



T.C
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI BİLİM DALI

PROLAKTİNOMALI HASTALARDA SİKLİN D1 GEN (CCND1)
POLİMORFİZMİNİN TÜMÖR DAVRANIŞI ÜZERİNE ETKİSİ VE TÜMÖR
İNVAZİFLİĞİNİ ETKİLEYEN KLİNİK VE PATOLOJİK ÖZELLİKLER

Uzm. Dr. Soner CANDER

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Bursa-2011



T.C
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI BİLİM DALI

PROLAKTİNOMALI HASTALARDA SİKLİN D1 GEN (CCND1)
POLİMORFİZMİNİN TÜMÖR DAVRANIŞI ÜZERİNE ETKİSİ VE TÜMÖR
İNVAZİFLİĞİNİ ETKİLEYEN KLİNİK VE PATOLOJİK ÖZELLİKLER

Uzm. Dr. Soner CANDER

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Erdinç ERTÜRK

Bursa-2011

İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet.....	ii
İngilizce Özet (Summary).....	iv
Giris.....	1
Tümör Oluşumunda ve Davranışında Genetik Özellikler.....	3
Hücre Bölünme Döngüsü ve Tümör Oluşumu.....	4
Siklin D1 Geni ve Tümör Oluşumu.....	10
Hipofiz Adenomlarında Moleküler Genetik Özellikler.....	11
Prolaktinomalarda Tümör Davranışı ve Genetik Faktörler.....	13
Gereç ve Yöntem.....	17
Gereç.....	17
Kullanılan Gereç ve Cihazlar.....	19
Kullanılan Cihazlar ve Teknik Malzemeler.....	20
Moleküler Analiz.....	21
İstatistiksel Analiz.....	25
Bulgular.....	26
Tartışma ve Sonuç.....	36
Kaynaklar.....	48
Ekler.....	52
Ek-1: Hastalara ait hipofiz MR görüntülerinden örnekler.....	52
Teşekkür.....	55
Özgeçmiş.....	56

ÖZET

Prolaktinomalar çoğunlukla benign seyirli olmakla beraber tümör boyutu, invazifliği ve tedaviye yanıt açısından farklılıklar gösterebilmektedir. Bu çalışmada prolaktinomalı olgularda siklin D1 gen polimorfizminin tümör davranış özellikleri üzerine etkisinin incelenmesi ve laktotrof adenomun radyolojik ve patolojik özelliklerinin medikal ve cerrahi tedaviye yanıtı üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya prolaktinoma tanısı ile takip edilen 113 hasta dahil edildi. Tüm hastalardan periferik kan örnekleme ile siklin D1 genindeki A870G polimorfizmi belirlenerek genotipleme yapıldı. Radyolojik bulgularına göre invazif/noninvazif, mikro/makro/dev adenom gruplarına ve opere olan hastalar histopatolojik incelemede Ki67 indeksi oranına göre sınıflandırıldı. Gruplar arasında siklin D1 gen polimorfizmi karşılaştırıldı. Ayrıca hastaların tanı yaşı, cinsiyeti, tümör boyutu ve serum prolaktin seviyesinin tümör agresivitesi ile ilişkisi araştırıldı.

Çalışmaya alınan 113 hastanın erkek/kadın oranı 27/86 ve tanı yaşı ortalamaları 34.4 yıl (Erkeklerde 40.3, kadınlarda 32.6) idi. 68 hasta (%60.2) noninvazif, 45 hasta (%39.8) invazif grupta yer aldı. 15 (%13.3) hastada GG, 58 (%51.3) hastada GA ve 40 (%35.4) hastada AA genotipi tespit edildi. Noninvazif ve invazif grupta A allel sıklığı %60.3 ve %62.2 idi. İnvazif ve noninvazif grupların genotip dağılımları ve allel sıklıklarında anlamlı farklılık tesbit edilmedi. Erkek hastalarda tümör boyutu, makroadenom ve invazif adenom oranı anlamlı olarak yüksek bulundu. Ki67 indeksi ile invazif/noninvazif gruplar arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Prolaktin seviyeleri ve tümör boyutu arasında pozitif korelasyon saptandı. İnvazif grupta tümör çapında ve prolaktin seviyesinde azalma oranları anlamlı olarak yüksek bulundu.

Siklin D1 A870G polimorfizminin prolaktinomalarda tümör davranışı üzerinde önemli rol oynamamaktadır. İnvazif adenomlarda tedavi yanıtı

noninvaziflerden daha kötü değildir. Tümör invazifliği prolaktinomalarda prognozu olumsuz etkilememektedir.

Anahtar kelimeler: Prolaktinoma, tümör invazifliği, siklin D1 gen polimorfizmi, tümör boyutu, Ki67 indeksi.

SUMMARY

Effect of Cyclin D1 Gene (CCND1) Polymorphism In Prolactinoma Patients and Clinical - Pathological Features Influencing Tumor Invasiveness.

Although most prolactinomas are benign, they may show differences in tumor size, invasiveness and treatment response. In this study, we aimed to evaluate the effect of cyclin D1 gene polymorphism on attribute of tumor behaviour and to investigate the effects of radiological and pathological features of adenoma on the response to medical and surgical treatment in prolactinomas.

One hundred and thirteen patients followed with the diagnosis of prolactinoma were included the study. The cyclin D1 gene A870G polymorphism was determined in all patients with peripheral blood sampling. Patients were classified into invasive / non-invasive and micro / macro / giant adenoma groups according to the radiological findings and categorized according to their Ki67 index. Cyclin D1 gene polymorphism was compared between each group. Age at diagnosis, gender, tumor size, serum prolactin levels were evaluated in the relation to the tumor aggressiveness.

In total of 113 patients, male / female ratio was 27/86 and the mean age at diagnosis was 34.4 year (men 40.3, women 32.6). Sixty-eight patients (60.2%) took place in non-invasive group while 45 patients (39.8%) were in invasive group. GG, GA and AA genotype were found in 15 (13.3%), 58 (51.3%) and 40 (35.4%) of patients respectively. A allele frequency was 60.3% in noninvasive and 62.2% in invasive groups. Genotype distributions and allele frequencies in invasive and noninvasive groups were not significantly different. In male patients, tumor size, rate of macroadenomas and invasive adenomas were significantly higher. There was not a significant relationship between Ki 67 index and invasive / noninvasive groups. There was a positive correlation between prolactin levels and tumor size. Reduction

in tumor size and serum prolactin levels were significantly higher in invasive group.

Cyclin D1 A870G polymorphism does not play an important role in tumor behavior in prolactinomas. Treatment response in invasive adenomas is not bad than noninvasive adenomas. Tumor invasiveness is not an important factor on the prognosis of prolactinomas.

Key words: Prolactinoma, tumor invasiveness, cyclin D1 gene polymorphism, tumor size, Ki 67 index.

GİRİŞ

Hipofiz, beyin tabanında yer alan küçük, fasülye şeklinde bir endokrin bezi olup organizmada metabolizma, büyüme ve üreme sistemlerini içeren bir çok sistemi, salgıladığı hormonlar aracılığı ile kontrol altında tutmaktadır. Hipofiz tümörleri çoğunlukla adenom yapısında olup peptid hormonları salgılayan altı farklı epitelyal hücre tipini barındıran ön hipofizden (adenohipofiz) kaynaklanmaktadır. Hipofiz adenomları intrakranyal lezyonlar içinde en sık görülen patolojik oluşumlardır. Tüm intrakranyal tümörler içinde hipofiz adenomlarının oranı %5-20 arasında değişmektedir. Genç erişkin yaş döneminde (20-34 yaş) bu oran %20'ye ulaşmaktadır (1, 2).

Rastlantısal (klinik bulgu vermeyen) hipofiz adenomlarına otopsi serilerinde veya radyolojik incelemelerde sık rastlanırken klinik bulguya yol açan hipofiz adenomları daha seyrek. Metaanalizlerde radyolojik incelemeleri içeren serilerde %22.3, otopsi serilerinde %14.4, radyolojik inceleme ve otopsi serileri birleştirildiğinde ise %16.7 ortalama sıklık oranları bildirilmiştir (1). Klinik bulguya yol açan hipofiz adenomlarının görülme sıklığı ise popülasyon bazlı incelemelerde 1:1000 civarında bildirilmekte ancak yeni tanı kriterleri ve gelişen inceleme tekniklerine bağlı olarak yeni çalışmalarda bu oranın 3-5 kat arttığı bildirilmektedir (1, 3, 4). Hipofiz adenomlarının en sık nedeni prolaktinomalardır ve klinik bulguya yol açan hipofiz adenomlarının %60 kadarını oluşturur. Non-fonksiyone adenomlar %15, somatotrapinomalar %13, ACTH salgılayan adenomlar %6 oranlarında görüldüğü bildirilmektedir (5).

Prolaktinomaların çoğu sporadiktir, nadir olarak MEN1 sendromunun bir komponenti olarak görülebilirler, hemen daima benign özelliktedirler, fakat seyrek olarak metastaza yol açan malign tümör olarak görülebilirler. Prolaktinomaların çoğunluğunu küçük ve dopamin agonistleri ile tedavi edilebilen mikroadenomlar oluşturmakta ancak farklı biyolojik davranış özellikleri gösterebilmekte, çok nadir olmayarak makroadenom veya invazif dev adenom boyutunda rastlanabilmektedirler. Sıklıkla doğurganlık çağındaki

kadınlarda görülen mikroadenomlar menstruasyon düzensizliği ve galaktoreye neden olmaları nedeniyle erken tanınabilmektedir. Bununla beraber postmenapozal kadınlar ve erkeklerde görülen prolaktinomalar daha büyük boyutlara ulaşmaya meyillidir. Bu tümörler daha çok ekstrasellüler yayılım nedeniyle görmede bozulma, baş ağrısı ve hipopituitarizm bulguları ile daha geç tanınmaktadır (2, 4, 6).

Prolaktinomalarda agresif biyolojik davranışın mekanizması ve tanımı tam olarak belirlenmemiştir. Prolaktinoma tanısı konduğunda görüntüleme yöntemleri ile adenomun boyutunun büyük olması ve çevre dokuları sarması adenomun invazif adenom olarak tanımlanmasına yol açar. Tüm invazif adenomlar klinik olarak agresif olarak davranmazlar. Bazı adenomların tanısında çok invazif olmasına karşın tedavi ile hızla kontrol altına alınabildiği serum prolaktin seviyelerinin normal seviyelere indirilebildiği gibi adenom boyutlarının da çok yüksek oranlarda küçülerek tamamen kontrol altına alınabildiği bilinmektedir. Buna karşın tanı sırasında belirgin invazyon göstermese de tedaviye yanıt vermeyen, serum prolaktin seviyesi kontrol altına alınamayan ve tedavi seçeneklerine rağmen etraf dokulara hızla yayılabilen prolaktinomalar görülmektedir. Bu özellikleri gösteren yani tedaviye yanıt vermeyen ve cerrahi veya medikal tedavi ile tümör kontrolü sağlanamayan ve yayılım gösteren adenomlar klinik olarak agresif adenomlar olarak adlandırılmaktadır (4, 6).

Biyolojik olarak agresif adenomun erken tanınmasını belirlemek amacı ile çeşitli histopatolojik değerlendirmeler yapan araştırmalar yayınlanmıştır. Bu amaçla hücre proliferasyon belirleyicilerine dayanarak yapılan araştırmalar klinik agresivite kriterleri sonuçları ile tutarlılık göstermemektedir (6).

Prolaktinomalarda serum prolaktin seviyesinin tümör boyutu ile ve adenomun invazif olması ile korele olduğu çok sayıda çalışmada gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada 3300 ng/ml üzerindeki serum prolaktin düzeyinin %91 özgüllük değeri ile invazif prolaktinomalarda tanımlayıcı olduğu (duyarlılık belirtilmemiş) (7), başka bir çalışmada ise serum prolaktin

seviyesinin kavernöz sinüs invazyonu yapan tümörlerde anlamlı olarak daha yüksek olduğu (8) belirtilmiştir.

Prolaktinomalar diğer hipofiz adenomları gibi hemen daima monoklonal orijinli (tek hücreden köken alan) tümörlerdir. Bu nedenle hipotalamik faktörlerden çok lokal büyüme faktörleri, hücre çoğalmasında ve yayılmasında etkili mekanizmalardaki anormalliklerin bu tümörlerin oluşumunda ve biyolojik davranış özelliğinin belirlenmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle bu olgularda yapılan moleküler incelemelerde bahsedilen mekanizmalarda rol oynayan bazı moleküllerin tümör dokusunda aşırı veya daha az miktarda bulunduğu veya bu molekülleri etkileyen genetik yapılarda bazı farklılıklar tesbit edildiği bildirilmektedir. Tümör oluşumunda ve davranış özelliğini belirlemede etkili olan lokal faktörler; büyüme sinyal yolları, hücre bölünme döngüsü, anjiyogenez, hücre adezyonu, lokal büyüme faktörleri ve hücre çoğalmasını etkileyen diğer faktörler şeklinde sıralanabilir (9).

I. Tümör Oluşumunda ve Davranışında Genetik Özellikler

Genetik hastalıklar, DNA dizilimi veya yapısındaki bazı değişiklikler sonucunda ilgili protein ürününün niteliğinin ya da niceliğinin (bazen her ikisinin) değişmesi sonucu oluşan hastalıklardır. Somatik mutasyon teorisine göre tümörler genetik ve epigenetik faktörlerin etkisiyle çok aşamalı olarak, kalıtsal ya da sonradan kazanılmış genetik değişikliklerin somatik hücrelerde birikmesiyle ortaya çıkan hastalıklardır. Genetik değişikliklerin katkısı veya sonucunda ortaya çıkan hücre proliferasyonunda kontrolsüz artmaya ve programlanmış hücre ölümünde (apoptoz) azalmaya bağlı olarak tümörün davranış özelliği de değişmektedir.

Tümör oluşumunu ve davranışını etkileyen genetik değişiklikler, kalıtsal genetik kusurlar (kalıtsal mutasyonlar), kimyasalları aktive eden ve detoksifiye eden enzimlerin yapısını ve metabolizmasını etkileyen genetik farklılıklar, DNA hasarının onarım kapasitesini etkileyen genetik değişiklikler (kromozom anomalileri veya polimorfizmler) şeklinde sıralanabilir.

Polimorfizmler kalıtsal veya somatik mutasyonlardan daha sık olarak tespit edilmektedir. Toplumda %1'den daha yüksek sıklıkta bulunan genetik çeşitlilik tipi ya da gen seçenekleri polimorfizm olarak tanımlanır. İnsan genomunda en çok bulunan genetik çeşitlilik tipi, tek nükleotid polimorfizmleridir. Genomda binlerce aday polimorfik genin bulunması ve bu genetik değişikliklerin tümör oluşumuna duyarlılığı, tümörün davranış şeklini etkileyebilir olması ve tedavi alternatiflerini etkileyebilme olasılığı nedeniyle bu alanda pek çok sayıda çalışma sürdürülmektedir (10).

II. Hücre Bölünme Döngüsü ve Tümör Oluşumu

Tümör hücrelerinin en önemli özelliği normal hücrelerde büyüme ve çoğalma süreçlerinde geçerli olan kontrol mekanizmalarından etkilenmeyerek kontrolsüz bir şekilde çoğalarak kitle oluşturmaları ve normal dokunun işlevlerine zarar vermeleridir. Bu özellikler malign tümörlerde daha abartılı bir şekilde gerçekleşmekte ve tümör hücrelerinin damarlanmayı indükleyerek oksijen ve besin alımının artırılması (anjyogenez), programlanmış hücre ölümünün baskılanması (antiapoptoz), vücudun başka bir bölgesine yayılım (metastaz) tümörün malign veya invazif davranış karakteristiğini oluşturmaktadır. Bu nedenle tümör oluşumunda ve davranışında ana mekanizmalar hücre bölünmesindeki kontrol noktalarında oluşan değişikliklerle ilgili gibi gözükmemektedir ve bu noktadan hareketle tümörögenезin ve tümör davranış özelliklerinin anlaşılabilmesi ve araştırılması için hücre bölünme döngüsünün bilinmesi gerekmektedir (11).

II.A. Hücre Bölünme Döngüsü

Hücre çoğalmasının ana kaynağı, hücresel büyüme, DNA replikasyonu ve iki yavru hücreye bölünme basamaklarını içeren hücre bölünme döngüsüdür. Hücre bölünme döngüsü ardışık olarak gerçekleşen 4 fazdan oluşmaktadır. Bunlardan ikisi DNA replikasyonunun gerçekleştiği sentez fazı (S fazı) ve hücre bölünmesinin gerçekleştiği mitoz fazı (M fazı) olmak üzere ana fazları oluşturur. Bu iki faz arasında iki geçiş fazı (G1 fazı, G2 fazı) bulunmaktadır. G1 fazı mitozu takip etmektedir ve bu dönemde hücresel büyüme artırıcı ve azaltıcı uyarılarla hücre bölünme döngüsünün

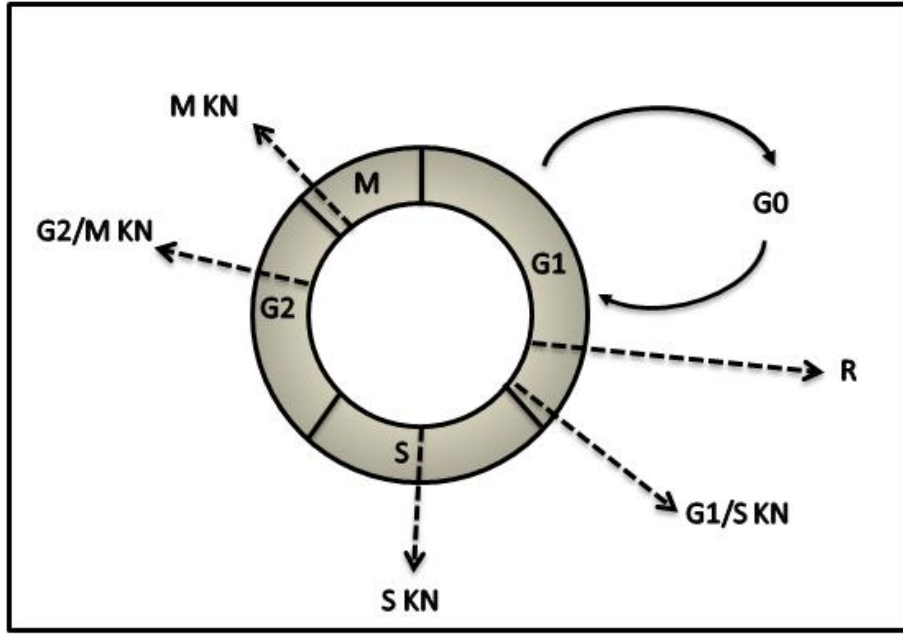
başlaması sağlanır veya baskılanır. Hücre bölünme döngüsüne girilmesindeki başlangıç bölümüdür ve hücrenin bölünmesi veya döngü dışındaki durağan faz olan G0 fazına geçiş bu fazda kontrol edilir. Büyümeyi baskılayan uyarıların etkisi ile hücre geri dönüşümlü olarak G0 fazına girebilir. Büyümeyi arttıran uyarıların etkisinde ise DNA replikasyonu için hazırlıklar tamamlanır ve uygun koşullar sağlandığında hücre S fazına geçer. G2 fazı ise S fazını takip eder ve bu dönemde mitoz için gerekli hazırlıklar tamamlanır. Genetik yapının kontrolü sağlandıktan sonra uygun koşulların varlığında M fazı başlar (11) (Şekil-1).

II.B. Hücre Döngüsü Kontrol Noktaları

Hücre döngüsünün başlaması veya durağan faza geçilmesi, hücre döngüsündeki fazlar arasındaki geçişler, kontrol noktaları “checkpoints” (KN) adı verilen ve döngünün belirli zaman duraklarında konumlanan mekanizmalarla düzenlenmektedir. Bu mekanizmalar ilk olarak Hartwell ve Weinert tarafından tanımlanmışlardır (12). Diğer bir taraftan bu kontrol noktaları uygun ve sağlıklı koşulların sağlanıp sağlanmadığını denetleyerek hücre döngüsünün devamını ve böylece, büyüme ve gelişmeyi düzenleyen sensörel mekanizmalardır. Kontrol noktalarının bir diğer görevi de hücre döngüsü boyunca genom bütünlüğünün sağlanmasını kontrol etmektir.

Kontrol noktalarındaki işlevler 3 ana komponentten oluşmaktadır.

1. Hücre döngüsüne ait basamaklardaki bozulma veya eksikliklerin (DNA hasarı gibi) tespit edilmesi,
2. Sinyal aktarım yolu (signal pathway) ile durumun 3. komponente iletilmesi,
3. Problem çözülünceye kadar hücre döngüsünün durdurulması.



Şekil-1: Hücre döngüsü ve kontrol noktaları.

Hücre döngüsündeki ana kontrol noktaları (11):

1. R “restriction point” (Kısıtlama noktası); Büyüme uyarılarının varlığında bu nokta geçilir, aksi halde hücre G0 fazına geçer.
2. G1/S KN; G1 fazından S fazına geçişi kontrol eder ve DNA hasarının ana kontrol noktasıdır.
3. S KN; DNA replikasyonu tamamlanamamış veya DNA hasarı varlığında S fazında döngü durdurulur.
4. G2/M KN; DNA replikasyonunun uygunluğu ve DNA hasarı kontrol edilir.
5. M KN “spindlecheckpoint”; iğ iplikçiklerinin oluşumu ve uygunluğu kontrol edilir. (Şekil-1).

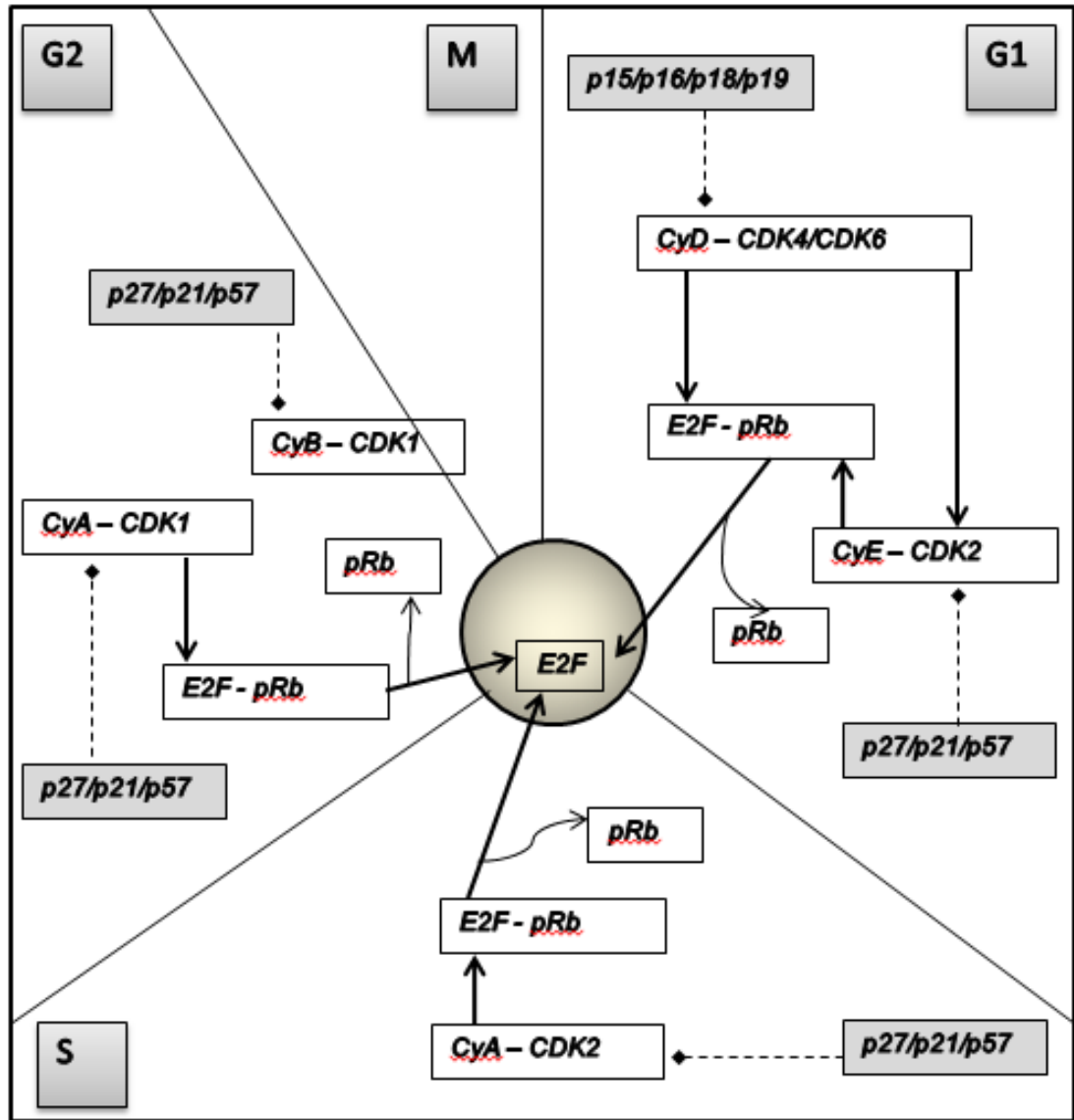
Tümöregenez ve tümör davranışında bu kontrol noktaları çok önemli rol oynamaktadır. Kontrol noktalarının işlevlerindeki değişiklikler kontrolsüz olarak hücre çoğalmasına neden olmakta ve bu durum tümör oluşumunda ana mekanizma gibi gözükmetedir (13).

II.C. Hücre Döngüsünün Kontrolü (Şekil-2)

Hücre döngüsünde kontrol noktalarının düzenleme mekanizmalarında siklin bağımlı kinazlar “cycline dependent kinase” (CDK) esas rolü üstlenmektedirler. Bu enzimler serin/treonin kinaz ailesinden olup aktivasyonları siklin adı verilen moleküllerin hücre döngüsünün dönemlerine göre farklı alt guruplarının alt ünite olarak özgül enzim grubuna bağlanması ile sağlanır. CDK lar tüm hücre döngüsü boyunca kararlı düzeylerde bulunurken siklinler dönemsel olarak arttırıcı uyarıların etkisi ile yoğunlukları artarak ilişkili CDK ın aktivitesini sağlarlar. CDK lar hücre döngüsünde her fazda spesifik fonksiyon gören proteinleri fosforilize ederek etki gösterirler (11).

Retinablastom tümör baskılayıcı genin ürünü olan ve CDK lar tarafından fosforilize edilen pRB proteini, G1 fazındaki progresyonda önemli rol oynamaktadır. Erken G1 fazında hipofosforile durumda iken E2F transkripsiyon faktörlerine sıkıca bağlı olarak bulunur. CDK lar tarafından fosforilize edildiğinde E2F lerden ayrılır ve E2F lerin aktifleşmesi ile R noktası geçilerek hücre döngüsünün devamı sağlanır. CDK fosforilasyonu ve pRB nin E2F lerden ayrılması iki aşamalı CDK aktivasyonu ile sağlanır. CDK4 ve CDK6 nın siklin D (D1, D2, D3) (CyD) subünitleri ile kompleks oluşturmasını takiben fosforile olan pRB proteininden ayrılan histondeasetilaz (HDACs) molekülleri (ayrıca kromatin remodelingde etkilidirler) siklin E (CyE) ekspresyonunu başlatır. CDK2-CyE kompleksinin oluşması ile pRB fosforilasyonu devam ederek E2F transkripsiyon faktörlerinin pRB proteininden ayrılıp aktifleşmeleri sağlanır. E2F faktörleri S fazına geçilmesi için gereklidir (14).

Hücre S fazına geçtikten sonra siklin A (CyA) eksprese olur ve CDK2 ile kompleks oluşturur. CDK2-CyA kompleksi replikasyon için gerekli olan CDC6 proteininin fosforilasyonunu sağlar. G2 den M fazına geçiş için CDC2 (CDK1 olarak ta bilinir) – siklin B (CyB) kompleksi gereklidir ve bu aktivasyon mitoz fazında görevli düzenleyici proteinlerin fosforilasyonunu sağlar (11).



Şekil-2: Hücre döğüsünün kontrolü.

CDK aktivitesini kontrol eden diğer mekanizmalar siklinlerin ubiquitinler aracılığı ile degradasyonu (poliubiquitination), CDK ve siklinlerin fosforilasyonu ve diğer regülatörlerle etkileşim şeklinde sayılabilir. CyD1 ve CyE, SCF kompleks enzimi ile, CyA ve CyB ise APC ("anaphasepromotingcomplex") enzimleri aracılığı ile degrade olurlar (11).

CDK lara bağlanarak aktivitelerini azaltan/değiştiren 2 protein ailesi mevcuttur (11, 13).

1. INK4 “inhibitory of CDK4”; CDK4 ve CDK6 yı inhibe ederler; P16 (INK4a), P15 (INK4b), P18 (INK4c), P19 (INK4d)
2. CIP/KIP “CDK interacting protein/kinase inhibitory protein”; CDK4, CDK6, CDK2 ve CDC2 yı etkilerler. CyD bağımlı CDK ları stabilize ederken CDK2 yı güçlü şekilde inhibe ederler; P21 (CIP1), P27 (KIP1), P57 (KIP2).

II.D. Kontrol Noktaları ve Tümör Oluşumu

G1 fazı, hücre bölünme döngüsünde, hücre dışı uyarıların negatif veya pozitif etki gösterdiği en kritik fazdır. Moleküler düzeyde CyD bağımlı CDK lar bu hücre dışı uyarılarda bütünleyici rol oynamaktadır. CyD ile ilişkili CDK lar, bunların düzenleyicileri ve pRB aktivitesini etkileyen genetik değişikliklerin tümör oluşumu ile ilişkisi oldukça güçlüdür. Örnek olarak P16 proteinini kodlayan CDKN2 geni değişiklikleri ve pRByi kodlayan RB genindeki delesyon veya mutasyonlara akciğer kanserlerinde sık rastlanmaktadır (15).

İyonizan radyasyon, genotoksik kimyasallar ve reaktif oksijen molekülleri DNA da çift zincir kırılmasına (“doublestrand breaks”) neden olarak genom bütünlüğünü bozup tümör oluşumuna neden olabilmektedirler. G1/S KN nda bu hasar tespit edildiğinde hücre döngüsü durdurularak S fazına geçiş önlenmektedir. Bu kontrolde CyD degradasyonu sonucunda P21 aktivitesi ile CDK2 nin inhibisyonu ve CDK2 inhibitörlerinin (P21, P27, P57) fosforilasyonu rol oynar. G1/S KN nın yönetimi tümör baskılayıcı gen olan TP53 geninin kontrolü altındadır. TP53 gen anomalileri insan kanserlerinde en sık saptanan değişikliktir (15). P21 aktivitesini arttıran P53 proteinini etkileyen diğer gen ATM protein kinaz aktivitesini düzenleyen ATM genidir ve bu gene ait mutasyonlar Ataksi Telenjiektazi sendromuna neden olmaktadır. Bu sendromun önemli bir komponenti iyonizan radyasyona artmış kanser oluşumu duyarlılığıdır (11).

Diğer fazlarda ortaya çıkan DNA hasarlarında da farklı bazı mekanizmalar benzer etki göstermekte ve bu mekanizmaları düzenleyen

faktörlerle ilişkili bazı anormallikler bir çok tümör tipinde gösterilmektedir. Tüm insan tümörlerinde, kontrol noktalarını etkileyen genlerdeki bazı değişikliklerin (mutasyon, delesyon, amplifikasyon veya polimorfizm) saptanması yüksek olasılıklıdır (11, 13, 15).

III. Siklin D1 Geni ve Tümör Oluşumu

D tipi siklinler yukarda bahsedildiği gibi G1 fazına spesifik olarak CDK4 ve CDK6 ile kompleks oluşturup R noktasının geçilmesinde rol oynamaktadır. Diğer siklinlerden farklı olarak tüm hücre döngüsü boyunca sentezleri devam etmekte, ekspresse edilmeleri ve depolanmaları hücre dışı mitojenik uyarıların kontrolünde gerçekleşmektedir. CyD1'in mitojen uyarılar ile etkileşimi CyD2 ve CyD3'e göre daha ileri düzeydedir. CyD1 için mitojen uyarılar primer olarak Ras sinyal yolları üzerinden gerçekleşir (16). Mitojen uyarı ile tirozinkinaz reseptörleri üzerinden Ras-Raf-MEK (MAPK kinaz) ve ERK ("extracellular signal regulated kinase") yolları aracılığı ile CyD1 transkripsiyonu artar. Ayrıca Ras sinyal yolları üzerinden PI3K ve Akt aracılığı ile CyD1 translasyonu artarken, yıkımı ise azalır. Akt aracılığı ile fosforilasyon ile CyD1'in sitoplazmaya geçişi de engellenerek çekirdek içerisinde birikimi ve hücre döngüsü üzerindeki fonksiyonu sağlanmış olur. CyD1'in hücre döngüsü ile ilgili fonksiyonlarından daha önce bahsedildi. Tüm bu anlatılanlardan hareketle CyD1'in mitojen etki ile hücre döngüsünde oynadığı kritik role bakarak tümör oluşumunda CyD1 ile ilgili düzenleyici mekanizmalarda değişikliklerin etkili olabileceğini söylemek mümkündür. Bir çok tümör tipinde CyD1'in aşırı ekspresse edildiği gösterilmiştir (16-19). Bu aşırı ekspresyonda genomik değişiklikler, transkripsiyon sonrası düzenleme ve protein degradasyonundaki anormallikler etkili olabilmektedir.

CyD1 aşırı ekspresyonuna neden olan genomik değişiklikler tek bir nükleotid polimorfizminden büyük kromozomal translokasyonlar ve gen amplifikasyonuna kadar farklı derecelerde ortaya çıkabilir. CyD1'i kodlayan gen CCND1 genidir ve 11.kromozomun uzun kolunda yer almaktadır (11).

Kromozomal translokasyonlar B hücreli lenfomalarda başlıca genetik mekanizmayı oluşturmaktadır. Matür B hücreli lenfomaların alt tipi olan “mantle cell lenfoma” (MCL) de CCND1 geni ve immünglobulin ağır zincirini kodlayan gen arasındaki translokasyonun (t(11;14)(q13;q32)) görülme oranının %90’ın üzerinde olduğu bildirilmiştir (L). Paratiroid adenomlarında tespit edilen 11(p15; q13) inversiyonu CCND1 geni ile ilişkili olarak bulunan diğer bir genomik değişikliktir (11). CyD1 aşırı ekspresyonu ile sonuçlanan 11q13 amplifikasyonu ise baş boyun, meme, özofagus kanserleri ve hipofiz adenomlarında gösterilmiştir (16).

Tek nükleotid değişimi gibi küçük genomik değişiklikler de CyD1 üzerinde etki gösterebilmektedir. CCND1 geni ile 100’den fazla polimorfizm tespit edilmiş olmasına karşın bunların içinde G/A 870 polimorfizmi varyant CyD1 oluşumu ve protein degradasyonuna direnç kazandırması nedeniyle onkolojik potansiyeli olan bir genomik değişiklik olarak öne çıkmaktadır (16, 21).

CyD1 aktivitesinin düzenlenmesinde transkripsiyon sonrasında translasyon, protein sentezi ve degradasyonundaki etkili düzenleyici faktörler ile ilgili anormallikler de onkolojik potansiyele sahiptirler ancak çok ayrıntıya girilmemesi ve çalışma ile ilgili olmaması nedeniyle bu değişikliklerle ilgili bilgilere burada yer verilmeyecektir.

