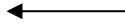
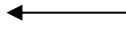


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**AKROMEGALİ HASTALIĞI İLE FİLAMİN-A VE BETA-
ARRESTİN GEN POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

AYŞE SEDA AKDEMİR

**DANIŞMAN
PROF. DR. MELEK ÖZTÜRK SEZGİN**

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

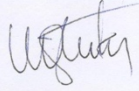
İSTANBUL-2018

TEZ ONAYI**YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI**

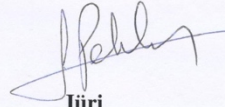
İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Cerrahpaşa Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tezli Yüksek Lisans Programında Yüksek Lisans öğrencisi Ayşe Seda Akdemir tarafından Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK SEZGİN'nin danışmanlığında hazırlanan "Akromegali Hastalığı ile Filamin-A ve Beta Arrestin Gen Polimorfizmleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 20/07/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.



Jüri Başkanı
Prof. Dr. Selma YILMAZER
Altınbaş Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı



Jüri-Danışman
Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK SEZGİN
İ.Ü, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı



Jüri
Prof. Dr. Sacide PEHLİVAN
İ.Ü, İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



AYŞE SEDA AKDEMİR



İTHAF

Annem Sevim AKDEMİR, Babam Mustafa AKDEMİR ve Kardeşim Onur Serkan
AKDEMİR'e ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve bu çalışmanın her aşamasında, bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren ve motive eden, birlikte çalışmaktan her zaman onur ve mutluluk duyacağım tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabır için müteşekkir olduğum değerli danışmanım Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK SEZGİN'e, çalışmalarım boyunca yardımlarını ve desteklerini benden esirgemeyen, birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyacağım çok değerli arkadaşlarım Derya METİN ARMAĞAN ve Merve ANAPALI'ya, tez çalışmam süresince desteğinden dolayı Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Turgut ULUTİN'e, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarında çalışmama imkan sağlayan Prof. Dr. Selma YILMAZER, Doç. Dr. Duygu GEZEN-AK ve Doç. Dr. Erdi DURSUN'a, çalışma örneklerimin sağlanması, veri toplanması ve bilimsel katkıları için Prof. Dr. Pınar KADIOĞLU, Uzm. Dr. Hande Mefküre BEKTAŞ ÖZKAYA ve Uzm. Dr. Özge POLAT KORKMAZ'a, istatistiksel analizlerde ki yardımları için Prof. Dr. Ahmet DİRİCAN'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her zaman yanımda oldukları için şükrettiğim, yaptıkları fedakarlıklarla beni bu günlere getiren, desteklerini bir an olsun esirgemeyen, sevgi ve inançlarını tüm kalbimle hissettiğim, onlara sahip olduğum için onur ve gurur duyduğum, annem SEVİM AKDEMİR, babam Mustafa AKDEMİR'e ve yüzümü her zaman güldürebilen kardeşim Onur Serkan AKDEMİR'e sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 26147

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİİ
BEYAN	İV
İTHAF	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER	VII
TABLolar LİSTESİ	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XII
ÖZET	XV
ABSTRACT	XVI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Hipofiz Bezi Anatomisi ve Histolojisi	4
2.1.1. Nörohipofiz	4
2.1.2. Adenohipofiz	5
2.2. Somatotroplar	6
2.2.1. Büyüme Hormonu	7
2.2.2. Somatostatin (SS) ve Somatostatin Reseptörleri (SSTR)	8
2.2.2.1. SSTR ve Sinyal iletimindeki Rolü	10
2.2.3. Hipofiz Adenomları	12
2.3. Akromegali Hastalığı	16
2.3.1. Akromegali Hastalığının Tedavisi	17
2.3.2. Akromegali Hastalarında Tedaviye Direnç	18
2.4. Filamin A	22
2.5. β -arrestin	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Kullanılan Malzemeler	33
3.2. DNA izolasyonu	33
3.2.1. DNA İzolasyon Protokolü	33
3.3. DNA Saflığı ve Miktarının Tespiti	34

3.4. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile FLNA ve β -arrestin 2 genotiplerinin belirlenmesi	34
3.4.1. FLNA Genotipleri.....	35
3.4.2. β -arrestin-2 Genotipleri.....	36
3.4.3. Deneylerde Kullanılan Simple Prob'ların Hazırlanışı	38
3.4.4. RT-PCR Reaksiyon Karışımlarının Hazırlanması.....	38
3.4.5. RT-PCR Döngü Programı	39
3.5. İstatiksel Yöntemler.....	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. Akromegali Hastalarına Ait Demografik, Klinik, Biyokimyasal, Radyolojik ve Histopatolojik Bulgular	41
4.2. DNA İzolasyon Sonuçları.....	42
4.3. FLNA Genotipleme Sonuçları	43
4.3.1. Hasta ve kontrol gruplarında FLNA geninin rs782079491 bölgesi Genotip ve Allel dağılımları	43
4.3.2. Tüm akromegali hastalarında FLNA geninin rs782079491 genotipinin ve allellerinin klinik verilerle karşılaştırılması.....	43
4.4. β -arrestin 2 Genotipleme Sonuçları.....	44
4.4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 Bölgesi Genotip ve Allel Dağılımları.....	44
4.4.2. Tüm Akromegali Hastalarında β -arrestin 2 Geni rs34230287 Genotipinin ve Allellerinin Klinik Verilerle Karşılaştırılması	50
5. TARTIŞMA.....	57
KAYNAKLAR	65
FORMLAR.....	72
ETİK KURUL KARARI.....	75
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	76
ÖZGEÇMİŞ.....	77

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: FLNA geninde araştırılmış olan polimorfizm bölgesinin bulunduğu konum ve değişiklik sonucu ortaya çıkan alleller.	35
Tablo 3-2: FLNA geninin TNP bölgesine ait allel değişimleri	35
Tablo 3-3: β -arrestin 2 geninde araştırılmış olan polimorfizm bölgesinin bulunduğu konum ve değişiklik sonucu ortaya çıkan alleller.....	36
Tablo 3-4 : β -Arrestin 2 geninin TNP bölgesine ait allel değişimleri.....	36
Tablo 3-5: FLNA ve β -arrestin 2 genleri için kullanılan reaksiyon karışımı	39
Tablo 3-6: RT-PCR Döngü Programı	39
Tablo 4-1: Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri.....	41
Tablo 4-2: Akromegali hastalarının SSA tedavi yanıtlarına göre klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik özellikleri	42
Tablo 4-3: Tüm akromegali hastaları ve sağlıklı kontrol gruplarında FLNA geninin rs782079491 bölgesinin genotip dağılımı	43
Tablo 4-4: Tüm akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinin genotip dağılımı	44
Tablo 4-5: Tüm akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesi allel dağılımı.....	45
Tablo 4-6: Tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinin genotip dağılımı.....	46
Tablo 4-7: Tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesi allel dağılımı	47
Tablo 4-8: Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinin genotip dağılımı	48
Tablo 4-9: Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesi allel dağılımı	49
Tablo 4-10: β -arrestin 2 geni rs34230287 genotiplerinin tüm akromegali hastalarının klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri ile karşılaştırılması	51
Tablo 4-11: β -arrestin 2 geni rs34230287 allellerinin tüm akromegali hastalarının klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri ile karşılaştırılması	52

Tablo 4-12: β -arrestin 2 geni rs34230287 genotiplerinin medikal tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastalarının klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri ile karşılaştırılması	53
Tablo 4-13: β -arrestin-2 geni rs34230287 allellerinin medikal tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastalarının klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri ile karşılaştırılması	54
Tablo 4-14: β -arrestin 2 geni rs34230287 genotiplerinin medikal tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastalarının klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri ile karşılaştırılması	55
Tablo 4-15: β -arrestin 2 geni rs34230287 allellerinin medikal tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastalarının klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri ile karşılaştırılması	56

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Hipofiz bezinin yapısı, salgıladığı hormonlar ve hedef organları	6
Şekil 2-2: SSTR'lerin sinyal iletim yolağı ve biyolojik işlevleri.....	10
Şekil 2-3: Hipofiz adenomunda hücre proliferasyonu ve transformasyonu ile ilişkili hücre içi sinyal yolakları.....	14
Şekil 2-4: SSA'larına dirençle ilişkili olduğu düşünülen mekanizmalar	19
Şekil 2-5: FLNA'nın yapısı ve hücresel fonksiyonları	23
Şekil 2-6: SSTR2'nin sinyal iletim yolağında FLNA'nın rolü.....	25
Şekil 2-7: β -arrestin 1 ve 2 proteinlerinin yapısı	26
Şekil 2-8: Agonistle uyarılan SSTR2 internalizasyonunda β -arrestinin rolü	30
Şekil 3-1: FLNA geni rs782079491 bölgesine ait NN genotipinin belirlenmesinde kullanılan erime noktasını gösteren grafik.	36
Şekil 3-2: β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesine ait CC genotipinin belirlenmesinde kullanılan erime noktasını gösteren grafik.	37
Şekil 3-3: β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesine ait CT genotipinin belirlenmesinde kullanılan erime noktasını gösteren grafik.	37
Şekil 3-4 : β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesine ait TT genotipinin belirlenmesinde kullanılan erime noktasını gösteren grafik.	38
Şekil 4-1: Tüm akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinin genotip dağılımı	45
Şekil 4-2: Tüm Akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin	46
Şekil 4-3: Tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinin genotip dağılımı.....	47
Şekil 4-4: Tedaviye İyi yanıt veren Akromegali Hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesi allel dağılımı	48
Şekil 4-5: Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinin genotip dağılımı	49
Şekil 4-6: Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesi allel dağılımı	50

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ACTH	: Adenokortikotropik hormon
AIP	: Aryl hydrocarbon receptor-interacting protein
AIP4	: Atrophin-1-interacting protein 4
AKT	: Protein kinaz B
AP2	: Adaptör protein 2
bFGF	: Temel fibroblast büyüme faktörü
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
CDK	: Siklin bağımlı kinazlar
CREB	: cAMP-yanıt elemanı bağlanma faktörü
CXCR4	: C-X-C chemokine receptor type 4
DG	: Yoğun granüllü
E2F	: Transkripsiyon faktörü
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
ERK1/2	: Extracellular signal-regulated protein kinases 1 and 2
FIPA	: Alevi hipofiz adenomu
FLN	: Filamin
FLNA	: Filamin A
FLNA	: Filamin A
FLNB	: Filamin B
FLNC	: Filamin C
FSH	: Folikül stimulan hormon
GADD45 γ	: Growth arrest and DNA-damage-inducible protein gamma
GDP	: Guanozin difosfat
GH	: Büyüme Homonu
GHR	: Büyüme hormonu reseptörü
GHRH	: Büyüme hormonu salgılatıcı hormon
GPCR	: G protein eşlikli reseptörler
GPR101	: G protein-coupled orphan receptor
GRK	: G protein eşlikli reseptör kinazlar
GSK3 β	: Glikojen sentaz kinaz 3 beta
GTP	: Guanosin trifosfat

HMGA : High mobility group A
IGF-1 : İnsülin benzeri büyüme faktörü 1
JAK2 : Janus kinaz 2
LH : Luteinleştirici hormon
MAPK : Mitojenle aktive olan protein kinaz
MAS : McCune-Albright sendromu
Mdm2 : Mouse double minute 2 homolog
MEG3 : Maternally expressed gene 3
ml: Mili Litre
mm : Milimetre
MMP2 : Matriks metalloproteinaz 2
MSH : Melanosit uyarıcı hormon
NF-Kb : Nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells
NFA : Fonsiyonel olmayan hipofiz adenomu
nm : nanometre
NOS : Nitrik oksit sentaz
PAC1-R : Pituitary adenyl cyclase-activating polypeptide type 1 receptor
PDGF :Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PI3K : Fosfoinozid-3 kinaz
PLAGL1 : Pleomorphic adenoma gene 1
POU1F1 : POU homeobox protein
PPAR γ : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
PRL :Prolaktin
PROP-1 : (Prophet of Pit-1)
PTP : Protein tirozin fosfotaz
RB : Retinoblastoma protein
RKIP : Raf kinaz önleyici protein
RT-PCR: gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
SG : Seyrek granüllü
SHP1 : Src homology region 2 domain-containing phosphatase-1
SS : Somatostatin
SNP : Single nucleotide polymorphism
SSA : Somatostatin Analogları

SSTR : Somatostatin reseptörleri

TGF- α : Transforme edici büyüme faktörü alfa

TNP : Tek nükleotid polimorfizmi

TSH : Tiroid stimulan hormon

VEGF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü

XLAG : X'e bağlı akrogigantizm

Zac1 : Çinko parmak proteini

β - : Beta

β -arrestinler : Beta arrestin 1 ve 2

β 2AR : β 2 adrenerjik reseptörünün

μ l: Mikro Litre

ÖZET

Akdemir, A.S. (2018). Akromegali hastalığı ile filamin-A ve beta-arrestin gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Bu çalışmada filamin-A (FLNA) geninin 5'UTR bölgesinde ki rs782079491 ile beta-arrestin 2 geninin promotor bölgesindeki rs34230287 TNP'lerin Türk toplumunda ki genotip dağılımları, ayrıca akromegali hastalarında beta-arrestin 2 ve FLNA polimorfizmleri ile hastalık riski arasındaki, ayrıca medikal tedaviye yanıt arasındaki olası ilişkilerinin araştırılması amaçlandı. 110 akromegali hastası ve 99 sağlıklı bireyin RT-PCR yöntemiyle genotipleri belirlendi. Hastalığın klinik verileri ile genotipler arasındaki ilişkiler incelendi. Tüm akromegali hastalarında FLNA rs782079491'e ait genotip dağılımı; tüm hasta ve sağlıklı kontrollerde NN:%100, NI ve II:%0 olarak belirlendi. Akromegali hastalarında beta-arrestin 2 rs34230287 bölgesine ait genotip dağılımı; hastalarda CC:%68,2; CT:%28,2 ve TT:%3,6 ayrıca sağlıklı kontrollerde CC:%60,6; CT: %32,3 ve TT:%7,1 idi. Tüm akromegali hastalarında makro/mikroadenom yüzdeleri ile CT+TT genotipleri ve T alleli arasında anlamlı ilişki bulundu ($p=0,006$).

Tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastalarının genotip dağılımları hastalığın klinik verileriyle karşılaştırıldığında, CT+TT genotipleri ve T alleli ile makro/mikroadenom yüzdeleri (sırasıyla $p=0,017$, $p=0,005$) ve operasyon sonrası 3. ay GH düzeyleri (sırasıyla $p=0,011$, $p<0,001$) arasında anlamlı bir ilişki tespit edildi. Medikal tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastalarında allel dağılımları ile karşılaştırıldığında sadece T allelinde son GH düzeylerinin daha yüksek olduğu saptandı ($p=0,025$). Sonuç olarak, Türk toplumunda FLNA ve beta-arrestin 2 genlerine ait polimorfik genotip dağılımları ile, akromegali hastalığı ve medikal tedaviye yanıt arasında bir ilişki bulunmazken, beta-arrestin 2 genotipleri ile tedaviye yanıt gruplarındaki hastaların klinik özellikleri arasında yakın ilişki olduğu ilk kez bu çalışma ile gösterildi.

Anahtar Kelimeler: akromegali, beta-arrestin, filamin A, polimorfizm, hipofiz

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 26147

ABSTRACT

Akdemir, A.S. (2018). Investigation of relationship of filamin-A and beta-arrestin gene polymorphisms with acromegaly disease. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Biology. MSc Thesis. İstanbul

In this study, we aimed to investigate genotype distributions of rs782079491 in the 5'UTR region of FLNA gene, and rs34230287 in the promotor region of the beta-arrestin 2 gene SNPs in Turkish population, also the possible relationship between the beta-arrestin 2 and FLNA polymorphisms and disease risk and medical treatment response in acromegaly patients. Genotypes of 110 acromegaly patients and 99 controls were determined by RT-PCR method. The genotype distribution of FLNA was observed as NN:100%, NI and II:0% in all acromegaly patients and healthy controls. The genotype distributions of beta-arrestin 2 were found as CC:68,2%; CT:28,2%; TT:3,6% in acromegaly patients and CC:60,6%; CT:32,3; TT:7,1% in healthy controls. In all acromegaly patients, there was a significant correlation between macro/microadenoma percentages and CT+TT genotypes and T-allele ($p=0,006$). The genotype distributions of acromegaly patients with good response to medical treatment were compared with the clinical data of the disease, a significant relationship was found between CT+TT genotypes and T allele and the macro/microadenoma percentages (respectively $p=0,017$, $p=0,005$) and postop 3 months GH levels (respectively $p=0,011$, $p<0,001$). In acromegaly patients with poor response to medical treatment, the end-GH levels were found higher with T-allele. ($p=0,025$). As a result, it was shown for the first time, while there was no correlation between polymorphic genotypes of FLNA and beta-arrestin 2 genes with acromegaly disease and medical treatment response in Turkish population, there was a relationship between the clinical characteristics of the patients in the medical treatment response groups and beta-arrestin 2 polymorphism.

Key Words: acromegaly, beta-arrestin, filamin A, polymorphism, pituitary

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No.26147

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akromegali, aşırı büyüme hormonu (GH) salgılanmasıyla ortaya çıkan, hipofiz adenomlarının neden olduğu, IGF-1'in etkisiyle birçok organı etkileyebilen bir hastalıktır (Haliloglu ve ark. 2016). GH-salgılayan hipofiz adenomlarının %80-85'ini makroadenomlar, %15-20'sini mikroadenomlar oluşturur. Hipofiz adenomlarının gelişmesinde, transkripsiyon faktörleri ve çeşitli genetik etkenler somatotrop hücrelerin büyüme hormonu sentezlemesinde ve salgılamasında etkilidir (Ben-Shlomo ve Melmed 2008; Plockinger 2012).

Akromegalide görülen adenomların genetik alt yapısına birçok gen aktif olarak katılır (Vandeva ve ark. 2010). Bu genlerin mutasyonları, tek nükleotid polimorfizmleri veya transkripsiyon sonrası düzenlenmeleri önemlidir. Akromegali hastalarının tedavisinde ki ilk seçenek cerrahidir. İnvasiv adenomların %40-60'ı cerrahi ile tedavi edilemediğinden çoğu durumda medikal tedavi (somatostatin analogları; SSA, dopamin agonistleri ve GH reseptör antagonisti) önerilmektedir (Gatto ve ark. 2016). Somatostatin (SS), ön hipofiz bezi, pankreas ve gastrointestinal kanalda sentezlenen, beyin ve merkezi sinir sisteminde nörotransmitter salınımını kontrol eden hipotalamik bir peptittir. SS'ler biyolojik etkilerini SS reseptörleri (SSTR1-5) üzerinden gerçekleştirirler (Treppiedi ve ark. 2017). GH-salgılayan hipofiz adenomlarında en sıklıkla SSTR2 ve SSTR5 ifade edilir. GPCR ailesinden olan SSTR'ler G proteinler ile eşleşerek adenil siklaz aktivitesinin engellemesine veya hücreye kalsiyum girişinin ve hormon salınımının azalmasına yol açar (Ben-Shlomo ve Melmed 2010). Ayrıca SSTR2 ve SSTR5 genellikle hücre proliferasyonunu durdurur (Buscail ve ark. 1995), SSTR2 ise apoptozu uyarır (Cuevas-Ramos ve ark. 2015).

SS'ler kısa yarılanma ömrüne sahip olduklarında, uzun ömürlü sentetik SS'ler SSA'lar üretilmiştir. Octreotide ve lanreotide gibi uzun süre etkili SSA'ları, yüksek oranda SSTR2 ve daha az oranda SSTR5 ile bağlanır ve akromegali hastalarında medikal tedavinin temelini oluştururlar (Gueorguiev ve Grossman 2011). SSA'larının hücre proliferasyonu ve hormon salınımı üzerindeki inhibitör etkilerine rağmen, tedavi edilen akromegali hastalarının yaklaşık %30'u SSA'na direnç göstermektedir (Cuevas-Ramos ve ark. 2015). İlaça direnç gelişiminin altında yatan neden halen açıklığa kavuşmamıştır. Tedaviye dirençli hastalarda, SSTR'lerde bilinen tek mutasyon *Octreotide*'e dirençli tek

bir akromegali hastasında saptanan R240W'dir (Ballare ve ark. 2001). SSTR2 geninde ki polimorfik varyantlar ile de GH-salgılayan tümörlerde ki SS direnci arasında bir ilişki bulunamamıştır (Ferrante ve ark. 2006). Bu nedenle ilaç direncindeki olası mekanizmaların aydınlatılması için çalışmaların yönü SSTR ile ilişkili hücre içi sinyal mekanizmalarına çevrilmiştir. Akromegali hastalarında SSTR2 ekspresyonu ve SSA'larına duyarlılık arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (Casarini ve ark. 2009). SSA'na cevap vermeyen GH-salgılayan adenoma sahip hastalarda SSTR2 proteininde veya mRNA'sında bir azalma olduğu saptanmıştır (Bronstein 2006). Ancak bazı GH-salgılayan hipofiz tümörlerinin yüksek SSTR2 ekspresyonuna rağmen tedaviye dirençli oldukları gösterilmiştir (Kasuki ve ark. 2012). Bu nedenle SSTR2 ekspresyon düzeyinin tedavi cevabı için önemli olmakla birlikte yeterli olmayabileceği ve reseptör sonrası sinyal yolları ile ilgili mekanizmaların ya da farklı genetik özelliklerin bu olayda rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (Cuevas-Ramos ve ark. 2015). GPCR (G protein eşikli reseptör)'lerinin inaktivasyonu veya internalizasyonu, veya yeniden membrana dönüşü ile ilgili mekanizmalar, reseptör regülasyonunda ve sinyalizasyonunda önemli rol oynar, hücrelerin hormon ve ilaçlara yanıtını etkiler. Bu nedenle SSTR'lerin endositozundaki mekanizmaların aydınlatılması, SSA tedavisindeki farklılıkların kaynağının anlaşılması açısından önemlidir (Calebiro ve ark 2010; Luttrell ve Gesty-Palmer 2010; Sorkin ve von Zastrow 2009).

Hipofiz adenomlarının gelişiminde ve tedaviye yanıtta SSTR'ne bağımlı hücre iskeleti ve hücre endositoz mekanizmalarının rolü ile ilgili çalışmalar bildirilmiştir (Gatto ve ark. 2013; Peverelli, Giardino, Treppiedi ve ark. 2014; Gatto ve ark. 2016). Çeşitli çalışmalar da GPCR ekspresyonunun ve sinyalizasyonunun çeşitli hücre iskeleti proteinleri ile ilişkili olduğu, özellikle Filamin A (FLNA) gibi aktin bağlayıcı aracı moleküllerin bu mekanizmaları düzenleyebileceği ileri sürülmüştür (Huang ve ark. 2006; Stossel ve ark. 2001). Bazı çalışmalarda GPCR'lerin FLNA ile etkileşerek reseptörlerin internalizasyon ve endositozunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Tirupula ve ark. 2015). Özellikle SSTR2 ile FLNA arasında kurulan bağlantının SSTR2'nin hücre membranında ki devamlılığında önemli rolü olduğu bildirilmiştir. Somatotrop tümör hücrelerinde SSTR2'nin antiproliferatif ve proapoptotik etkilerinde FLNA'nın rolü gösterilmiştir. Peverelli ve ark.'ları in vitro çalışmalarında, SSTR2 aracılı sinyal iletim yolağında ki komplekslerin oluşumunda FLNA'nın iskele proteini olarak gerekli olduğunu göstermişlerdir. FLNA'nın düşük seviyelerinin, SSTR2'nin bazı sinyal iletim

molekülleri ile etkileşimini azalttığı ve SSTR2'nin yüksek ekspresyonuna rağmen GH-salgılayan hipofiz tümörlerinde SSA'na karşı dirençle ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Peverelli, Giardino, Treppiedi ve ark. 2014) Bu bilgiler ışığında FLNA'daki olası gen polimorfizmleri FLNA ve SSTR2 etkileşimine engel olarak ilaca direnç mekanizmasında önemli bir rolü olabilir.

β -arrestinler (β -arrestin 1 ve 2) GPCR'lerin sinyalizasyonu ve hücre içi trafiğini düzenleyen, ve GPCR/G protein bağlanmasını bozarak reseptör inaktivasyonunu sağlayan adaptör proteinlerdir. β -arrestinler, endositozda yer alan yapılar ile etkileşerek GPCR endositozuna aracılık ederler. Ayrıca β -arrestinler sinyal moleküllerine bağlanarak birçok hücre içi enzimin aktivitesini kontrol ederler (Lefkowitz ve Whalen 2004; Tulipano ve Schulz 2007). SSTR2'nin fosforilasyonunun, β -arrestinin SSTR2 ile etkileşimi ve agonistle uyarılan hızlı reseptör internalizasyonu için gerekli olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Cambiaghi ve ark. 2017; Liu ve ark. 2008). GH-salgılayan hipofiz tümörlerinde, SSTR2 ve SSTR5 internalizasyon oranını belirleyen β -arrestinlerin ekspresyon düzeylerindeki değişikliklerin, SSA'larına yanıtı düzenlediği, akut octreotide testi yapılan akromegali hastalarında GH'daki azalma yüzdesi ve β -arrestinlerin ekspresyon düzeyleri arasında ters ilişki olduğu gösterilmiştir (Gatto ve ark. 2013; Gatto ve ark. 2016). β -arrestin'de ki gen polimorfizmlerinin de bu mekanizmalarda önemli rolleri olabilir.

TNP (tek nükleotid polimorfizm) DNA dizisindeki tek nükleotid değişiklikleridir. Kodlanmayan bölgedeki polimorfizmler genlerin alternatif kırılmasını etkileyebilirler ve gen ekspresyon düzeylerini etkileyebilirler. Kodlanan ve regülatör bölgelerdeki polimorfizimler de gen fonksiyonunu etkileyebilir, genlerin ekspresyonlarında veya protein konformasyonlarında değişikliklere yol açabilirler, fonksiyonlarını bozabilirler. Kodlanan bölgedeki TNP'ler hastalığa yatkınlık, direnç veya ilaca verilen cevapta farklılıklara yol açabilirler.

Bu çalışmada yukarıdaki bilgiler ışığında daha önce çalışılmamış olan, ilk kez bu çalışma ile FLNA geninin 5' UTR bölgesinde ki rs782079491 ile β -arrestin 2 geninin promotor bölgesindeki rs34230287 TNP'lerin Türk toplumunda ki genotip dağılımlarının, akromegali hastalarında β -arrestin 2 ve FLNA polimorfizmleri ile hastalık riski arasındaki, ayrıca medikal tedaviye yanıt arasındaki olası ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hipofiz Bezi Anatomisi ve Histolojisi

Hipofiz bezi yaklaşık 1 cm çapında ve 0.5-1 gr ağırlığında sella turcicada, beyin tabanında kemik boşluğunda yerleşiktir ve hipofiz sapı ile hipotalamusa bağlanır (Hall ve Guyton 2016). Hipofiz (Gk. Hypo, altında; physis, büyüme), embriyolojik olarak farklı kökene sahip iki dokudan oluşmuştur; 1.Adenohipofiz (Anterior Hipofiz), glandüler epitelden oluşan bez kısmı, 2. Nörohipofiz (Posterior Hipofiz), nöral kısımdır.

Adenohipofiz üç kısımdan oluşmuştur; 1.Pars distalis (anterior lob), 2.Pars tuberalis, (Hipofiz sapı, infundibular sapı kısmen veya tamamen saran nöral kısım) 3.Pars intermedia (intermediyer lob)

Nörohipofiz iki kısımdan oluşmuştur; 1.Pars nervosa (nöral lob), 2.İfundibulum.

Adenohipofiz ve nörohipofiz farklı embryonik kökenlere sahiptir. Anterior hipofiz, ağız boşluğunu oluşturacak olan ektodermal epitelin, gelişen nörohipofize doğru yukarı uzayan evajinasyonundan (rathke kesesi) oluşur. Nörohipofiz ise, diensefalon tabanının infundibulum olarak aşağıya doğru büyümesinden kaynaklanır (Kierszenbaum ve Tres 2016 pp559-560).

2.1.1. Nörohipofiz

Nörohipofiz, diensefalondan (orta beyin ve beyin arasındaki posterior ön beyin) ortaya çıkar ve esas olarak hipotalamusun supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerinden ve aksonlardan oluşur (Ledbetter ve Johnson 2018 p 430).

Nörohipofiz üç histolojik yapıya sahiptir; 1.Pituisitler; astrositlere benzerler ve aksonlara destek olurlar, 2.Miyelinsiz aksonlar; magniselüler adı verilen nöroendokrin hücrelerden köken alırlar, 3.Pencereli tip kapiller; inferior hipofizyal arterden köken alırlar. Nörohipofizde ki aksonlar supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerden köken alırlar. Genel olarak, supraoptik ve paraventriküler çekirdek nöronları, vazopressin ve oksitosin sentezler (Kierszenbaum ve Tres 2016 pp 571-572).

2.1.2. Adenohipofiz

Adenohipofiz üç kısımdan oluşmuştur; 1.Epityelial hücre kordonları, 2.Az miktarda bağ doku stroması, 3.Sekonder kapiller pleksusun parçaları olan pencereci tip kapiller (veya sinüzoidler).

