

Ines Donangelo
Mônica Gadelha

Serviço de Endocrinologia do
Hospital Universitário
Clementino Fraga Filho e
Faculdade de Medicina da
Universidade Federal do
Rio de Janeiro (UFRJ),
Rio de Janeiro, RJ.

Recebido em 27/02/04
Revisado em 09/06/04
Aceito em 21/06/04

RESUMO

Esta revisão descreve as bases moleculares dos adenomas hipofisários com ênfase nos tumores secretores de GH (somatotropinomas). São discutidos os papéis de genes de supressão tumoral (como *RBI*, *MEN-1*) e de oncogenes (como *gsp*, *PTTG*) na iniciação e progressão destes tumores. A caracterização destes marcadores moleculares pode ajudar na compreensão do comportamento tumoral, auxiliando a conduta terapêutica. Entretanto, apesar dos recentes avanços, ainda não é totalmente conhecida a seqüência de alterações genéticas envolvidas na patogênese destes adenomas. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2004;48/4:464-479**)

Descritores: Acromegalia; Adenomas hipofisários; Patogênese; Oncogene; Gene de supressão tumoral

ABSTRACT

Molecular Basis of Pituitary Adenomas with Emphasis on Somatotropinomas.

This review describes the molecular basis of pituitary adenomas with emphasis on GH-secreting tumors (somatotropinomas). The roles of tumor suppressor genes (such as *RBI* and *MEN-1*) and oncogenes (such as *gsp* and *PTTG*) in tumor initiation and promotion are discussed. The characterization of these molecular markers may contribute to the understanding of tumor behavior, helping in the therapeutic management. However, despite recent advances, the sequence of genetic abnormalities participating in the pathogenesis of these adenomas is not completely known. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2004;48/4:464-479**)

Keywords: Acromegaly; Pituitary adenomas; Pathogenesis; Oncogene; Tumor suppressor gene

OS TUMORES DA ADENO-HIPÓFISE representam 15% das neoplasias intracranianas e são geralmente benignos (1). Apesar de serem bastante comuns na população geral, apenas uma pequena fração destes tumores leva a manifestações clínicas, seja pela presença de compressão de estruturas vizinhas (hipopituitarismo, sintomas visuais, cefaléia) ou devido a síndromes endócrinas causadas por hipersecreção hormonal. Os adenomas hipofisários secretores de GH (somatotropinomas) causam acromegalia/gigantismo e representam 25% dos adenomas hipofisários com expressão clínica (2).

A maioria dos adenomas hipofisários é de crescimento lento, porém, em cerca de um terço dos casos, o tumor adquire comportamento invasivo e, em uma fração pequena (~0,1%), ocorre metástase à distância, caracterizando malignidade (3). As definições do que seja comportamento tumoral “agressivo” ou “invasivo” se confundem na literatura e, nesta revisão, serão

usadas como sinônimos. As características histopatológicas do tumor não são capazes de fornecer dados relevantes para o manejo clínico como, por exemplo, o potencial de evoluir de forma invasiva, de recidivar após cirurgia ou de responder à radioterapia (3).

Na gênese de adenomas hipofisários, estão envolvidas alterações intrínsecas das células adenohipofisárias, como perda de genes de supressão tumoral e ativação de proto-oncogenes, sinais locais, como fatores de crescimento, e possivelmente estímulos hipotalâmicos. Apesar de amplamente estudados, os mecanismos de tumorigênese ainda são pouco compreendidos. Até o momento, nenhuma das observações de estudos celulares e moleculares mudou a abordagem do paciente com tumor hipofisário, e não há marcadores prognósticos estabelecidos que possam guiar decisões terapêuticas. Em última análise, a elucidação dos mecanismos moleculares de iniciação (ganho de função proliferativa) e promoção (expansão clonal e progressão tumoral) neoplásica da célula hipofisária tem como objetivo melhorar os cuidados do paciente.

Nesta revisão, abordaremos a situação atual de entendimento da patogênese dos adenomas hipofisários com ênfase nos tumores secretores de GH. É importante comentar que, em muitos trabalhos, os tumores secretores de GH são uma pequena fração dos tumores hipofisários estudados, o que pode tornar difícil o reconhecimento de alterações genéticas específicas associadas a este subtipo tumoral.

ASPECTOS GERAIS

Influência Hipotalâmica vs. Defeito Hipofisário Intrínseco

Em relação aos mecanismos propostos de iniciação de adenomas hipofisários, existem argumentos a favor e contra as hipóteses de estímulo hormonal hipotalâmica e de mutação intrínseca. A célula hipofisária normal está sob rígido controle de fatores estimuladores e inibidores do hipotálamo. Roedores castrados ou tireoidectomizados precocemente apresentam hiperplasia hipofisária, que pode evoluir para desenvolvimento tumoral (4,5), e camundongos transgênicos para secreção de GHRH desenvolvem hiperplasia somatotrófica, que pode progredir para adenoma secretor de GH (6). Entretanto, em humanos, os tumores gonadotróficos (incluindo os clinicamente não-funcionantes) não parecem ser secundários à falência gonadal primária, e o hipotireoidismo primário de longa evolução pode causar hiperplasia tireotrófica, que raramente progride para adenoma

(7). Na maioria dos casos de produção tumoral de GHRH ectópica (carcinóide brônquico, carcinoma de pequenas células, tumor de ilhota pancreática) e eutópica (hamartomas e gangliocitomas), ocorre hiperplasia somatotrófica sem desenvolvimento de adenoma (8). Entretanto, há relato de desenvolvimento de adenoma hipofisário em um paciente com gangliocitoma hipotalâmico produtor de GHRH (9). Estes dados sugerem que, apenas em condições excepcionais, adenomas hipofisários podem se desenvolver em tecido hiperplásico.

Evidências mais convincentes sugerem que a iniciação da tumorigênese ocorra na própria hipófise. Estudos histológicos de peças cirúrgicas distinguem claramente as bordas dos adenomas, que não são circundadas por tecido hipofisário hiperplásico. Além disso, a ressecção cirúrgica de pequenos adenomas geralmente leva à cura e à baixa taxa de recidiva da doença. A monoclonalidade é considerada a maior evidência a favor do processo de iniciação ser induzido por mutação somática (10). Nesta situação, assume-se que alteração (ou alterações) genética(s) de uma única célula de uma dada linhagem lhe confere(m) capacidade proliferativa. Em um compilado de trabalhos publicados sobre este tema (11), 44 dos 49 adenomas hipofisários estudados revelou ser monoclonal, inclusive os 3 somatotropinomas estudados.

O esclarecimento dos mecanismos iniciadores da tumorigênese hipofisária é essencial por ser determinante para a definição do modelo mais apropriado de investigação das alterações genéticas. Até o momento, as observações apoiam a hipótese do defeito intrínseco de uma célula levando à expansão monoclonal, mas provavelmente os hormônios hipotalâmicos e outros fatores locais têm papel permissivo na promoção do crescimento e na evolução para comportamento invasivo.

Controle do Ciclo Celular na Tumorigênese

A divisão celular requer a transição coordenada por duas fases funcionais (figura 1): a fase S, período de síntese de DNA, e a fase M, durante a qual os cromossomos se condensam e se alinham no feixe de mitrotúbulos e as cromátides irmãs são separadas.

Estas fases são separadas por intervalos denominados G1 (*gap 1*), quando a célula se prepara para o início da síntese de DNA, e G2 (*gap 2*), período que precede a fase M. Quando não estão ciclando, as células encontram-se em uma fase quiescente denominada G0, sendo necessários sinais intra e extracelulares para que elas retornem ao ciclo celular. A transição entre as fases é regida pela oscilação na atividade de cinases denominadas CDKs (*cyclin-dependent kinases*, cinases

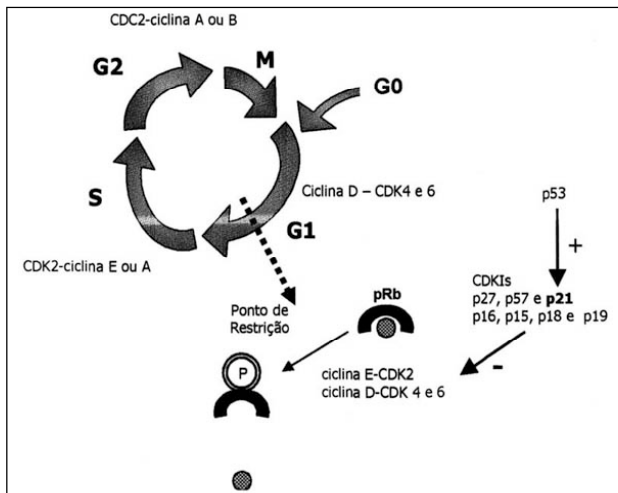


Figura 1. Ciclo celular: a transição entre as fases é determinada pela oscilação da atividade de CDKs ativadas por ciclinas. A fase S caracteriza-se pela síntese de DNA, a fase M por divisão do material genético e as fases G1 e G2 por síntese protéica. A transição da fase G1 para a fase S, através da passagem pelo ponto de restrição, depende da inativação (fosforilação) da pRb pela ação de CDKs ativada por ciclinas.
Fator de transcrição E2F: ● ;
Ponto de de Restrição: - - - - ->;
Fosforilação (inativação): ⊕

dependentes de ciclinas) e as suas sub-unidades regulatórias, as ciclinas. Enquanto as CDKs estão presentes na maioria das células em níveis constitucionais, a síntese e degradação das ciclinas ocorrem somente em certas fases do ciclo celular. O acoplamento cíclico, ativação e desacoplamento de complexos ciclina-CDK específicos são eventos-chave que dirigem o ciclo celular (12). Durante o processo normal de divisão celular, existe constante exposição a agentes externos carcinogênicos.

A célula se protege dos efeitos nocivos desta agressão através de rigorosas barreiras fisiológicas em pontos estratégicos do ciclo celular, os pontos de checagem. A passagem por estes pontos de controle permite que a progressão em direção à divisão celular ocorra somente se as condições da célula estiverem perfeitas, o que inclui replicação de DNA completa e sem danos. Se a interrupção da proliferação se fizer necessária, um sistema de reparo da informação genética é ativado, e o retorno ao ciclo somente ocorre se ou quando os erros estiverem corrigidos (13). Assim, o desenvolvimento de células anormais, isto é, com mutações que levem à formação de neoplasias, é extremamente raro quando levamos em conta a infinidade de células que se dividem diariamente (14). Os principais determinantes de parada do ciclo celular são a proteína do retinoblastoma (pRb) e os CDKIs (*cyclin-dependent kinases inhi-*

bitors, inibidores das cinases dependentes de ciclinas).