IV. Hipofiz Adenomlarında Moleküler Genetik Özellikler

Hipofiz adenomları çoğunlukla monoklonal (tek tip hücre kaynaklı) özellikte, küçük ve benign davranış özelliği gösteren tümörlerdir. Hipofiz tümörlerinin oluşum mekanizması anlaşılamamıştır ve benign davranışlı olmalarına rağmen bazı hipofiz adenomları agresif seyredebilmekte ve lokal invazyon yaparak büyük boyutlara ulaşabilmektedir. Bir çok tümör tipinde gösterilen onkojen ve tümör baskılayıcı gen değişiklikleri hipofiz adenomlarında izlenmemektedir. Bununla birlikte hipofiz adenomlarını da içeren genetik sendromlarda görülen gen mutasyonlarına sporadik hipofiz adenomlarında da somatik mutasyon olarak rastlanabilmektedir. Ayrıca

hipofiz adenomlarında hücre proliferasyonunu etkileyen moleküler genetik değişiklikler ve buna bağlı olarak bazı proteinlerde aşırı ekspresyon varlığı ve bazı sinyal yolu değişiklikleri bir çok çalışmada gösterilmiştir. Bu nedenle hipofiz adenomlarında moleküler genetik değişiklikler ile ilgili çalışmalar, tümör oluşumu ve tümör davranış şeklinin anlaşılması için gösterilen çaba ve yapılan araştırmalarda önemli yer tutmaktadır.

IV.A. Genetik Sendromlarda Etkilenen Genlerle İlgili Değişiklikler

G_sα gen mutasyonu (gsp mutasyonu) sporadik hipofiz adenomlarında anlamlı derecede yüksek oranda tesbit edilen tek somatik mutasyondur. Mc Cune Albright sendromundan sorumlu gen mutasyonu olarak cAMP geçidinde sürekli aktivasyona neden olmaktadır. Büyüme hormonu (BH) salgılayan sporadik hipofiz adenomlarında somatik mutasyon olarak %30-40 oranında tesbit edilmektedir, ancak tümör oluşumu ve davranış özelliklerinde primer rol oynayıp oynamadığı bilinmemektedir (22).

Multipl endokrin neoplazi tip 1 (MEN1) hastalarında etkilenen MEN1 geni 11.kromozomda yer almaktadır. %70-80 civarında MEN1 hastasında bu gene ait mutasyon mevcuttur. Yapılan çalışmalarda sporadik hipofiz adenomlarında MEN1 geni mutasyonu gösterilememiştir, ancak bu gene ait delesyonların sık tesbit edildiği bildirilmiştir (23). MEN1 geni mutasyonu olmayan MEN1 hastalarının bir kısmında saptanan P27 gen mutasyonları, Carney sendromunda tesbit edilen protein kinaz A tip 1α düzenleyici subünit geni (PKAR1A) ve izole ailesel somatotrapinoma olgularında tesbit edilen aril hidrokarbon reseptör etkileşim proteini geni (AIP) mutasyonları da sporadik tümörlerde saptanmamaktadır (23).

IV.B. Hücre Döngüsü ile İlişkili Moleküler Değişiklikler

Sporadik hipofiz adenomlarında, hücre döngüsünde baskılayıcı olarak düzenleme yapan P16, P18 ve P27'nin ekspresyonunda azalma olduğunu gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. P27 geni açısından knockout farelerde multi organ hiperplazisi ve ACTH salgılayan hipofiz adenomu olduğu gösterilmiştir: P27 ekspresyonu tüm hipofiz adenom alt tiplerinde azalmaktadır. Hipofiz adenomlarında P27'nin fosforilasyon ile degradasyonunun artmış olduğu gösterilmiştir. Akt sinyal yolağı bu

fosforilasyonda etkilidir ve bu nedenle Akt sinyal yolağı ile ilgili değişikliklerin hipofiz adenomlarında tümörogeneizde rolü olduğu düşünülebilir. Ayrıca P27, hücre proliferasyonunun bir göstergesi olan Ki67 ile de ilişkilidir (23).

Akt sinyal yolağı ile paralel çalışan diğer bir sinyal yolağı; “Ras-mitogen-activated protein kinase” (MAPK) yolağıdır. MAPK yolağının son ürünü ve “extracellular signal regulated kinase” (ERK)’ın hipofiz adenomlarında aşırı aktif olduğu gösterilmiştir. Bu aşırı aktivasyon siklin D1 aşırı ekspresyonuna neden olmaktadır (23).

PTTG “pituitary tumour transforming gene” yakın dönemde hipofiz adenomu olan ratlarda identifiye edilmiş olup hipofiz adenomlarının çoğunda aşırı ekspresse olduğu gösterilmiştir. PTTG, potent bir mitojenik ve anjiyojenik bir faktör olan “basic fibroblast growth factor” (bFGF)’ü uyarmaktadır ve tümör yayılımında etkili olması muhtemeldir (24).

V. Prolaktinomalarda Tümör Davranışı ve Genetik Faktörler

Prolaktinomalar çoğunlukla benign seyirli olmakla beraber bazı prolaktinomalar agresif davranış gösterebilmekte ve bazıları çoğunlukla başarılı bir şekilde medikal olarak tedavi edilebilenlerin aksine tedaviye direnç gösterebilmektedir. Bazı prolaktinomalarda gözlenen bu agresif biyolojik davranışın mekanizması tam olarak belirlenememiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yapılan sınıflandırmada “atipik hipofiz adenomları” adı altında sınıflandırılan agresif davranışlı adenomalar patolojik incelemede gösterilen hücre proliferasyon özelliklerine göre tanımlanmaktadır. Klinik yaklaşımla bakıldığında ise dopamin agonist tedavisine yanıt oranı veya cerrahi sonrası yüksek rekürens oranları prolaktinomaların agresif özelliklerini veya prognozu belirlemektedir (25). Radyolojik değerlendirmeye agresif tümörler kavernoöz sinüs, petrozal sinüs gibi strüktürel yapıları invaze etmeleri ile karakterizedirler.

Mikroadenomu bulunan hastalarda çoğunlukla tümör boyutlarında artış görülmemesi ve otopsi serilerinde saptanan insidental hipofiz adenomlarının daha çok mikroadenomlardan oluşması, mikroadenomların

makroadenoma dönüşme oranının %4-7 gibi oldukça düşük olması agresif seyirli tümörlerin farklı bir mekanizma ile oluştuğunu düşündürmektedir (6, 26, 27).

Prolaktinomalarda biyolojik davranışı önceden belirleyen kesin kriter bulunmamaktadır. Bahsedildiği gibi bazı prolaktinomalar radyolojik olarak lokal invazyon özellikleri ile invazif prolaktinoma olarak adlandırılmakta ancak lokal invazyon malignite kriteri olarak kabul edilmemektedir. Hipofiz adenomlarının serebrospinal veya diğer uzak organlara metastaz yapma oranı oldukça nadirdir ve sadece bu nadir görülen grupta hipofiz karsinomu olarak adlandırılmaktadır. Nükleer polimorfizm, sitolojik atipi, nekroz gibi histopatolojik olarak endokrin dışı tümörlerde malign davranışı belirleyen kriterler diğer endokrin bez tümörleri gibi hipofiz adenomları ve prolaktinomalarda malign davranış özelliğini tanımlamamaktadır. WHO sınıflandırmasında Ki67 indeksi > %3 ve p53 immünreaktivitesi > %3 olan hipofiz adenomları “atipik hipofiz adenomu” ismi ile yer almaktadır (25). Ki67 indeksi, P53 indeksi, “polysialic acid neural cell adhesion molecule” (PNCAM) ve “pituitary transforming tumor gene” (PTTG) ekspresyonu invazif tümörlerde görülebilen mitotik aktivite belirleyicileridir, ancak bunlarla ilgili olarak yapılan çalışmalarda tutarlı sonuçlar mevcut değildir (28-30).

Genetik inceleme yöntemleri, moleküler biyoloji ve immünohistokimyasal araştırmalarda son yirmi yılda sağlanan gelişmelerle prolaktinomalarda agresif davranış potansiyelini belirlemeye katkıda bulunan bir çok belirleyici tanımlanmıştır. Bu belirleyicilerin klinik kullanıma girmesi ve bu tümörlere yaklaşımda iyileşme sağlanmasını hedefleyen çalışmalar son yıllarda artan bir ilgiyle sürmektedir. Agresif davranış özelliği gösteren prolaktinomaları tanımlamaya yardımcı olduğu öne sürülen belirleyiciler, hücre proliferasyonu, hücre döngüsü, hücreler arasında adezyon, anjiyogenez, hücre dışı matriks komponentleri, büyüme faktörlerinin sinyal yollarında rol oynayan moleküler yapılar ve bunlarda değişikliğe yol açan genetik farklılıklar şeklinde sınıflandırılabilir (26).

Adezyon molekülleri hücreler arası veya hücre-substrat arasında adezyonu sağlayarak hücre büyümesi ve migrasyonunda rol oynayan

düzenleyici faktörlerdir. PNCAM nöral hücre adezyon moleküllerinin polisilyalize olmasıyla oluşur ve bazı agresif tümörlerde aşırı eksprese olduğu gösterilmiştir (6). İnsan çalışmalarında büyüme hormonu salgılayan hipofiz adenomlarında tümörün invazif davranışı ile pozitif korelasyon gösterdiği tesbit edilmiş olmasına karşın, aynı çalışmada prolaktinomalarda benzer bir bağlantı saptanmamıştır (31). E-cadherin hücreler arasında adezyonda görevli olan diğer önemli bir moleküldür ve E-cadherin/catenin/p120 kompleksinin invazyonu engelleyen bir sistem oluşturduğu düşünülmektedir. Qian ve ark. (32) tarafından invazif prolaktinomalarda, non-invazif olanlara göre E-cadherin ekspresyonunda azalma olduğu gösterilmiştir. Başka bir çalışmada ise prolaktinoma dışı hipofiz tümörlerinde E-cadherin kaybının invazif davranışla ilgili olmadığı belirtilmiştir. Buna göre E-cadherin kaybı prolaktinomalara spesifik bir belirleyici gibi gözükmemektedir (33).

Hücre dışı matriks komponentlerinden (“extracellular-matrix components” EMC) laminin prolaktin üretimi ve hücre çoğalmasını inhibe etmektedir. Hayvan çalışmalarında agresif prolaktinomalarda farklı düzeyde eksprese edildiği gösterilmiştir. İnvazif prolaktinomalarda EMC’lerinin metabolizmasında görevli bazı enzim ve düzenleyici faktörlerin tümör dokusunda ekspresyonu ile ilgili değişiklikler olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (6). Lokal büyüme faktörleri de anjiyogeneze katkıda bulunarak tümör invazyonunda rol oynamaktadır. “Epidermal growth factor” (EGF)’ün prolaktinomaları da içeren hipofiz adenomlarında invazif davranışla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak bu çalışmada saptanan bulgu spesifik olarak prolaktinomalarla ilişkilendirilememiştir (34).

Hücre döngüsünde önemli rol oynayan siklin D1’in nonfonksiyone hipofiz adenomları ve fonksiyone invazif hipofiz adenomlarında, normal hipofiz dokusuna göre ve noninvazif hipofiz adenomlarına göre daha fazla eksprese edildiği gösterilmiştir (35). Başka bir çalışmada ise siklin E’nin mikroprolaktinomalara göre makroprolaktinomalarda daha çok eksprese edildiği belirtilmiştir (36). CyD1 geni exon 4/intron 4 bölgesinde A/G polimorfizminin bazı tümörlerde klinik sonuçları ve surveyi etkilediği gösterilmiştir. 294 hipofiz adenomu (%20 prolaktinoma) ile yapılan bir

Çalışmada prolaktinoma alt grubunda CyD1 AA genotipinin invazif grupta noninvazif gruba göre daha yüksek oranda tesbit edildiği ve prolaktinomalarda invazif davranış ve tümör rekrensi için bir belirleyici olabileceği belirtilmiştir (37). Yakın zamanda Gazioğu ve ark.'nın (38) yaptığı bir çalışmada ise CyD1 A/G genotipinin hipofiz adenomları ve kontrol grubunda farklı dağılım özelliği gösterdiği ancak tümör invazyonu ve byklğu ile ilgili olmadığı bildirilmiştir (38).

Bu çalışmada prolaktinomalı olgularda siklin D1 gen polimorfizminin tümör davranış özellikleri üzerine etkisinin incelenmesi ve laktotrof adenomun radyolojik ve patolojik özelliklerinin medikal ve cerrahi tedaviye yanıtı üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

I. Gereç

Çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Bursa Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 9 Haziran 2009 tarih ve 2009-11/87 sayılı yazılı tıbbi araştırma onayı alındıktan sonra başlandı. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı polikliniklerine başvuran opere olmuş veya medikal tedavi ile izlenen prolaktinoma tanılı hastalarda araştırma yapılması planlandı. Çalışmaya toplam 100 gönüllü alınması hedeflendi.

I.A. Olgular

2010 Ocak – 2010 Ekim ayları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, Hipofiz hastalıkları polikliniğinde prolaktinoma tanısı ile takip edilen 113 hasta çalışmaya dâhil edildi. Prolaktinoma tanısı için aşağıdaki kriterler kullanıldı:

1. Tedavi öncesi serum prolaktin düzeylerinin referans değerlerin üzerinde olması,
2. Prolaktinoma dışı prolaktin yüksekliği nedenlerinin dışlanmış olması,
3. Prolaktin yüksekliği ile ilişkili semptomların varlığı,
4. Sella MR veya BT görüntülemelerinde hipofiz adenomu ile uyumlu lezyon tespit edilmesi,
5. Serum prolaktin düzeyi ile tümör boyutlarının uyumlu olması (Stalk basısına bağlı prolaktin yüksekliğinin dışlanması),
6. Opere olan olgularda histopatolojik incelemede tümör hücrelerinde prolaktin boyası ile diffüz boyanma özelliğinin gösterilmiş olması.

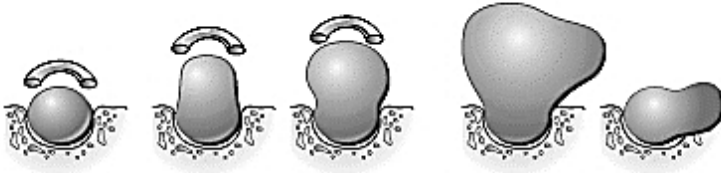
Tüm olgulara bilgilendirilmiş gönüllü olur formu okutulduktan sonra imzalatıldı ve çalışmaya dâhil edildi. Hastalara ait demografik bulgular kontrol vizitinde veya arşiv dosyaları taranarak kaydedildi. Çalışmada demografik ve

klirik verilerin toplanması için form kullanılmamış ve bilgiler elektronik ortamda saklanmıştır. Hastalardan alınan onam formları klasör içinde arşivlenmiştir. Hastaların tedavi öncesi prolaktinoma tanısı konduğu tarihe ait plazma prolaktin düzeyleri ve sella MR görüntüleme bulguları, uygulanan tedaviler ve son poliklinik kontrolüne kadar olan plazma prolaktin düzeyleri, sella MR görüntüleme bulguları, arşiv dosyaları taranarak kaydedildi. Opere olan hastalarda tümör davranışı ile ilgili histopatolojik bulgular ve operasyona ait bulgular da kaydedildi.

I.B. Adenom Sınıflandırması

Hastalar invazif olmayan tümör ve invazif tümör olmak üzere 2 grupta gruplandırıldı. Bu gruplandırma için adenomların mikroadenom veya makroadenom olası, Hardy sınıflamasına göre evresi ve kavernöz sinüslere invazyonu göz önüne alındı.

Hastaların tanı sırasında yapılan sella MR görüntüleme bulgularına göre tümörler mikroadenom (< 1 cm en uzun çap), makroadenom (1-4 cm en uzun çap) ve dev adenom (> 4 cm en uzun çap) olarak tanımlandı (37). Hardy sınıflaması kullanılarak adenomun invazif özellikleri derecelendirildi. Bu amaçla sella MR görüntülerine dayanarak sella tabanı destrüksiyon derecesine göre 1-4 arasında, supra sellar yayılım derecesine göre A-E arasında derecelendirildi. (37); (Şekil-3). Radyolojik bulgulara göre 1-2. derece ve evre A-C olan tümörler invazif olmayan tümör grubuna alınırken 3-4. derece veya evre D-E olarak tanımlanan tümörler invazif tümör grubuna dahil edildi. Ek-1 de invazif ve noninvazif tümör gruplarına ait olguların MR görüntüleme kesitleri örnek olarak verilmiştir.

İnfrasellar		Suprasellar				
Normal		Simetrik			Asimetrik	
Derece 1						
Derece 2						
Derece 3						
Derece 4						
		Evre A	Evre B	Evre C	Evre D	Evre E

Şekil-3: Hardy's sınıflaması (39).

Sella MR görüntülerinde koronal kesitler detaylı incelenerek kavernöz sinüs invazyonu varlığı veya yokluğu tanımlandı. İnternal karotid arterin kavernöz sinüs içindeki segmentini %67 (2/3) saran adenomlar kavernöz sinüs invazyonu yapan adenom olarak tanımlandı (6, 40).

Ayrıca Ki67 indeksinin tümör davranışı ile ilişkisinin incelenmesi amacıyla opere olmuş olan hastalarda histopatolojik inceleme raporlarına göre Ki67 indeksleri kaydedildi. Ki67 indeksi $\geq 3/100$ olan hastalar proliferatif özelliği yüksek tümör olarak değerlendirildi (7).

II. Kullanılan Gereç ve Cihazlar

Birbirleri ile akrabalık bağı olmayan 113 prolaktinoma tanısı ile izlenen hastadan 5 cc periferik kan örneği EDTA lı tüplere alındı. Hastalardan alınan kan örnekleri genetik laboratuvarında çalışılıncaya kadar, endokrinoloji kliniğinde bulunan ve ısı ölçerle sıcaklığı sürekli kontrol edilen -20°C derin dondurucuda saklandı.

Genetik moleküler analiz amacıyla kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildikleri firmalar aşağıda verilmiştir.