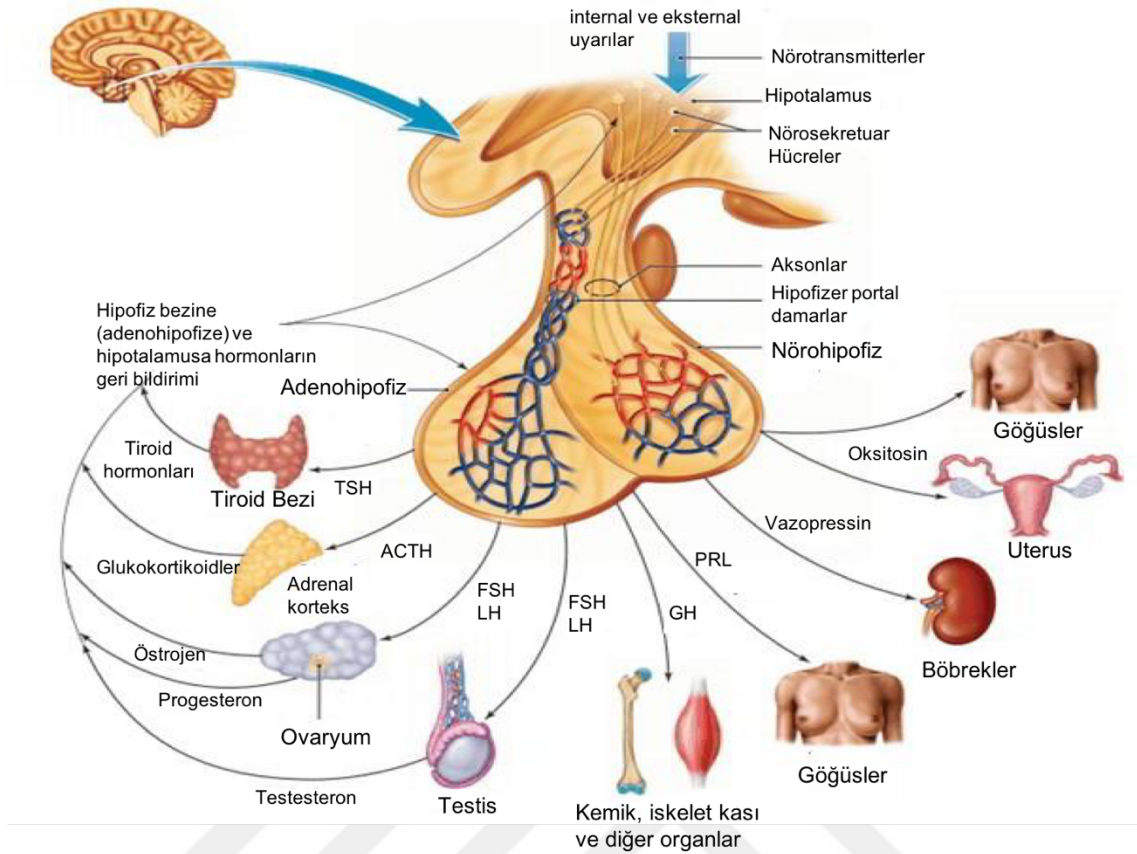
Hipofize ait epitel hücreler hipotalamustan kan taşıyan pencereci tip kapilleri çevreleyen kordonlar şeklinde düzenlenmişlerdir. Salgılanan hormonlar hipofize ait damarlara ve buradan dural venöz sinüslere akan kapiller ağına yayılırlar.

Anterior hipofizde üç farklı tipte endokrin hücre bulunur; 1.Asidofiller (asidik boyayla boyanan hücreler) bezin kenarlarında yaygındır, 2.Bazofiller (bazik boyayla boyanan hücreler) bezin ortasında çoğunluktadırlar, 3.Kromofoblar (sitoplazmik boyanmayan hücreler).

Asidofiller iki ana peptid hormon salgırlarlar: Büyüme hormonu (GH) ve prolaktin (PRL). Bazofiller glikoprotein hormonları salgırlar. Bunlar gonadotropin follikül stimulan hormon (FSH), Luteinleştirici hormon (LH), tiroid-stimulan hormon (TSH) ve adenokortikotropik hormon (ACTH) veya kortikotropin'dir. Kromofoblar hormon içeriklerini boşaltan ve tipik asidofilik ve bazofilik boyanma affinitelerini kaybeden hücrelerdir (Şekil 2-1) (Kierszenbaum ve Tres 2016 p 563).

Anterior hipofizdeki parankimal hücrelerin yaklaşık %50'sini oluşturan somatotroplar en büyük ve en yaygın olarak bulunan hücrelerdir. Tirotrop hücreleri kromofil hücrelerinin %6-10'nunu oluşturur. İnsandaki kortikotropolar 300nm'lik salgı granülleriyle ayırt edilirler ve kromofil hücrelerinin %10'nunu oluştururlar. Gonadotropolar ise kromofil hücrelerinin yaklaşık %10-15'ni oluştururlar (Ledbetter ve Johnson 2018 p 429).

GH ve PRL; tek zincirli peptitlerdir, ACTH ve MSH (melanosit uyarıcı hormon); tek bir prekürsörden türeyen peptitlerdir, TSH ve gonadotropinler, ortak bir α -peptid zincirinden ve değişken bir β -peptid zincirinden oluşan glikoproteinlerdir (Ledbetter ve Johnson 2018 p 434).



Şekil 2-1: Hipofiz bezinin yapısı, salgıladığı hormonlar ve hedef organları

(<https://www.earthslab.com/physiology/pituitary-gland-control-hormones-anterior-posterior-lobe/>)

2.2. Somatotroplar

Hipofiz ön lobunun en sık bulunan granüllü hücre tipidir. Geniş, oval veya poligonal şekilli olan bu hücreler genellikle sinüzoidler boyunca gruplar halinde düzenlenmişlerdir. Bu hücreler iyi gelişmiş granüllü endoplazma retikulumu ve belirgin bir Golgi kompleksine sahiptirler. Yaklaşık 300-400 nm çapındaki, düzgün, yuvarlak şekilli granülleri sitoplazmada homojen olarak dağılmıştır (Eşrefoğlu 2016).

Çeşitli transkripsiyon faktörleri, PROP-1 (Prophet of Pit-1) ve POU1F1, somatotrop ve laktotrop hücrelerin büyümesini, farklılaşmasını ve GH veya PRL gen ürününü ifade etme kararlılığını belirler (Melmed 2017 p 83).

Somatotrop hücrelerden büyüme hormonu salgılanır. Adenohipofiz diğer hücrelerinden salgılanan hormonlardan farklı olarak büyüme hormonunun özel bir hedef organı yoktur. Karaciğeri ve diğer organları uyarak insulin benzeri büyüme faktörü

(IGF-1, insulin-like growth factor-1; somatomedin C olarak da bilinir) salgılamalarına neden olur. Bu faktör uzun kemiklerin epifiz plaklarında ve iskelet kaslarında ki progenitor hücrelerin bölünmesini uyarak vücudun büyümesini sağlar. Kemiklerin mineralizasyonunu arttırarak güçlendirir. Protein sentezini ve lipid yıkımını arttırır. İç organların büyüme yönünde uyarır. İmmün sistemini destekler.

Somatotroplardan GH salınmasını düzenleyen üç farklı homon vardır. Bunların ikisi; somatotroplardan GH salınmasını uyaran GHRH (büyüme hormonu salgılatıcı hormon) ve GH salınmasını engelleyen somatostatin (SS) dir. Üçüncü bir hormon, yakın zamanlarda mideden izole edilen 28 amino asitlik peptit olan Ghrelin'dir. Ayrıca TSH, FSH, ACTH gibi hormonlarında büyüme hormonunu baskılayıcı etkileri vardır.

Somatotrop hücrelerin yetersiz fonksiyonu, büyüme hormon eksikliğine dolayısı ile cüceliğe sebep olur. Hormonun fazla salınması ise puberteden önce gigantizme (devlik) puberteden sonra akromegali adı verilen hastalığın oluşmasına yol açar (Eşrefoğlu 2016).

2.2.1. Büyüme Hormonu

Büyüme hormonu, somatotrop hücreleri tarafından salgılanan 191 amino asitten oluşan 22 kda'lık bir peptittir. Başlıca etkisi büyüme ve metabolizmanın düzenlenmesidir. Büyüme hormonu, protein sentezini sağlayan anabolik bir hormon ve hipoglisemiye karşı önemli bir düzenleyici hormondur (Ledbetter ve Johnson 2018). Büyümeye neden olan genel etkisinin yanı sıra, GH birçok spesifik metabolik etkiye sahiptir; (1) Vücuttaki birçok hücrede protein sentezinin uyarılması ve artışı; (2) Adipoz dokularından yağ asitlerinin taşınımının artışı, kanda serbest yağ asitlerinin artışı, ve enerji için yağ asitlerinin kullanımının artması ve (3) Vücutta glukoz kullanım oranının artışı. Sonuç olarak büyüme hormonu proteinleri arttırır, yağ depolarını azaltır ve karbonhidratları korur (Hall ve Guyton 2016 p 943).

GH salınımı dual hipotalamik kontrol altındadır. Somatotrop hücreler, GHRH tarafından uyarılır ve somatostatin (SS) tarafından baskılanır. GHRH ve SS, somatotrop hücrelerdeki spesifik hücre yüzey G protein eşlikli reseptörlere bağlanarak etkilerini gösterirler (Salvatori 2004). Ayrıca, gastrointestinal sistemde sentezlenen ghrelinin de GH salgılanmasında düzenleyici rol oynadığı ileri sürülmüştür (Melmed 2006).

GH etkisini GHR (Büyüme hormone reseptörü) reseptörü aracılığıyla gösterir. Reseptör ligand etkileşimi gerçekleştiğinde, reseptör yapısal değişikliğe uğrar ve reseptörün internalizasyonu gerçekleşir ayrıca hücre içi sinyalleşmeyi başlatılır. Bu işlemler sırasında, iki JAK2 molekülü otofosforilasyona uğrar ve GHR'nin sitoplazmik domaini fosforlanır. JAK2 bağımlı ve bağımsız hücre içi sinyal iletim yolları IGF-1 sentezi, glukoz metabolizması, hücre çoğalması ve hücre iskeletine bağımlı sinyalleşmeler gibi pleiotropik hücre yanıtlarını uyarır. GHR'yi kodlayan gen başta karaciğer yağ ve kaslarda olmak üzere yaygın olarak ifade edilir (Melmed 2009).

GH, IGF-1'in aktivasyonunu ve salgılanmasını uyarır. IGF-1 karaciğer ve ekstrahepatik dokularda (özellikle kemik, kas ve böbreklerde) ve hipofiz bezinde sentezlenir (Dineen ve ark. 2017). IGF-1, GH'nın büyümeyi sağlayıcı etkilerinin çoğuna aracılık eder. IGF-1 hem endokrin hem de parakrin olarak GH'nın sentezini ve salgılanmasını negatif geribildirim ile düzenler (Melmed 2009). IGF-1 serumda IGF-1 bağlayıcı proteinlere (IGFBP-3 veya IGFBP-5) bağlanarak 150-kDa'luk kompleks halinde dolaşır. Total serum IGF-1'nin %1'den azı serbest olarak dolaşımda bulunur (Dineen ve ark. 2017).

IGF'ler, insülin ile amino asit dizi homolojisi gösterir ve bazı etkilerini paylaşırlar. IGF-1 ve IGF-2 olmak üzere iki faktör tanımlanmıştır ve IGF-1 en etkili büyümeyi arttırıcı etkiye sahipken, IGF-2 ise en güçlü insülin benzeri etkiye sahiptir. IGF-1 doku büyümesinden sorumlu çeşitli hücresel olayları uyarır. Bir çok hücrede (örn., fibroblastlar, kas ve karaciğer) DNA üretimini uyarır ve hücre bölünmesi arttırır. Ayrıca kondrositlerde kondroitinlere sülfat katılımını ve kıkırdak ve kollajen oluşumu için glikozamino glikan sentezini destekler. IGF-1, kemik ve yumuşak dokuların genel büyümesini özellikle çocuklarda, uzun kemiklerin epifiz plaklarındaki büyümeyi uyarır (Hall ve Guyton 2016 pp 939-943).

2.2.2. Somatostatin (SS) ve Somatostatin Reseptörleri (SSTR)

Somatostatin, periferik ve merkezi sinir sisteminde yaygın bir şekilde ifade edilen küçük siklik bir peptittir. Merkezi sinir sisteminde somatostatin hem uyarıcı hemde inhibe edici bir nörotransmitter görevi üstlenir, çevresel sinir sisteminde ise hücre büyümesi ve farklılaşmasının yanı sıra çoğunlukla hormonların salgılama işleminde inhibitör etkiye sahiptir. Somatostatin, prepro-somatostatin ve pro-somatostatin olarak adlandırılan

büyük öncül molekülerin proteolitik olarak işlenmesiyle oluşturulur, böylece SS-14 ve SS-28 olarak adlandırılan somatostatinin 2 aktif biyolojik formu oluşur. Somatostatin, biyolojik fonksiyonlarını somatostatin reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirir (Colao ve ark. 2011). SS üretimi, merkezi ve periferel sinir sisteminde, pankreas ve barsakta, plasentada, böbreklerde, tiroid, retina, adrenal ve submandibular bezlerde gerçekleşir (Cuevas-Ramos ve Fleseriu, 2014).

Somatostatin, hipofizden salınan GH, PRL, TSH ve ACTH üzerinde önemli bir baskılayıcı etkiye sahiptir. Safra kesesinden akışı, bağırsak hareketini ve gastrik boşalmayı, düz kas kasılmasını ve bağırsaktan besin emilimini engelleyerek gastrointestinal sistemde düzenleyici bir rol oynar. Ayrıca glukagon, insülin, pankreatik polipeptidlerin ve immün hücrelerinden sitokinlerin salınımını engeller. SS'nin başlıca etkisi hormon ekzositozunu ve salınımını engellemektir. In vitro ve in vivo çalışmalar SSTR2 aracılığıyla GH ve ACTH transkripsiyonunu da engellediğini göstermektedir (Cuevas-Ramos ve Fleseriu 2014; Theodoropoulou ve Stalla 2013).

SS'nin biyolojik etkileri SSTR1-SSTR5 olarak adlandırılan 5 tane 7 geçişli G protein eşlikli reseptörler (GPCR) aracılığıyla sağlanmaktadır (Cuevas-Ramos ve Fleseriu 2014; Gadelha ve ark. 2017). SSTR alt tipleri farklı kromozomlarda bulunan genler tarafından kodlanır. Bununla birlikte, SSTR2 reseptörünün 2 formu SSTR2A ve SSTR2B alternatif kesilme ile oluşur ve bu iki izoform sadece reseptörün sitoplazmik kuyruğunun uzunluğu ile farklılık gösterir (Colao ve ark. 2011).

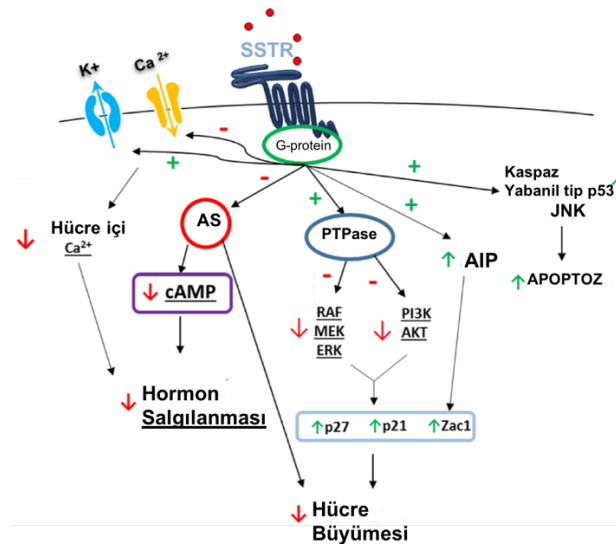
Fetal hipofizde SSTR'ların 5 tipi de ifade edilmesine rağmen yetişkin hipofiz bezinde SSTR1,-2,-3 ve -5 ifade edilir. Normal hipofizde en çok ifade edilen SSTR5'dir. Onu, SSTR2, SSTR1, SSTR3 ve SSTR4 takip eder. Normal hipofiz, somatotropinomalarla karşılaştırıldığında daha çok SSTR1, daha az SSTR2 ifade ederken, SSTR5, SSTR3 ve SSTR4'ün ekspresyonlarında önemli bir değişiklik yoktur. Normal primat somatotroplarında yüksek dozlardaki SS, bazı reseptörlerin örneğin SSTR1, SSTR2 ve SSTR5'in ekspresyonunu uyardığı gösterilmiştir. Bununla birlikte düşük doz SS, GH salınımını ve SSTR1 mRNA düzeylerini arttırırken, SSTR5 ifadesini azaltır. SSTR1, SSTR2 ve SSTR5'in aktivasyonu GH ve TSH ifadesini ve salgılanmasını inhibe eder, PRL salınımı ağırlıklı olarak SSTR5 aracılığı ile engellenir (Cuevas-Ramos ve Fleseriu 2014; Theodoropoulou ve Stalla 2013).

SSTR alt tipleri normal hipofiz bezinde olduğu gibi hipofiz adenomlarında da bulunmaktadır; fakat adenom hücre tipine göre SSTR'lar farklı seviyelerde ifade edilirler

ve farklı aktivite göstermektedirler (Cuevas-Ramos ve Flesteriu 2014). 1985' den bu yapılan çeşitli çalışmalarla GH-salgılayan insan hipofiz adenomlarda SSTR alt tiplerine ait ekspresyonların kantitatif değerlendirilmesi ile en çok ifade edilen reseptörün SSTR5 olduğu ve onu SSTR2,SSTR3,SSTR1 ve SSTR4'ün takip ettiği gösterilmiştir.

2.2.2.1. SSTR ve Sinyal iletimindeki Rolü

SS'lerin SSTR'lere bağlanmasından sonra reseptörün geçirdiği konformasyonel değişim heterotrimerik G protein kompleksinin aktivasyonuna ve guanozin difosfatın (GDP) guanosin trifosfatla (GTP) değişimine yol açar. İnhibitör Gi proteinin (G_i) aktivasyonu ile bütün SSTR alt tiplerinde adenil siklaz aktivitesi engellenir. Bu işlem, potasyum kanallarının hiperpolarizasyonu ve voltaj bağımlı Ca kanallarını kapanıp hücreye Ca girişini engellenmesiyle birlikte hücre içi siklik adenosin monofosfat (cAMP) düzeylerinin ve kalsiyumun azalmasına neden olur (Cuevas-Ramos ve Flesteriu 2014; Gadelha ve ark. 2017). Hücre içinde Ca eksikliği, hücre içi vezikül hareketini, ekzositozunu ve hormon salgılanmasını engeller. Spesifik SSTR tipine bağlı olarak sinyal yolağı ve hücre fonksiyonu değişebilir. SSTR sinyal iletimi ayrıca reseptör endositozu ve hücre içi trafiği ile de düzenlenir (Şekil 2-2) (Cuevas-Ramos ve Flesteriu 2014).



Şekil 2-2: SSTR'lerin sinyal iletim yolağı ve biyolojik işlevleri

(Gadelha ve ark. 2017'den uyarlanmıştır.)

SS'nin, SSTR alt tiplerine bağlanması, çeşitli ikincil mesajcı yollarını aktive eder. GH-salgılayan hipofiz adenomlarında, diğer hipofiz adenomuna ait histotiplerinden farklı olarak, cAMP yolağı hücre büyümesi üzerinde pozitif bir etki

gösterir, bu da hücre proliferasyonunun kontrolünde önemli bir işlevdir (Gadelha ve ark. 2017). Protein tirozin fosfatazlar (PTP'ler) gibi diğer ikincil habercilerin uyarılması, hücre büyümesinin SS aracılı kontrolünde önemli bir rol oynar ve ligand bağlanmasıyla tüm SSTR alt tiplerinde aktifleştirilir. Kısaca, hipofiz adenomlarında SS, esas olarak SSTR2 yoluyla PI3K/AKT sinyal yolağının engellenmesiyle veya, SSTR1, SSTR2 ve SSTR5'i hedef alan MAPK yolağının düzenlenmesiyle (inhibisyonu/aktivasyonu) anti-proliferatif bir etki gösterebilir (Colao ve ark. 2011).

SSTR ile uyarılan MAPK aktivasyonu, siklin bağımlı kinaz kompleksinin oluşumunu engelleyen ve hücre döngüsünü G1/S fazında durduran başlıca iki hücre inhibitörünün (p21Cip1 ve p27Kip1) aktivasyonunu uyararak hücre döngüsünün durmasına neden olur. SHP1 (Src homology region 2 domain-containing phosphatase-1) ve glikojen sentetaz kinaz 3 β (GSK3 β) hücre içi proapoptatik sinyalleri tetikler ve hücre ölümüne neden olur. Ayrıca SHP1, nitrik oksit sentetazı (NOS) defosforilasyona uğratar ve hücre büyümesini durdurur. SSTR2 sinyalizasyonu ile Gai, SHP1, GSK3 β ve p53'ü kapsayan bir mekanizma aracılığıyla Zac1 ekspresyonu uyarılır. Zac1 normal adenohipofizde yaygın olarak ifade edilen apoptoz ve hücre döngüsünün durdurulmasını uyarabilen bir çinko parmak proteinidir. Zac1'in hedef genleri, hipofizer adenil siklazı aktive eden polipeptid tip1 reseptör (PAC1-R), peroksizom proliferatör-aktive eden reseptör γ (PPAR γ), p53 ve p73'ün koaktivasyonu ile p21Cip1 ve p57Kip2'dir. SHP1, E-kaderin defosforilasyonunu uyararak tümör invazyonunu baskılar (Cuevas-Ramos ve Fleseriu 2014).

SS ile hücre büyümesinin engellenmesindeki önemli mekanizmalarından biri, GH salgılanmasının inhibisyonu ile IGF'de ki azalmadır. Hepatik SSTR2 ve SSTR3'ün aktivasyonu, IGF-1 transkripsiyonunu azaltır. SS tarafından, epidermal büyüme faktörünün (EGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve transforme edici büyüme faktörü alfa (TGF- α) sentezinin veya salgılanmasının baskılanması, tümör büyümesinde azalmaya katkıda bulunur. SS'in diğer dolaylı antiproliferatif etkileri, anjiyogenezin inhibisyonu ile endotel hücre proliferasyonunun azaltılmasıdır. Somatostatinin anti-anjiyogenik aktivitesinden sorumlu olarak üç sinyal yolu tanımlanmıştır: Birincisi, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve temel fibroblast büyüme faktör (bFGF)'nün transkripsiyonunun azaltılmasıdır. Bu yolakta VEGF, büyüyen tümörde yeni damarların gelişimini ve endotelial nitrik oksidazı ve takip eden anjiyogenezde önemli bir rol oynayan ikincil mesajcı NO'nun azalmasını sağlar. SS,

VEGF salgılayan hücrelerde sekresyonu ve canlılığı azaltır. İkinci yol endotelial hücre aktivitesinin (proliferasyon, migrasyon, invazyon) engellenmesidir Bu sinyal yolunda SS'in antiproliferatif etkisi ERK1/2 aktivitesinin ve endotelial nitrik oksit sentetazın inhibisyonuyla sağlanır. SS'nin anti-invazif etkileri ise MAPK'nın küçük G protein Rac ve MMP2 gibi metalloproteazların ifadesinin inhibisyonuna bağımlıdır. Üçüncü yol, monosit aktivasyonunun engellenmesidir. SS, monosit migrasyonunu ve yeni damarların oluşacağı bölgelerde toplanmalarını engeller (Cuevas-Ramos ve Fleseriu 2014).

2.2.3. Hipofiz Adenomları

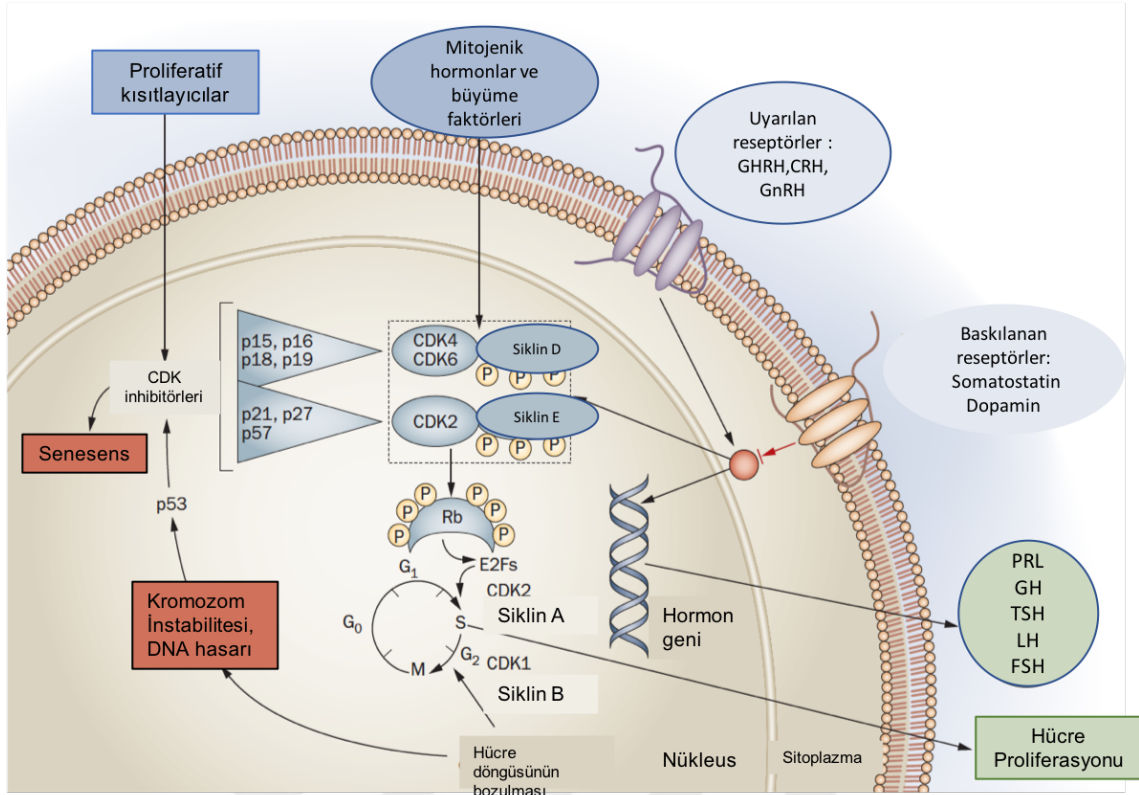
Hipofiz tümörleri, tüm intrakranyal tümörlerin yaklaşık %15'ini oluşturan monoklonal adenomlardır. Bu iyi huylu tümörler, GH, PRL, ACTH, TSH ve gonadotropin folikül uyarıcı hormonu (FSH) ve lüteinizan hormonunu (LH) içeren hormon gen ürünlerini eksprese eden, oldukça özelleşmiş anterior hipofiz hücrelerinden kaynaklanmaktadır (Melmed 2009).

Hipofiz adenomları primer hücre kökenine ve salgılanan hormon tipine göre sınıflandırılır. Eğer adenom kanda saptanacak kadar veya klinik bulgulara yol açacak kadar yeterli düzeyde hormon salgılamazsa fonksiyonel olmayan adenom olarak kabul edilir. Hipofiz adenomları mikroadenomlar (<10mm), makroadenomlar (>10 mm) ve dev adenomlar (>40 mm) olarak sınıflandırılır (Molitch 2017). Mikroadenomlar makroadenomlara göre biraz daha fazla yaygındır (%57.4 vs. %42.6). Prolaktinomalar tüm adenomların %40-%57'sini, fonksiyonel olmayan adenomlar %28-%37'sini, büyüme hormonu salgılayan adenomlar %11-%13'ünü ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) salgılayan adenomlar %1-%2'sini oluşturur. FSH, LH veya TSH salgılayan hipofiz adenomları nadirdir (Lake ve ark. 2013).

Hipofiz adenomları, hem bu farklılaşmış hücre tiplerinden birinin aşırı çoğalması hem de düzensiz spesifik aşırı hormon salınımı ile ayırt edilirler. Adenomlardan her biri selim tabiatlı sellar kütle ve aşırı üretilen hormona bağlı olarak oluşan klinik sendromlarla ilişkilidirler. Laktotrop adenomları, laktotrop hücrelerinin proliferasyonu ve aşırı prolaktin üretimi sonucu oluşur. Kortikotrop adenomları aşırı ACTH salgılayarak, obezite, hipertansiyon, hiperglisemi, enfeksiyonlar ve psikolojik bozukluklarla ilişkili hiperkortizolizme yol açarlar. Aşırı TSH salgılayan tirotrofik adenomlar oldukça nadirdir ve guatr ve hafif hipertrioidi ile ilişkili olabilirler. Gonadotrop hücrelerinden kaynaklanan tümörler nadiren aşırı FSH veya LH salgırlar. Bu adenomlar tesadüfen keşfedilir ve

genişleyen kitlenin yaptığı baskı nedeniyle genellikle hipogonadizm ve hipofiz bozukluğu ile ilişkilendirilirler (Melmed 2015). Somatotrop adenomları aşırı GH salgılar ve akral değişiklikler, artrit, hipertansiyon, baş ağrısı, yumuşak doku şişmesi ve hiperglisemi gibi akromegali semptomlarına yol açarlar.

