

Hipofiz Adenomlarının Moleküler Biyolojisi

Molecular Biology of Pituitary Adenomas

Burak ÇABUK¹, Deniz SÜNNETÇİ AKKOYUNLU², İhsan ANIK¹, Savaş CEYLAN¹

¹Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı ve Hipofiz Araştırma Merkezi, Kocaeli, Türkiye

²Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye

ÖZ

Hipofiz adenomlarında tümörögenез çok basamaklı olup genetik ve epigenetik değişiklikler ile birçok iç ve dış faktörün yer aldığı karmaşık bir süreçtir. Bu süreçte onkogenler, tümör baskılayıcı genler, hücre döngüsü elemanları, genetik mutasyonlar, epigenetik modifikasyonlar, mikroRNA'lar rol oynamaktadır. Bu derlemede, tümörögenез sürecinde rolü olan onkogenler, tümör baskılayıcı genler, hücre döngüsü elemanlarına değinilerek mikroRNA'lar üzerinde durulacaktır.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Hipofiz adenomu, mikroRNA, Tümörögenез

ABSTRACT

The tumorigenesis of pituitary adenomas is a complex multistep process in which many genetic and epigenetic changes, internal and external factors are involved. Oncogenes, tumor suppressor genes, cell cycle elements, genetic mutations, epigenetic modifications, microRNAs play role in this process. In this review, we will focus on the oncogenes, tumor suppressor genes, cell cycle elements and microRNAs which have role in tumorigenesis process

KEYWORDS: Pituitary adenoma, microRNA, Tumorigenesis

■ GİRİŞ

Hipofiz adenomları, benign tümörler olup intrakranial neoplazilerin %15-20'sini oluşturmaktadır (23). Hipofiz adenomları, hipofiz bezi içerisindeki beş farklı hücre tipi (somatotrop, laktotrop, kortikotrop, tirotrop, gonadotrop) içerisinde yer alan hücrelerin birinde meydana gelen mutasyonlar sonucu oluşur. Hormonal aktivitelere göre hipofiz adenomları fonksiyonel ve non-fonksiyonel hipofiz adenomları olmak üzere ikiye ayrılır. Fonksiyonel olanları endokrin fonksiyon bozukluğuna sebep olurlar ve salgıladıkları hormona göre büyüme hormonu (GH) salgılayan hipofiz adenomu, prolaktin (PRL) salgılayan hipofiz adenomu, adrenokortikotropik hormon (ACTH) salgılayan hipofiz adenomu, tiroid stimulan hormon (TSH) salgılayan hipofiz adenomu, folikül stimulan hormon (FSH) salgılayan hipofiz adenomu ve luteinleştirici

hormon (LH) salgılayan hipofiz adenomu olarak sınıflandırılırlar. Hormon salgılamayan grup ise hipofiz tümörlerinin üçte birini oluşturan non-fonksiyonel hipofiz adenomlarıdır (NFA) (9,12).

Hipofiz adenomlarının çoğu sporadik şekilde ortaya çıkmasına rağmen, küçük bir kısmı kalıtsal ya da ailesel sendromların bir parçası olarak karşımıza çıkmaktadır. Ailesel geçiş gösteren hipofiz adenomları Familial izole hipofiz adenomu (FIPA), Multipl endokrin neoplazi tip 1 (MEN-1), McCune-Albright sendromu, Carney kompleksi (3) ve Multipl endokrin neoplazi tip 4 (MEN-4) olarak bilinmektedir (16).

Hipofiz adenomlarının çoğu benign olup nadiren malign tipe dönüşmesine rağmen, genelde kitle basısı ve aşırı ya da yetersiz hormon salınımından dolayı agresif bir davranış sergilerler (12). Adjuvan radyasyon eşliğinde olsun-olmasın, cerrahi rezeksiyon prolaktinomalar hariç hipofiz adenomları



Yazışma adresi: Burak ÇABUK

E-posta: cabukburak@yahoo.com

için ilk akla gelen tedavi seçeneğidir. Fakat invaziv hipofiz adenomları bu tür tedavilerle kontrol edilemez. Sistemik tedavi alternatif gibi görünse de hipofiz adenomu tümörögenезinin altında yatan mekanizmanın tam olarak anlaşılmasından dolayı etkili olamamaktadır.

Hipofiz adenomlarında tümörögenез çok basamaklı bir süreç olup, bu süreçte onkogenler, tümör baskılayıcı genler, hücre döngüsü elemanları, genetik mutasyonlar, epigenetik modifikasyonlar, mikroRNA'lar rol oynamaktadır (11,16,23). Şüphesiz ki, hipofiz adenomlarının tümörögenезini aydınlatan ileri çalışmaların yapılması yeni hedef moleküllerin ortaya çıkmasını sağlayarak yeni tedavi yaklaşımlarının gelişimine ışık tutacaktır.

Bu derlemede, tümörögenез sürecinde rolü olan onkogenler, tümör baskılayıcı genler, hücre döngüsü elemanlarına değinilerek mikroRNA'lar üzerinde durulacaktır.

■ ONKOGENLER

Onkogenlerin aşırı eksprese edilmesi sonucu hipofizde tümör oluşumu meydana gelmektedir (31). Hipofiz adenomlarında RAS, C-MYC, PTTG, GNAS(ya da GSP), CCND1, FGFR4, HMGA2 ve PIK3CA onkogenlerinin rolü sözkonusudur (1,10,16,24,31).

İnsandaki neoplazilerin yaklaşık %30'undan H-ras, K-ras, N-ras proto-onkogenlerindeki mutasyonlar sorumludur (1). Pei ve ark.nın 4 metastatik hipofiz karsinomu ve 6 invaziv adenom ile yaptığı bir çalışmada 3 metastazda H-ras mutasyonu saptamış, H-ras'ın hipofiz adenomlarının malign transformasyonunda rolü olduğunu öne sürmüşlerdir (29).

Hipofiz adenomlarının %27-30'unda (PRL salgılayan hipofiz adenomlarının %20-57'sinde, GH-salgılayan hipofiz adenomlarının %25-50'sinde, non-fonksiyonel hipofiz adenomlarının %25-42'sinde, ACTH salgılayan hipofiz adenomlarının %20-50'sinde) hücre proliferasyonu ve apoptozda görev alan C-MYC onkogeninin aşırı ekspresyonu görülmektedir. C-MYC ekspresyonuna agresif tümörlerde rastlanması, bu onkogenin hipofiz adenomlarının progresyonunda rolü olduğunu düşündürmektedir (1).

Siçanların hipofiz tümör hücrelerinden izole edilmiş olan PTTG (pituitary tumor transforming gene) geninin artan ekspresyonuna hipofiz adenomlarının çoğunda rastlanmaktadır. PTTG genindeki bu ekspresyon artışı, tümör invazyonu ve hücre proliferasyon indeksi ki-67 ile pozitif korelasyon göstermektedir (16).

GNAS (guanine nucleotide activating alpha subunit)'de oluşan mutasyon GTPaz inaktivasyonu ile sonuçlanır. GTPaz inaktivasyonu cAMP seviyesinde artışa neden olarak GH sentezinde ve sekresyonunda artışa sebep olur. Ayrıca GNAS'da meydana gelen postzigotik mutasyonların McCune-Albright sendromuna neden olduğu bilinmektedir. GNAS mutasyonlarının agresif prolaktinomadan GH adenomuna dönüşümünde de yer aldığı ileri sürülmüştür (16).

Siklinler, hücre döngüsü progresyonunda anahtar bir rol üstlenmişlerdir. Siklinlerde meydana gelen mutasyonlar aktivitelelerini bozarak kontrolsüz hücre çoğalmasına sebep olurlar. Siklin

D1 (CCND1) geninin amplifikasyonlarına invaziv adenomlarda invaziv olmayanlarına göre sık rastlanmaktadır (1). Jordan ve ark.nın 2000 yılında 75 hipofiz adenomunda yaptığı bir immünohistokimya çalışmasında siklin D1 boyanmasının agresif tümörlerde daha fazla olduğunu saptamışlardır (18).

Fibroblast büyüme faktörleri (FGF) ve onların reseptörlerinin (FGFR) mitogenez, farklılaşma, gelişim, anjiogenez ve tümörögenез gibi süreçlerde yer alan önemli elemanlar olduğu bilinmektedir. FGFR4'ün aktif formu olan ptd-FGFR4'ün sitoplazmik ekspresyonu hipofiz adenomlarının %60'ında (GH-, ACTH-, FSH/LH salgılayan hipofiz adenomları ve non-fonksiyonel hipofiz adenomlarında, nadiren prolaktinomalarda) görülmektedir. ptd-FGFR4'ün ekspresyonu makroadenomlarda da mikroadenomlara göre daha fazla olup bu ekspresyon artışı hücre proliferasyonu ki-67 ile uyum içerisindedir (10).

Histon olmayan kromatin proteinleri olan HMGA (High mobility group A) ailesi embriyogenez, hücre proliferasyonu, apoptoz, tümörögenез gibi süreçlerde yer alırlar ve yetişkin normal dokularında bulunmazlar (16,31). HMGA2'nin aşırı ekspresyonu prolaktinomalarda, nadiren non-fonksiyonel hipofiz adenomlarında görülmektedir (31). Ayrıca HMGA2 protein seviyesi invazyon ve ki-67 indeksi ile uyumluluk göstermektedir (16).

Fosfotidilinositol 3-kinazlar (PI3K), hücrenin büyümesi, proliferasyonu, motilitesi ve sağ kalımında rol oynayan heterodimerik lipit kinazlardır (25). Hipofiz adenomlarında PIK3CA geninde somatik mutasyon ve amplifikasyonlara rastlanmıştır. PIK3CA mutasyonları agresif ve rekürren tümörlerde daha sık görülmüştür (16). ACTH-, GH- salgılayan hipofiz adenomları ve non-fonksiyonel hipofiz adenomlarında PIK3CA geni amplifikasyonlarına rastlanmış ve önceki çalışmalar hipofiz adenomlarında amplifikasyonların mutasyonlara nazaran daha sık görüldüğünü öne sürmüşlerdir (25).

■ TÜMÖR BASKILAYICI GENLER

Hipofiz adenomlarının oluşumundan sorumlu tümör baskılayıcı genler RB, AIP, MEN1, BMP-4, CDH1, CDH13, GADD45, P53, MEG3, MGMT, PLAGL1, RASSF1, RASSF3 ve SOCS1'dir. Bu genlerin inaktivasyonu sonucu tümör oluşumu meydana gelmektedir. Tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonunda genetik mutasyonlar ve epigenetik rol oynamaktadır (36). Epigenetik, "DNA dizisinde herhangi bir değişiklik barındırmayan bir genin ekspresyonunun kalıtsal olarak etkilendiği süreç" olarak tanımlanmaktadır (13). DNA metilasyonu ve histon modifikasyonu, tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna neden olan epigenetik değişimlerdir (36).

RB (Retinoblastoma), hücre döngüsü progresyonunun ve farklılaşmanın düzenlenmesinde, apoptozda ve genom kararlılığının sağlanmasında rol oynayan önemli bir tümör baskılayıcı gendir. RB yolağının inaktivasyonu sonucu hipofiz adenomu gelişimi gözlenir. Hipofiz adenomları sıklıkla RB1'de meydana gelen promotör hipermetilasyonu ile ilişkili bulunmuştur. RB1 promotör metilasyonuna hipofiz adenomlarının %27'sinde rastlanmıştır. Epigenetik değişimler dışında, RB lokusunun telomerik ve sentromerik bölgelerinde

hipofiz adenomuyla sonuçlanan genetik mutasyonlar da tanımlanmıştır (1). RB1 geninde heterozigot delesyon taşıyan farelerde hipofiz tümörlerinde hızlı bir şekilde büyüme meydana geldiği gözlenmiştir (36).

AIP (Aryl hydrocarbon receptor interacting protein) FIPA hastalarında tanımlanmış tümör baskılayıcı bir diğer genidir. AIP mutasyonlu ailesel adenomların çoğunu GH-salgılayan (%41) ve GH/PRL-salgılayan tümörler (%19) ile NFA (%16) ve prolaktinoma (%9) oluşturmaktadır. AIP mutasyonları genç ve büyük tümöre sahip hastalarda daha sık görülmektedir. Sporadik hipofiz adenomlarında ise AIP mutasyonlarına nadir rastlanmaktadır. AIP mutasyonu PRL-, GH-, ACTH-salgılayan tümörlerde sırasıyla %5,4, %4,4 ve %3,3 oranlarında görülürken NFA'da %2,4 oranında görülmektedir (36). Bu genin germ hücrelerindeki mutasyonlarına ise başta somatotropinomalara olmak üzere tüm sporadik hipofiz adenomlarında rastlamak mümkündür (16).

MEN1 (Multiple Endocrine Neoplasia-1) geni, 11q13 bölgesinde yer almaktadır. MEN1 mutasyonu, otozomal dominant karakterli ailesel bir hastalık olan MEN1 sendromunun %70'inde görülmektedir. Bunun yanında, sporadik tümörlerin yalnızca %3,5'inde MEN1 mutasyonlarına rastlanmaktadır (16).

BMP-4 (Bone morphogenic protein 4), hipofiz hücre proliferasyonunu ve hücre tipine özgü hormon sekresyonunu düzenleyen tümör baskılayıcı bir genidir. Hipofiz adenomlarının çoğunda BMP-4 ekspresyonunda azalma gözlenmiştir. BMP-4 ekspresyonundaki azalma sıklıkla GH-salgılayan, ACTH-salgılayan tümörler ile NFA ve prolaktinomalarda gözlenmiştir. BMP-4 ekspresyonundaki bu azalmanın histon modifikasyonundan kaynaklandığı bildirilmiştir (36).

CDH1 (Cadherin 1), normal dokularda hücre-hücre adezyonu ve iletişimini sağlayan E-kaderin proteinini kodlamaktadır. E-kaderin, hipofiz adenomlarında normal hipofiz dokusuna göre az eksprese olmaktadır. Bunun yanında E-kaderin ekspresyonunun invaziv tümörlerde invaziv olmayanlara göre azaldığı gözlenmiştir. Tümör boyutu arttıkça E-kaderin ekspresyonunda da azalma saptanmıştır. Yapılan çalışmalar hipofiz tümörlerinin %36'sında CDH1 promotör metilasyonunun görüldüğünü, CDH1 metilasyonunun görülme oranının da tümör evresiyle birlikte arttığını (CDH1 metilasyonu 1.evre tümörlerde %11, 4. evre tümörlerde %63 oranında görülmekte) göstermiştir (36).

CDH13 (Cadherin 13), H-kaderini kodlamaktadır. Hipofiz tümörlerinin yarısından fazlasında H-kaderin ekspresyonunda azalma gözlenmiştir. H-kaderin ekspresyonunun da E-kaderin gibi, invaziv tümörlerde invaziv olmayanlara göre azaldığı saptanmıştır. Hipofiz tümörlerinin yaklaşık %30'unda CDH13 hipermetilasyonuna rastlanmaktadır. Bu hipermetilasyonla invaziv tümörlerde (%42) invaziv olmayanlara (%19) göre daha sık karşılaşılmaktadır (36).

GADD45 (Growth Arrest and DNA-Damage), stres tepki genidir. GADD45 ekspresyonunda azalma birçok kanser türünde gözlenmiştir. Promotor metilasyonu GADD45 ekspresyon azalmasının temel sebebi olarak görülmektedir. GADD45 gen ailesi 3 üyeden oluşmaktadır: GADD45A, GADD45B ve GADD45G. Bu üyelerden GADD45G kanserlerde en çok inak-

tive olan genidir. Bu geni sırasıyla GADD45B ve GADD45A takip etmektedir. Hipofiz tümörlerinin %74'ünde GADD45A ekspresyonunda azalma görülmektedir. GADD45A ekspresyon azalmasına NFA'da fonksiyonel tümörlere göre daha sık rastlanmaktadır (36).

P53, hücre döngüsü blokajı, DNA onarımı, senesens ve apoptozda rol alan, birçok genin ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. P53 birçok kanser türünde inaktive olmasına rağmen, hipofiz adenomlarında nadiren mutasyona uğramaktadır. P53 hipofiz tümör gelişimini başlatmaz. Bunun yerine, hipofiz tümörögenezini desteklemektedir. Bunu kendisinin hedef genleri aracılığıyla gerçekleştirmektedir. Örneğin, hipofiz tümörlerinde ekspresyonu azaldığı saptanan p14^{ARF}'nin aracılığı ile P53 yolağının inaktive olması, hipofiz tümörögenezi ile sonuçlanmaktadır (36).

MEG3 (Maternally Expressed Gene 3), ekspresyonunun NFA'da azaldığı saptanmış yeni bir tümör baskılayıcı genidir. Ekspresyon azalmasına sebep olan mekanizma genin düzenleyici bölgelerinde meydana gelen metilasyonlardır. Fonksiyonel adenomlarda MEG3 ekspresyonunda herhangi bir değişiklik görülmemektedir.

MGMT (O-6-methylguanine-DNA methyltransferase), DNA onarım enzimi olup tedaviye yanıtın önemli bir belirleyicisidir (22). MGMT ekspresyonunun tüm hipofiz adenomlarında azaldığı saptanmıştır (35). Jiang ve ark.nın 2013 yılında immünohistokimya ile yaptıkları 138 hastalık bir çalışmada MGMT gen ekspresyonunu prolaktinomada, NFA ve GH-salgılayan adenomlara nazaran daha az bulmuşlardır (17). Bengtsson ve ark.nın 2015 yılında temozolomid tedavisi gören 24 agresif hipofiz adenomu hastası ile (16 lokal agresif hipofiz adenomu, 8 karsinoma) yaptıkları bir immünohistokimya çalışmasında MGMT boyanmasının tedaviye yanıt verenlerde %9, yanıt vermeyenlerde ise %93 olduğunu saptamışlar, %50'nin altında saptanan MGMT boyanmasının tedaviye yanıt ile ilgili olduğunu öne sürmüşlerdir (4).

PLAGL1 (Pleiomorphic adenoma gene-like 1), normal anterior hipofizde yüksek oranda eksprese olmaktadır. Pagotto ve ark.nın 1999 yılında yaptıkları bir çalışmada 41 tümörün %59'unda PLAGL1 ekspresyonunda azalma saptanmıştır (27). PLAGL1 ekspresyon azalmasına NFA'ların tümünde rastlanırken, fonksiyonel tümörlerin yalnızca %11'inde rastlanmıştır (28). NFA'lardaki PLAGL1 ekspresyon azalmasından epigenetik değişiklikler sorumlu tutulmaktadır (36).

RASSF1 [Ras association (RAIGDS/AF-6) domain family member 1], genom kararlılığının sağlanmasında, hücre döngüsü progresyonu ve apoptozun düzenlenmesinde görev almaktadır. RASSF1 gen ekspresyonunun azalmasına hipofiz tümörlerinde sık rastlanmaktadır. RASSF1 ekspresyon azalmasında hipermetilasyon etkili olmaktadır (36).

RASSF3 [Ras association (RAIGDS/AF-6) domain family member 3] geni birçok kanserde inaktive olmaktadır. GH-salgılayan hipofiz adenomlarında promotör metilasyonu ile RASSF3 geninde inaktivasyon gözlenmiştir (36).

SOCS1 (Suppressor of cytokines signaling 1), JAK/STAT yolağının inhibisyonu aracılığıyla hipofiz tümörlerinin baskılanmasında

rol oynamaktadır. SOCS1 ekspresyonu, hipofiz adenomlarının büyük bir kısmında promotör metilasyonuna bağlı olarak azalmaktadır. NFA'ların %86'sında SOCS1 geninde promotör metilasyonuna rastlanmıştır. Bu durum ACTH- ve GH-salgılayan tümörlerde daha az görülmüştür. Prolaktinomlarda ise metilasyona rastlanmamıştır (36).

■ HÜCRE DÖNGÜSÜ ELEMANLARI

Siklinler ve siklin-bağımlı kinazlar (CDK'lar) hücre döngüsü progresyonunda önemli rol oynamaktadır. Siklin D (CDK4) ve E (CDK2) kompleksleri G1/S fazı progresyonunun düzenlenmesinde görev alırlar. CDK'ların aktiviteleri CDK inhibitörleri (p15, p16, p18, p19, p21, p27 ve p57) ile düzenlenmektedir (1). Hücre döngüsünde görev alan siklinler, CDK'lar ve CDK inhibitörlerinde oluşan mutasyonlar sonucu kontrolsüz hücre büyümesi meydana gelmektedir. Hipofiz adenomlarının yaklaşık %80'inde en az bir hücre döngüsü düzenleyici elemanında değişim meydana geldiği tahmin edilmektedir (32). Bu değişimler siklinlerin (özellikle D1, D3 ve E) ekspresyon artışı, siklin-bağımlı kinaz (CDK) inhibitörlerinin (p15^{Ink4B}, p16^{Ink4A}, p18^{Ink4C}, p21^{Cip1}, p27^{Kip1}) ekspresyon azalması ve pRb ekspresyonu şeklindedir (8).

Siklin D1 ve siklin E1 ekspresyonu hipofiz tümörlerinde çoğunlukla artış göstermektedir. Normal hipofizde siklin D1 ve siklin E1'in yok denecek kadar az eksprese olduğu bildirilmiştir (8). Önceki çalışmalar siklin D1 polimorfizmlerinin tümör oluşumunun ilk evreleri için önemli bir faktör olduğunu ve siklin D1 ekspresyonunun non-fonksiyonel hipofiz adenomlarında daha fazla olduğunu göstermiştir (16). Siklin D1 amplifikasyonuna invaziv tümörlerde daha sık karşılaşılmaktadır. Ayrıca önceki yıllarda yapılan immünohistokimya çalışmaları Siklin D1 boyanmasının agresif tümörlerde daha fazla olduğu sonucuna ulaşmıştır. Siklin E seviyeleri mikroadenomlara göre makroadenomlarda daha yüksek bulunmuştur (1). Cushing hastalığının kortikotrop adenomlarında siklin E tercihen artış göstermektedir (8).

p16 ve p27 ekspresyonları normal hipofizde yüksek iken, invaziv tümörlerde düşük oranda bulunmaktadır (8). p16 kaybı hipofiz tümörögenezinin ilk basamağını oluşturur. p16 metilasyonu hipofiz adenomunun farklı alt tiplerinde görülmekte olup sıklıkla NFA'da nadiren de somatotropinomalarda karşımıza çıkmaktadır (16). Hipofiz adenomlarında p27 ekspresyonunun azalması siklin E ekspresyonunun artışı ile tutarlılık göstermektedir. p27 ekspresyonu azalıp siklin E ekspresyonu arttığında hücre proliferasyonunda artış gözlenmektedir (16). Agresif hipofiz adenomlarında p27 ekspresyonunda azalma görülmektedir (1). p27 knock-out farelerde zamanla organ hiperplazisi ve ACTH-salgılayan tümör oluştuğu tespit edilmiştir (16).

mikroRNA'lar

mikroRNA'lar (miRNA'lar), 19-22 nükleoid uzunluğunda, tek iplikli, gen ekspresyonunu posttranskripsiyonel düzeyde düzenleyen, kodlamayan RNA molekülleri olup ilk kez 1993 yılında *Caenorhabditis elegans*'ta keşfedilmiştir.

miRNA'lar karakteristik fonksiyonları sebebiyle santral dogmaya yeni bir bakış açısı kazandırmıştır. miRNA'lar genleri susturma, mRNA translasyonunu arttırma, diğer miRNA'ların olgunlaşmasını sağlama gibi yeteneklere sahiptir. Tüm insan genlerinin %30-50'si miRNA'lar tarafından düzenlenmektedir. Güncel çalışmalar, mirbase.org veritabanının son versiyonunda (Haziran 2014) 2661 insan miRNA'sı bulunduğunu bildirmektedir (20).

miRNA'ların genomda bulunduğu bölgelerde meydana gelen amplifikasyonlar, delesyonlar, translokasyonlar, epigenetik değişimler miRNA ekspresyonunda değişikliğe neden olarak hücresel süreçlerin bozulmasına, dolayısıyla hastalıkların ve kanserlerin ortaya çıkmasına sebebiyet vermektedir (15). miRNA'lar karsinogenezde aktive edici rol oynarsa "oncomiR", inhibe edici rol oynarsa "tümör baskılayıcı miRNA" olarak adlandırılmaktadır (14).

Günümüze kadar hepatoselüler karsinom, meme, pankreas, mide, prostat, akciğer kanserleri gibi çeşitli solid tümörlerde ekspresyon değişikliği gösteren diagnostik, prognostik, terapötik birçok miRNA tanımlanmıştır (33).

Son yıllarda miRNA ekspresyon değişikliğine hipofiz adenomlarında da rastlanmıştır. Birçok miRNA ekspresyonunun hipofiz adenomlarında normal hipofiz dokusuna göre değişikliğe uğradığı dokularda gerçekleştirilen mikroarray analizleri ile tespit edilmiş, ekspresyon değişikliği gösteren bu miRNA'ların bazılarının tümör çapı, invazyon ve terapötik cevap ile ilgili olduğu öne sürülmüştür (16).

Bottoni ve ark. 2005 yılında 10 GH-salgılayan ve 10 PRL-salgılayan hipofiz makroadenomları ile gerçekleştirdikleri Northern blot analizlerinde, miR-15a ve miR-16-1'in normal hipofiz dokusuna göre GH- ve PRL-salgılayan hipofiz makroadenomlarında düşük seviyelerde eksprese olduklarını, düşük seviyedeki ekspresyonlarının ise büyük tümör çapı ile ilişkisi olduğunu göstermişlerdir (5).

Aynı araştırmacılar 2007 yılında mikroarray teknolojisini kullanarak dört hipofiz adenomunun (PRL-, GH- ve ACTH-salgılayan hipofiz adenomları ile non-fonksiyonel hipofiz adenomu) ayırdedilmesinde kullanılabilecek ekspresyon değişikliği gösteren 29 miRNA tanımlamışlardır. Bu miRNA'lar arasından miR-23a ile miR-23b'nin ekspresyonlarının GH- ve PRL-salgılayan hipofiz adenomlarında artmış; ACTH-salgılayan ve non fonksiyonel hipofiz adenomlarında ise azalmış olduğunu saptamışlardır. Ayrıca miR-30a, miR-30b, miR-30c ve miR-30d'nin ekspresyonlarının ACTH-salgılayan hipofiz adenomlarında arttığını, PRL-salgılayan hipofiz adenomlarında ise azaldığını tespit etmişler, bu dört miRNA ile ACTH- ve PRL-salgılayan hipofiz adenomlarının ayırdedilebileceğini öne sürmüşlerdir. Aynı çalışmada mikroadenom-makroadenom, tedavi gören-tedavi görmeyen hasta arasındaki fark, ekspresyon değişikliği gösteren miRNA'lar ile ortaya koyulmuştur. Buna göre, NFA'da miR-140 ekspresyonunun makroadenomlarda mikroadenomlara göre artış gösterdiği, miR-148 ekspresyonunun ise NFA'da tedavi gören hastalarda tedavi görmeyen hastalara göre arttığı tespit edilmiştir (6).

Amaral ve ark. 2009 yılında let-7a, miR-15a, miR-16, miR-21, miR-141, miR-143, miR-145 ve miR-150 ekspresyon değişimlerini ACTH-salgılayan hipofiz adenomlarında çalışmışlar ve bu miRNA'ların ekspresyonlarının ACTH-salgılayan hipofiz adenomlarında normal hipofiz dokusuna göre azaldığını saptamışlardır. Bunun yanında aynı çalışma ile özellikle düşük seviyelerdeki miR-141 ekspresyonuna rastlanan hastalarda tedavi sonrası remisyon şansının yüksek olduğu da ortaya konulmuştur (2).

Mao ve ark. 2010 yılında GH-salgılayan hipofiz adenomlarına spesifik miRNA'ları tanımlamayı ve bu miRNA'ların tümör çapı, somatostatin analogu tedavisi, somatostatin analogu tedavisine yanıt ile ilişkisini belirlemeyi amaçladıkları mikroarray çalışmalarında, 9 miRNA ekspresyonunun (ekspresyonu artan miR-184, miR-524-5p, miR-629, miR-766; ekspresyonu azalan miR-124, miR-122, miR-32, miR-744, miR-765) mikroadenomlar ve makroadenomlar arasında değişiklik gösterdiğini saptamışlardır. Somatostatin analogu tedavisine yanıt verenler ile yanıt vermeyenler arasında ise ekspresyonu değişen 7 miRNA (ekspresyonu artan miR-125b, miR-886-5p; ekspresyonu azalan miR-125a-5p, miR-198, miR-503, miR-524-5p, miR-630) tanımlamışlardır (21).

Wee1 kinaz, mitozun gecikmesini sağlayan tümör baskılayıcı bir gen olup, hipofiz adenomlarındaki ekspresyonu ilk kez 2010 yılında Butz ve ark. tarafından çalışılmıştır. Çalışmanın sonuçları Wee1 kinaz ekspresyonunun GH-salgılayan hipofiz adenomları ile NFA'da normal hipofiz dokusuna göre azaldığını göstermiştir. NFA'daki Wee1 kinaz ekspresyonunun azalmasında, yine NFA'da ekspresyon artışı gösteren üç miRNA'nın (miR-128a, miR-155, miR-516a-3p) rolü olduğunu ortaya koymuşlar, bu miRNA'lar ile ekspresyonu değişen Wee1 kinazın hipofiz tümörögenezi ile ilgisi olabileceğini öne sürmüşlerdir (7).

MicroRNA-200c (miR-200c) farklı kanser türlerinde tümör baskılayıcı gen ya da onkogen olarak görev yapmaktadır. PTEN miR-200c'nin hedefi olup, miR-200c'nin inhibisyonunun PTEN ekspresyonunda artış meydana getirdiği Liao ve ark. nın yaptıkları çalışmada saptanmıştır. Aynı çalışmada miR-200c ekspresyonunun hipofiz adenomu hücre hatlarında artış gösterdiği, miR-200c inhibisyonunun hipofiz adenomlarında terapötik etki gösterebileceği bildirilmiştir (19).

Müssnich ve ark. 2015 yılında mikroarray teknolojisi kullanarak gonadotrop adenomları ile normal hipofiz dokularındaki miRNA ekspresyon profillerini karşılaştırmışlar ve miRNA-410 ekspresyonunun gonadotrop adenomlarında azaldığını saptamışlardır. Çalışmada CCNB1 geninin miRNA-410'un hedefi olduğu, miRNA-410'un ekspresyon artışının CCNB1'de mRNA ve protein düzeyinde azalmaya neden olduğu, bunun sonucunda hücre proliferasyonunda azalma gözlemlendiği bildirilmiştir (26).

Güncel araştırmalar miRNA'ların HMGA ekspresyonunun düzenlenmesinde rolü olduğuna işaret etmektedir. Hipofiz adenomlarının %42'sinde let-7 ekspresyonunda azalma gözlemlendiği ve bu ekspresyon azalmasının HMGA2 ekspresyonu ve tümörün ileri evresiyle ters orantılı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca HMGA genini hedef alan miR-15, miR-16, miR-26, miR-196a-2 ve let-7a'nın ekspresyonlarının farklı tipteki 41 hipofiz

adenomunda şiddetli bir şekilde azaldığı ve bu miRNA'ların azalan ekspresyonlarının HMGA ekspresyonu ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir. GH adenomları ile normal hipofiz miRNA ekspresyon profillerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, HMGA2 genini hedef alan miR-326, miR-432, miR-570; hem HMGA1 hem de HMGA2 genini hedef alan miR-34b, miR-548c-3p; E2F1 genini hedef alan miR-326 ve miR-603 miRNA'larında ekspresyon değişimi gözlenmiştir. Aynı miRNA'ların ekspresyon azalmasına PRL ve gonadotrop adenomlarında da rastlanmıştır (30).

miR-132, miR-15a ve miR-16 birçok kanserin patogenezinde yer almaktadır. Renjie ve ark., miR-132, miR-15a ve miR-16'nın hipofiz tümörü hücre hatları ile invaziv hipofiz tümörü dokularında az ekspresyona olduklarını saptamışlardır. Ayrıca miR-132'nin artan ekspresyonunun hipofiz tümörü hücre proliferasyonunun baskılanmasında, miR-15a ve miR-16'nın artan ekspresyonunun ise migrasyon ve invazyonun baskılanmasında etkili olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışma ile miR-132, miR-15a ve miR-16 ekspresyon artışının epitelyalden mezenseñimale transizyonda yer alan proteinleri inhibe ettiği de gösterilmiştir. Aynı araştırmacılar Sox5 geninin miR-132, miR-15a ve miR-16'nın hedefi olduğunu, invaziv hipofiz tümörü dokularında ekspresyon artışı sergilediğini bildirmiştir. miR-132, miR-15a ve miR-16'nın hipofiz tümörlerinde Sox5 genini hedef alarak tümör baskılayıcı rolü üstlenip invaziv hipofiz tümörleri için terapötik hedef olarak kullanılabilecekleri ileri sürülmüştür (30).

miR-133'ün, meme kanseri ve mide kanseri gibi metastatik kanserler ile karaciğer fibrozunda tümör baskılayıcı olarak fonksiyon gösterdiği bilinmektedir. Wang ve ark., 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada miR-133'ün FOXC1'i hedef alarak hipofiz adenomlarında migrasyon ve invazyonu inhibe ettiğini, epitelyalden mezenseñimale transizyonu ise indüklediğini göstermiştir. Bu sonuç miR-133'ün invaziv hipofiz adenomu tedavisinde potansiyel terapötik hedef olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (34).

■ SONUÇ

Hipofiz tümörögenezi genetik ve epigenetik değişiklikler ile birçok iç ve dış faktörün rol oynadığı karmaşık bir süreçtir. Bu süreçte yer alan birçok onkogen, tümör baskılayıcı gen, hücre döngüsü elemanı, genetik mutasyon, epigenetik modifikasyon ve mikroRNA tanımlanmış olmasına rağmen halen aydınlatılmamış noktalar bulunmaktadır. MikroRNA'lar tümörögenezde rol oynayan önemli moleküller olup hipofiz adenomuna neden olduğu bilinen mikroRNA ve hedef genlerinin sayısı azdır. Bu mikroRNA'ların tümörögenez sırasında hangi sebepler ile ekspresyon değişikliğine uğradığıyla ilgili çalışmalar yetersizdir. Hipofiz adenomu ile ilgili hayvan modelleri ve insan hücre hatlarının eksikliği de tümörögenezin nasıl başladığının cevapsız kalmasına, tanı ve tedavi için yeni yaklaşımların geliştirilmesinin gecikmesine neden olmaktadır. Hipofiz adenomlarının tanı ve tedavisi için yeni yaklaşımların geliştirilmesi amacıyla, hipofiz adenomu patogenezinde cereyan eden moleküler olayların aydınlatılması; bunun için de hipofiz adenomu insan hücre hatlarının üretilmesi ve model organizmaların geliştirilmesine yönelik ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

■ KAYNAKLAR

- Al-Shraim M, Al-Gahtany M, Al-Otaibi M, Al-Ahmari A, Scheithauer BW, Lloyd R, Kovacs K: Molecular biology of pituitary tumors. *Endokrinologist* 14: 359-367, 2004
- Amaral FC, Torres N, Saggiaro F, Neder L, Machado HR, Silva WA Jr, Moreira AC, Castro M: MicroRNAs differentially expressed in ACTH-secreting pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 94: 320-323, 2009
- Beatriz M, Lopes S: Atlas of Sellar and Parasellar Lesions. Switzerland:Springer International Publishing, 2016: 33-37
- Bengtsson D, Schröder HD, Andersen M, Maiter D, Berinder K, Feldt Rasmussen U, Rasmussen ÅK, Johannsson G, Hoybye C, van der Lely AJ, Petersson M, Ragnarsson O, Burman P: Long-term outcome and MGMT as a predictive marker in 24 patients with atypical pituitary adenomas and pituitary carcinomas given treatment with temozolomide. *J Clin Endocrinol Metab* 100: 1689-1698, 2015
- Bottoni A, Piccin D, Tagliati F, Luchin A, Zatelli MC, degli Uberti EC: miR-15a and miR-16-1 down-regulation in pituitary adenomas. *J Cell Physiol* 204: 280-285, 2005
- Bottoni A, Zatelli MC, Ferracin M, Tagliati F, Piccin D, Vignali C, Calin GA, Negrini M, Croce CM, Degli Uberti EC: Identification of differentially expressed microRNAs by microarray: A possible role for microRNA genes in pituitary adenomas. *J Cell Physiol* 210: 370-377, 2007
- Butz H, Likó I, Cziráj S, Igaz P, Khan MM, Zivkovic V, Bálint K, Korbonits M, Rácz K, Patócs A: Down-regulation of Wee1 kinase by a specific subset of microRNA in human sporadic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 95:E181-191, 2010
- Chunhui L, Xie W, Wu D, Li Z, Li C, Zhang Y: Expression of cell-cycle regulators is associated with invasive behavior and poor prognosis in prolactinomas. *Int J Clin Exp Pathol* 9: 3245-3255, 2016
- D'Angelo D, Esposito F, Fusco A: Epigenetic mechanisms leading to overexpression of HMGA Proteins in human pituitary adenomas. *Front Med (Lausanne)* 8: 39, 2015
- Dworakowska D, Grossman AB: The molecular pathogenesis of corticotroph tumours. *Eur J Clin Invest* 42: 665-676, 2012
- Ezzat S, Asa SL, Couldwell WT, Barr CE, Dodge WE, Vance ML, McCutcheon IE: The prevalence of pituitary adenomas: A systematic review. *Cancer* 101:613-619, 2004
- Ezzat S, Asa SL: Mechanisms of disease: The pathogenesis of pituitary tumors. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2: 220-230, 2006
- Farrell WE: Epigenetics of pituitary tumours: An update. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 21: 299-305, 2014
- Gadelha MR, Trivellin G, Hernández Ramírez LC, Korbonits M: Genetics of pituitary adenomas. *Front Horm Res* 41: 111-140, 2013
- Iorio MV, Croce CM: MicroRNAs in cancer: Small molecules with a huge impact. *J Clin Oncol* 27: 5848-5856, 2009
- Jiang X, Zhang X: The molecular pathogenesis of pituitary adenomas: An update. *Endocrinol Metab (Seoul)* 28: 245-254, 2013
- Jiang XB, Hu B, Fan X, He DS, Mao ZG, Chen M, Zhu YH, Wang HJ: The expression of MGMT in pituitary adenomas and its association with tumour aggressiveness. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 44: 462-465, 2013
- Jordan SLK, Korbonits M, Lowe DG, Grossman AB: Cyclin D and cyclin E expression in normal and adenomatous pituitary. *Eur J Endocrinol* 143(1): R1-6, 2000
- Liao C, Chen W, Fan X, Jiang X, Qiu L, Chen C, Zhu Y, Wang H: MicroRNA-200c inhibits apoptosis in pituitary adenoma cells by targeting the PTEN/Akt signaling pathway. *Oncol Res* 21: 129-136, 2013
- Ma R, Jiang T, Kang X: Circulating microRNAs in cancer: Origin, function and application. *J Exp Clin Cancer Res* 31: 38, 2012
- Mao ZG, He DS, Zhou J, Yao B, Xiao WW, Chen CH, Zhu YH, Wang HJ: Differential expression of microRNAs in GH secreting pituitary adenomas. *Diagn Pathol* 5:79, 2010
- McCormack A, Kaplan W, Gill AJ, Little N, Cook R, Robinson B, Clifton-Bligh R: MGMT expression and pituitary tumours: Relationship to tumour biology. *Pituitary* 16:208-219, 2013
- Melmed S: Pathogenesis of pituitary tumors. *Nat Rev Endocrinol* 7: 257-266, 2011
- Melmed S: Pituitary tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 44: 1-9, 2015
- Murat CB, Braga PB, Fortes MA, Bronstein MD, Corrêa-Giannella ML, Giorgi RR: Mutation and genomic amplification of the PIK3CA proto-oncogene in pituitary adenomas. *Braz J Med Biol Res* 45: 851-855, 2012
- Müssnich P, Raverot G, Jaffrain-Rea ML, Fraggetta F, Wierinckx A, Trouillas J, Fusco A, D'Angelo D: Downregulation of miR-410 targeting the cyclin B1 gene plays a role in pituitary gonadotroph tumors. *Cell Cycle* 14: 2590-2597, 2015
- Pagotto U, Arzberger T, Ciani E, Lezoualc'h F, Pilon C, Journot L, Spengler D, Stalla GK: Inhibition of Zac1, a new gene differentially expressed in the anterior pituitary, increases cell proliferation. *Endocrinology* 140: 987-996, 1999
- Pagotto U, Arzberger T, Theodoropoulou M, Grubler Y, Pantaloni C, Saeger W, Losa M, Journot L, Stalla GK, Spengler D: The expression of the antiproliferative gene ZAC is lost or highly reduced in nonfunctioning pituitary adenomas. *Cancer Res* 60: 6794-6799, 2000
- Pei LMS, Scheithauer B, Kovacs K, Prager D: H-ras mutations in human pituitary carcinoma metastases. *J Clin Endocrinol Metab* 78: 842-846, 1994
- Renjie W, Haiqian L: MiR-132, miR-15a and miR-16 synergistically inhibit pituitary tumor cell proliferation, invasion and migration by targeting Sox5. *Cancer Lett* 356: 568-578, 2015
- Rostad S: Pituitary adenoma pathogenesis: An update. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 19: 322-327, 2012
- Sapochnik M, Nieto LE, Fuentès M, Arzt E: Molecular mechanisms underlying pituitary pathogenesis. *Biochem Genet* 54: 107-119, 2016
- Ulivi P, Zoli W: miRNAs as non-invasive biomarkers for lung cancer diagnosis. *Molecules* 19: 8220-8237, 2014
- Wang DS, Zhang HQ, Zhang B, Yuan ZB, Yu ZK, Yang T, Zhang SQ, Liu Y, Jia XX: miR-133 inhibits pituitary tumor cell migration and invasion via down-regulating FOXC1 expression. *Genet Mol Res* 15, 2016
- Wang Y, Li J, Tohti M, Hu Y, Wang S, Li W, Lu Z, Ma C: The expression profile of Dopamine D2 receptor, MGMT and VEGF in different histological subtypes of pituitary adenomas: A study of 197 cases and indications for the medical therapy. *J Exp Clin Cancer Res* 33: 56, 2014
- Zhou Y, Zhang X, Klibanski A: Genetic and epigenetic mutations of tumor suppressive genes in sporadic pituitary adenoma. *Mol Cell Endocrinol* 386: 16-33, 2014