1. Taq Polimeraz (Dr. Zeydanlı)
2. Magnezyum Klorür (MgCl_2) (Dr. Zeydanlı)
3. Tris Baz (Amresco)

4. EDTA (Sigma)
5. Proteinaz K (Sigma)
6. Brom Fenol Mavisi (Fermantas)
7. Etidyum Bromür (Dr. Zeydanlı)
8. PCR Tamponu (Dr. Zeydanlı)
9. Marker DNA (Fermantas)
10. Primerler (Alpha DNA)
11. Deoksinükleosit Trifosfat Seti (Dr. Zeydanlı)
12. Agaroz (Sigma)
13. Saf Etanol (Dr. Zeydanlı)
14. DNA izolasyonu, PCR ve elektroforez ile ilgili diğer kimyasal maddeler (Dr. Zeydanlı)
15. Msp I kesim enzimi (Bioron)

III. Kullanılan Cihazlar ve Teknik Malzemeler

Bu araştırmada kullanılan ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Bilim Dalı'nda bulunan cihazlar aşağıda verilmiştir.

1. Santrifüj (Hermle-Z300K)
2. Spektrofotometre (Eppendorf Biophotometer)
3. Hassas terazi (CAS)
4. Su banyoları (Nüve – ST402)
5. Otomatik pipetler (Eppendorf)
6. Buzdolabı (Indesit)
7. Jel görüntüleme cihazı (Biosens- SC805)
8. Yatay elektroforez tankı (EC-320 Minicell)
9. Derin donduru (Beko)
10. Vorteks (Boeco V1 plus)
11. Mikrodalga fırın (Arçelik)
12. Elektroforez (EC 250-90, E-C Apparatus Corporation)
13. Thermal cycler (Applied Biosystems-GenAmp 9700)

IV. Moleküler Analiz

Moleküler analiz için elde edilen kan örneklerinde sırası ile DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyon (PCR) protokolü, jel elektroforez protokolü, restriksiyon enzim kesimine bırakılması işlemlerinin uygulanmasının ardından siklin D1 genindeki A870G polimorfizmi belirlenerek genotipleme yapıldı.

IV.A. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için 2 cc EDTA'lı kan, steril falkon tüpüne aktarıldı ve üzerine 1:3 oranında (6 cc) "lysis buffer" ilave edildi. Tüp, birkaç defa ters yüz çevrilerek iyi bir şekilde karıştırıldıktan sonra +4°C'de 15 dakika bekletildi. Oluşan nükleer pelleti çöktürmek için dakikada 1500 devirde 10 dk santrifüj edildi ve oluşan süpernatant döküldü. Pellet yeniden süspanse edildi. İkinci bir yıkama için yine 6 ml "lysis buffer" eklendi ve 10 dk 1500 devirde santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve pellet tamamen süspanse edildi. Bundan sonraki aşamalarda Dr. Zeydanlı DNA izolasyon kiti prosedürü uygulandı. Süspanse olmuş örnek 1,5 ml'lik nükleaz içermeyen tüp içine alınarak üzerine 500 µl solüsyon B ve 20 µl solüsyon A eklendi. Karışım vortekslenerek 42°C'de 2 saat süre ile inkübe edildi. Inkübasyon sonrası üzerine 500 µl solüsyon C eklenip vortekslenerek 10.000 devirde 5 dk santrifüj edildi. Oluşan iki fazdan üstteki berrak faz alınarak temiz 1,5 ml'lik nükleaz içermeyen tüpe konuldu. Üzerine 500 µl solüsyon D konuldu. 10.000 devirde 10 dk santrifüj edildi. Oluşan süpernatant atılarak üzerine 500 µl solüsyon E konulup 10.000 devirde 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant atılarak tüpler kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra 100 µl distile su eklenerek çalışma zamanına kadar – 20°C'de saklandı.

IV.B. Polimeraz Zincir Reaksiyon Protokolü

Polimeraz Zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction-PCR) yöntemi, genomik DNA'nın sıcaklığın etkisiyle çift zincirinin tek zincir hale gelmesi sonrasında uygun sıcaklıkta ilgili primerlerin ilgili primer bölgesine yapışması ve DNA Taq polimeraz enzimi katalizörlüğünde ortamdaki dört deoksiniükleotid trifosfatın (adenin, guanin, sitozin, timin) yeni zincire

eklenmesi sonucunda ilgili gen bölgelerin çoğaltılması temeline dayanmaktadır. Bu çalışmada izole edilen DNA'larda Siklin D1 genindeki A870G polimorfizmi belirlemek için PCR yöntemi kullanılarak genotipleme yapıldı. Bunun için PCR karışımı hazırlandı. Yaklaşık 25 µl'lik PCR karışımı 0,2 ml'lik PCR tüpünde aşağıdaki sıra ile karıştırıldı (Tablo-1).

Siklin D1 genindeki A870G polimorfizmi içeren 212 baz çiftlik bölgeyi çoğaltmak için F: 5'- AGTTCATTTC CAATCCGCCC -3' ve R: 5'- TTTCCGTGGCAC TAGGTGTC -3' primerleri kullanıldı (41).

Tüplerde bulunan reaksiyon karışımı PCR yapılmak üzere PCR cihazına yerleştirildikten sonra belirlenen program uygulandı. Siklin D1 genindeki A870G polimorfizmi için PCR döngü programı olarak Tablo-2'de belirtilen sıcaklık ve süreler kullanılarak PCR işlemi PCR cihazında gerçekleştirildi.

Tablo-1: PCR karışımı için kullanılan malzemeler ve miktarları.

1. dNTP (10 mM)	0,4 µL
2. 10x PCR Buffer (Magnezyumlu)	3,0 µL
3. 10 pmol/ml primer forward	1,0 µL
4. 10 pmol/ml primer reverse	1,0 µL
5. dH ₂ O	16,0 µL
6. Genomik DNA	3,0 µL
7. Taq polimeraz enzimi (5 ünite/µl)	0,2 µL

Tablo-2: PCR Döngü Programı.

Kapak sıcaklığı, (cihaz tipine özel)	103°C	
1. Başlangıç denatürasyonu	94°C	5 dakika
2. Denatürasyon	94°C	1 dakika
3. Sertleştirme	60°C	1 dakika
4. Uzatma	72°C	1 dakika
5. SonUzatma	72°C	10 dakika
*2,3 ve 4 işlemler sırasıyla 38 siklus		

IV.C. Jel Elektroforez Protokolü

Agaroz jel elektroforezi, DNA ve PCR ürünlerinin ayrılması ve tanımlanması için kullanılan standart metotlardan biridir. Bu çalışmada PCR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için %2'lik agaroz jel elektroforezi uygulandı. %2'lik jel hazırlanması için 5 ml 10xTris-Borik Asit-EDTA (TBE) solüsyonu 45 ml dH₂O ile beher içinde karıştırıldı. Karışımın içine 1 gr agaroz eklendi. Çözelti mikrodalga fırında “medium” ayarında agaroz çözününceye kadar ısıtıldı. Eriyen jel içine 5 µl etidyum bromid eklenerek karıştırıldı. Jel, elektroforez aparatına dökülerek soğumaya bırakıldı. Elektroforez tankı, 1xTBE ile doldurularak jel yürütme işlemine hazır hale getirildi. PCR ürünleri brom-fenol mavisini ile muamele edilerek agaroz jele yüklendi. 90-100V akımda 15 dk kadar yürütüldü.

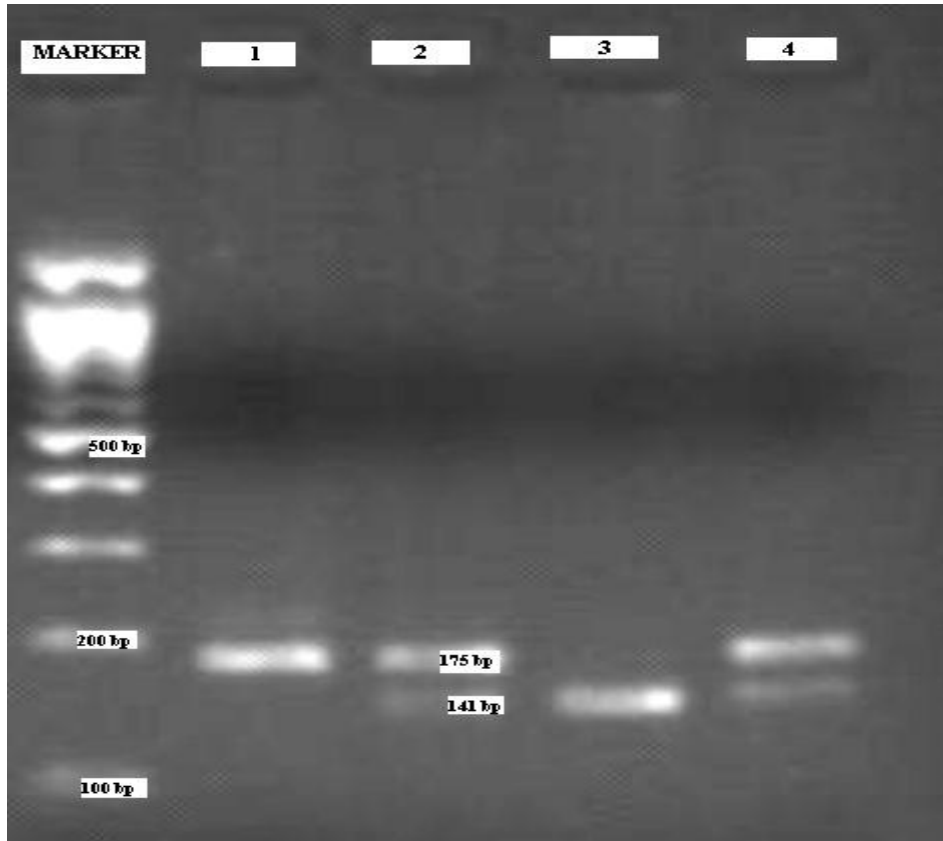
IV.D. Kısıtlama Enzim Kesimine Bırakılması

PCR reaksiyonu sonucu ürün elde edilenler genotip tayini için Msp I (Bioron, Almanya) kesim enzimi kullanıldı. 0,2 ml'lik tüplere 10 µl hacimdeki PCR ürünü, 2 µl kısıtlama enzim tamponu, 8 µl distile su ve her birey için 5 ünite/µl Msp I enzimi olacak şekilde karışım hazırlandı. Karışım enzimin optimum çalışma sıcaklığı olan 37°C'de 14–16 saat inkübasyona bırakıldı. Kısıtlama enzim kesim sonuçları %4'lük agaroz jelde değerlendirildi. Bu jel için 2 gr agaroz tartılıp 1XTBE solüsyonu ile 50 ml total hacme tamamlandı. Agaroz istenilen konsantrasyonda hazırlandıktan sonra mikrodalga fırında kaynatıldı. İçerisine 5 µl etidyum bromid ilave edildi. İyice karıştırıldıktan

sonra jel aparatına döküldü. Msp I enzimi ile kesim yapılmış ürünlere brom-fenol mavisini ile muamele edilerek jelle yüklendi. 90-100V akımda 15 dk kadar yürütüldü.

IV. E .Genotiplerin Belirlenmesi

Yürütülen ürünler ultraviyole ışığında değerlendirildi. Siklin D1 genine ait 212 bp'lik PCR ürününden 175 bp ve 37 bp iki ayrı ürün oluşursa AA genotipi, 175 bp,141 bp, 37 bp ve 34 bp dört ayrı ürün oluşursa AG genotipi ve 141 bp, 37 bp ve 34 bp şeklinde olursa ise GG genotipi olarak belirlendi. Siklin D1 genindeki A870G polimorfizminin agaroz jel görüntüsü Şekil-4 de görülmektedir.



Şekil-4: Siklin D1 genindeki A870G polimorfizmi PCR-RFLP ürünlerinin Msp I enzim kesimi sonrası %4 agaroz jeldeki görüntüsü. İlk kuyucuk 100 bp DNA ladder (Marker), 1 nolu kuyucuk A/A genotipine, 2 ve 4 nolu kuyucuklar A/G genotipine ve 3 nolu kuyucuk ise G/G genotipine sahip bireyleri göstermektedir.

V. İstatistiksel Analiz

Hastalara ait yaş, cinsiyet, prolaktinoma tanı yaşı, tanı sırasındaki serum prolaktin düzeyi ve tümör boyutu, son prolaktin düzeyi ve tümör boyutu, tümör davranışı, kavernöz sinüs invazyonu, Ki67 indeksi, tedavi yanıtı, CyD1 geni genotipi ve allel oranları değişkenler olarak kullanıldı. İstatistiksel analizlerin yapılması amacıyla Uludağ Üniversitesi Bilgi İşlem ağ sisteminde bulunan SPSS 17 (IBM SPSS Statistics, IBM Corporation, NY, USA) programı kullanıldı. Demografik ve klinik veriler ile ilgili olarak yapılan tanımlayıcı istatistiklerde aritmetik ortalamalar, standart sapmalar (ortalama değerin yanında “±” işareti ile birlikte) veya yüzde oranları verildi. Moleküler analiz verilerinin 3 ayrı genotip ve allel oranları için toplam ve gruplar bazında yüzde oranları belirlendi. Gruplara ait verilerin parametrik istatistik testlerine uygunluğunun incelenmesi amacıyla Kolmogorov-Smirnov normal dağılım testleri uygulandı. Buna göre invazif ve noninvazif grupta yaş verilerinin normal dağılıma uyması nedeniyle gruplar arasında yaş ortalamalarının değerlendirilmesinde bağımsız T testi kullanıldı. Diğer veriler parametrik test koşullarını karşılamadığından non parametrik testler kullanıldı; gruplar arasında kategorik verilerin karşılaştırmalarında ki kare testi, gruplarda sürekli verilerin karşılaştırmalarında ise Kruskal -Wallis ve Mann Whitney U varyans analizi testleri kullanıldı. Sürekli veriler arasındaki ilişkinin incelenmesi amacıyla Pearson korelasyon analizi, sürekli ve kategorik değişkenler arasındaki ilişkinin incelenmesi amacıyla da Spearman korelasyon analizi uygulandı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 113 hastanın erkek/kadın oranı 27/86 ve tanı aldıkları yaş ortalamaları 34.4 ± 10.0 (16-70) yıl idi. Erkek hastalarda tanı yaşı ortalaması 40.3 ± 12.6 (19-70), kadın hastalarda ise 32.6 ± 8.3 (16-60) bulundu. Tüm hastalarda adenom boyutu ortalaması 17.9 ± 18.1 (2-80) mm bulunurken erkek hastalarda 38.6 ± 21.6 (3-80) mm ve kadın hastalarda 10.8 ± 9.4 (2-45) mm olarak tesbit edildi. Hastaların %54'ünde hipofiz tümörü makroadenom (dev adenomlar dahil) boyutundaydı. Opere edilen hasta oranı %44.3 olarak tesbit edilirken erkek hastalarda %85.2 opere edilen hasta oranı mevcuttu. Erkek ve kadın hastalar arasında tanı yaşı, adenom boyutu ortalamaları, makroadenom oranı, opere edilen hasta oranı açısından saptanan farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo-3).

Tablo-3: Olguların cinsiyete göre genel özellikleri.

	Toplam	Erkek	Kadın	p
Hasta sayısı (n)	113	27	86	
Yaş (yıl)	40.8 ± 10.1	45.1 ± 12.1	39.5 ± 9.0	0.011
Tanı yaşı (yıl)	34.4 ± 10.0	40.3 ± 12.6	32.6 ± 8.3	<0.01
Adenom boyutu (mm)	17.9 ± 18.1	38.6 ± 21.6	10.8 ± 9.4	<0.01
Makroadenom (%)	54.0	85.2	44.2	<0.01
Dev adenom (%)	14.2	48.1	3.5	<0.01
İnvazif (%)	39.8	81.5	26.7	<0.01
Opere oranı (%)	44.3	74.1	34.9	<0.01

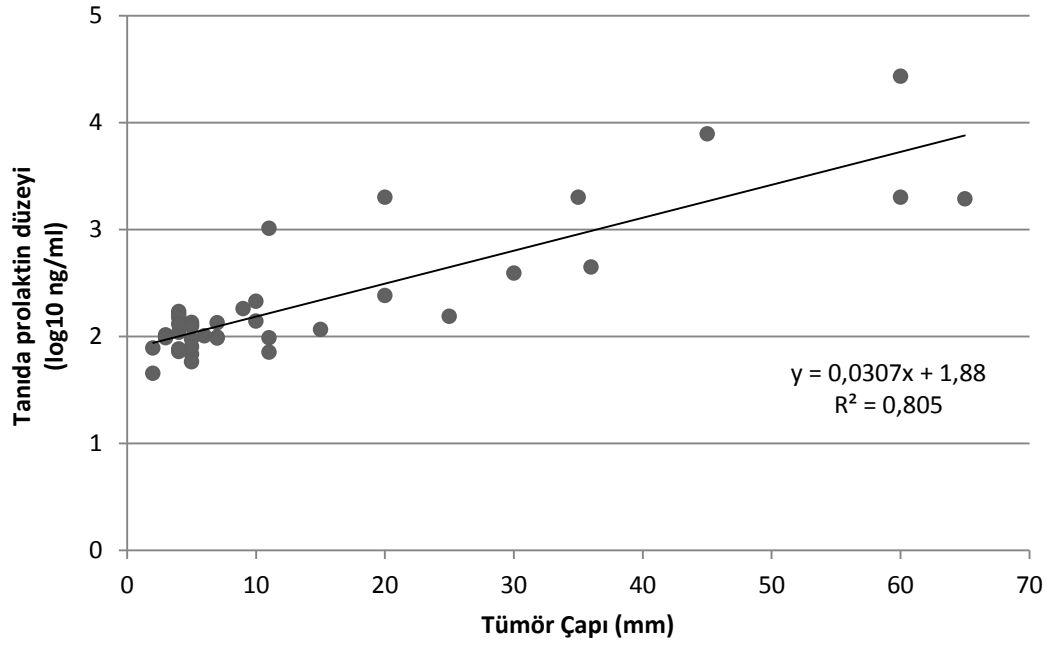
Makroadenomlara ait oranlar dev adenomları da içermektedir.

Hardy sınıflaması ve radyolojik görüntüleme sonuçlarında kavernöz sinüs invazyonu bulgusuna dayanarak yapılan guruplandırma ile 68 hasta (%60.2) noninvazif gurupta yer alırken 45 hasta (%39.8) invazif gurupta yer aldı. Erkek hastalarda invazif hipofiz adenomu oranı kadın hastalara göre

anlamli olarak yüksek tesbit edildi (%81.5 & %26.7) (Tablo-3). Noninvazif grupta tanı yaşı ortalaması 32.3 ± 7.9 (16-54) yıl, erkek kadın oranı 5/63 iken invazif grupta tanı yaşı ortalaması 37.6 ± 12.0 (18-70) yıl, erkek kadın oranı 22/23 olarak tespit edildi. İnvazif olan ve olmayan grupların yaş ortalamaları ve cinsiyet oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Ancak cinsiyete göre alt gruplar değerlendirildiğinde tanı yaşları açısından invazif ve noninvazif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmedi (Tablo-4).

Tedavi öncesi adenom çapı ortalaması 27.81 ± 53.44 mm (2-80 mm), idi. Noninvazif grupta 20.70 ± 22.90 mm(2-25 mm), invazif grupta 38.48 ± 79.07 mm(10-80 mm) olarak tespit edildi. Tedavi öncesi serum prolaktin düzeyleri tüm hastalarda ortalama 1926 ± 6662 ng/ml (%5 uç değerler çıkarıldıktan sonra ortalama: 650.8 ng/ml), noninvazif grupta 124.8 ± 63.4 ng/ml, invazif grupta 4675 ± 10049 ng/ml (%5 uç değerler çıkarıldıktan sonra ortalama: 2938 ng/ml) olarak tespit edildi. Noninvazif ve invazif gruplar arasında tümör boyutu ve serum prolaktin düzeylerine ait farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo-4). Ayrıca korelasyon analizinde tedavi öncesi serum prolaktin düzeyleri ile tümör boyutu, arasında pozitif korelasyon tesbit edildi. Prolaktin düzeylerinin (ng/ml) log10 değerleri ile tümör boyutu (mm) arasında uygulanan korelasyon analizinde korelasyon katsayısı 0.805 bulundu (Şekil-5).

Histopatolojik inceleme sonucunda Ki67 indeksleri çalışılmış olan 31 hasta incelendiğinde 14 hastada (%45.2) yüksek proliferasyonu gösteren değerler ($Ki67 \geq 0.03$) tespit edilirken 17 hastada (%54.8) $Ki67 \text{ indeks} < 0.03$ saptandı. Noninvazif grupta yer alan hastalarda $Ki67 \geq 0.03$ olan hasta oranı %37.5 iken invazif grupta yer alan hastalarda bu oran %47.8 olarak tespit edildi. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo-4).



Şekil-5: Tedavi öncesi prolaktin düzeyi ve tümör boyutları arasında korelasyon.

Yüz on üç hastanın 50 sinde operasyon uygulanmıştı. Üç hastada ise nüks sonrasında ikinci operasyon mevcuttu. Opere edilen toplam 50 hastanın 12'si (%24) noninvazif grupta yer alırken diğer 38 hasta (%76) invazif gruptaydı. Tekrar opere edilen 3 hasta da invazif grupta yer aldı. Opere olan ve olmayan hasta oranları açısından iki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunmasına karşın, operasyon endikasyonu ile ilgili olarak arşiv dosyalarında yeterli bilgi olmaması nedeniyle hastaların opere edilmiş olması tümör davranışı ile ilişkilendirilmedi.

Tablo-4: Adenomların invazif olup olmamasına göre hastaların prolaktinoma tanısı aldıkları yaşları, erkek cinsiyeti oranları, opere olma ve Ki67 boyanma oranları.

	Toplam	Noninvazif	İnvazif	p
Hasta sayısı (n)	113	68	45	
Erkek oranı (%)	23.9	7.4	48.9	<0.01
Tanı yaşı (yıl)	34.4 ± 10.0	32.3 ± 7.9	37.6 ± 12.0	0.011
Erkek tanı yaşı (yıl)	40.3 ± 12.6	40.4 ± 9.5	40.3 ± 13.4	AD
Adenom boyutu (mm)	17.9 ± 18.1	6.8 ± 3.8	34.7 ± 18.4	<0.01
Prolaktin (ng/ml)	1927 ± 6662	124.8 ± 63.4	4675 ± 10049	<0.01
Opere hasta (%)	44.3	17.6	84.4	<0.01
Erkek opere (%)	74.1	20	86.4	0.013
Ki67*	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.03	AD
Ki67≥%3 [n/n (%)]*	14/31 (45.1)	3/8 (37.5)	11/23 (47.8)	AD

* Ki67 değeri olan 31 hastada
AD: Anlamlı değil

Tanı sırasında çekilen sella MR görüntülemelerinde hastaların %46'ında mikroadenom, %54'ünde makroadenom (dev adenomlar dahil) ve %14.2'sinde dev adenom saptandı. Mikroadenom, makroadenom ve dev adenomlarda tanı yaşı, erkek cinsiyet oranları, tümör boyutu, prolaktin düzeyleri, operasyon oranları ve Ki67 indeksine ilişkin veriler Tablo-5'te özetlenmiştir.

Mikroadenomların tamamı noninvazif grupta yer alırken makroadenomların %37.2'si noninvazif, %62.8'i invazif grupta yer aldı. Hastaların %25.2'sinde (n: 28) tek veya çift taraflı kavernoöz sinüs invazyonu mevcuttu ve sınıflandırmada da belirtildiği gibi bu hastaların tümü invazif grupta yer aldı. İnvazif grupta yer alan hastalar arasında kavernoöz sinüs invazyonu saptanan hasta oranı ise %65.1 olarak tespit edildi.

Tablo-5: Adenomların mikro, makro veya dev adenom olmasına göre hastaların prolaktinoma tanısı aldıkları yaşları, erkek cinsiyeti oranları ve opere olma ve Ki67 boyanma oranları.

	Mikro	Makro	Dev	p
Hasta sayısı (n)	52	45	16	
Erkek oranı (%)	8.2	23.3	81.3	<0.01
Tanı yaşı (yıl)	33.7 ± 8.2	33.7 ± 8.8	40.3 ± 15.8	0.374
Erkek tanı yaşı (yıl)	41.5 ± 10.6	39.4 ± 8.9	40.6 ± 15.9	0.940
Adenom boyutu (mm)	5.1 ± 1.7	18.8 ± 8.9	53.8 ± 13.4	<0.01
Prolaktin (ng/ml)	119 ± 59	1998 ± 8013	7793 ± 9996	<0.01
Opere hasta (%)	8.2	69.7	87.6	<0.01
Erkek opere (%)	0.0	90.0	84.6	<0.01
Ki67*	0.01 ± 0.00	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.211
Ki67 ≥ %3 [n/n (%)]*	0/3 (0.0)	9/18 (50.0)	5/10 (50.0)	0.255

* Ki67 değeri olan 31 hastada
Dev adenomlar makroadenomlara dahil edilmemiştir.

Cerrahi ve dopamin agonisti tedavisine verdiği yanıtlar değerlendirdiğinde noninvazif ve invazif guruplarda tümör boyutunda azalma oranları ortalama %60.8 ve %80.4 bulunurken, prolaktin düzeyinde azalma oranları ortalama %81.1 ve %93.8 olarak tesbit edildi. Prolaktin seviyelerinde düşme açısından ve adenom boyutundaki değişiklik açısından İnvazif adenomlarda değişim yüzdeleri invazif olamayan adenomlara göre anlamlı derecede yüksek saptandı (Tablo-6). Tedavi yanıtları Ki67 hücre proliferasyonu indeksi açısından değerlendirildiğinde ise Ki67 indeksi yüksek ve düşük guruplar arasında tümör boyutu değişimi veya prolaktin düzeyi değişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmedi (Tablo-7).

Tablo-6: Noninvazif ve invazif adenomlarda tedavi yanıtları.

	Noninvazif (n: 68)			İnvazif (n: 45)			p
	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	Değişim oranı (%)	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	Değişim oranı (%)	
Tümör Boyutu (mm)	20.7 ± 22.9	2.33 ± 2.3	60.8	38.4 ± 79.0	7.49 ± 13.5	80.4	0.02
PRL Düzeyi (ng/ml)	124 ± 63	6.8 ± 3.8	81.1	4675 ± 10049	34 ± 18	93.8	<0.01

PRL: Prolaktin

Tablo-7: Ki67 indeksi proliferatif grupta olan ve olmayan hastalarda tedavi sonuçlarının karşılaştırılması

	Ki67 < % 3 (n: 17)			Ki67 ≥ % 3 (n: 14)			p
	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	Değişim oranı (%)	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	Değişim oranı (%)	
Tümör Boyutu (mm)	26.0 ± 16.5	8.3 ± 15.1	75.1	27.9 ± 18.2	6.2 ± 15.6	86.3	AD
PRL Düzeyi (ng/ml)	3465 ± 7075	29 ± 38	88.9	4744 ± 14269	49 ± 107	83.8	AD

PRL: Prolaktin

Çalışmaya alınan tüm hastalarda siklin D1 geni (CCND1) A870G polimorfizmi araştırıldı. Buna göre 15 (%13.3) hastada GG genotipi saptanırken 58 (%51.3) hastada GA ve 40 (%35.4) hastada AA genotipi tespit edildi. Noninvazif grupta GG, GA ve AA genotip oranları sırası ile %11.8, %55.9 ve %32.4 olarak saptanırken, invazif grupta tespit edilen GG, GA ve AA genotip oranları sırası ile %15.6, %44.4 ve %40.0 olarak bulundu. İnvazif grupta AA genotipi oranı noninvazif guruba göre daha yüksek saptanmasına karşın, gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Aynı şekilde yalnız AA genotip oranları da iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Noninvazif ve invazif grupta A allelinin toplam allel içindeki oranları sırası ile %60.3 ve %62.2, G allellerinin toplam allel içindeki oranı sırası ise %39.7 ve %37.7 olarak tespit edildi. Toplam alleller içinde A/G oranı noninvazif grupta 1.52, invazif grupta ise 1.65 olarak tespit edildi. İnvazif grupta A allellerinin sayısı noninvazif gruba göre hafifçe yüksek bulunmakla beraber bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo-8).

Tablo-8: Noninvazif ve invazif gruplarda siklin D1 geni genotip ve allel oranları.

	Noninvazif	İnvazif	P
GG %	11.8	15.6	
GA %	55.9	44.4	AD ^a AD ^b
AA %	32.4	40.0	
A %*	60.3	62.2	AD
G %*	39.7	37.8	AD
A/G **	1.52	1.65	AD

* A ve G allel sayılarının tüm allel sayısına (n: 226) oranları.

** A allel sayısının G allel sayısına oranı.

a, İki grup arasında ve tüm genotip alt grupları birlikte değerlendirildiğinde.

b, İki grup arasında ve AA genotip oranları değerlendirildiğinde.

Adenom boyutuna göre yapılan sınıflandırmada AA genotipi mikroadenomu olan hastalarda 18/49 (%36.7), makroadenomu olan hastalarda 14/43 (%32.6) ve dev adenomu olanlarda 7/16 (%43.8) bulundu. Guruplar arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi. AA genotip oranları kavernöz sinüs invazyonu olan hastalarda 10/28 (%35.7), olmayan hastalarda 29/83 (%34.9) idi ve aralarındaki fark anlamlı değildi. Guruplar Hardy sınıflamasına göre veya Ki67 indeksi 0.03'ün altında ve üzerinde olmasına göre ikili olarak guruplandırıldığında genotip oranları arasında istatistiksel karşılaştırmalarda anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo-9).

Tablo-9: Tümör özelliklerine göre siklin D1 geni genotip guruplarının dağılımı.

	GG	GA	AA	p
Adenom boyutu mikro / makro / dev	6/52(%11.5) 7/45 (%15.6) 2/16 (%12.5)	28/52 (%53.8) 23/45 (%51.1) 7/16 (%43.8)	18/52 (%34.6) 15/45 (%33.3) 7/16 (%43.8)	AD
Kavernöz sinüs invazyonu var / yok	5/28 (%17.9) 10/85 (%11.8)	13/28 (%46.4) 45/85 (%52.9)	10/28 (%35.7) 30/85 (%35.3)	AD
Ki67 ≥ 0.03 / <0.03	2/17 (%11.8) 1/14 (%7.1)	9/17 (%52.9) 7/14 (%50.0)	6/17 (%35.3) 6/14 (%42.9)	AD
Hardy sınıflaması I-II / III-IV	10/73 (%13.6) 5/40 (%12.5)	39/73 (%53.4) 19/40 (%47.5)	24/73 (%32.8) 16/40 (%40.0)	AD
Hardy sınıflaması A-B-C / D-E	9/77 (%11.6) 6/36 (%16.6)	43/77 (%55.8) 15/36 (%41.6)	25/77 (%32.4) 15/36 (%41.6)	AD

AD: Anlamlı değil
Dev adenomlar makroadenomlara dahil edilmemiştir.

Tüm guruplar incelendiğinde AA genotipinin en sık olarak rastlandığı gurup %43.8 oranı ile dev adenomu olanlar, GG genotipinin en sık rastlandığı gurup kavernöz sinüs invazyonu olan hastalar ve GA genotipinin en sık rastlandığı gurup mikroadenomu olan hastaların oluşturduğu guruplardı (Tablo-9).

Siklin D1 genotip alt guruplarında yaş, prolaktinoma tanı yaşı, adenom boyutu ortalamaları ile prolaktin düzeyi ortalamaları karşılaştırıldı. Genotip alt guruplarında bu parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmedi (Tablo-10).

Tablo-10: Siklin D1 geni genotip guruplarında yaş, tanı yaşı, adenom boyutu ve prolaktin düzeyi ortalamaları.

	GG	GA	AA	p
Tanı Yaşı	36.5 ± 11.6	33.0 ± 9.3	35.7 ± 10.3	AD
Tümör Boyutu (mm)	19.2 ± 18.0	16.4 ± 17.3	19.3 ± 19.6	AD
Prolaktin (ng/ml)	1324 ± 3645	2249 ± 8031	1694 ± 5381	AD

AD: Anlamlı değil

Son olarak siklin D1 genotip gurupları arsında adenom boyutu ve prolaktin düzeyi değişimi açısından tedavi yanıtı farklılıkları değerlendirildi. Her üç gurup arasında tedavi yanıtında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tesbit edilmedi (Tablo-11).

Tablo-11: Siklin D1 geni genotip gruplarında adenomların tedavi yanıtları.

	GG (n: 15)			GA (n: 58)			AA (n: 40)			p
	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	Değişim (%)	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	Değişim (%)	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	Değişim (%)	
Tümör boyutu (mm)	19.2 ±18.0	3.2 ±3.5	64.6	16.4 ±17.3	3.9 ±8.4	67.0	19.3 ±19.6	5.6 ±11.4	72.9	0.7
PRL seviyesi (ng/ml)	1324 ±3645	46 ±84	88.9	2249 ±8031	29 ±58	83.8	1694 ±5381	18 ±20	88.4	0.7

PRL: Prolaktin

TARTIŞMA VE SONUÇ

Prolaktinomalar hipofiz adenomları arasında %60 ile en sık rastlanan tümörlerdir. Çoğunlukla benign seyirli olan bu tümörlerin farklı biyolojik davranış özellikleri nedeni ile tanı sırasındaki tümör boyutu ve tedavi yanıtları açısından farklılıklar göstermektedir. Prolaktin salgılayan hipofiz adenomları genelde dopamin agonistlerine çok iyi yanıt vererek hem serum prolaktinin normal seviyelere gelmesini sağlayarak hipogonadizm bulgularının iyileşmesine, hem de adenom boyutunun küçülmesini sağlayarak baskı bulgularının ortadan kalkmasına neden olurlar. Nadir olarak ise prolaktinomalar dopamin agonisti tedavisine direnç gösterirler ve istenilen bu sonuçlar elde edilemez. Prolaktinomalarda agresif davranışa yol açan mekanizmalar ve agresif davranışı tanımlayan özellikler net olarak belirlenememiştir.

Radyolojik görüntüleme bulgularına göre yapılan sınıflandırma (invazif-noninvazif, mikro-makro-dev adenom), tümörün histopatolojik incelemesinde saptanan hücre proliferasyonu göstergeleri (Ki67 indeksi, P53, PCNA) ve tümör biyolojik davranışını etkileyen diğer hücresel mekanizmalara ait değişikliklerin, agresif tümör davranışını göstermedeki belirleyiciliği açıklık kazanmamıştır. Çalışmamızda ilk olarak bu hücresel mekanizmalar içinde yer alan siklin D1 proteininin düzenlenmesinde etkili görünen CCND1 geni polimorfizminin, prolaktinomalarda tümör davranışı üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışma hastalarımız radyolojik görüntüleme bulgularına göre ve opere olan hastalar Ki67 indeksi verilerine göre agresif davranış özelliklerini göstermeye yönelik sınıflandırılmış ayrıca tedavi öncesi ve son kontroldeki adenom boyutları ve serum prolaktin düzeylerine göre tedavi yanıtları da gruplar arasında değerlendirmeye alınmıştır.

CyD1 geni (CCND1) insan tümörlerinde sık etkilendiği gösterilen proto-onkogenler arasında yer almaktadır. CCND1 geninde veya pRb-p16-CyD1-CDK4 yolağını etkileyen diğer genlere ait değişiklikler sonucunda

CyD1'in aşırı ekspresyonu ve bunun sonucunda oluşan peptid yapıdaki faktörler G1-S fazı geçişini ve hücre proliferasyonunu arttırmaktadır. Bir çok farklı tümör çeşidinde CyD1'in aşırı ekspresyonu veya CCND1 geninde CyD1 lokusunda amplifikasyon olduğu gösterilmiştir (15-20). CyD1 proteininin aşırı ekspresyonu meme, safra kesesi ve küçük hücre dışı akciğer kanserlerinde iyi prognozla, baş boyun kanserlerinde ise kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (DD). CyD1 proteininde artışa yol açan bir diğer mekanizma CCND1 geni nükleotid870 gen polimorfizmidir. CyD1 proteininin a ve b alt tipleri bulunmakta ve b alt tipi degradasyona, a tipine göre daha fazla direnç göstermektedir. A allellerinin CyD1b proteini oluşumu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (21). CyD1 polimorfizminin bazı tümörlerde prognozla ilgili olabileceği bildirilmiştir, ancak çelişkili sonuçlar da mevcuttur; bir çalışmada meme kanserinde kötü prognoz kriteri olduğu öne sürülmüş ancak başka bir çalışmada ise meme kanseri ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (42, 43).

Hipofiz adenomlarında CyD1'in etkisi ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. İlk olarak ratlarda yapılan bir çalışmada normal hipofiz dokusunda CyD1 ekspresyonunun %20-30 civarında olduğu ve daha çok stromal hücreler ve nonsekretuar hücreler tarafından eksprese edildiği bildirilmiştir. Adenomatöz rat GH3 hücrelerinde ise CyD1 ekspresyonunun olmadığı ve hücre nükleuslarına CyD1 uygulandığında hücre proliferasyonu ve apoptozun arttığı bildirilmiştir (44). Buna karşın Hibberts ve ark. (45) ile Simpson ve ark. (46) tarafından yapılan çalışmalarda insan hipofiz dokusunda CyD1 ekspresyonunun olmadığı bildirilirken büyüme hormonu salgılayan ve nonsekretuar hipofiz adenomlarında ise %30-60 oranında artmış bir CyD1 ekspresyonu saptandığı bildirilmiştir. Jordan ve ark. (35) tarafından büyüme hormonu, prolaktin, ACTH salgılayan ve nonsekretuar hipofiz adenomları ile beraber normal hipofiz dokusunda da nükleer CyD1 ekspresyonunun olduğu, agresif ve nonfonksiyone hipofiz adenomlarında CyD1, Cushing hastalığında ise CyE'nin aşırı ekspresyonunun gösterildiği bildirilmiştir. Saeger ve ark.'nın (47) yaptığı başka bir çalışmada ise klinik olarak inaktif 60 hipofiz adenomunda immünohistolojik yöntemle bakılan CyD1 ve CyD3 pozitifliği incelenmiştir. Bu çalışmada sadece bir invazif adenomda

CyD1 pozitifliği saptanırken CyD3 ekspresyonu %68 oranında nükleer olarak pozitif bulunmuş ve topoizomeraaz II alfa, P53 ve Ki67 indeksi gibi proliferasyonu belirleyicileri ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Daha yakın dönemde Türkiye'den Gazioğlu ve ark.'nın (38) yaptığı çalışmada 130 hipofiz adenomu olgusunda kontrol grubu ile CyD1 genotip, allel oranları karşılaştırılmış ve ayrıca 39 olguda CyD1 ekspresyonu incelenmiştir. CyD1 ekspresyonu 21/39 hastada %1 ile %40 arasında değişen oranlarda saptanmış, GA genotipi olanlarda ve prolaktin salgılayan tümörlerde CyD1 ekspresyonunun daha yüksek oranda saptandığı belirtilmiştir.

Hipofiz adenomlarında CyD1 gen polimorfizmi ile yapılan çalışmalar Hibberts (45), Simpson (37) ve Gazioğlu ve ark.'nın (38) yaptığı çalışmalardır. Hibberts ve ark.'nın (45) yaptığı 151 sporadik hipofiz adenomu (60 somatotrapinoma, 96 nonsekretuar adenom) ile yapılan çalışmada tümör dokusu ve periferik kanda bakılan A/G polimorfizmi ile beraber amplifikasyon göstergesi olarak tümör dokusu ve periferik kandaki allel yoğunluk farklılıkları (allel imbalansı) ve CyD1 ekspresyonu incelenmiştir. Allel imbalansı ile invazif tümörler arasında bir ilişki saptanırken, CyD ekspresyonu ile allel imbalansı arasında korelasyon tesbit edilmediği bildirilmiş ve CyD aşırı ekspresyonunda farklı mekanizmaların rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca CyD ekspresyonu ile tümör davranışı arasında da bir ilişki olmadığı belirtilmiş ve aşırı CyD ekspresyonunun hipofiz tümörlerinde erken evrelerde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Bu çalışmada hipofiz tümörlerinde gen polimorfizmi açısından kontrol grubu ile anlamlı farklılık tesbit edilmemiştir.

Simpson ve ark.'nın (37) yaptığı çalışmada 294 (155 nonsekretuar adenom, 75 somatotrapinoma, 47 kortikotrapinoma, 57 prolaktinoma) hipofiz adenomunda CyD1 gen polimorfizmi kontrol grubu ile karşılaştırılmış, ayrıca gen polimorfizminin tümör davranışına etkisi incelenmiştir. Tüm olgular incelendiğinde allel sıklığı ve genotip dağılımı açısından tümör grubu ile kontrol grubu arasında fark saptanmamış, yalnız somatotrapinoma alt grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark tesbit edilmiştir. Ancak bu çalışmada tümör alt gruplarına bağlı olmaksızın tümör derecesi ile allel sıklığı arasında anlamlı farklılık tesbit edilmiştir. A allel sıklığının ve AA genotip oranının

tümör derecesi arttıkça arttığı ve G allel sıklığı ile GG genotip oranının da azaldığı bildirilmiştir. Tümör alt gurupları açısından bakıldığında bu bulgunun yalnız prolaktinoma alt grubunda istatistiksel olarak anlamı olduğu, somatotrapinoma ve kortikotropinomalarda fark olmakla beraber istatistiksel anlamlı fark oluşmadığı ve nonsekretuar adenomlarda böyle bir bulgunun olmadığı bildirilmiştir.

Gazioğlu ve ark. (38) tarafından Türkiye’de yapılan çalışmada 130 sporadik hipofiz adenomu olgusunun (46 somatotrapinoma, 41 prolaktinoma, 19 kortikotropinoma, 17 nonsekretuar adenom, 1 TSH salgılayan adenom, 6 miks hormon salgılayan adenom) genotip dağılımı 129 sağlıklı kontrol ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada genotip dağılımının kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği ancak genotip dağılımının tümör alt gurupları arasında, invazif/noninvazif tümörler arasında ve mikroadenom/makroadenomlar arasında anlamlı farklılık tesbit edilmediği bildirilmiştir. Allel sıklıkları açısından da tümör grubu ile kontrol grubu arasında, tümör alt gurupları arasında ve invazif/noninvazif guruplar arasında anlamlı fark tesbit edilmediği belirtilmiş ve CCND1 polimorfizminin tümör volümü ve invazif davranış özelliği ile körele olmadığı ve prognostik faktör olarak kullanılamayacağı ileri sürülmüştür.

Çalışmamızda daha önceki veriler değerlendirildiğinde CCND1 polimorfizminin etkileme olasılığı daha yüksek gibi görünen prolaktinomalar hedeflenmiş ve prolaktinoma açısından bakıldığında en yüksek olgu sayısı ile çalışma tamamlanmıştır. Çalışmamızda genotip dağılımları ve allel sıklıklarının tümör davranışı ile ilişkisinin incelenmesi amaçlanmış ve kontrol grubu ile karşılaştırma yapılmamıştır. 113 olgunun (68 non-invazif, 45 invazif gurup) genotip dağılımları ve allel sıklıkları önceki çalışmalardaki değerler ile birlikte Tablo-12 de belirtilmiştir. Buna göre bizim çalışmamızda AA genotip oranı ve A allel sıklığı diğer çalışmalara göre yüksek oranda görünmektedir.

Tablo-12: Prolaktinomaları kapsayan üç çalışmada CCND1 genotip dağılımları ve allel sıklıkları.

	n	AA n (%)	GA n (%)	GG n (%)	A allel %	G allel %
Simpson (37)	57*	13 (23)	26 (46)	18 (32)	46	54
Gazioğlu (38)	41*	7 (17)	30 (73)	4 (10)	54	46
Cander	113	40 (35)	58 (51)	15 (14)	61	39

* Prolaktinoma alt guruplarına ait veriler.

Çalışmamızda invazif/noninvazif guruplar ve mikro/makro/dev adenom gurupları arasında genotip dağılımları ve allel sıklıkları açısından istatistiksel anlamlı farklılık tesbit edilmemiştir. Dev adenomlarda AA genotipinin diğer guruplara göre hafif yüksek olarak gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık tesbit edilmemiştir. İnvazif adenomlarda A allel sıklığı noninvaziflere göre hafifçe yüksek olmasına karşın bu fark ta istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Simpson (37) ve Gazioğlu (38) prolaktinoma dahil tüm hipofiz adenomlarında genotip dağılımlarını çalışmışlardır. Aralarından prolaktinomalar ayırt edilerek yapılan değerlendirmede Gazioğlu çalışmasında invazyon derecesi ile genotip dağılımları ve allel sıklıkları açısından anlamlı farklılık görülmemektedir. Simpson ve ark.'nın (37) çalışmasında ise invazif prolaktinomalı hastaların AA genotip ve A allel sıklığı anlamlı şekilde daha fazla olduğu görülmektedir. Her iki çalışmada da invazif ve noninvazif tümör ayırımında bizim çalışmamızda kullanılan kriterlerle benzer kriterler kullanılmıştır. Ancak bu iki çalışmada hastaların klinik özellikleri (tanı yaşı, prolaktin düzeyi, tümör boyutu gibi) ile ilgili değerlendirme bulunmamaktadır.

Çalışmamızda CCND1 genotip dağılımının, tedavi yanıtı, kavernoöz sinüs invazyonu varlığı, Ki67 indeksi, cinsiyet gibi prognozu etkileyen diğer faktörlerle ilişkisi de incelenmiş ve genotip dağılımları açısından belirtilen

karşılaştırmalarda anlamlı farklılık tesbit edilmemiştir. Simpson (37) ve Gazioğlu (38) çalışmalarında bu bulgularla ilgili bir veri bulunmamaktadır. Bahsedilen karşılaştırmalarla ilgili literatürde veri mevcut değildir ancak bu bulgular çalışmamızda ve Gazioğlu ve ark.'nın (38) çalışmasında da tesbit edildiği gibi CCND1 polimorfizminin prognozda önemli bir rol oynamadığı veya ancak minimal bir rol oynayabileceği düşüncesini güçlendirmektedir.

Çalışmamızda prolaktin salgılayan adenomlarda invazyon manyetik rezonans görüntüleme özelliklerine göre belirlenmiş olmasına karşın invazif olan ve olmayan grupta serum prolaktin seviyeleri de çok anlamlı farklılık gösterdi. Tedavi öncesi ortalama serum prolaktin seviyeleri noninvazif ve invazif grupta sırası ile 38.4 ± 79.0 ve 4675.8 ± 10049.2 ng/ml bulundu. Tanı öncesi ortalama prolaktin seviyeleri ile tümör boyutu arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon tesbit edildi (R: 0.805, $p < 0.01$). Çalışmamızda tesbit ettiğimiz bulgular beklenildiği üzere serum prolaktin düzeylerinin tümör davranışını belirlemede önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. Lundin ve ark.'nın (48) 115 hipofiz makroadenomu olgusunda yaptığı çalışmada MR görüntülemesinde tümör boyutu ve invazifliği hormonal aktivite ile değerlendirilmiş ve en güçlü korelasyon prolaktinomalı hastalarda tümör boyutu ve prolaktin seviyesi arasında bulunmuştur. Ma ve ark.'nın (8) yaptığı çalışmada 123 prolaktinomalı hastada klinik ve patolojik özellikler değerlendirilmiş ve multiple regresyon analizinde tümör hacmi ve serum prolaktin seviyesi arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Ayrıca preoperatif prolaktin seviyelerinin kavernoöz sinüs invazyonu olan tümörlerde anlamlı olarak daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da prolaktin düzeyi ortalamaları, kavernoöz sinüs invazyonu olanlarda, olmayanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Raverot ve ark.'nın (28) yaptığı çalışmada opere olan 91 prolaktinoma hastası değerlendirilmiş ve preoperatif prolaktin seviyeleri noninvazif ve invazif adenomlarda sırasıyla ortalama 262 ± 532 ve 1633 ± 1890 µg/l bulunmuştur.

Calle-Rodrigue ve ark.'nın (7) yaptığı çalışmada preoperatif serum prolaktin seviyesi ortalamaları invazif prolaktinomalarda 705 ng/ml, noninvaziflerde ise 141 ng/ml bulunmuş ve bu çalışmada serum prolaktin

seviyesi için 3300 ng/ml eşik değerininvazif prolaktinomaları belirlemede %91 duyarlılığa sahip olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda serum prolaktin seviyesi 3300 ng/ml üzerinde olan olgular (n:8) incelendiğinde hepsinin invazif adenom sınıfına girdiği görülür. Serum prolaktin seviyesi daha düşük olan hastaların 61 tanesi invazif olmayan, 32 tanesi ise invazif gurupta olduğu görülmüştür. Serum prolaktin seviyesi 3300 ng/ml seviyesine göre duyarlılık %20, özgüllük ise %100 olarak hesaplanmıştır. Eşik değer olarak 400 ng/ml alındığında ise duyarlılık %70, özgüllük ise %100 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmamızda tümör boyutu erkek hastalarda 38.6 ± 21.6 (3-80) mm ve kadın hastalarda 10.8 ± 9.4 (2-45) mm olarak tesbit edildi. Erkek hastalarda invazif hipofiz adenomu, makroadenom, dev adenom oranları kadın hastalara göre anlamlı olarak yüksek tesbit edildi. Erkek hastalarda tanı yaşı ortalaması da kadın hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Çalışmamızdaki dev adenomların %81'i (13/16) erkek hastalardan oluşmaktadır. Delgrange ve ark.'nın (49) 96 prolaktinoma olgusu (45 erkek, 51 kadın) ile yaptığı çalışmada tümör boyutu ve proliferatif özelliklerinin cinsiyet ile ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada bazal prolaktin seviyeleri ve tümör çapının erkeklerde kadınlara göre daha yüksek olduğu ($p<0.001$) bildirilmiştir. Ma ve ark.'nın (8) yaptığı çalışmada erkek hastalarda tümör boyutu ve invazif tümör oranının anlamlı derecede daha yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Nishioka ve ark.'nın (50) 51 prolaktinomalı hasta (E/K; 16/35) ile yaptığı retrospektif çalışmada erkek hastalarda büyük tümörlerin ağırlıkta olduğu, kist ve hemoraji oluşumuna daha meyilli oldukları bildirilmiştir. Bu çalışmada ayrıca prolaktin düzeyi ve tümör boyutu arasındaki korelasyonun erkeklerde, kadınlara göre daha zayıf olduğu ancak kistik ve hemorajik kitleleri olan hastalar elimine edildikten sonra bu farkın ortadan kalktığı bildirilmiştir. Calle-Rodrigue ve ark.'nın (7) yaptığı çalışmada premenapozal, postmenapozal ve erkek prolaktinoma hastaları retrospektif olarak değerlendirilmiş ve premenapozal kadınlarda preoperatif prolaktin düzeylerinin postmenapozal kadın ve erkeklere göre daha düşük olduğu ve hormon düzeylerinin mitotik aktivite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda tesbit ettiğimiz sonuçlar beklenildiği üzere erkek cinsiyetin tümör özelliklerinde belirleyici bir faktör olduğunu göstermektedir. Ancak erkek hastalarda görülen tümör çapı ve invazifliği ile ilgili farklılığın tümör oluşumundaki farklardan mı kaynaklandığı yoksa erkek hastalarda geç tanı konmasından mı kaynaklandığı net olarak anlaşılamamıştır.

Hastalarımızda tanı konulan yaş invazif olan adenomlarda non-invazif guruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur, ancak invazif gurupta erkek hasta oranı da noninvaziflere göre yüksek bulunmuştur ve yukarda belirtildiği gibi erkek cinsiyet ile invazif tümör veya tümör boyutu arasındaki bağlantı daha geniş olarak kabul gören bir durumdur. Bu nedenle tanı yaşları cinsiyete göre alt guruplarda tümör boyutu ve invazifliği açısından değerlendirilmiş ve gerek erkek, gerekse kadın hastalar değerlendirildiğinde tanı yaşı ile tümör boyutu ve invazifliği arasındaki anlamlı fark ortadan kalkmıştır. Delgrange ve ark.'nın (49) çalışmasından tanı yaşı ve semptomların süresi ile prolaktin düzeyi ve tümör boyutu arasında bir ilişki olmadığı bildirilmiştir. Aynı yazarın başka bir çalışmasında ise erkek prolaktinoma hastalarında yaştan etkisi incelenmiş, 9 yaşlı ve 10 genç hastada bazal prolaktin düzeyleri ($3,051 \pm 4,151$ vs. $3,365 \pm 4,949$ μ /l) ve ortalama tümör çapı (30 ± 16 vs. 25 ± 13 mm) benzer bulunmuştur (51). Raverot ve ark.'nın (28) yaptığı çalışmada noninvazif gurupta (n: 61; %64.9) yaş ortalaması (preoperatif) 33.4 ± 10.9 bulunurken invazif gurupta (n: 22, %23.4) 43.3 ± 11.5 ve invazif-agresif gurupta (n: 11; %11.7) 51.5 ± 10.4 bulunmuştur. Ancak bu çalışmada cinsiyete göre alt gurupta yaş ortalamaları verilmemiştir ve invazif adenomlarda erkek cinsiyet oranı noninvazif guruba göre yüksek gözükmemektedir. Buna göre yaş faktörü invaziflik veya tümör boyutunda bağımsız bir faktör değildir, yaşla ilişkili farklılıklar erkeklerde tanı yaşının daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır.

Hipofiz adenomlarının parasellar yayılma özellikleri veya operasyon sonrasında rekürensleri ve yayılımları çok değişken olmasına karşın hipofiz karsinoması olarak adlandırılmamaktadır. Hipofiz tümörleri ancak çok nadir olarak karşılaşılan uzak organ metastazı yaptıkları zaman gerçek anlamda hipofiz kanseri olarak adlandırılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü tarafından

endokrin tümör sınıflandırmasında Ki67 indeksi ve p53 immün reaktivitesi > %3 olan hipofiz adenomları atipik adenom olarak sınıflandırılmıştır.

Thapar ve ark.'nın (52) yaptığı çalışmada 37 noninvazif adenom, 33 invazif adenom, ve 7 primer hipofiz karsinomunda Ki67 indeksleri değerlendirilmiş ve sırasıyla ortalama değerler %1.3, %4,6 ve %11,9 ($p < 0.01$) bulunmuştur. Bu çalışmada "> %3" eşik değeri ile Ki67 indeksinin invazif tümörleri noninvaziflerden ayırmada %97 duyarlılık ve %73 özgüllüğe sahip olduğu bildirilmiştir. Buna karşın Delgrange ve ark.'nın (49) yaptığı çalışmada ise 45 erkek ve 51 kadın prolaktinomali olguda invazif ve noninvazif gruplar arasında Ki67 indeksi değerleri açısından anlamlı fark tesbit edilmemiştir. Scheithauer ve ark.'nın (53) yaptığı çalışmada 153 hipofiz tümörü olgusunda tümör dokularının Ki67, PCNA indeksleri ve p53 ekspresyonları değerlendirilmiş, noninvazif ve invazif tümörler arasında anlamlı farklılık bildirilmemiştir. Paek ve ark.'nın (54) 44 hipofiz makroadenomu olgusunda yaptığı çalışmada ise yüksek Ki67 indeksinin görme alanı defekti ve tümör rekürens oranları ile korele olduğu belirtilmiş, tümör çapı, tümör derecesi, Hardy sınıflaması, kavernoöz veya sfenoid sinüs invazyonu ile ilişkili istatistiksel bir farklılık olmadığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda 31 hastanın patolojik materyallerinde Ki67 indeksi değerlendirmesi yapılabilmektedir. Bu olguların 8 tanesi noninvazif grupta, 23 tanesi ise invazif grupta yer almaktadır. Yapılan değerlendirmede noninvazif ve invazif prolaktinomalarda Ki67 indeksi ortalamaları oldukça yakın düzeyde, sırasıyla 0.033 ± 0.03 ve 0.031 ± 0.02 olarak tesbit edilmiştir. İnvazif gruptaki 3 hastanın (%37.5) ve noninvazif gruptaki 11 hastanın (%47.8) Ki67 indeksinin %3 üzerinde olduğu görülmüştür. Ayrıca Ki67 indeksi %3'ün üzerinde olan ve olmayan hastalar arasında tedavi yanıtları, siklin D1 genotip grupları dağılımları açısından anlamlı farklılık tesbit edilmemiştir. Bu sonuçlara göre Ki67 indeksinin prolaktinoma hastalarında prognostik belirleyici değeri bulunmamaktadır olarak değerlendirilmiştir. Literatürde prolaktinomali hastaların operasyon endikasyonları nadir olması nedeni ile prolaktinomali olgularda Ki67 indeksini karşılaştıran yeterli sayıda araştırmaya rastlanmamıştır. Ki67 indeksi ile tümör invazyonunu karşılaştıran

alışmalar daha çok prolaktinoma dışı veya karma guruplar üzerinde yapılmıştır. Prolaktinomalı hastalarda CyD1 geni gen polimorfizminin incelendiği Simpson ve ark. (37) ile Gazioğlu ve ark.'nın (38) alışmalarında Ki67 indeksi verileri yer almamaktadır.

Hipofiz adenomlarında tümörün davranış özelliklerini belirlemenin amacı tedavi yanıtızlığı ve rekrrrens riskini belirlemektir. Prolaktin seviyesi veya tümör boyutunda bazal değerlere göre %50'den daha az düşme sağlanması tedavi yanıtızlığı şeklinde değerlendirilmektedir (55). Çalışmamızda tedavi yanıtı bazal ve son prolaktin seviyelerindeki değişim ile adenom boyutlarındaki değişim yüzdeleri incelenerek değerlendirilmiştir. Buna göre Ki67 indeksi $\geq$ %3 olan hastalarda düşük Ki67 indeksi olan hastalara göre prolaktin seviyesi ve adenom boyutu değişimleri açısından anlamlı farklılık tesbit edilmemiştir. Aynı şekilde siklin D1 genotip gurupları arasında da prolaktin seviyesi ve adenom boyutu değişimleri açısından anlamlı farklılık tesbit edilmemiştir. Ki67 indeksi gibi hücre proliferasyon göstergeleri ile tedavi yanıtı ile ilişkili veriler ve siklin D1 genotip çalışmalarında prolaktinomalarda tedavi yanıtları ile ilgili değerlendirme bulunmamaktadır. Tümör davranışı ile tedavi yanıtı arasındaki değerlendirme sonuçları ise tutarlı değildir. Tedavi sonrası adenom boyutu değişikliği invazif adenomlar ile invazif olmayan adenomlarda karşılaştırıldığında noninvazif adenomlarda bu oran %60.8 iken invazif adenomlarda %80.4 olarak saptanmış ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Benzer şekilde tedavi ile serum prolaktin seviyesindeki değişim de invazif hastalarda anlamlı şekilde invazif olmayanlara göre daha fazladır (%93,8 ve %81,1). Wu ve ark.'nın (56) yaptığı çalışmada dev prolaktinomalarda bromokriptin tedavisi ile ortalama 37 aylık takip sresinde tümör çapında ortalama %93 küçülme saptandığı bildirilmiştir. Astaf'eva ve ark.'nın (57)yaptığı çalışmada opere olan 34 ve primer medikal tedavi (kabergolin) başlanan 23 dev prolaktinoma hastası nörolojik durum, görme fonksiyonları, hipofiz yetmezliği, prolaktin seviyeleri ve tümör boyutunda azalma açısından değerlendirilmiş ve kabergolin tedavisinin cerrahi tedaviye göre tercih edilebilir seçenek olduğu bildirilmiştir. Delgrange ve ark.'nın (58)122 makroprolaktinoma olgusu ile

yaptığı çalışmada erkek ve/veya invazif tümörlerde daha yüksek doz kabergolin ihtiyacı olduğu belirtilmiş ancak hastaların %94'ünde prolaktin seviyesinde normalizasyon sağlandığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda aldığımız sonuçlar da invazif tümör tipi veya yüksek hücre proliferasyonunun tedavi yanıtını olumsuz etkilemediğini göstermektedir, hatta invazif tümörlerde prolaktin seviyeleri ve adenom boyutundaki azalmanın daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır. Bu bulgular prolaktinomalarda invazyon varlığında tedaviye yanıtın daha kötü olmadığı hatta oransal olarak daha iyi sonuç alınabildiğini göstermektedir. Bu oranlar uzun sürede küratif sonuç anlamına gelmemektedir ancak invazif tümörlerde tedavi yaklaşımının farklı olması gerekmediği dopamin agonisti tedavisi ile çok yüksek oranda istenilen sonucun alınabildiğini göstermektedir. İnvazif hipofiz adenomlarda cerrahi başarının düşüklüğü göz önüne alınırsa bu tür hastalarda özellikle medikal tedavi ön planda uygulanmalıdır. Prolaktinomalarda tedavi yanıtının daha çok sellüler D2 reseptörlerindeki değişiklikler ile ilgili olduğu düşünülmektedir (6, 59). Dev prolaktinoma da dahil olmak üzere dopamin agonisti tedavisi tüm prolaktinoma hastalarında ilk basamak tedavisi olarak kabul görmektedir (6, 55).

Sonuç olarak, çalışmamızda siklin D1 geni nükleotid870 gen polimorfizminin prolaktinomalı hastalarda tümörün biyolojik davranışı ile, büyüme potansiyeli ve invazifliği ile, hücre proliferasyonunu gösteren Ki67 indeksi ile ve dopamin agonisti tedavisine yanıtlarındaki farklılıklar ile ilişkili olduğunu gösterecek anlamlı bulgu tesbit edilmemiştir. Bununla beraber AA genotip oranı ve A allel sıklığının önceki çalışmalarda hasta ve kontrol gruplarında saptanan ve diğer hipofiz adenomu alt grupları için belirtilen oranlara göre daha yüksek bulunması, prolaktinomalarda siklin D1 geni nükleotid870 gen polimorfizminin tümör oluşumunda erken dönemlerdeki önemli faktörlerden biri olduğunu düşündürmektedir. Ancak tümöre ait klinik, patolojik ve görüntüleme bulgularındaki saptanan özellikleri etkilemiyor olması hastalığın prognozunda bir faktör olarak gösterilemeyeceği sonucunu ortaya çıkarmaktadır.

Buna karşın prolaktinomalarda klinik seyir ve prognozdaki değişiklikleri belirlemede veya bu tümörleri tanımlamada kullanılan kriterlerin doğruluğu ise çalışmamıza göre tutarlı bulunmamıştır. Gerek tümör boyutu ve invazifliği, gerekse patolojik özelliklerinden Ki67 indeksinin tedavi yanıtını belirlemede yeri olmadığı tesbit edilmiştir. Buna göre daha invazif veya agresif denebilecek prolaktinoma hastalarında tedavi seçeneklerini değiştirmek rasyonel değildir. Bugün için prolaktinomalarda medikal tedavi ilk seçenek olarak dev adenomlar dahil tümünde önceliğini korumaktadır.

Çalışmamızda ayrıca, daha önceki çalışmalarda gösterildiği gibi, prolaktin seviyeleri ile tümör boyutları ve invazifliği arasında güçlü bir ilişki olduğu ve erkeklerde tümör boyutu ve invaziflik oranlarının kadınlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Ancak serum prolaktin seviyeleri, tümör boyutu veya tümörün invazifliğinin tedavi yanıtı üzerinde belirleyici rolü saptanmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Daly AF, Tichomirowa MA, Beckers A. The epidemiology and genetics of pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2009; 23: 543-54.
2. Akalın S, Deyneli O. Hipofiz Adenomları. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci* 2006; 2: 1-7.
3. Ertürk E. Hipofiz Görüntüleme Yöntemleri. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2006; 2: 62-6.
4. Kıyıcı S, Ertürk E. Pitüiter İnsidentaloma. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2006; 2: 57-61.
5. Daly AF, Rixhon M, Adam C et al. High prevalence of pituitary adenomas: a cross-sectional study in the province of Liege, Belgium. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2006; 91: 4769-75.
6. Gurlek A, Karavitaki N, Ansorge O, Wass JAH. What are the markers of aggressiveness in prolactinomas? Changes in cell biology, extracellular matrix components, angiogenesis and genetics. *Eur J Endocrinol* 2007; 156: 143-53.
7. Calle-Rodrigue RD, Giannini C, Scheithauer BW et al. Prolactinomas in male and female patients: a comparative clinicopathologic study. *Mayo Clin Proc* 1998; 73: 1046-52.
8. Ma W, Ikeda H, Yoshimoto T. Clinicopathologic study of 123 cases of prolactin-secreting pituitary adenomas with special reference to multihormone production and clonality of adenomas. *Cancer* 2002; 95: 258-66.
9. Gazioğlu N. Hipofiz adenomlarının moleküler genetik özellikleri. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 2006; 16: 18-9.
10. Ekmekçi A, Konaç E, Önen Hİ. Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Medical Journal* 2008; 21: 282-95.
11. Garrett MD. Cell cycle control and cancer. *Current Science* 2001; 81: 515-22.
12. Hartwell LH, Weinert TA. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science* 1989; 246: 629-34.
13. Bertram JS. The molecular biology of cancer. *Mol Aspects Med* 2001; 21: 167-223.
14. Harbour JW, Dean DC. The Rb/E2F pathway: expanding roles and emerging paradigms. *Genes Dev* 2000; 14: 2393-409.
15. Kim JK, Diehl JA. Nuclear cyclin D1: An oncogenic driver in human cancer. *J Cell Physiol* 2009; 220: 292-6.
16. Musgrove EA. Cyclins: roles in mitogenic signaling and oncogenic transformation. *Growth Factors* 2006; 24:13-9.
17. Jin M, Inoue S, Umemura T, et al. Cyclin D1, p16 and retinoblastoma gene product expression as a predictor for prognosis in non-small cell lung cancer at stages I and II. *Lung Cancer* 2001; 34: 207-18.
18. Barnes DM, Gillett CE. Cyclin D1 in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 52: 1-15.

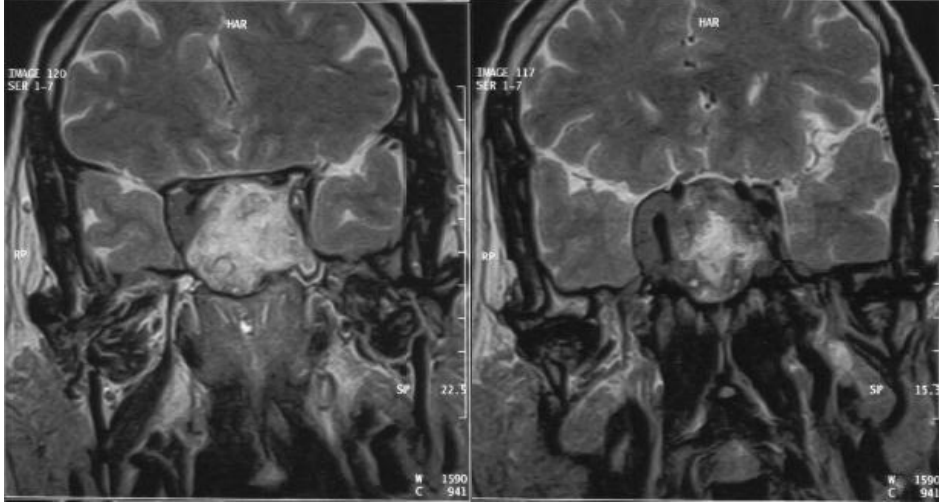
19. Shamma A, Doki Y, Shiozaki H, et al. Cyclin D1 overexpression in esophageal dysplasia: a possible biomarker for carcinogenesis of esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2000;16: 261–6.
20. Bertoni F, Rinaldi A, Zucca E, Cavalli F. Update on the molecular biology of mantle cell lymphoma. *Hematol Oncol* 2006; 24: 22–7.
21. Lu F, Gladden AB, Diehl JA. An alternatively spliced cyclin D1 isoform, cyclin D1b, is a nuclear oncogene. *Cancer Res* 2003; 63: 7056–61.
22. Lania A, Mantovani G, Spada A. Genetics of pituitary tumors: focus on G-protein mutations. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228:1004–17.
23. Grossman AB. The molecular biology of pituitary tumors: a personal perspective. *Pituitary* 2009; 12: 265-70.
24. Vlotides G, Eigler T, Melmed S. Pituitary tumor-transforming gene: physiology and implications for tumorigenesis. *Endocr Rev* 2007; 28: 165–86.
25. Al-Shraim M, Asa SL. The 2004 World Health Organization classification of pituitary tumors: what is new? *Acta Neuropathol* 2006; 111: 1–7.
26. Ciccarelli A, Daly AF, Beckers A. The epidemiology of prolactinomas. *Pituitary* 2005; 8: 3–6.
27. Buurman H, Saeger W. Subclinical adenomas in postmortem pituitaries: classification and correlations to clinical data. *Eur J Endocrinol* 2006; 154: 753–8.
28. Raverot G, Wierinckx A, Dantony E et al (the members of HYPOPRONOS). Prognostic factors in prolactin pituitary tumors: clinical, histological, and molecular data from a series of 94 patients with a long postoperative follow-up. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 1708–16.
29. Figarella-Branger D, Trouillas J. The new WHO classification of human pituitary tumors: comments. *Acta Neuropathol* 2006; 111: 71–2.
30. Grossman AB. The 2004 World Health Organization classification of pituitary tumors: is it clinically helpful? *Acta Neuropathol* 2006; 111: 76–7.
31. Trouillas J, Daniel L, Guigard MP et al. Polysialylated neural cell adhesion molecules expressed in human pituitary tumors and related to extrasellar invasion. *J Neurosurg* 2003; 98: 1084–93.
32. Qian ZR, Li CC, Yamasaki H et al. Role of E-cadherin, alpha-, beta-, and gamma-catenins, and p120 (cell adhesion molecules) in prolactinoma behavior. *Mod Pathol* 2002; 15: 1357–65.
33. Kawamoto H, Mizoue T, Arita K, Tominaga A, Eguchi K, Kurisu K. Expression of epithelial cadherin and cavernous sinus invasion in human pituitary adenomas. *J Neurooncol* 1997; 34: 105–9.
34. Jaffrain-Rea ML, Petrangeli E, Lubrano C et al. Epidermal growth factor binding sites in human pituitary macroadenomas. *J Endocrinol* 1998; 158: 425–33.
35. Jordan S, Lidhar K, Korbonits M, Lowe DG, Grossman AB. Cyclin D and cyclin E expression in normal and adenomatous pituitary. *Eur J Endocrinol* 2000; 143: R1–R6.

36. Turner HE, Nagy ZS, Sullivan N, Esiri MM, Wass JAH. Expression analysis of cyclins in pituitary adenomas and the normal pituitary gland. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000; 53: 337–44.
37. Simpson DJ, Fryer AA, Grossman AB et al. Cyclin D1 (CCND1) genotype is associated with tumour grade in sporadic pituitary adenomas. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1801–1807.
38. Gazioglu N, Erensoy N, Kadioglu P et al. Altered cyclin D1 genotype distribution in human sporadic pituitary adenomas. *Med Sci Monit* 2007; 13: CR457-63.
39. Chirag D, Gandhi MD, Kalmon D. Neoplasms of the Endocrine Glands: Pituitary Neoplasms. In: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR et al (eds). *Holland-Frei Cancer Medicine*. 6th edition. Hamilton (ON): BC Decker; 2003.
40. Cottier JP, Destrieux C, Brunereau L et al. Cavernous sinus invasion by pituitary adenoma: MR imaging. *Radiology* 2000; 215: 463–9.
41. Sobti RC, Kaur P, Kaur S, et al. Effects of cyclin D1 (CCND1) polymorphism on susceptibility to lung cancer in a North Indian population. *Cancer Genet Cytogenet* 2006; 170:108-14.
42. Park K, Han S, Kim H-Y, Ko I. Cytologic evaluation of cyclin D1 expression in primary breast carcinoma. *Cancer* 2001; 93: 211–5.
43. Krippel P, Langsenlehner U, Renner W et al. The 870G>A polymorphism of the cyclin D1 gene is not associated with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 82: 165–8.
44. Qian X, Kulig E, Jin L, Lloyd RV. Expression of D-Type Cyclins in normal and neoplastic rat pituitary. *Endocrinology* 1998; 139: 2058-67.
45. Hibberts NA, Simpson DJ, Bicknell JE et al. Analysis of Cyclin D1 (CCND1) allelic imbalance and overexpression in sporadic human pituitary tumors. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 2133-9.
46. Simpson DJ, Frost SJ, Bicknell JE, et al. Aberrant expression of G1/S regulators is a frequent event in sporadic pituitary adenomas. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1149–54.
47. Saeger W, Schreiber S, Lüdecke DK. Cyclins D1 and D3 and topoisomerase II alpha in inactive pituitary adenomas. *Endocr Pathol* 2001; 12: 39-47.
48. Lundin P, Nyman R, Burman P, Lundberg PO, Muhr C. MRI of pituitary macroadenomas with reference to hormonal activity. *Neuroradiology* 1992; 34: 43-51.
49. Delgrange E, Trouillas J, Maiter D, Donckier J, Tourniaire J. Sex related difference in the growth of prolactinomas: a clinical and proliferation marker study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2102–7.
50. Nishioka H, Haraoka J, Akada K, Azuma S. Gender-related differences in prolactin secretion in pituitary prolactinomas. *Neuroradiology* 2002; 44: 407-10.
51. Delgrange E, Maiter D, Donckier J, Tourniaire J. Influence of age on the clinical presentation of prolactinomas in male patients. *Gerontology* 1999; 45:160-4.
52. Thapar K, Kovacs K, Scheithauer BW, Stefaneanu L, Horvath E, Murray D, Laws ER Jr. Proliferative activity and invasiveness among pituitary

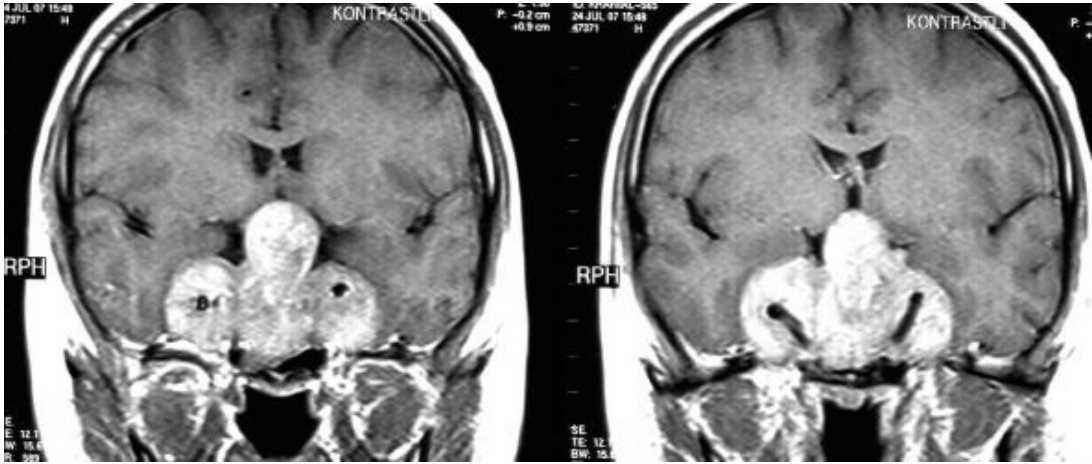
- adenomas and carcinomas: an analysis using the MIB-1 antibody. *Neurosurgery* 1996; 38: 99–106.
53. Scheithauer BW, Gaffey TA, Lloyd RV, et al. Pathobiology of pituitary adenomas and carcinomas. *Neurosurgery* 2006; 59: 341-53.
 54. Paek K, Kim SH, Song SH, et al. Clinical significance of Ki-67 labeling index in pituitary macroadenoma. *J Korean Med Sci* 2005; 20: 489-94.
 55. Molitch ME. Pharmacologic resistance in prolactinoma patients. *Pituitary* 2005; 8: 43–52.
 56. Wu ZB, Yu CJ, Su PZ, Zhuge QC, Wu JS, Zheng WM. Bromocriptine treatment of invasive giant prolactinomas involving the cavernous sinus: results of a long-term follow up. *J Neurosurg* 2006; 104: 54–61.
 57. Astaf'eva LI, Kadashev BA, Kalinin PL et al. Selection of management tactics in treatment of giant prolactin-secreting pituitary adenomas. *Zh Vopr Neurokhir Im N N Burdenko*. 2009; 2: 23-8. (Abstract). [Article in Russian]
 58. Delgrange E, Daems T, Verhelst J, Abs R, Maiter D. Characterization of resistance to the prolactin-lowering effects of cabergoline in macroprolactinomas: a study in 122 patients. *Eur J Endocrinol* 2009;160:747-52.
 59. Caccavelli L, Feron F, Morange I et al. Decreased expression of the two D2 dopamine receptor isoforms in bromocriptine-resistant prolactinomas. *Neuroendocrinology* 1994; 60: 314–22.

EKLER

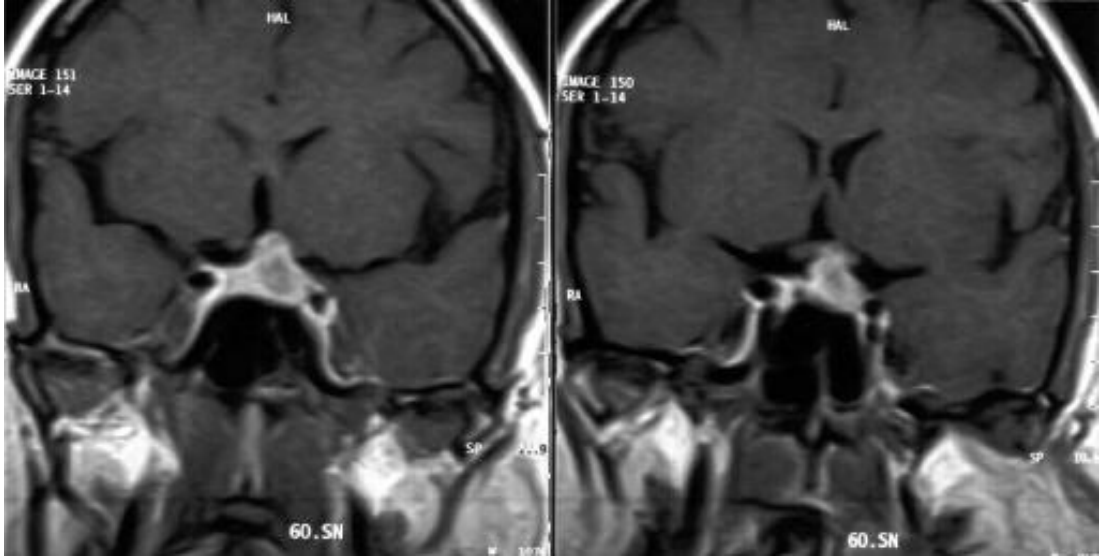
EK-1: Hastalara ait hipofiz MR görüntülerinden örnekler.



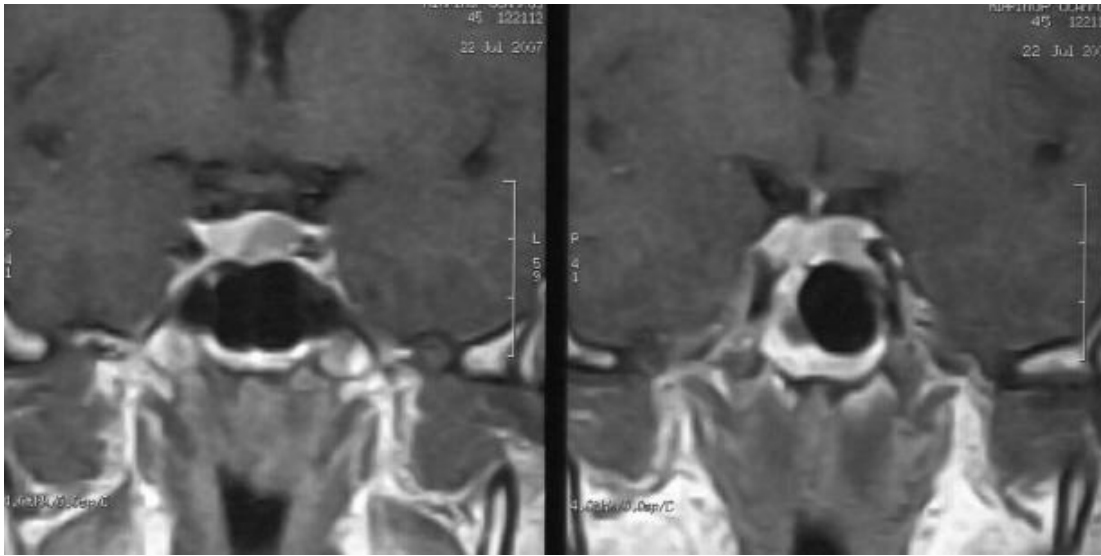
Şekil-1: Dev hipofiz adenomu; Tümör çapı 57 mm, bilateral kavernöz sinüsleri infiltre etmiş, suprasellar büyüyen adenom 3. Ventrikül tabanına dek yayılmış, sella tabanında da destrüksiyona yol açarak sfenoid sinüsü doldurmuş.



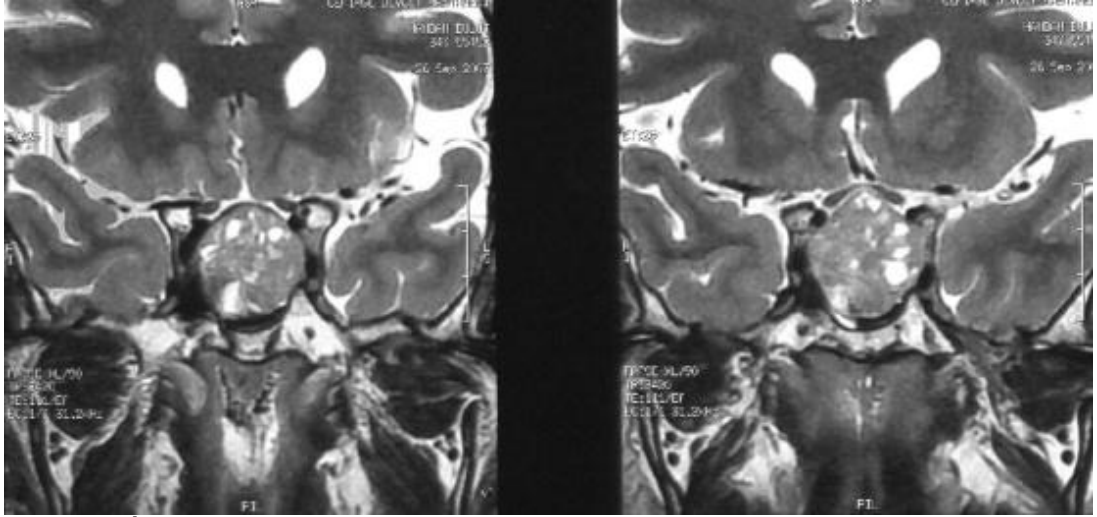
Şekil-2: Dev hipofiz adenomu. Sella lojunu doldurarak ekspanse eden, sınırları hipofiz glandından infundibüler stalktan, optik kiazmadan ve hipotalamustan net olarak ayırd edilemeyen, her iki tarafta kavernöz sinüsü doldurmuş görünümde, diafragmatik hiatusu suprasellar sisternaya doğru geçerken "8" konfigürasyonu kazanmış, multilobüle marjnlı, homojen iç yapıda, dens sellüler stromalı, postkontrast yoğun homojen sinyal artışı gözlenen rezidü hipofiz adenomu (Postop).



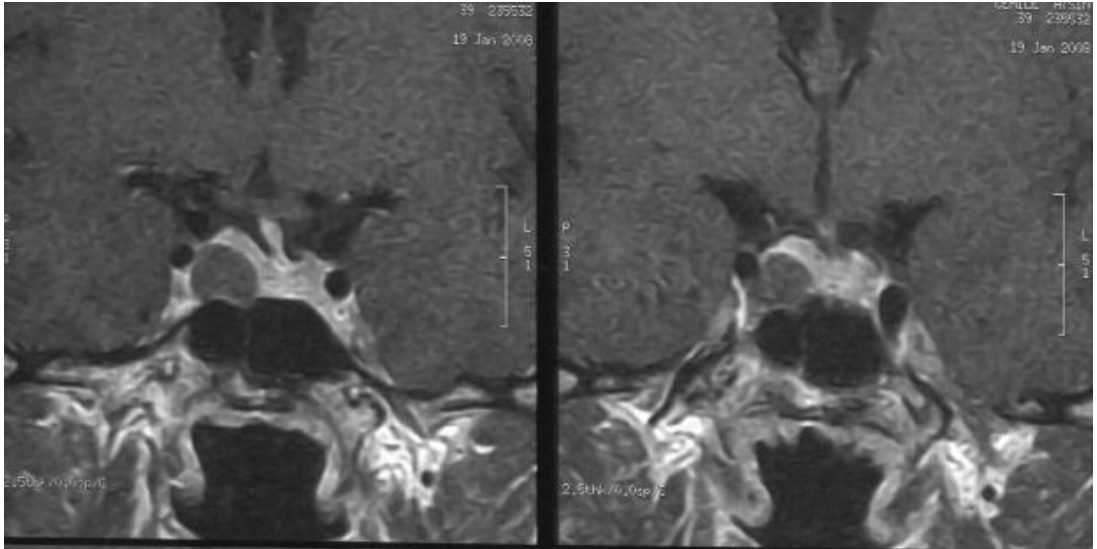
Şekil-3: Non-invazif hipofiz adenomu. Hipofiz loju solunda, yaklaşık 11x9 mm boyutunda, stalka doğru uzanan suprasellar sisternayı oblitere eden, optik kazmada elevasyona neden olan, kontrast madde ile belirgin boyanmayan adenom. Kavernöz sinüsler invaze değil.



Şekil-4: Non-invazif hipofiz adenomu. Glandın sol lateral ve orta kesiminde lokalize yaklaşık 15x10x8mm boyutunda lezyon. Lezyonun stalkta sağa doğru deviasyona neden olduğu gözlenmektedir. Görüntü alanına giren optik kiazma, suprasellar sisterna, bilateral kavernöz sinüslerde patolojik form ve sinyal değişimi yok.



Şekil-5: İnvazif Hipofiz Adenomu. Sellar alanı doldurarak suprasellar alana uzanan ve suprasellar alanı dolduran, optik kiazmaya baskıya neden olan, infundibüler stalk ile sınırları seçilemeyen, inferioründe sfenoid sinüse protrüde olmuş, içerisinde millimetrik çaplı çok sayıda kistik alanlara bağlı T2 sekanslarda hiperintens alanlar içeren 30x28 mm boyutlarında lezyon. Sol ICA supraklinoid segmenti ile komşuluğu bulunmaktadır.



Şekil-6: İnvazif Hipofiz Adenomu. Hipofiz bezinin sağ tarafında, sağ karotid arteri %50 oranında saran, asimetric olarak suprasellar alana doğru büyüyerek infundibuler stalkı sola doğru deviye eden, 12x10 mm boyutunda adenom ile uyumlu lezyon. Lezyon sella tabanında destrüksiyona neden olmakta ve sfenoid sinüse doğru invazyon göstermektedir.

TEŞEKKÜR

Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'ndaki yan dal uzmanlık eğitimime katkıda bulunan sayın hocalarım, İç Hastalıkları Anabilim Dalı ve Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı başkanı Prof. Dr. Şazi İmamoğlu, Prof. Dr. Ercan Tuncel, Prof. Dr. Erdiñç Ertürk ve Prof. Dr. Canan Özyardımcı Ersoy'a eğitimim süresince verdikleri destek nedeniyle çok teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanışında en büyük emeğe sahip olan sayın tez hocam Prof. Dr. Erdiñç Ertürk'e çok teşekkür ederim. Tezimin yürütülmesinde değerli katkıları bulunan Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Tahsin Yakut ve Arş.Gör. Dr. Mutlu Karkucak'a çok teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince yakınlıklarını ve desteklerini sürekli hissettiğim çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Özen Öz Gül ve Uzm. Dr. Oğuz Kaan Ünal'a ve birlikte çalışma fırsatı bulduğum Uzm. Dr. Ayşen Akkurt, Uzm. Dr. Metin Güçlü ve Uzm. Dr. Sinem Kıyıcı'ya çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım ve uzmanlık eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen endokrinoloji klinik hemşireleri; sorumlu hemşire Suzan Adalı, diyabet eğitim hemşiresi Gülsev Dirik, Nejla İsa ve görevli tüm personele çok teşekkür ederim.

Uzm. Dr. Soner Cander

ÖZGEÇMİŞ

Soner Cander

Doğum Tarihi: 11.05.1972

Doğum Yeri: Siirt

Medeni Durum: Evli ve 2 çocuk sahibi.

İlk ve orta öğretimimi Siirt'te tamamladım. 1988 yılında İstanbul Tıp Fakültesi'nde tıp eğitimine başladım. 1994 yılında İstanbul Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 1995 yılında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesinde İç Hastalıkları uzmanlık eğitimime başladım, 1996 yılından itibaren İstanbul Tıp Fakültesi'nde İç Hastalıkları Anabilim Dalında uzmanlık eğitimime devam ederek 2000 yılında İç hastalıkları uzmanı oldum. 2001 yılında Afyonkarahisar SSK Hastanesine İç Hastalıkları uzmanı olarak atandım. 2008 yılına kadar aynı hastanede İç Hastalıkları uzmanı ve 2003-2008 yılları arasında başhekim yardımcılığı görevimi sürdürdüm. 2006 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı'ndan Hemodiyaliz sorumluluğu sertifikası aldım. 2007 yılında yapılan yan dal uzmanlık sınavı sonrasında 2008 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'nda yan dal uzmanlık eğitimime başladım.