastaların değerlendirildiği bir meta analizde, serum IGF-1 düzeylerinin % 67, GH düzeylerinin % 57 oranında kontrol altında olduğu bildirilmiştir (64). Primer medikal tedavi olarak oktreotide tedavisi alan hastaların % 75'inde tümör boyutlarında % 20'den

fazla küçülme saptanmıştır (65). DA olan kabergolin, dopamin D2 reseptörüne bağlanarak GH sekresyonunda azalmaya yol açar. Yapılan bir çalışmada haftada 1-1.75 mg doz aralığında 3-40 aylık kabergolin kullanımı sonrasında hastaların % 40'ında GH ve IGF-1 değerlerinde düzelmeye görülmüştür (66). Akromegali hastalarında uygulanacak tedavi stratejisi tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Akromegali hastalarında tedavi stratejisi (68)



Pegvisomant rekombinant yöntemlerle elde edilen GH analogudur ve GH reseptör antagonisti olarak davranır. GH reseptörüne bağlanarak GH reseptör dimerizasyonunu önler ve GH'nun etkisini inhibe eder. Bu sayede karaciğerde IGF-1 üretimi azalır. Pegvisomant kullanılan ve ortalama 14 aylık tedavi alan hastaların

sonuçlarının değerlendirildiği bir çalışmada hastaların % 97'sinde IGF-1 düzeyi yaş ve cinse göre normal aralıkta bulunmuştur. Pegvisomant tedavisi ile GH düzeylerinde artış beklendiği için hastaların takibinde sadece IGF-1 ölçümü yeterli olmaktadır (67).

Cerrahi ve / veya medikal tedaviye rağmen tümör kontrolü veya biyokimyasal kontrol sağlanamayan hastalarda radyoterapi tedavi seçeneği olarak düşünülmelidir. Radyoterapi konvansiyonel şekilde veya stereotaktik radyocerrahi yöntemleri ile uygulanabilir. Rezidü tümör çapı büyük ve tümör optik sinirlere çok yakın yerleşimliyse konvansiyonel radyoterapi tercih edilmelidir. Her iki yöntemle de beklenen GH ve IGF-1 normalleşme oranları benzerdir (68).

2.6 Akromegali Kür Kriterleri

Akromegali tedavisinin sonuçlarının değerlendirilmesinde ve takibinde GH ve IGF-1 ölçümleri birlikte kullanılmalıdır. 2000 yılında Akromegali Konsensus Grubu tarafından kür kriterleri, IGF-1 in yaş ve cinsiyete göre normal aralıkta olması ve 75 gram glukoz ile yapılan OGTT sonucunda en düşük GH düzeyinin 1 µg/L nin altında düşmesi olarak kabul edilmiştir (55). Fakat zaman içerisinde bu kriterlerin klinik kullanımında iki sorun dikkati çekmiştir. Birincisi, bu kriterler değişik tedavi modalitelerini değerlendirmek için yeterli esnekliğe sahip değildir. İkinci olarak da GH için belirlenen eşik değeri sensitif yöntemlerle ölçülen GH düzeylerini yansıtmamaktadır. Bunun üzerine Akromegali Konsensus Grubu 2009 yılında akromegali takibinde kullanılan kür kriterlerini değiştirdiler. Yayınlanan bu konsensusa göre; cerrahi sonrası en erken 12. haftada IGF-1 düzeyinin yaşa ve cinse göre normal aralığa gelmesi ile birlikte OGTT sonrası sensitif yöntemlerle ölçülen en düşük GH düzeyinin 0.4 µg/L altında olması durumunda hastalık kontrol altında kabul edilmektedir. SSA ile tedavi edilen grupta ise IGF-1 seviyesinin yaşa ve cinse göre normal aralığa gelmesi ve rastgele ölçülen bazal GH düzeyinin 1 µg/L altında olması durumunda hastalık kontrol altında kabul edilmektedir. Pegvisomant tedavisi alanlarda hastalık kontrolünün tek güvenilir belirteci IGF-1 düzeyinin yaş ve cinse

göre normal aralıkta olması olarak kabul edilmektedir. GH ve IGF-1 arasında uyumsuzluk görülen durumlarda çok sayıda GH örnekleme yapılması (2 saat içerisinde 3-5 defa) önerilmektedir. Tablo 4’de Akromegali Konsensus Grubu tarafından yakın zamanda yayınlanan yeni kontrol kriterleri gösterilmiştir (57).

Tablo 4. Akromegali Tedavi Sonuçlarının Değerlendirilmesi (57)

Sonuç	Kriter (a)	Tedavi
Aktif Hastalık	<ul style="list-style-type: none"> * Rastgele GH > 1µg/L * OGTT sırasında en düşük GH \geq 0.4 µg/ L *Yüksek IGF-1 *Aktif klinik 	<ul style="list-style-type: none"> *Periodik MR *Tedaviye başla veya tedaviyi değiştir *Komorbid hastalıkları araştır ve tedavi et
Kontrol altında Hastalık	<ul style="list-style-type: none"> *Rastgele GH < 1µg/L * OGTT sırasında en düşük GH \leq 0.4 µg/L * Normal IGF-1 	<ul style="list-style-type: none"> *Periodik fakat daha seyrek MR (b) * Mevcut tedaviye devam * SSA dozunun azaltılması düşünülebilir.

- a. Cerrahi sonrası dönemde total IGF-1 ve OGTT sırasında GH değerlendirilmesi, SSA tedavisi alanlarda IGF-1 ve rastgele bazal GH ölçümüyle değerlendirme önerilir. Uyumsuz sonuçlarda GH örnekleme (2 saat içerisinde 3-5 kez) yapılmalıdır. GH ve IGF-1 ölçümlerinde standardize ve ultrasensitif yöntemler kullanılmalıdır.
- b. 2-3 yılda bir

Tedavi sonrası hastaların %30-35’inde GH ve IGF-1 ölçümleri arasında uyumsuzluk görülmektedir. Uyumsuzluk IGF-1 yüksek iken GH’un normal olması veya GH yüksek iken IGF-1’in normal olması şeklinde olabilir (19-22). Uyumsuzluğa neden olan faktörler tablo 5’te gösterilmiştir (23). GH ve IGF-1 arasında uyumsuzluk durumunda 3-4 ay sonra testlerin tekrarlanması önerilmektedir. Bazı hastalarda testler 3-4 ay sonra düzelse de hastalığın çoğunluğunda uyumsuzluk

Tablo 5. Akromegali Hastalarında Uyumsuz GH ve IGF-1 Nedenleri (23)

1) Anormal GH supresyonu ve normal IGF-1 düzeyi

A) Remisyonda hasta

a) GH sekresyonunda bozukluklar

- GH' u düzenleyen nöral veya anatomik ağın bozulması
- Hafif veya erken GH artışı ?

b) Anormal GH supresyonuna neden olan diğer durumlar

- Kronik renal yetmezlik
- Malnutrisyon
- Karaciğer yetmezliği
- Hipertiroidizm
- Aktif hepatit
- Diyabetes Mellitus
- Anoreksiya Nervoza
- Adolesan yaş grubu

c) GH supresyonu için eşik değerin kullanılan GH ölçümleme yöntemi için uygunsuz olarak düşük olması

B) Aktif hasta

a) IGF-1 seviyesinde düşüşe yol açan nedenler

- Malnutrisyon
- Anoreksiya Nervoza
- Karaciğer yetmezliği
- Hipotiroidizm
- İnsülin ile tedavi edilen kötü kontrollü diyabetes mellitus varlığı
- Oral östrojen kullanımı

2) Normal GH supresyonu ve artmış IGF-1 düzeyi

A) Remisyonda hasta

a) IGF-1 düzeyinde artışına yola açan nedenler

- Adolesan yaş grubu
- Gebelik
- Hipertiroidizm (hafif yükseklik)
- IGF-1 ölçüleme yöntemi problemleri

b) Cerrahi sonrası erken dönem

B) Aktif hasta

- GH supresyonu için eşik değerin ölçüleme yöntemine göre yüksek olması
- Kolayca suprese edilebilen erken veya hafif aktif akromegali varlığı

devam eder. Bu durumda uyumsuzluğa yol açabilecek faktörler gözden geçirilmelidir. Bu hasta grubunda tedavi kararı genellikle IGF-1 düzeyine göre verilmektedir. Eğer IGF-1 yüksek ise tedavi değişikliği veya doz artırılması düşünülmelidir. IGF-1 düzeyi normal fakat GH düzeyi suprese olmayan hastalar çoğunlukla kontrol altında kabul edilirler, fakat bu hastalarda nüks riskinin yüksek olduğu belirtilmektedir ve daha yakın takip gerekmektedir (23).

2.7 Ekstrasellüler Matriks ve Bazal Membran

Ekstrasellüler matriks (ESM) hücreler arası boşluklarda özel bir ortam oluşturan doku bütünlüğü ve homeostazından sorumlu, hücreleri birbirine bağlayan ve destekleyen kompleks, dinamik ve interaktif bir yapıdır. ESM hücre gelişimi, migrasyonu, proliferasyonu ve metabolik fonksiyonlar gibi hücreyi ilgilendiren olayların düzenlenmesinde ve hücre içi sinyal yolları ile etkileşime girerek hücrelere bilgi aktarılması gibi süreçlerde önemli rol oynamaktadır (69,70). ESM bazal membran ve interstisyel bağ dokusu olmak üzere iki bölümden oluşur. Bazal membran epitel ve endotel hücrelerini doku stromasından ayıran bariyer görevi gören bir yapıdır. Bazal membran yapısında yer alan en önemli protein 1000 kDa ağırlığında olan laminindir. Laminin epitel ve malign hücreler tarafından sentezlenir ve epitel hücrelerinin doku stromasına tutunmasına yardımcı olur. Tip IV kollajen bazal membran yapısında yer alan en önemli kollajendir, ve fibrillere polimerize olarak bazal membranın yoğun lamina densa tabakasına katkıda bulunur. Bazal membran yapısında hücre adhezyon reseptörleri için ligand görevi gören ve büyüme faktörleri için kaynak oluşturan proteoglikanlar da vardır. İnterstisyel bağ dokusu ise kollajen fibrilleri, proteoglikanlar, glikoproteinler, glikozaminoglikanlar ve elastin içerir (70-72).

Doku yenilenmesi, anjiogenez, kemiğin yeniden yapılanması, yara iyileşmesi, trofoblast implantasyonu gibi fizyolojik olaylarda ESM'in yeniden şekillenmesi, tümör invazyonu ve metastaz gibi patolojik durumlarda ise ESM'in yıkılması gerekmektedir. ESM yıkımında görev alan enzimler genel olarak proteazlar olarak adlandırılır ve 4 grupta incelenir :

- 1) Serin proteazlar
- 2) Sistein protezlar
- 3) Aspartik protezlar
- 4) Matriks metalloproteinazlar (73,74).

2.8 Matriks Metalloproteinazlar

2.8.1 Matriks Metalloproteinaz'ların Genel Özellikleri

Matriks metalloproteinazlar (MMP) çinko içeren, nötral ortamda etki gösteren ve endopeptidaz ailesinin üyesi olan proteazlardır. Matriksinler olarak da adlandırılırlar. Bazal membranın bütün komponentlerini parçalama özelliğine sahiptirler.Yara iyileşmesi, organogenez, uterus involüsyonu gibi fizyolojik durumlarda rol aldıkları gibi; inflamatuvar, vasküler, otoimmün ve karsinogenez gibi patoljik süreçlerde de yer alırlar. İnsan genomu 24 matriksin geni içermektedir. Mmp 23 geni çift olarak bulunduğu için vücutta 23 farklı MMP enzimi bulunmaktadır (75-78). Ayrıca MMP ile ilişkili olan disintegrin ve metalloproteinaz (ADAM) olarak adlandırılan ve çinko içeren bir proteinaz ailesi daha bulunmaktadır. ADAM grubu iki alt grup içermektedir :

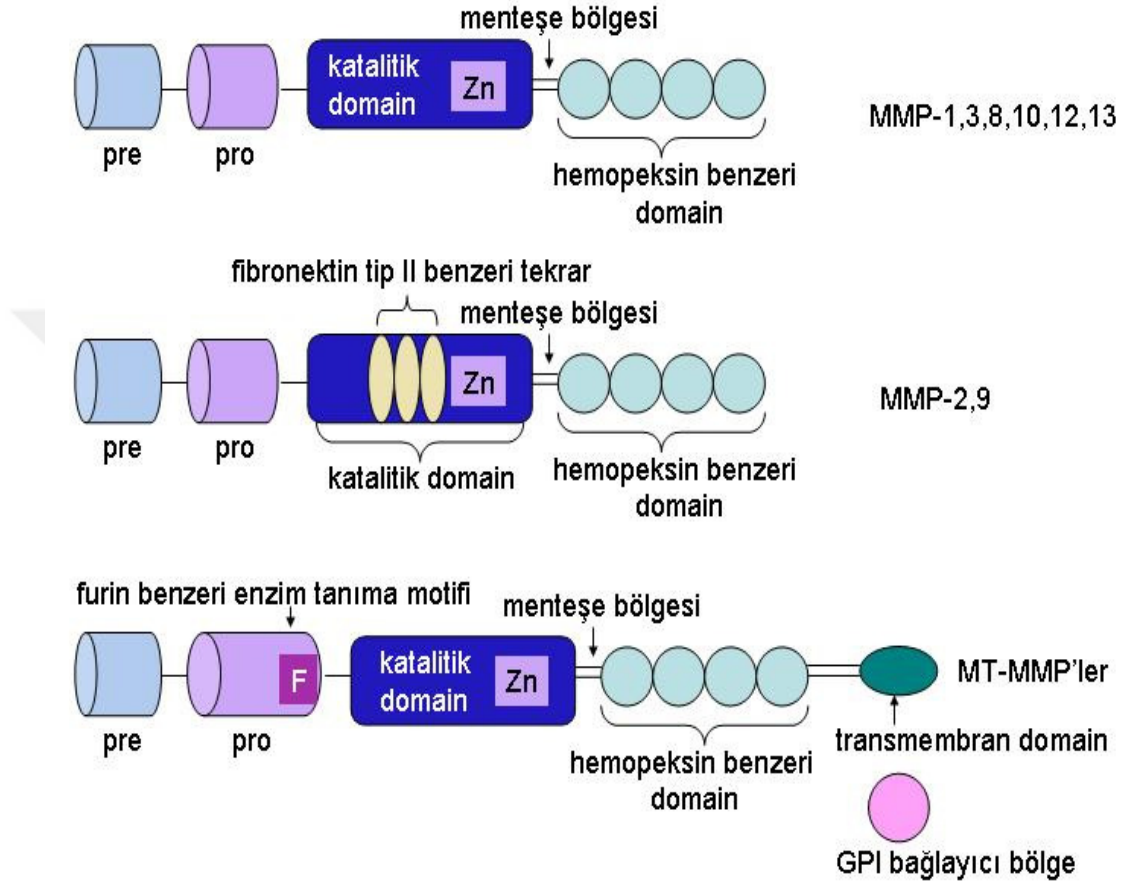
- 1) Hücre membranına bağlı ADAM
- 2) Trombospondin motifleri içeren ADAM

ADAM grubunda bulunan proteinazlar da karsinogenezin çeşitli basamaklarında rol oynamaktadırlar (79).

2.8.2 Matriks Metalloproteinaz'ların Yapısı

MMP'ler yapısal olarak 5 farklı bölümden oluşmaktadır. MMP'lerin moleküler yapısı şekil 1'de gösterilmiştir (80). MMP'leri oluşturan bölümler şunlardır :

1) Pre-domain Bölgesi: MMP'nin yapısında bulunan ilk bölgedir. Molekülü sekresyon için hedefleyen ve enzim salgılandıktan sonra kaybolan sinyal peptid dizisini içerir. Bu bölge 80-90 aminoasitten oluşur ve enzimin amino terminalinde yer alır, propeptid yapısındadır.



Şekil 1. MMP enzimlerinin moleküler yapısı (80).

2) Pro-domain Bölgesi : Bu bölge içerdiği sistein kalıntıları nedeniyle enzimin latent formda kalmasında rol oynamakta ve yüksek derecede korunmuş PRCGVPDS dizisini içermektedir. Bu bölgenin çıkarılması sonucu inaktif proenzim aktif enzim formuna dönüşür.

3) Katalitik Bölge : Histidin kalıntıları içeren, enzim aktivitesinin oluşması ve fonksiyonel stabilitesi için gerekli olan, aynı zamanda çinko ve kalsiyumun yer aldığı bölgedir.

4) Mentşe Bölgesi : Bu bölge katalitik bölge ile son bölge olan hemopeksin arasında yer alan prolinden zengin bölgedir.

5) Hemopeksin Benzeri Bölge : Bu bölge hem bağlayan moleküllere dizin benzerliği nedeniyle hemopeksin olarak adlandırılır. Amino ve karboksi terminal kısımlarını bağlayan disülfid bağı içerir ve menteşe bölgesi aracılığıyla katalitik bölgeye bağlanır. Bu bölgenin fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte substrat özgüllüğünü sağlama ve plazminojen aktivatör ürokinaz sistemine analog olma özelliği ile hücre yüzey reseptör alanını tanıma fonksiyonu gösterdiği düşünülmektedir. MMP-7 ve MMP-26 enzimleri hemopeksin benzeri bölge ve menteşe bölgesi içermezler (80,81).

2.8.3 Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırılması

MMP'ler yapılarındaki peptid bölgelerinin organizasyonuna, substrat spesifitelerine ve dizilim benzerliklerine göre 6 alt gruba sınıflandırılmaktadır :

- 1) Kollajenazlar
- 2) Jelatinazlar
- 3) Stromelisinler
- 4) Matrilizinler
- 5) Membran tip MMP'lar (MT-MMP)
- 6) Diğer MMP'ler

MMP ailesinin üyeleri, sınıflandırılması ve substrat spesifiteleri tablo 6'da gösterilmiştir (82).

2.8.4 Matriks Metalloproteinaz Aktivitesinin Düzenlenmesi

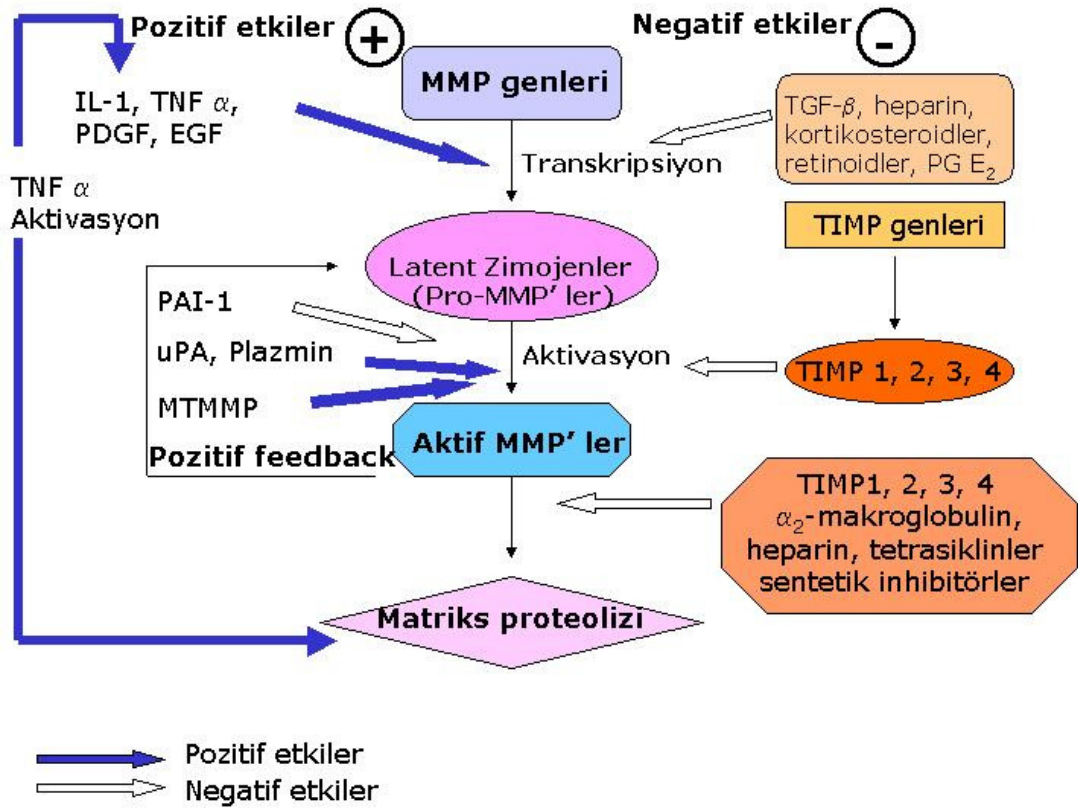
MMP'lerin proteolitik aktiviteleri üç basamakta düzenlenir :

- 1) Transkripsiyonel düzeyde düzenleme (sentez süreci)
- 2) Posttranskripsiyonel düzeyde düzenleme (proenzimin aktif enzim haline dönüştürülmesi)
- 3) Enzim aktivitesinin inhibisyonu (80).

MMP aktivitesinin düzenlenmesi şekil 2'de gösterilmiştir (80).

Tablo 6. Matriks Metalloproteinaz Ailesinin Üyeleri (82)

Grup Adı	MMP	Adı	Substratı
1. Kollajenazlar	MMP-1	Kollajenaz-1	Kol I, II, III, VII, VIII, X, jelatin
	MMP-8	Kollajenaz-2	Kol I, II, III, VII, VIII, X, aggregan, jelatin
	MMP-13	Kollajenaz-3	Kol I, II, III, IV, IX, X, XIV, jelatin
2. Jelatinazlar	MMP-2	Jelatinaz A	Jelatin, Kol I, II, III, IV, VII, X
	MMP-9	Jelatinaz B	Jelatin, Kol IV, V
3. Stromelisinler	MMP-3	Stromelisin-1	Kol II, IV, IX, X, XI, jelatin
	MMP-10	Stromelisin-2	Kol IV, laminin, fibronektin, elastin
	MMP-11	Stromelisin-3	Kol IV, fibronektin, laminin, aggregan
4. Matrilzinler	MMP-7	Matrilzin-1	Fibronektin, laminin, Kol IV, jelatin
	MMP-26	Matrilzin-2	Fibrinojen, fibronektin, jelatin
5. MT-MMP	MMP-14	MT1-MMP	Jelatin, fibronektin, laminin
	MMP-15	MT2-MMP	Jelatin, fibronektin, laminin
	MMP-16	MT3-MMP	Jelatin, fibronektin, laminin
	MMP-17	MT4-MMP	Fibrinojen, fibrin
	MMP-24	MT5-MMP	Jelatin, fibronektin, laminin
	MMP-25	MT6-MMP	Jelatin
	6. Diğerleri	MMP-12	Makrofaj metalloelastaz
MMP-19		Enamelsin	Aggregan, elastin, fibrillin, Kol IV, jelatin
MMP-20		XMMP	Aggregan
MMP-21		CMMP	Aggregan
MMP-23		Epilisin	Jelatin, kasein, fibronektin
MMP-27			Bilinmiyor
MMP-28			Bilinmiyor

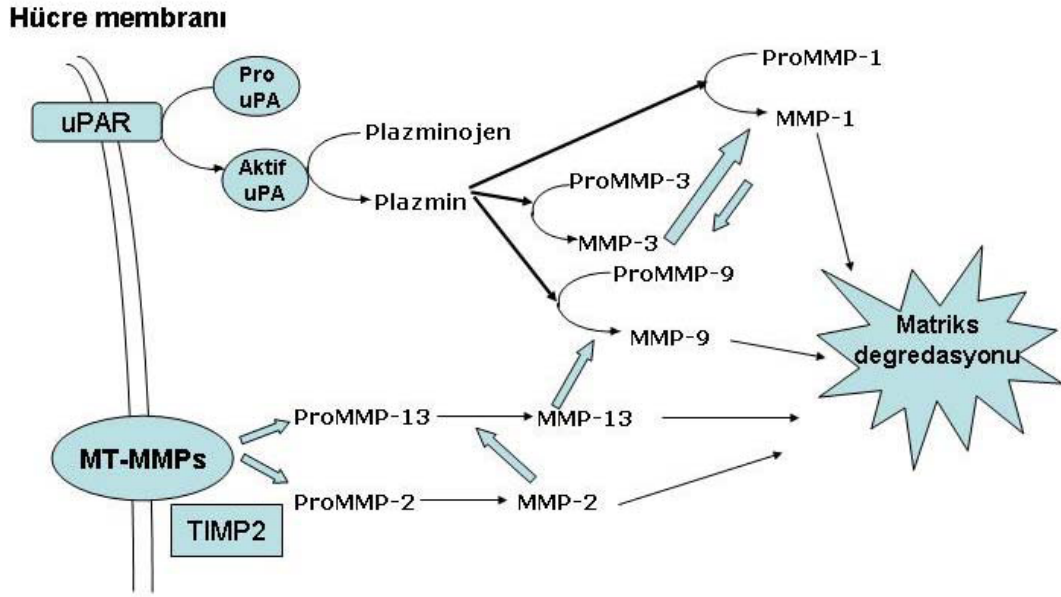


Şekil 2. MMP enzim aktivitesinin düzenlenmesi (80)

MMP gen ekspresyonu tümör nekroz faktör α , interlökin 1 gibi inflamatuvar sitokinlerle, trombosit kaynaklı büyüme faktörü ve epidermal büyüme faktörü gibi büyüme faktörleriyle uyarılırken, transforme edici büyüme faktörü β , heparin, kortikosteroidler, retinoidler, prostaglandin E₂ ile inhibe edilir. Gen ekspresyonunu uyaran faktörlerin reseptörlere bağlanması ile en az 3 değişik sınıf mitojen ile aktive edilmiş protein kinazlar (MAPK) aracılığıyla hücre içi olaylar zinciri başlatılır. Aktivatör protein-1 (AP-1) bağlanma bölgeleri transkripsiyonel aktivasyonda önemli bir role sahiptir.

MMP sentezlendikten sonra inaktif zimojen (pro-enzim) formunda bulunmaktadır. Pro-domain bölgede bulunan sistein kalıntısı ile katalitik bölgede yer alan çinko arasında sistein bağının kopması sonucu enzim aktif forma dönüşmektedir. MMP'lerin fizyolojik olarak en önemli aktivatörü plazmindir. Plazmin, endotel hücresi, makrofaj, düz kas hücresi gibi hücrelerden sentezlenen ürokinaz plazminojen aktivatör tarafından plazminojenin aktivasyonu sonucunda oluşur. Ortaya çıkan plazmin pro-MMP'lerin aktif enzim haline dönüşümünde rol

oyun. Pro-MMP aktivasyonu sonucu oluşan aktif MMP başka bir pro-MMP'yi aktif hale getirerek bir aktivasyon kaskadı başlatılır. Ayrıca MT-MMP'ler aktif hale geldikten sonra hücre yüzeyine transfer olarak metalloproteinaz doku inhibitörü-2 (TIMP-2) aracılıklı pro-MMP-2 aktivasyonuna yol açmaktadırlar. MMP'lerin hücre yüzeyi ile ilişkili aktivasyon kaskadı şekil 3'te gösterilmiştir (80,83,84).



Şekil 3. MMP'lerin hücre yüzeyi ile ilişkili aktivasyon kaskadı (80).

2.8.5 Matriks Metalloproteinaz Endojen Doku İnhibitörleri

MMP'lerin vücutta bulunan en önemli iki doğal inhibitörü α_2 makroglobulin ve metalloproteinaz doku (TIMP) inhibitörleridir. İnsan α_2 makroglobulini 180 kDa ağırlığında birbirine benzer yapıda olan 4 adet subünit tarafından oluşturulan 725 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Kanda ve doku sıvılarında genel bir proteinaz inhibitörü olarak görev yapar. Sınıflarından bağımsız olarak endopeptidazların çoğunluğu makroglobulin molekülünün içine alınarak inhibe edilir (85).

TIMP'ler ilk olarak serumda ve fibroblast kültürlerinde kollajenaz inhibitörleri olarak bulunmuşlardır. TIMP'ler pek çok dokuda ve vücut sıvılarında bulunan bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde görev alan proteinlerdir.

MMP'lere geri dönüşümsüz kovalan olmayan bağlarla bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini inhibe ederler. İnsan vücudunda TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, TIMP-4 olmak üzere 22 kDa ile 29 kDa boyutlarında değişen 4 tip TIMP vardır. TIMP'ler vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından sentezlenirler TIMP'lerin yapılarında homoloji görülmektedir.12 sistein ile birlikte 184-194 aminoasitten oluşurlar ve konformasyonları içerdikleri altı adet disülfid bağıyla sağlanır. TIMP-1 ve TIMP-3 glikoprotein yapısında iken TIMP-2 ve TIMP-4 yapısında karbonhidrat içermez. TIMP'ler MMP aktivitesini inhibe etme yönünden benzerlik göstermekle birlikte gen ekspresyonunun düzenlenmesi yönünden aralarında farklar vardır ve değişik MMP türlerine göre özgüllük gösterirler (80,86,87).

2.8.6 Jelatinazlar (MMP-2, MMP-9)

MMP ailesinin bu alt grubunda jelatinaz A (MMP-2) ve jelatinaz B (MMP-9) olarak adlandırılan iki proteaz yer alır. Genel olarak yapıları diğer MMP'lere benzemekle birlikte ek olarak katalitik bölgelerinde üç adet fibronektin tip 2 motifi içerirler. Bu kısım jelatinazların jelatin ve kollajene yüksek afinite ile bağlanmalarını sağlar ve proteolitik aktivitelerini artırır. MMP-2'nin latent formu 72 kDa, aktif formu 66 kDa ağırlığında olup tip IV kollajen, jelatin, tip V, VII, X kollajen, laminin ve elastin yıkımında görev alır. MMP-9'un latent formu 92 kDa, aktif formu 84 kDa ağırlığında olup tip IV kollajen, Tip V kollajen, elastin ve fibronektin yıkımında rol oynar. MMP-2 ve MMP-9 içinde yer alan fibronektin tip 2 motifleri benzer yapıya sahiptir, fakat katalitik bölge içerisindeki yerleşimlerinde fark vardır. Pro MMP-2 ve pro MMP-9 yapısında yer alan üç motifden ikincisinin yerleşim yeri farklıdır. Pro MMP-2'de 2.motif katalitik bölge ile ilişkiliyken, pro MMP-9'da katalitik bölgeden uzaktır. MMP-9 çoğunlukla TIMP-1, MMP-2 ise TIMP-2 tarafından inhibe edilir (78,81,88,89).

MMP-2 aktivasyonu diğer MMP'lerden farklı olarak hücre yüzeyinde TIMP-2 bağımlı MT-1 MMP aracılıklı mekanizma ile gerçekleşmektedir. Yani MMP-2'nin

endojen inhibitörü olan TIMP-2 aynı zamanda MMP-2 aktivasyonunda rol oynar. Düşük düzeylerde TIMP-2 amino terminal bölgesinden MT1-MMP'nin aktif bölgesine bağlanır. Oluşan kompleks pro-MMP-2 için reseptör görevi görür ve TIMP-2, pro-MMP-2'ye bağlanır. Bu arada MT1-MMP enzimi pro-MMP-2'nin propeptid bölgesinin kopararak aktif MMP-2 oluşumuna yol açar. TIMP-2 düzeyi yüksek olduğunda fazla miktarda olan TIMP-2 MT1-MMP'lere bağlanarak pro-MMP-2 bağlanmasını engellemektedir (90).

2.8.7 Matriks Metalloproteinazların patofizyolojik etkileri

Yara iyileşmesi, büyüme, mensturasyon, embriyonun uterusu implantasyonu, akciğer, kemik, meme gibi organların morfonegenezi gibi fizyolojik olaylarda MMP ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (91,92). Yapılan çalışmalarda pek çok patolojik durumla da MMP'lerin rolü olduğu gösterilmiştir. Romatoid artrit ve osteoartriti olan hastaların sinoviyal zarlarında ve kıkırdak dokusunda MMP ekspresyonunda artış saptanmış ve doku harabiyeti ile MMP ekspresyonu arasında korelasyon bulunmuştur (93). MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinin hipertansif kalp hastalığı, ST elevasyonlu miyokard enfarktüsü, dilate kardiyomiyopati ve kronik kalp yetmezliğinde de arttığı bildirilmiştir (94). Kanser gelişiminde önemli olan proliferasyon, invazyon, metastaz ve anjiogenez basamaklarının hepsinde MMP'lerin önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Bu hastalıkların patogenezi sırasında MMP ve doğal inhibitörleri olan TIMP'ler arasındaki denge çok önemlidir. MMP ekspresyonunda artışın veya TIMP ekspresyonunda azalmanın MMP-TIMP dengesinin bozulmasına yol açarak patolojik sürecin başlamasında rol oynadığı düşünülmektedir (95).

MMP genlerinde oluşan mutasyonlar sonucunda gelişen kalıtsal hastalıklar bildirilmiştir. MMP-2 geninde gerçekleşen inaktive edici mutasyon sonucu otozomal ressesif bir hastalık olan multisentrik osteolizis gelişmektedir (96). MMP-13 geninde oluşan bir missense mutasyona bağlı olarak otozomal dominant kalıtım gösteren Missouri tip spondiloepimetafizyel displazi gelişimi bildirilmiştir (97).

2.9 Katepsinler

Sağlıklı organizmaların yaşamlarına devam edebilmesi için proteinlerin kontrollü biyosentezi, olgunlaşması, fonksiyonu ve yıkımını içeren süreçlerin varlığı çok önemlidir. Proteinlerin peptid bağlarının geri dönüşümsüz olarak koparılması proteaz olarak adlandırılan enzimler tarafından gerçekleştirilir. Katepsinler vücutta bulunan önemli bir proteolitik enzim grubunu oluşturur. Kateptik aktivite ilk olarak 1920'li yıllarda mide sıvısı incelemelerinde tanımlanmıştır. Katepsin terimi sindirmek anlamına gelen Yunanca kathepsin kelimesinden gelmektedir (98-99). Ökaryotik hücrelerde proteoliz işleminden sorumlu başlıca yapı lizozomlardır. Bu nedenle lizozomlar çok sayıda proteaz içermektedir, fakat bunların içerisinde en iyi bilinenleri katepsinlerdir. Katepsinler lizozom içerisinde asidik ortamda görev yaptıkları ve protein yıkımından sorumlu oldukları için lizozomal proteazlar olarak da adlandırılmaktadır. Günümüzde katepsinler yapılarına ve katalitik tiplerine göre üç gruba ayrılmaktadır (100).

- 1) Serin katepsinler (katepsin A ve G)
- 2) Aspartik katepsinler (katepsin D ve E)
- 3) Sistein katepsinler (11 farklı katepsin tipi)

Kontrolsüz proteolitik aktiviteden korunmak için katepsinler sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Bütün katepsinler inaktif zimojenler olarak sentezlenir. İnaktif enzimin katalitik olan aktif enzime dönüşme işlemi genellikle lizozom içerisinde diğer aktif proteazlar tarafından veya düşük pH ve glikozaminoglikanların varlığında otokataliz ile gerçekleşir. Kateptik aktivitenin en önemli düzenleyicileri sistatinler, stefinler, tiropinler ve serpinler olarak isimlendirilen endojen proteinlerdir. Bu enzimler hedef enzime sıkı bir şekilde bağlanarak substrat hidrolizini engellerler (101,102).

Katepsinler lizozom içerisinde yer aldıkları proteolitik aktivite dışında immun sistemde antijen sunumu, yara iyileşmesi, kemiğin yeniden yapılanması, pro-hormon ve pro-enzim aktivasyonu, kıl döngüsü, üreme gibi fizyolojik olaylarda ve kanser gelişimi, ateroskleroz, bronşiyal astım, periodontit, romatoid artrit ve osteoartrit gibi

patolojik olayların gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar (101,103,104).

Katepsin D ve katepsin E aspartik katepsinlerdir. Katepsin D, 1979 yılında insan meme kanser hücrelerinin doku kültür çalışmaları sırasında bulunmuş glikoprotein yapısında olan proteolitik bir enzimdir. Katepsin D endoplazmik retikulumda 52 kDa ağırlığında inaktif pre-proenzim yapısında sentezlenir ve sonrasında lizozom içerisinde 34 kDa ağırlığında olgun aktif enzim formuna dönüşür. Katepsin D organizmada hemen tüm hücrelerde düşük konsantrasyonlarda bulunur. Diğer proteazların aksine katepsin D'nin doğal inhibitörü yoktur ve endopeptidaz olarak etki gösterir (104,105). Katepsin E ise katepsin D ile benzer yapıya sahip olan özellikle immun sistem hücreleri ve ciltte bulunan hücre içi aspartik proteazdır. Katepsin E eksikliği atopik dermatit gelişiminden sorumlu tutulmaktadır (107).

Katepsin G ve A aktif bölgelerinde serin aminoasidi içerdikleri için serin katepsinler olarak sınıflandırılmaktadır. Katepsin G serin proteazların S1 sınıfına üyedir ve endopeptidaz olarak görev yapar. Katepsin G'de pre-proenzim olarak sentezlenir ve katepsin C'nin de yer aldığı iki farklı aşama sonucunda aktif katepsin G oluşur. Katepsin G serin proteazların diğer üyeleri olan nötrofil elastaz ve proteinaz 3 ile beraber nötrofillerin azurofilik granüllerinde yer alır. Hücre içerisine alınan mikroorganizmaların fagolizozomlar içerisinde proteolizinde görev almakla beraber hücre dışına salgılanan nötrofil protezlar doku hasarında da rol alırlar (108-110).

2.9.1 Sistein Katepsinler

Sistein katepsinler katepsin ailesi içerisinde en geniş grubu oluşturur. Bu enzimler aktif bölgelerinde sistein içerdikleri için sistein katepsinler olarak sınıflandırılmaktadır. Papaya meyvesinin en önemli proteazı olan papain yapısına benzerlikleri nedeniyle papain benzeri protezlar olarak da isimlendirilirler. Bu grupta 11 farklı sistein katepsin yer almaktadır (111, 112).

Primer ve tersiyer yapıları nedeniyle Clan C1a sistein proteaz ailesine üyedirler. Sistein katepsinlerin çoğu endopeptidaz aktivitesine sahipken, katepsin B ve H ekzopeptidaz aktivitesi de gösterebilir. Vücutta en fazla bulunan sistein

katepsinler katepsin B, H ve L'dir. Sistein katepsinlerin sınıflandırılması, vücuttaki dağılımları ve fonksiyonları tablo 7'de gösterilmiştir (112).

Tablo 7. Clan C1A Sistein Katepsinlerin Sınıflaması (112)

Adı	Diğer Adı	Bağ Yıkım Özelliği	Doku Ekspresyonu	Görevi	pH
Katepsin B	Katepsin B1, APP sekretaz	Endopeptidaz; peptidil-dipeptidaz	Yaygın	Lizozomal, ekstrasellüler; Tümör invazyon ve metastazının proteolitik süreci	pH 4-6 (optimal), PH ' ye kadar stabil
Katepsin C ^a	DPP- I, katepsin J, dipeptidil-transferaz	Peptidil-dipeptidaz, tripeptidil-peptidaz; endopeptidaz	Yaygın	Lizozomal; Granülosit serin protezlar ve faktör XIII, nöraminidazlar aktive eder	pH 6 (optimal), pH 4-7.5 (stabil)
Katepsin F	SmCF	Endopeptidaz	Kalp, iskelet kası, beyin, testis, over	Lizozomal, Tümör invazyon ve metastazında rol oynar	pH 5.2-6.8 (optimal), pH 4.5-7.2(stabil)
Katepsin H	Katepsin B/3, BANA hidrolaz	Endopeptidaz, aminopeptidaz	Beyin, böbrek, karaciğer, tonsiller	Lizozomal; invaryant zincir (Ii) yıkımı	pH 6.8 (optimal), pH 5-8 (stabil)
Katepsin K ^b	Katepsin O(1), Katepsin O2, katepsin X	Endopeptidaz	Ağırlıklı olarak kemikte (osteoklastlarda); Epitel dokuların çoğunda	Lizozomal, ekstraselüler; osteoklastik kemik yıkımında, ESM ve fibrinojen yıkımında	pH 6 (optimal), pH 4-8 (stabil)
Katepsin L	SPaz, katepsin L1	Endopeptidaz	Yaygın	Lizozomal, ekstraselüler, çekirdekte; antijensunumunda, Ii yıkımında, hücre döngüsünün düzenlenmesinde	pH 6 (optimal), pH 4-7 (stabil)

Adı	Diğer Adı	Bağ Yıkım Özelliği	Doku Ekspresyonu	Görevi	pH
Katepsin O	–	Endopeptidaz	Yaygın	Lizozomal; protein döngüsünde	
Katepsin S	–	Endopeptidaz	Alveolar makrofajlar, dalak, testis, epitel hücreleri; CD4+ T-hücreleri	Lizozomal, ekstraselüler; li yıkımı, atherogeneze, anjiogeneze, elastolitik aktivite	pH 6 (optimal), pH 4.5–8 (stabil)
Katepsin V	Cathepsin L2, katepsin U	Endopeptidaz	Çoğunlukla timus ve testiste; Beyin, kornea epitel ve ciltte de bulunur.	Lizozomal; Antijen sunumu, li yıkımı	pH 5.7 (optimal), pH ≤ 4 to ≥ 7.2 (stabil)
Katepsin W	Lenfoopain		Dalak, doğal öldürücü ve Sitotoksik T hücreleri	Immün cevap, Sitotoksik T hücre aktivitesinde düzenleme	
Katepsin X	Kathepsin B2, katepsin P, katepsin Z	Karboksimono-peptidaz, karboksidipeptidaz	yaygın; Primer tümör ve kanser hücrelerinde	Lizozomal, Hücre bağlanmalarında	

^a Kathepsin C Papillon–Lefevre sendromu ile ilişkili

^b Kathepsin K- eksikliği piknodizostozis ile ilişkili

Sistein katepsinler lizozom ve endozom gibi asidik hücre yapılarında aktif ve stabil halde bulunurlar. Çok çeşitli substratları etkili biçimde parçalama özelliğine sahiptirler. Katepsin S haricindeki lizozomal sistein proteazlar nötral pH’da inaktif forma geçerler. Sistein katepsinler proteolitik kaskadın bir parçası olarak görev yaparlar. Proteolitik kaskat sürecinde MMP ve serin proteazların daha baskın rol oynarken, sistein katepsinler kaskadın başlamasında etkilidirler (114).

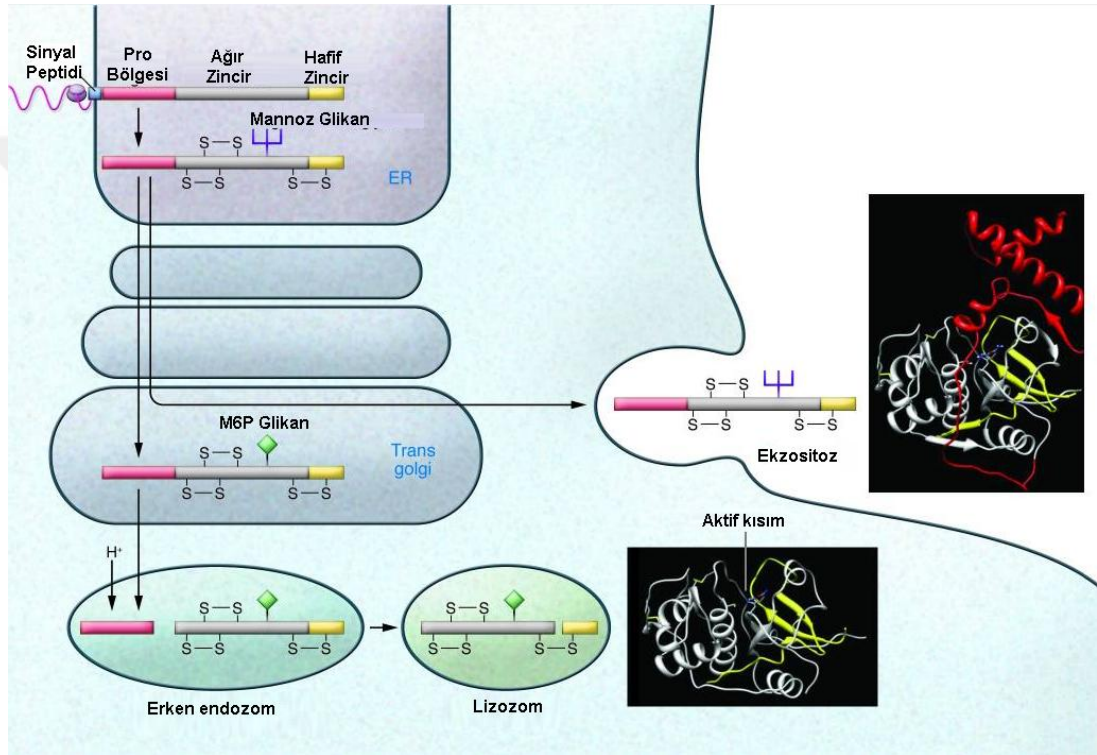
Olgun katepsin enzimleri 20-30 kDa moleküler ağırlığındadır ve monomerik yapıda bulunurlar. Fakat katepsin C birbirine eş 4 adet alt birimin oluştuğu tetramerik yapıda bulunur ve 200 kDa ağırlığındadır (115). Sistein proteazların benzer aminoasit dizilimleri ve katlantıları vardır. Boyutları aynı olan iki adet domain ve bu iki domain arasında bir yarığın bulunduğu V şeklinde yapılarıdır. Bu yarık kısmın alt kesiminde sistein ve histidin içeren aktif bölge bulunur. Bu yarık kısımda ayrıca protein substratın hedef polipeptid zinciri için bağlanma bölgesi yer alır. Bağlanma bölgesi farklı katepsinler için substrat özgülüğüne izin verir (116).

Sistein katepsinler, çoğu proteaz gibi granüllü endoplazmik retikulumda (ER) pre-proenzim olarak sentezlenir. İlk sentezlendiklerinde amino bölgelerinde proteini ER lümenine yönlendiren sinyal peptid kısmını içerirler. ER lümeninde sinyal peptidaz aracılığıyla sinyal peptid ayrılır ve pro-katepsin oluşur. Pro-katepsin amino ucundan mannoz glikanlar ile glikolizasyona uğrar fakat enzim hala inaktiftir. Mannoz glikan içeren pro-katepsin, Golgi cisimciğinde fosforilasyona uğrar ve mannoz 6 fosfat oluşur. Daha sonra mannoz 6 fosfat reseptörü aracılığıyla pro-katepsin önce endozomlara daha sonra lizozomlara yönlendirilir. Endozomlar içerisinde otokatalitik veya asparaginil endopeptidaz, legumain, katepsin D ve diğer proteazlar aracılığıyla pro-katepsinlerin proteolitik süreci başlar ve enzim aktif formuna dönüşür. Enzim lizozoma geldiğinde proteolitik süreç devam eder ve enzim iki zincire ayrılır. Aktif enzimleri bulduran endozom ve lizozomlar kalsiyumun aracılık ettiği bir süreç sonucu plazma membranıyla birleşir ve enzimler hücre dışı ortama salgılanır. Ek olarak katepsinlerin % 5 kadarı lizozoma hiç uğramadan pro-enzim olarak hücre dışına salgılanır (117- 120). Sistein katepsinlerin hücre içi sentezi ve aktifleşme süreci şekil 4'te gösterilmiştir (121) .

Sistein proteazların, aktivitesi sistatin süperailisi olarak adlandırılan stafinler, sistatinler ve kininojenleri içeren endojen moleküller tarafından inhibe edilir. Yakın zamanda bulunan tiropin süperailisi katepsinlerin diğer endojen inhibitörleri olarak bulunmuştur (102).

Sistein katepsinler, lizozom içerisindeki proteolitik rollerinin yanı sıra pek çok fizyolojik ve patolojik süreçte rol almaktadırlar. İmmün sistemde antijen sunan hücrelerde proteoliz işlemi sonucunda antijenik peptidlerin ortaya çıkmasında ve majör histokompatibilite kompleks II olgunlaşmasında görev yaparlar. Bu işlemde en

önemli rolü katepsin S oynar (101). Katepsin K'nın yoğun olarak osteoklastlarda bulunduğu ve kemik döngüsünde görev yaptığı bilinmektedir. Osteoklastlar tarafından rezorpsiyon birimine salgılanır ve kemik ve matriks yıkımından sorumludur (122). Katepsin B, L ve K'nın tiroid bezinde tiroglobulin molekülünün proteoliz sürecinde ve tiroid hormonlarının sekresyonunda rol oynadığı düşünülmektedir (123).



Şekil 4. Katepsinlerin sentezi ve hücre içinde aktif hale gelmesi (121).

Katepsin ekspresyonunda artış (kanser ve metastazda), proteolitik aktivite artışı (proteazlar ve inhibitörleri arasındaki dengesizlik), lokalizasyonunda farklılık (hücre dışına artmış sekresyon) gibi katepsin aktivitesinin bozulması kanser, astım, ateroskleroz, romatoid artrit, Alzheimer hastalığı gibi hastalıkların gelişiminde bir faktör olarak düşünülmektedir (124). Pknodizostozis; otozomal resesif geçiş gösteren osteopetrozis ile karakterize boy kısalığı, klaviküler displazi, kafatası deformiteleri ve kemik kırıklarında artışın eşlik ettiği bir hastalıktır. Katepsin K

geninde gelişen fonksiyon kaybı mutasyonları sonucu katepsin K üretilmemekte veya üretilen protein kısa olduğu için enzimatik aktivite olmamaktadır (125,126). Katepsin C geninde fonksiyon kaybı mutasyonu sonucu hiperkeratoz palmoplantaris ve ağır periodontal hastalık birlikteliği ile seyreden Papillon-Lefevre sendromu gelişir (127).

2.9.2 Katepsin B

Katepsin B, 30 kDa ağırlığında olan lizozomal sistein katepsinlerin bir üyesidir. Yapısı diğer sistein katepsinlerle aynıdır. 2 aynı boyutlu domain arasında aktif bölgeyi ve substrat bağlanma bölgesini içeren yarık vardır. Peptid bağı yıkımı sağ domainde yer alan histidin ile etkileşen sol domainde yer alan sistein tarafından gerçekleştirilir (128). Katepsin B sentezi de diğer sistein katepsinlerin sentezine benzerdir. Granüllü ER'da pre-prokatepsin olarak sentezlenir ve glikolizasyona uğrar. Golgi cisimciğinde karbonhidratlar fosforile olarak mannoz 6 fosfat oluşur. Oluşan yapı mannoz 6 fosfat reseptörleri aracılığıyla endozom ve lizozomlara yönlendirilir. Endozom ve lizozomlarda pro-katepsin B'den aktif katepsin B sentezi gerçekleşir. Aktif katepsin B daha sonra lizozom içerisinde 25 kDa ve 5 kDa olan iki zincire ayrılır (129). Lizozom içerisindeki ortam asidik olduğu için katepsin B'nin aktif bölgesi tıkayıcı kulp tarafından kapatılır ve böylece katepsin B ekzopeptidaz olarak görev yapar. Endozom içerisinde veya daha yüksek veya nötral pH düzeylerinde tıkayıcı kulp aktif bölgeden çekilir ve katepsin B endopeptidaz olarak fonksiyon görür (130).

Katepsin B vücutta yaygın olarak bulunur ve tiroglobulin proteolizi sonucu tiroid hormon üretimi, kemik rezorpsiyonu ile kemik yeniden şekillenmesinde, immün sistemde antijen sunan hücrelerde önemli fizyolojik görevleri vardır. Ayrıca katepsin B inflamatuvar hava yolu hastalıkları, kanser , osteoartrit, romatoid artrit ve akut pankreatit gibi patolojik süreçlerde rol oynamaktadır (131).

Katepsin B'nin çeşitli insan tümörlerinde (kolon, meme, over) yüksek oranda eksprese edildiği gösterilmiştir. Katepsin B, normal hücrelerde lizozom içerisinde

perinükleer veziküllerde yer alırken; tümör hücrelerinde veya onkogen tarafından transformasyona uğramış hücrelerde hücre içi yerleşimlerinde değişiklik olur ve sitoplazma ve hücrenin periferine yerleşirler. Tümör gelişiminde katepsin B tümör hücrelerinden aktif katepsin B veya pro-katepsin B şeklinde hücre dışı ortama salgılanacağı gibi, tümör hücrelerinin yüzeylerine de yerleşebilirler. Bu özelliği nedeniyle katepsin B tümör progresyonunda, direkt ESM yıkımına yol açarak, indirekt olarak da diğer proteazların aktivasyonuna yol açan proteolitik kaskadın başlamasını sağlayarak rol oynamaktadır (132, 133).

2.10 Hipofiz Adenomları ile MMP-2, MMP-9 ve Katepsin B İlişkisi

Hipofiz tümörleri bütün intrakraniyal tümörlerin % 15 kadarını oluşturur. Otopsi serilerinde % 20'ye kadar varan oranlarda klinik olarak sessiz hipofiz adenomu sıklığı bildirilmiştir. Başka nedenlerle MR görüntülemesi yapılan kişilerde hipofiz adenom sıklığı % 10 civarında bulunmuştur. Hipofiz tümörlerinin büyük bir kısmı monoklonal ve benign karakterli adenomlardır. Hipofiz adenomları ön hipofiz bezinden kaynaklanır ve % 60-65 kadarında otonom hormon sekresyonu vardır. Salgılanan hormon tipine göre hiperprolaktinemi, akromegali, Cushing hastalığı ve hipertiroidizm kliniği görülebilmektedir. Hipofiz adenomlarının yaklaşık % 20-25 kadarı izole veya mikst GH salgılayan adenomlardır ve hastalarda akromegaliye ait klinik özellikler görülmektedir. Hipofiz kaynaklı adenomların % 30-35'i fonksiyon göstermeyen adenomlar olarak kabul edilir. Hipofiz adenomları çoğunlukla benign olarak kabul edilmesine rağmen % 20-30 kadarının agresif büyüme paterni göstererek suprasellar ve parasellar yapılara invazyon yaptığı bilinmektedir. Bu şekilde büyüme ve invazyon gösteren hipofiz adenomları, optik kiazmaya bası yaparak görme alanı bozuklukları, durada gerilmeye bağlı olarak başağrısı, kavernoöz sinüs invazyonu sonucu oftalmopleji, sella tabanı invazyonu yaparak sfenoid sinüs ve nazofarenkse uzanım gibi bası bulgularına yol açabilmektedirler. Ayrıca hipofiz adenomları normal hipofiz dokusunu da etkileyerek hipofiz yetmezliği gelişimine neden olabilir. Tanı anında akromegali hastalarının % 70-75 inde makroadenom

bulunmaktadır. Bu makroadenomların yaklaşık 1/3 kadarı invaziv adenomlardır. İnvaziv makroadenomlarda cerrahi ile hastalığın kontrol altına alınma başarısı düşüktür. (2,4,134).

Hipofiz adenomlarının sellar ve parasellar yayılımından hangi faktörlerin sorumlu olduğu tam olarak bilinmemektedir. Hipofiz adenomunun invazyonunda adenomun invazyon potansiyelinin ve kavernöz sinüs medial duvar yapısının önemli faktörler olarak rol oynadığı düşünülmektedir (16). Ek olarak normal hipofiz dokusu ve hipofiz adenomlarının ESM komponentleri içerdiği bildirilmiştir. Hipofiz adenomlarının büyümesinde ESM yıkımının ve yeniden şekillenmesinin rol oynadığı düşünülmektedir (135). Bu bilgiler ışığında ESM yıkımında etkili olan ve pek çok fizyolojik ve patolojik süreçte rol oynayan proteazların hipofiz adenomlarının invazyonu ile ilişkisi araştırılmıştır.

İlk olarak 1996 yılında Kawamoto ve arkadaşları 7 hastadan hipofiz cerrahisi sonrası alınan dokularda, immünohistolojik yöntemlerle tip IV kollajenaz aktivitesini çalışmışlar ve invaziv adenomlarda invaziv olmayan adenomlara göre tip IV kollajenaz aktivitesini artmış olarak bulmuşlardır (10). Aynı grup aynı yıl içerisinde 22 vakalık seride hücre immüno blot yöntemiyle MMP-9 sekresyonunu incelemişler ve invaziv adenomlarda MMP-9 sekrete eden tümör hücre insidansını anlamlı olarak fazla bulmuşlardır (11). 1999 yılında 12 normal hipofiz bezi ve 28 hipofiz tümörü doku örneğinde MMP-1, MMP-2, MMP-3 ve TIMP-1 ekspresyonu incelenmiş ve tümör invazyonu ile MMP ekspresyonu arasında bir ilişki gösterilememiştir (12). 2001 yılında fonksiyon göstermeyen 10 invaziv, 10 invaziv olmayan hipofiz adenomu cerrahi sonrası incelenmiş. İki grup arasında katepsin B, Ki-67 ve MMP-9 immunohistokimyasal boyanma açısından anlamlı fark bulunmamıştır (16). Daha sonra yapılan çalışmalardan bazıları invaziv adenomlarda MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonunu invaziv olmayan adenomlara göre yüksek bulurken (13,15), bazılarında ise MMP ekspresyonu ile tümör invazyonu arasında ilişki gösterilememiştir (14).

Adenomların fonksiyon durumu ve salgılanan hormon tipiyle MMP ekspresyonu arasındaki sonuçlar çelişkilidir. Bir çalışmada GH, PRL, ACTH salgılayan adenomlar ve fonksiyon göstermeyen adenomlar arasında MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonu açısından fark bulunamamıştır (15). Başka bir çalışmada ise

ACTH salgılayan adenomlarda MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonu diğer hormon salgılayan adenomlara göre anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Aynı çalışmada fonksiyon göstermeyen adenomlar fonksiyonel adenomlara göre daha düşük MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonu göstermişlerdir (14). Katepsin B ve inhibitörü olan stefin A'nın incelendiği bir çalışmada adenomlar Ki-67 indeksine göre tipik veya atipik adenom olarak ikiye ayrılmışlar ve Ki-67 proliferasyon indeksi >3 olan adenomlar atipik adenom olarak kabul edilmiştir. Atipik adenomlarda katepsin B ve L boyanma düzeyleri tipik adenomlara göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Ayrıca fonksiyonel adenomlarda fonksiyonel olmayanlara göre katepsin B boyanma derecesi daha yüksek bulunmuştur. Fakat bu çalışmada normal hipofiz dokusunda katepsin B ve L boyanma düzeyleri hipofiz adenomlarına göre daha yüksek bulunmuştur (17). Başka bir çalışmada normal adenohipofiz dokusunda katepsin B ACTH salgılayan hücrelerde % 50, GH ve PRL salgılayan hücrelerde % 5 oranında bulunurken; inhibitörü olan sistatin C, GH ve PRL salgılayan hücrelerde % 70, ACTH salgılayan hücrelerde % 5 oranında bulunmuştur. Aynı çalışmada PRL salgılayan hipofiz adenomlarında katepsin B ekspresyonu yüksek ve sistatin C oranı düşük bulunmuştur. Bu bulgu PRL sekresyonunda katepsin B'nin rolü olabileceğini düşündürmüştür (136).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı hipofiz hastalıkları polikliniğinde takip edilen akromegali tanısı almış ve çeşitli tedavi yöntemleri uygulanmış hastalar çalışmaya dahil edildi. Yeni tanı alan veya cerrahi sonrası 3. ayını doldurmayan hastalar çalışmaya alınmadı. Çalışmaya alınan 64 hasta telefonla aranarak Ocak 2011- Nisan 2011 tarihleri arasında kliniğe çağrıldı.

Hastaların akromegali durumları 2010 yılında yapılan Akromegali Konsensus Grubu kriterlerine uygun olarak belirlendi (57). Buna göre ilaçsız izlenen veya cerrahi sonrası 3. ayını dolduran hastalarda IGF-1 düzeyinin yaşa göre normal aralıkta olması ve 75 gram glukoz ile yapılan OGTT sırasında en düşük GH düzeyinin 0.4 µg/L nin altına inmesi kontrol altında hastalık olarak kabul edildi. SSA ve/veya DA olarak takip edilen hastalarda bazal GH < 1 µg/L olması ve beraberinde IGF-1 düzeyinin yaşa göre normal aralıkta olması kontrol altında hastalık olarak kabul edildi. SSA ile pegvisomantın kombine olarak kullanıldığı 2 hastada ise IGF-1 düzeyinin yaşa göre normal aralıkta olması kontrol altında hastalık olarak kabul edildi. Bu kriterler sonucunda akromegali 24 hastada aktif, 40 hastada ise kontrol altında olarak tespit edildi.

Bütün hastaların dosyaları incelenerek tedavi öncesi adenom boyutu, klinik belirtilerin başlamasıyla tanı arasında geçen süre, uygulanan tedavi yöntemleri, tedavi öncesi ve tedavi sonrası hipofiz yetmezliği ve diyabetes insipidus varlığı ve eşlik eden hastalıklar ile ilgili bilgiler alındı. Eşlik eden hastalıklar her akromegali hastasına rutin olarak uygulanan kan basıncı takibi, 75 gram glukoz ile OGTT sonucu glukoz toleransı, ekokardiyografi, tiroid ve batin ultrasonografisi, kolonoskopi ve kadınlarda mamografi, erkeklerde prostat bezi değerlendirmesi sonuçlarına dayanılarak belirlendi. Hipofiz hormon eksikliği olan hastalar replasman tedavilerini düzenli olarak almaya devam ettiler.

Kliniğe geldikleri gün en az 8 saat açlığı takiben hastalardan kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri GH ve IGF-1 ölçümü için merkez laboratuvarına gönderildi. MMP-2, MMP-9 ve katepsin B düzeyi ölçümleri için alınan kan örnekleri

santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serum daha sonra çalışılmak üzere – 80°C’de saklandı. Aynı gün ilaçsız takip edilen veya cerrahi sonrası 3. ayını dolduran hastalara 75 gram glukoz ile OGTT yapılarak 0.-30.- 60.- 90.- 120. dakikalarda GH için kan örneği alındı.

Çalışmada GH ölçümü için kemiluminesan immunoassay (Siemens Immulite 2000) yöntemi kullanıldı. Kalibratör olarak DSÖ’nün önerdiği uluslararası standart olan rekombinant GH IS 98/574 kullanılmıştır. Kullanılan ölçüleme yönteminde GH için analitik sensitivite 0.01 ng/ml, ölçüm aralığı ise 0,05–40 ng/ml olarak belirtilmiştir. IGF-1 ölçümünde immunoenzimometrik assay (IEMA, Immunodiagnostic laboratories) kullanılmıştır. Yöntemde DSÖ’nün uluslararası 2. kalibratör olarak önerdiği IS 87/518 kullanılmıştır. IGF-1 ölçümünün sensitivitesi 3.1 µg/L olarak belirtilmiştir. IGF-1 yorumlanmasında yaşa göre referans değerler : 20-30 yaş için 89-276 µg/L, 30-40 yaş için 22-197 µg/L, 40-50 yaş için 49-147 µg/L, 50-60 yaş için 35-210 µg/L, 60-70 yaş için 30-196 µg/L, > 70 yaş için 56-191 µg/L olarak belirlenmiştir. MMP-2 düzeyleri ELİSA (Ray Biotech, Inc.) yöntemiyle ölçülmüştür. MMP-2 ölçümünde sensitivite <3.5 ng/ml, intrassay CV <%10, interassay CV <%12 olarak belirtilmiştir. MMP-9 ölçümünde ELİSA (Ray Biotech, Inc.) yöntemi kullanılmıştır. MMP-9 ölçümünde sensitivite < 10 pg/ml, intrassay CV < % 10, interassay CV < %12 olarak belirtilmiştir. Katepsin B ölçümü ELİSA (Cusabio Biotech Co; Ltd) yöntemiyle yapılmıştır. Katepsin B ölçümünde sensitivite < 0,08 ng/ml, ölçüm aralığı 0,31- 20 ng/ml olarak belirtilmiştir.

Çalışma Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesi tarafından onaylanmış ve çalışmaya dahil edilen katılımcılara bilgi verilerek yazılı onam formu alınmıştır.

Bu çalışmada istatistiksel analizler NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 Statistical Software (Utah, USA) paket programı ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanısıra gruplar arası karşılaştırmalarda bağımsız t testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare ve Fisher gerçeklik testi kullanılmıştır. Kestirim noktası belirlemek için değişkenlere ait ROC eğrisi alanları , duyarlılık, özgüllük, negatif kestirim değeri, pozitif kestirim değeri, göreceli orantı hesaplanmıştır. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde, %95’lik güven aralığında değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan akromegalili hastaların yaş ve cinsiyet özellikleri tablo 8’de gösterilmiştir. Aktif ve kontrol altında olan akromegalili hastaların yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir.

Tablo 8. Akromegali hastalarının yaş ve cinsiyet özellikleri

		Aktif Grup (n = 24)		Kontrollü Grup (n = 40)		
Yaş		42,17 ± 12,66		49,08 ± 13,94		t=-1,99 p=0,052
Cinsiyet	Erkek	10	41,70%	24	60,00%	χ^2 :2,03 p=0,155
	Kadın	14	58,30%	16	40,00%	

Aktif ve kontrol altında akromegalisi olan hastaların tanı zamanından son değerlendirmeye kadar geçen süre, semptomların başlangıç zamanından tanı koyulduğu tarihe kadar geçen süre ve operasyon sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Aktif akromegalili hastaların tedavi öncesi adenom boyutu kontrol altındaki gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p = 0,002). Bu özellikler tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9. Akromegali hastalarının tanı süresi, adenom boyutu ve operasyon sayılarına ait özellikler

Hastalık Durumu	Aktif Grup (n = 24)		Kontrollü Grup (n = 40)		t	p
Tanı Süresi (yıl)	4,08±3,75		5,63±4,51		-1,41	0,164
Adenom Boyut (mm)	22,17±9,25		15,23±7,67		3,24	0,002
Semptom Süresi (yıl)	6,17±1,66		7±2,22		-1,59	0,117
Operasyon Sayısı	1,29±0,75		1,15±0,7		0,76	0,448

Aktif ve kontrol altındaki akromegalili hastalarda adenom tipi (mikroadenom, makroadenom) açısından fark bulunmadı (p = 0,146). Operasyon 58 hastada en az bir kez uygulanmış iken, 6 hasta opere edilmeden tedavi ve takip edilmiştir. Operasyon sonrası 3.ayda kür oranı kontrollü akromegali grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,006). Her iki grup arasında hipofiz operasyonu ve radyoterapi tedavi uygulaması açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0,825,p=0,866). Aktif grupta SSA + kabergolin kombinasyonu ve SSA + pegvisomant kombinasyonu kullanan hasta oranı yüksek bulunmuştur. Bu özellikler tablo 10'de gösterilmiştir.

Tablo 10. Akromegali hastalarında uygulanan tedavi özellikleri

		Aktif Grup		Kontrollü Grup		
Adenom Tipi (mm)	Mikro	2	8,30%	9	22,50%	$\chi^2:2,12$
	Makro	22	91,70%	31	77,50%	p=0,146
Postop 3.Ay	Aktif	19	79,20%	16	40,00%	
	Kür	3	12,50%	20	50,00%	$\chi^2:10,12$
	Op. Olmayan	2	8,30%	4	10,00%	p=0,006
Hipofiz Op.	Op. Olmayan	2	8,30%	4	10,00%	$\chi^2:0,05$
	Transsfenoidal	22	91,70%	36	90,00%	p=0,825
Radyoterapi	Almamış	19	79,20%	33	82,50%	
	Kanvansiyonel	2	8,30%	2	5,00%	$\chi^2:0,29$
	Gama-Knife	3	12,50%	5	12,50%	p=0,866
Medikal	Almıyor	13	54,20%	31	77,50%	
	Sandostatin	6	25,00%	8	20,00%	
	Sando-Kaber	4	16,70%	0	0,00%	$\chi^2:8,16$
	Sando-Peg	1	4,20%	1	2,50%	p=0,043

(Op. = operasyon, Sando= sandostatin, kaber= kabergolin, peg= pegvisomant)

Aktif ve kontrol altında akromegalisi olan hastalar operasyon öncesi ve operasyon sonrası hipofiz yetmezlik durumlarına göre karşılaştırılmış ve bu özellikler tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11. Akromegali hastalarının hipofiz hormon özellikleri

		Aktif Grup				Kontrollü Grup		
Hipotiroidi	Pre-op.	Yok	21	87,50%	39	97,50%	$\chi^2:2,56$	
		Var	3	12,50%	1	2,50%	$p=0,110$	
	Post-op.	Yok	18	75,00%	36	90,00%	$\chi^2:2,85$	
		Var	6	25,00%	4	10,00%	$p=0,102$	
		p	0,375		0,250			
Hipogonadizm	Pre-op.	Yok	12	50,00%	33	82,50%	$\chi^2:7,59$	
		Var	12	50,00%	7	17,50%	$p=0,006$	
	Post-op.	Yok	13	54,20%	28	70,00%	$\chi^2:1,63$	
		Var	11	45,80%	12	30,00%	$p=0,201$	
		p	0,998		0,227			
Adrenal Yetmezlik	Pre-op.	Yok	21	87,50%	37	92,50%	$\chi^2:0,44$	
		Var	3	12,50%	3	7,50%	$p=0,506$	
	Post-op.	Yok	19	79,20%	38	95,00%	$\chi^2:3,86$	
		Var	5	20,80%	2	5,00%	$p=0,049$	
		p	0,687		0,998			
Diabetes İnsipidus	Pre-op.	Yok	24	100,00%	39	97,50%	$\chi^2:0,61$	
		Var	0	0,00%	1	2,50%	$p=0,435$	
	Post-op.	Yok	24	100,00%	38	95,00%	$\chi^2:1,24$	
		Var	0	0,00%	2	5,00%	$p=0,266$	
		p	-		0,998			

Bu sonuçlara göre aktif ve kontrol altındaki grubun operasyon öncesi ve operasyon sonrası hipotiroidi varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,110$ $p=0,102$). Aktif grubun operasyon öncesi ve operasyon sonrası hipotiroidi varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir ($p=0,375$). Kontrollü grubun operasyon öncesi ve operasyon sonrası hipotiroidi varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmamıştır ($p=0,250$).

Aktif hastalığı olan grupta operasyon öncesi hipogonadizm varlığı hastalığı kontrol altında olan gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,006$). Aktif ve kontrollü grupların operasyon sonrası hipogonadizm varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,201$). Aktif grubun operasyon öncesi ve operasyon sonrası hipogonadizm varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmamıştır ($p=0,998$). Kontrollü grubun operasyon öncesi ve operasyon sonrası hipogonadizm varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir ($p=0,227$).

Aktif ve kontrollü grupların operasyon öncesi adrenal yetmezlik varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,506$). Aktif grupta operasyon sonrası adrenal yetmezlik varlığı kontrollü gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,049$). Aktif ve kontrol altında olan grubun operasyon öncesi ve operasyon sonrası adrenal yetmezlik varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir ($p=0,687$, $p=0,998$).

Aktif ve kontrollü grupların operasyon öncesi ve operasyon sonrası diabetes insipidus (DI) varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,435$ $p=0,266$). Aktif ve kontrol altında olan grubun operasyon öncesi ve operasyon sonrası DI varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir.

Aktif ve kontrol altında akromegalisi olan hastalar eşlik eden hastalıklar açısından incelenmiştir. Buna göre aktif hastalık grubunda splenomegali varlığı daha yüksek oranda bulunmuştur ($p=0,041$). Her iki grup arasında hipertansiyon, diyabetes mellitus, bozulmuş glukoz toleransı, sol ventrikül hipertrofisi, kalp

yetmezliği, malignite, kolon polipi, guatr ve hepatomegali açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu bilgiler ve tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12. Akromegali seyrinde eşlik eden hastalıkların dağılımı

		Aktif Grup		Kontrollü Grup		
Hipertansiyon	Yok	15	62,50%	24	60,00%	$\chi^2:0,04$
	Var	9	37,50%	16	40,00%	p=0,843
Diyabet	Yok	18	75,00%	34	85,00%	$\chi^2:0,99$
	Var	6	25,00%	6	15,00%	p=0,321
Bozulmuş Glikoz Toleransı	Yok	19	79,20%	30	75,00%	$\chi^2:0,15$
	Var	5	20,80%	10	25,00%	p=0,703
Kalp Yetmezliği	Yok	23	95,80%	38	95,00%	$\chi^2:0,02$
	Var	1	4,20%	2	5,00%	p=0,879
Sol ventrikül Hipertrofisi	Yok	12	50,00%	19	47,50%	$\chi^2:0,04$
	Var	12	50,00%	21	52,50%	p=0,846
Malignite	Yok	23	95,80%	36	90,00%	$\chi^2:0,71$
	Var	1	4,20%	4	10,00%	p=0,400
Kolon Polipi	Yok	11	45,80%	19	47,50%	
	Var	10	41,70%	15	37,50%	$\chi^2:0,14$
	Yapılmayan	3	12,50%	6	15,00%	p=0,931
Guatr	Yok	15	62,50%	21	52,50%	$\chi^2:0,61$
	Var	9	37,50%	19	47,50%	p=0,435
Hepatomegali	Yok	18	75,00%	32	80,00%	$\chi^2:0,22$
	Var	6	25,00%	8	20,00%	p=0,639
Splenomegali	Yok	20	83,30%	39	97,50%	$\chi^2:4,18$
	Var	4	16,70%	1	2,50%	p=0,041

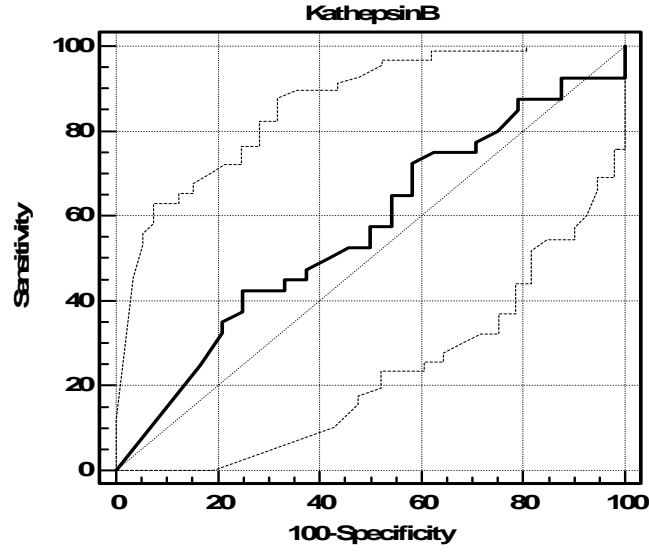
Aktif ve kontrol altında hastalığı olan grupta hastalık aktivitesini gösteren GH ve IGF-1 sonuçları ile MMP-2, MMP-9 ve katepsin B düzeylerinin karşılaştırılması tablo 13'te gösterilmiştir.

Tablo 13. Aktif ve kontrol altındaki akromegali hastalarında MMP-2, MMP-9 ve katepsin B düzeylerinin karşılaştırılması

Hastalık Durumu	Aktif Grup	Kontrollü Grup	t	p
Bazal GH (ng/ml)	3±1,97	0,52±0,8	7,07	0,0001
IGF1 (µg/L)	379±159,07	128,36±51,8	9,22	0,0001
KatepsinB(ng/ml)	0,64±0,51	0,56±0,59	0,53	0,598
MMP-2 (ng/ml)	150,13±54,58	100,27±44,61	3,98	0,0001
MMP-9 (pg/ml)	4937,61±1152,07	5308,18±1102,67	-1,28	0,205

Aktif akromegali grubunda bazal GH, IGF-1 ve MMP-2 ortalama düzeyleri kontrol altındaki gruptan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p=0,0001). Her iki grup arasında katepsin B ve MMP-9 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.

Katepsin B için aktif ve kontrol altındaki akromegali hastalarının ayırıcı tanısında kestirim noktası belirlemek üzere ROC eğrisi çalışıldı (Tablo 14, şekil 5). Serbest ve kısıtlı gruplar için katepsin B ayırıcı tanısında ROC eğrisi altında kalan alan $0,566 \pm 0,0751$ (0,436- 0,689) olarak bulundu. Kestirim noktası 0,09 ng/ml için duyarlılık % 75, özgüllük % 42,5, pozitif kestirim noktası % 43,9, negatif kestirim noktası % 73,9 olarak bulundu. Katepsin B düzeyi > 0,09 ng/ml olan bir hastanın aktif olma riski katepsin B düzeyi < 0,09 ng/ml olan birinden 1,3 kat daha fazla bulundu.



Şekil 5. Katepsin B için ROC eğrisi

Tablo 14. Katepsin B ROC eğrisine göre kestirim noktaları

ROC Eğrisi Altında Kalan Alan %95 GA						
Katepsin B						
0,566±0,0751 (0,436 - 0,689)						
Kestirim Noktası	Duyarlılık	Özgüllük	PKD	NKD	+LR	-LR
>0,01	83,33	25,00	40,0	71,4	1,11	0,67
>0,02	79,17	32,50	41,3	72,2	1,17	0,64
>0,04	75,00	37,50	41,9	71,4	1,20	0,67
>0,09 *	75,00	42,50	43,9	73,9	1,30	0,59
>0,11	66,67	42,50	41,0	68,0	1,16	0,78
>0,15	66,67	45,00	42,1	69,2	1,21	0,74
>0,53	58,33	50,00	<u>41,2</u>	<u>66,7</u>	1,17	0,83
>0,72	45,83	65,00	<u>44,0</u>	<u>66,7</u>	1,31	0,83
>0,99	29,17	75,00	<u>41,2</u>	<u>63,8</u>	1,17	0,94
>1,15	20,83	87,50	<u>50,0</u>	<u>64,8</u>	1,67	0,90
>1,46	0,00	92,50	<u>0,0</u>	<u>60,7</u>	0,00	1,08
>2,41	0,00	100,00		<u>62,5</u>		1,00

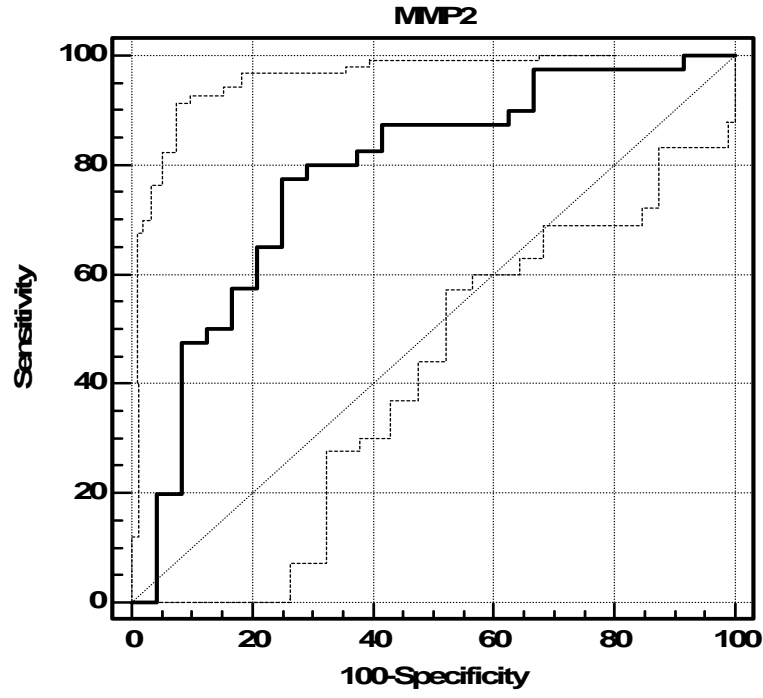
PKD : pozitif kestirim değeri, NKD : negatif kestirim değeri, LR: göreceli orantı

Aktif ve kontrol altında olan akromegali hastalarının ayırıcı tanısında MMP-2 için kestirim noktalarını belirlemek üzere ROC eğrisi çalışıldı (Tablo 15 ve şekil 6). Aktif ve kontrol altında olan grupların ayırıcı tanısında MMP-2 için ROC eğrisi altında kalan alan $0,780 \pm 0,063$ (0,659-0,874) olarak bulundu. Kestirim noktası 118,36 ng/ml için duyarlılık % 75, özgüllük % 77,5, pozitif kestirim noktası % 66,7, negatif kestirim noktası % 83,8 bulundu. MMP-2 düzeyi > 118,36 ng/ml olan bir hastanın aktif olma riski < 118,36 ng/ml olan bir hastaya göre 3,3 kat daha fazla bulundu.

Tablo 15. MMP-2 ROC eğrisine göre kestirim noktaları

ROC Eğrisi Altında Kalan Alan %95 GA						
MMP-2	0,780±0,063 (0,659 - 0,874)					
Kestirim Noktası	Duyarlılık	Özgüllük	PKD	NKD	+LR	-LR
>16,39	95,83	0,00	36,5	0,0	0,96	
>63,55	95,83	20,00	41,8	88,9	1,20	0,21
>95,66	91,67	47,50	<u>51,2</u>	<u>90,5</u>	1,75	0,18
>103,72	87,50	50,00	<u>51,2</u>	<u>87,0</u>	1,75	0,25
>105,81	83,33	52,50	<u>51,3</u>	<u>84,0</u>	1,75	0,32
>107,14	83,33	55,00	<u>52,6</u>	<u>84,6</u>	1,85	0,30
>112,32	75,00	65,00	<u>56,2</u>	<u>81,2</u>	2,14	0,38
>118,36 *	75,00	77,50	<u>66,7</u>	<u>83,8</u>	3,33	0,32
>118,47	70,83	77,50	<u>65,4</u>	<u>81,6</u>	3,15	0,38
>127,44	62,50	80,00	<u>65,2</u>	<u>78,0</u>	3,13	0,47
>132,1	58,33	82,50	<u>66,7</u>	<u>76,7</u>	3,33	0,51
>152,6	37,50	87,50	<u>64,3</u>	<u>70,0</u>	3,00	0,71

PKD : pozitif kestirim değeri, NKD : negatif kestirim değeri, LR : göreceli orantı



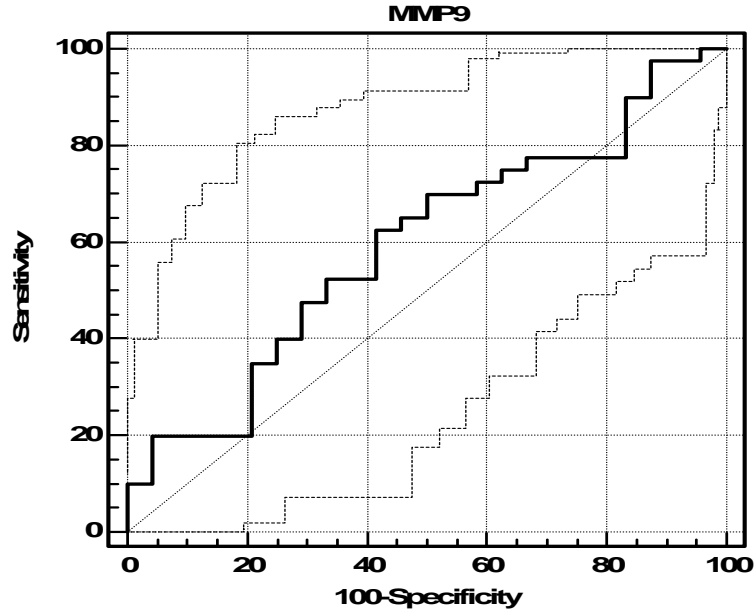
Şekil 6. MMP-2 için ROC eğrisi

Aktif ve kontrol altındaki akromegali hastalarının ayırıcı tanısında MMP-9 için kestirim noktası belirlemek üzere ROC eğrisi çalışıldı . Aktif ve kontrol altındaki akromegali hastalarının ayırıcı tanısında MMP-9 için ROC eğrisinin altında kalan alan $0,595 \pm 0,0723$ ($0,465-0,716$) olarak bulundu. Kestirim noktası 5064,86 pg/ml için duyarlılık % 62,5, özgüllük % 58,3, pozitif kestirim noktası % 71,4, negatif kestirim noktası % 48,3 olarak bulundu. MMP-9 düzeyi > 5064,89 olan bir hastanın aktif olma riski MMP-9 düzeyi < 5064,86 olan bir hastadan 1,5 kat daha yüksek bulundu (Tablo 16, şekil 7).

Tablo 16. MMP-9 için ROC eğrisine göre kestirim noktaları

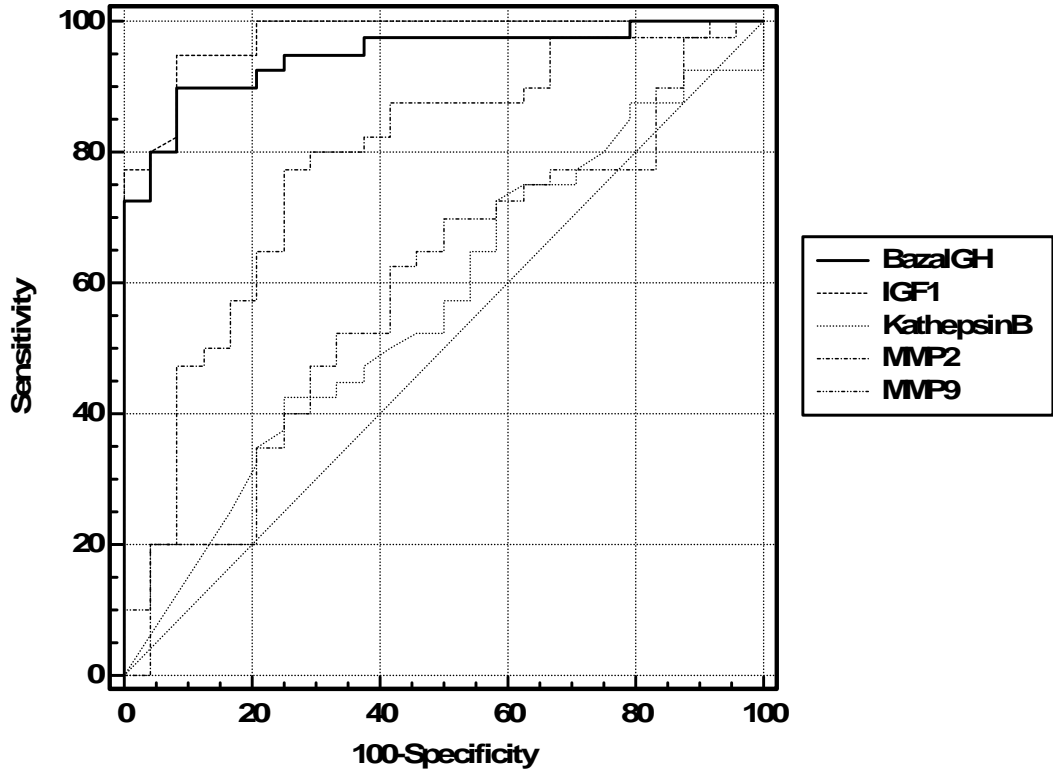
ROC Eğrisi Altında Kalan Alan %95 GA						
MMP9						
0,595±0,0723 (0,465 - 0,716)						
Kestirim Noktası	Duyarlılık	Özgüllük	PKD	NKD	+LR	-LR
<=2334,74	4,17	97,50	50,0	62,9	1,67	0,98
<=3666,46	12,50	90,00	42,9	63,2	1,25	0,97
<=4380,86	16,67	77,50	30,8	60,8	0,74	1,08
<=4960,98	50,00	70,00	<u>50,0</u>	<u>70,0</u>	1,67	0,71
<=5064,86 *	58,33	62,50	<u>48,3</u>	<u>71,4</u>	1,56	0,67
<=5208,52	58,33	52,50	<u>42,4</u>	<u>67,7</u>	1,23	0,79
<=5306,82	66,67	52,50	<u>45,7</u>	<u>72,4</u>	1,40	0,63
<=5443,58	70,83	47,50	<u>44,7</u>	<u>73,1</u>	1,35	0,61
<=5720,33	79,17	35,00	<u>42,2</u>	<u>73,7</u>	1,22	0,60
<=6321,42	95,83	20,00	<u>41,8</u>	<u>88,9</u>	1,20	0,21
<=6757,63	95,83	10,00	<u>39,0</u>	<u>80,0</u>	1,06	0,42

PKD : pozitif kestirim değeri, NKD : negatif kestirim değeri, LR : göreceli orantı



Şekil 7. MMP-9 için ROC eğrisi

Aktif ve kontrol altında olan hastaların ayırıcı tanısının için bazal GH, IGF-1, katepsin B, MMP-2, MMP-9 için ROC eğrisi altında kalan alanlar hesaplanıp, istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Bazal GH ve IGF-1 için ROC eğrisi altında kalan alan açısından fark bulunamamıştır ($p=0,434$). Bazal GH için ROC eğrisi altında kalan alan katepsin B, MMP-9 ve MMP-2 için ROC eğrisi altında kalan alanlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,001$, $p=0,007$). IGF-1 için ROC eğrisi altında kalan alan katepsin B, MMP-9 ve MMP-2 için ROC eğrisi altında kalan alandan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,001$, $p=0,002$). MMP-2 için ROC eğrisi altında kalan alan katepsin B ve MMP-9 için ROC eğrisi altında kalan alandan daha yüksek bulunmuştur ($p=0,022$, $p=0,031$). Katepsin B ve MMP-9 ROC eğrisi altında kalan alanlar açısından fark bulunmamıştır ($p=0,773$). Bu bulgular şekil 8 ve tablo 17’de gösterilmiştir.



Şekil 8. GH, IGF-1, Katepsin B, MMP-2, MMP-9 ROC eğrilerinin karşılaştırılması

Tablo 17. GH, IGF-1, MMP-2, MMP-9, Katepsin B'nin ROC eğrisi altında kalan alan açısından karşılaştırılması

	ROC Eğrisi Altında Kalan Alan	95% CI
Bazal GH	0,948	0,862 - 0,987
IGF1	0,977	0,903 - 0,997
Katepsin B	0,566	0,436 - 0,689
MMP2	0,780	0,659 - 0,874
MMP9	0,595	0,465 - 0,716

ROC Eğrisi Altında Kalan Alan Karşılaştırması	p
Bazal GH / IGF1	0,434
Bazal GH / Katepsin B	0,001
Bazal GH / MMP2	0,007
Bazal GH / MMP9	0,001
IGF1 / Katepsin B	0,001
IGF1 / MMP2	0,002
IGF1 / MMP9	0,001
MMP2/ Katepsin B	0,022
Katepsin B / MMP9	0,773
MMP2 / MMP9	0,031

5. TARTIŞMA

Hipofiz adenomları bütün intrakraniyal tümörlerin % 15 kadarını oluşturur. Çoğunlukla benign karakterde tümörler olmalarına rağmen yaklaşık % 30 oranında sellar ve parasellar bölgeye invazyon yaptıkları bilinmektedir. Akromegalinin en sık nedeni ön hipofiz bezinde yer alan somatotrop hücrelerden kaynaklanan adenomlardır. Bu adenomların % 70'i makroadenomdur ve yaklaşık % 30'u invazyon göstermektedir. İnvaziv adenomlarda cerrahi ile kür sağlama oranı düşüktür ve çoğunlukla cerrahi sonrası ek tedaviye ihtiyaç duyulmaktadır (2,4,5). Hipofiz adenomlarının invazyon potansiyelinde rol oynayan etkenler tam olarak bilinmemektedir.

Hipofiz dokusunda ve hipofiz adenomlarında ESM komponentlerinin varlığı bildirilmiştir. Ayrıca hipofiz adenomlarının kapsülünü çevreleyen duranın tip IV kollajen içerdiği bilinmektedir (10,135,137). Diğer kanserlerin invazyon ve metastaz sürecinde ESM yıkımının önemli bir basamak olduğu ve bu işlemde proteazlar olarak isimlendirilen MMP ve katepsinlerin rol oynadığı gösterilmiştir (8). Pek çok tümörde proteazların ekspresyonlarında artış görülmekte ve tümör patogenezindeki rolleri bilinmektedir. Örneğin katepsin B,D ve L ekspresyonu meme kanserinde, MMP-2 ekspresyonu glioblastome multiformede, MMP-9 ekspresyonu baş ve boyun kanserlerinde artmış olarak bulunmuştur (138-141). ESM komponentleri içermesi nedeniyle hipofiz adenomlarının invazyonunda bu proteazların rol oynayabileceği düşünülmüştür. Bunun üzerine hipofiz adenomlarının invazyonuyla MMP-2, MMP-9 ve katepsin B düzeylerini inceleyen çalışmalar yapılmıştır.

İmmünohistokimyasal boyamalarla yapılan değerlendirme sonucunda invaziv hipofiz adenomlarında MMP-9 ekspresyonunda (10,15), MMP-9 salgılayan hücre insidansında (11), MMP-9 boyanma yoğunluğunda (13) artış gösteren çalışmalar olmakla birlikte MMP-9 ile hipofiz adenom invazyonu arasında ilişki gösteremeyen çalışmalar da vardır (14,16,142). Diğer bir jelatinaz olan MMP-2 ile hipofiz adenomlarının invazivliği arasında bir ilişki bulunamamıştır. Fakat bu çalışmalarda MMP-2'nin inhibitörü olan TIMP-2 düzeylerinin invaziv adenomlarda daha düşük olduğu bulunmuştur. Buradan yola çıkarak hipofiz adenomlarının patogenezinde

MMP-TIMP arasındaki dengede bozulmanın rol oynadığı düşünülmüştür (12,14). Başka bir çalışmada ise invaziv tümörlerde MMP-2 ekspresyonu artmış olarak bulunmuş fakat tümör boyutuyla MMP-2 ekspresyonu arasında ilişki tespit edilememiştir (15). Bir çalışmada katepsin B ile hipofiz adenomu invazyonu arasında ilişki bulunamazken (16), başka bir çalışmada ise atipik adenomlarda (Ki-67 proliferasyon indeksi >%3) katepsin B boyanma derecesi tipik adenomlardan yüksek bulunmuştur (17). Bu çalışmaların bazılarında hipofiz adenomlarının fonksiyonellik durumu ile proteaz ekspresyonları karşılaştırılmıştır. Knappe ve arkadaşları tarafından bildirilen bir çalışmada fonksiyone adenomlarda MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonunun fonksiyonel olmayan adenomlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada ACTH salgılayan adenomlarda MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonu diğer adenom tiplerine göre daha fazla bulunmuştur (14). Başka bir çalışma ise MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonu açısından ACTH, PRL, GH ve fonksiyonel olmayan adenomlar arasında fark gösterememiştir (15). Diğer bir çalışmada fonksiyone adenomlarda katepsin B boyanma derecesi daha yüksek bulunmuştur. Fakat aynı çalışmada normal hipofiz bezinde katepsin B boyanma derecesinin adenomlardan daha fazla olduğu bildirilmiştir (17). Yoshimura ve arkadaşları normal hipofiz bezinde ve prolaktinomlarda katepsin B ve inhibitörü olan sistatin C ekspresyonunu incelemişler ve normal hipofiz bezinde GH ve PRL salgılayan hücrelerde katepsin B ekspresyonunu % 5, sistatin C ekspresyonunu % 70 oranında bulurlarken prolaktinomalarda kuvvetli katepsin B ekspresyonu ve zayıf sistatin C ekspresyonu olduğunu göstermişlerdir (143).

Bu çalışmaları değerlendirecek olursak MMP-2, MMP-9 ve katepsin B ekspresyonu ile adenomların invazyonu ve fonksiyonelliği arasındaki ilişki bütün çalışmalarda tespit edilememiştir. Çalışmalarda farklı sonuçların çıkması tümör invazyonu ile ilgili değişik tanımların kullanılmasından kaynaklanmış olabilir. Çünkü invazyon kararı bazı çalışmalarda radyolojik görüntülemeye, bazılarında ise intraoperatif veya histolojik incelemeye göre verilmiştir. Ayrıca MMP-2, MMP-9 ve katepsin B boyanma düzeylerinin değerlendirilmesinde bir standardizasyon yoktur. Bu yüzden hipofiz adenomlarının invazyon açısından değerlendirilmesinde prognostik önemi de olan objektif belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada takibimizde olan akromegalili hastalar hastalık durumuna göre aktif ve kontrol altında olan olmak üzere iki gruba ayrıldı. Aktif grupta olan hastaların tedavi öncesi ortalama adenom boyutu kontrol altında olan gruptan daha yüksek ve operasyon sonrası 3. ay kür oranları daha düşük bulundu. Adenom gelişiminde ve hormon sekresyonunda rol oynadığı düşünülen MMP-2, MMP-9 ve katepsin B düzeyleri aktif ve kontrol altında hastalığı olan grupla karşılaştırıldı. Aktif hastalığı olan grupta ortalama MMP-2 düzeyleri kontrol altında olan gruba göre anlamlı olarak daha yüksek bulunurken, iki grup arasında MMP-9 ve katepsin B düzeyleri açısından fark bulunmadı. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada aktif akromegali hastalarında katepsin B ve sistein peptidaz inhibitör aktivitesi sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (28). Bizim bulgularımız bu çalışmada çıkan sonucu desteklememektedir. Bu sonuç, iki çalışma arasındaki katepsin B ölçüm yöntemindeki farka bağlı olarak ortaya çıkmış olabilir. Çalışmamızda serum katepsin B düzeyi ELİSA yöntemiyle ölçülmüş olup, diğer çalışmada ise Barrett yöntemiyle serum katepsin B aktivitesi ölçülmüştür. Berdowska, katepsinler üzerine yaptığı derlemede ELİSA yöntemiyle enzimin bütün formlarının ölçüldüğünü, enzimatik yöntemlerle ise aktivite düzeyinin belirlendiğini belirtmiştir. Enzimatik yöntemlerin, substrat özgüllüklerinde çakışma, enzim aktivitesinin stabil olmaması ve endojen inhibitörlerle etkileşim nedeniyle, proteaz düzeylerini olduğundan daha düşük göstermelerine bağlı olarak daha az güvenilir olduğu bildirilmiştir (124). Paisley ve arkadaşları, aktif akromegali hastalarında serum MMP-2 ve MMP-9 düzeylerini ve pegvisomant tedavisiyle ilişkilerini incelemişler ve sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırmışlardır. Tedavi öncesi aktif akromegalili hastalarda serum MMP-2 düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunurken, iki grup arasında MMP-9 açısından fark bulunmamıştır. Pegvisomant tedavisi sonrasında IGF-1 düzeyinde azalmayla ilişkili olarak MMP-2 düzeyinde azalma görülmüş, MMP-9 düzeylerinde değişiklik olmamıştır (27). Bu çalışmanın sonucu bizim bulduğumuz sonuç ile uyumludur. Aktif akromegalili hastalarda MMP-2 düzeyinde görülen artışın akromegali seyrinde görülebilen diğer hastalıklarla ilişkili (özellikle kardiovasküler hastalık ve malignite gibi) olduğu düşünülebilir, fakat bizim çalışmamızda hastalığı aktif ve kontrol altında olan grup arasında eşlik eden hastalıklar açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Akromegali tedavisi sonrası sonuçların değerlendirilmesinde GH ve IGF-1 birlikte kullanılmalıdır. Genel olarak GH ve IGF-1 ölçümleri uyum göstermekle birlikte yaklaşık %30-35 hastada uyumsuz sonuçların varlığı bildirilmiştir (19-21). Bu uyumsuzlukta başlıca nedenlerin, GH ve IGF-1 ölçümlerinde standardizasyonun sağlanamaması, yeterli GH örnekleme yapılmaması, yaş ve cinsiyet etkisi, GH ve IGF-1 düzeylerini etkileyen karaciğer yetmezliği, malnutrisyon, kötü kontrollü diyabet, tiroid disfonksiyonu gibi hastalıkların varlığı ve oral östrojen gibi bazı ilaçların kullanımının olabileceği düşünülmektedir (22,23). Bugüne kadar GH ve IGF-1 düzeylerinde uyumsuzluk görülen hastalarda hastalık aktivitesini belirlemekte kullanılabilecek bir belirteç bulunamamıştır. Çalışmamızda aktif ve kontrol altında hastalık ayırıcı tanısında kullanımlarını belirlemek üzere GH, IGF-1, MMP-2, MMP-9 ve katepsin B için ROC eğrileri incelendi. Aktif ve kontrollü hastalık ayırımını göstermede GH ve IGF-1'in, MMP-2, MMP-9 ve katepsin B'den daha iyi sonuç verdiği görüldü. Aktif ve kontrollü hastalık ayırımını yapmada MMP-2, katepsin B ve MMP-9'dan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha iyi bulundu. ROC eğrisine göre yapılan kestirim noktası değerlendirildiğinde, MMP-2'nin 118,36 ng/ml düzeyinde aktif ve kontrol altında hastalık ayırımında %75 sensitivite, %77,5 spesifiteye sahip olduğu bulundu. MMP-2 düzeyi 118 ng/ml'nin üzerinde olan hastalarda akromegalinin aktif olma riski 118 ng/ml'nin altında olanlara göre 3,3 kat artmış olarak bulundu. Bu sonuçla GH ve IGF-1 uyumsuz hastalarda hastalık aktivitesini belirlemek için kullanılabilecek bir belirteçin varlığı ve eşik değeri gösterilmiş oldu.

Çalışmamız serum MMP-2 düzeyinin aktif akromegali hastalarında kontrol altındaki hastalardan yüksek olduğunu göstermesi açısından bir ilktir. Bununla birlikte çalışmanın daha fazla hasta sayısı ile sağlıklı kontrol grubunu da içerecek şekilde yapılması daha yararlı olacaktır. Ayrıca aktif hastalarda yüksek bulunan MMP-2'nin endojen inhibitörü olan TIMP-2 düzeyine de bakılmasının patogeneze ışık tutacağı düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak aktif akromegalisi olan hastalarda kontrol altında hastalığı olanlara göre MMP-2 düzeyi yüksek bulunurken MMP-9 ve katepsin B düzeyi açısından fark bulunamamıştır. MMP-2 ölçümü hastalık durumunun belirlenmesinde GH ve IGF-1 ölçümüne göre daha iyi sonuç vermemiştir. Fakat bu çalışma MMP-2'nin aktif ve kontrol altında hastalık ayırımında eşik değer vermesi bakımından önemlidir. Ayrıca bu çalışmada çıkan bulguların diğer çalışmalar tarafından desteklenmesi halinde GH ve IGF-1 uyumsuzluğu görülen hastalarda MMP-2 ölçümü hastalık aktivitesini belirlemede kullanılabilecektir.

MMP-2'nin akromegali aktivitesiyle ve patogenezele ilişkisini göstermek üzere tanı anında tümör boyutu, invazyon derecesi, hipofiz dokusunda proteaz ekspresyonu ve serum proteaz düzeylerini incelemek üzere prospektif çalışmalar gerekmektedir. Ayrıca ACTH, PRL, TSH salgılayan fonksiyone ve fonksiyonel olmayan hipofiz adenomu olan hastalarda da serum proteaz düzeyleri incelenmelidir. İnvaziv adenomlarda serum proteaz düzeyleri ve prognostik öneminin başka bir çalışma konusu olabileceği düşünülmektedir.

7. ÖZET

Amaç : Akromegali hastalarının takibinde hastalık aktivitesini belirlemek için GH ve IGF-1 birlikte değerlendirilmelidir. GH ve IGF-1 ölçümleri arasında % 30 oranında uyumsuzluk görülmektedir. Bu uyumsuz sonuçların görüldüğü hastalarda hastalık durumunu belirlemek için başka testlere ihtiyaç vardır. Bu çalışmada hipofiz adenomu patogenezinde rol oynadığı düşünülen protezlar olan matriks metalloproteinaz 2 (MMP-2), MMP-9 ve katepsin B serum düzeyleriyle akromegali hastalık aktivitesi ilişkisini göstermeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem : Bu çalışmada kliniğimizde takip edilen 64 akromegali hastası (34 erkek, 30 kadın) son konsensus kriterlerine göre aktif hastalığı olan (24 hasta) ve kontrol altında hastalığı olan (40 hasta) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Serum MMP-2, MMP-9 ve katepsin B düzeyleri ELİSA yöntemiyle ölçüldü.

Bulgular : Serum MMP-2 düzeyleri aktif akromegalili hastalarda, akromegalisi kontrol altında olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu ($150,1 \pm 54,5$ vs. $100,2 \pm 44,6$ ng/ml; $p < 0,0001$). İki grup arasında serum MMP-9 ve katepsin B düzeyi açısından istatistiksel anlamlı fark bulunamadı ($p = 0,205$; $p = 0,598$). Aktif ve kontrollü hastalık ayırımında GH ve IGF-1 ölçümleri MMP-2, MMP-9 ve katepsin B ölçümünden daha üstün bulundu. MMP-2 düzeyi 118,3 ng/ml ve üzeri aktif hastalığı belirlemede %75 duyarlılık ve %77,5 özgüllüğe sahip bulundu. Hastalığın aktif olma riskinin MMP-2 $> 118,3$ ng/ml olan hastalarda MMP-2 $< 118,3$ ng/ml olanlara göre 3,3 kat yüksek olduğu gösterildi.

Sonuçlar : Bu çalışmada MMP-2 düzeyinin aktif akromegalili hastalarda arttığı gösterildi ve aktif hastalığı tespit etmek üzere MMP-2 için eşik değer belirlendi. Bu sonuca göre GH ve IGF-1 uyumsuzluğu görülen hastalarda hastalık aktivitesini belirlemek için MMP-2 ölçümü kullanılabilir, fakat bu ilişkiyi destekleyecek yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler : akromegali, katepsin B, matriks metalloproteinaz 2, matriks metalloproteinaz 9

8. ABSTRACT

Objective : In the follow up of acromegaly patients, GH and IGF-1 should be evaluated together in order to determine disease activity status. There is a discordance between GH and IGF-1 measurements in %30 of patients and need for other tests to evaluate the patients that shown discordant results. The aim of this study was to show relationship between acromegaly disease activity and serum levels of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2), MMP-9, cathepsin B that was thought to play role in pituitary adenoma pathogenesis.

Material and Method : In the present study 64 acromegaly patients (34 men, 30 women) were divided into two groups that have active (24 patients) and controlled disease (40 patients) according to last consensus criteria. Serum MMP-2, MMP-9 and cathepsin B levels were measured by ELISA method.

Results : Serum MMP-2 levels were significantly higher in patients with active disease than patients with controlled disease ($150,1 \pm 54,5$ vs. $100,2 \pm 44,6$ ng/ml; $p < 0,0001$). There was no significant difference in MMP-9 and cathepsin B levels between two groups ($p = 0,205$; $p = 0,598$). In order to evaluate disease status GH and IGF-1 measurements were superior to MMP-2, MMP-9 and cathepsin B measurements. To determine active disease MMP-2 at levels 118,3 ng/ml have been found to have %75 sensitivity and %77,5 specificity. The risk of active disease was nearly three fold higher in patients with MMP-2 $> 118,3$ ng/ml than patients with MMP-2 $< 118,3$ ng/ml.

Conclusion : In this study, it was shown that MMP-2 levels are increased in active acromegaly patients than those under control. Furthermore a cut-off level was defined for MMP-2 to determine active disease. These findings suggest to use MMP-2 measurement in patients with discordant GH and IGF-1 results to confirm disease status. Further studies are required to support these findings.

Key Words : acromegaly, cathepsin B, matrix metalloproteinase 2, matrix metalloproteinase 9

9. KAYNAKLAR

1. Melmed S. Medical Progress : Acromegaly. *N Eng J Med* 2006; **355** : 2558-73
2. Molitch ME. Clinical manifestations of acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1992; **21** : 597
3. Mestron A, Webb SM, Astorga R, et al. Epidemiology, clinical characteristics, outcome, morbidity and mortality in acromegaly based on the Spanish Acromegaly Registry (Registro Espanol de Acromegalia, REA) *Eur J Endocrinol* 2004; **151**: 439-446
4. Acquati S, Pizzocaro A, Tomei G, Giovanelli M, Libe R, Faglia G, Ambrosi B. A comparative evaluation of effectiveness of medical and surgical therapy in patients with macroprolactinoma. *J Neurosurg Sci* 2001; **45** : 65-69
5. Meiji BP, Lopes MB, Ellegala DB. The long term significance of microscopic dural invasion in 354 patients with pituitary adenomas treated with transsphenoidal surgery. *J Neurosurg* 2002; **96** : 195-208
6. Thapar K, Kovacs K, Scheithauer BW, Stefanescu L, Horvath E, Petnicore PJ, Murray D, Laws ER Jr. Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas : An analysis using the MIB-1 antibody. *Neurosurgery* 1996; **38** : 99-107
7. Burger PC, Scheithauer BW, Vagel FS. *Surgical Pathology of the Nervous System and its Coverings*. New York : Churchill Livingstone, 4 th ed, 2002
8. Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG. Cancer metastasis and angiogenesis : an imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 1991; **64** (2) : 327-336
9. Duff MJ. Role of proteolytic enzymes in cancer invasion and metastasis. *Clin and Exp Metastasis* 1992; **10** : 145-155
10. Kawamoto H, Uozumi T, Kawamoto K, Arita K, Yano Y, Hirohata T. Type IV collagenase activity and cavernous sinus invasion in human pituitary adenomas. *Acta Neurochir (Wien)* 1996; **138** : 390-395
11. Kawamoto H, Kawamoto K, Mizoue T, Uozumi T, Arita K, Kurisu K. Matrix metalloproteinase-9 secretion by human pituitary adenomas detected by cell immuno

- blot analysis. *Acta Neurochir (Wien)* 1996; **138** : 1442-1448
12. Beaulieu E, Kachra Z, Mousseau N, Delbecchi L, Hardy J, Beliveau R. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in human pituitary tumors. *Neurosurgery* 1999; **45** : 1432-1441
13. Turner HE, Nagy Z, Esiri MM, Harris AL, Wass JAH. Role of matrix metalloproteinase-9 in pituitary tumor behaviour. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; **85**: 2931-2935
14. Knappe UJ, Hagel C, Lisboa WL, Waldemar W, Ludecke DK, Saeger W. Expression of serine proteases and metalloproteinases in human pituitary adenomas and anterior pituitary lobe tissue. *Acta Neuropathol* 2003; **106** : 471-478
15. Liu W, Matsumoto Y, Okada M, Miyake K, Kunisho K, Kuwori N, Tamiya T, Nagao S. Matrix metalloproteinase-2 and 9 expression correlated with cavernous sinus invasion of pituitary adenomas. *J Med Invest* 2005; **52 (3-4)** : 151-8
16. Yokoyama S, Hirano H, Moraki K, Goto M, Imamura S and Karatsu J. Are nonfunctioning pituitary adenomas extending into the cavernous sinus aggressive and/or invasive? *Neurosurg* 2001; **49** : 857-860
17. Strojnik T, Lah TT, Zidanik B. Immunohistochemical staining of cathepsin B, L and stefin A in human hypophysis and pituitary adenomas. *Anticancer Res* 2005; **25** : 587-594
18. Katznelson L, Atkinson John LD, Cook DM, Ezzat SZ, Hamrahian AH, Miller KK. American Association of Clinical Endocrinologist Medical Guidelines for Clinical Practice for the Diagnosis and Treatment of Acromegaly-2011 Update. *Endocr Pract* 2011; **17 (Suppl 4)** : 1-44
19. Ho KY, Wiessberger AJ. Characterization of 24 hour growth hormone secretion in acromegaly : implications for diagnosis and therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994; **41** : 75-83
20. Carmichael JD, Bonert VS, Mirocha JM, Melmed S. The utility of oral glucose tolerance testing for diagnosis and assesment of treatment outcomes in 166 patients with acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; **94** : 523-527
21. Machado EO, Taboada GF, Neto LV, et al. Prevalance of discordant GH and IGF-1 levels in acromegalics at diagnosis, after surgical treatment and during treatment with octreotide LAR. *Growth Horm IGF-1 Res* 2008; **18** : 389-393

22. Arafat AM, Möhlig M, Weickert MO, Perschel FH, Purschwitz J, Spranger J, Strasburger CJ, Schöfl C, Pfeiffer AF. Growth hormone response during oral glucose tolerance test : the impact of assay method on the estimation of reference values in patients with acromegaly and in healthy controls, and the role of gender, age and body mass index. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; **93** : 1254-1262
23. Freda PU. Monitoring of acromegaly : what should be performed when GH and IGF-1 levels are discrepant ? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009; **71** : 166-170
24. Colao A, Pivonella R, Cappabianca P, Briganti F, Tortora F, Auriemma RS, De Martino MC, Marzullo P, Lombardi G. Effect of gender and gonadal status on the long term response to somatostatin analogue treatment in acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; **63** : 342-349
25. Kim HJ, Kwon SH, Kim SW, Lee MG et al. Diagnostic value of serum IGF-1 and IGFBP-3 in growth hormone disorders in adults. *Horm Res* 2001; **56** (3-4) : 117-123
26. Arasia M, Gamore S, Bruzzi P, Faglia G, Minuto F, Barreca A. Diagnostic value of the acid-labile subunit in acromegaly : evaluation in comparison with insulin like growth factor – I and IGF binding protein -1, -2, -3. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; **86** : 1091-1098
27. Paisley AN, O’Callaghan CJ, Lewandowski KC, Parkinson C, Roberts ME, Drake WM, Monson JP, Trainer PJ, Randeve HS. Reductions of Circulating Matrix Metalloproteinase 2 and Vascular Endothelial Growth Factor Levels after Treatment with Pegvisomant in Subjects with Acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; **91** (**11**) : 4635-4640
28. Daroszewski J, Bolanowski M, Kaluzny M, Siewinski M. The imbalance of cathepsin B-like activity in acromegalic patients- preliminary report. *Neuroendocrinol Lett* 2010; **31** (**2**) : 256-260
29. Anat BS, Shlomo M. Acromegaly. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2008; **37** : 101-122
30. Verga A. Caso singolare di prosopectosia. Rendiconti-Reale Istituto 1st Lombardo di Scienze e lettere. Classe di Sieze Matematiche. *Naturali* 1864; **1** : 111-117
31. Marie P. Sur deux cas d’acromegalie : hypertrophie singuliere non congenitale,

- des extremités supérieures, inférieures et céphalique. *Rev Med Liege* 1886;**6**: 297-333
32. Jane JA Jr, Laws ER J. History of acromegaly. In : Wass J, ed. *Handbook of Acromegaly* : Bioscientifica Ltd, Bristol, UK, 2001 : 3-15
33. Cushing H. Partial hypophysectomy for acromegaly. *Ann Surg* 1909; **50** : 1002-1017
34. Alexander L, Appleton D, Hall R, Ross WM, Wilkinson R. Epidemiology of acromegaly in the Newcastle region. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1980; **12** : 71-79
35. Ezzat S, Forster MJ, Berchtold P, Redelmeier DA, Boerlin V, Harris AG. Acromegaly : clinical and biochemical features in 500 patients. *Medicine (Baltimore)* 1994; **73** : 233-240
36. Rajasoorya C, Holdaway IM, Wrighton P, Scott DJ, Ibbertson HK. Determinants of clinical outcome and survival in acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994; **41** : 95-102
37. Melmed S. Acromegaly pathogenesis and treatment. *J Clin Invest* 2009; **119** (11): 3189-202
38. Naborro JD. Acromegaly. *Clin Endocrinol* 1987; **26** : 481-512
39. Trautmann JC, Laws ER. Visual status after transsphenoidal surgery at the Mayo Clinic 1971-1982. *Am J Ophthalmol* 1983; **96** : 200-208
40. Katznelson L, Kleinberg D, Vance ML et al. Hypogonadism in patients with acromegaly : data from the multi-centre acromegaly registry pilot study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; **54** : 183-188
41. Künzler A, Farmond M. Typical changes in the viscerocranium in acromegaly. *J Craniomaxillofac Surg* 1991; **19** : 332-340
42. Jadresic A, Banks LM, Child DF, et al. The acromegaly syndrome : relation between clinical features, growth hormone values and radiologic characteristics of the pituitary tumors. *Q J Med* 1982; **51** : 189-204
43. Biermasz NR, Pereira AM, Smit JW, Romijn JA, Roelfsema F. Morbidity after long term remission for acromegaly : persisting joint-related complaints cause reduced quality of life. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; **24** : 72-78
44. Attal P, Chanson P. Endocrine aspects of obstructive sleep apnea. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; **95** : 483-495

45. Colao A, Ferore D, Marzulla P, Lomberdi G. Systemic complications of acromegaly : epidemiology, pathogenesis and management. *Endocr Rev* 2004; **60** : 343-349
46. Biering H, Knappe G, Gerl H, Lochs H. Prevalance of diabetes in acromegaly and Cushing syndrome (in German). *Acta Med Austriaca* 2000; **27** : 27-31
47. Delhougre B, Deneux C, Abs R et al. The prevalance of colonic polyps in acromegaly: a colonoscopic and pathological study in 103 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; **80** : 3223
48. Orme SM, Mc Nally RJ, Cartwright RA, Belchetz PE. (United Kingdom Acromegaly Study Group) Mortality and cancer incidence in acromegaly : a retrospective cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; **83** : 2730-2734
49. Dekkers OM, Biermasz NR, Pereira AM, Romijn JA, Vandembroucke JP. Mortality in acromegaly : a metaanalysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; **93** : 61-67
50. Holdaway IM, Bolland MJ, Gamble GD. A meta analysis of the effect of lowering serum levels of GH and IGF-1 on mortality in acromegaly. *Eur J Endocrinol* 2008; **159** : 89-95
51. Biller BM, Vance ML, Kleinberg DL, Cook DM, Gordon T. Clinical and reimbursement issues in growth hormone use in adults. *Am J Manag Care* 2000; **6 (15 suppl)** : 817-827
52. Clemmons DR, Von Wyk JJ, Ridgway EC, Kliman B, Kjellberg RN, Underwood LE. Evaluation of acromegaly by radioimmunoassay of somatomedin-C. *N Engl J Med* 1979; **301** : 1138-1142
53. Juul A. Serum levels of insülin-like growth factor I and its binding proteins in health and disease. *Growth Horm IGF Res* 2003; **13** : 113-170
54. Brabant G, Von zur Mühlen A, Wüster C et al. (German Kims Board) Serum insülin like growth factor I reference values for an autumated chemiluminescence immunoassay system : results from a multicentre study. *Horm Res* 2008; **60** : 53-60
55. Giustina A, Berkan A, Casanueva FF, et al. Criteria for cure of acromegaly : a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; **85** : 526-529
56. Freda PU, Post KD, Powell JS, Wardlaw SC. Evaluation of disease status with sensitive measures of growth hormone secretion in 60 postoperative patients with acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; **83** : 3808

57. Guistina A, Chanson P, Bronstein MD et al. A consensus on criteria for cure of acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; **95** : 3141-8
58. Trainer PJ, Barth J, Sturgeon C, Wieringaon G. Consensus statement on the standardisation of GH assays. *Eur J Endocrinol* 2006; **155** : 1-2
59. Burns C, Rigsby P, Moore M, Rofferty B. The First International Standard for Insulin-like Growth Factor -1 (IGF-1) for immunoassay : preparation and calibration in an international collaborative study. *Growth Horm IGF Res* 2009; **19** : 457-462
60. Sneppen SB, Lange M, Pedersen LM, Kristensen L, Main KM, Juul A, Skakkebaek NE, Feldt-Rasmussen U. Total and free insulin like growth factor - I, insulin like growth factor binding protein-3 and acid-labile subunit reflect clinical activity in acromegaly. *Growth Horm IGF Res* 2001; **11** : 384-391
61. Faglia G, Arasia M, Bazzoni N. Ectopic acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1992; **21**: 575-595
62. Kreutzer J, Vance ML, Lopes MB and Laws ER. Surgical management of GH secreting pituitary adenomas : an outcome study using modern remission criteria. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; **86** : 4072-4077
63. Shiman I, Cohen ZR, Ram Z, Hadoni M. Transsphenoidal surgery for acromegaly: endocrinological follow-up of 98 patients. *Neurosurgery* 2001; **48** : 1239-1243
64. Freda PU, Katznelson L, van der Lely AJ, Reyes CM, Zhao S, Rabinowitz D. Long acting somatostatin analogue therapy of acromegaly : a meta analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; **90** : 4465-4473
65. Mercado M, et al. A prospective multicentre study to investigate the efficacy, safety and tolerability of octreotide LAR in the primary therapy of patients with acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; **66** : 859-868
66. Abs R, Verhelst J, Maiter D, Van Acker K, Nobelst F, Coolens JL, Mahler C, Beckers A. Cabergoline in the treatment of acromegaly a study in 64 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; **83** : 374-378
67. van der Lely AJ, Hutson RK, Trainer PJ, et al. Long term treatment of acromegaly with pegvisomant, a growth hormone receptor antagonist. *Lancet* 2001; **358** : 1754-1759

68. Melmed S, Colao A, Barkan A, Molitch M, Grossman B, Klienberg D, Clemmons D, Chanson P, Laws ER, Schlechte J, Vance ML, Ho K and Giustina A. Guidelines of Acromegaly Management: An Update. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; **94 (5)** : 1509-1517
69. Libby P, Lee RT. Matrix matters. *Circulation* 2000; 102 (**16**) : 1874-1876
70. Bosman F and Stamenkovic I. Functional structure and composition of the extracellular matrix. *Journal of Pathology* 2003; **200** : 423-428
71. Laurie GW, Leblond CP. What is known of the production of basement membrane components. *J Histochem Cytochem* 1983; **31** : 159-163
72. Knudson W, Bartnik E, Knudson CB. Assembly of pericellular matrices by COS-7 cells transfected with CD 44 lymphocyte homing receptor genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; **90** : 4003-4007
73. Pepper MS. Extracellular proteolysis and angiogenesis. *Thromb Haemost* 2001; **86** : 346-355
74. Barret AJ, Rawlings ND. Classification of peptidases. *Biol Chem* 1992; **244** : 353-373
75. Page-Mc Caw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nat Rev Moll Cell Biol* 2007; **8** : 221-233
76. Parks WC, Wilson CL, Lopez Boada Y. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2004; **4** : 617-629
77. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Can Cancer* 2002; **2** : 161-174
78. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 2006; **69** : 562-573
79. Murphy G. The ADAMs : signalling scissors in the tumour microenvironment. *Nat Rev Cancer* 2008; **8** : 932-941
80. Reel B. Matriks metalloproteinaz enzimleri ve ateroskleroz. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2006; **26** : 527-537
81. Apakkan Aksun S, Özmen D, Bayındır O. Metalloproteinazlar, inhibitörleri ve ilişkili fizyolojik ve patolojik durumlar. *T Klin Tıp Bilimleri* 2001; **21**: 332-342
82. Snoek van Beurden PA, Von den Hoff JW. Zymographic techniques for the analysis of matrix metalloproteinase and their inhibitors. *Biotechniques* 2005; **38 (1)**:

73-83

83. Mook ORF, Frederiks WM, Noorden CJF. The role of gelatinases in colorectal cancer progression and metastasis. *Biochimica et Biophysica Acta* 2004; **1705**: 69-89
84. Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem* 1997; **378** : 151-160
85. Barrett AJ, Starkey PM. The interaction of alpha-2 macroglobulin with proteinases. Characteristics and specificity of the reaction and hypothesis concerning its molecular mechanism. *Biochem J* 1974; **133 (4)** : 709-724
86. Vater CA, Mainardi CL, Harris Jr ED. Inhibitor of human collagenase from cultures of human tendon. *J Biol Chem* 1979; **254 (8)** : 3045-3053
87. Baker AH, Edwards DR, Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *J Cell Sci* 2002; **115** : 3719-3727
88. Aimes RT, Quigley JP. Matrix metalloproteinase 2 is an interstitial collagenase. Inhibitor free enzyme catalyzes the cleavage of collagen fibrils and soluble native type I collagen generating the specificity $\frac{3}{4}$ and $\frac{1}{4}$ length fragments. *J Biol Chem* 1995; **270 (11)** : 5872-5876
89. Elkins PA, Ho YS, Smith WW, Jenson CA, D'Alessio KJ, Mc Quenay MS, Cummings MD, Romanic AM. Structure of the C-terminally truncated human pro MMP-9, a gelatin binding matrix metalloproteinase. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2002; **58 (7)** : 1182-1192
90. Barrantes HS, Toth M, Bernardo M, Yurkova M et al. Binding of active (57 kDa) membrane type I matrix metalloproteinase (MT-1 MMP) to tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP-2) regulates MT-1 MMP processing and proMMP-2 activation. *J Biol Chem* 2000; **275** : 12080-12089
91. Harvey MB, Leco KJ, Arcellano-Panlilio MY, Zhang X, Edwards P, Schultz GA. Roles of growth factors during peri implantation development. *Hum Reprod* 1995; **10 (3)** : 712-718
92. Ravanti L, Kohon M. Matrix metalloproteinases in wound repair. *Int J Mol Med* 2000; **6 (4)** : 391-407
93. Murphy G, Nagase H. Reappearing metalloproteinases in rheumatoid arthritis and osteoarthritis : destruction or repair ? *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008; **4 (3)** : 128-135

94. Shirakabe A, Asai K, Hato N, Yokoyama S, Shinada T, Kobayoshi N, Mizuno K. Clinical Significance of Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) in Patients with Acute Heart Failure. *Int Heart J* 2010; **51 (6)** : 404-410
95. Gialeli C, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *FEBS Journal* 2011; **278** : 16-27
96. Martignetti JA, Al Aqcel A, Al Sewairi W, Boumah CE, Kambouris M et al. Mutation of matrix metalloproteinase 2 gene (MMP-2) causes a multicentric osteolysis and arthritis syndrome. *Nature Genet* 2001; **28 (3)** : 261-265
97. Kennedy AM, Irada M, Knore SM, Christie PT, Harding B et al. MMP 13 mutation causes spondyloepimetaphyseal dysplasia, missouri type (SEMD(MO)) *J Clin Invest* 2005; **115 (10)** : 2833-2842
98. Puente XS, Sanchez LM, Overall CM, Lopez-Otin C. Human and Mouse proteases : a comparative genomic approach. *Nat Rev Genet* 2003; **4 (7)** : 544-558
99. Willstätter R, Bamann E. Über die Proteasen der Mogenschlumhant. Eiste Abhandlung über die Enzyme der Leukozyten. *Happe-Seyler's Z Physiol Chem* 1929; **180 (1-3)** : 127-143
100. Rawlings ND, Morton FR, Kok CY, Kong J, Barrett AJ. MEROPs : the peptidase database. *Nucleic Acids Res* 2008; **36** : 0320-0325
101. Zavosnik-Bergant T, Turk B. Cysteine cathepsins in the immune response. *Tissue Antigens* 2006; **67 (5)** : 349-55
102. Turk B, Turk D, Salvasen GS. Regulating cysteine protease activity. Essential role of protease inhibitors as guardians and regulators. *Curr Pharm Des* 2002; **8 (18)**: 1623-37
103. Vasiljeva O, Reinheckel T, Peteis C, Turk D, Turk V, Turk B. Emerging roles of cysteine cathepsins in disease and their potential as drug targets. . *Curr Pharm Des* 2007; **13** : 387-403
104. Turk V, Turk B, Turk D. Lysosomal cysteine proteases: facts and opportunities. *EMBO J* 2001; **20 (17)** : 4629-33
105. Reid WA, Valler MS, Kay J. Immunolocalization of cathepsin D in normal and neoplastic human tissues. *J Clin Pathol* 1986; **39** : 1323-1330

106. Fujito H, Tanaka Y, Naguchi Y, Kona A, Himero M, Kota K. Isolation and sequencing of a cDNA clone encoding rat liver lysosomal cathepsin D and the structure three forms of mature enzymes. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; **179**: 190-196
107. Tsukuba T, Okamoto K, Okamoto Y, Yanagowa M, Kahmura K, Yosuda Y, Uchi H, Nakahoma T et al. Association of cathepsin E deficiency with development of atopic dermatitis. *J Biochem* 2003; 134 (6) : 839-902
108. Hahn PA, Popescu NC, Hanson RD, Salvasen G, Lay TS. Genomic organization and chromosomal localization of the cathepsin G gene. *J Biol Chem* 1989; **264** : 13412-13419
109. Adkinson AM, Roptis SZ, Kelly DG, Pham CT. Dipeptidyl peptidase I activates neutrophil derived serine proteases and regulates the development of acute experimental arthritis. *J Clin Invest* 2002; **109** : 363-371
110. Nathan C. Neutrophils and immunity : challenges and opportunities. *Nat Rev Immunol* 2006; **6** : 173-182
111. Mc Grath ME. The lysosomal cysteine proteases. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1999; **28** : 181-204
112. Brix K, Dunkhorst A, Mayer K, Jordans S. Cysteine cathepsins : Cellular roadmap to different functions. *Biochimie* 2008; **90** (2) : 194-207
113. Kirschke H, Wiederanders B, Brömme D, Rinire A. Cathepsin S from bovine spleen. Purification distribution, intracellular localization. Action on proteins. *Biochem J* 1989; **264** : 467-73
114. Gocheva V, Joyce JA. Cysteine cathepsins and the cutting edge of cancer invasion. *Cell Cycle* 2007; **6** : 60-64
115. Dolenc I, Turk B, Pungercic G, Ritanjo A, Turk V. Oligomeric structure and substrate inhibition of human cathepsin C. *J Biol Chem* 1995; **270** : 21626-31
116. Garnerio P, Borel O, Delmas PD, Delaisse JM, et al. The collagenolytic activity of cathepsin K is unique among mammalian proteinases. *J Biol Chem* 1998; **273** (48) : 32347-32352
117. Carmona E, Dufour E, Plouffe C, Takebe S, Mason P, Mort JS, Menard E. Potency and selectivity of the cathepsin L propeptide as an inhibitor of cysteine proteases. *Biochemistry* 1996; **35** (25) : 8149-8157

118. Baranski TJ, Faust PL, Kornfeld G. Generation of a lysosomal enzyme targeting signal in the secretory protein pepsinogen. *Cell* 1990; **63** (2) : 281-291
119. Jaiswal JK, Andrew NW, Simon SM. Membrane proximal lysosomes are the major vesicles responsible for calcium-dependent exocytosis in non secretory cells. *J Cell Biol* 2002; **159** (4) : 625-635.
120. Ishidoh K, Kominami E. Processing and activation of lysosomal proteinases. *Biol Chem* 2002; **383** : 1287-1331
121. Reiser J, Adair B, Reinheckel T. Specialized roles for cysteine cathepsins in health and disease. *J Clin Invest* 2010; **120** (10) : 3421-31
122. Delaisse JM, Engsig MT, Everts V et al. Proteinases in bone resorption : obvious and less obvious roles. *Clin Chim Acta* 2000; **291** : 223-34
123. Dunn AD, Crutchfield HE, Dunn JT. Thyroglobulin processing by thyroidal proteases. *J Biol Chem* 1991; **266** : 20198-204
124. Berdowska I. Cysteine proteases as disease markers. *Clin Chim Acta* 2004; **342** (1-2) : 41-69
125. Gelb BD, Shi GP, Chapman HA, Desnick RJ. Pycnodystosis, a lysosomal disease caused by cathepsin K deficiency. *Science* 1996; **273** : 1236-8
126. Hou WS, Bromme D, Zhao Y, et al. Characterization of novel cathepsin K mutations in the pre and mature polypeptide regions causing pycnodystosis. *J Clin Invest* 1999; **103** : 731-8
127. Toomes C, James J, Wood AJ, Wu CL, Sloan P, Dixon MJ, Thakker NS et al. Loss of function mutations in the cathepsin C gene result in periodontal disease and palmoplantar keratosis. *Nat Genet* 1999; **23** (4) : 421-424
128. Musil D, Zucic D, Turk D, Ergh RA, Mayr I, Huber R, et al. The refined 2.15 Å X-Ray crystal structure of human liver cathepsin B : the structural basis for its specificity. *EMBO J* 1991; **10** : 2321-2330
129. Mach L, Stuwe K, Hogen A, Ballaun G, Glossal J. Proteolytic processing and glycosylation of cathepsin B. The role of the primary structure of the latent precursor and of the carbohydrate moiety for cell-type specific molecular forms of the enzyme. *Biochem J* 1992; **282** (p72) : 577-582
130. Holongk W, Lerch MM, Brandt-Nedelev B, Roth W, Ruthenbueger M, Reinheckel T, Domschke W, Lippert H, Peters C, Deussing J : Role of cathepsin B in

- intracellular trypsinogen activation and the onset of acute pancreatitis. *J Clin Invest* 2000; **106 (6)** : 773-781
131. Mart JS, Buttle DJ. Molecular in Focus. Cathepsin B. *Int J Biochem Biol* 1997; **29** : 715-720
132. Sameni M, Elliot E, Ziegler G, Fortgers PH, Dennison C, Sloane BF. Cathepsin B and D are localized at the surface of human breast cancer cells. *Pathol Oncol Res* 1995; **1 (1)** : 43-53
133. Buck MR, Karustis DG, Day NA, Hann KV, Sloane BF. Degradation of extracellular matrix proteins by human cathepsin B from normal and tumor tissues. *Biochem J* 1992; **282** : 273-278
134. Melmed S, Kleinberg D. Pituitary masses and tumors. In : Melmed S, Polonsky KS, Lorsen PD, Kronenberg HM, ed. *Williams Textbook of Endocrinology* [12th ed] U.S.A : Elsevier Sanders publications 2011 : 229-323
135. Farroud MR, Veirana N, Derome P, Peillon F, Li JY. Adenomatous transformation of the human anterior pituitary is associated with alterations in integrin expression. *Int J Cancer* 1996; **67** : 45-53
136. Yashimuro K, Tsuchida T, Kawamoto K. Expression of cathepsin B and cystatin C in the human adenohypophysis and in pituitary adenomas. *Oncol Rep* 2000; **7 (1)** : 27-31
137. Laquerriere A, Yun J, Hemet JTJ, Tadie M. Experimental evaluation of bilayered human collagen as a dural substitute. *J Neurosurg* 1993; **78** : 487-491
138. Lah TT, Kokalj-Kunovar M, Struelj B, et al. Stefins and lysosomal cathepsins B, L and D in human breast carcinoma. *Int J Cancer* 1992; **50** : 36-44
139. Gabrijelcic D, Svetic B, Spaic D, Skrk J, Budinha M, Turk V. Determination of cathepsin B, H, L and kininogen in breast cancer patients. *AAS, Recent Prog Kinins* 1992; **38/II** : 350-7
140. Nakada M, Kita D, Futami K, Yamashita J, Fujimoto N, Sato H. Roles of membrane type 1 matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase 2 in invasion and dissemination of human malignant glioma. *J Neurosurg* 2001; **94** : 464-473
141. Werner JA, Rathcke IO, Mandic R, et al. The role of matrix metalloproteinase in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Clin Exp Metastasis* 2002; **19** :

275-282

142. Yamada S, Ohyama K, Taguchi M, Takeshita A, Morita K, Takano K, Sano T. A Study of the correlation between morphological findings and biological activities in clinically nonfunctioning pituitary adenomas. *Neurosurgery* 2007; **61(3)** : 580-4
143. Yoshimura K, Tsuchida T, Kawamoto K. Expression of cathepsin B and cystatin C in the human adenohypophysis and in pituitary adenomas. *Oncol Rep* 2000; **7(1)** : 27-31