No final da fase G1 do ciclo, existe o ponto de restrição (figura 1) que, uma vez ultrapassado, leva a célula irreversivelmente para a fase S, onde ocorre a replicação do DNA celular. O principal regulador deste ponto é a pRb, que, em sua forma ativa, hipofosforilada, impede a progressão do ciclo ao sequestrar fatores de transcrição. Após estímulo externo para iniciar a replicação celular, ocorre ativação seqüencial de ciclinas. O aumento nos níveis de ciclinas leva à sua ligação com CDKs, tornando-as ativas. Estes complexos ciclinas-CDKs adquirem a capacidade de inativar por fosforilação a pRb. A pRb inativa libera os fatores de transcrição, levando à expressão de genes necessários para replicação de DNA, permitindo, portanto, o avanço do ciclo celular para a fase S (12).

A atividade promotora da divisão celular dos complexos ciclina-CDKs é regulada negativamente pelos CDKIs, que reprimem a progressão do ciclo celular. Estes podem ser divididos na família Cip/Kip, que inclui a p27/kip1, p21/cip1 e p57/kip2, e na família INK4, representada pela p16/INK4a, p15/INK4b, p18/INK4c e p19/INK4d. Ambas famílias de proteínas têm em comum a capacidade de inibir os complexos ciclina-CDK que fosforilam a pRb. A família Cip/Kip (p21, p27 e p57) pode também bloquear a progressão do ciclo de uma forma independente de pRb (12).

A proteína p53 tem importante papel na resposta celular ao dano de seu DNA. Em uma célula normal, o DNA danificado é um estímulo para a fosforilação de p53. Esta fosforilação ativa a p53, que aumenta a transcrição de vários genes, entre eles o gene do p21. O aumento nos níveis de p21 bloqueia a ativação de CDKs e, conseqüentemente, a progressão do ciclo da fase G1 para S, permitindo mais tempo para que o DNA seja reparado. A p53 induz a apoptose, caso o reparo do DNA não seja bem sucedido (12).

Cada uma das proteínas citadas que participa na regulação do ciclo celular é codificada por um gene. Como explicado no próximo tópico, anormalidades tanto em genes que levam à progressão do ciclo e divisão celular como em genes que bloqueiam a progressão do ciclo podem levar à formação de uma célula com características neoplásicas. Os primeiros são exemplos de proto-oncogenes e os segundos de genes de supressão tumoral, respectivamente.

Oncogenes e Genes de Supressão Tumoral

Os produtos dos proto-oncogenes são altamente conservados evolutivamente e regulam a cascata de eventos que leva à progressão ordenada do ciclo, da divisão e da diferenciação celulares. Além de proteínas que

favorecem a progressão do ciclo, como citado no tópico anterior, codificam também fatores de crescimento, seus receptores e proteínas que participam de sinalização celular. Na tumorigênese hipofisária, os fatores de crescimento, de transcrição e as proteínas sinalizadoras parecem ter função apenas permissiva (15,16). Os proto-oncogenes podem ser convertidos em oncogenes por mutações ativadoras ou pela sua superexpressão (13). Ambas formas de ativação de oncogenes foram descritas em tumores hipofisários, sendo o oncogene *gsp* um exemplo da primeira e o oncogene *PTTG* (*pituitary tumor transforming gene*, gene transformador de tumores hipofisários) um exemplo da segunda forma de ativação (17). Como apenas uma cópia anormal do gene é suficiente para levar a seu efeito estimulador, os oncogenes são considerados de atuação dominante e a mutação ativadora somente precisa ocorrer em um dos alelos da célula.

Por outro lado, os genes de supressão tumoral podem ter uma variedade de funções, muitas das quais não conhecidas, e têm como ponto chave o fato de ambas as cópias alélicas terem de ser inativadas para que exista perda de função. Em mutações germinativas, todas as células do corpo apresentam um dos alelos mutados, necessitando-se apenas uma mutação somática do outro alelo para inativação do gene no tecido alvo. Isto ocorre em síndromes neoplásicas hereditárias, como a neoplasia endócrina múltipla tipo 1 (MEN-1, *multiple endocrine neoplasia type 1*) ou no retinoblastoma hereditário. Perda de um dos alelos na célula tumoral em uma determinada região cromossômica, a chamada perda de heterozigose (LOH – *loss of heterozygosity*) sugere a presença de alteração genética somática e a existência de um gene de supressão tumoral na região cromossômica avaliada. O modelo que explica o desenvolvimento de neoplasias a partir de dois eventos mutacionais complementares e independentes foi descrito por Knudson e encontra-se exemplificado na figura 2 (18). A inativação do gene de supressão tumoral pode ocorrer também por duas mutações somáticas seguidas em uma mesma célula. Neste caso, teremos uma neoplasia esporádica, mais provável de ocorrer em células que apresentaram um maior número de divisões, portanto em indivíduos com maior idade (19).

Nos adenomas hipofisários, foram encontradas perdas e ganhos nas mais variadas regiões cromossômicas, o que se denomina desequilíbrio cromossômico. O ganho ou perda de material genético pode indicar a presença de oncogenes ou genes de supressão tumoral, respectivamente. O desequilíbrio cromossômico é mais freqüente em adenomas funcionantes em com-

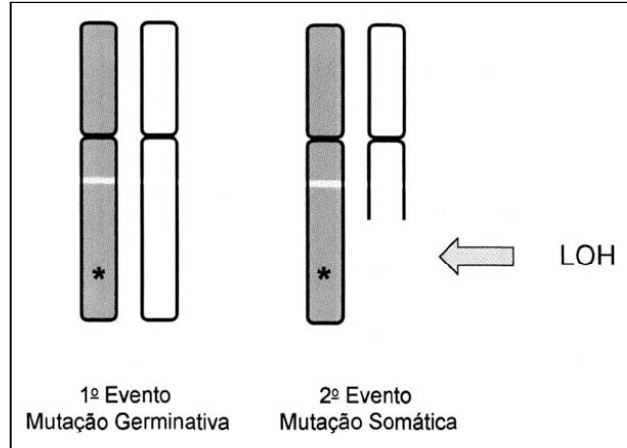


Figura 2. Representação esquemática do modelo dos dois eventos mutacionais de Knudson. Nos tumores hereditários, a primeira mutação (primeiro evento) inativa uma cópia (um alelo) do gene de supressão tumoral. Esta inativação não é suficiente para a formação de neoplasia. No entanto, a segunda mutação (segundo evento), como a perda da porção do cromossomo contendo o alelo normal, leva à inativação da função do gene e conseqüente desenvolvimento de tumor (adaptado com autorização de Gadelha MR e cols., ref. 88).

paração aos não funcionantes (20-22). Além disso, existe correlação entre maior freqüência de perdas alélicas e comportamento tumoral mais agressivo (11,23,24). A seguir, discutiremos de que forma alterações em genes de supressão tumoral ou oncogenes podem contribuir na patogênese dos adenomas hipofisários, especialmente dos tumores secretores de GH.

GENES DE SUPRESSÃO TUMORAL (TABELA 1)

Região Cromossômica 13q

O gene do retinoblastoma, o *RBI* (*retinoblastoma 1 gene*), foi o primeiro gene de supressão tumoral descrito. Ele está localizado na região cromossômica 13q14.2 e o seu produto é a pRb que, como dito anteriormente, tem função muito importante no controle do ciclo celular. Sua inativação permite a passagem pelo ponto de restrição e progressão do ciclo da fase G1 para a S (figura 1).

Uma série de trabalhos apóia o envolvimento do cromossomo 13q em neoplasias hipofisárias. Os estudos que avaliaram estes tumores por hibridização genômica comparativa (CGH – *Comparative Genomic Hybridization*) encontraram perdas no cromossomo 13 em 4 a 42% dos casos avaliados (20-22,25-28). A perda ocorreu mais freqüentemente na região 13q e, em três trabalhos, foi possível restringir áreas de

sobreposição nas regiões 13q14 (inclui *locus RBI*) [20], 13q22-23 [22] e 13q21-q31 [21] (excluem *locus RBI*).

A primeira evidência de que o *RBI* esteja envolvido na patogênese de tumores hipofisários foi a observação do modelo animal com perda deste gene. Camundongos com inativação de um dos alelos do *rb1* desenvolvem carcinoma de lobo intermediário de hipófise secretores de MSH e de ACTH (29,30). A correlação do modelo animal com humanos deve ser realizada com cautela, pois, em humanos, os carcinomas hipofisários são muito raros e o lobo intermediário é uma estrutura vestigial.

Os primeiros estudos realizados em tumores hipofisários em humanos não encontraram perda alélica no *locus* do *RBI*. Foi pesquisada LOH para marcadores polimórficos localizados neste gene em um total de 90 tumores (12 somatotropinomas), não se encontrando, em nenhum caso, perda alélica (31-33).

Recentemente, Honda e cols. (34) avaliaram um grupo de 31 adenomas hipofisários (12 somatotropinomas) e não encontraram anormalidades no *locus*, e a perda da pRb ocorreu apenas em um tumor secretor de prolactina.

Apesar dos trabalhos anteriores refutarem a hipótese do envolvimento do *RBI* na patogênese de tumores hipofisários, alguns trabalhos apoiam esta possibilidade. Hinton e cols. (35) relataram o caso de um tumor hipofisário secretor de ACTH que progrediu de adenoma para carcinoma metastático. A

expressão da pRb foi fortemente positiva no tecido adenomatoso e negativa no carcinoma adjacente e na sua metástase, sugerindo que a perda desta proteína tenha participado na transformação maligna. Simpson e cols. (36) estudaram adenomas hipofisários não funcionantes e somatotropinomas e encontraram diferentes resultados nos dois subtipos. Apesar de LOH no *locus* do *RBI* ser infreqüente em todo o grupo [8,5% (4 de 47) dos somatotropinomas e 3,8% (3 de 79) dos tumores não funcionantes], a perda da pRb foi significativamente mais freqüente nos tumores secretores de GH [27% (9 de 33)] do que nos não funcionantes [4% (2 de 53)]. Como não se encontrou correlação entre LOH no *locus* do *RBI* e perda da expressão da pRb, os autores sugeriram que mecanismos epigenéticos, e não grandes deleções, podem ser um mecanismo responsável pela inativação da expressão do *RBI*. De fato, metilação da região promotora do *RBI* pôde ser observada em 4 de 7 somatotropinomas negativos para pRb (37).

Existe a possibilidade do envolvimento de outro gene de supressão tumoral próximo ao *RBI* no cromossomo 13q. Pei e cols. (38) encontraram que LOH no *locus* do *RBI* ocorreu em tumores malignos e invasivos (nenhum dos quais somatotropinomas), mas a pRb estava presente no tecido tumoral em todos os casos. De forma semelhante, Bates e cols. (23) estudaram 89 adenomas hipofisários (11 somatotropinomas) e observaram que a perda de um marcador próximo ao *locus* do *RBI* foi a alteração mais freqüente na

Tabela 1. Somatotropinomas e genes de supressão tumoral.

Genes (ou seu produto)	Comentário
Participação confirmada	
Região 11q13	Perda alélica nesta região ocorre em 14% dos somatotropinomas esporádicos avaliados (21 de 147), entretanto, mutações no gene <i>MEN1</i> são raras γ sugere participação de outro gene de supressão tumoral
Região 13q14 - <i>RBI</i> ?	Perda alélica nesta região cromossômica ocorre em até 12% dos somatotropinomas, sem correlação com a perda de pRb γ sugere participação de outro gene de supressão tumoral. Até 27% dos adenomas secretores de GH têm baixa expressão de pRb \rightarrow sugere participação do gene <i>RBI</i>
p27	Perdas alélicas ou mutações não detectadas; mas a maior parte dos adenomas, particularmente os agressivos, apresentam baixa expressão de p27
Nm23	Baixa expressão em tumores com invasão de seios cavemosos. Mutações não detectadas
Participação excluída	
p53	Anormalidades na expressão de p53 são raras em adenomas secretores de GH (3,8%, 1 de 27)
<i>MEN1</i>	Mutações no gene <i>MEN1</i> são raras em somatotropinomas (2,9%, 3 de 102)
p16	Baixa expressão em tumores não funcionantes, mas normal em secretores de GH
Receptores de Somatostatina	Mutação descrita apenas em um caso para SSTR5
<i>PRKAR1A</i>	Envolvido no Complexo de Carney, mas não foram encontradas mutações em somatotropinomas esporádicos

região cromossômica 13q12-14, e não foi possível correlacionar perdas do *locus* do *RBI* com a perda da pRb no tecido tumoral.

Os trabalhos são controversos quanto à associação de anormalidades genéticas no cromossomo 13q com comportamento tumoral mais agressivo. Além do relato de caso de Hinton e cols. (35) descrito acima, outros trabalhos sugerem que anormalidades no *locus* do *RBI* ou em região próxima participem na progressão tumoral. Em alguns estudos, observou-se que a frequência de deleções alélicas no cromossoma 13q aumenta com a agressividade biológica destes tumores (23,38). Particularmente, em dois casos de tumores recorrentes, um prolactinoma e um pluri-hormonal, a perda alélica nesta região cromossômica somente foi observada no DNA de tecido tumoral da segunda, mas não da primeira cirurgia, sugerindo que esta perda esteja associada à progressão tumoral (38).

Nestes trabalhos, o número de tumores secretores de GH foi uma pequena fração do total estudado (12 de 107 tumores hipofisários) (23,35, 38). Simpson e cols. (36) encontraram também que os tumores não-funcionantes invasivos (54%, 26 de 48) apresentam frequência maior de LOH no cromossomo 13q quando comparado aos não invasivos (29%, 10 de 34). Entretanto, estudaram também um número grande de somatotropinomas, encontrando que, nestes, a frequência de perda alélica não variou em tumores invasivos (28%, 5 de 18) e não invasivos (31%, 11 de 35).

Este achado sugere a existência de diferenças entre os subtipos tumorais: em tumores produtores de GH, é possível que as perdas no cromossomo 13q tenham papel iniciador na tumorigênese, e não na progressão tumoral.

O papel do *RBI* em adenomas hipofisários secretores de GH também é objeto de pesquisa do nosso grupo no Laboratório de Neuroendocrinologia Molecular do HUCFF/UFRJ. Realizamos um mapa de deleção tumoral da região cromossômica 13q com marcadores extragênicos e intragênicos ao *RBI* e pesquisamos a pRb por imuno-histoquímica. Nossos resultados apontam para a participação do *RBI* e também de outro gene de supressão tumoral da região. Em 5 de 43 (12%) somatotropinomas, observamos LOH para pelo menos um dos marcadores dessa região cromossômica. Entretanto, em 4 destes 5 casos, a pRb foi avaliada no tecido tumoral, encontrando-se positiva. Isto sugere a participação de outro gene de supressão tumoral. Por outro lado, em 10 de 50 casos (20%), a expressão da pRb foi muito baixa (10%) ou negativa, o que pode ser explicado por microdeleções

ou pela inativação de expressão do gene, já que em todos estes casos não encontramos LOH. Nesta fração de adenomas, não é possível excluir a participação do *RBI* na sua patogênese. Da mesma forma que Simpson e cols. (36), não encontramos correlação entre os achados acima e agressividade tumoral.

Gene da p27

A proteína p27 é inibidora de progressão do ciclo celular. Camundongos com perda da p27 apresentam alta incidência de adenomas hipofisários de lobo intermediário, à semelhança do observado nas inativações do *RBI* (39-41). Assim, a pRb e a p27 parecem participar da mesma via reguladora do ciclo celular e são importantes na patogênese de tumores hipofisários em roedores. Um terço dos camundongos com superexpressão de GHRH desenvolvem somatotropinomas, e a perda concomitante do gene da p27 leva ao aparecimento mais precoce destes adenomas, aumentando a sua incidência para cerca de 80% (42).

Em tumores hipofisários humanos, não se encontrou LOH ou mutações no gene da p27 (43,44), inclusive em somatotropinomas (45,46). Entretanto, a maior parte (47-50), mas não todos (46) os estudos que avaliaram a expressão da p27 através de imuno-histoquímica, encontraram menores níveis desta proteína nos tumores hipofisários, inclusive os secretores de GH, quando comparados ao tecido hipofisário normal. A perda de p27 foi mais acentuada em carcinomas hipofisários (47,48) e tumores secretores de ACTH (49). Observou-se que os níveis de RNA mensageiro da p27 são semelhantes em tumores hipofisários quando comparado a tecido hipofisário normal (48). Estes dados sugerem que a inativação do p27 por mecanismos traducionais ou pós-traducionais tenha papel na patogênese de tumores hipofisários, inclusive dos secretores de GH, com possível contribuição na progressão para comportamento agressivo.

Gene da p16

O gene *PI6INK4a* localiza-se na região cromossômica 9p21 e codifica a proteína p16, importante inibidora do ciclo celular. Em condições normais, a perda da p16 leva à inativação da pRb. Observou-se que, em algumas neoplasias, as duas proteínas têm níveis inversamente correlacionados, isto é, anormalidades na expressão de um dos dois genes pode levar a aumento compensatório nos níveis da outra proteína (51,52).

Em adenomas hipofisários, observa-se baixa expressão da p16 (53,54). Entretanto, perda alélica no *locus* deste gene é infreqüente (55,56), e não fo-

ram encontradas mutações no gene da p16 (53,55). O mecanismo principal de inativação da expressão do gene da p16 é a hipermetilação da sua região promotora, observada mais freqüentemente nos adenomas hipofisários clinicamente não-funcionantes (54,57,58). Porém, esta alteração epigenética não parece importante nos adenomas secretores de GH, uma vez que, neste subtipo tumoral, a freqüência de hipermetilação é baixa e não se correlaciona com eventuais anormalidades na expressão da p16 (54,58,59).

Gene da p53

O gene da p53 localiza-se na região cromossômica 17p31, e a proteína p53 possui atividade inibidora do ciclo celular e pró-apoptótica. Nas células normais, a p53 encontra-se expressa em baixos níveis, indetectáveis por imuno-histoquímica. As formas mutadas desta proteína, no entanto, apresentam meia-vida mais longa, e o seu acúmulo nuclear passa a ser detectado por imuno-histoquímica. Por outro lado, é possível que o aumento na expressão desta proteína seja decorrente de uma tentativa de frear o ciclo celular como resposta à desregulação por um estímulo de outra origem (11), portanto a interpretação dos resultados isolados de imuno-histoquímica deve ser cautelosa.

O tratamento com radiação de neoplasias leva a dano extenso de DNA com conseqüente aumento da expressão de p53. A elevação da p53 promove evolução da célula para apoptose. Quando ocorrem mutações no gene da p53 com produção de proteína p53 defeituosa, o tumor geralmente responde mal à radiação. Assim, em teoria, o nível de p53 funcionante nas células tumorais poderia ajudar a prever a responsividade à radioterapia (15).

Apesar do gene da p53 ser o mais comumente alterado em neoplasias humanas, mutações neste gene não foram descritas em tumores hipofisários (60-62), e anormalidades em sua expressão são infreqüentes (61,63,64), inclusive em adenomas secretores de GH. Entretanto, alguns trabalhos encontraram expressão aumentada de p53 em adenomas hipofisários invasivos e carcinomas (65-67) e, de forma mais intensa, nas suas metástases (67). Porém, apenas em um dos 27 somatotropinomas avaliados observou-se expressão anômala de p53 (65), o que sugere que esta seja uma anormalidade rara neste subtipo tumoral. Como a definição de carcinoma hipofisário requer a demonstração de metástase, a superexpressão no tecido hipofisário poderia representar potencial indicador prognóstico (67). Entretanto, este não pode ser considerado um marcador definitivo, pois os achados são heterogêneos, havendo relato de carcinoma hipofisário negativo para p53 (68).

Região Cromossômica 11q13

A MEN-1 é uma síndrome autossômica dominante caracterizada por tumores em paratireóide, pâncreas endócrino e adeno-hipófise. Os adenomas hipofisários ocorrem em cerca de metade destes pacientes, sendo o prolactinoma o subtipo mais freqüente seguido pelo somatotropinoma (69). O comportamento clínico-patológico destes tumores hipofisários é semelhante ao dos esporádicos em termos de idade, distribuição entre os sexos e tamanho e agressividade tumorais (69). Esta síndrome é causada por mutações no gene *MEN1*, localizado na região cromossômica 11q13. O produto deste gene é a proteína nuclear MENINA, que parece estar envolvida na regulação de fatores de transcrição, como o JunD, e da proteína supressora de metástase Nm23 (70,71).

Vários trabalhos verificaram que alterações no *MEN1* são infreqüentes em adenomas hipofisários esporádicos. Levy e cols. (11) realizaram uma compilação dos estudos e verificaram que perda alélica de marcadores na região cromossômica 11q13, englobando o *locus* do *MEN1*, ocorre em 14% dos casos (57 de 414), mas mutações inativadoras na região codificante deste gene são raras (5 de 368 casos, 1,3%). A expressão do RNA mensageiro (RNAm) do *MEN1* foi pesquisada em alguns trabalhos, com resultados conflitantes (72-75).

Estes resultados se aplicam também aos adenomas hipofisários secretores de GH. A perda alélica no cromossoma 11 foi bastante variável, com incidência de 0 a 38% nos vários estudos, em média 14,3%, 21 de um total de 147 tumores avaliados (74-84). Entretanto, mutações no gene *MEN1* foram observadas em apenas 3 (2,9%) somatotropinomas de um total de 102 avaliados (72,74-81,83,85,86). Os resultados do nosso grupo estão de acordo com os trabalhos anteriores: dos 54 adenomas secretores de GH esporádicos estudados, encontrou-se perda alélica para pelo menos um dos marcadores da região cromossômica 11q13 em 35% dos casos (19 de 54) e, em um caso, observou-se retenção de um marcador localizado no *MEN1*. Não foi observada diferença significativa na freqüência de perdas alélicas entre os tumores invasivos e não invasivos, sugerindo que a inativação de um gene de supressão tumoral nesta região participe das etapas iniciais da tumorigênese (87).

Uma minoria dos somatotropinomas ocorre com agregação familiar, seja na forma de MEN-1, de Complexo de Carney (CNC) ou de Somatotropinoma Familiar Isolado (IFS, *Isolated Familial Somatotropinoma*). Denomina-se IFS a presença de, ao menos, dois

casos de somatotropinoma em uma mesma família, desde que excluídos MEN-1 e CNC. Que seja de nosso conhecimento, foram relatadas, até o momento, 45 famílias com IFS (revisado em 88-98). O estudo de algumas destas famílias identificou ligação dos casos afetados (*linkage*) com a região cromossômica 11q13, o *locus* do *MEN1* (94,97,99-101), bem como LOH nesta região cromossômica em tumores destes pacientes (100,102). A possibilidade da IFS representar uma variante fenotípica da MEN-1 foi descartada por não terem sido detectadas mutações na sequência codificante deste gene nas famílias estudadas (92,95, 96,101,102) (exceto mutação somática em um caso) (103), ou anormalidades na expressão de seu RNAm (102). Estes resultados, em conjunto com os encontrados em somatotropinomas esporádicos, sugerem a presença de outro gene de supressão tumoral, diferente do *MEN1*, região cromossômica 11q13.

Gene *PRKARIA*: Complexo de Carney

O complexo de Carney (CNC) é uma condição rara, autossômica dominante, caracterizada por mixomas cardíacos, cutâneos e mamários, lesões lentiginosas e nevos cutâneos, schwannomas, cistos ovarianos e tumores de adrenal (doença adrenocortical nodular pigmentada), de testículo (tumor de células de Sertoli), de tireóide (adenoma e carcinoma) e de hipófise (principalmente somatotropinomas e também prolactinomas) (104).

Os genes responsáveis pelo CNC localizam-se nas regiões cromossômicas 2p16 e 17q22-24. O gene da primeira região ainda não está identificado, e as evidências sugerem tratar-se de um oncogene. O gene do cromossomo 17 é o supressor tumoral *PRKARIA* (*protein kinase A type I - alpha regulatory subunit*), que

codifica a sub-unidade reguladora tipo I alfa da proteína cinase A (PKA) (105). A sub-unidade tipo I alfa tem ação inibitória sobre a atividade da PKA, portanto inativações no *PRKARIA* levam a amplificação da resposta intracelular da proteína cinase A ao AMPc (106). Não foram encontradas mutações no *PRKARIA* em somatotropinomas esporádicos (107).

Gene *Nm23*

O gene *Nm23* é um supressor de tumor que codifica uma proteína que participa no desenvolvimento e diferenciação normais da célula através da regulação da dinâmica dos microtúbulos (108). A diminuição de sua expressão está associada à maior proliferação e menor diferenciação celular (109). Também foi demonstrada sua interação com a MENINA e anormalidade na interação destas duas proteínas devido a mutações no gene *MEN1* pode ter importante implicação na atividade supressora de tumorigênese deste gene (71).

Em um trabalho que avaliou o papel da expressão do gene *Nm23* em adenomas hipofisários, inclusive 9 somatotropinomas, verificou-se que a menor expressão do *Nm23* está associada a tumores com invasão de seios cavernosos. Entretanto, não foram detectadas mutações na sequência codificante deste gene, indicando anormalidade possivelmente transcricional ou pós-transcricional. Se estes achados se confirmarem, é possível que os níveis de *Nm23* representem um parâmetro para guiar conduta pós-cirúrgica, uma vez que tumores invasivos frequentemente necessitam terapia adjuvante (110).

Receptores de Somatostatina

Não foram encontradas mutações em receptores da

Tabela 2. Somatotropinomas e oncogenes

Gene (ou seu produto)	Comentário
Participação confirmada	
<i>gsp</i>	Mutação na proteína $G_{s\gamma}$ em 10-40% dos somatotropinomas, sendo a alteração genética mais específica e prevalente neste subtipo tumoral
<i>PTTG</i>	Superexpresso nos adenomas secretores de GH
Participação indefinida	
CREB	CREB constitutivamente ativado pode facilitar transformação somatotrófica por estimular a transcrição do gene do GH
Ciclinas	Superexpressas principalmente nos adenomas mais agressivos; entretanto, esta alteração pode ser secundária a estímulo mitogênico e não causa da neoplasia
Receptor de GHRH	Superexpresso em adenomas secretores de GH, mas nenhuma mutação ativadora descrita
Participação excluída	
<i>gip2</i>	Mutações no gene <i>GNAI2</i> descrito raramente, apenas em tumores secretores de ACTH e não funcionantes
<i>ras</i>	Mutação no gene <i>ras</i> foi detectada apenas em metástases de carcinoma hipofisário e em adenoma secretor de prolactina agressivo

somatostatina subtipo 2 (SSTR2) em adenomas hipofisários secretores de GH, mesmo nos tumores resistentes a análogos da somatostatina (111,112). Mas há um caso relatado de mutação no receptor subtipo 5 (SSTR5) em somatotropinoma resistente a este análogo (113). A expressão destes receptores não se correlaciona aos níveis de GH, tamanho ou grau de invasão tumorais, mas os tumores com maior resistência aos análogos de somatostatina apresentam menor expressão de SSTR 2 e 5 (112).

ONCOGENES (TABELA 2)

Gene *GNAS1* (guanidine nucleotide-activating γ subunit)

O receptor de GHRH na célula somatotrófica está acoplado a uma proteína G_s , que regula a formação de AMPc via ativação da adenilato ciclase (AC). Em sua forma inativa, a proteína G_s é formada por uma GDP ligada às sub-unidades γ_s e $\gamma\gamma$. Quando o receptor é ativado, o GDP é substituído por GTP e a α_s dissocia-se de $\gamma\gamma$, o que proporciona a ativação da AC (figura 3). Esta ativação é interrompida pela atividade GTPase intrínseca da sub-unidade γ , determinando o retorno da proteína G à sua forma inativa (114).

A sub-unidade γ da proteína G_s (G_{γ}) é codificada pelo proto-oncogene *GNAS1*. Mutações ativadoras do gene *GNAS1* levam à formação do oncogene

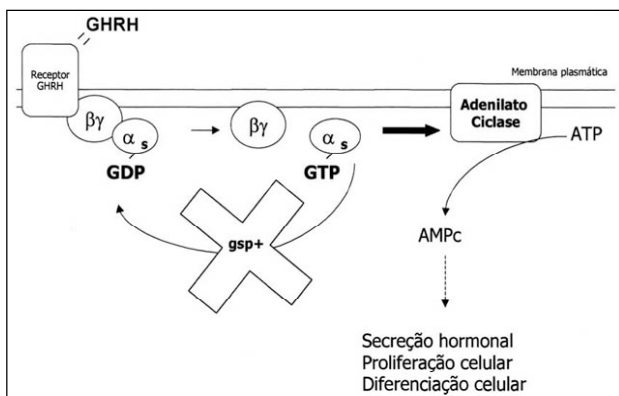


Figura 3. Mecanismo de ação do oncogene *gsp*. A ativação da proteína G ligada ao receptor transmembrana de GHRH causa a dissociação das sub-unidades $\gamma\gamma$ e γ_s , e a substituição de GDP por GTP, ativando a adenilato ciclase e levando à formação de AMPc. Esta cascata é interrompida pela atividade GTPase intrínseca da sub-unidade γ_s , que leva ao retorno da proteína G à sua forma inativa. A mutação na G_{γ_s} causa a perda de sua atividade GTPase intrínseca, proporcionando adenilato ciclase constitutivamente ativada e perpetuação do sinal intracelular de proliferação e diferenciação celulares, e secreção hormonal.

gsp, isto é, a uma G_{γ} que perde a atividade GTPase intrínseca levando, portanto, à adenilato ciclase constitutivamente ativada (115,116) (figura 3). A ocorrência desta mutação na célula somatotrófica está associada à secreção de GH independente de ligação do GHRH hipotalâmico ao seu receptor, bem como à proliferação e diferenciação celulares (114,115). A presença do oncogene *gsp* em adenomas secretores de GH é a alteração genética melhor estabelecida em tumorigênese hipofisária.

Duas mutações pontuais de *GNAS1*, no codon 201 (Arg \rightarrow Cys ou His) e codon 227 (Gln \rightarrow Arg ou Leu) são identificadas em adenomas hipofisários secretores de GH (115,116). A frequência desta alteração genética varia em função da população estudada, sendo encontrada em 4-10% dos somatotropinomas em japoneses (117,118) e em até 40% entre os coreanos, chilenos e europeus (119-122).

Clinicamente, somatotropinomas com esta mutação tendem a ser menores (121,123,124) e mais responsivos à dopamina e somatostatina (124). Por outro lado, pacientes com tumores *gsp+* não diferem dos pacientes com tumores *gsp-* quanto aos níveis de GH, idade, sexo, duração dos sintomas, taxa de cura ou características clínicas ao diagnóstico (124,125).

Mais raramente (< 10% dos casos), ativação do oncogene *gsp* foi descrita em adenomas hipofisários não funcionantes (126,127) e secretores de ACTH (128).

Gene *GNAI2*

O gene *GNAI2* codifica a sub-unidade γ_{i2} da proteína G ($G_{\gamma_{i2}}$). À semelhança do descrito acima para G_{γ} , mutações ativadoras do gene *GNAI2* levam à inibição da GTPase intrínseca, que passa a ser denominado oncogene *gip2*. Mutações *gip2* podem levar à transformação em alguns tipos celulares através da ativação da via da MAP cinase intracelular (129).

Em um estudo, mutações na $G_{\gamma_{i2}}$ foram observadas em 13% (3 de 22) dos casos de um grupo de adenomas não funcionantes (127), mas este achado não foi confirmado por outros autores (126). Nenhuma mutação foi encontrada em uma família com IFS (92), e apenas uma mutação foi observada em um total de 46 somatotropinomas esporádicos avaliados (111,122,130).

Proteína CREB (CREB - cAMP Response Element Binding Protein)

Os níveis intracelulares aumentados de AMPc ativam a proteína cinase A (PKA), que, por sua vez, fosforila (ativa) o CREB. O CREB ativado participa na transformação somatotrófica, levando à transcrição do GH e proliferação celular. Bertherat e cols. (131) observaram

que todos os 15 adenomas hipofisários secretores de GH avaliados apresentavam ativação do CREB, o que não ocorreu nos adenomas não funcionantes. Entretanto, apenas 4 dos somatotropinomas avaliados apresentavam o oncogene *gsp*, e demonstrou-se que a ativação de CREB também ocorreu em adenomas que expressam altos níveis de G_{sy} nativa. De forma semelhante, Peri e cols. (132) verificaram que, apesar da expressão de CREB ser maior nos adenomas secretores de GH *gsp+* quando comparados aos *gsp-*, possivelmente existam mecanismos de ativação de CREB ainda não esclarecidos diferentes de mutações na G_{sy} .

Gene Transformador de Tumores Hipofisários (PTTG)

O *PTTG* é um proto-oncogene pouco expresso na maioria dos tecidos que passa a ser oncogene através de sua superexpressão, levando à transformação celular *in vitro* e ao desenvolvimento de tumores *in vivo* (133). Observa-se um aumento na sua expressão na maioria dos tumores hipofisários quando comparados com hipófises normais, sendo este o achado nos 19 tumores secretores de GH estudados em duas séries (134,135). Apesar de que inicialmente o *PTTG* mostrou estar expresso em níveis significativamente mais altos em tumores funcionantes invasivos contra os não invasivos, este achado não foi confirmado em estudo mais recente, que avaliou um número maior de tumores e que utilizou metodologia mais precisa de determinação de expressão gênica (136).

Os mecanismos de tumorigênese do *PTTG* não estão completamente estabelecidos, mas duas funções do gene se destacam (17,137):

TRANSATIVAÇÃO DE OUTROS GENES:

Fator de crescimento do fibroblasto (fibroblast growth factor, FGF)

A *PTTG* estimula a expressão do FGF, que, por sua vez, está implicado na tumorigênese hipofisária pelo seu efeito promotor de angiogênese e mitogênese. Por outro lado, o FGF também leva à superexpressão do *PTTG*, o que significa que o aumento da expressão de um gene acaba levando ao aumento na expressão de ambos, constituindo, assim, um mecanismo de retroalimentação positiva. Existe associação funcional direta entre o *PTTG*, o FGF e a angiogênese, sugerindo que a transativação do FGF pelo *PTTG* pode causar aumento da vascularização de tumores hipofisários (138).

Oncogene *c-myc*

O *PTTG* possui uma região com atividade ligadora de DNA que facilita sua ligação à região promotora de *c-myc*, um regulador da proliferação celular. O aumento na expressão de *c-myc* está associado a aumento na taxa de crescimento e transformação de células em cultura. Portanto, o oncogene *c-myc*, sendo ativado pelo *PTTG*, poderia ter papel na tumorigênese induzida por este gene. Porém, não se encontrou correlação entre as expressões do *PTTG* e do *c-myc*, e os dois são expressos em momentos diferentes do ciclo celular (a expressão do *PTTG* é máxima na fase G2/M e a do *c-myc* na fase S).

FUNÇÃO DE SECURINA DO PTTG:

O *PTTG* é expresso no citoplasma e no núcleo, principalmente na fase de mitose do ciclo celular. O *PTTG* codifica uma securina humana, ou seja, uma proteína que participa na regulação da divisão celular por influenciar na ligação das cromátides irmãs durante a mitose. Para que ocorra a separação equivalente do material genético em duas células durante a mitose, as duas cromátides se ligam através de coesinas, que são degradadas pelas separinas ao sinal do término da metáfase. A *PTTG*, na sua função de securina, se liga às separinas impedindo a proteólise prematura das coesinas (figura 4). Portanto, a superexpressão do *PTTG* impede a separação equivalente das cromátides, com a formação de células aneuplóides (isto é, com perda ou ganho de cromossomas). A aneuploidia é um achado invariável em tumores sólidos, já foi documen-

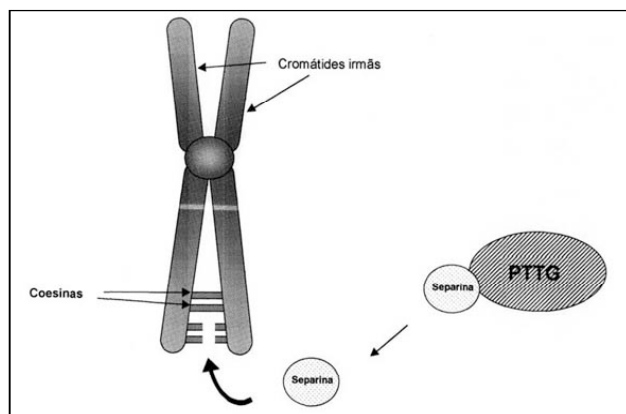


Figura 4. Participação da PTTG na regulação da separação das cromátides irmãs. Enquanto a PTTG está ligada às securinas, estas não podem degradar as coesinas. Uma vez degradada, a PTTG libera as securinas, as coesinas são degradadas e ocorre separação equivalente do material genético em duas células filhas. A superexpressão de PTTG interfere com a separação das cromátides irmãs levando, conseqüentemente, a células filhas aneuplóides.

tada em tumores hipofisários e está frequentemente associada à progressão tumoral, inclusive dos tumores secretores de GH (25,26).

Ciclinas

As ciclinas D e E têm importante papel na regulação da passagem da fase G1 para S do ciclo celular. Sua superexpressão pode aumentar a formação dos complexos ciclina-CDK, levando à progressão do ciclo (figura 1). De um total de 135 adenomas hipofisários avaliados, inclusive 47 secretores de GH, observou-se maior expressão de ciclina D nos tumores quando comparado ao tecido hipofisário normal. Esta expressão foi significativamente maior em tumores agressivos (139-141) e não funcionantes (139,140) quando comparada aos tumores indolentes e aos outros subtipos, respectivamente. As ciclinas A, B e E também apresentaram maior frequência de positividade nos adenomas maiores e com atividade proliferativa mais intensa (140,141). Como não há destaque na expressão de uma ciclina em relação às outras, é possível que estas alterações sejam decorrentes de estímulo mitogênico, outro não identificado (141).

Genes *ras* e *myc*

Os proto-oncogenes *ras* (*H-ras*, *K-ras*, *N-ras*) são importantes fatores para proliferação e diferenciação celular, e já mostraram ter papel nos estágios iniciais e na progressão da tumorigênese. Mutações *ras* foram identificadas em várias neoplasias humanas, inclusive tumores benignos e malignos de tireóide. Em tumores hipofisários, as mutações *ras* são raras. Em uma série que avaliou 19 tumores, inclusive 6 somatotropinomas, apenas em um prolactinoma altamente invasivo identificou-se mutação no gene *ras* (142). Em outro estudo, 78 tumores hipofisários, constituídos sobretudo de prolactinomas com diferentes graus de agressividade, não se encontrou mutação em nenhum dos três genes *ras* (143). Em uma série de 88 adenomas hipofisários, inclusive 25 somatotropinomas, foram avaliados 10 oncogenes conhecidos, entre eles o *N-ras*, o *H-ras*, o *mycL1*, *mycN* e *myc*, não se encontrando anormalidades em nenhum caso (82).

Hormônio Liberador de GH (GHRH) e Receptor de GHRH

O GHRH é o principal regulador positivo das células somatotróficas na hipófise, estimulando a sua função secretora e atividade proliferativa. Como dito anteriormente, camundongos transgênicos para o GHRH humano desenvolvem hiperplasia hipofisária, que progride para adenoma secretor de GH (6). Por estes motivos, a participação do excesso de GHRH na

patogênese de somatotropinomas em humanos parece bastante plausível. De fato, o receptor de GHRH (GHRH-R) encontra-se superexpresso em adenomas secretores de GH quando comparado a tecido hipofisário normal ou os outros subtipos tumorais (144). Entretanto, não foram descritas mutações ativadoras no receptor de GHRH em somatotropinomas esporádicos (145,146) ou em duas famílias com IFS (102,92). Os adenomas somatotróficos podem produzir GHRH localmente, e Thapar e cols. (147) observaram que os níveis mais altos de expressão de GHRH se correlacionaram com tumores mais agressivos, que apresentam menores taxas de remissão e maiores taxas de recorrência após a ressecção cirúrgica. O significado destes resultados ainda não está esclarecido, mas é possível que a produção excessiva de GHRH-R ou de GHRH local participe na progressão tumoral.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de amplamente estudados, não se sabe muito sobre os mecanismos de iniciação e progressão dos adenomas hipofisários. Com relação aos somatotropinomas, a anormalidade melhor caracterizada é o oncogene *gsp*, observado em até 40% dos casos. Superexpressão do *PTTG* e inativações de genes de supressão tumoral nas regiões cromossômicas 11q13, 13q (*RBI?*), da p27 e *nm23* também já foram descritas neste subtipo de adenoma. O papel do aumento da expressão do receptor de GHRH, das ciclinas e do CREB necessita ser mais bem compreendido. A participação de outros genes, como o *gip2*, *ras*, *PRKARIA*, da p16 e da p53 é bastante rara.

REFERÊNCIAS

1. Melmed S, Kleinberg D. Anterior pituitary. In: Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, editors. **Williams' textbook of endocrinology**. 10th ed. New York:Saunders; 2003. p.177-280.
2. Snyder PJ. Diseases of the anterior pituitary. In: Felig P, Frohman LA, editors. **Endocrinology and metabolism**. 4th ed. New York:Mc Graw-Hill; 2001. p.173-216.
3. Farrell WE, Clayton RN. Molecular pathogenesis of pituitary tumors. **Front Neuroendocrinol** 2000;21:174-98.
4. Dickie MM, Wolley GW. Spontaneous basophilic tumor of the pituitary gland in gonadectomized mice. **Cancer Res** 1949;16:372-84.
5. Furth J, Dent NN, Burnett WT. The mechanism of induction and the characteristics of pituitary tumors induced by thyroidectomy. **J Clin Endocrinol Metab** 1955;15:81-7.

6. Asa S, Kovacs K, Stefaneanu L, Horvath E, Billestrup N, Gonzales-Manchon C, et al. Pituitary adenomas in mice transgenic for growth hormone-releasing hormone. **Endocrinology** **1992**;131:2083-9.
7. Faglia G, Beck-Peccoz P, Piscitelli G, Spada S. Clinical aspects and treatment of TSH-secreting pituitary adenomas and nonneoplastic inappropriate secretion of TSH. In: Lamberts SWT, Tilders JH, van der Veen EA, Assies J, editors. **Trends in diagnosis and treatment of pituitary adenomas**. Amsterdam:Free University Press, **1984**. p.273-84.
8. Sano T, Asa SL, Kovacs K. Growth hormone releasing hormone producing tumors: clinical, biochemical and morphological manifestations. **Endocr Rev** **1988**;9:357-73.
9. Sabel MC, Hans VHJ, Reifenberg G. Mixed gangliocytoma/pituitary adenoma. **Arch Neurol** **2000**;57:587-8.
10. Clayton RN, Farrell WE. Clonality of pituitary tumors: more complicated than initially envisaged? **Brain Pathol** **2001**;11:313-27.
11. Levy A, Lightman S. Molecular defects in the pathogenesis of pituitary tumors. **Front Neuroendocrinol** **2003**;24:94-127.
12. Herwig S, Strauss M. The retinoblastoma protein: a master regulator of cell cycle, differentiation and apoptosis. **Eur J Biochem** **1997**;246:581-601.
13. Clurman BE, Roberts JM. Cell cycle control: an overview. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. **The genetic basis of human cancer**. 1st ed. New York:McGraw-Hill; **1998**. p.175-91.
14. Paulovich AG, Toczyski DP, Hartwell LH. When checkpoints fail. **Cell** **1997**;88:315-21.
15. Suhardja A, Kovacs K, Rutka J. Genetic basis of pituitary adenoma invasiveness: a review. **J Neurooncol** **2001**;52:195-204.
16. Shimon I, Melmed S. Pituitary tumor pathogenesis. **J Clin Endocrinol Metab** **1997**;82:1675-81.
17. Yu R, Melmed S. Oncogene activation in pituitary tumors. **Brain Pathology** **2001**;11:328-41.
18. Knudson AG. Mutation and cancer: Statistical study of retinoblastoma. **Proc Natl Acad Sci USA** **1971**;68:820-3.
19. Clayton RN, Boggild M, Bates AS, Bicknell J, Simpson D, Farrell W. Tumor Suppressor genes in the pathogenesis of human pituitary tumors. **Horm Res** **1997**;47:185-93.
20. Harada K, Nishizaki T, Ozaki S, Kubota H, Harada K, Okamura T, et al. Cytogenetic alterations in pituitary adenomas detected by comparative genomic hybridization. **Cancer Genet Cytogenet** **1999**;112:38-41.
21. Fan X, Paetau A, Aalto Y, Välimäki M, Sane T, Poranen A, et al. Gain of chromosome 3 and loss of 13q are frequent alterations in pituitary adenomas. **Cancer Genet Cytogenet** **2001**;128:97-103.
22. Szymas J, Schluens K, Wlodzimerz L, Petersen I. Genomic instability in pituitary adenomas. **Pituitary** **2002**;5:211-9.
23. Bates AS, Farrell WE, Bicknell EJ, McNicol AM, Talbot AJ, Broome JC, et al. Allelic deletion in pituitary adenomas reflects aggressive biological and has potential value as a prognostic marker. **J Clin Endocrinol Metab** **1997**;82:818-24.
24. Simpson DJ, Bicknell EJ, Buch HN, Cuffy SJ, Clayton RN, Farrell WE. Genomic-wide amplification and allelotyping of sporadic pituitary adenomas identify novel regions of genomic loss. **Genes Chrom Cancer** **2003**;37:225-36.
25. Hui AB, Pang JC, Ko CW, Ng HK. Detection of chromosomal imbalances in growth hormone-secreting pituitary tumors by comparative genomic hybridization. **Hum Pathol** **1999**;30:1019-23.
26. Daniely M, Aviram A, Adams EF, Buchfelder M, Barkai G, Fahlbusch R, et al. Comparative genomic hybridization of nonfunctioning pituitary tumors. **J Clin Endocrinol Metab** **1998**;83:1801-5.
27. Trautmann K, Thakker RV, Ellison DW, Ibrahim A, Lees PD, Harding B, et al. Chromosomal aberrations in sporadic pituitary tumors. **Int J Cancer** **2001**;91:809-14.
28. Metzger AK, Mohapatra G, Minn YA, Bollen AW, Lamborn K, Waldman FM, et al. Multiple genetic aberrations including evidence of chromosome 11q13 rearrangement detected in pituitary adenomas by comparative genomic hybridization. **J Neurosurg** **1999**;90:306-14.
29. Jacks T, Fazeli A, Schmitt EM, Bronson RT, Goodell MA, Weinberg RA. Effects of an *Rb* mutation in the mouse. **Nature** **1992**;359:295-300.
30. Hu N, Gutschmann A, Herbert DC, Bradley A, Lee W-H, Lee EY-HP. Heterozygous *Rb-1 delta 20/+* mice are predisposed to tumors of the pituitary gland with a nearly complete penetrance. **Oncogene** **1994**;9:1021-7.
31. Cryns VL, Alexander JM, Klibanski A, Arnold A. The retinoblastoma gene in human pituitary tumors. **J Clin Endocrinol Metab** **1993**;77:644-6.
32. Zhu J, Leon SP, Beggs AH, Busque L, Gilliland DG, Black PM. Human pituitary adenomas show no loss of heterozygosity at the retinoblastoma gene locus. **J Clin Endocrinol Metab** **1994**;78:922-7.
33. Woloschak M, Roberts JL, Kalmon D. Loss of heterozygosity at the retinoblastoma locus in human pituitary tumors. **Cancer** **1994**;74:693-6.
34. Honda S, Tanaka-Kosugi C, Yamada S, Sano T, Matsumoto T, Itakuta M, et al. Human pituitary adenomas infrequently contain inactivation of retinoblastoma 1 gene and activation of cyclin dependent kinase gene. **Endocrine J** **2003**;50:309-18.
35. Hinton DR, Hahn JA, Weiss MH, Couldwell WT. Loss of RB expression in an ACTH-secreting pituitary carcinoma. **Cancer Lett** **1998**;126:209-14.
36. Simpson DJ, Magnay JM, Bicknell JE, Barkan AL, McNicol AM, Clayton RN, et al. Chromosome 13q deletion mapping in pituitary tumors: infrequent loss of the retinoblastoma susceptibility gene (*RB1*) locus despite loss of *RB1* protein product in somatotropinomas. **Cancer Res** **1999**;59:1562-6.

37. Simpson DJ, Hibberts NA, McNicol AM, Clayton RN, Farrell WE. Loss of pRb expression in pituitary adenomas is associated with methylation of the RB1 CpG island. **Cancer Res** 2000;60:1211-6.
38. Pei L, Melmed S, Scheithauer B, Kovacs K, Benedict WF, Prager D. Frequent loss of heterozygosity at the retinoblastoma susceptibility gene (RB) locus in aggressive pituitary tumors: evidence for a chromosome 13 tumor suppressor gene other than rb. **Cancer Res** 1995;55:1613-6.
39. Fero ML, Rivkin M, Tasch M, Porter P, Carow CE, Firpo E, et al. A syndrome of multiorgan hyperplasia with features of gigantism, tumorigenesis and female sterility in p27-deficient mice. **Cell** 1996;85:733-44.
40. Kiyokawa H, Kineman RD, Manova-Todorova KO, Soares VC, Hoffman EC, Ono M, et al. Enhanced growth of mice lacking the cyclin-dependent kinase inhibitor function of p27 (Kip 1). **Cell** 1996;85:721-32.
41. Nakayama K, Ishida N, Shirane M, Inomata A, Inoue T, Shishido N, et al. Mice lacking p27 display increased body size, multiple organ hyperplasia, retinal dysplasia, and pituitary tumors. **Cell** 1996;85:707-20.
42. Teixeira LT, Kiyokawa H, Peng XD, Christov KT, Frohman LA, Kineman RD. p27^{Kip1}-deficient mice exhibit accelerated growth hormone-releasing hormone (GHRH)-induced somatotrope proliferation and adenoma formation. **Oncogene** 2000;19:1875-84.
43. Ikeda H, Yoshimoto T, Shida N. Molecular analysis of p21 and p27 genes in human pituitary adenomas. **Br J Cancer** 1997;76:1119-23.
44. Dahia PL, Aguiar RC, Honerjgger J, Fahlbush R, Jordan S, Lowe DG, et al. Mutation and expression analysis of the p27/kip1 gene in corticotrophin-secreting tumors. **Oncogene** 1998;16:69-76.
45. Tanaka C, Yoshimoto K, Yang P, Kimura T, Yamada S, Moritani M. Infrequent mutations of p27^{Kip1} gene and trisomy 12 in a subset of human pituitary adenomas. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:3141-7.
46. Takeuchi S, Koeffler HP, Hindon DR, Miyishi I, Melmed S, Shimon I. Mutation and expression analysis of the cyclin-dependent kinase inhibitor gene p27/Kip1 in pituitary tumors. **J Endocrinol** 1998;157:337-41.
47. Lloyd RV, Jin L, Qian X, Kulig E. Aberrant p27^{Kip1} expression in endocrine and other tumors. **Am J Pathol** 1997;150:401-7.
48. Jin L, Qian X, Kulig E, Sanno N, Scheithauer BW, Kovacs K, et al. Transforming growth factor- β , transforming growth factor- β receptor II, and p27^{Kip1} expression in nontumorous and neoplastic human pituitaries. **Am J Pathol** 1997;151:509-19.
49. Lidhar K, Korbonits M, Jordan S, Khakimova Z, Kaltsas G, Lu X, et al. Low expression of the cell cycle inhibitor p27^{Kip1} in normal corticotroph cells, corticotroph tumors, and malignant pituitary tumors. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:3823-30.
50. Bamberger CM, Fehn M, Bamberger A-M, Ludecke DK, Beil FU, Saeger W, et al. Reduced expression levels of the cell-cycle inhibitor p27^{Kip1} in human pituitary adenomas. **Eur J Endocrinol** 1999;140:250-5.
51. Offerson GA, Kratzke RA, Coxon A, Kim YW, Kaye FJ. Absence of p16 protein is restricted to the subset of lung cancer lines that retains wildtype RB. **Oncogene** 1994;9:3375-8.
52. Aagaard L, Lukas J, Bartkova J, Kjerulff A, Strauss M, Bartek J. Aberrations of the p16 and retinoblastoma tumor-suppressor genes occur in distinct sub-sets of human cancer cell lines. **Int J Cancer** 1995;61:115-20.
53. Woloschak M, Yu A, Xiao J, Post KD. Frequent loss of the p16^{Ink4a} gene product in human pituitary tumors. **Cancer Res** 1996;56:2493-6.
54. Seeman N, Kuhn D, Wrocklage C, Keyvani K, Lackl W, Buchfelder M, et al. CDKN2A/p16 inactivation is related to pituitary adenoma type and size. **J Pathol** 2001;193:491-7.
55. Yoshimoto K, Tanaka C, Yamada S, Kimura T, Iwahana H, Sano T, et al. Infrequent mutations of p16INK4a and p15INK4b genes in human pituitary adenomas. **Eur J Endocrinol** 1997;136:74-80.
56. Farrell WE, Simpson DJ, Bicknell JE, Talbot AJ, Bates AS, Clayton RN. Chromosome 9p deletions in invasive and noninvasive nonfunctional pituitary adenomas: the deleted region involves markers outside of the MTS1 and MTS2 genes. **Cancer Res** 1997;57:2703-9.
57. Woloschak M, Yu A, Post KD. Frequent inactivation of the p16 gene in human pituitary tumors by gene methylation. **Mol Carcinog** 1997;19:221-4.
58. Ruebel KH, Jin L, Zhang S, Scheithauer BW, Lloyd RV. Inactivation of the p16 gene in human pituitary nonfunctioning tumors by hypermethylation is more common in null cell adenomas. **Endocr Pathol** 2001;12:281-9.
59. Simpson DJ, Bicknell JE, McNicol AM, Clayton RN, Farrell WE. Hypermethylation of the p16/CDKN2A/MTS1 gene and loss of protein expression is associated with non-functional pituitary adenomas but not somatotropinomas. **Genes Chrom Cancer** 1999;24:328-36.
60. Pei L, Melmed S, Scheithauer B, Kovacs K, Prager D. H-ras mutations in human pituitary carcinoma metastases. **J Clin Endocrinol Metab** 1994;78:842-6.
61. Levy A, Hall L, Yeudall WA, Lightman SL. P53 gene mutation in pituitary adenomas: rare events. **Clin Endocrinol** 1994;41:809-14.
62. Herman V, Drazin NZ, Gonsky R, Melmed S. Molecular screening of pituitary adenomas for gene mutations and rearrangements. **J Clin Endocrinol Metab** 1993;77:50-5.
63. Oliveira MC, Marroni CP, Pizarro CB, Pereira-Lima JF, Barbosa-Coutinho LM, Ferreira NP. Expression of p53 protein in pituitary adenomas. **Braz J Med Biol Res** 2002;35:561-5.
64. Suliman M, Royds J, Cullen D, Timperley W, Powell-Battersby R, Jones TH. Mdm2 and the p53 pathway in human pituitary adenomas. **Clin Endocrinol** 2001;54:317-25.
65. Thapar K, Scheithauer BW, Kovacs K, Pernicone PJ, Laws ER. P53 expression in pituitary adenomas and carcinomas: correlation with invasiveness and tumor growth fraction. **Neurosurgery** 1996;38:765-71.

66. Buckley N, Bates AS, Broome JC, Strange RC, Perrett CW, Burke CW, et al. P53 Protein accumulates in Cushing adenomas and invasive non-functional adenomas. **J Clin Endocrinol Metab** 1995;80:692-5.
67. Pernicone PJ, Scheithauer BW, Sebo TJ, Kovacs KT, Horvath E, Young WF Jr. Pituitary carcinoma: a clinicopathologic study of 15 cases. **Cancer** 1997;79:804-12.
68. Kumar K, Macaulay RJ, Kelly M, Pirlot T. Absent p53 immunohistochemical staining in a pituitary carcinoma. **Can J Neurol Sci** 2001;28:174-8.
69. Scheithauer BW, Laws ER Jr, Kovacs K, Horvath E, Randall RV, Carney JA. Pituitary Adenomas at the multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome. **Semin Diagn Pathol** 1987;4:205-11.
70. Agarwal SK, Guru SC, Heppner C, Erdos MR, Collins RM, Park SY, et al. Menin interacts with the AP1 transcription factor junD and represses junD-activated transcription. **Cell** 1999;96:143-52.
71. Ohkura N, Kishi M, Tsukada T, Yamaguchi K. Menin, a gene product responsible for multiple endocrine neoplasia type 1, interacts with the putative tumor metastasis suppressor nm23. **Biochem Biophys Res Commun** 2001;282:1206-10.
72. McCabe CJ, Gottoes NJ, Sheppard MC, Franklyn JA. Increased MEN1 mRNA expression in sporadic pituitary tumors. **Clin Endocrinol** 1999;50:727-33.
73. Satta MA, Korbonits M, Jacobs RA, Bolden-Dwinfour DA, Kaltsas GA, et al. Expression of menin gene mRNA in pituitary tumours. **Eur J Endocrinol** 1999;140:358-61.
74. Asa SL, Somers K, Ezzat S. The MEN-1 gene is rarely down-regulated in pituitary adenomas. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:3210-2.
75. Farrell WE, Simpson DJ, Bicknell J, Kyrodinou E, Thakker RV, Clayton RN. Sequence analysis and transcript expression of the MEN1 gene in sporadic pituitary tumours. **Br J Cancer** 1999;80:44-50.
76. Poncin J, Stevenaert A, Beckers A. Somatic MEN1 gene mutations does not contribute significantly to sporadic pituitary tumorigenesis. **Eur J Endocrinol** 1999;140:573-6.
77. Schmidt MC, Henke RT, Stangl AP, Meyer-Puttlits B, Stoffel-Wagner B, Schramm J, et al. Analysis of the MEN1 gene in sporadic pituitary adenomas. **J Pathol** 1999;188:168-73.
78. Evans CO, Brown MR, Parks JS, Oyesiku NM. Screening for MEN1 tumor suppressor gene mutations on sporadic pituitary tumors. **J Endocrinol Invest** 2000;23:304-9.
79. Prezant TR, Levine J, Melmed S. Molecular characterizations of the men1 tumor suppressor gene on sporadic pituitary tumors. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:1388-91.
80. Tanaka C, Kimura T, Yang P, Moritani M, Yamaoka T, Yamada S, et al. Analysis of loss of heterozygosity on chromosome 11 and infrequent inactivation of the men1 gene on sporadic pituitary adenomas. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:2631-4.
81. Zhuang Z, Ezzat SZ, Vortmeyer AO, Weil R, Oldfield EH, Park WS, et al. Mutations of the MEN1 tumor suppressor gene in pituitary tumors. **Cancer Res** 1997;57:5446-51.
82. Boggild MD, Jenkinson S, Pistorello M, Boscaro M, Scanari M, McTernan CW, et al. Molecular genetic studies of sporadic pituitary tumors. **J Clin Endocrinol Metab** 1994;78:387-92.
83. Fukino K, Kitamura Y, Sanno N, Teramoto A, Emi M. Analysis of the MEN1 gene in sporadic pituitary adenomas from Japanese patients. **Cancer Lett** 1999;144:85-92.
84. Thakker RV, Pook MA, Wooding C, Boscaro M, Scanari M, Clayton RN. Association of somatotrophinomas with loss of alleles on chromosome 11 and with gsp mutations. **J Clin Invest** 1993;91:2815-21.
85. Bergman L, Boothroyd C, Palmer J, Grimmond S, Walters M, Teh B, et al. Identification of somatic mutations of the MEN1 gene in sporadic endocrine tumours. **Br J Cancer** 2000;83:1003-8.
86. Wenbin C, Asai A, Teramoto A, Sanno N, Kirino T. Mutations of the MEN1 tumor suppressor gene in sporadic pituitary tumors. **Cancer Lett** 1999;142:43-7.
87. Luccio-Camelo DC. Mapa de deleção tumoral da região cromossômica 11q13 em somatotrofinomas esporádicos e análise de mutações nos genes candidatos *REQ* e *ARL2*. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Endocrinologia, 2003. UFRJ.
88. Gadelha MR, Kineman RD, Frohman LA. Familiar somatotrofinomas: clinical and genetic aspects. **The Endocrinologist** 1999;9:277-85.
89. Himuro H, Kobayashi E, Kono H, Jinbo M, Kitamura K. Familial occurrence of pituitary adenoma. **No Shinkei Geka** 1976;4:371-7.
90. Xu L, Ren Z, Su C. Surgical treatment of familial acromegaly. **Zhonghua Wai Ke Za Zhi** 1995;7:435-6.
91. Verloes A, Stevenaert A, Teh BT, Petrossians P, Beckers A. Familial acromegaly: case report and review of the literature. **Pituitary** 1999;1:273-7.
92. Jorge BH, Agarwal SK, Lando VS, Salvatori R, Barbero RR, Abelin N, et al. Study of the multiple endocrine neoplasia type 1, growth hormone-releasing hormone receptor, Gs alpha, and Gi2 alpha genes in isolated familial acromegaly. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:542-4.
93. Tamura Y, Ishibashi S, Gotoda T, Yasufuku-Takano J, Takano K, Ueki K. Kindred of familial acromegaly without evidence for linkage to MEN-1 locus. **Endocr J** 2002;49:425-31.
94. De Menis E, Prezant TR. Isolated familial somatotrofinomas: clinical features and analysis of the MEN1 gene. **Pituitary** 2002;5:11-5.
95. Ackermann F, Krohn K, Windgassen M, Buchfelder M, Fahlbusch R, Paschke R. Acromegaly in a family without a mutation in the menin gene. **Exp Clin Endocrinol Diabetes** 1999;107:93-6.
96. Ferretti E, Jaffrain Rea ML, Asteria C, Di Stefano D, Esposito V, Ferrante L, et al. Two familial giant pituitary ade-

- nomas associated with overweight: clinical, morphological and genetic features. **Eur J Endocrinol** **2001**;144:227-35.
97. Eguchi K, Gadelha MR, Kineman RD, Frohman LA. Genetic studies in six families with isolated familial somatotropinomas: strong evidence for linkage to chromosome 11q13. **The Endocrine Society's 84th Annual Meeting**. San Francisco, CA, USA. **2002**; 640.
98. Luccio-Camelo DL, Une KU, Ferreira RES, Khoo SK, Nickolov R, Bronstein MD, et al. A meiotic recombination in a new isolated familial somatotropinoma kindred. **Eur J Endocrinol** **2004**; (in press).
99. Gadelha MR, Une KN, Rohde K, Vaisman M, Kineman RD, Frohman LA. Isolated familial somatotropinomas establishment of linkage to chromosome 11q13.1-11q13.3 and evidence for a potential second locus at chromosome 2p16-12. **J Clin Endocrinol** **2000**;85:707-14.
100. Yamada S, Yoshimoto K, Sano T, Takada K, Itakura M, Usui M, et al. Inactivation of the tumor suppressor gene on 11q13 in brothers with familial acrogigantism without multiple endocrine neoplasia type 1. **J Clin Endocrinol Metab** **1997**;82:239-42.
101. Teh B, Kytölä S, Farnébo F, Bergman L, Wong FK, Weber G, et al. Mutation analysis of the *MEN1* gene in multiple endocrine neoplasia type 1, familial acromegaly and familial isolated hyperparathyroidism. **J Clin Endocrinol Metab** **1998**;83:2621-6.
102. Gadelha MR, Prezant TR, Une KN, Glick RP, Stanley F, Moskal II, et al. Loss of heterozygosity on chromosome 11q13 in two families with acromegaly/gigantism is independent of mutations of the multiple endocrine neoplasia type I gene. **J Clin Endocrinol** **1999**;84:249-56.
103. Tanaka C, Yashimoto K, Yamada S, Nishioka H, II S, Moritami M, et al. Absence of germ-line mutations of the multiple endocrine neoplasia type 1 (*MEN1*) gene in familial pituitary adenoma in contrast to *MEN1* in Japanese. **J Clin Endocrinol Metab** **1998**;83:960-5.
104. Stratakis CA, Kirschner LS, Carney JA. Clinical and molecular features of the Carney complex: diagnostic criteria and recommendations for patient evaluation. **J Clin Endocrinol Metab** **2001**;86:4041-6.
105. Pack SD, Kirschner LS, Pak E, Zhuang Z, Carney JA, Stratakis CA. Genetic and histologic studies of somatomammotropic pituitary tumors in patients with the "complex of spotty skin pigmentation, myxomas, endocrine overactivity and schwannomas" (Carney Complex). **J Clin Endocrinol Metab** **2000**;85:3860-5.
106. Kirschner LS, Carney JA, Pack SD, Taymans SE, Giatzakis C, Cho YS, et al. Mutations of the gene encoding the protein kinase A type I - alpha regulatory subunit in patients with the Carney complex. **Nat Genet** **2000**;26:89-91.
107. Sandrini F, Kirschner LS, Farmakidis C, Yasufuku-Takano J, Takano K, et al. *PRKAR1A*, one of the Carney complex genes, and its locus (17q22-24) are rarely altered in pituitary tumours outside the Carney complex. **J Med Genet** **2002**;39:e78.
108. Lombardi D, Lacombe ML, Paggi MG. Nm23: Unraveling its biological function in cell differentiation. **J Cell Physiol** **2000**;182:144-9.
109. Gervasi F, D'Agnano I, Vossio S, Zupi G, Sacchi A, Lombardi D. Nm23 influences proliferation and differentiation of pc12 cell in response to nerve growth factor. **Cell Growth Differ** **1996**;7:1689-95.
110. Takino H, Herman V, Weiss M, Melmed S. Purine-binding factor (nm23) gene expression in pituitary tumors: marker of adenoma invasiveness. **J Clin Endocrinol Metab** **1995**;80:1733-8.
111. Petersenn S, Heyens M, Ludecke DK, Beil FU, Schulte HM. Absence of somatostatin receptor type 2 A mutations and *gip* oncogene in pituitary somatotroph adenomas. **Clin Endocrinol** **2000**;52:35-42.
112. Corbetta S, Ballare E, Mantovani G, Lania A, Losa M, Di Blasio AM, et al. Somatostatin receptor subtype 2 and 5 in human GH-secreting pituitary adenomas: analysis of gene sequence and mRNA expression. **Eur J Clin Invest** **2001**;31:208-14.
113. Ballare E, Persani L, Lania AG, Filopanti M, Giammona E, Corbetta S, et al. Mutation of somatostatin receptor type 5 in an acromegalic patient resistant to somatostatin analog treatment. **J Clin Endocrinol Metab** **2001**;86:3809-14.
114. Dhanasekaran I, Lynn EH, Johnson GL. G protein-coupled receptor systems involved in cell growth and oncogenesis. **Endocr Rev** **1995**;16:259-70.
115. Vallar L, Spada A, Giannattasio G. Altered Gs and adenylate cyclase activity in human GH-secreting pituitary adenomas. **Nature** **1987**;330:566-8.
116. Landis CA, Masters SB, Spada A, Pace AM, Bourne HR, Vallar L. GTPase inhibiting mutations activate the alpha chain of Gs and stimulate adenylyl cyclase in human pituitary tumours. **Nature** **1989**;340:692-6.
117. Hosoi E, Yokogoshi Y, Horie H, Sano T, Yamada S, Saito S. Analysis of the Gs alpha gene in growth hormone-secreting pituitary adenomas by polymerase chain reaction-direct sequencing method using paraffin-embedded tissues. **Acta Endocrinol** **1993**; 129:301-6.
118. Yoshimoto K, Iwahana H, Fukuda A, Sano T, Itakura M. Rare mutation of the Gs alpha-subunit gene in human endocrine tumors. Mutation detection by polymerase chain reaction - primer introduced restriction analysis. **Cancer** **1993**;72:1386-93.
119. Yang I, Park S, Ryu M, Woo J, Kim S, Kim J, et al. Characteristics of gsp-positive growth hormone-secreting pituitary tumors in Korean acromegalic patients. **Eur J Endocrinol** **1996**;134:720-6.
120. Lyons J, Landis CA, Harsh G, Vallar L, Grunewald K, Feichtinger H, et al. Two G protein oncogenes in human endocrine tumors. **Science** **1990**;249:655-9.
121. Johnson MC, Codner E, Eggers M, Mosso L, Rodriguez JA, Cassoria F. Gsp mutations in Chilean patients harboring growth hormone secreting pituitary tumors. **J Pediatr Endocrinol Metab** **1999**;12:381-7.

122. Kan B, Esapa C, Sipahi T, Nacar C, Özer F, Sayhan NB. G protein mutations in pituitary tumors: a study on Turkish patients. **Pituitary** 2003;6:75-80.
123. Landis CA, Harsh G, Lyons J, Davis RL, McCormick F, Bourne HR. Clinical characteristics of acromegalic patients whose pituitary tumors contain mutant Gs protein. **J Clin Endocrinol Metab** 1990;71:1416-20.
124. Spada A, Arosio M, Bochicchio D, Bazzoni N, Vallar L, Bassetti M, et al. Clinical, biochemical, and morphological correlates in patients bearing growth hormone-secreting pituitary tumors with or without constitutively active adenylyl cyclase. **J Clin Endocrinol Metab** 1990;71:1421-6.
125. Harris PE, Alexander JM, Bikkal HA, Hsu DW, Hedley-Whyte ET, Klibanski A, et al. glycoprotein hormone alpha-subunit production in somatotroph adenomas with and without Gs alpha mutations. **J Clin Endocrinol Metab** 1992;75:918-23.
126. Tordjoman K, Stern N, Ouaknine G, Yossiphov Y, Razon N, Nordenskjold M, et al. Activating mutations of the alpha-gene in nonfunctioning pituitary tumors. **J Clin Endocrinol Metab** 1993;77:765-9.
127. Williamson EA, Daniels M, Foster S, Kelly WF, Kendall-Taylor P, Harris PE. Gs alpha and gi2 alpha mutations in clinically non-functioning pituitary tumors. **Clin Endocrinol** 1994;41:815-20.
128. Williamson EA, Ince D, Harrison P, Kendall-Taylor P, Harris PE. G-protein mutations in human pituitary adrenocorticotrophic hormone-secreting adenomas. **Eur J Clin Invest** 1995;25:128-31.
129. Vallar L. Oncogenic role of heterotrimeric G proteins. **Cancer Surv** 1996;27:325-38.
130. Bailer A, Pellgrini-Bouiller I, Gunz G, Zamora AJ, Jaquet P, Enjalbert A. Impact of gsp oncogene on the expression of genes coding for Gs alpha, Pit-1, Gi2 alpha, and somatostatin receptor 2 in human somatotroph adenomas: involvement in octreotide sensitivity. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:2759-65.
131. Bertherat J, Chanson P, Montminy M. The cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate-responsive factor CREB is constitutively activated in human somatotroph adenomas. **Mol Endocrinol** 1995;9:777-83.
132. Peri A, Conforti B, Baglioni-Peri S, Luciano P, Cioppi F, Buci L, et al. Expression of cyclin adenosine 3', 5'-monophosphate (cAMP)-responsive element binding protein and inducible-camp early repressor genes in growth hormone-secreting pituitary adenomas with or without mutations of the Gsalpha gene. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:2111-7.
133. Zhang X, Horwitz GA, Prezant TR, Valentini A, Nakashima M, Bronstein MD, et al. Structure, expression, and function of human Pituitary Tumor-Transforming Gene (PTTG). **Mol Endocrinol** 1999;13:156-66.
134. Zhang X, Horwitz GA, Heaney AP, Nakashima M, Prezant TR, Bronstein MD. Pituitary Tumor Transforming Gene (PTTG) expression in pituitary adenomas. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:761-7.
135. Saez C, Japon MA, Ramos-Morales F, Romero F, Segura DI, Tortolero M, et al. Hpttg is overexpressed in pituitary adenomas and other primary epithelial cells by both p53-dependent and p53-independent mechanisms. **Oncogene** 1999;11:2411-8.
136. McCabe CJ, Khaira JS, Boelaert K, Heaney AP, Tannahill LA, Hussain S, et al. Expression of pituitary tumor transforming gene (PTTG) and fibroblast growth factor-2 (FGF-2) in human pituitary adenomas: relationships to clinical tumor behaviour. **Clin Endocrinol** 2003;58:141-50.
137. McCabe C. Genetic targets for the treatment of pituitary adenomas: focus on the pituitary tumor transforming gene. **Curr Opin Pharmacol** 2001;1:620-5.
138. Ishikawa J, Xu H-J, Hu S-X, Yandell DW, Maeda S, Kamidono S, et al. Inactivation of the retinoblastoma gene in human bladder and renal cell carcinoma. **Cancer Res** 1991;51:5736-43.
139. 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.
140. Hibberts NA, Simpson DJ, Bicknell JE, Broome JC, Hoban PR, Clayton RN, et al. Analysis of cyclin D1 (CCND1) allelic imbalance and overexpression in sporadic human pituitary tumors. **Clin Cancer Res** 1999;5:2133-9.
141. Turner HE, Nagy Z, Sullivan N, Esiri MM, Wass JA. Expression analysis of cyclins in pituitary adenomas and the normal pituitary gland. **Clin Endocrinol** 2000;53:337-44.
142. Karga HJ, Alexander JM, Hedley-Whyte T, Klibanski A, Jameson JL. Ras mutation in human pituitary tumors. **J Clin Endocrinol Metab** 1992;74:914-9.
143. Cai WY, