



# Cushing hastalığının etyopatogenezinde genomik değişiklikler ve moleküler mekanizmalar

## *Genomic alterations and molecular mechanisms in the etiopathogenesis of Cushing's Syndrome*

Sera Kayacan<sup>1</sup>\*, Melek Öztürk<sup>1</sup>\*, Fatma Kaya Dağistanlı<sup>1</sup>\*, Nurperi Gazioğlu<sup>2</sup>\*

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.  
<sup>2</sup>İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul.

**Atf/Cite as:** Kayacan S, Öztürk M, Kaya Dağistanlı F, Gazioğlu N. Cushing hastalığının etyopatogenezinde genomik değişiklikler ve moleküler mekanizmalar. J Nervous Sys Surgery 2021;7(2):45-55.

**Geliş tarihi/Received:** 13.05.2021 **Kabul tarihi/Accepted:** 26.10.2021 **Yayın tarihi/Publication date:** 30.10.2021

### ÖZ

Hipofiz bezinin ön bölümü (adenohipofiz) vücudumuzdaki diğer iç salgı bezlerinin çalışmasını kontrol eden, 5-7 mm büyüklüğünde bir salgı bezidir. Adenohipofiz, çeşitli trofik hormonları salgılamak üzere farklılaşmış hücreler içerir. Bu hücrelerin çeşitli genetik, epigenetik ve çevresel faktörlerle etkileşimi sonucunda çoğunluğu iyi huylu olan hipofiz tümörleri (hipofiz adenomları) ortaya çıkabilir. Hipofiz adenomları arasında tanı ve tedavisi en zor olarak bilinen ACTH-salgılayan adenomlar böbreküstü bezini aşırı uyararak kontrolsüz miktarda kortizol salgılanmasına neden olur. Vücutta yol açtığı değişikliklere Cushing hastalığı adı verilir. Cushing hastalığının USP8, USP48, EGFR, p16, p21 gibi birçok farklı genin işlevinin kaybolmasına bağlı olarak ortaya çıktığı bilinmektedir. Bunun dışında ilgili genlerin metillenmesi ve asetillenmesi gibi çeşitli epigenetik modifikasyonlar ve miRNA'lar gibi çeşitli düzenleyicilere maruz kalması sonucunda da Cushing hastalığı görülmektedir. Bu genlerin ve proteinlerin işlevlerinin belirlenmesi sayesinde yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi mümkün olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Cushing, ACTH, Hipofiz Adenomu

### ABSTRACT

The pituitary gland is a 5-7 mm-sized gland that controls the secretion of many different hormones in the body. Pituitary tumors, most of which are benign (pituitary adenomas), may occur as a result of the interaction of different types of cells hosted by the pituitary gland with various genetic, epigenetic and environmental factors. Difficult to diagnose and treat of these pituitary adenomas is Cushing's disease, which occurs as a result of excessive secretion of cortisol. It is known that Cushing's disease occurs due to the loss of function of many different genes such as USP8, USP48, EGFR, p16, p21. In addition, Cushing's disease is seen as a result of exposure to various epigenetic modifications such as methylation and acetylation of related genes and various

**Sorumlu yazar/Corresponding author:** Sera Kayacan, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul. serakayacan@gmail.com / 0000-0002-5582-1135

### ORCID:

**M. Öztürk** 0000-0002-6227-1688, **F. Kaya Dağistanlı** 0000-0002-4672-8721, **N. Gazioğlu** 0000-0001-7785-8628

© Telif hakkı Sinir Sistemi Cerrahisi Dergisi.

Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons 4.0 Uluslararası Lisansı (CC-BY) ile lisanslanmıştır.

© Copyright Journal of Nervous System Surgery.

Licensed by Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY).

regulators such as miRNAs. By determining the functions of these genes and proteins, new treatment strategies will be developed and diagnosis and treatment of pituitary tumors will be facilitated.

**Keywords:** Cushing, ACTH, Pituitary Adenoma

## GİRİŞ

Hipofiz bezi, oral ektodermin invajinasyonu sonucu oluşan ön hipofiz ve nöroektodermden köken alan arka hipofiz olmak üzere iki bölümden oluşur. Vücudun ihtiyacına göre birçok farklı hormonun salgılanmasını ve düzenlenmesini, merkezi sinir sistemi-hipotalamus-hipofiz aksı üzerinden kontrol eder. Embriyolojik dönemde hipofiz bezi iki farklı yapıdan gelişmektedir. Bu yapılar, bukkofaringeal membran önünde, stomodeum tavanında yer alan ektodermal bir yapı olan Rathke kesesinden hipofiz ön lobu (adenohipofiz) ve diensefalon tabanından gelişen hipofiz arka lobudur (nörohipofiz) <sup>(10)</sup>.

Hipofiz bezinde hormon sentez ve salgılanmasının yapıldığı esas bölge hipofiz bezinin yaklaşık %80'ini kapsayan adenohipofizdir ve gonadotrop, kortikotrop, laktotrop, somatotrop ve tirotrop olmak üzere beş farklı hücre tipi içerir <sup>(10)</sup>. Adenohipofizde yer alan bu farklı hücre tipleri, hipofiz bezinin gelişimi sırasında birtakım transkripsiyon faktörlerinin kontrolü altında farklılaşarak meydana gelir. Örneğin, gonadotropların farklılaşması için SF1 transkripsiyon faktörünün ifadesi gerekli iken, gonadotrop ve tirotrop farklılaşması GATA2 kontrolü altındadır. Büyüme hormonu (GH), tiroid uyarıcı hormon (TSH), lüteinleştirici hormon (LH), folikül uyarıcı hormon (FSH), prolaktinin salınımı *PROP-1* geninin ifadesi ile doğrudan ilişkilidir. *PROP1* geninde meydana gelen mutasyonlara bağlı olarak bu hormonların eksikliği ile karşılaşılabilir. Bu genin ürünü olan PIT-1, somatotrop, laktotrop, tirotrop hücrelerin farklılaşmasında rol oynar. T-pit/Tbx19 ise kortikotropların farklılaşmasını sağlar <sup>(17)</sup>.

Ön hipofiz bezi, kortizol ve androjen steroidlerin salınmasını kontrol eden Adrenokortikotropik hormon (ACTH), tiroid hormonlarının üretimini kontrol eden TSH, FSH ve LH üretimini kontrol eden gonadotropin hormonlar, meme dokusunda süt üretimini başlatan prolaktin, vücutta kemik büyümesi, beyin ve diğer dokuların gelişmesini düzenleyen GH'yi kontrol eder. Arka hipofiz ise, böbreklerdeki su dengesini ve kan basıncını kontrol eden antidiüretik hormon (ADH-vasopressin), doğum esnasında uterus kaslarının kasılmasını sağlayarak doğum sürecini başlatan oksitosinin düzenlenmesini ve salınmasını kontrol eder. Bunun yanında, ön ve arka hipofiz bezleri arasındaki orta hipofiz bezinin hücreleri ise melanin üretimini kontrol eden melanosit uyarıcı hormon (MSH) üretiminde görev alır.

Hipofiz adenomları herediter (kalıtsal), sporadik (kendiliğinden) veya ailesel sendromlar şeklinde ortaya çıkabilir. Hipofiz bezinin genetik, epigenetik ve çevresel koşullar tarafından etkilenmesi sonucunda üç farklı kategoride hastalık ortaya çıkar.

1. Hipofiz bezinin bir veya birden fazla hormonu gereğinden fazla üretmesi sonucu ortaya çıkabilen Cushing hastalığı (ACTH hormonunun fazla salınması sonucu), akromegali (büyüme hormonunun fazla salınması sonucu) ve prolaktinoma (prolaktin hormonunun fazla salınması sonucu), klinik olarak hormon üretmeyen adenomlar (sessiz hipofiz adenomları) olarak tanımlanan fonksiyonel olmayan hipofiz adenomları (NFA-non-functioning pituitary adenoma)

2. Hipofiz bezinin bir veya birden fazla hormonu gereğinden az üretmesi sonucu ortaya çıkabilen

ve yetişkinlerde görülen büyüme hormonu eksikliği, *Diabetes Insipidus* ve hipopitüarizmdir.

3. Hipofiz bezinin büyüklüğünün ve şeklinin değişmesine neden olan boş sella sendromu olarak sınıflandırılabilir.

Hipofiz bezinin iyi huylu tümörleri (hipofiz adenomu) olarak adlandırılan iyi huylu tümörler, beyinde en çok sellar ve parasellar bölgede görülmekte olup, primer beyin tümörlerin yaklaşık %10-15'inden sorumludur <sup>(19)</sup>. Yıllık görülme sıklığı 8,2-14,7/100.000 arasındadır. Hipofiz adenomlarının belirtileri 2 ana grupta toplanabilir: 1. Salgıladıkları hormonun fazlalığına bağlı özel belirtiler, 2. Tümörün kitlesinin komşu anatomik yapılara basısına bağlı baş ağrısı, görme alanı defektleri, görme netliğinin bozulması, gözkapasının düşmesi veya çift görme, halsizlik gibi genel belirtiler. Cushing hastalığında tümörlerin yarısına yakını MR'da gösterilemeyecek kadar küçük veya <5 mm. şüpheli lezyonlardır. Nadiren makroadenom (>1 cm.) görülür. Cushing hastalığının belirtileri arasında gövdesel kilo artışı, kilo verememe, yüzde kızarıklık, şişlik, aydede yüz, sırtta ve boynun yanında yağ birikmesi, mor renkli çatlaklar, kas güçsüzlüğü, saçlarda incelme, cildin kolay berelenmesi sayılabilir. Ayrıca hipertansiyon, diyabet eğilimi ve osteoporoz metabolik komplikasyonları arasındadır ve eğer ayırıcı tanısı oldukça zor olan hastalığın tanı ve tedavisi gecikirse kalp ve beyin damarlarında trombo-embolilere bağlı mortalite 5 yılda %50 civarındadır.

## HİPOFİZ ADENOMLARININ GENETİK ALT YAPISI

Hipofiz adenomlarının gelişiminde gen kopya sayısı değişimleri (copy number variations-CNV), miRNAlar, genlerin metillenme durumlarındaki değişimler gibi farklı genetik ve

epigenetik etmenler araştırılmıştır <sup>(35)</sup>. Hipofiz tümörlerinin nedeni ailesel olabileceği gibi, sporadik de olabilir.

Ailesel izole hipofiz adenomları (*FIPA; Familial Isolated Pituitary Adenoma*), çoklu endokrin neoplazi tip 1 (*MEN1; Multiple Endocrine Neoplasia Type 1*), çoklu endokrin neoplazi tip 2A/2B (*MEN2A/2B; Multiple Endocrine Neoplasia Type 2A/2B*), çoklu endokrin neoplazi tip 4 (*MEN4; Multiple Endocrine Neoplasia Type 4*), Carney Kompleksi (*CNC – Carney Complex*), McCune-Albright (*MAS*), *DICER1*, Tuberoz skleroz (*TSC - Tuberous Sclerosis*), X'e bağlı akrojigantizm (*X-LAG; X-linked acroigantism*), Nörofibromatozis Tip I (*NF1; Neurofibromatosis Type 1*), 3PA (*3P Association*) gibi sendromlar ailesel kalıtım gösterir (Tablo 1) <sup>(35)</sup>.

## Cushing Hastalığı: Moleküler Temeli

İlk olarak Amerikalı beyin cerrahı Harvey W. Cushing tarafından "Poliglandüler Sendrom" şeklinde tanımlanmış olan Cushing sendromu (CS), kanda yüksek kortizol değerlerinin yol açtığı belirtilere verilen addır. Cushing sendromunun nedenleri arasında hastaya tedavi amacıyla kortikosteroid verilmesi (eksojen CS) olabileceği gibi ACTH bağımlı (hipofiz bezinin bazofil adenomu, nadiren ektopik ACTH veya CRH salgılayan tümörler) veya bağımsız (sürrenal tümörü) endojen nedenler de olabilir. En sık rastlanan nedeni ACTH-salgılayan bazofil hipofiz adenomu olup bu durum Cushing hastalığı olarak tanımlanmıştır <sup>(5,24,32)</sup>.

## Cushing Sendromunun Karakteristik Özellikleri

Kırmızı yüz, yüz ve gövdede yağlanmış bölgeler, vücutta stria adı verilen mor çizgilenmeler, kol ve bacaklarda cilt altı yağ dokusunun azalmasına bağlı olarak incelmis kol ve bacaklar, dokularda ödem, yüksek tansiyon, yüksek kolesterol seviyeleri, osteoporoz ve kırık riskinde artış,

**Tablo 1. Hipofiz adenomları ile ilişkili ailesel sendromlar<sup>(35)</sup>**

Ailesel sendrom	İlgili gen	Kromozomal yerleşim	Hipofiz tümörlerinin oluşumdaki görevi
<b>3 P ilişkisi</b>	<i>SDHx, VHL, MEN1, RET ve MAX</i>	5p15.33 ( <i>SDHA</i> ) 1p36.13 ( <i>SDHB</i> ) 11q23.1 ( <i>SDHD</i> ) 11q12.2 ( <i>SDHAF2</i> ) 3p25.3 ( <i>VHL</i> ) 11q13.1 ( <i>MEN1</i> ) 11q13.1 ( <i>RET</i> ) 14q23.3 ( <i>MAX</i> )	Genin türüne göre farklı işlevleri bulunur. SDHx: mitokondriyal kompleks II'de işlevseldir, Krebs döngüsü ile enerji üretiminde işlevseldir, electron transferi vasıtasıyla solunum zincirine katılır VHL: tümör baskılayıcı, MAX: Myc ile ilişkili faktör X, hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptozda rol oynar
<b>Ailesel izole hipofiz adenom (FIPA)</b>	<i>AIP</i>	11q13.2	cAMP sentezinde işlev
<b>Carney kompleksi</b>	<i>PRKARIA</i>	17q24.2	PKA'nın alfa alt düzenleyici birimidir, etkinliğini kaybederse düzenleyici alt birim katalitik alt birimden ayrılır ve PKA etkinliği çok artar.
<b>Çoklu endokrin neoplazi tip 1</b>	<i>MEN1</i>	11q13.1	Tümör baskılayıcı; hücre çoğalması, genom stabilitesi ve gen transkripsiyonunda yer alır.
<b>Çoklu endokrin neoplazi Tip 2A/2B</b>	<i>RET</i>	10q11.21	Proto-onkogen; tirozin kinaz aktivitesi olan transmembran reseptördür
<b>Çoklu endokrin neoplazi tip 4</b>	<i>CDKN1B</i>	12p13.1	Tümör baskılayıcı, hücre döngüsünün düzenlenmesinde.
<b>DICER1</b>	<i>DICER1</i>	14q32.13	Çift iplikli RNA'yı küçük enterferans RNA haline getiren RNA endoribonükleazdır.
<b>McCune-Albright</b>	<i>GNAS</i>	20q13.32	cAMP-düzenleyici protein; etkin hale gelmesi sonucunda cAMP seviyeleri artar ve protein kinaz A'yı (PKA) etkin hale gelir
<b>Nörofibromatöz tip 1</b>	<i>NF1</i>	17q11.2	Ras ile ilişkili (Ras/Raf/MEK and Ras/PI3K/TSC/mTOR) yolaklarda Ras-GTPaz etkinleştirici protein.
<b>Tüberoz skleroz</b>	<i>TSC1, TSC2</i>	9q34.13 ( <i>TSC1</i> ) 16p13.3 ( <i>TSC2</i> )	PI3K/Akt etkinleşmesine katılır, mTOR inhibisyonunda görevi vardır.
<b>X'e bağlı akrogigantizm</b>	<i>GPR101</i>	Xq26.3	G-proteine eşlenik almaçtır, mutasyonu sonucunda cAMP/PKA yoluyla devamlı etkin hale geçerek sürekli hücre çoğalmasına neden olur.

sırt ve boynun arkasında yağ birikimi (bufalo boyun), jinekolojik sorunlar, kadınlarda yüz, meme, karın ve bel bölgelerinde tüylenmenin artması, erkeklerde azalmış libido ve fertilitate, cinsel, ruhsal ve kardiyovasküler problemler sayılabilir. Ancak her hastada bu semptomlar görülmeyeceğinden, hastalığı teşhis etmek güç olabilir<sup>(5,32)</sup>.

Hasta hikayesi, fiziksel muayene ve laboratuvar sonuçlarına göre yapılmaktadır. En sık kullanılan laboratuvar testleri 24 saatlik idrarda serbest kortizol ve gece saatlerinde tükürükte kortizol seviyelerinin ölçülmesidir. Her iki testte de kortizol seviyelerinin yüksek olması Cushing hastalığını düşündürmektedir. Bunlara ek olarak düşük doz deksametazon baskılama testi (Low-dose dexamethasone suppression test -LDDST) ve deksametazon-CRH (kortikotropin salgılayan

hormon) testleri de kortizol seviyelerinin ölçülmesinde kullanılan temel tarama testleridir<sup>(24)</sup>. Cushing sendromunun ortaya çıkmasına neden olan etmenlerin (hipofizer, ektoptik veya adrenal köken) tespit edilmesi için kanda ACTH seviyeleri ölçülür. Düşük ACTH seviyeleri, sebebin olasılıkla adrenal tümör kaynaklı olduğunu gösterir. ACTH seviyelerinin normal veya yüksek çıkması ise problemin hipofiz bezi kaynaklı olduğunu düşündürür. Ektoptik tümörlerde ise çok yüksek ACTH düzeyleri dikkat çekicidir.

### **Kortizol ve ACTH (Adrenokortikotropik hormon)**

Cushing hastalığının ortaya çıkmasındaki en büyük etkenlerden biri kanda kortizol seviyelerinin çok yükselmesidir. Sıklıkla

“stres hormonu” olarak adlandırılan kortizol (*11 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,21-Trihydroxypregn-4-ene-3,20-dione*), glukokortikoid sınıfına ait olan ve kolesterolden sentezlenen, immün sistem, metabolizma ve strese karşı verilen cevapta etkin bir rolü olan steroid yapıda bir hormondur. İnsan da dahil olmak üzere birçok memeli hayvanda özellikle adrenal bezin *zona fasciculata* bölgesinde üretilse de, diğer dokularda da az miktarda üretilir. Neredeyse her hücre üzerinde kortizole özgü reseptörler bulunur ve etki ettiği hücre tipine bağlı olarak farklı görevleri bulunabilir <sup>(36)</sup>. Kortizol salınımı vücutta birbirileri ile ilişkili olan üç temel bölge ile kontrol edilir. Bunlar; beyinde hipotalamus, hipofiz bezi ve adrenal bezlerdir. Buna hipotalamik-hipofiz-adrenal aks (hypothalamic-pituitary-adrenal axis-HPA) adı verilir. Kanda kortizol seviyeleri düştüğünde, hipotalamus’tan kortikotropin salgılayan hormon (corticotropin releasing hormone-CRH) salınması komşu adenohipofizden adrenokortikotropik hormonun (ACTH) salınmasını tetikler. ACTH vasküler sistem vasıtasıyla adrenal kortekse taşınır. ACTH kortizol sentezini ve diğer glukokortikoidlerin, mineralokortikoid aldosteron ve dehidroepiandrosteron sentezini uyarır. Gece-gündüz ayırımının yapıldığı diüurnal döngü esnasında üretilir ve kan şekeri konstantrasyonu düştüğünde ve stres miktarı arttığı zaman salgılanır. Bu nedenle kortizol seviyesi 24 saatlik bir süre içerisinde büyük oranda değişiklik gösterir <sup>(14)</sup>.

Kanda kortizol seviyeleri yükseldiğinde, hipotalamustan CRH’ın ve hipofizden de ACTH’ın salgılanması baskılanır. Böylece, ACTH seviyeleri düşerek kortizol seviyelerinin de azalması sağlanır. Kortizol sirkadyen ritmi takip eder ve tükürükten ölçüm yapılması halinde sağlıklı sonuçlar elde edilebilir <sup>(32)</sup>. Viral enfeksiyonlar sitokinler ile HPA ekseninin aktivasyonu ile kortizol seviyesini yükseltebilir. Uzun süreli yoğun aerobik egzersiz kortizol

seviyelerini geçici olarak yükseltebilir ve glukoneogenezi, dolayısıyla kan şekeri seviyelerini arttırabilir. Ancak bu yükseliş geçici olup, yemek yedikten sonra normal seviyelerine düşer. Artışın sürekli olması halinde ise insülinin etkisini yok eder ve karaciğerde, ayrıca böbrek ve ince bağırsakta glukoneogenezi uyararak hiperglisemiye neden olabilir <sup>(15)</sup>. Ayrıca glukoz taşıyıcılarından (transporter) özellikle GLUT4 hücre membranına taşınmasını azaltarak glukozun kullanımını da engeller ve insülin direncine neden olur <sup>(27)</sup>.

Ağır travma veya stres de kortizol seviyelerini arttırabilir <sup>(18)</sup>. Enflamasyona neden olan maddelerin salınımını engelleyerek immün sistemi baskılar, yağ, protein ve karbonhidrat metabolizmasında görev yapar. Kortizol dolaylı olarak karaciğer ve kastaki glikojenolizi detetikler. Kortizolün seviyesinin uzun süre boyunca yüksek miktarlarda kalması kas hücrelerinin yıkılmasına ve proteolize (proteinlerin parçalanması) neden olabilir. Kortizol seviyesindeki artışlar lipid metabolizmasını ciddi oranda etkileyebilir <sup>(36)</sup>.

## CUSHİNG SENDROMU VE İMMÜNİTE

Kortizolün ilaç formundaki hali olan hidrokortizon, enflamatuvar ve romatoid hastalıklar ayrıca allerji gibi B-hücre aracılı antikor cevabının aşırı olmasına bağlı olarak ortaya çıkan durumların tedavisinde kullanılabilir. Devamlı yüksek miktarda kortizole maruz kalmak vücutta allostatik yükü arttırarak immün sistemi zayıflatabilir <sup>(2)</sup>. Antijen sunan hücrelerin ve yardımcı T1 (T helper-Th1) hücreler tarafından üretilen interlökin (IL)-12, interferon (IFN)-gama, IFN- $\alpha$ , ve TNF- $\alpha$ ’nın üretilmesini baskılamak, Th2 hücreler tarafından IL-4, IL-10 ve IL-13’ün üretilmesini tetikler. Bu durum genel bir immün baskılama yerine Th2 hücreli immün cevabın başlamasını sağlar <sup>(1)</sup>. Kortizol kemik oluşumunu azaltır, uzun vadede osteoporoza neden olur.



Kortizol glomerular filtrasyon seviyesini artırır, böbreklerden renal plazma akışını artırır bu da fosfat atımını hızlandırır, sodyum ve su geri alımını ve potasyum atımını artırır. Adrenalinle birlikte çalışarak kısa süreli hafıza oluşumunda iş görür. Ancak uzun süre yüksek kortizol seviyesi hipokampusu zarar vererek öğrenme seviyesini düşürebilir.

## GENETİK VE EPIGENETİK

Cushing hastalığının oluşumunda birçok çevresel, genetik ve epigenetik etmenler rol oynayabilir. Çevresel etmenler arasında çevre kirliliği, alkol, stres ve UV ışınlarla uzun süreli maruziyet sayılabilirken, genetik etmenler DNA'daki nokta mutasyonları, gen ifadesinde meydana gelen değişimler, DNA hasarı ve kırıkları, DNA tamir mekanizmasında bozukluklar, kromozomal delesyonlar sayılabilir. DNA'nın yapısını değiştirmemekle birlikte işlevini değiştiren metillenme, asetillenme, histon modifikasyonları gibi epigenetik değişiklikler de sendromun ortaya çıkmasında önemli bir rol oynayabilir <sup>(6)</sup>.

Hipofiz tümörlerinin gelişiminde *CABLES1*, *p16*, *p18*, *p21*, *p27*, *USP8*, *BRAF*, *USP48*, *GNAS*, *p53* gibi hipofiz adenomları ile ilişkili olan bazı genler tanımlanmıştır (Tablo 2).

### ***CABLES1* (CDK5 ve ABL enzim substrat 1 / CDK5 and ABL enzyme substrate 1)**

18q11.2-q12.1 kromozom bölgesinde lokalize olan ve siklin bağımlı kinazları reseptör olmayan tirozin kinazlar ile bağlayabilen, siklin bağımlı kinazların aktivitesini arttırarak hücre çoğalmasını ve büyümesini kontrol eden bir genidir. Cables1 proteini p53 ailesi proteinleri olan 14-3-3 ve  $\beta$ -katenin ile ilişkiye girerek hücre döngüsünde ve birçok farklı kanser türünün gelişiminde rol oynamaktadır <sup>(16)</sup>.

### ***AIP* (Aryl hidrokarbon reseptör etkileşimli protein / Aryl hydrocarbon receptor interacting protein)**

11q13.2 kromozom bölgesinde yerleşik olan bir genidir. Her ne kadar genin ürünü olan proteinin işlevi tam bilinmese de, aril hidrokarbon reseptörü de dahil olmak üzere birçok farklı protein ile etkileştiği ve kompleksler yaptığı gösterilmiştir. Bu sayede hücre büyümesi, bölünmesi, çoğalması gibi görevler yapmakta, ayrıca tümör baskılayıcı olarak da işlev yapmaktadır. FIPA'lı hastaların en az %20'sinde AIP geninin mutasyonun bulunduğu bildirilmiştir <sup>(4)</sup>. Ayrıca Cushing hastalığı olan bireylerde de *AIP* geninin mutasyonları olduğu rapor edilmiştir <sup>(8,25,26)</sup>.

### ***P16* (CDKN2A, siklin-bağımlı kinaz inhibitörü 2A / cyclin-dependent kinase inhibitor 2A)**

9p21.3 bölgesinde bulunan ve *p53* ve *RB1* gibi iki kritik hücre döngüsünü düzenleyen bir genidir. *CDKN2A*, okuma çerçevesindeki değişikliğe bağlı olarak siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan p16(INK4) ve p53'ü stabilize eden protein olan p14(ARF) proteinlerini kodlar. *P53*'ten son en sık görülen tümör baskılayıcı genidir. Gendeki mutasyon sonucu melanoma, hipofiz tümörleri, meme kanseri de dahil olmak üzere birçok kanser türü görülmektedir <sup>(31)</sup>.

### ***P18* (CDKN2C, siklin-bağımlı kinaz inhibitörü 2C / cyclin-dependent kinase inhibitor 2C)**

1p32.3 bölgesinde yerleşik olan ve ürünü aynı p16 gibi siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan bir genidir. *CDKN2C* de *INK4* gen ailesinin bir üyesi olup, bu genin ürünü olan protein CDK4 ve CDK6 ile bağlanarak siklin bağımlı kinazların aktivitesini baskılar ve böylece hücre büyümesini kontrol altına alarak tümör baskılayıcı bir rol üstlenir. *P18* geninin mutasyonu sonucunda farklı kanser türleri görülebilmektedir <sup>(40)</sup>.

**Tablo 2. Hipofiz adenomları ile ilişkili genler** <sup>(35)</sup>

Gen	Kromozomal yerleşim	Hipofiz tümörlerinin oluşumundaki rolü
<i>AIP</i>	11q13.2	cAMP sentezinde işlevseldir.
<i>BRAF</i>	7q34	Tirozin kinaz aktivitesi olan proto-onkogendir. MAPK etkinleşmesinde ve POMC ifadesinin artmasında görevi vardır.
<i>GNAS</i>	20q13.32	cAMP- düzenleyici protein, etkinleşmesi sonucu cAMP seviyeleri artar ve protein kinaz A etkin hale geçer.
<i>PIK3CA</i>	3q26.32	PI3K/AKT yolağında görevlidir, hücre yaşamı, büyümesi, çoğalması ve metabolizmasında işlevseldir.
<i>TP53</i>	17p13.1	Tümör baskılayıcıdır, hücre döngüsü, apoptoz ve genomic stabilitede işlevi vardır.
<i>USP48</i>	1p36.12	Deubikütinlenmede, MAPK etkinleşmesinde ve POMC ifadesinin artmasında görevi vardır.
<i>USP8</i>	15q21.2	EGFR'nin deubikütinleşmesinde görevlidir, işlev kazandıran mutasyonlar sonucunda EGFR ve POMC gen ifadeleri artar.

### ***P21 (CDKN1A, siklin-bağımlı kinaz inhibitörü 1C / cyclin dependent kinase inhibitor 1C)***

6p21.2 bölgesinde lokalize olan bir gen dir. Ürünü olan protein (CIP1/WAF1) siklin bağımlı kinaz inhibitörüdür ve DNA hasarında ifadesini arttırarak CDK2, CDK1 ve CDK4/6'ya bağlanır ve hücre döngüsünün durmasını sağlar. *P53* ile birlikte bilinen en etkin tümör baskılayıcı genlerden biridir. *P21* seviyelerinin prolaktinomalı hastalarda arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle prolaktinoma tedavisinde p21'i hedeflemek hastalığın tedavisi için kullanılabilir <sup>(9)</sup>.

### ***P27 (CDKN1B, siklin-bağımlı kinaz inhibitörü 1B / cyclin dependent kinase inhibitor 1B)***

12p13.1 bölgesinde lokalize olan bir gen dir. Ürünü olan protein (KIP1) siklin bağımlı kinaz inhibitörü ve bir tümör baskılayıcıdır. Siklin E/CDK2 veya siklin D/CDK4 komplekslerine bağlanarak hücre döngüsünün durdurulmasında işlevseldir. *P21* ile birlikte prolaktinomalı hastalarda ifadesinin arttığı <sup>(9)</sup>, bu gende meydana gelen mutasyonlar sonucunda MEN4 sendromunun ortaya çıktığı gösterilmiştir <sup>(37)</sup>.

### ***USP8 (Ubikutin spesifik proteaz 8 / Ubiquitin specific protease 8)***

15q21.2 kromozom bölgesinde yerleşik olan ve ubikutine özgü proteaz kodlayan bir gen dir. *USP8* geninin 14. eksonunda meydana gelen heterozigot somatik mutasyonların adrenokortikotrop hormon

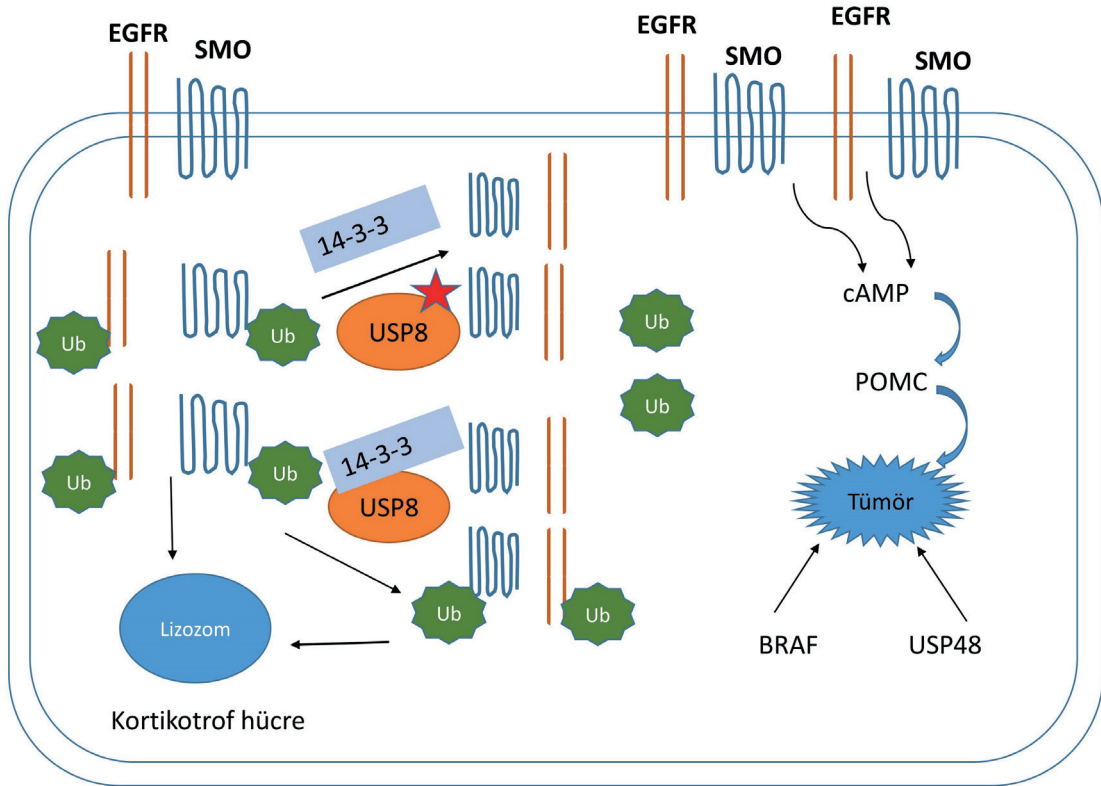
salgılayan (ACTH) hipofiz tümöründe (Cushing hastalığında) etkin rol oynadığı gösterilmiştir (Resim 1). Buna göre, *USP8* geninde mutasyon olan hastalarda EGFR proteininin ve ACTH'nin öncülü olan Pro-opiomelanokortin (POMC) seviyelerinin arttığı, bunun da bir hipofiz adenomu olan Cushing hastalığı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir <sup>(6,21)</sup>. *USP8* geninin mutasyonları kortikotrop adenomlu hastaların %35-62'sinde tespit edilmiştir <sup>(21,28)</sup>.

### ***BRAF (B-raf proto onkogen, serin treonin kinaz / B-Raf proto oncogene, serine threonine kinase)***

7q.34 bölgesinde yerleşik olan ve B-raf adlı bir protein kodlayan bir proto-onkogendir. Protein esas olarak bir serin-treonin protein kinaz olup, MAPK/ERK sinyal yolağında görev alır ve hücre büyümesinde doğrudan görevlidir. Bilinen 30'dan fazla *BRAF* mutasyonu bulunmakla birlikte, özellikle *BRAF* V600E beyin tümörü de dahil olmak üzere meme, over, kolon gibi birçok farklı kanser türünde görülmektedir <sup>(34)</sup>. Bu mutasyonu taşıyan kanser türlerinin tedavisinde kullanılmak üzere özellikle *BRAF* inhibitörleri (Vemurafenib, Sorafenib, Dabrafenib) geliştirilmektedir <sup>(20,30)</sup>.

### ***USP48 (Ubikutin spesifik peptidaz 48 / Ubiquitin specific peptidase 48)***

1p36.12 bölgesinde yerleşik olan bir gen olup, ürünü olan protein ubikutine özgü bir proteazdır ve hücre büyümesi, farklılaşma ve genomun



**Resim 1. USP8'in hipofiz tümörogenezindeki rolü**

Kortikotrop hücrelerdeki tümörojenik mekanizma. USP8, EGFR ve Smoothened (SMO) gibi hedef proteinlerden ubikutinleri çıkarır, böylece hücrelerin proteazomda degradasyonunu engeller ve hücre yüzeyine geri dönmelerini sağlar. EGFR ve SMO'nun etkinliği artınca cAMP ve POMC seviyeleri arttırır. USP8 mutasyona uğradığı zaman ise 14-3-3 proteinine bağlanamaz ve EGFR ile SMO'nun deubikutinlenmesi, dolayısıyla da bu proteinlerin hücre yüzeyinde ifadesi artar. BRAF'ın işlev kazandıran ve USP48'in mutasyonları da USP8'inkine benzer bir ol oynar (Chang'dan modifiye edilerek) <sup>(6)</sup>.

bütünlüğünün korunmasında önemli rolleri olan bir genidir. USP48 proteini de, USP8 ve BRAF proteinlerinin yaptığı gibi ACTH'ın öncül molekülü olan POMC'yi üreten genin promotörüne bağlanarak genin ifadesini ve transkripsiyonunu arttırmakta, bu da Cushing dahil olmak üzere ACTH salgılayan tümör oluşumunu hızlandırmaktadır <sup>(7)</sup>.

### **GNAS1 (Guanin Nükleotid Bağlayıcı Protein, Alfa Uyarıcı Aktivite Polipeptidi 1 / Guanine Nucleotide-Binding Protein, Alpha-Stimulating Activity Polypeptide 1)**

20q13.32 kromozom bölgesinde yerleşik olan ve farklı promotörlerde ve alternatif kırılımda kullanılabilecek olan transkriptler üreten kompleks bir lokustur. Bu bölgeden

üretilen en bilinen ürün G protein olarak da bilinen Guanin nükleotid bağlayıcı proteinin alfa altbirimini kodlayan Gs- $\alpha$ 'dır. GNAS'ın aktivitesini kaybetmesi sonucunda psödohipoparatiroidizm Ia, Ib ve Ic (PHP-Ia, -Ib, -Ic), psödopsödohipoparatiroidizm (PPHP), ilerleyici kemik heteroplazisi (progressive osseous heteroplasia-POH), ve osteoma kütis (osteoma cutis-OC) gibi hastalıklar, ayrıca çeşitli kanser türleri görülebilir <sup>(12,23)</sup>.

### **P53**

17p13.1 kromozom bölgesinde kalıtılan ve insan kanser türlerinde belki en çok çalışılan tümör baskılayıcı genidir. Normal bir hücrede p53 bir ubikutin ligaz olan MDM2 ile ilişkisi sayesinde inaktif durumdadır ve transkripsiyonu



baskılanmış haldedir. Ancak fosforillenme ve asetillenme gibi posttranslasyonel aktiviteler sayesinde p53 aktivitesini kazanarak hücre döngüsünde kritik bir rol oynar. Hücre döngüsünün durdurulması, DNA tamirinin başlatılması, apoptozun başlatılması gibi son derece kritik bir göreve sahip olup, genin mutasyonu sonucunda üretilen p53 proteini hatalı olacağından tüm bu süreçler sekteye uğrayabilmekte, bu da hücrenin kaderini ciddi oranda etkileyebilmektedir<sup>(33)</sup>. MDM2'nin hipofiz tümörlerinde doğrudan p53 ile etkileşerek hücre çoğalmasını arttırdığı, apoptozu baskıladığı gösterilmiştir. Bu nedenle, hipofiz tümörlerinin tedavisinde MDM2-p53 birlikteliği hedeflenebilir<sup>(38)</sup>. Ayrıca, MDM2/p53 kompleksinin mir-219a-2-3p tarafından baskılanabildiği düşünüldüğünde, miRNA'ların da hipofiz tümörlerinin tanısında bir belirteç olarak kullanılabileceği düşünülebilir. Ayrıca, hipofiz adenomlarının patolojik incelemesinde p53'ün genellikle negatif olduğu, çok nadir görülen hipofiz karsinomlarının tümünde pozitif olduğu gözlenmiştir. Bundan dolayı, 2004 DSÖ sınıflamasında hipofiz tümörlerinin p53 pozitifliğinin agresif seyir kriteri olarak belirtilmiş olduğu görülmektedir, ancak yeni sınıflamada yer almamaktadır<sup>(22,29,39)</sup>.

### miRNAlar

Hipofiz adenomlarının gelişmesinde bazı miRNA'ların da etkin bir rol oynadıkları gösterilmiştir. miRNAlar tek zincirli 20-22 nükleotid uzunlukta olan küçük düzenleyici moleküllerdir. Etkilerini hedef genin 3'UTR bölgesine bağlanıp genin etkinliğini artırarak veya baskılayarak gösterebilirler<sup>(3)</sup>. Bazı miRNAlar onkogenleri veya tümör baskılayıcı genleri hedefleyerek hücre farklılaşmasını ve apoptozu doğrudan etkilemektedir. Örneğin miR-410-3p gonadotrop ve kortikotrop hipofiz tümörlerinde bir onkomir olarak, ancak somatotrop hipofiz tümörlerinde tümör baskılayıcı olarak görev

yaptığı gösterilmiştir<sup>(11)</sup>. Benzer olarak, miR-524-5p'nin PTTG genini hedefleyerek fonksiyonel olmayan hipofiz adenomunda (NFA), miR-424 ve miR-503'ün *CDC25A*'yı hedefleyerek NFA'da, miR-34'ün *AIP* genini hedefleyerek büyüme hormonu salgılayan adenomda, miR-410'un *CCNBI* genini hedefleyerek folikül stimulan hormon/lüteinleştirici hormon adenomunda, miR26a'nın *PLAG1*, miR23b'nin *HMG2*, miR-130b'nin *CCNA2* genlerini hedefleyerek NFA, GH, FSH, LH tipi hipofiz adenomlarında etkin olduğu belirtilmiştir<sup>(3)</sup>.

### EPİGENETİK

DNA'nın yapısını değiştirmeyen, ancak işlevini önemli ölçüde etkileyen epigenetik değişiklikler de hipofiz tümörlerinin oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Örneğin DNA'ya metil gruplarının taşınmasını sağlayan DNA metil transferazlar (DNMTler) genlerin ilgili bölgelerini sessizleştirerek gen ifadesini azaltmakta, histon asetilazlar (HATlar) ve histon deasetilazlar (HDAC) devamlı ilgili genlerin histonlarını asetilleyip deasetilleyerek transkripsiyonel işlemleri ve gen ifadelerini değiştirmektedir. Ayrıca histon sitrillenmeleri de kromatin ifadesi üzerinde rol oynamaktadır<sup>(13)</sup>. Bu değişikliklere ek olarak, *CDK1*, *P16*, *P18*, *P21*, *RBI*, *ZAC1*, *GADD45*, *FGFR2*, *WIF1*, *BMP4*, *MEG3A*, *PTAG*, *PTTG1*, *RASSF1A*, gibi birçok birçok farklı genin promotör bölgesinde meydana gelen metillenmenin de hipofiz tümörlerinde etkin rol oynayabileceği kanıtlanmıştır<sup>(13,37)</sup>.

### SONUÇ

Hipofiz adenom tümörogenezi, genetik ve epigenetik değişikliklerin rol oynadığı karmaşık bir süreçtir. Bu süreçte pek çok tümör baskılayıcı gen, onkogen, hücre döngüsü genleri, transkripsiyon faktörleri, çeşitli mutasyonlar, epigenetik düzenleyicileri ve

mikroRNA'ların yer aldığı tanımlanmış olsa da halen Cushing hastalığının moleküler temelinde aydınlatılamamış noktalar bulunmaktadır.

Cushing hastalığının tanı ve tedavisi için yeni yaklaşımların geliştirilmesi amacıyla, hipofiz adenomu patogenezinde yer alan moleküler olayların aydınlatılması ve bunun için ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

**Çıkar çatışması:** Çalışmamızda herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

**Finansal destek:** Çalışmamızda finansal destek alınmamıştır.

**Conflict of interest:** There is no conflict of interest in our study.

**Funding:** No financial support was received in our study.

## KAYNAKÇA

1. Assaf AM, Al-Abbassi R, Al-Binni M. Academic stress-induced changes in Th1- and Th2-cytokine response. *Saudi Pharm J* 2017; 25(8): 1237-1247. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.09.009>
2. Berger M, Taylor S, Harriss L, Campbell S, Thompson F, Jones S, et al. Hair cortisol, allostatic load, and depressive symptoms in Australian Aboriginal and Torres Strait Islander people. *Stress* 2019; 22(3): 312-320. <https://doi.org/10.1080/10253890.2019.1572745>
3. Beylerli O, Beeraka NM, Gareev I, Pavlov V, Yang G, Liang Y, et al. MiRNAs as noninvasive biomarkers and therapeutic agents of pituitary adenomas. *Int J Mol Sci* 2020; 21(19). <https://doi.org/10.3390/ijms21197287>
4. Bilbao Garay I, Daly AF, Egaña Zunzunegi N, Beckers A. Pituitary disease in AIP mutation-positive Familial Isolated Pituitary Adenoma (FIPA): A kindred-based overview. *J Clin Med* 2020; 9(6). <https://doi.org/10.3390/jcm9062003>
5. Castinetti F, Morange I, Conte-Devolx B, Brue T. Cushing's disease. *Orphanet J Rare Dis* 2012; 7: 41. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-7-41>
6. Chang M, Yang C, Bao X, Wang R. Genetic and epigenetic causes of pituitary adenomas. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020; 11: 596554. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.596554>
7. Chen J, Jian X, Deng S, Ma Z, Shou X, Shen Y, et al. Identification of recurrent USP48 and BRAF mutations in Cushing's disease. *Nat Commun* 2018; 9(1): 3171. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05275-5>
8. Dinesen PT, Dal J, Gabrovská P, Gaustadnes M, Gravholt CH, Stals K, et al. An unusual case of an ACTH-secreting macroadenoma with a germline variant in the aryl hydrocarbon receptor-interacting protein (AIP) gene. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep* 2015; 2015: 140105. <https://doi.org/10.1530/edm-14-0105>
9. Dong W, Li J, Liu Q, Liu C, Li C, Song G, et al. P21(Waf1/Cip1) and p27(Kip1) are correlated with the development and invasion of prolactinoma. *J Neurooncol* 2018; 136(3): 485-494. <https://doi.org/10.1007/s11060-017-2683-6>
10. El Sayed S A, Fahmy MW, Schwartz J, Physiology, Pituitary Gland, in *StatPearls*. 2021, StatPearls Publishing Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
11. Grzywa T M, Klicka K, Rak B, Mehlich D, Garbicz F, Zieliński G, et al. Lineage-dependent role of miR-410-3p as oncomiR in gonadotroph and corticotroph pituitary adenomas or tumor suppressor miR in somatotroph adenomas via MAPK, PTEN/AKT, and STAT3 signaling pathways. *Endocrine* 2019; 65(3): 646-655. <https://doi.org/10.1007/s12020-019-01960-7>
12. Haldeman-Englert CR, Hurst CE, Levine MA. Disorders of GNAS Inactivation, in *GeneReviews*(®), M P Adam, et al., Editors. 1993, University of Washington, Seattle Copyright © 1993-2021, University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.: Seattle (WA).
13. Hauser BM, Lau A, Gupta S, Bi WL, Dunn IF. The Epigenomics of Pituitary Adenoma. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019; 10: 290. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00290>
14. Hewagalamulage SD, Lee TK, Clarke IJ, Henry BA. Stress, cortisol, and obesity: a role for cortisol responsiveness in identifying individuals prone to obesity. *Domest Anim Endocrinol* 2016; 56 Suppl: S112-20. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2016.03.004>
15. Hill EE, Zack E, Battaglini C, Viru M, Viru AHackney AC. Exercise and circulating cortisol levels: the intensity threshold effect. *J Endocrinol Invest* 2008 31(7): 587-91. <https://doi.org/10.1007/bf03345606>
16. Huang JR, Tan GM, Li Y, Shi Z. The emerging role of Cables1 in cancer and other diseases. *Mol Pharmacol* 2017; 92(3): 240-245. <https://doi.org/10.1124/mol.116.107730>
17. Ilahi S, Ilahi TB. Anatomy, Adenohypophysis (Pars Anterior, Anterior Pituitary), in *StatPearls*. 2021, StatPearls Publishing Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
18. Kotozaki Y, Kawashima R. Effects of the Higashi-Nihon earthquake: posttraumatic stress, psychological changes, and cortisol levels of survivors. *PLoS One* 2012; 7(4): e34612. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034612>
19. Lim CT, Korbonits M. Update on the clinicopathology of pituitary adenomas. *Endocr Pract* 2018; 24(5): 473-488. <https://doi.org/10.4158/ep-2018-0034>

20. Liu H, Nazmun N, Hassan S, Liu X, Yang J. BRAF mutation and its inhibitors in sarcoma treatment. *Cancer Med* 2020; 9(14): 4881-4896. <https://doi.org/10.1002/cam4.3103>
21. Ma ZY, Song ZJ, Chen JH, Wang YF, Li SQ, Zhou LF, et al. Recurrent gain-of-function USP8 mutations in Cushing's disease. *Cell Res* 2015; 25(3): 306-17. <https://doi.org/10.1038/cr.2015.20>
22. Miermeister CP, Petersenn S, Buchfelder M, Fahlbusch R, Lüdecke DK, Hölsken A, et al. Histological criteria for atypical pituitary adenomas - data from the German pituitary adenoma registry suggests modifications. *Acta Neuropathol Commun* 2015; 3: 50. <https://doi.org/10.1186/s40478-015-0229-8>
23. Möhlendick B, Schmid KW, Siffert W. The GNAS SNP c.393C>T (rs7121) as a marker for disease progression and survival in cancer. *Pharmacogenomics* 2019; 20(7): 553-562. <https://doi.org/10.2217/pgs-2018-0199>
24. Nishioka H, Yamada S. Cushing's Disease. *J Clin Med* 2019; 8(11). <https://doi.org/10.3390/jcm8111951>
25. Niyazoglu M, Sayitoglu M, Firtina S, Hatipoglu E, Gazioglu N, Kadioglu P. Familial acromegaly due to aryl hydrocarbon receptor-interacting protein (AIP) gene mutation in a Turkish cohort. *Pituitary* 2014; 17(3): 220-6. <https://doi.org/10.1007/s11102-013-0493-1>
26. Ozkaya HM, Comunoglu N, Sayitoglu M, Keskin FE, Firtina S, Khodzhaev K, et al. Germline mutations of aryl hydrocarbon receptor-interacting protein (AIP) gene and somatostatin receptor 1-5 and AIP immunostaining in patients with sporadic acromegaly with poor versus good response to somatostatin analogues. *Pituitary* 2018; 21(4): 335-346. <https://doi.org/10.1007/s11102-018-0876-4>
27. Piroli GG, Grillo CA, Reznikov LR, Adams S, McEwen BS, Charron MJ, et al. Corticosterone impairs insulin-stimulated translocation of GLUT4 in the rat hippocampus. *Neuroendocrinology* 2007; 85(2): 71-80. <https://doi.org/10.1159/000101694>
28. Reincke M, Sbierra S, Hayakawa A, Theodoropoulou M, Osswald A, Beuschlein F, et al. Mutations in the deubiquitinase gene USP8 cause Cushing's disease. *Nat Genet* 2015; 47(1): 31-8. <https://doi.org/10.1038/ng.3166>
29. Saeger W, Lüdecke DK, Buchfelder M, Fahlbusch R, Quabbe HJ, Petersenn S. Pathohistological classification of pituitary tumors: 10 years of experience with the German Pituitary Tumor Registry. *Eur J Endocrinol* 2007; 156(2): 203-16. <https://doi.org/10.1530/eje.1.02326>
30. Schreck KC, Grossman SA, Pratilas CA. BRAF mutations and the utility of RAF and MEK inhibitors in primary brain tumors. *Cancers (Basel)* 2019; 11(9). <https://doi.org/10.3390/cancers11091262>
31. Serra S, Chetty R. p16. *J Clin Pathol* 2018 71(10): 853-858. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2018-205216>
32. Sharma ST, Nieman LK, Feelders RA. Cushing's syndrome: epidemiology and developments in disease management. *Clin Epidemiol* 2015; 7: 281-93. <https://doi.org/10.2147/cep.S44336>
33. Stein Y, Rotter V, Aloni-Grinstein R. Gain-of-function mutant p53: All the roads lead to tumorigenesis. *Int J Mol Sci* 2019; 20(24). <https://doi.org/10.3390/ijms20246197>
34. Tan YH, Liu Y, Eu KW, Ang PW, Li WQ, Salto-Tellez M, et al. Detection of BRAF V600E mutation by pyrosequencing. *Pathology* 2008; 40(3): 295-8. <https://doi.org/10.1080/00313020801911512>
35. Tatsi C, Stratakis CA. The Genetics of Pituitary Adenomas. *J Clin Med* 2019; 9(1). <https://doi.org/10.3390/jcm9010030>
36. Thau L, Gandhi J, Sharma S, Physiology, Cortisol, in *StatPearls*. 2021, StatPearls Publishing Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
37. Vandeva S, Jaffrain-Rea ML, Daly AF, Tichomirowa M, Zacharieva S, Beckers A. The genetics of pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2010; 24(3): 461-76. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2010.03.001>
38. Wang Y, Zhao J, Zhang C, Wang P, Huang C, Peng H. MDM2 promotes the proliferation and inhibits the apoptosis of pituitary adenoma cells by directly interacting with p53. *Endokrynol Pol* 2020; 71(5): 425-431. <https://doi.org/10.5603/EP.a2020.0053>
39. Wang Y, Zhao J, Zhang C, Wang P, Huang C, Peng H. MiR-219a-2-3p suppresses cell proliferation and promotes apoptosis by targeting MDM2/p53 in pituitary adenomas cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2020; 84(5): 911-918. <https://doi.org/10.1080/09168451.2020.1715780>
40. Zhu S, Cao J, Sun H, Liu K, Li Y, Zhao T. p18 inhibits reprogramming through inactivation of Cdk4/6. *Sci Rep* 2016; 6: 31085. <https://doi.org/10.1038/srep31085>