Bütün hipofiz adenomları hücre tipine bakılmaksızın her zaman iyi huyludurlar. Lokal olarak agresif ve invazif olmalarına rağmen ekstrakraniyal metastazlar nadiren maligniteye ilerler. Uzak metastazlı hipofiz karsinomları nadirdir ve vakaların %0,1 ila %0,2'sinde görülür (Molitch 2017). Hipofiz adenomlarının malign transformasyonlara uğramamasının altında yatan mekanizmaların, DNA hasarı ve hücre yaşlanması (senesens) ile ilişkili olduğu ileri sürülür. Hipofiz adenomlarında tümör hücrelerinin büyümeleri, senesense katılan proteinler tarafından kısıtlanır. Örn.; somatotrop adenomlar p21, kortikotrop adenomlar p27 ve NFA'lar p15 / p165 dahil olmak üzere çeşitli CDK inhibitörleri tarafından engellenmektedir (Şekil 2-3). Bu CDK inhibitörleri hücre döngüsünün durmasına neden olurken, hormonların salgılanmasına karışmazlar ayrıca ilgili adenoma hücre tipinin malignant transformasyona uğramasını engellerler (Melmed 2015). Genellikle tek bir prekürsör hücrenin çoğalmasıyla yada tamamen farklılaşmış hormon ifade eden hücrelerden gelişebilirler. Hipofiz öncül hücrelerinde özel transkripsiyon faktörlerinin aşırı ifadesi özelleşmiş hipofiz tümörlerinin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Örn., somatotrop ve laktotrop adenomlarında PIT1 transkripsiyon faktörü belirteç olarak kabul edilir.



Şekil 2-3: Hipofiz adenomunda hücre proliferasyonu ve transformasyonu ile ilişkili hücre içi sinyal yolları

(Melmed 2011'den uyarlanmıştır.)

Hipofiz tümör patogeneğinde genetik ve epigenetik anomaliler ve büyüme faktör üretim ve salınım bozuklukları da katılır (Şekil 2-3). Hücre döngüsünün kontrolü siklin bağımlı kinazları (CDK) uyaran siklinlerle sağlanır. Siklinler aktifleştiklerinde, hücre döngüsünün negatif düzenleyicisi ve tümör baskılayıcı olan Rb proteinini fosforilleyerek baskırlar. Fosforilasyona uğramayan, aktif Rb, G₁'den S fazına geçişi sağlayan E2F transkripsiyon faktörüne bağlı kalır. Rb'nin fonksiyonu hasarlı DNA'nın replikasyonunu engellemektir. Rb'nin fosforilasyonu, siklin ve CDK'lerin kompleksleri tarafından uyarıldığında, hücre döngüsü ilerleyişini sağlayan E2F transkripsiyon faktörünü serbest bırakır (Şekil 2-3) (Melmed 2011). Rb, NFA'ların çoğunda ifade edilmesine rağmen, GH salgılayan adenomların yaklaşık %25'inde, Rb gen promotorunun hipermetilasyonu ile fonksiyon kaybı gözlenmektedir. CDK inhibitörlerinin iki ailesi - INK4a / ARF (p16, p15, p18) ve cip / kip inhibitörleri (p21, p27, p57)-, hücre döngüsünün G₁ ve S fazları boyunca ilerlemesini negatif olarak düzenleyerek tümör baskılayıcıları olarak davranırlar. Bu proteinler CDK kinaz aktivitesini ve böylece de Rb'nin fosforilasyonunu ve

inaktivasyonunu engellerler. Örn., CDK4 tarafından Rb'nin fosforilasyon ve inaktivasyonunu engelleyen p16'yı kodlayan gen, hipofiz tümörlerinde hipermetile olarak saptanmıştır. Birçok hipofiz tümöründe p27 düzeyleri azdır veya saptanamaz (Melmed 2011).

GNAS tarafından kodlanan G protein α ($G\alpha$) alt birimi, sinyal iletim yollarının anahtar bileşenidir. Örn., Bu faktör, cAMP ve protein kinaz A sinyal yollarını uyaran adenil siklazı aktive eder. $G\alpha$ alt biriminin GTPaz fonksiyonu, GNAS'ın gsp mutasyonları tarafından inaktive edilir. Bu mutasyonlar GH-salgılayan adenomların yaklaşık olarak %30'unda bulunur ve somatotropik cAMP seviyelerinin yükselmesine ve GH'nin hipersekresyonuna neden olur. Bu nedenle, yapısal olarak uyarılan somatotrop proliferasyonu ve GH salgılanması, GHRH'den bağımsız olabilir. Ayrıca, cAMP-yanıt elemanı bağlanma faktörü (CREB) aktivasyonu dahil olmak üzere aşağı akışta ki sinyal faktörlerinin aktivasyonu ile ilişkili olabilir (Melmed 2009).

Çeşitli büyüme faktörleri ve reseptörleri, örn., fibroblast büyüme faktörü (FGH), epidermal büyüme faktörü (EGF), sinir büyüme faktörü (NGF), kemik morfojenik proteini (BMP) ve vasküler endotelial büyüme faktörü aileleri ve Akt sinyal yollarına ait üyeler de dahil olmak üzere hipofiz tümörleşmesinde rol alırlar.

HMGA (High mobility group A) proteinleri, yapısal transkripsiyonel faktörler olarak bilinen histon olmayan nükleus bileşenlerindendir. Bu proteinler, gen transkripsiyonunda yer alan multiprotein komplekslerinin oluşmasına aracılık ederler. HMGA2'nin aşırı ekspresyonu, GH salgılayan ve prolaktin salgılayan hipofiz tümör oluşumu, hipofiz tümör büyüklüğü ve diğer proliferasyon belirteçleri ile ilişkili bulunmuştur.

Hipofize özel bazı tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonu, normal hipofiz dokusuyla karşılaştırıldığında adenomlarda belirgin olarak azalır veya saptanamaz. Bu genlerin birçoğu, epigenetik mekanizmalar tarafından etkisiz hale getirilir. Bazı hipofiz tümörlerinde bir transkripsiyonel koregülatör olan PLAGL1'in ifadesi gözlenmez ve somatostatin analoglarının, antiproliferatif etkilerini PLAGL1 yoluyla düzenlendiği ileri sürülür. Ayrıca GADD45- γ ve MEG3, hipofiz kaynaklı tümör baskılayıcı genler olarak tanımlanmışlardır ve özellikle fonksiyonel olmayan hipofiz tümörlerinde metilasyon mekanizmaları ile susturulmuş oldukları gösterilmiştir (Melmed 2011).

2.3. Akromegali Hastalığı

Akromegali yıllık insidansı yaklaşık olarak 1 milyonda 5 olan, orantısız iskelet, doku ve organ gelişim bozukluğudur. Hastalık antik çağlardan beri bilinmesine rağmen , pitüiter patolojisi "prosopectasia" ilk olarak 1864'te Andrea Verga tarafından, klinik özellikleri ise 1886'da Pierre Marie tarafından tanımlanmıştır (Melmed 2009).

Akromegali, GH ve IGF-1'in aşırı üretilmesinden kaynaklanan nadir ve tanı koyulması zor bir hastalıktır. Akromegali hastalarının %95'inden fazlası somatotrop hücrelerinden kaynaklanan ve GH ve IGF-1'in aşırı salgılanmasına neden olan GH-salgılayan bir adenoma sahiptir.(Vilar ve ark. 2017)

Hastaların büyük bir çoğunluğunda (%98) GH fazlalığının kaynağı somatotropinomalardır (somatotrop hücrelerinden oluşan hipofiz adenomları). Daha az sıklıkta ise GHRH'nun ektopik salınımı hastalığın sebebidir, ve nadir olarak büyüme hormonunun da ektopik salınımı söz konusudur (Gadelha ve ark. 2013).

GH-salgılayan hipofiz adenomları, sitoplazmik sitokeratin dağılımına bağlı olarak yoğun granüllü (DG) ve seyrek granüllü (SG) olmak üzere iki histolojik alt tipe ayrılabilir (Capatina ve Wass 2015). Akromegali'nin klinik özellikleri, genişleyen hipofiz kitlesinin lokal etkilerinden ve sistemik komplikasyonlara ve yaşam kalitesinde bozulmaya yol açabilen aşırı GH ve IGF-1 salgılanmasının doğrudan ve dolaylı etkilerinden kaynaklanmaktadır. Bu klinik bulgular, akral aşırı büyüme, yumuşak doku şişmesi, artraljiler, çene prognati, hafif hiperglisemi, menstrüel bozukluklar, erektil disfonksiyon ve hiperhidroz, yüz ve iskelet şekil bozukluğu, florid osteoartrit, şiddetli baş ağrısı, uyku apnesi, şiddetli hipertansiyon, diyabetik ketoasidoz ve solunum ve kalp yetmezliği gibi belirtilerden oluşur (Dineen ve ark. 2017; Vilar ve ark. 2017).

GH-salgılayan hipofiz adenomlarının %90-95'inden fazlası sporadik hastalıktır. Buna karşılık, endokrin anomalileriyle ilişki MEN (multipl endokrin neoplazi sendromu tip 1 ve 4) ve Carney sendromunda olduğu gibi ailesel nedenlerle ortaya çıkabilir. Ayrıca ailevi hipofiz adenomuna (FIPA) sahip hastaların %15-20'sinde AIP geninde germline mutasyonu vardır. Ancak sorumlu gen mutasyonu halen net olarak bilinmemektedir. X'e bağlı akrogigantizm (XLAG), hipofiz tümörlerinde oldukça yüksek ifade olan GPR101 geninide kapsayan kromozom Xq26.3 üzerindeki mikroduplikasyonların neden olduğu, yeni tanımlanan bir hipofiz gigantizm sendromudur. Akromegali aynı zamanda McCune-Albright sendromlu (MAS) hastaların

yaklaşık olarak %20'sini etkilemektedir. MAS, uyarıcı G proteininin alfa altbiriminin yapısal aktivitesine neden olan GNAS'in mozaik mutasyonlarından kaynaklanır.(Vilar ve ark. 2017)

2.3.1. Akromegali Hastalığının Tedavisi

Akromegalide tedavinin amacı, morbiditeyi azaltmak ve artan mortaliteyi normal yaşa ve cinsiyete göre normal oranlara geri getirmektir. Bu nedenle, tedavi stratejileri, hedef dokulardaki GH ve IGF-1 etkilerini normale getirmenin yanı sıra, tümör kütesinin alınması ve/veya tümör büyümesinin stabilize edilmesi ve hipofiz fonksiyonunun korunmasını da hedeflemektedir. Böylece, GH ve/veya IGF-1'in plazma seviyeleri kontrol edilir ve tümörün etkileri ortadan kaldırılır veya en aza indirilir.

Günümüzde akromegali tedavisinde ana seçenek cerrahi ve medikal tedavidir. Bu seçenekler başarısız olduğunda radyoterapi düşünülebilir. Akromegali tedavi kılavuzlarına göre, başlangıç tedavisinin seçimi hastanın özelliklerine göre belirlenir. Cerrahi çoğu hastada özellikle total tümör rezeksiyonu uygulanabilir olduğunda veya optik kiazma baskısının azaltılmasına ihtiyaç duyulduğunda ve de deneyimli bir beyin cerrahı olduğunda birinci seçenek olarak düşünülmektedir. Fakat bazı hastalar birinci basamak tıbbi tedaviye daha uygun olabilir.

Birçok hastada, ameliyatı takiben hastalığın kontrol altına alınamamış olmasından dolayı, ameliyat sonrası medikal tedavi ve/veya radyoterapi sıklıkla gereklidir. İlaç tedavisi geleneksel olarak adjuvan ile sınırlandırılmış olmasına rağmen, ekstrasellar tümörler, anestezi komplikasyonları riski altındaki hastalar, akromegalinin ciddi komplikasyonlarına sahip hastalar gibi seçilmiş hastalarda, ameliyat yapılmasını reddeden ve bozulmamış/normal hipofiz fonksiyonunu devam ettirmek isteyen hastalarda, farmakolojik ajanlar ile birinci basamak tedavi uygundur. Diğer hastalar, ameliyattan önce tümör boyutunu azaltmak ve ameliyat sonuçlarını iyileştirmek amacıyla ameliyat öncesi preoperatif medikal tedaviden fayda görebilirler (Colao ve ark. 2016).

Medikal tedavi için 3 ilaç sınıfı vardır: Dopamine agonistleri, SSA'ları (Somatostatin analogları) ve GH reseptör antagonistleri (Gadelha ve ark. 2013). SS'ler kısa yarılanma ömrüne sahip olduklarında, uzun ömürlü sentetik SS'ler üretilmiştir. Birinci nesil somatostatin analogları, octreotid ve lanreotid, hem adjuvan hem de birinci basamak tedavisi olarak akromegalide seçilen tıbbi tedavi yöntemleridir ve GH ve IGF-1 düzeylerini kontrol altına almada ve hipofiz tümörünün hacmini azaltmada etkindirler.

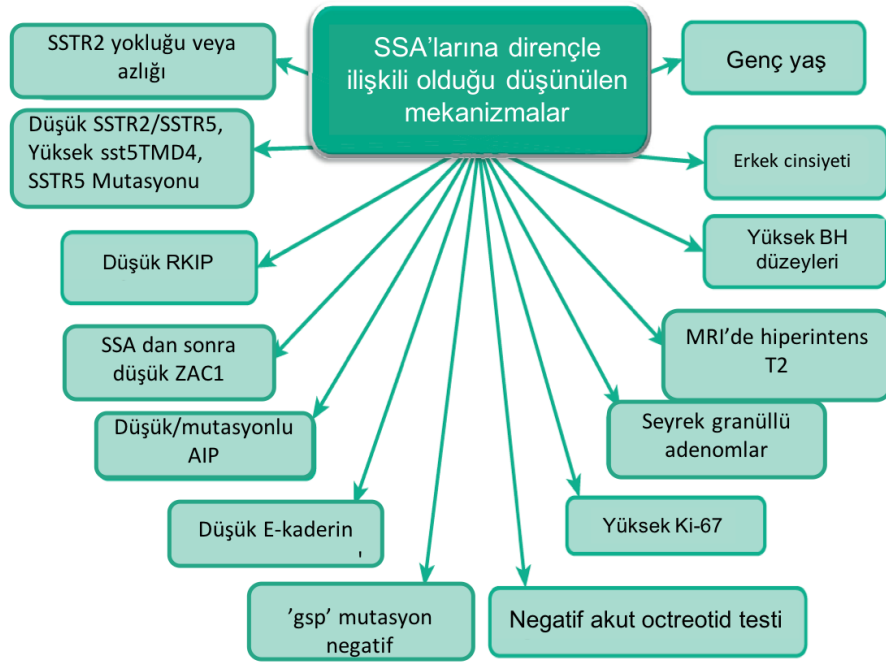
Octreotide ve lanreotide, uzun etkili depo formülasyonları da [octreotide long-acting repeatable (LAR) ve lanreotide Autogel] mevcuttur (Gadelha ve ark. 2013; Dagistanli ve ark. 2018).

Uzun süre etkili SSA'lar hem anti-tümöral hemde antisekretuar etki gösterdikleri için akromegalide medikal tedavinin temel taşıdır. Bunlar ya birincil tedavi olarak yada nöroşirürjiden sonra adenomun rezeksiyonu tamamlanamayan hastalarda adjuvan terapi olarak kullanılabilir (Colao ve ark. 2016).

Somatostatin analogları, somatostatin reseptörlerine bağlanarak etki gösterirler. SSA'larının akromegali tedavisinden kullanılmasının nedeni SSTR4 hariç olmak üzere bütün SSTR'lerin somatotropinomalarda ifade edilmesidir. SSTR2 ve STTR5 en sık ifade edilen reseptör tipleridir (Gadelha ve ark. 2013).

2.3.2. Akromegali Hastalarında Tedaviye Direnç

Akromegali, tedavi edilmezse veya yetersiz tedavi edilirse, kaçınılmaz olarak ciddi komplikasyonlara yol açan progresif bir hastalıktır (Cuevas-Ramos ve ark. 2015). Transsfenoidal cerrahi, GH düzeylerinin düşük komplikasyon oranları ile anında azaltılmasını sağladığı için akromegali hastalarının büyük bir kısmında ilk tedavi seçeneği olarak kabul edilir (Gadelha ve ark. 2017). Fakat invazif adenomların %40-60'ı tek başına cerrahi ile tedavi edilemediğinden çoğu durumda SSA ile medikal tedavi önerilmektedir. Octreotide ve lanreotide gibi uzun süre etkili SS analogları, yüksek oranda SSTR2 ve daha az oranda STTR5 ile bağlandıkları için akromegali hastalarında medikal tedavinin temelidirler (Gueorguiev ve Grossman 2011). SSA'ları ile vakaların %65'inde GH haftalar içinde kontrol altına alınabilir, hastaların %70'inde IGF-1 normalleşir. Bununla birlikte SSA'larının hücre proliferasyonu ve hormon salınımı üzerindeki inhibitör etkilerine rağmen, tedavi edilen akromegali hastalarının yaklaşık %30'u somatostatin analoglarına (SSA) direnç göstermektedir (Cuevas-Ramos ve ark. 2015). SSA'larına dirençte çeşitli faktörler (tanı yaşı, cinsiyet, düşük SSTR2 ekspresyon düzeyleri, AIP mutasyonları vb.) yer almaktadır (Şekil 2-4) (Ozkaya ve ark. 2018).



Şekil 2-4: SSA'larına dirençle ilişkili olduğu düşünülen mekanizmalar

(Gadelha ve Kasuki 2013'den uyarlanmıştır.)

Akromegalide tanı yaşı önemlidir ve tümör büyüklüğünün ve agresifliğinin bir klinik belirteci olarak tanımlanmaktadır. Genç hastalar düşük SSA yanıtıyla birlikte, yaşlı hastalardan daha büyük ve daha agresif tümörlere sahip olma eğilimindedirler. Kadınlarda ve dolaşımda IGF-1 ve GH düzeylerinin az olması daha iyi SSA yanıtı ile ilişkilendirilmektedir (Cuevas-Ramos ve Fleseriu 2014).

Yoğun granüllü GH-salgılayan adenomlar, seyrek granüllü adenomlara göre daha iyi SSA yanıtı ile ilişkilidirler. Yoğun granüllü adenomların SSA'larına daha iyi yanıt vermeleri artan SSTR2A ekspresyonu ve gsp mutasyonlarıyla ilişkili olan yüksek adenil siklaz düzeyleri ile ilgilidir. Seyrek granüllü adenomlarda düşük SSA yanıtı ile ilişkili faktörler, genellikle düşük SSTR2A immünreaktivitesi, ligand bağlanmasını ve sinyalizasyona etkileyen GH-reseptöründeki somatik mutasyonlar ve düşük E kaderin immünreaktivitesi olarak bildirilmiştir (Cuevas-Ramos ve Fleseriu 2014).

Bunlara ek olarak, T2 manyetik rezonans görüntüleme (MRI) üzerinde hiperintens bir sinyal gösteren adenomlar, SSA'lara kötü yanıt belirteçidir ve bu MRI bulgusu, histolojide seyrek olarak granüle edilmiş adenoma karşılık gelir. T2 ağırlıklı MR görüntülerinde adenom hipointensitesi ise, daha iyi SSA yanıtı ve yoğun granüllü ve de daha invazif adenomlarla ilişkilidir (Gadelha ve ark. 2013).

SSA'lara karşı direncin olası diğer mekanizmaları, E-kaderin ve Raf kinaz önleyici protein (RKIP) ile ilişkilidir. Son veriler, E kaderin ifadesinin SSA'lara yanıt ile pozitif ilişkili olduğunu göstermektedir. RKIP, Raf1 kinazı baskılar ve böylece SSTR sinyalizasyonunda yer aldığı bilinen MAPK yolağını durdurur (Gadelha ve ark. 2013). RKIP ekspresyonu, SSTR2 ekspresyonu ile ilişkili bulunmamıştır, ancak GH salgılayan hipofiz adenomlarında düşük seviyelerde RKIP ile octreotid tedavisine zayıf yanıt ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Fougner ve ark. 2008).

GHRH reseptörüyle eşleşen Gs proteininin alfa alt biriminde ki aktive edici mutasyonlar sahip somatotrop adenomlarında, cAMP sinyalizasyonunun ve SSA'lara duyarlılığın arttığı gösterilmiştir (Colao ve ark. 2011). Diğer muhtemel prediktif faktör Ki-67 indeksi; Ki-67 indeksi SSA tedavisi ile kontrol altına alınan hastalarda kontrol altına alınamayan hastalarla karşılaştırıldığında daha düşüktür (Cuevas-Ramos ve Fleseriu 2014; Ozkaya ve ark. 2018).

Akut Octreotide testi de uzun süreli SSA yanıtı tahmin edebilmektedir. Akut test sırasında GH düzeylerinin %75 oranında azalması, tedaviye yanıt verme şansı yüksek veya düşük olan hastalar arasında bir ayrım yapabileceğini gösterir (Gadelha ve ark. 2013).

Zac1 ve AIP gen ekspresyon düzeylerinin SSA tedavisine yanıt ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Zac1, GH-salgılayan adenom hücrelerinden klonlanan ve kısmen octreotidin anti-proliferatif etkilerine aracılık eden tümör baskılayıcı bir gendir. Preoperatif olarak SSA ile tedavi edilen akromegali hastalarıyla yapılan retrospektif bir çalışmada, tedavi yanıtıyla Zac1 immunoreaktivitesi arasında pozitif bir ilişki olduğunu gösterilmiştir. AIP, Zac1 yoluyla tümör küçülmesini uyardığı gösterilen tümör baskılayıcı bir gendir. AIP geni germ line mutasyonları olan hastalar, genellikle genç başlangıçlı, seyrek granüllü GH-salgılayan hipofiz adenomları veya GH/PRL karışımı adenomları olan erkeklerdir. AIP geninin ailesel ve sporadik mutasyonları, kötü bir SSA yanıtını öngörmektedir. Ayrıca, AIP gen mutasyonu olmadan bile AIP ifadesi octreotid LAR direnci ile ilişkilendirilmiştir (Cuevas-Ramos ve Fleseriu 2014; Ozkaya ve ark. 2018).

SSA ile Akromegali tedavisinde SSA direncinin en belirgin/bilinen sebebi SSTR2 ekspresyonunun olmamasıdır. Bununla birlikte bazı tümörler yüksek SSTR2 ekspresyonuna rağmen tedaviye dirençlidirler. Bu uyumsuzluğun altında yatan mekanizmalar tamamen bilinmemektedir (Gadelha ve ark. 2013). mRNA ve protein

düzeyinde SSTR2 ifadesi, SSA yanıtı ile pozitif ilişkili bulunmuştur (Cuevas-Ramos ve Fleseriu 2014).

SSTR2 ve SSTR5 genlerindeki mutasyonlar nadiren görülür (Ballarè ve ark. 2001) ve polimorfizmleri bazal GH ve IGF-1 düzeylerini etkileyebilir. Bununla birlikte, SSTR2 ve SSTR5 genlerindeki polimorfik varyantlar, akromegali hastalarında SSA'ya direnci belirlemede küçük bir rol oynuyor gibi görünmektedir (Cuevas-Ramos ve Fleseriu 2014).

SSA'nın akut uygulaması çoklu inhibitör etkiler yaratmasına rağmen peptide sürekli maruz kalma ile ilk yanıt azalır. Bununla birlikte, SSA'larına iyi yanıt veren akromegali hastalarında uzun süreli tedavi sürelerinden sonra GH sekresyonu önlenabilir. Bu nedenle, eğer varsa SSTR desensitizasyonunun (duyarsızlaştırma), SSA'larına farklı yanıtların belirlenmesinde küçük bir rolü var gibi görünmektedir (Cuevas-Ramos ve Fleseriu 2014).

Sadece SSTR2 ekspresyonunun yanı sıra, hipofiz adenom hücreleri üzerindeki farklı SSTR'lerin heterojen ekspresyonu, SSA etkinliğini etkileyen başka bir faktör olabilir. Bu bağlamda, GH-salgılayan adenomlarda SSTR5 ekspresyonunun rolü hala tartışılmaktadır. Bazı çalışmalarda, SSTR2 ile SSTR5 ortak ifadesinin, ligand aktivasyonundan sonra SSTR2 ile aktive olmuş yeni sinyal yollarını geliştirebileceği gösterilmiştir. Bu bulgu, hücre zarında gözlenen reseptörlerin etkileşimlerinin (heterodimerizasyon) sonucu olabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca, diğer çalışmalar SSTR5'in somatotropinoma hücrelerinde GH sekresyonunu azaltmada önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Bununla birlikte, düşük SSTR2/SSTR5 oranı, akromegalide birinci jenerasyon SSA tedavisine zayıf bir yanıtla ilişkili olduğu ve SSTR5'in SSTR5TMD4 izoformunun, SSA'ya daha kötü bir yanıtla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır (Gadelha ve ark. 2017).

Hücre membranındaki SSTR varlığı, dinamik bir sürecin parçasıdır. Bilindiği gibi reseptörler, desentizasyon, internalizasyon, membrana geri dönüş ve degradasyon gibi önemli hücresel mekanizmalara dahil olarak etkinlikleri değişim gösterebilir.

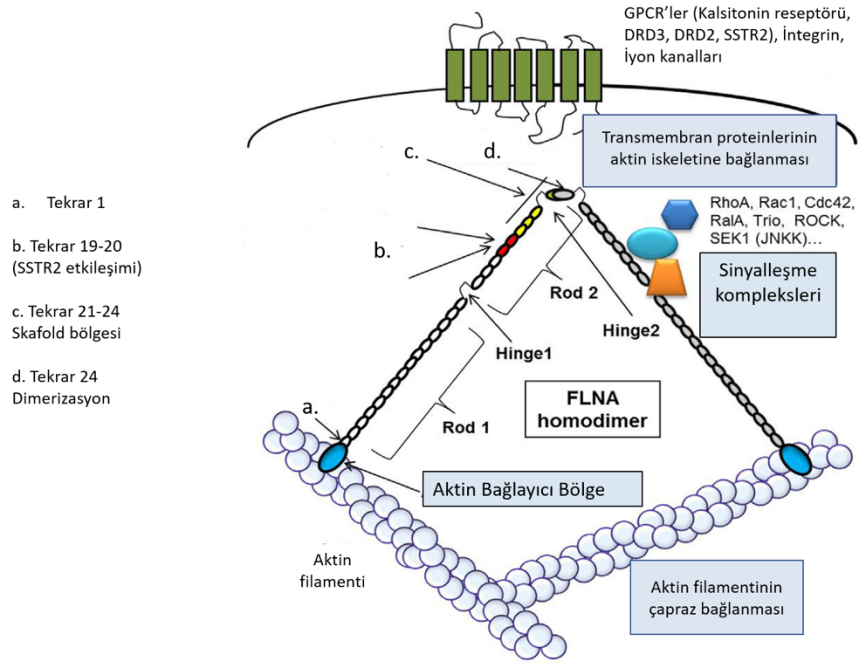
Bu bağlamda, FLNA ve β -arrestinler gibi farklı proteinlerin ekspresyon düzeylerinin SSTR'lerin işlevini etkilediği gösterilmiştir. Özellikle, düşük β -arrestin seviyelerinin, hem in vitro hem de in vivo olarak GH-salgılayan adenomlarda birinci nesil

SSA tedavisine daha iyi bir biyokimyasal yanıt ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Gatto ve ark. 2016; Gatto ve ark. 2013).

GPCR'ler, G proteinlerinin aktivasyonu yoluyla sinyalizasyonlarına ek olarak ikinci bir yolla da (reseptörlerin hücre içi bölgeleri aracılığıyla) sinyal iletimine katılırlar. GPCR'lerin stabilizasyonunda, desensitizasyonunda, internalizasyonun da ve sinyal iletiminde görev alan bazı sitoplazmik ve yüzey proteinlerle doğrudan etkileşime girdiği bilinmektedir (Peverelli, Giardino, Vitali ve ark. 2014). Bunlar arasında, β -arrestinler hem GPCR sinyal sonlandırıcıları hem de sinyal iletileri olarak iş görebilmektedirler. Son zamanlarda bazı hücre iskeleti proteinlerinin de bu işlemlerde önemli rol oynadıkları gösterilmiştir. Hücre iskeleti, hücre morfolojisinin devamlılığı, migrasyonu, adezyonu, hücre bölünmesi ve sitoplazmik organellerin lokalizasyonu ve hareketinde rol aldığı kadar, ekstraselüler sinyallerin iletiminde ve çeşitli reseptörlerin aktivitelerinin düzenlenmesinde de önemli rol oynar. Hücre iskeletinin 3 ana yapısal bileşeni mikrotübüller, ara filamentler ve mikrofilamentlerdir. Mikrofilamentler, polimerize ve depolimerize olabilen, özel aktin bağlayıcı proteinlerin yardımı ile hücre içerisinde demetler veya ağ şeklinde bulunan aktin filamentlerinden oluşur (Peverelli, Giardino, Vitali ve ark. 2014). Aktin bağlayıcı protein ailesine ait filaminler, GPCR'lerin hücre iskeleti yoluyla sinyal iletiminde görev alan proteinler olarak öne çıkmıştır.

2.4. Filamin A

Filamin (FLN) ailesi, farklı kromozomlarda (kromozom-X,-3,-7) bulunan genler tarafından kodlanan FLNA, FLNB ve FLNC olarak isimlendirilen 3 ayrı yüksek moleküler ağırlıklı homolog proteinden oluşur. Memelilerdeki filaminin 3 izoformu güçlü bir dizi homolojisi gösterir ve yüksek oranda korunmuş genomik organizasyona sahiptir. Xq28 da kodlanan FLNA, kas dışı hücrelerde tanımlanan ilk aktin bağlayıcı protein olup, yetişkinlerde en fazla bulunan filamin izoformudur. FLNC'nin ifadesi iskelet ve kalp kası ile sınırlıdır, FLNA ve FLNB ise yaygın olarak ifade edilir (Peverelli, Giardino, Vitali ve ark. 2014). FLNA geni yaklaşık olarak 26 kb'lık ve 48 ekzondan oluşan bir gendir (OMIM, 2015).



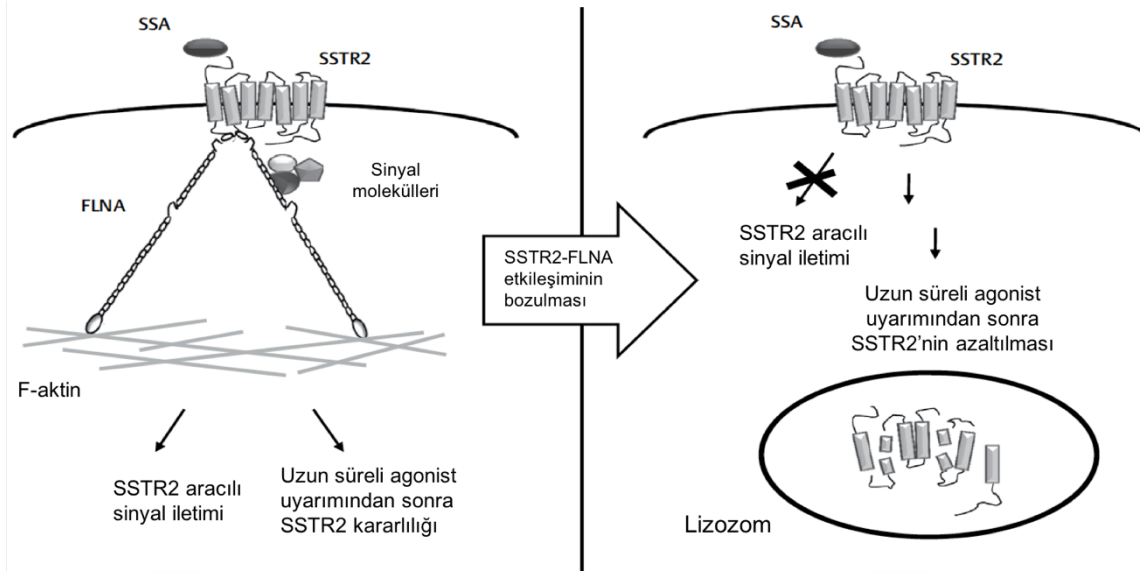
Şekil 2-5: FLNA'nın yapısı ve hücresel fonksiyonları

(Peverelli ve ark. 2015'den uyarlanmıştır.)

FLNA, her biri 280 kDa olan 2 alt birimden oluşmaktadır. V şeklindeki esnek yapısından dolayı, FLNA'nın ana işlevi, 3 boyutlu bir ağ oluşturmak için F-aktini çapraz bağlamak ve böylece fizyolojik şeklini korumaktır (Şekil 2-5). Ayrıca FLNA, GPCR'ler, integrinler, iyon kanalları gibi transmembran proteinlerini aktin hücre iskeletine bağlamada önemli bir rol oynar. Kinazlar ve transkripsiyon faktörleri dahil çeşitli hücre içi sinyal moleküllerinin lokalizasyonunu, trafiğini ve aktivitesini düzenlemede iş gören 90'dan fazla protein için bir iskele platformu olarak görev yapar. Tüm bu etkileşimler, FLNA'nın fosforilasyonu veya proteolizi, mekanik kuvvetler ve çeşitli proteinlerle çoklu bağlantılar (multimerizasyon) ile düzenlenir (Treppiedi ve ark. 2017). Yapılan çalışmalar, FLNA'nın çeşitli transmembran proteinlerinin internalizasyonunu ve hücre içi trafiğini kontrol etmede aktif rol oynayan önemli bir iskele proteini olduğunu desteklemektedir (Minsaas ve ark. 2010; Muriel ve ark. 2011; Onoprishvili ve ark. 2003; Seck ve ark. 2003; Thelin ve ark. 2007). Örn; FLNA'nın dopamin reseptör tip 2 (DRD2)'nin ekspresyonu, hücre yüzey lokalizasyonu ve membrana doğru yönlendirilmesi ve dopamin reseptör tip 3 (DRD3)'ün internalizasyonu için önemli olduğu gösterilmiştir (Cho ve ark. 2007; R. Lin ve ark. 2002; R. Lin ve ark. 2001; Peverelli ve ark. 2012).

FLNA'nın SSTR2 regülasyonunda kritik bir role sahip olduğu gösterilmiş ve akromegali hastalarında SSA yanıtına önemli etkileri olabileceği düşünülmüştür. FLNA'nın SSTR2 ile ilişkisi gösterilmiştir. SSTR2'nin sitoplazmik bölgeye bakan ilk halkayı oluşturan bölgesi ile FLNA'nın 19-20 tekrarları arasında bağlantı kurulduğu gösterilmiştir. Bu ilişki SSTR2'nin hücre membranında ki stabilizasyonunda önemli bir rol oynar. FLNA ifade edilmeyen M2 (Kemik iliği stroma hücreleri) hücrelerinde SSTR2'lerin doğru bir şekilde plazma membranına yönlendiği, fakat agonist uyarımından sonra SSTR2 internalizasyon oranlarının FLNA ifade eden A7 (Melanom hücreleri) hücrelerine göre arttığı gösterilmiştir. Aynı zamanda FLNA'nın, SSTR2 ile uyarılan hücre proliferasyonunun inhibisyonunda gerekli olduğu, buradaki moleküler mekanizmanın ise, FLNA ile PI3K'nın altbirimi p85 arasında SSTR2'ye bağlanma için bir yarışma olduğu bulunmuştur. Ligandla uyarılan FLNA'nın SSTR2'ye bağlanması ile SSTR2-p85 kompleksinin bozulduğu ve PI3K'nin inhibe olduğu gösterilmiştir (Najib ve ark. 2012).

FLNA'nın GH-salgılayan hipofiz tümörlerinde, SSTR2 regülasyonunda ki olası rolü ve önemi araştırılmıştır. GH-salgılayan tümörlerde, FLNA ifadesi ve SSTR2 düzeyleri arasında bir ilişki bulunmamış, ayrıca insan tümoral hücrelerinde FLNA geninin susturulması SSTR2 ekspresyonunu ve membrandaki lokalizasyonunu etkilememiştir (Peeverelli, Giardino, Treppiedi ve ark. 2014).



Şekil 2-6: SSTR2'nin sinyal iletim yolağında FLNA'nın rolü

(Treppiedi ve ark. 2017'den uyarlanmıştır.)

FLNA'nın dominant negatif mutantlarını kullanarak, özel bir agonistle uzun süreli uyarımdan sonra, SSTR2 stabilizasyonu için ayrıca sinyal iletimine katılan moleküller için iskele proteini olarak önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Peverelli, Giardino, Treppiedi ve ark. 2014).

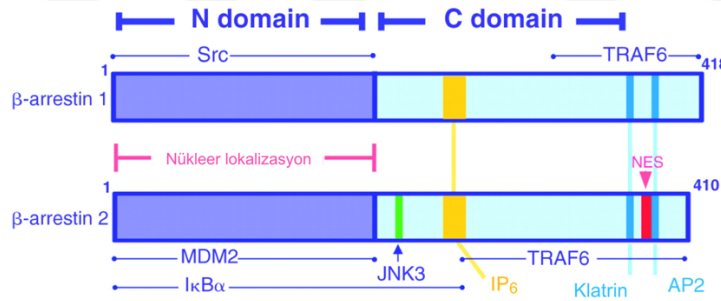
Büyüme hormonu salgılayan sıçan hipofiz GH3 hücrelerinde, uzun süreli agonist uyarımından sonra FLNA/SSTR2 etkileşiminin bozulduğu ve reseptör stabilitesinin azaldığı gösterilmiştir. Lizozomal degradasyon önlendiğinde, ligandla uyarılan SSTR2'nin baskılanmasının ortadan kalktığı saptanmış ve FLNA'nın SSTR2'nin lizozomal degradasyonuna katıldığı düşünülmüştür (Şekil 2-6). Tümöral somatotrop hücrelerde yapılan in vitro deneyler de, FLNA'nın, SSTR2 ile uyarılan siklin D1 seviyelerinin düşmesi ve kaspaz-3/7 aktivasyonu için gerekli olduğu gösterilmiştir. FLNA'nın, SSTR2'nin antiproliferatif ve proapoptatik etkilerine aracılık etmede de önemli bir rolü olduğu düşünülmüştür. Endojen FLNA ile SSTR2'nin etkileşimini bozmayan FLNA 21-24 bölgesinin, SSTR2'nin proapoptotik etkisini ve ERK1/2 inhibisyonunu engelleme yeteneğinin gözlemlenmesi, sinyal iletim komplekslerinin oluşumu için FLNA'nın scaffold olarak gerekli olduğunu göstermiştir (Peverelli, Giardino, Treppiedi ark. 2014). Sonuç olarak bu veriler GH-salgılayan hipofiz tümörüne sahip hastalarda SSA ile farmakolojik tedaviye yanıtlarında FLNA'nın öne sürülen önemli rolünü desteklemektedir. FLNA'nın düşük düzeylerinin SSTR2'nin aşağı akıştaki

sinyal ileti molekülleriyle eşleşmesine engel oluşturması, SSTR2'nin varlığında dahi GH-salgılayan hipofiz tümörlerinde SSA'lara karşı direncin nedeni olabilir.

2.5. β -arrestin

β -arrestinler, ilk olarak G protein eşikli reseptörlerin (GPCR) duyarlılığını azaltmada (desensitizasyon) ki rolleri ile tanımlanmış, çeşitli hücrel olayları düzenleyen çok fonksiyonlu proteinlerdir (Smith ve Rajagopal, 2016). Memelilerde β -arrestin 1 ve β -arrestin 2 olmak üzere iki izoformu vardır (Şekil 2-7). Memelilerde ikisi de yaygın olarak ifade edilir ve %78 dizi homolojisi gösterir (Attramadal ve ark. 1992). Ayrıca retinada ifade edilen, *visual arrestin* (arrestin-1) ve *cone arrestin* (arrestin-4) tipleride tanımlanmıştır (Craft ve ark. 1994). β -arrestin 2 geni 17. kromozomda yer alan (17p13.2) yaklaşık olarak 11 kb'lık ve 15 ekzondan oluşan bir gendir (GENEATLAS, 2018).

β -arrestinler, SSTR'ler de dahil olmak üzere, diğer GPCR'lerin sinyalizasyon ve trafiğini düzenleyen (Cambiaghi ve ark. 2017; Peverelli ve ark. 2008; Tulipano ve ark. 2004) GPCR/G protein bağlanmasını sterikal olarak bozarak reseptör desensitizasyonunu sağlayan adaptör proteinlerdir (Kohout ve Lefkowitz 2003; Luttrell ve Lefkowitz 2002).



Şekil 2-7: β -arrestin 1 ve 2 proteinlerinin yapısı

(Ma ve Pei 2007'den uyarlanmıştır.)

Fonksiyonları hala tam olarak anlaşılamamasına rağmen reseptör endositozunda rol oynayan alfa-arrestinler de tanımlanmıştır (Patwari ve Lee 2012). β -arrestinler ilk olarak agonist uyarımını takiben $\beta 2$ adrenerjik reseptörünün ($\beta 2AR$) G protein sinyalinin azaltma kapasiteleri ile tanımlanmışlardır. Her iki β -arrestin izoformu da GPCR'lerle etkileşime girmeleri açısından ortak özellik gösterirler. Ancak, farklı GPCR'lere bağlanma özgüllükleri nedeniyle işlevleri ve ifade şekilleri açısından farklılık göstermektedirler (DeGraff ve ark. 2002). β -arrestinler, GPCR'lerin desensitizasyonunda ve internalizasyonunda ki kanonik rollerine ek olarak MAPK sinyalleşmesi, reseptör

transaktivasyonu ve reseptör trafiğini, ayrıca transkripsiyonel düzenleme de dahil olmak üzere çeşitli hücresel işlemlerin düzenlenmesine katılırlar (DeWire ve ark. 2007; Kang, ve ark. 2014).

β -arrestinlerde gerçekleşen post-translasyonel modifikasyonlar, sinyalizasyon ve hücre içi trafikteki rolleri için önemlidir. β -arrestin 1 ve 2 proteinleri, normal şartlarda devamlı olarak fosforlanırlar. İzofomlarda fosforilasyon bölgeleri farklıdır. Her ikisinde bağlı bulundukları reseptörlerin internalizasyonu sırasında ve klatrinlere yönlendirilme durumunda defosforilasyona uğrarlar (Lin ve ark. 1997). Reseptör aktivasyonunu takiben β -arrestin defosforilasyonu, reseptör internalizasyonu ve β -arrestin aracılı MAPK sinyalizasyonu için gereklidir (Shenoy ve Lefkowitz 2003).

β -arrestinin ubiquitin modifikasyonu, GPCR ve β -arrestin arasında kararlı kompleks oluşmasına ve uzamış MAPK aktivitesine neden olur. Genelde, GPCR'nin ubiquitinasyonu reseptör yıkılımı için, β -arrestin ubiquitinasyonu ise GPCR internalizasyonu için gereklidir (Shenoy ve Lefkowitz 2003). Arrestinlerin ubiquitinlenmesindeki farklılıklar (özellikle Lys11 ve Lys12'deki) reseptör trafiğinde ve sinyal moleküllerinin oluşturduğu komplekslere (signalozom) tutunma platformu oluşturmalarında değişikliklere neden olur. β -arrestinlerin fonksiyonlarını düzenleyen diğer modifikasyonlar S-nitrozilasyon ve SUMOsilasyondur (Ozawa ve ark. 2008; Wyatt ve ark. 2011). β -arrestinlerin fonksiyonlarını etkileyen henüz tanımlanmamış başka yollarla modifikasyonlara uğrayabileceği düşünülmektedir (Smith ve Rajagopal 2016).

Reseptör desensitizasyonu, tekrarlanan uyarılmaya karşı GPCR'nin yanıtının azalmasına neden olan işlemdir. Heterotrimerik G proteinlerinin reseptöre bağlı aktivasyonu, $G\alpha$ ve $G\beta\gamma$ alt birimlerinin ayrışmasını indükler ve aşağı akış sinyaline yol açan efektör proteinlerle etkileşimlerini uyarır. GPCR sinyalizasyonunun desensitizasyonu sırasında G protein eşlikli reseptör kinazlar (GRK) ve β -arrestinler tarafından ortak bir cevap oluşturulur (Benovic ve ark. 1987). β -arrestinlerin, GPCR'nin ikinci (ICL2) ve üçüncü (ICL3) hücre içi bölgeleri ile G proteinlerinin etkileşimini inhibe ederek G protein sinyalini durdurduğu düşünülmektedir (DeGraff ve ark. 2002; Marion ve ark. 2006). GPCR'ler ile G proteinler arasındaki sinyal iletimini engellediğinde ikinci mesajcı yollarının desensitizasyonuna neden olunur (Ferguson ve ark. 1996). GPCR'lerin sitoplazmik bölgelerinin fosforilasyonu, β -arrestinlerin bağlanması ve

reseptör desensitizasyonu için kritik öneme sahiptir (Benovic ve ark. 1987; Benovic ve ark. 1986; Bouvier ve ark. 1988).

GPCR'lerin birçoğu internalizasyon için β -arrestine ihtiyaç duymaktadır. β -arrestinler, AP-2 ve klatrin aracılığıyla bazı GPCR'leri klatrin kaplı veziküllere yönlendiren adaptör bir protein olarak davranır (Kang ve ark. 2013). Klatrine bağlı endositik yolağı takip eden reseptörler, klatrin kaplanmış çukurlar ile hücre içine alınırlar. Hücre içine alınan reseptörleri içeren veziküller, erken endozomlarla birleşirler. Bu aşamada, endozomlardaki GPCR'ler ya plazma membranına dönmek üzere ya da parçalanacakları lizozomlara yönelmek için seçilirler (Kang ve ark. 2014). Bazı GPCR'ler β -arrestin yokluğunda da internalize olurlar, fakat membrana geri dönüş için mutlaka β -arrestinlere gereksinim duyarlar (Vines ve ark. 2003).

Oakley ve ark. agonistle uyarılan GPCR'leri, arrestin-reseptör bağlanma özelliklerine göre 2 sınıfa ayırmıştır (Oakley ve ark. 2000). A sınıfı reseptörlerinin β -arrestin 2'ye β -arrestin 1 den daha yüksek affinite ile bağlanırken, B sınıfı reseptörlerinin β -arrestin 1 ve 2'ye olan affiniteleri aynıdır. A ve B sınıfı reseptörleri, β -arrestin-reseptör etkileşiminin stabilitesinde farklılık gösterirler, dolayısıyla internalize olan reseptörün kaderini ve membrana geri dönüş oranını etkiler. Geçici ve zayıf β -arrestin-reseptör etkileşimi A sınıfı reseptörleri için tipiktir, β -arrestin-reseptör kompleksinin hemen dağıldığı klatrin kaplı çukurlara yönlendirilirler. B sınıfı reseptörlerde ise, β -arrestin reseptörler birbiri ile sıkıca bağlı kalır ve stabil bir kompleks olarak erken endozoma iletilirler (Oakley ve ark. 2001).

β -arrestinler, geç endozomlar üzerinde lizozomal yıkılım sinyali olarak davranarak reseptörlerin ubiquitinasyonlarında rol oynar. β -arrestinler Mdm2 gibi ubiquitinasyonu katalizleyen çeşitli E3 ligazları için adaptör olarak iş görürler. β -arrestin 2'nin Mdm2 ile ubiquitinasyonu beta2-adrenerjik reseptörünün klatrin aracılı internalizasyonu için gerekirken (Shenoy ve ark. 2001), E3 ligazı AIP4 (atrophin-1-interacting protein 4), CXCR4 (C-X-C chemokine receptor type 4)'ün erken endozomlarla ve daha sonra lizozomlarla birleşmesi için gereklidir (Marchese ve ark. 2003). β -arrestinlerin işlevleri aynı zamanda ubiquitine özel proteaz olan USP33 gibi deubikitinasyon enzimleri tarafından da düzenlenir (Shenoy ve ark. 2009). Bu yol ile reseptörün membrana geri dönüşünü ve resensitizasyonunu (yeniden uyarılma) koordine eden bir mekanizmanın çalışmasını kontrol ederler.

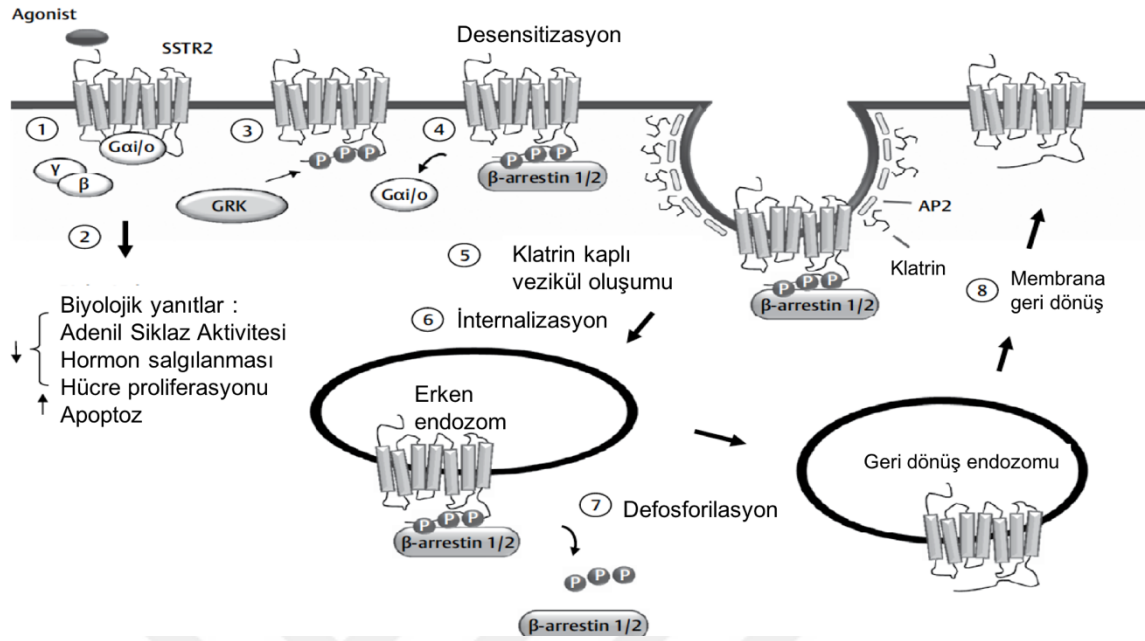
β -arrestinlerin tarafından düzenlenen farklı hücresel sinyal yollarının varlığı da gösterilmiştir. β -arrestinler, GPCR'ler vasıtasıyla EGF reseptörlerinin transaktivasyonuna (transmembran matriks metalloproteinazların aktivasyonları aracılığıyla membrana bağlı EGF ligandlarını kesilmesi) aracılık ederler (Noma ve ark. 2007). β -arrestin 2'nin, NF-Kb sinyalizasyonunu engellediği, β -arrestin 1'in kromatin yapısını etkileyen histon asetilazlar ve deasetilazlarla etkileşerek epigenetik modifikasyonları doğrudan etkileyebildiği gösterilmiştir (Gao ve ark. 2004; Kang ve ark. 2005).

Reseptörle uyarılan G protein sinyalizasyonuna ek olarak β -arrestinler farklı sinyal yollarını da başlatabilirler (Luttrell ve ark. 1999). G proteininin aracılık ettiği sinyalizasyon, hücrelerde farklı fizyolojik ve patofizyolojik sonuçlara yol açar. β -arrestinlerin ERK1/2 ve JNK1/2 gibi farklı hücre içi sinyalleşme mekanizmalarında da önemli rolleri vardır (Smith ve Rajagopal 2016).

Bazı ligandların, G proteinler aracılığıyla sinyal iletimi engellenirken, seçici bir şekilde β -arrestin yoluyla sinyal verebildikleri gözlemlenmiştir. Bu, bazı agonistlerin GPCR'nin farklı yollarından sinyal verebilme yeteneği olan fonksiyonel seçicilik olarak da adlandırılan biased (iki yönlü) agonizmin bir örneğidir. Güçlü biased agonistler, bir yolağı aktive ederken diğer sinyalleri tamamen bloke ederler. Kısmi biased agonistler ise, bir yolak boyunca zayıf bir sinyal verirken, diğer bir yolak boyunca güçlü bir sinyal verebilir (Rajagopal ve ark. 2010).

SSTR2'ler, aktivasyonları ile β -arrestin 1 ve 2'nin güçlü bir bağlantı oluşturduğundan B sınıfı reseptörler olarak sınıflandırılırlarken, aktiveşen SSTR5 sadece β -arrestin 2'ye bağlanır ve hızlı bir şekilde ayrılır (Peverelli ve ark. 2008; Tulipano ve ark. 2004). β -arrestin ve SSTR2 arasında ki dengeli bir kompleks oluşumunda rol alan bazı moleküller reseptörün sitoplazmik ucunda bulunur (Liu ve ark. 2008).

β -arrestinlerin gerçekleştirdiği hücre içi trafik tipinin SSTR2 ve SSTR5 internalizasyon oranını belirlediği, β -arrestinlerin ekspresyon düzeylerindeki değişikliklerin, reseptör döngüsünü, resensitizasyonu ve sinyalizasyonu etkileyerek GH-salgılayan hipofiz tümörlerinde SSTR2'ler üzerinden etkili ilaçlara yanıtın düzenlenmesinde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Şekil 2-8) (Treppiedi ve ark. 2017).



Şekil 2-8: Agonistle uyarılan SSTR2 internalizasyonunda β -arrestinin rolü

(Treppiedi ve ark. 2017'den uyarlanmıştır.)

β -arrestin ekspresyon düzeylerindeki değişikliklerin GH-salgılayan hipofiz tümörlerinde SSA'larına cevabı düzenleyebileceği görüşü, β -arrestin 1 ekspresyon düzeylerinin akut octreotide testi uygulanmış akromegali hastalarında büyüme hormonundaki azalma yüzdesiyle ters ilişkili olduğunun gösterilmesiyle desteklenmiştir. Octreotide ile GH salınımının baskılandığı, GH-salgılayan hipofiz adenomlarından elde edilen primer adenom hücrelerine octreotide yanıt vermeyenlere kıyasla yanıt verenlerin daha düşük β -arrestin 1 mRNA ekspresyonuna ve yüksek GRK2 ve SSTR2 mRNA düzeylerine sahip oldukları gösterilmiştir. Bu veriler düşük β -arrestin 1 düzeylerinin hücre yüzeyinde daha az desensitize ve biyolojik olarak daha aktif yüksek miktarda reseptör varlığıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Gatto ve ark. 2013).

Akromegali hastalarıyla gerçekleştirilen bir sonraki çalışmada GH-salgılayan tümör dokularında ki β -arrestin 1 ve 2 ekspresyon düzeyleriyle uzun süre etkili somatostatin analoglarına in vivo yanıt arasındaki ilişkiye bakılmış. GH ve IGF1 normalizasyonu sağlanan hastaların adenom dokuları ilaca dirençli örnekler ile kıyaslandığında, SSTR2 mRNA ve protein seviyeleri yüksek olduğu buna karşılık β -arrestin 1 ve-2 mRNA düzeyleri düşük olduğunu tespit etmişlerdir. SSTR2/ β -arrestin 1

ve SSTR2/ β -arrestin 2 oranları ne kadar yüksekse, SSA'lara yanıt verme ile güçlü bir ilişkinin ileri sürülmüştür (Gatto ve ark. 2016).

Cambiaghi ve ark. pankreatik nöroendokrin QGP-1 hücre soyunda SSTR2 internalizasyonundan ve sinyalizasyonundan sorumlu olan moleküler mekanizma ve belirteçleri araştırmışlardır. β -arrestinlerin SSTR2'nin sitoplazmik bölgelerine bağlanarak reseptörün proapoptotik etkisi, hücre proliferasyonunu ve anjiyogenez ile ilişkili sinyalleşme yollağı için gerekli olduğunu göstermişlerdir (Cambiaghi ve ark. 2017).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma 2017-2018 yılları arasında İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında gerçekleştirildi. Çalışma grupları, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Polikliniğinden takipli ve İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı'nda ameliyat olan OGTT sırasında en düşük GH düzeyi >1 mcg/L, yaş ve cinsiyete göre IGF-1 düzeyi yüksek saptanıp akromegali tanısı konan 110 takipli hasta ile yaş ve cinsiyet uyumlu 99 sağlıklı bireyden oluşturuldu. Aktif akromegali hastalarının postoperatif (ameliyat sonrası; postop) dönemde SSA (octreotide-LAR 30mg/ay veya lantreotid-autogel 120mg/ay) tedavisini en az 6 ay süreyle almasına rağmen GH >1 mcg/L ve/veya IGF-1 düzeyleri yüksek seyredenler somatostatin analoglarına dirençli olarak kabul edildi. Poliklinik takiplerinde belirtilen akromegali kriterlerine uygun olarak gruplandırılan 1) Medikal tedaviye iyi yanıt veren hastalar 2) Medikal tedaviye kötü yanıt veren hastalar, ayrıca 3) Sağlıklı bireyler “yazılı olur formları” alındıktan sonra çalışmaya dahil edildi.

Akromegali hastalarının yaş ortalaması $48 \pm 11,3$ iken, sağlıklı kontrollerin yaş ortalaması ise $48 \pm 7,6$ idi. Akromegali hastalarının %60'ı kadın, %40'ı erkekti. Sağlıklı kontrollerin %68,5'i kadın %31,5'i erkekti (Tablo 4-1). Medikal tedaviye iyi ve kötü yanıt veren olarak gruplara ayrılan akromegali hastalarının dosyalarından elde edilen klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri (tanı yaşı, cinsiyet, preoperatif (ameliyat öncesi; preop) ve postoperatif (postop) GH ve IGF-1 düzeyleri, erken remisyon durumları, tümör boyutu, makro ve mikroadenom varlığı, kavernöz invazyon, Ki-67, p53, mitoz değerleri, son GH ve IGF-1 düzeyleri ve son durumları) Tablo 4-2'de verildi. β -arrestin 2 ve FLNA genlerinde ki TNP'leri seçmek için “NCBI, dbSNP database” kullanıldı.

Akromegali hastalarından ve sağlıklı bireylerden EDTA'lı tüplere alınan periferik kan örnekleri DNA izolasyonu yapıncaya kadar -80°C dondurucuda saklandı. İzole edilen DNA'larda, FLNA geninin rs782079491 bölgesinde ki ve β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinde ki TNP'ler gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile saptandı. FLNA ve β -arrestin 2 genlerine ait saptanan genotiplerin ve allellerin sağlıklı kontrol ve hasta bireylerde ki dağılımları ayrıca bu polimorfizmlere ait genotipler ile akromegali hastalarında ilaca yanıt arasında ki olası ilişki ve klinik

verileri ile ilişkileri araştırıldı.

Çalışma, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 132268 sayılı ve 05.04.2017 tarihli yazı ile onaylandı (Sayfa 75).

3.1. Kullanılan Malzemeler

QIAamp DNA Mini Kit (51306, QIAGEN, Hilden, Germany)

LightSNiP (TibMolBiol, Berlin, Germany)

Fast Start DNA Master HybProbe (Roche, Mannheim, Germany)

LightCycler® 480 II cihazı (Roche, Mannheim, Germany)

Santrifüj Cihazı

Mikropipet

Spektrofotometre (Nanodrop)

3.2. DNA izolasyonu

Hasta ve sağlıklı kontrol bireylerden vakumlu steril K3-EDTA'lı tüplere alınan 5 ml periferik kan örnekleri -80°C'de saklandı ve QIAamp DNA Mini Kit (51306, QIAGEN, Hilden, Germany) izolasyon kiti ile DNA'ları izole edildi.

3.2.1. DNA İzolasyon Protokolü

1. 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpünün dibine 20 µl Proteinaz K pipetlendi.
2. 200 µl periferik kan örneği bu tüpün içine eklendi.
3. Örneklerin üzerine 200 µl Buffer A1 konuldu. 15 sn vortex yapıldı.
4. Örnekler 56°C' de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. 1,5 ml'lik tüpün cidarına yapışmış sıvıları aşağıda toplamak üzere kısa süre (8000 rpm de 14 sn) santrifüj yapıldı.

6. Örnekler üzerine 200 µl etanol (%96-100) konuldu ve 15 sn vortekslendi Tüpün cidarına yapışmış sıvıları aşağıda toplamak için kısa süre santrifüjlendi.
7. 2 ml'lik toplama tüpünün içine QIAamp spin kolon dikkatlice yerleştirildi.
8. Elde edilen karışım 2 ml'lik toplama tüpünün içine yerleştirilen QIAamp spin kolonun içine aktarıldı. 6000 g'de (8000 rpm) 1 dakika santrifüj edildi.
9. Santrifüjden sonra 2 ml'lik toplama tüpü atılarak QIAamp spin kolon temiz bir 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirildi. QIAamp spin kolonun ortasına gelecek şekilde 500 µl Buffer AW1 eklendi. Kapak kapatıldı ve 6000 g'de (8000 rpm) 1 dakika santrifüjlendi.
10. Santrifüjden sonra 2 ml'lik toplama tüpü atılarak QIAamp spin kolon temiz bir 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirildi. QIAamp spin kolonun ortasına gelecek şekilde 500 µl Buffer AW2 eklendi. Kapak kapatıldı ve 20000 g'de (14000 rpm) 1 dakika santrifüjlendi.
11. QIAamp spin kolon temiz bir 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi ve 20000 g'de (14000 rpm) 1 dakika santrifüj yapıldı.
12. QIAamp spin kolon temiz bir 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. QIAamp spin kolonun kapağı dikkatlice açılıp 50-100 µl Buffer AE veya distile su kolonun ortasına gelecek şekilde eklendi. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi ve 600 g'de (8000 rpm) 1 dak santrifüj yapıldı.

3.3. DNA Saflığı ve Miktarının Tespiti

İzolasyon sonucu elde edilen DNA'ların saflık ve miktar tayini spektrofotometrik ölçüm ile yapıldı. DNA'ların 260 ve 280 nm'deki absorbanları okunduktan sonra konsantrasyon ve saflıkları aşağıda belirtilen formüller ile hesaplandı.

DNA konsantrasyonu (mg/ml) = OD 260 nm x Seyreltme Faktörü x 50

DNA saflığı = OD 260 / OD 280 = 1,8 ± 0,1

3.4. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile FLNA ve β -arrestin 2 genotiplerinin belirlenmesi

FLNA genine ait rs782079491 bölgesinde görülen TNP, tüm hasta ve kontrollerde Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemiyle saptandı. RT-PCR yönteminde Simple Probe, Fast Start DNA Master HybProbe (Roche, Mannheim, Germany) ve

LightCycler® 480 II cihazı (Roche, Mannheim, Germany) cihazı kullanıldı. Simple Probe olarak, FLNA geni için LightSNip kullanıldı.

3.4.1. FLNA Genotipleri

FLNA geninde çalışılan TNP bölgesinin kromozom üzerinde bulunduğu konum ve alleller Tablo 3-1’de, allel değişim bölgeleri ise Tablo 3-2’ de gösterilmiştir.

Tablo 3-1: FLNA geninde araştırılmış olan polimorfizm bölgesinin bulunduğu konum ve değişiklik sonucu ortaya çıkan alleller.

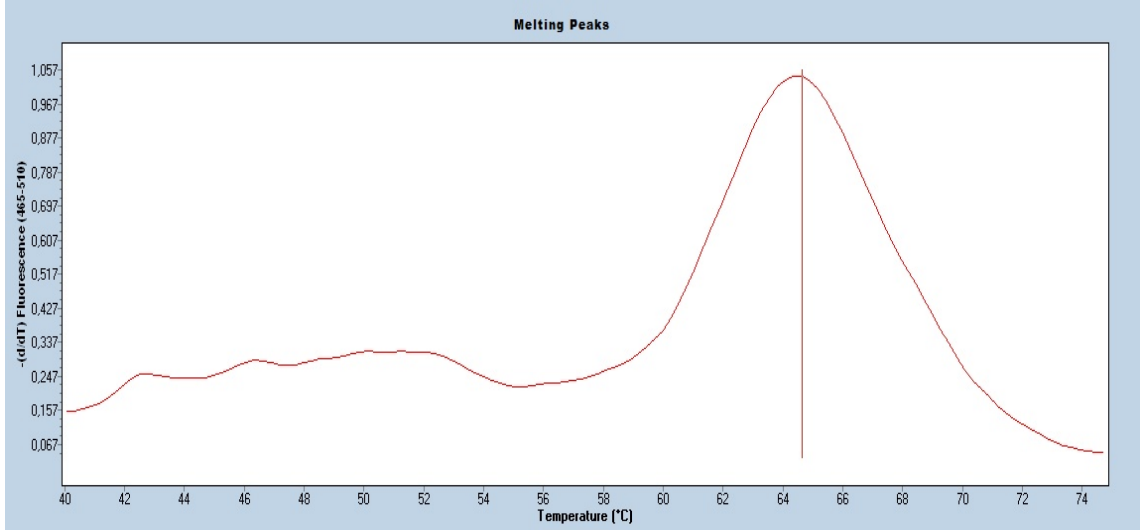
TNP No	Bulunduğu Konum	Değişiklik Gösteren Allel
rs782079491	5' UTR Bölgesi	-/G

FLNA’nın rs782079491 bölgesinde ki değişim insersiyon polimorfizmidir, insersiyon olan allel ise G alellidir.

Tablo 3-2: FLNA geninin TNP bölgesine ait allel değişimleri

TNP no	Allel Değişim Bölgesi
rs782079491	TTTGAGGCGCGAGAAGCCGGGGGGG [/G] CGGTGCTGCAGCCTCGGCGAGGGGA

FLNA geninin rs782079491 bölgesine özgü problemlerle işaretlenmesi sonucu erime noktaları; rs782079491 bölgesine ait NN genotipi için 64,73°C (Şekil 3-1), NI genotipi için 64,73°C–69,56°C, ve II genotipi için 69,56°C’dir. Ancak hasta ve kontrol gruplarında bu polimorfizme ait grafikler elde edilemedi.



Şekil 3-1: FLNA geni rs782079491 bölgesine ait NN genotipinin belirlenmesinde kullanılan erime noktasını gösteren grafik.

3.4.2. β -arrestin 2 Genotipleri

β -Arrestin 2 geninde çalışılan TNP bölgesinin kromozom üzerinde bulunduğu konum ve alleller Tablo 3-3’de, allel değişim bölgeleri ise Tablo 3-4’de gösterilmiştir.

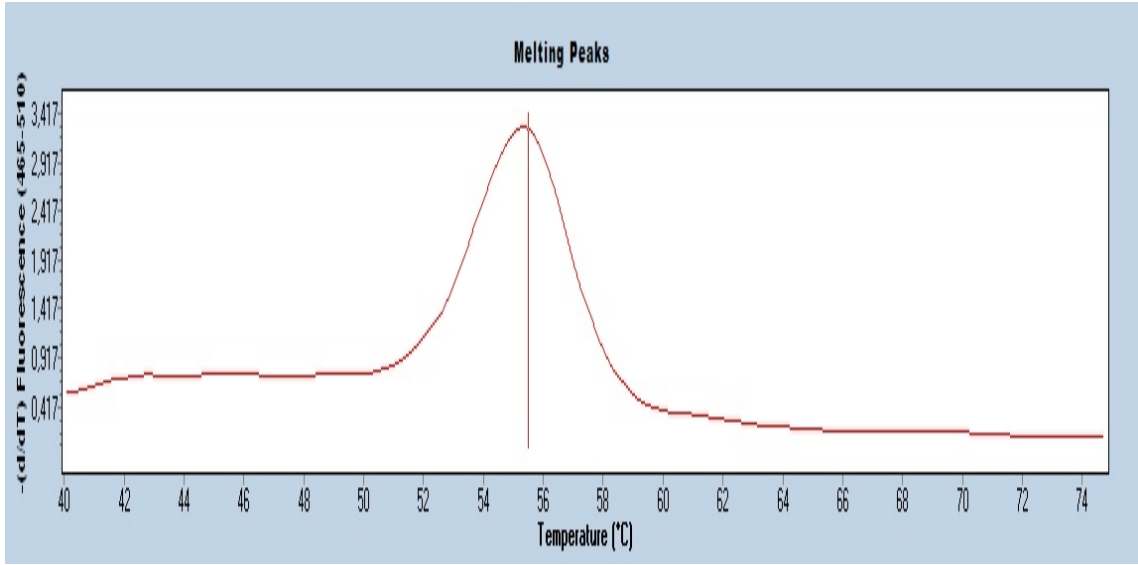
Tablo 3-3: β -arrestin 2 geninde araştırılmış olan polimorfizm bölgesinin bulunduğu konum ve değişiklik sonucu ortaya çıkan alleller.

TNP No	Bulunduğu Konum	Değişiklik Gösteren Allel
rs34230287	Promotor	C / T

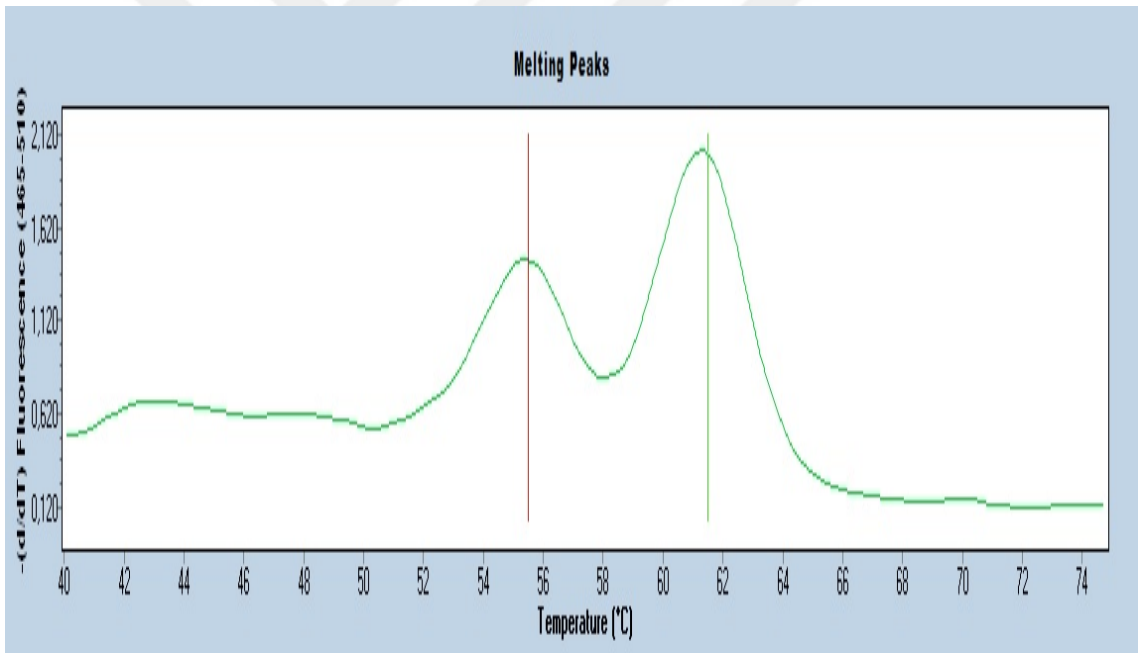
Tablo 3-4 : β -Arrestin 2 geninin TNP bölgesine ait allel değişimleri

TNP no	Allel Değişim Bölgesi
rs34230287	GAAGGCCAATCGAAAGACTTAGATC [C/T] CCTGGAAGGCGGGCGCCTTGGTTTA

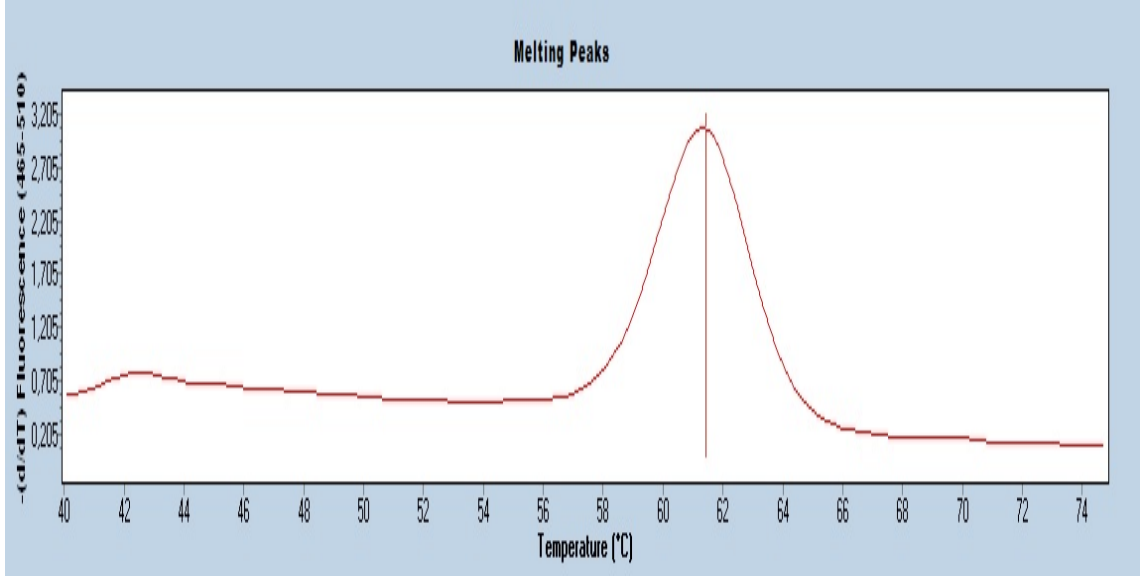
β -Arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesine özgü prob’larla işaretlenmesi sonucu erime noktaları; rs34230287 bölgesine ait CC genotipi için 55,88°C (Şekil 3-2), CT genotipi için 55,88°C – 61,71°C (Şekil 3-3) ve TT genotipi için 61,71°C’dir (Şekil 3-4).



Şekil 3-2: β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesine ait CC genotipinin belirlenmesinde kullanılan erime noktasını gösteren grafik.



Şekil 3-3: β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesine ait CT genotipinin belirlenmesinde kullanılan erime noktasını gösteren grafik.



Şekil 3-4 : β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesine ait TT genotipinin belirlenmesinde kullanılan erime noktasını gösteren grafik.

3.4.3. Deneylerde Kullanılan Simple Prob'ların Hazırlanışı

FLNA ve β -Arrestin 2 genine ait genotiplerin belirlenmesi için Simple Probe olarak LightSNiP (TibMolBiol, Berlin, Germany) kullanıldı. FLNA ve β -Arrestin 2 genleri için kullanılan SimpleProb'lar aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı;

1. Liyofilize primer ve prob karışımını içeren tüpler açılmadan önce sarı çökeltinin tüpün dibinde olduğundan emin olmak için kısa bir süre santrifüj yapıldı.
2. Tüplerin içerisine 100 μ l PCR grade water eklendi.
3. Kısa bir süre vorteks ile karıştırıldıktan sonra santrifüjlenerek tüm sıvı tüpün dibinde toplandı.

3.4.4. RT-PCR Reaksiyon Karışımlarının Hazırlanması

RT-PCR reaksiyon karışımlarını hazırlamak üzere aşağıdaki işlemler takip edildi.

1. Tüm solüsyonlar, içeriklerinin tamamı karışımaya kadar çözündürüldü ve kısa bir süre santrifüjlendikten sonra buz üzerine alındı.
2. Primer ve prob karışımı hazırlandı.
3. Buz üzerindeki 1,5 ml tüpe reaksiyon karışımları Tablo 3-5'de gösterildiği gibi konuldu. Karışım mikropipet ile karıştırıldıktan sonra kısa bir süre santrifüjlenerek tüm sıvı tüpün dibinde toplandı.

4. 96 kuyulu plakanın her bir kuyusuna 15 µl reaksiyon karışımı konuldu. Üzerine 5 µl kalıp DNA eklendi.
5. 96 kuyulu plakanın yüzeyi kaplama folyosuyla kaplandı.
6. 96 kuyulu plakaya uygun rotora sahip santrifüjde kısa bir süre santrifüj edildi ve LightCycler® 480 II cihazına yüklendi.

Tablo 3-5: FLNA ve β -arrestin 2 genleri için kullanılan reaksiyon karışımı

Reaksiyon Bileşeni	Hacim
dH ₂ O	10,4
Primer Prob Karışımı	1
FastStart DNA Master*	2
MgCl ₂	1,6

MgCl₂ son konsantrasyon 3 nM

* Fast Start DNA Master HybProbe (Roche, Mannheim, Germany)

3.4.5. RT-PCR Döngü Programı

LightCycler® 480 II cihazında yapılan RT-PCR'nun döngü programı FLNA ve β -arrestin 2 genleri için Tablo 3-6'de gösterildiği gibi uygulandı.

Tablo 3-6: RT-PCR Döngü Programı

Program Adı	Denatürasyon	Amplifikasyon			Erime			Soğuma
Analiz Modu	yok	Kantifikasyon			Erime Eğrisi			Yok
Döngü sayısı	1			45			1	1
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1
Hedef Sıcaklık (°C)	95	95	60	72	95	40	75	40
Bekleme Süresi (ss:dd:ss)	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:30	00:02:00	00:00:00	00:00:30
Yükselme Oranı (°C/sn)	4.6	4.6	2.4	4.6	4.6	2.0	-	2.0
Yükselme Oranı (°C/sn)	4.4	4.4	2.2	4.4	4.4	1.5	-	1.5
Kazanım Modu	Yok	Yok	Tek	Yok	Yok	Yok	Devamlı	Yok
Kazanımlar							3	

3.5. İstatiksel Yöntemler

İstatiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 23.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli ölçümlü değişkenler için ortalama $\pm$ standart hata (SH) ve medyan [interquartile range, (IQR)] olarak verildi. Kategorik değişkenler gözlem sayısı ve (%) değer olarak gösterildi. Gruplar arasındaki karşılaştırmada normal dağılım gösteren değişkenler için Student's t testi, normal dağılım göstermeyen değişkenler için Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılması Ki-kare testi ile yapıldı. β -Arrestin 2 ve FLNA genine ait polimorfizmlerin analizi için Ki-kare yöntemi kullanıldı. $p < 0,05$ olan değerler anlamlı olarak değerlendirildi. Genotiplere, Hardy Weinberg Dengesi (HWE) kullanılarak test yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Akromegali Hastalarına Ait Demografik, Klinik, Biyokimyasal, Radyolojik ve Histopatolojik Bulgular

Çalışma gruplarına oluşturan sağlıklı kontrol bireylere ve akromegali hastalarına ait demografik özellikler açısından karşılaştırıldı. Tüm akromegali hastaları yaş ve cinsiyetleri bakımından sağlıklı kontrollerle ile aralarında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (4-1).

Tablo 4-1: Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri

	Akromegali Hasta	Sağlıklı Kontrol	p
Yaş (yıl)*	48 ± 11,3	48 ± 7,6	0,974
Cinsiyet (K/E), n (%) *	66/44 (60/40)	61/28 (68,5/31,5)	0,213

Akromegali hastaları medikal tedaviye (SSA) yanıtlarına göre iyi veya kötü yanıt veren olarak gruplara ayrıldılar ve hasta dosyalarından elde edilen klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo 4-2).

Tedaviye iyi yanıt ($39,6 \pm 10,2$) ve kötü yanıt veren ($40,1 \pm 9,6$) akromegali hastalarının tanı yaşı ortalamaları karşılaştırıldı ve anlamlı bir fark olmadığı saptandı. ($p=0,794$). İki grup arasında cinsiyet açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,418$). Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları, iyi yanıt verenlerle karşılaştırıldığında postoperatif 3. ay GH ve IGF-1 düzeylerinin anlamlı olarak yüksek olduğu ($p<0,001$) tespit edildi. Tedaviye kötü yanıt veren grupta p53 değerleri iyi yanıt veren gruba kıyasla anlamlı olarak daha yüksek ($p=0,03$) bulundu. Ayrıca erken remisyon yüzdesi tedaviye kötü yanıt verenlerde anlamlı olarak düşük seviyede saptandı ($p=0,003$). Akromegali hastalarının son vizitlerinde ölçülen GH ve IGF-1 düzeylerinin, tedaviye iyi yanıt verenlerle karşılaştırıldığında, tedaviye köyü yanıt verenlerde anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p=0,001$, $p=0,002$). Tedaviye iyi yanıt veren hastarla, kötü yanıt veren hastaların son vizitteki remisyon durumları karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki saptandı ($p=0,03$). Gruplar tümör boyutu, Makro/mikroadenom, kavernöz invazyon, preoperatif GH ve IGF-1 düzeyleri, Ki-67 indeksi ve mitoz açısında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmadı (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: Akromegali hastalarının SSA tedavi yanıtlarına göre klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik özellikleri

	Akromegali Hastaları		
	Grup 1	Grup 2	p
Tanı Yaşı (yıl)	40,1 ± 9,6	39,6 ± 10,2	0,794
Cinsiyet (K/E),n (%)	44/26 (62,9/37,1)	22/18 (55/45)	0,418
Tümör Boyutu [medyan (IQR)]*	20 (13-27)	16 (11-24,8)	0,220
Makro/mikroadenom, n (%)	57/5 (91,9/8,1)	31/5 (86,1/13,9)	0,358
Preop GH [medyan (IQR)], ng/mL	14,55 (6,37-40)	13,65 (4,38-34,85)	0,959
Preop IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	2,69 (2,00-3,37)	2,68 (2,09-3,07)	0,364
Kavernöz İnvasyon, n (%)	35 (61,4)	15 (48,4)	0,239
Ki-67 [medyan (IQR)]	1,5 (1,0-2,5)	1,5 (1,0-2,5)	0,494
P53 [medyan (IQR)]	1,0 (0,5-2,5)	1,0 (0,0-1,5)	0,03
Mitoz [medyan (IQR)]	0,5 (0,0-1)	0,5 (0,0-1,0)	0,460
Postop 3. ay GH [medyan (IQR)],ng/mL	5,4 (2,81-12,13)	1,76 (0,63-4,15)	<0,001
Postop 3. ay IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	1,96 (1,37- 2,46)	1,25 (0,97-1,67)	<0,001
Erken remisyon, n (%) **	4 (5,8)	10 (25,6)	0,003
Son GH [medyan (IQR)], ng/mL***	1,20 (0,59-3,10)	0,56 (0,25-1,25)	0,001
Son IGF-1 [medyan (IQR)], ULN***	0,91 (0,71-1,47)	0,71 (0,54-0,93)	0,002
Son durum, n (%)****			0,03
İlaçla remisyon	35 (50)	29 (72,5)	
Diskordant	13 (18,6)	7 (17,5)	
Aktif	22 (31,4)	4 (10)	

*En büyük tümör çapı olarak ifade edildi (mm). p<0,05 anlamlı olarak kabul edildi. Grup 1; Somatostatin analoglarıyla tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları, Grup 2; Somatostatin analoglarıyla tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastaları, K; Kadın, E; Erkek, n; kişi sayısı, IQR; interquartile range, ULN; upper limit of normal, **Postoperatif 3. ay remisyon durumları, ***Hastalarının son vizitlerinde ölçülen GH ve IGF-1 düzeyleri, ****Medikal tedavideki hastaların son vizitteki remisyon durumları.

4.2. DNA İzolasyon Sonuçları

Hasta ve kontrol bireylerinin periferik kan örneklerinden gerçekleştirilen DNA izolasyonu sonucu elde edilen DNA'ların, 260nm/280nm dalga boylarındaki OD

değerlerinin 1.8 ± 0.1 arasında olduğu, konsantrasyonlarının ise 50-100 ng/μl olduğu saptandı.

4.3. FLNA Genotipleme Sonuçları

Hasta ve kontrol bireylerinin periferik kan örneklerinden gerçekleştirilen DNA izolasyonu sonucu elde edilen genomik DNA'larda, RT-PCR yöntemi kullanılarak FLNA geninin rs782079491 bölgesine ait genotipler tespit edildi. FLNA geninin rs782079491 bölgesinde İnsersiyon olmadığı N (Non-insertion), insersiyon olduğu ise I (Insertion) ile gösterildi.

4.3.1. Hasta ve kontrol gruplarında FLNA geninin rs782079491 bölgesi Genotip ve Allel dağılımları

Tüm Akromegali Hastaları

Tüm akromegali hastalarında FLNA geninin rs782079491 bölgesine ait genotip dağılımı; 110 hastada NN (%100), NI (%0), II (%0), 99 bireyden oluşan kontrol grubunda da benzer şekilde NN (%100), NI (%0), II (%0) olarak belirlendi (Tablo 4-3).

Tablo 4-3: Tüm akromegali hastaları ve sağlıklı kontrol gruplarında FLNA geninin rs782079491 bölgesinin genotip dağılımı

Gruplar	NN	NI	II
Tüm akromegali hastaları (n=110)	110 (%100)	0	0
Sağlıklı kontroller (n=99)	99 (%100)	0	0
Toplam (n=209)			

4.3.2. Tüm akromegali hastalarında FLNA geninin rs782079491 genotipinin ve allellerinin klinik verilerle karşılaştırılması

Tüm akromegali hastalarında FLNA geninin rs782079491 bölgesine ait genotip dağılımı; 110 hastada NN (%100), NI (%0), II (%0), 99 bireyden oluşan kontrol grubunda

benzer şekilde NN (%100), NI (%0), II (%0) olarak belirlendiğinden hastaların klinik verileri ile karşılaştırmaları yapılamamıştır.

4.4. β -arrestin 2 Genotipleme Sonuçları

Hasta ve kontrol bireylerinin periferik kan örneklerinden gerçekleştirilen DNA izolasyonu sonucu elde edilen genomik DNA'larda, RT-PCR yöntemi kullanılarak β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesine ait genotipler tespit edildi.

4.4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 Bölgesi Genotip ve Allel Dağılımları

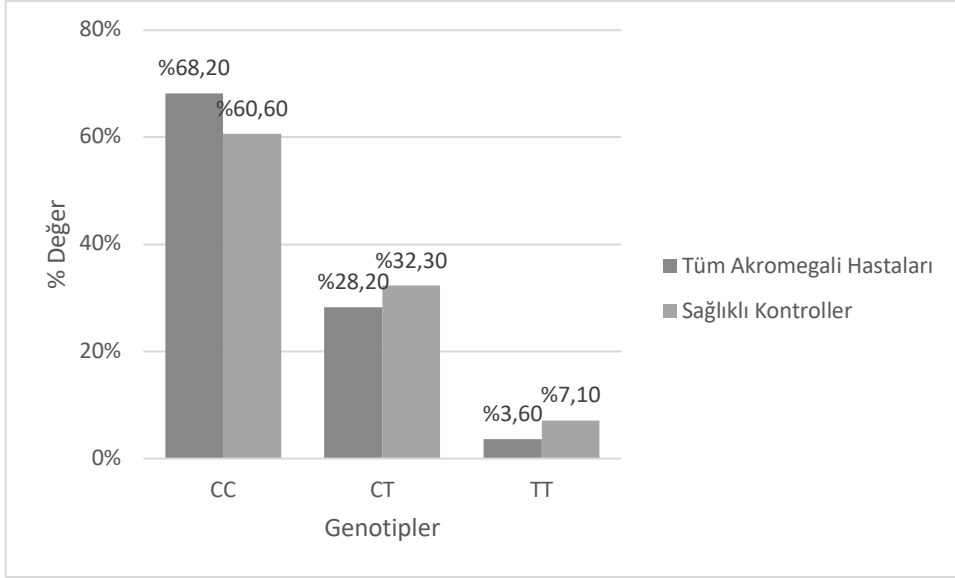
Tüm Akromegali Hastaları ve Sağlıklı Kontroller

Tüm akromegali hastalarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesine ait genotip dağılımı; 110 hastanın 75'inde CC (%68,2), 31'inde CT (%28,2) ve 4'ünde TT (%3,6) olarak belirlendi. 99 bireyden oluşan kontrol grubunun ise 60'ının CC (%60,6), 32'sinin CT (%32,3) ve 7'sinin TT (%7,1) genotipine sahip olduğu saptandı. Hasta ve kontrol gruplarında genotip dağılımları açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 4-1) (Tablo 4-4, $p=0,382$). Toplumda ki genotip dağılımı Hardy Weinberg Dengesine (HWE) uygun olarak bulundu.

Tablo 4-4: Tüm akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinin genotip dağılımı

	CC	CT	TT
Akromegali hastaları	75 (%68,2)	31 (%28,2)	4 (%3,6)
Sağlıklı kontroller	60 (%60,6)	32 (%32,3)	7 (%7,1)
	135 (%64,6)	63 (%30,1)	11 (%5,3)

$$\chi^2=1,927, p=0,382$$



Şekil 4-1: Tüm akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinin genotip dağılımı

rs34230287 için allel sıklığı açısından karşılaştırıldığında, akromegali hasta grubunda C alleli frekansının %82,3; T alleli frekansının ise %17,7 olduğu; sağlıklı kontrol grubunda ise sırasıyla C allelinin %76,8; T allelinin %23,2 olduğu belirlendi. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4-2) (Tablo 4-5, $p=0,163$).

Tablo 4-5: Tüm akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesi allel dağılımı

	C	T
Akromegali hastaları	181 (%82,3)	39 (%17,7)
Sağlıklı kontrol	152 (%76,8)	46 (%23,2)

$$\chi^2 = 1,950; p = 0,163$$



Şekil 4-2: Tüm Akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesi allel dağılımı

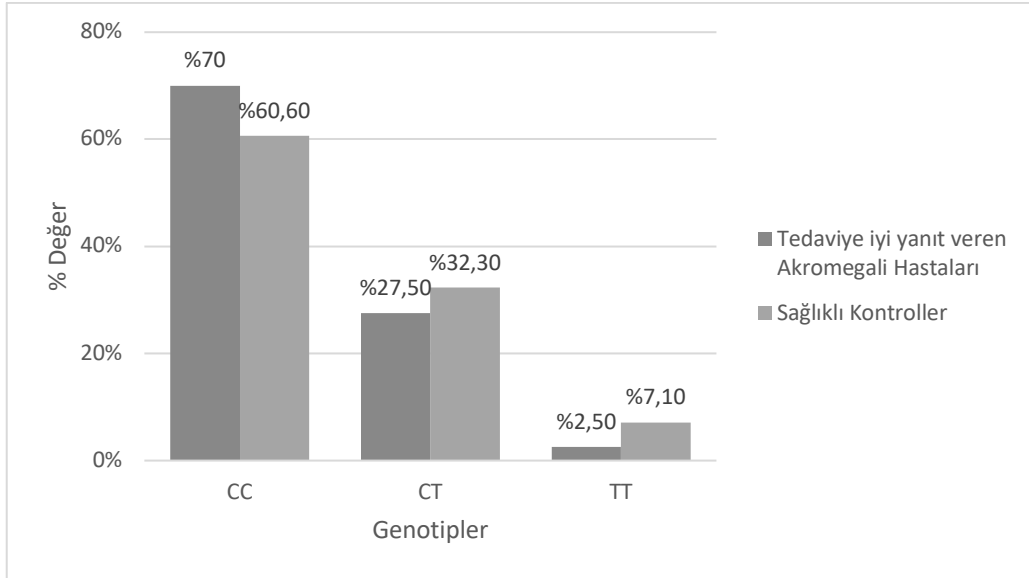
Tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastaları ve sağlıklı kontroller

Tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastalarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesine ait genotip dağılımı; 40 hastanın 28'inde CC (%70), 11'inde CT (%27,5) ve 1'inde TT (%2,5) olarak belirlendi. 99 bireyden oluşan kontrol grubunun ise 60'mının CC (%60,6), 32'sinin CT (%32,3) ve 7'sinin TT (%7,1) genotipine sahip olduğu belirlendi. Her iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı (Şekil 4-3) (Tablo 4-6, $p=0,439$).

Tablo 4-6: Tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinin genotip dağılımı

Gruplar	CC	CT	TT
Tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastaları (n=40)	28(%70)	11(%27,5)	1(%2,5)
Sağlıklı kontroller (n=99)	60(%60,6)	32(%32,3)	7(%7,1)
Toplam (n=139)	88 (%63,3)	43(%30,9)	8(%5,8)

$$\chi^2 = 1,645, p=0,439$$



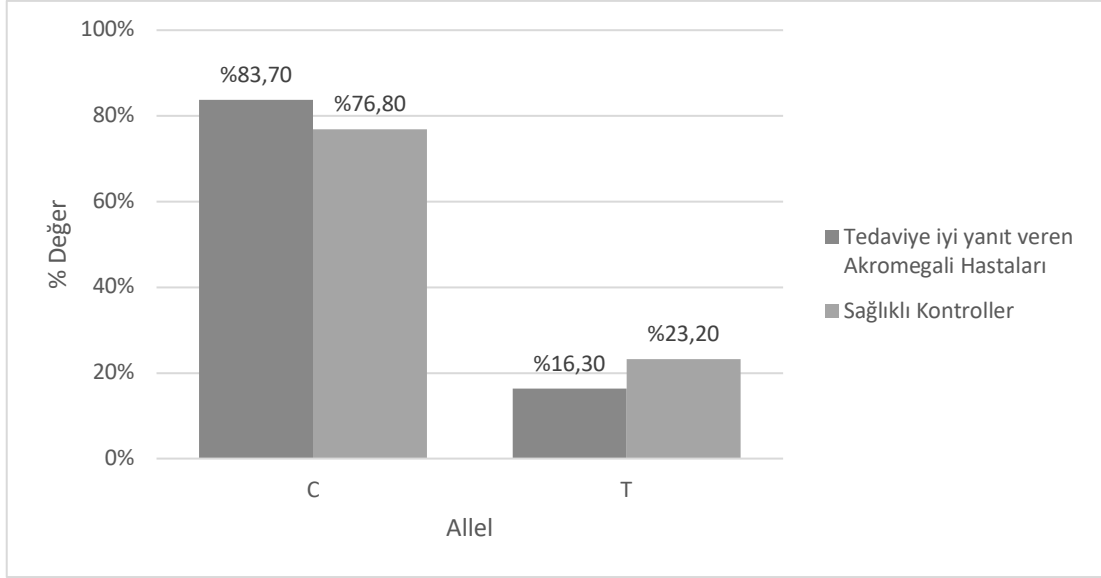
Şekil 4-3: Tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinin genotip dağılımı

rs34230287 için allel sıklığı açısından karşılaştırıldığında, tedaviye iyi yanıt veren akromegali hasta grubunda C alleli frekansının %83,7; T alleli frekansının ise %16,3 olduğu; kontrol grubunda ise sırasıyla C allelinin %76,8; T allelinin %23,2 olarak görüldüğü belirlendi. Hasta ve sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4-4) (Tablo 4-7, $p=0,197$).

Tablo 4-7: Tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesi allel dağılımı

	C	T
Tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastaları	67 (%83,7)	13 (%16,3)
Sağlıklı kontroller	152 (%76,8)	46 (%23,2)

$$\chi^2 = 1,662, p=0,197$$



Şekil 4-4: Tedaviye İyi yanıt veren Akromegali Hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesi allel dağılımı

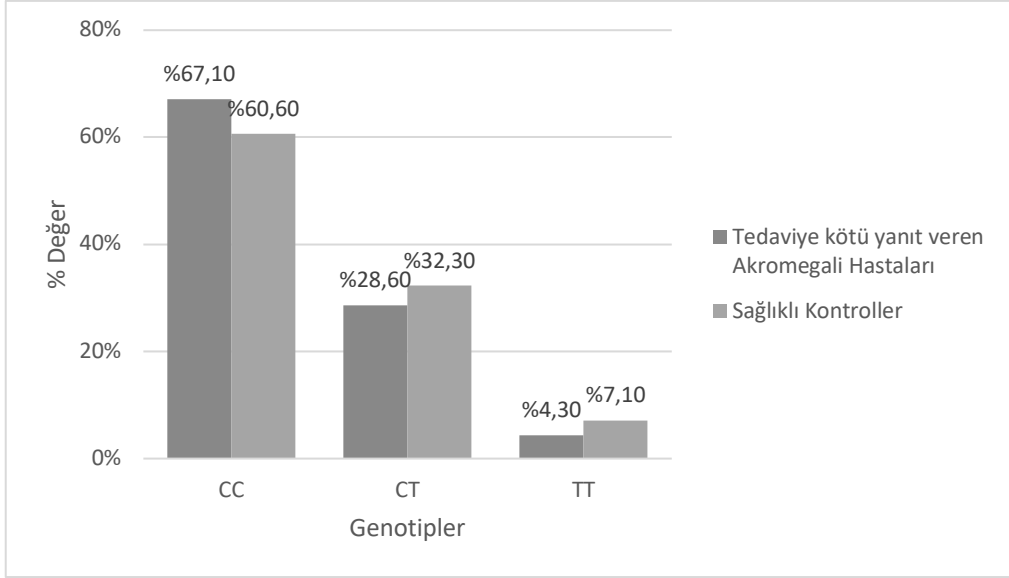
Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları ve sağlıklı kontroller

Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastalarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesine ait genotip dağılımı; 70 hastanın 47'sinde CC (%67,1), 20'sinde CT (%28,6) ve 3'ünde TT (%4,3) olarak belirlendi. 99 bireyden oluşan kontrol grubunun ise 60'ının CC (%60,6), 32'sinin CT (%32,3) ve 7'sinin TT (%7,1) genotipine sahip olduğu belirlendi. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı (Şekil 4-5) (Tablo 4-8, $p=0,606$).

Tablo 4-8: Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinin genotip dağılımı

Gruplar	CC	CT	TT
Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları (n=70)	47(%67,1)	20(%28,6)	3(%4,3)
Sağlıklı kontroller (n=99)	60(%60,6)	32(%32,3)	7(%7,1)
Toplam (n=169)	107(%63,3)	52(%30,8)	10(%5,9)

$$\chi^2 = 1,002, p=0,606$$



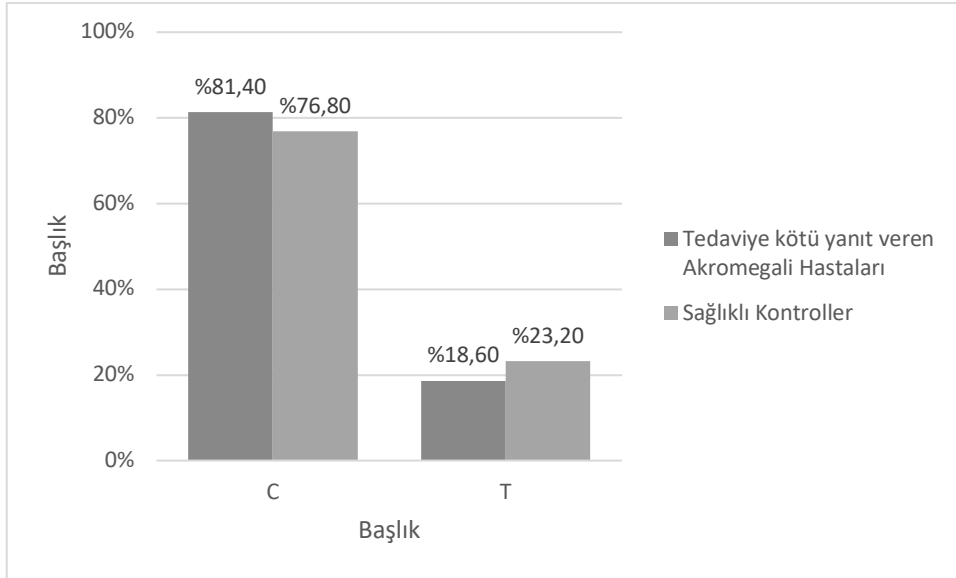
Şekil 4-5: Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesinin genotip dağılımı

rs34230287 için allel sıklığı açısından karşılaştırıldığında, tedaviye kötü yanıt akromegali hasta grubunda C alleli frekansının %81,4; T alleli frekansının ise %18,6 olduğu; kontrol grubunda ise sırasıyla C allelinin %76,8; T allelinin %23,2 olarak görüldüğü belirlendi. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4-6) (Tablo 4-9, $p=0,303$).

Tablo 4-9: Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesi allel dağılımı

	C	T
Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları	114 (%81,4)	26 (%18,6)
Sağlıklı kontroller	152 (%76,8)	46(%23,2)

$$\chi^2 = 1,063; p = 0,303$$



Şekil 4-6: Tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastaları ve kontrol gruplarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesi allel dağılımı

4.4.2. Tüm Akromegali Hastalarında β -arrestin 2 Geni rs34230287 Genotipinin ve Allellerinin Klinik Verilerle Karşılaştırılması

Tüm akromegali hastalarının genotip dağılımları ile hastalığın klinik verileri karşılaştırıldığında sadece makro/mikroadenomlara sahip hasta yüzdeleri ile CT+TT polimorfik genotipleri ve T alleli arasında anlamlı bir ilişki tespit edildi ($p=0,006$), (Tablo 4-10) (Tablo 4-11).

Tablo 4-10: β -arrestin 2 geni rs34230287 genotiplerinin tüm akromegali hastalarının klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri ile karşılaştırılması

Akromegali hastaları	CC	CT+TT	p
Yaş (yıl)	48,5±10,9	47,9±12,4	,809
Tanı Yaşı (yıl)	40,4±9,6	39,1±10,1	,542
Cinsiyet (K/E), n(%)	47/28(62,7/37,3)	19/16(54,3/45,7)	,403
Tümör Boyut [medyan (IQR)]*	20,00 (13-25,75)	15 (10-28)	,358
Makro/Mikroadenom, n (%)	64/3 (95,5/4,5)	24/7 (77,4/22,6)	,006
Preop GH [medyan (IQR)], ng/mL	17,55 (6,16-40,00)	9,82 (4,93-30,20)	,136
Preop IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	2,69 (2,00-3,18)	2,60 (2,09-3,83)	,396
Kavernöz İnvazyonu, n(%)	36 (59)	14 (51,9)	,531
Ki 67 indeks [medyan (IQR)]	1,5 (1,0-2,5)	1,0 (1,0-2,5)	,525
p53 [medyan (IQR)]	1,0 (0,5-2,5)	1,0 (0,5-1,5)	,816
Mitoz [medyan (IQR)]	0,5 (0,0-1,0)	0,50 (0,00-1,75)	,302
Postop 3. ay GH [medyan (IQR)],ng/mL	4,10 (1,70-9,88)	3,45 (1,65-7,53)	,121
Postop 3. ay IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	1,70(1,25-2,38)	1,45 (1,02-2,05)	,635
Erken Remisyon, n (%)**	10(13,7)	4 (11,4)	,742
Son GH [medyan (IQR)], ng/mL***	0,90 (0,48-2,41)	0,96(0,35-2,78)	,376
Son IGF-1 [medyan (IQR)], ULN***	0,88 (0,67-1,18)	0,85 (0,61-1,07)	,800
Son durum, n (%)****			,935
İlaçla remisyon	44 (58,7)	20 (57,1)	
Diskordant	14 (18,7)	6 (17,1)	
Aktif	17 (22,7)	9 (25,7)	

*En büyük tümör çapı olarak ifade edildi (mm). $p<0,05$ anlamlı olarak kabul edildi. K; Kadın, E; Erkek, n; kişi sayısı, IQR; interquartile range, ULN; upper limit of normal, **Postoperatif 3. ay resmiyon durumları, ***Hastaların son vizitlerinde ölçülen GH ve IGF-1 düzeyleri, ****Medikal tedavideki hastaların son vizitteki remisyon durumları.

Tablo 4-11: β -arrestin 2 geni rs34230287 allellerinin tüm akromegali hastalarının klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri ile karşılaştırılması

Akromegali Hastaları	C	T	p
Yaş (yıl)	48,4±11,2	47,9±12	,806
Tanı Yaşı (yıl)	40,2±9,7	38,9±9,9	,463
Cinsiyet (K/E), n(%)	111/70 (61,3/38,7)	21/18 (53,8/46,2)	,387
Tümör Boyut [medyan (IQR)]*	19 (12,5-26,0)	15 (10,75-26,50)	,358
Makro/Mikroadenom, n (%)	149/12 (92,5/7,5)	27/8 (77,1/22,9)	,006
Preop GH [medyan (IQR)], ng/mL	15,75 (5,70-40,00)	8,83 (4,93-29,30)	,104
Preop IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	2,68 (2,02-3,20)	2,68 (2,14-3,83)	,224
Kavernöz İnvazyonu, n(%)	85 (58,2)	15 (50)	,408
Ki 67 indeks [medyan (IQR)]	1,5 (1,0-2,5)	1 (0,5-2,5)	,913
p53 [medyan (IQR)]	1,0 (0,5-2,0)	1 (0,5-1,5)	,524
Mitoz [medyan (IQR)]	0,5 (0,0-1,0)	0,5 (0,0-1,0)	,631
Postop 3. ay GH [medyan (IQR)],ng/mL	3,95 (1,70-9,50)	3,55 (1,65-8,11)	,311
Postop 3. ay IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	1,67 (1,21-2,35)	1,45 (1,02-2,46)	,949
Erken Remisyon, n (%)**	23 (13)	5 (12,8)	,977
Son GH [medyan (IQR)], ng/mL***	0,91 (0,43-2,30)	1,01 (0,33-2,95)	,486
Son IGF-1 [medyan (IQR)], ULN***	0,88 (0,65-1,13)	0,85 (0,64-1,33)	,786
Son durum, n (%)****			,723
İlaçla remisyon	106 (58,6)	22 (56,4)	
Diskordant	34 (18,8)	6 (15,4)	
Aktif	41 (22,7)	11 (28,2)	

*En büyük tümör çapı olarak ifade edildi (mm). $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi. K; Kadın, E; Erkek, n; kişi sayısı, IQR; interquartile range, ULN; upper limit of normal, **Postoperatif 3. ay resmiyon durumları, ***Hastaların son vizitlerinde ölçülen GH ve IGF-1 düzeyleri, ****Medikal tedavideki hastaların son vizitteki remisyon durumları.

Medikal tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastalarında genotip dağılımları ile hastalığın klinik verileri karşılaştırıldığında istatistiksek olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Tablo 4-12), allel dağılımları ile hastalığın klinik verileri ile karşılaştırıldığında sadece T allelinde son GH düzeylerinin daha yüksek olduğu saptandı ($p=0,025$), (Tablo 4-13).

Tablo 4-12: β -arrestin 2 geni rs34230287 genotiplerinin medikal tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastalarının klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri ile karşılaştırılması

	CC	CT+TT	p
Yaş (yıl)	48,7 $\pm$ 10,6	48,2 $\pm$ 10,8	,834
Tanı Yaşı (yıl)	40,8 $\pm$ 9,1	38,8 $\pm$ 10,6	,420
Cinsiyet (K/E), n(%)	31/16 (66/34)	13/10 (56,5/43,5)	,443
Tümör Boyut [medyan (IQR)]*	22 (13-26,5)	17 (11,5-28,5)	,528
Makro/Mikroadenom, n (%)	41/2 (95,3/4,7)	16/3 (84,2/15,8)	,138
Preop GH [medyan (IQR)], ng/mL	17,45 (6,81-40,00)	10,5 (5,6-33,1)	,351
Preop IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	2,70(1,98-3,11)	2,60 (1,955-4,05)	,305
Kavernöz İnvazyonu, n(%)	26 (%65)	9 (%52,9)	,392
Ki 67 indeks [medyan (IQR)]	1,5 (1-2,5)	1,0 (1-2,5)	,645
p53 [medyan (IQR)]	1,5 (1-2,5)	1,0 (0,5-1,5)	,948
Mitoz [medyan (IQR)]	0,5 (0,0-1)	0,5 (0,0-1,75)	,621
Postop 3. ay GH [medyan (IQR)], ng/mL	5,5 (2,7-16,3)	5,2 (3,25-10,715)	,194
Postop 3. ay IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	2,14 (1,39-2,48)	1,48 (1,24-2,62)	,505
Erken Remisyon, n (%)**	3 (6,5)	1 (4,3)	,716
Son GH [medyan (IQR)], ng/mL***	1,20 (0,55-3,10)	1,45 (0,61-3,17)	,089
Son IGF-1 [medyan (IQR)], ULN***	0,95 (0,74-1,41)	0,88 (0,64-1,53)	,798
Son durum, n (%)****			,768
İlaçla remisyon	23 (48,9)	12 (52,2)	
Diskordant	8 (17)	5 (21,7)	
Aktif	16 (34)	6 (26,1)	

*En büyük tümör çapı olarak ifade edildi (mm). p<0,05 anlamlı olarak kabul edildi. K; Kadın, E; Erkek, n; kişi sayısı, IQR; interquartile range, ULN; upper limit of normal, **Postoperatif 3. ay resmiyon durumları, ***Hastaların son vizitlerinde ölçülen GH ve IGF-1 düzeyleri, ****Medikal tedavideki hastaların son vizitteki remisyon durumları.

Tablo 4-13: β -arrestin-2 geni rs34230287 allellerinin medikal tedaviye kötü yanıt veren akromegali hastalarının klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri ile karşılaştırılması

	C	T	p
Yaş (yıl)	48,7 $\pm$ 10,6	47,8 $\pm$ 10,5	,674
Tanı Yaşı (yıl)	40,5 $\pm$ 9,4	38,5 $\pm$ 10,2	,341
Cinsiyet (K/E), n(%)	74/40 (64,9/35,1)	14/12 (53,8/46,2)	,292
Tümör Boyut [medyan (IQR)]*	21 (13-27)	17,00 (12,00-27,25)	,461
Makro/Mikroadenom,n (%)	95/7 (93,1/6,9)	19/3 (86,4/13,6)	,290
Preop GH [medyan (IQR)], ng/mL	15 (6,8-40,0)	9,92 (5,60-31,05)	,247
Preop IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	2,69 (1,980-3,200)	2,99 (2,14-4,12)	,160
Kavernöz İnvazyonu, n(%)	60 (63,2)	10 (52,6)	,390
Ki 67 indeks [medyan (IQR)]	1,5 (1,0-2,5)	1,00 (0,88-1,83)	,303
p53 [medyan (IQR)]	1,5 (1,0-2,5)	1,0 (0,5-1,5)	,600
Mitoz [medyan (IQR)]	0,5 (0,0-1,0)	0,5 (0,0-1,0)	,989
Postop 3. ay GH [medyan (IQR)], ng/mL	5,4 (2,8-10,4)	5,6 (3,4-12,7)	,242
Postop 3. ay IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	2,08 (1,37-2,43)	1,49 (1,33-2,94)	,872
Erken Remisyon, n (%)**	7 (6,3)	1 (3,8)	,637
Son GH [medyan (IQR)], ng/mL***	1,20 (0,57-3,10)	1,70 (0,71-3,64)	,025
Son IGF-1 [medyan (IQR)],ULN***	0,91 (0,72-1,37)	0,90 (0,65-1,83)	,818
Son durum, n (%)****			,994
İlaçla remisyon	57 (50)	13 (50)	
Diskordant	21 (18,4)	5 (19,2)	
Aktif	36(31,6)	8 (30,8)	

*En büyük tümör çapı olarak ifade edildi (mm). $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi. K; Kadın, E; Erkek, n; kişi sayısı, IQR; interquartile range, ULN; upper limit of normal, **Postoperatif 3. ay remisyon durumları, ***Hastaların son vizitlerinde ölçülen GH ve IGF-1 düzeyleri, ****Medikal tedavideki hastaların son vizitteki remisyon durumları.

Medikal tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastalarının genotip dağılımları ile hastalığın klinik verileri karşılaştırıldığında makro/mikroadenom yüzdeleri ($p=0,017$) ve post op 3. ay GH düzeyleri ($p=0,011$) ile CT+TT polimorfik genotiplerde arasında anlamlı bir ilişki tespit edildi (Tablo 4-14). Allel dağılımı açısından bakıldığında yine aynı şekilde makro/mikroadenom ($p=0,005$) değerleri ve postop 3. ay GH düzeyleri ($p < 0,001$) ile polimorfik T alleli arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (Tablo 4-15).

Tablo 4-14: β -arrestin 2 geni rs34230287 genotiplerinin medikal tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastalarının klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri ile karşılaştırılması

	CC	CT+TT	p
Yaş (yıl)	48,1±11,5	47,5±15,6	,891
Tanı Yaşı (yıl)	39,6±10,7	39,7±9,5	,968
Cinsiyet (K/E), n(%)	16/12 (57,1/42,9)	6/6 (50/50)	,677
Tümör Boyut [medyan (IQR)]*	16 (11-25)	12,00 (8,75-23,25)	,509
Makro/Mikroadenom, n (%)	23/1 (95,8/4,2)	8/4 (66,7/33,3)	,017
Preop GH [medyan (IQR)], ng/mL	17,55 (4,95-40)	5,15 (2,20-26,08)	,255
Preop IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	2,68 (1,96-3,30)	2,64 (2,11-2,94)	,510
Kavernöz İnvazyonu, n(%)	10 (47,6)	5 (50)	,901
Ki 67 indeks [medyan (IQR)]	1,25 (1-2)	2,00 (0,63-2,88)	,146
p53 [medyan (IQR)]	0,75 (0,00-1,13)	1,00 (0,50-1,75)	,933
Mitoz [medyan (IQR)]	0,00 (0,00-0,88)	0,5 (0,0-2,0)	,346
Postop 3. ay GH [medyan (IQR)], ng/mL	1,90 (0,64-4,94)	1,30 (0,30-2,01)	,011
Postop 3. ay IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	1,28 (0,95-1,67)	1,02 (0,92-1,59)	,915
Erken Remisyon, n (%)**	7 (25,9)	3 (25)	,951
Son GH [medyan (IQR)], ng/mL***	0,56 (0,26-1,18)	0,43 (0,18-1,70)	,345
Son IGF-1 [medyan (IQR)], ULN***	0,71 (0,54-0,93)	0,72 (0,54-0,97)	,733
Son durum, n (%)****			,093
İlaçla remisyon	21 (75)	8 (66,7)	
Diskordant	6 (21,4)	1 (8,3)	
Aktif	1 (3,6)	3 (25)	

*En büyük tümör çapı olarak ifade edildi (mm). $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi. K; Kadın, E; Erkek, n; kişi sayısı, IQR; interquartile range, ULN; upper limit of normal, **Postoperatif 3. ay resmiyon durumları, ***Hastaların son vizitlerinde ölçülen GH ve IGF-1 düzeyleri, ****Medikal tedavideki hastaların son vizitteki remisyon durumları.

Tablo 4-15: β -arrestin 2 geni rs34230287 allellerinin medikal tedaviye iyi yanıt veren akromegali hastalarının klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik verileri ile karşılaştırılması

	C	T	p
Yaş (yıl)	47,9±12,1	48,2±15,1	,924
Tanı Yaşı (yıl)	39,6±10,3	39,7±9,5	,970
Cinsiyet (K/E), n(%)	37/30 (55,2/44,8)	7/6 (53,8/46,2)	,927
Tümör Boyut [medyan (IQR)]*	16 (11-25)	12 (8,75-23,25)	,538
Makro/Mikroadenom, n (%)	54/5 (91,5/8,5)	8/5 (61,5/38,5)	,005
Preop GH [medyan (IQR)], ng/mL	16,5 (4,55-37,65)	5,3 (2,3-24,6)	,248
Preop IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	2,68 (2,08-3,21)	2,68 (2,14-2,98)	,636
Kavernöz İnvazyonu, n(%)	25 (49)	5 (45,5)	,830
Ki 67 indeks [medyan (IQR)]	1,5 (1,0-2,0)	1,50 (0,50-2,75)	,307
p53 [medyan (IQR)]	1,0 (0,0-1,38)	0,75 (0,50-1,63)	,837
Mitoz [medyan (IQR)]	0,0 (0,0-1,0)	0,5 (0,13-1,63)	,467
Postop 3. ay GH [medyan (IQR)], ng/mL	1,89 (0,64-4,60)	1,02 (0,18-1,92)	<0,001
Postop 3. ay IGF-1 [medyan (IQR)], ULN	1,26 (0,98-1,67)	1,02 (0,95-1,55)	,777
Erken Remisyon, n (%)**	16 (24,6)	4 (30,8)	,643
Son GH [medyan (IQR)], ng/mL***	0,56 (0,28-1,18)	0,42 (0,16-1,54)	,450
Son IGF-1 [medyan (IQR)], ULN***	0,71 (0,54-0,93)	0,73 (0,57-0,95)	,830
Son durum, n (%)****			,171
İlaçla remisyon	49 (73,1)	9 (62,9)	
Diskordant	13 (19,4)	1 (7,7)	
Aktif	5 (7,5)	3 (23,1)	

*En büyük tümör çapı olarak ifade edildi (mm). $p<0,05$ anlamlı olarak kabul edildi. K; Kadın, E; Erkek, n; kişi sayısı, IQR; interquartile range, ULN; upper limit of normal, **Postoperatif 3. ay resmiyon durumları, ***Hastaların son vizitlerinde ölçülen GH ve IGF-1 düzeyleri, ****Medikal tedavideki hastaların son vizitteki remisyon durumları.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada akromegali hastalarında, β -arrestin 2 geninin promotor bölgesindeki rs34230287 ve FLNA geninin 5'UTR bölgesinde ki rs782079491 polimorfizmleri ile akromegali hastalığı arasındaki, ayrıca medikal tedaviye yanıt arasındaki olası ilişkiler araştırıldı.

FLNA, ilk olarak aktin bağlayıcı bir protein olarak tanımlanan, integrinler ve hücre iskeletine bağlı işlemlere katılan diğer proteinlerle de etkileşen bir proteindir. FLNA'nın hücre adezyonu ve migrasyonun da önemli rolü vardır. Ayrıca, FLNA hücre sinyalleşmesi ve hareketi, anjiyogenez, proteoliz, transkripsiyon, reseptör aktivasyonu, gibi çeşitli hücresel fonksiyonlarda yer almaktadır. FLNA'nın kanserde invazyon ve metastazda da rol aldığı gösterilmiştir. Aizen ve ark., endometriyal kanser hücreleri IGF-1 ile uyarıldığında FLNA ifadesinin arttığını ve FLNA'nın ifadesinin susturulmasıyla hücre migrasyonunun engellendiğini göstermişlerdir. (Aizen ve ark. 2018). Hipofiz adenomlarında, tedaviye yanıtta önemli rolleri olan dopamin reseptörleri ve SSTR'leri ile FLNA'nın etkileşimini gösteren bazı çalışmalar vardır. Peverelli ve ark., prolaktinomalarda ve özellikle Dopamin agonist tedavisiyle, PRL normalizasyonu ve tümör küçülmesi sağlanamayan hastalarda, FLNA ve dopamin reseptörü 2 (DRD2)'nin düşük düzeylerde olduğunu göstermişlerdir. FLNA'nın DRD2'nin ifade edilmesinde ve sinyalleşmesinde önemli olduğunu, ayrıca prolaktinomalarda FLNA ifadesinin eksikliğinde dopamin agonistlerine yanıtın azalmasından sorumlu olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Peverelli ve ark. 2012).

Najib ve ark.'nın farklı hücre soylarıyla yaptıkları deneysel çalışmada ise FLNA'nın SSTR2 ile etkileştiğini, SSTR2 aracılı hücre yaşamının engellenmesinde önemli bir aracı molekül olduğunu, ayrıca FLNA ifade eden hücrelerde, etmeyen hücrelere göre SSTR2 internalizasyon oranının arttığını göstermişlerdir (Najib ve ark. 2012).

Peverelli ve ark., primer somatotrop tümör hücrelerinde FLNA'nın SSTR2 ekspresyon ve sinyalizasyonundaki rolünü araştırmışlardır. Bu çalışmalarında FLNA'nın SSTR2 ekspresyonu ve membrana tekrar geri yönlendirilmesi için gerekli olmadığını saptamışlardır. GH3 sıçan hipofiz hücrelerinde, uzun süreli agonist uyarımından sonra SSTR2 ifadesinin azaldığını, FLNA'nın SSTR2 ile uyarılan siklin D1 deki azalma ve kaspaz-3/7 aktivasyonu için gerekli olduğunu göstermişlerdir. Peverelli ve ark., bu

çalışmalarının sonucunda, FLNA'nın somatotroplarda SSTR ile uyarılan büyümenin kontrolünde yer alan önemli bir bileşen olduğunu, FLNA'nın düşük düzeylerde olduğunda SSTR2'nin sinyalleşme yolağındaki moleküller ile eşleşmesinde önemli bir kayıba yol açacağını ileri sürmüşlerdir (Peeverelli, Giardino, Treppiedi ve ark. 2014).

Farklı bir çalışmada, FLNA'nın SSTR2 ekspresyon ve sinyalizasyon, anjiyogenez, hücre adezyonu ve migrasyonunda ki rolü pankreatik nöroendokrin hücre soylarında araştırılmış ve FLNA'nın SSTR2 ifadesi ile ilişkili olmadığını ama uzun süreli agonist uyarımından sonra SSTR2 stabilizasyonu için FLNA'nın gerekli olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca FLNA'nın ifadesinin susturulmasıyla, SSTR2'nin birçok biyolojik yanıtı uyaramadığını, VEGF ekspresyonunun gerçekleşmediğini saptamışlar, SSTR2'nin ve dolayısı ile FLNA'nın anjiyogenez üzerinde ki önemini göstermişlerdir (Vitali ve ark. 2016).

Yapılan tüm bu çalışmalar, GH-salgılayan hipofiz adenomlarının SSA ile tedavisinde özellikle SSTR2 sinyal yolağında FLNA'nın önemli bir rolü olabileceğini, FLNA'nın düşük ifadesinin SSA'larına direnç ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu düşünceden yola çıkarak, FLNA'nın ifadesini etkileyebilecek olan, FLNA genin 5'UTR bölgesindeki rs782079491 polimorfizminin akromegali hastalarında SSA tedavisine yanıtındaki farklılıklar arasında bir ilişki olup olmadığı bu çalışmada araştırıldı. Bu polimorfizmde beklenen genotipler, N/N, N/I, I/I idi. Ancak bu çalışmada Türk toplumunda insersiyon ile ortaya çıkan alleli taşıyan N/I ve I/I polimorfik genotiplerine rastlanmadı. Tüm gruplar N/N genotipleri taşımaktaydı. 1000 genom veri datalarına bakıldığında (1000Genome, 2018) bu polimorfik allel (G insersiyonu) frekansı, Amerikalı-Afrikalılarda 0.03, Nijerya toplumunda 0.0069, diğer toplumlarda ise Türk toplumuyla benzer olarak 0,00 olarak bildirilmiştir. Türk toplumunda FLNA geninin 5'UTR bölgesinde ki rs782079491 polimorfizminin saptanamaması, çalışma gruplarının sayılarının azlığından dolayı olabilir. Ayrıca genelde düşük frekansta olduğu gözlenen bu polimorfik bölgenin daha fazla sayıda ki örnekle çalışılması ile polimorfik genotipin saptanmasının mümkün olabileceği düşünüldü. FLNA'nın ekspresyon düzeyleri üzerinde veya diğer sinyalleşme molekülleri ile bağlanma bölgelerinin üzerinde fonksiyonel olarak etkili olabilecek FLNA genine ait promotor bölge veya diğer gen bölgelerinde yer alan ve/veya daha fazla sayıdaki polimorfik bölgelerin araştırılabilmesi daha ileri çalışmaların

yapılmasının bu konudaki bazı ilişkilerin ortaya çıkarılmasına yardımcı olabileceği düşünüldü.

β -arrestinler, reseptör (GPCR ve EGFR) desensitizasyonunda, internalizasyonunda ve hücre içi trafiğinde önemli rol oynayan, ayrıca transkripsiyonu ve MAPK sinyalizasyonunu düzenleyen çok fonsiyonlu adaptör proteinlerdir. β -arrestin 1 ve 2 olmak üzere iki izoformu vardır (Rajagopal ve Shenoy 2018). GPCR ailesinden SSTR'lar, somatostatin ile uyarıldıklarında, β -arrestin SSTR ile G proteinlerinin etkileşimlerini engeller ve SSTR2'nin desensitizasyonuna neden olurlar. β -arrestinler, SSTR'ların hücrel biyolojik aktivitelerini düzenlemede önemli rol alırlar.

Gatto ve ark., yaptıkları bir çalışmada farklı hipofiz adenomlarında GRK2 ve β -arrestin 1 ve 2 ekspresyonları arasındaki ilişkiyi, ayrıca GH-salgılayan hipofiz adenomlarında SSA tedavisine yanıtta ki rollerini araştırmışlardır. Akut octreotide testi yapılan akromegali hastalarından elde edilen adenom dokularında, β -arrestin 1 ifadesinin büyüme hormonundaki azalma yüzdesiyle ters ilişkili olduğu bildirmişlerdir. Ayrıca, GH salgılayan hipofiz adenomlarından elde edilen primer adenom hücrelerini octreotide yanıtlarına göre tedaviye yanıt veren ve vermeyen gruplara ayırmışlardır. Tedaviye yanıt verenlerde, vermeyenlerle karşılaştırıldığında β -arrestin 1 mRNA'ları düşük düzeylerde saptanırken GRK2 ve SSTR2 mRNA'larının yüksek düzeylerde olduklarını saptamışlardır. Bu çalışmalarında düşük düzeylerdeki β -arrestin 1'in hücre yüzeyinde daha az desensitize ve biyolojik olarak daha aktif yüksek miktarda reseptörler ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır (Gatto ve ark. 2013).

Gatto ve ark. 2016 yılında yaptıkları başka bir çalışmalarında ise, β -arrestinlerin akromegali hastalarının SSA tedavisine verecekleri yanıtların belirlenmesinde önemli belirteçler olup olamayacağını araştırmışlardır. GH ve IGF1 normalizasyonu sağlanan hastaların adenom dokuları, tedaviye kötü yanıt veren hastalara ait adenom dokularıyla karşılaştırıldığında, SSTR2 mRNA ve protein seviyeleri yüksek saptanırken, hem β -arrestin 1'in hemde β -arrestin 2'nin mRNA düzeylerinin düşük olduğunu göstermişlerdir. SSTR2/ β -arrestin oranı olarak ifade edilen, her iki β -arrestin ve SSTR2 mRNA'sı birlikte değerlendirildiğinde, SSA tedavisine yanıt vermede güçlü bir ilişki bulunduğunu saptamışlardır. Bu verilere dayanarak, SSTR2 agonist tedavisine yanıtta, β -arrestinlerin, SSTR2 ile birlikte önemli bir belirteç olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Gatto ve ark. 2016)

Yapılan çalışmalarla SSA tedavisine yanıtın, β -arrestin ve SSTR ifadesine, ayrıca reseptörün duyarsızlaştırılmasına, internalizasyon ve trafiğine de bağlı olduğu gösterilmiştir (Cambiaghi ve ark. 2017; Gatto ve ark. 2016; Gatto ve ark. 2013). Farklı tümör örneklerinde β -arrestinlerin heterojen ekspresyonunun, hem SSTR2 fonksiyonlarını hem de hücre membranı üzerindeki reseptör miktarını (internalizasyon ve membrana geri dönüş) etkileyerek, SSA'larına yanıtı düzenleyebileceğini ileri sürmüşlerdir. Coelho ve ark., akromegali hastalarından elde ettikleri adenom dokularında, SSTR2, SSTR5 ve dopamin reseptör alt tip 2 (D2) ifadeleri ile β -arrestin 1 ve 2 arasındaki ilişkiyi, ayrıca β -arrestinler ile SSA'larına yanıt ve somatotropinomlarda invazyon arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda, β -arrestinler ile SSTR2, SSTR5 veya D2 (mRNA ve protein seviyeleri) arasında bir ilişki bulunamamıştır. Ayrıca β -arrestin ekspresyonu ve SSA yanıtı veya tümör invazyonu arasında da bir ilişki olmadığını göstermişlerdir (Coelho ve ark. 2018).

β -arrestinlerin çeşitli dokulardaki gen ekspresyon düzeyleri ile hücrel sinyalizasyondaki ilişkileri üzerine yapılan çalışmaların yanında, β -arrestin genine ait polimorfizmler ile farklı popülasyonlarda çeşitli hastalıklarla ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda vardır. Ikeda ve ark., β -arrestin 2 genine ait farklı polimorfizimler (rs4790689, rs1973555, rs1045280, rs2036657 ve rs4790694) ile şizofreni ve metamfetamin bağımlılığı arasında ki ilişkiyi araştırmışlardır. Japon popülasyonunda gerçekleştirilen 547 şizofreni hastası, 177 metamfetamin bağımlı hasta ve 546 sağlıklı bireyin yer aldığı bu çalışmada, β -arrestin 2 geni polimorfizimlerinin metamfetamine bağımlı hastalık ile ilişkili olduğunu saptamışlardır, ancak β -arrestin 2 gen polimorfizimleri ile şizofreni arasında bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir (Ikeda ve ark. 2007).

Ross ve ark., çeşitli kanser hastalarında morfine klinik yanıt ve opioid sinyal yolağında bulunan genler (m-opioid reseptör, β -arrestin 2, STAT6 ve üridin difosfat glukuronil transferaz 2B7; UGT2B7) arasında ki ilişkiyi araştırmışlardır. β -arrestin 2 genine ait polimorfizmlerine (1182 G/A, 5864 G/A, 8622T/C ve 11143 G/A) bakılmış sadece 8622T/C polimorfizmi ile morfine yanıt arasında ilişki bulunmuştur. Bu çalışma ile β -arrestin polimorfizimlerinin ilaca verilen klinik yanıtı etkilediğini göstermişlerdir (Ross ve ark. 2005). Sun ve ark., ise Avrupadaki Amerikalılarda β -arrestin 1 (3'UTR de rs 2279130, intron 5' de rs1320709, intron 2'de rs57866130, intron 2'de rs611908, intron

1'de rs472112 ve intron 14 de rs528833) ve β -arrestin 2 gen polimorfizmleri (intron 2 de rs3786047, intron 10'da rs4522461, ekzon 12'de rs1045280 ve 3'UTR'de rs4790694) ile nikotin bağımlılığı arasında bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir (Sun ve ark. 2008). Liou ve ark., Çinli 381 şizofreni hastasında (228 hasta tardiv diskineziye sahip, 153 hastada ise yok) β -arrestin 2 genin 12. Ekzonunda ki rs1045280 polimorfizm ile tardiv diskinezi arasında ki ilişkiyi araştırmışlardır. Polimorfik T allelinin şizofreni hastalarında tardiv diskinezi riskini arttırdığını bildirmişlerdir (Liou ve ark. 2008).

Bousman ve ark., daha önce ki bir çalışmada (Ikeda ve ark. 2007) Asya popülasyonunda metamfetamin bağımlılığı ile ilişkili bulunan β -arrestin 2 geninde ki rs4790694 polimorfizminin metamfetamin bağımlılığı ile ilişkisini psikoza sahip olmayan 193 Kafkasyalı erkekte araştırmışlar, ancak aralarında anlamlı bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir (Bousman ve ark. 2010).

Lanci ve ark., Avrupadaki Amerikan toplumunda, 336 kokaine, 335 opioide bağımlı hastada ve 656 sağlıklı kontrolde β -arrestin 2 polimorfizmlerine ait (rs11868227, rs3786047, rs4522461, rs1045280, rs2271167, rs2036657, ve rs4790694) genotip dağılımlarını, ayrıca opioid ve kokain bağımlılığı arasında ki ilişkiyi araştırmışlardır. Opioid ve kokain bağımlı grup ve kontrollerde polimorfizmler ile istatistiksel olarak bir anlamlılık bildirilmemiştir (Ambrose-Lanci ve ark. 2012).

Fang ve ark., sigara içime alışkanlığı ile opioid yolağında yere alan genlere ait polimorfizimler arasında ki ilişkiyi çalışmışlardır. 284 Çinli erkek bireyin yer aldığı bu çalışmada hem β -arrestin 2'ye ait (rs1045280, rs2036657 ve rs3786047) hem de opioid yolağında yer alan diğer genlerde ki varyasyonlar ile sigara içme alışkanlığı arasında bir ilişki bulunamamıştır (Fang ve ark. 2014).

Bu çalışmada araştırılan β -arrestin 2 ye ait promotor bölgedeki rs34230287 polimorfizmi ile farklı toplumlar da ki genotip dağılımları ve çeşitli hastalıklar ile mevcut polimorfizm arasında ki ilişkiyi araştıran çok az sayıda çalışma mevcuttur. Bu konuda ki ilk çalışma Zhang ve ark. tarafından, sağlıklı 60 Kafkasyalı ve 35 Asyalı gönüllüde, β -arrestin 2 genin promotor bölgesinde ki rs34230287 polimorfizmi ile nötrofillerdeki β -arrestin 2 geninin ekspresyonu üzerine yapılmıştır. Kafkasyalılarda rs34230287 genotip sıklığı C/C, C/T ve TT için sırasıyla %66,7, %47,5 ve %1,7 olarak bulunmuştur. Asyalılarda ise bu polimorfizme rastlanmamıştır. Kafkasyalılarda CC genotiplerine sahip olanların TT genotipine göre daha yüksek β -arrestin 2 mRNA seviyelerine sahip

olduğunu ve rs34230287 polimorfizminin β -arrestin 2 mRNA ifadesiyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Zhang ve ark. 2007). Oneda ve ark. 2011 yılında, β -arrestin 2 polimorfizmleri (rs34230287, rs3786047, rs1045280 ve rs2036657) ile opioid bağımlı Kafkasyalı 238 hastada methadon yanıtı arasında ki ilişkiyi araştırmışlardır. Çalışılan polimorfizmler arasında ki rs34230287 ile opioid bağımlı hastalarda methadon yanıtı ile ilişki bulunamamıştır. rs34230287 genotip sıklıkları methadona yanıt veren hastalarda C/C, C/T, ve T/T için sırasıyla %56, %38 ve %5, yanıt vermeyenlerde ise %55, %37 ve %8 olarak bildirilmiştir (Oneda ve ark. 2011). Oneda ve ark. 2010 yılında ki çalışmalarında ise Kafkasya popülasyonunda alkol bağımlılığı olan 45 erkek ve 28 kadında β -arrestin 2 polimorfizmleri (promotorde rs34230287, intron 1'de rs3786047, ekzon 11'de rs1045280 ve 3'UTR'de bulunan rs2036657) ile alkol bağımlılığı arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda, alkolik hasta ve kontroller arasında genotip ve allel dağılımları bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır (Oneda ve ark. 2010).

Bu çalışma ile β -arrestin 2 genin ifadesini etkileyebilecek olan, β -arrestin-2 genin promotor bölgesindeki transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesinde bulunan ve mRNA ekspresyonu ile ilişkili olan rs34230287 polimorfizminin (rVarBase:, 2015), akromegali hastalarında SSA tedavisine yanıtındaki farklılıklar arasında bir ilişki olup olmadığı araştırıldı.

Bu çalışmada Türk toplumunda sağlıklı kontrol bireylerde ve akromegali hastalarında β -arrestin 2 geninin rs34230287 bölgesine ait genotip dağılımlarına bakıldı. 99 bireyden oluşan kontrol grubunun 60'ının CC (%60,6), 32'sinin CT (%32,3) ve 7'sinin TT (%7,1) genotipine, 110 hastanın 75'inin CC (%68,2), 31'inin CT (%28,2) ve 4'ünün TT (%3,6) genotipine sahip olduğu saptandı. Hasta ve kontrol gruplarında genotip dağılımları açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0,382$). Sonuçlarımız daha önce yapılan çalışmalarda ki rs34230287 polimorfizm sonuçları ile uyumlu bulundu (Oneda ve ark. 2011; Oneda ve ark. 2010; Zhang ve ark. 2007). 1000 genom verilerine bakıldığında (1000Genome, 2018), farklı coğrafik ve farklı popülasyon arasında ki, bazı örneklerde, bu polimorfik allelin (T) frekansı; Barbadosda ki Afrikalılarda 0,0260, Amerikalı-Afrikalılarda 0,0246, İskoçya ve İngilterede ki İngilizlerde 0,2143, İspanyollarda 0,2430, Çinli Han halkında 0,0049, Bangladeş Bengalide 0,0523, İtalya Toskanada 0,2103 ve Çin Dai toplumunda ve diğer bazılarında 0,000 olduğu

gösterilmiştir . Bu çalışmada ki Türk toplumuna ait T allel frekansı 0,203, C allel frekansı 0,797 olarak tespit edildi. Avrupa toplumuna yakın frekanslarda dağılım saptandı.

Daha önceki çalışmalarda farklı hastalıklarda SSTR2 dışındaki farklı reseptörlere bağlanan ilaç etkileşimlerinde farklı β -arrestin bölgelerine ait polimorfizmler arasında bulunan ilişkiye rağmen bu çalışmada elde edilen verilere göre araştırılan β -arrestin 2 geni polimorfik bölgesi ile akromegali hastalarında medikal tedaviye yanıt ile bir ilişkisinin olmadığı saptandı. Zhang ve ark., β -arrestin 2 geni rs34230287 bölgesine ait polimorfik bölgenin gen ifadesi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. β -arrestin 2'nin promotor bölgesinde ki bu polimorfizmin, Sp1, CTF ve GCR gibi transkripsiyon faktörlerinin bağlanma bölgesinin yakınında olduğu saptamışlar ve bu bölgedeki C/T değişiminin transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını etkileyebileceği ve sonuç olarak gen transkripsiyonunu azaltabileceğini düşünmüşlerdir. Solunum yolu epitel hücre soyu A549 da reporter gen çalışması yaparak C allelinin T allelinden daha yüksek lusiferaz aktivitesine sahip olduğunu, böylece rs34230287 polimorfizminin β -arrestin 2 gen ekspresyonunu doğrudan etkileyebileceğini öne sürmüşlerdir (Zhang ve ark. 2007). Bu bulgulara göre β -arrestinin SSTR2'nin sinyal yolağında ki engelleyici rolü bilindiğinden bu çalışmada CT/TT polimorfik genotiplerine sahip hastalarda SSTR2 aktivitesinin daha güçlü olması ve tedaviye iyi yanıt vermesi beklenirdi ancak bizim çalışmamızda hem polimorfik genotipler hemde alleller arasında bir ilişki saptanamamıştır. Bunun nedeni bu sinyal yolağında β -arrestin ve SSTR2 kompleksine katılan diğer başka proteinlerin etkileşimlerinde bu sinyal yolağında etkili olabileceğini, ayrıca olası epigenetik faktörlerinde bu polimorfizmin etkilerinin ortaya çıkmasını engelleyebileceğini düşündürmüştür.

Buna karşılık β -arrestin 2 genine ait polimorfik allel ve genotipler ile tedavi yanıt gruplarının bazı klinik özellikleri ile aralarında ilişki bulundu. Tedaviye iyi yanıt verenlerde CT+TT genotipleri ve T allellerin makro/mikroadenom yüzdeleri açısından anlamlı bir ilişki bulunduğu tespit edildi. Ayrıca, CT+TT genotipleri ve T alleli ile postop 3. ay GH düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulundu. Tedaviye kötü yanıt veren hasta grubunda ise T allelini taşıyan hastalarda son GH düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Bu bulgular β -arrestin 2 rs34230287 polimorfik bölgesi ile akromegali hastalığının klinik bulguları arasında ilişkinin bulunduğunu gösteren ilk çalışmadır.

β -arrestine ait daha fazla sayıdaki polimorfik bölge ile, ayrıca hasta adenom dokularında β -arrestin gen ekspresyon düzeylerine bakılarak daha ileri bir çalışma yaparak β -arrestin'in SSA'ya yanıt ile ilişkili olup olmadığı hakkında bilgi edinmenin mümkün olabileceği düşünüldü.

β -arrestin 2 geninde çeşitli biyoinformatik yöntemlerle geninin ekspresyonunu veya proteinin fonksiyonunu etkileyebilecek daha fazla sayıda polimorfizm ile çalışılması, çalışma gruplarında ki sayının artırılması SSA'larla tedaviye iyi yanıt veren ve vermeyen akromegali hastalarından alınacak örneklerde gen ekspresyonu ve protein üzerindeki etkisine bakılarak daha ileri çalışmalar yapılmasının β -arrestin geni polimorfizmleri ile SSA ile medikal tedaviye yanıt arasında ki olası ilişkinin aydınlatılması için yararlı olacağı görüşüne varıldı.

Sonuç olarak, bu çalışma ile Türk toplumunda β -arrestin 2 ve FLNA gen polimorfizmleri ile akromegali hastalığı arasındaki ilişki, ayrıca medikal tedaviye iyi ve kötü yanıt arasındaki ilişki ilk kez araştırıldı. β -arrestin 2 ve FLNA'nın çalışılan gen polimorfizmleri ile akromegali hastalığı ve medikal tedaviye yanıt arasında anlamlı bir ilişki saptanmaz iken, Türk toplumunda hastalığın tedaviye yanıtta ki klinik özellikleri ile β -arrestin 2 rs34230287 polimorfizmi arasındaki ilişki ilk kez bu çalışma ile gösterildi.

Bir sonraki adımda, SSTR2 sinyalizasyonunda ve hücre içi trafiğinde yer alan genlerin ekspresyonunu ve fonksiyonunu etkileyebilecek olan polimorfizmlerin araştırılması medikal tedaviye yanıtta ki farklılıkların anlaşılması açısından önemli olacaktır.

KAYNAKLAR

- 1000Genome. (2018). 1000 Genome Browser. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/>
- Aizen, D., Pasmanik-Chor, M., Sarfstein, R., Laron, Z., Bruchim, I., and Werner, H. (2018). Genome-wide analyses identify filamin-a as a novel downstream target for insulin and IGF1 action. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9, 105.
- Ambrose-Lanci, L. M., Vaswani, M., Clarke, T. K., Zeng, A., Lohoff, F. W., Ferraro, T. N., and Berrettini, W. H. (2012). Association study of the beta-arrestin 2 gene (ARRB2) with opioid and cocaine dependence in a European-American population. *Psychiatr Genet*, 22(3), 141-145.
- Attramadal, H., Arriza, J. L., Aoki, C., Dawson, T. M., Codina, J., Kwatra, M. M., Lefkowitz, R. J. (1992). Beta-arrestin2, a novel member of the arrestin/beta-arrestin gene family. *J Biol Chem*, 267(25), 17882-17890.
- Ballare, E., Persani, L., Lania, A. G., Filopanti, M., Giammona, E., Corbetta, S., Spada, A. (2001). Mutation of somatostatin receptor type 5 in an acromegalic patient resistant to somatostatin analog treatment. *J Clin Endocrinol Metab*, 86(8), 3809-3814.
- Ben-Shlomo, A., and Melmed, S. (2008). Acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 37(1), 101-122.
- Ben-Shlomo, A., and Melmed, S. (2010). Pituitary somatostatin receptor signaling. *Trends Endocrinol Metab*, 21(3), 123-133.
- Benovic, J. L., Kuhn, H., Weyand, I., Codina, J., Caron, M. G., and Lefkowitz, R. J. (1987). Functional desensitization of the isolated beta-adrenergic receptor by the beta-adrenergic receptor kinase: potential role of an analog of the retinal protein arrestin (48-kDa protein). *Proc Natl Acad Sci U S A*, 84(24), 8879-8882.
- Benovic, J. L., Strasser, R. H., Caron, M. G., and Lefkowitz, R. J. (1986). Beta-adrenergic receptor kinase: identification of a novel protein kinase that phosphorylates the agonist-occupied form of the receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 83(9), 2797-2801.
- Bousman, C. A., Glatt, S. J., Cherner, M., Atkinson, J. H., Grant, I., Tsuang, M. T., Group, H. (2010). Preliminary evidence of ethnic divergence in associations of putative genetic variants for methamphetamine dependence. *Psychiatry Res*, 178(2), 295-298.
- Bouvier, M., Hausdorff, W. P., De Blasi, A., O'Dowd, B. F., Kobilka, B. K., Caron, M. G., and Lefkowitz, R. J. (1988). Removal of phosphorylation sites from the beta 2-adrenergic receptor delays onset of agonist-promoted desensitization. *Nature*, 333(6171), 370-373.
- Bronstein, M. D. (2006). Acromegaly: molecular expression of somatostatin receptor subtypes and treatment outcome. *Front Horm Res*, 35, 129-134.
- Buscail, L., Esteve, J. P., Saint-Laurent, N., Bertrand, V., Reisine, T., O'Carroll, A. M., Susini, C. (1995). Inhibition of cell proliferation by the somatostatin analogue RC-160 is mediated by somatostatin receptor subtypes SSTR2 and SSTR5 through different mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92(5), 1580-1584.
- Calebiro, D., Nikolaev, V. O., Persani, L., and Lohse, M. J. (2010). Signaling by internalized G-protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol Sci*, 31(5), 221-228.
- Cambiaghi, V., Vitali, E., Morone, D., Peverelli, E., Spada, A., Mantovani, G., and Lania, A. G. (2017). Identification of human somatostatin receptor 2 domains involved

- in internalization and signaling in QGP-1 pancreatic neuroendocrine tumor cell line. *Endocrine*, 56(1), 146-157.
- Capatina, C., and Wass, J. A. (2015). 60 years of neuroendocrinology: Acromegaly. *J Endocrinol*, 226(2), T141-160.
- Casarini, A. P., Jallad, R. S., Pinto, E. M., Soares, I. C., Nonogaki, S., Giannella-Neto, D., Bronstein, M. D. (2009). Acromegaly: correlation between expression of somatostatin receptor subtypes and response to octreotide-lar treatment. *Pituitary*, 12(4), 297-303.
- Cho, E. Y., Cho, D. I., Park, J. H., Kurose, H., Caron, M. G., and Kim, K. M. (2007). Roles of protein kinase C and actin-binding protein 280 in the regulation of intracellular trafficking of dopamine D3 receptor. *Mol Endocrinol*, 21(9), 2242-2254.
- Coelho, M. C. A., Vasquez, M. L., Wildemberg, L. E., Vazquez-Borrego, M. C., Bitana, L., Camacho, A., Gadelha, M. R. (2018). Molecular evidence and clinical importance of beta-arrestins expression in patients with acromegaly. *J Cell Mol Med*, 22(4), 2110-2116.
- Colao, A., Auriemma, R. S., Lombardi, G., and Pivonello, R. (2011). Resistance to somatostatin analogs in acromegaly. *Endocr Rev*, 32(2), 247-271.
- Colao, A., Auriemma, R. S., and Pivonello, R. (2016). The effects of somatostatin analogue therapy on pituitary tumor volume in patients with acromegaly. *Pituitary*, 19(2), 210-221.
- Craft, C. M., Whitmore, D. H., and Wiechmann, A. F. (1994). Cone arrestin identified by targeting expression of a functional family. *J Biol Chem*, 269(6), 4613-4619.
- Cuevas-Ramos, D., Carmichael, J. D., Cooper, O., Bonert, V. S., Gertych, A., Mamelak, A. N., and Melmed, S. (2015). A structural and functional acromegaly classification. *J Clin Endocrinol Metab*, 100(1), 122-131.
- Cuevas-Ramos, D., and Fleseriu, M. (2014). Somatostatin receptor ligands and resistance to treatment in pituitary adenomas. *J Mol Endocrinol*, 52(3), R223-240.
- Dagistanli, F. K., Ozkaya, H. M., Kucukyoruk, B., Biceroglu, H., Metin, D., Gazioglu, N., Ozturk, M. (2018). Preoperative Somatostatin Analogue Treatment Might Trigger Apoptosis and Autophagy in Tumor Tissues of Patients with Acromegaly: A Pilot Study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 126(3), 168-175.
- DeGraff, J. L., Gurevich, V. V., and Benovic, J. L. (2002). The third intracellular loop of alpha 2-adrenergic receptors determines subtype specificity of arrestin interaction. *J Biol Chem*, 277(45), 43247-43252.
- DeWire, S. M., Ahn, S., Lefkowitz, R. J., and Shenoy, S. K. (2007). Beta-arrestins and cell signaling. *Annu Rev Physiol*, 69, 483-510.
- Dineen, R., Stewart, P. M., and Sherlock, M. (2017). Acromegaly. *QJM*, 110(7), 411-420.
- Eşrefoğlu, M. (2016). *Özel Histoloji* (Vol. 2. Baskı). İstanbul: İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık Hiz. Tic. Ltd. Şti.
- Fang, J., Wang, X., and He, B. (2014). Association between common genetic variants in the opioid pathway and smoking behaviors in Chinese men. *Behav Brain Funct*, 10, 2.
- Ferguson, S. S., Downey, W. E., 3rd, Colapietro, A. M., Barak, L. S., Menard, L., and Caron, M. G. (1996). Role of beta-arrestin in mediating agonist-promoted G protein-coupled receptor internalization. *Science*, 271(5247), 363-366.

- Ferrante, E., Pellegrini, C., Bondioni, S., Peverelli, E., Locatelli, M., Gelmini, P., Lania, A. (2006). Octreotide promotes apoptosis in human somatotroph tumor cells by activating somatostatin receptor type 2. *Endocr Relat Cancer*, 13(3), 955-962.
- Fougner, S. L., Bollerslev, J., Latif, F., Hald, J. K., Lund, T., Ramm-Petersen, J., and Berg, J. P. (2008). Low levels of raf kinase inhibitory protein in growth hormone-secreting pituitary adenomas correlate with poor response to octreotide treatment. *J Clin Endocrinol Metab*, 93(4), 1211-1216.
- Gadelha, M. R., Kasuki, L., and Korbonits, M. (2013). Novel pathway for somatostatin analogs in patients with acromegaly. *Trends Endocrinol Metab*, 24(5), 238-246.
- Gadelha, M. R., Wildemberg, L. E., Bronstein, M. D., Gatto, F., and Ferone, D. (2017). Somatostatin receptor ligands in the treatment of acromegaly. *Pituitary*, 20(1), 100-108.
- Gao, H., Sun, Y., Wu, Y., Luan, B., Wang, Y., Qu, B., and Pei, G. (2004). Identification of beta-arrestin2 as a G protein-coupled receptor-stimulated regulator of NF-kappaB pathways. *Mol Cell*, 14(3), 303-317.
- Gatto, F., Biermasz, N. R., Feelders, R. A., Kros, J. M., Dogan, F., van der Lely, A. J., Hofland, L. J. (2016). Low beta-arrestin expression correlates with the responsiveness to long-term somatostatin analog treatment in acromegaly. *Eur J Endocrinol*, 174(5), 651-662.
- Gatto, F., Feelders, R., van der Pas, R., Kros, J. M., Dogan, F., van Koetsveld, P. M., Hofland, L. J. (2013). beta-Arrestin 1 and 2 and G protein-coupled receptor kinase 2 expression in pituitary adenomas: role in the regulation of response to somatostatin analogue treatment in patients with acromegaly. *Endocrinology*, 154(12), 4715-4725.
- GENEATLAS. (2018). <http://genatlas.medecine.univ-paris5.fr/fiche.php?n=1295>
- Gueorguiev, M., and Grossman, A. B. (2011). Pituitary tumors in 2010: a new therapeutic era for pituitary tumors. *Nat Rev Endocrinol*, 7(2), 71-73.
- Haliloglu, O., Kuruoglu, E., Ozkaya, H. M., Keskin, F. E., Gunaldi, O., Oz, B., Tanriover, N. (2016). Multidisciplinary Approach for Acromegaly: A Single Tertiary Center's Experience. *World Neurosurg*, 88, 270-276.
- Hall, J. E., and Guyton, A. C. (2016). *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. Philadelphia: Elsevier.
- Huang, C., Wu, Z., Hujer, K. M., and Miller, R. T. (2006). Silencing of filamin A gene expression inhibits Ca²⁺-sensing receptor signaling. *FEBS Lett*, 580(7), 1795-1800.
- Ikeda, M., Ozaki, N., Suzuki, T., Kitajima, T., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Iwata, N. (2007). Possible association of beta-arrestin 2 gene with methamphetamine use disorder, but not schizophrenia. *Genes Brain Behav*, 6(1), 107-112.
- Kang, D. S., Tian, X., and Benovic, J. L. (2013). Beta-Arrestins and G protein-coupled receptor trafficking. *Methods Enzymol*, 521, 91-108.
- Kang, D. S., Tian, X., and Benovic, J. L. (2014). Role of beta-arrestins and arrestin domain-containing proteins in G protein-coupled receptor trafficking. *Curr Opin Cell Biol*, 27, 63-71.
- Kang, J., Shi, Y., Xiang, B., Qu, B., Su, W., Zhu, M., Ma, L. (2005). A nuclear function of beta-arrestin1 in GPCR signaling: regulation of histone acetylation and gene transcription. *Cell*, 123(5), 833-847.
- Kasuki, L., Colli, L. M., Elias, P. C., Castro, M., and Gadelha, M. R. (2012). Resistance to octreotide LAR in acromegalic patients with high SSTR2 expression: analysis of AIP expression. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 56(8), 501-506.

- Kierszenbaum, A. L., and Tres, L. L. (2016). *Histology and cell biology : an introduction to pathology*. Philadelphia: Elsevier.
- Kohout, T. A., and Lefkowitz, R. J. (2003). Regulation of G protein-coupled receptor kinases and arrestins during receptor desensitization. *Mol Pharmacol*, 63(1), 9-18.
- Lake, M. G., Krook, L. S., and Cruz, S. V. (2013). Pituitary adenomas: an overview. *Am Fam Physician*, 88(5), 319-327.
- Ledbetter, D. J., and Johnson, P. R. V. (2018). *Endocrine Surgery in Children*.
- Lefkowitz, R. J., and Whalen, E. J. (2004). beta-arrestins: traffic cops of cell signaling. *Curr Opin Cell Biol*, 16(2), 162-168.
- Lin, F. T., Krueger, K. M., Kendall, H. E., Daaka, Y., Fredericks, Z. L., Pitcher, J. A., and Lefkowitz, R. J. (1997). Clathrin-mediated endocytosis of the beta-adrenergic receptor is regulated by phosphorylation/dephosphorylation of beta-arrestin1. *J Biol Chem*, 272(49), 31051-31057.
- Lin, R., Canfield, V., and Levenson, R. (2002). Dominant negative mutants of filamin A block cell surface expression of the D2 dopamine receptor. *Pharmacology*, 66(4), 173-181.
- Lin, R., Karpa, K., Kabbani, N., Goldman-Rakic, P., and Levenson, R. (2001). Dopamine D2 and D3 receptors are linked to the actin cytoskeleton via interaction with filamin A. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(9), 5258-5263.
- Liou, Y. J., Wang, Y. C., Chen, J. Y., Chen, M. L., Chen, T. T., Bai, Y. M., Lai, I. C. (2008). The coding-synonymous polymorphism rs1045280 (Ser280Ser) in beta-arrestin 2 (ARRB2) gene is associated with tardive dyskinesia in Chinese patients with schizophrenia. *Eur J Neurol*, 15(12), 1406-1408.
- Liu, Q., Dewi, D. A., Liu, W., Bee, M. S., and Schonbrunn, A. (2008). Distinct phosphorylation sites in the SST2A somatostatin receptor control internalization, desensitization, and arrestin binding. *Mol Pharmacol*, 73(2), 292-304.
- Luttrell, L. M., Ferguson, S. S., Daaka, Y., Miller, W. E., Maudsley, S., Della Rocca, G. J., Lefkowitz, R. J. (1999). Beta-arrestin-dependent formation of beta2 adrenergic receptor-Src protein kinase complexes. *Science*, 283(5402), 655-661.
- Luttrell, L. M., and Gesty-Palmer, D. (2010). Beyond desensitization: physiological relevance of arrestin-dependent signaling. *Pharmacol Rev*, 62(2), 305-330.
- Luttrell, L. M., and Lefkowitz, R. J. (2002). The role of beta-arrestins in the termination and transduction of G-protein-coupled receptor signals. *J Cell Sci*, 115(Pt 3), 455-465.
- Ma, L., and Pei, G. (2007). Beta-arrestin signaling and regulation of transcription. *J Cell Sci*, 120(Pt 2), 213-218.
- Marchese, A., Raiborg, C., Santini, F., Keen, J. H., Stenmark, H., and Benovic, J. L. (2003). The E3 ubiquitin ligase AIP4 mediates ubiquitination and sorting of the G protein-coupled receptor CXCR4. *Dev Cell*, 5(5), 709-722.
- Marion, S., Oakley, R. H., Kim, K. M., Caron, M. G., and Barak, L. S. (2006). A beta-arrestin binding determinant common to the second intracellular loops of rhodopsin family G protein-coupled receptors. *J Biol Chem*, 281(5), 2932-2938.
- Melmed, S. (2006). Medical progress: Acromegaly. *N Engl J Med*, 355(24), 2558-2573.
- Melmed, S. (2009). Acromegaly pathogenesis and treatment. *J Clin Invest*, 119(11), 3189-3202.
- Melmed, S. (2011). Pathogenesis of pituitary tumors. *Nat Rev Endocrinol*, 7(5), 257-266.
- Melmed, S. (2015). Pituitary tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 44(1), 1-9.
- Melmed, S. (2017). *The pituitary*. London:Elsevier.

- Minsaas, L., Planaguma, J., Madziva, M., Krakstad, B. F., Masia-Balague, M., Katz, A. A., and Aragay, A. M. (2010). Filamin A binds to CCR2B and regulates its internalization. *PLoS One*, 5(8), e12212.
- Molitch, M. E. (2017). Diagnosis and Treatment of Pituitary Adenomas: A Review. *JAMA*, 317(5), 516-524.
- Muriel, O., Echarri, A., Hellriegel, C., Pavon, D. M., Beccari, L., and Del Pozo, M. A. (2011). Phosphorylated filamin A regulates actin-linked caveolae dynamics. *J Cell Sci*, 124(Pt 16), 2763-2776.
- Najib, S., Saint-Laurent, N., Esteve, J. P., Schulz, S., Boutet-Robinet, E., Fourmy, D., Bousquet, C. (2012). A switch of G protein-coupled receptor binding preference from phosphoinositide 3-kinase (PI3K)-p85 to filamin A negatively controls the PI3K pathway. *Mol Cell Biol*, 32(5), 1004-1016.
- Noma, T., Lemaire, A., Naga Prasad, S. V., Barki-Harrington, L., Tilley, D. G., Chen, J., Rockman, H. A. (2007). Beta-arrestin-mediated beta1-adrenergic receptor transactivation of the EGFR confers cardioprotection. *J Clin Invest*, 117(9), 2445-2458.
- Oakley, R. H., Laporte, S. A., Holt, J. A., Barak, L. S., and Caron, M. G. (2001). Molecular determinants underlying the formation of stable intracellular G protein-coupled receptor-beta-arrestin complexes after receptor endocytosis*. *J Biol Chem*, 276(22), 19452-19460.
- Oakley, R. H., Laporte, S. A., Holt, J. A., Caron, M. G., and Barak, L. S. (2000). Differential affinities of visual arrestin, beta arrestin1, and beta arrestin2 for G protein-coupled receptors delineate two major classes of receptors. *J Biol Chem*, 275(22), 17201-17210.
- OMIM. (2015). <https://www.omim.org/entry/300017#geneStructure>.
- Oneda, B., Crettol, S., Bochud, M., Besson, J., Croquette-Krokar, M., Hammig, R., Eap, C. B. (2011). Beta-Arrestin2 influences the response to methadone in opioid-dependent patients. *Pharmacogenomics J*, 11(4), 258-266.
- Oneda, B., Preisig, M., Dobrinas, M., and Eap, C. B. (2010). Lack of association between genetic polymorphisms of ARRB2 and alcohol dependence in a Caucasian population. *Alcohol Alcohol*, 45(6), 590-591.
- Onoprishvili, I., Andria, M. L., Kramer, H. K., Ancevska-Taneva, N., Hiller, J. M., and Simon, E. J. (2003). Interaction between the mu opioid receptor and filamin A is involved in receptor regulation and trafficking. *Mol Pharmacol*, 64(5), 1092-1100.
- Ozawa, K., Whalen, E. J., Nelson, C. D., Mu, Y., Hess, D. T., Lefkowitz, R. J., and Stamler, J. S. (2008). S-nitrosylation of beta-arrestin regulates beta-adrenergic receptor trafficking. *Mol Cell*, 31(3), 395-405.
- Ozkaya, H. M., Comunoglu, N., Sayitoglu, M., Keskin, F. E., Firtina, S., Khodzhaev, K., Kadioglu, P. (2018). Germline mutations of aryl hydrocarbon receptor-interacting protein (AIP) gene and somatostatin receptor 1-5 and AIP immunostaining in patients with sporadic acromegaly with poor versus good response to somatostatin analogues. *Pituitary*, 21(4), 335-346.
- Patwari, P., and Lee, R. T. (2012). An expanded family of arrestins regulate metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, 23(5), 216-222.
- Peverelli, E., Giardino, E., Treppiedi, D., Vitali, E., Cambiaghi, V., Locatelli, M., Mantovani, G. (2014). Filamin A (FLNA) plays an essential role in somatostatin receptor 2 (SST2) signaling and stabilization after agonist stimulation in human and rat somatotroph tumor cells. *Endocrinology*, 155(8), 2932-2941.

- Peeverelli, E., Giardino, E., Vitali, E., Treppiedi, D., Lania, A. G., and Mantovani, G. (2014). Filamin A in somatostatin and dopamine receptor regulation in pituitary and the role of cAMP/PKA dependent phosphorylation. *Horm Metab Res*, 46(12), 845-853.
- Peeverelli, E., Mantovani, G., Calebiro, D., Doni, A., Bondioni, S., Lania, A., Spada, A. (2008). The third intracellular loop of the human somatostatin receptor 5 is crucial for arrestin binding and receptor internalization after somatostatin stimulation. *Mol Endocrinol*, 22(3), 676-688.
- Peeverelli, E., Mantovani, G., Vitali, E., Elli, F. M., Olgiati, L., Ferrero, S., Lania, A. G. (2012). Filamin-A is essential for dopamine d2 receptor expression and signaling in tumorous lactotrophs. *J Clin Endocrinol Metab*, 97(3), 967-977.
- Peeverelli, E., Treppiedi, D., Giardino, E., Vitali, E., Lania, A. G., and Mantovani, G. (2015). Dopamine and Somatostatin Analogues Resistance of Pituitary Tumors: Focus on Cytoskeleton Involvement. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 6, 187.
- Plockinger, U. (2012). Medical therapy of acromegaly. *Int J Endocrinol*, 2012, 268957.
- Rajagopal, S., Rajagopal, K., and Lefkowitz, R. J. (2010). Teaching old receptors new tricks: biasing seven-transmembrane receptors. *Nat Rev Drug Discov*, 9(5), 373-386.
- Rajagopal, S., and Shenoy, S. K. (2018). GPCR desensitization: Acute and prolonged phases. *Cell Signal*, 41, 9-16.
- Ross, J. R., Rutter, D., Welsh, K., Joel, S. P., Goller, K., Wells, A. U., Riley, J. (2005). Clinical response to morphine in cancer patients and genetic variation in candidate genes. *Pharmacogenomics J*, 5(5), 324-336.
- rVarBase: (2015). rVarBase: an updated database for regulatory features of human variants.
- Salvatori, R. (2004). Growth hormone and IGF-1. *Rev Endocr Metab Disord*, 5(1), 15-23.
- Seck, T., Baron, R., and Horne, W. C. (2003). Binding of filamin to the C-terminal tail of the calcitonin receptor controls recycling. *J Biol Chem*, 278(12), 10408-10416.
- Shenoy, S. K., and Lefkowitz, R. J. (2003). Trafficking patterns of beta-arrestin and G protein-coupled receptors determined by the kinetics of beta-arrestin deubiquitination. *J Biol Chem*, 278(16), 14498-14506.
- Shenoy, S. K., McDonald, P. H., Kohout, T. A., and Lefkowitz, R. J. (2001). Regulation of receptor fate by ubiquitination of activated beta 2-adrenergic receptor and beta-arrestin. *Science*, 294(5545), 1307-1313.
- Shenoy, S. K., Modi, A. S., Shukla, A. K., Xiao, K., Berthouze, M., Ahn, S., Lefkowitz, R. J. (2009). Beta-arrestin-dependent signaling and trafficking of 7-transmembrane receptors is reciprocally regulated by the deubiquitinase USP33 and the E3 ligase Mdm2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(16), 6650-6655.
- Smith, J. S., and Rajagopal, S. (2016). The beta-Arrestins: Multifunctional Regulators of G Protein-coupled Receptors. *J Biol Chem*, 291(17), 8969-8977.
- Sorkin, A., and von Zastrow, M. (2009). Endocytosis and signalling: intertwining molecular networks. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 10(9), 609-622.
- Stossel, T. P., Condeelis, J., Cooley, L., Hartwig, J. H., Noegel, A., Schleicher, M., and Shapiro, S. S. (2001). Filamins as integrators of cell mechanics and signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2(2), 138-145.
- Sun, D., Ma, J. Z., Payne, T. J., and Li, M. D. (2008). Beta-arrestins 1 and 2 are associated with nicotine dependence in European American smokers. *Mol Psychiatry*, 13(4), 398-406.

- Thelin, W. R., Chen, Y., Gentzsch, M., Kreda, S. M., Sallee, J. L., Scarlett, C. O., Milgram, S. L. (2007). Direct interaction with filamins modulates the stability and plasma membrane expression of CFTR. *J Clin Invest*, 117(2), 364-374.
- Theodoropoulou, M., and Stalla, G. K. (2013). Somatostatin receptors: from signaling to clinical practice. *Front Neuroendocrinol*, 34(3), 228-252.
- Tirupula, K. C., Ithychanda, S. S., Mohan, M. L., Naga Prasad, S. V., Qin, J., and Karnik, S. S. (2015). G protein-coupled receptors directly bind filamin A with high affinity and promote filamin phosphorylation. *Biochemistry*, 54(44), 6673-6683.
- Treppiedi, D., Peverelli, E., Giardino, E., Ferrante, E., Calebiro, D., Spada, A., and Mantovani, G. (2017). Somatostatin Receptor Type 2 (SSTR2) Internalization and Intracellular Trafficking in Pituitary GH-Secreting Adenomas: Role of Scaffold Proteins and Implications for Pharmacological Resistance. *Horm Metab Res*, 49(4), 259-268.
- Tulipano, G., and Schulz, S. (2007). Novel insights in somatostatin receptor physiology. *Eur J Endocrinol*, 156 Suppl 1, S3-11.
- Tulipano, G., Stumm, R., Pfeiffer, M., Kreienkamp, H. J., Holtt, V., and Schulz, S. (2004). Differential beta-arrestin trafficking and endosomal sorting of somatostatin receptor subtypes. *J Biol Chem*, 279(20), 21374-21382.
- Vandeva, S., Jaffrain-Rea, M. L., Daly, A. F., Tichomirowa, M., Zacharieva, S., and Beckers, A. (2010). The genetics of pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 24(3), 461-476.
- Vilar, L., Vilar, C. F., Lyra, R., Lyra, R., and Naves, L. A. (2017). Acromegaly: clinical features at diagnosis. *Pituitary*, 20(1), 22-32.
- Vines, C. M., Revankar, C. M., Maestas, D. C., LaRusch, L. L., Cimino, D. F., Kohout, T. A., Prossnitz, E. R. (2003). N-formyl peptide receptors internalize but do not recycle in the absence of arrestins. *J Biol Chem*, 278(43), 41581-41584.
- Wyatt, D., Malik, R., Vesecky, A. C., and Marchese, A. (2011). Small ubiquitin-like modifier modification of arrestin-3 regulates receptor trafficking. *J Biol Chem*, 286(5), 3884-3893.
- Vitali, E., Cambiaghi, V., Zerbi, A., Carnaghi, C., Colombo, P., Peverelli, E., Lania, A. G. (2016). Filamin-A is required to mediate SST2 effects in pancreatic neuroendocrine tumours. *Endocr Relat Cancer*, 23(3), 181-190.
- Zhang, X., He, J. Q., Ding, L., Pare, P. D., and Sandford, A. J. (2007). Promoter polymorphism and expression of beta-arrestin 2 in neutrophils. *Clin Chim Acta*, 385(1-2), 79-80.

FORMLAR

ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji-Metabolizma ve Diyabet Bilim Dalı'nın Endokrinoloji ve Tıbbi biyoloji Ana Bilim Dalı'nda yürütülecek olan "Akromegali Hastalığı ile Filamin-A ve Beta-arrestin Gen Polimorfizmleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması " başlıklı çalışmayı başlatmış bulunmaktayız. Bu çalışma retrospektif olarak toplanan verilerin prospektif olarak inceleneceği bir araştırmadır.

1. Mevcut araştırmada Akromegali nedeniyle takip ve tedavi edilen hastaların medikal tedavilerinin gen düzeyleri üzerine etkisini araştırmayı hedefledik.
2. Araştırma amacıyla size ek bir ilaç uygulanmayacaktır.
3. Akromegali tanısıyla takip ve tedavi edilen hastalardan poliklinik kontrolleri sırasında poliklinik hemşiremiz tarafından 1 tüp edtalı tüpe 1 tüp de biyokimya tüpüne, toplam iki adet tüpe kan alınacaktır.
4. Yine araştırma amacıyla geriye dönük dosyanızdan takip ve tedaviniz için yapılmış olan laboratuvar verileriniz ile yaşıınız, ek hastalıklarınız, takiplerinizi gibi ek bilgileriniz elde edilecek ancak veriler kimliğinizi açık edebilecek bir şekilde kullanılmayacaktır.
5. Araştırmanın giderleri için gönüllünün kendisinden ücret talep edilmeyecek, gönüllünün bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kuruluşuna bir araştırma gideri yüklenmeyecektir.
6. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.
7. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgileriniz gizli tutulacaktır.
8. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz zaman size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır.
9. Çalışma için gerekli koşulları taşıdığınız takdirde çalışmaya dahil edilmek için yazılı onayınız alınacaktır. Gönüllü yazılı onay vermiş olsa da araştırmanın herhangi bir döneminde araştırmadan vazgeçmekte özgürdür.

10. İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Kurum ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan erişimlerinin bulunabilir, ancak bu bilgilerin gizli tutulacaktır. Yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunun imzalanmasıyla gönüllü veya yasal temsilcisinin söz konusu erişime izin vermiş olacaktır.
11. İlgili mevzuat gereğince gönüllünün kimliğini ortaya çıkaracak kayıtlar gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanamayacak; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi gönüllünün kimliği gizli kalacaktır.
12. Araştırma konusuyla ilgili ve gönüllünün araştırmaya katılmaya devam etme isteğini etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde gönüllünün veya yasal temsilcisi zamanında bilgilendirilecektir.
13. Gönüllünün araştırma hakkında, kendi hakları hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir advers olay/sorun hakkında daha fazla bilgi temin edebilmesi için Ayşe Seda Akdemir'e İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalından ulaşabilirsiniz.
14. Gönüllünün araştırmaya devam etmesi için öngörülen süre 1 yıldır.
15. Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı 300'dür.
16. Gönüllülerden elde edilmiş olan dosyalardaki biyokimyasal dataları tedaviye yanıt için ileride kullanılabilecek veri oluşturulacaktır.
17. Genetik incelemeleri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD, da yapılacaktır.
18. *"Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum."*

Gönüllünün:

adı -soyadı

imzası

tarih:

19. Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin araştırmacının:
adı -soyadı
imzası
tarih

20. Olur işlemine tanık olan kişinin:
adı -soyadı
imzası
tarih

21. Gerekliyorsa yasal temsilcinin:

adı -soyadı
imzası
tarih

Not: Bu form iki nüsha olarak hazırlanmıştır. İmzalandıktan sonra bir nüshası gönüllüye verilecektir; diğer nüsha hasta dosyasında saklanacaktır.

ETİK KURUL KARARI

Tarih ve Sayı: 05/04/2017-132268



T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :Yüks.Lis.Öğr.Ayşe Akdemir'in
etik kurul kararı A-17

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :16.03.2017 tarih, 66018902-050.99-105270 sayılı yazı

Anabilim Dalınız öğretim üyesi **Prof.Dr.Melek ÖZTÜRK SEZGİN**'in danışmanlığında **Yüksek Lisans Öğrencisi Ayşe Seda AKDEMİR**'in yürütücülüğünde **Prof.Dr.Pınar KADIOĞLU**, **Prof.Dr.Nurperi GAZİOĞLU**, **Prof.Dr.Necmettin TANRIÖVER** ve **Msc.Derya Metin ARMAĞAN**'ın yardımcılıklarında "**Akromegali Hastalığı İle Filamin-A ve Beta-Arrestin Gen Polimorfizmleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması**" başlıklı Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri **04 Nisan 2017** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Emine Gülderen ŞAHİN
Bölüm Başkanı

EK :
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak için:<http://194.27.128.66/envision.Sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE6PN5SZE>

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Güler SOYDANER Dahili : 22300

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL

Tel : 0 (212) 414 30 00 21107- 21108 Fax : 0 (212) 632 00 33

e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbul.edu.tr

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

AKROMEGALİ HASTALIĞI İLE FİLAMİN-A VE BETA-ARRESTİN GEN POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJİNALLIK RAPORU

%**6**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**1**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**1**

YAYINLAR

%**5**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

%**5**

2

**"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish
Journal of Biochemistry, 2015**

Yayın

<%**1**

3

www.bezmialemscience.org

İnternet Kaynağı

<%**1**

4

tbgder.org

İnternet Kaynağı

<%**1**

5

mscanner.stanford.edu

İnternet Kaynağı

<%**1**

6

lib.baskent.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

7

**KÖSE, Taha Emre, KARABAŞ, Hülya Çakır,
HATİPOĞLU, Esra, ERDEM, Tamer Lütfi and
ÖZCAN, İlknur. "Akromegali: Olgu bildirimi",**

<%**1**

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ayşe Seda	Soyadı	Akdemir
Doğ.Yeri	Fatih	Doğ.Tar.	25.05.1992
Uyruğu	T.C	TC Kim No	37658050026
Email	asedakdemir@gmail.com	Tel	05382341351

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Abant İzzet Baysal Üniversitesi	2015
Lise	Bağcılar Lisesi	2010

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	İyi	iyi	YÖKDİL	90

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	66,41289	64,53917	66,68379
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office Programları	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

1. Melek Öztürk, Fatma Kaya Dağıstanlı, Gamze Argün Kürüm, Ayşe Seda Akdemir, Merve Anapalı, Gamze Tanrıverdi. The effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibitor treatment on liver regeneration in STZ-diabetic rats. 13th Multinational Congress on Microscopy Rovinj, Croatia September 24-29, 2017.
2. Melek Öztürk, Fatma Kaya Dağıstanlı, Gamze Argün Kürüm, Ayşe Seda Akdemir, Merve Anapalı, Gamze Tanrıverdi. Yenidoğan STZ-diyabetik sıçan karaciğerinde TGF- β ekspresyonu ve rejenerasyonu üzerine Vildagliptin'in etkileri. 15. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Fethiye, Ölüdeniz 26-29 Ekim, 2017.
3. Melek Öztürk, Fatma Kaya Dağıstanlı, Gamze Argün Kürüm, Ayşe Seda Akdemir, Merve Anapalı, Gamze Tanrıverdi. İntrauterin ve anne sütüyle beslenme dönemlerinde düşük doz civa maruziyetinin testis dokusu üzerine etkileri. 15. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Fethiye, Ölüdeniz 26-29 Ekim, 2017.
4. Melek Öztürk, Fatma Kaya Dağıstanlı, Gamze Argün Kürüm, Ayşe Seda Akdemir, Merve Anapalı, Gamze Tanrıverdi. İntrauterin ve anne sütüyle beslenme dönemlerinde düşük doz civa maruziyetinin follikülogenez üzerine etkileri. 15. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Fethiye, Ölüdeniz 26-29 Ekim, 2017.
5. Melek Öztürk, Fatma Kaya Dağıstanlı, Gamze Argün Kürüm, Ayşe Seda Akdemir, Merve Anapalı, Gamze Tanrıverdi. Vildagliptin, yenidoğan STZ-diyabetik sıçan karaciğerinde dejenerasyonu engeller ve oval hücre aracılı rejenerasyonu uyarır. 14. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Antalya, 10-13 Mayıs 2018.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):



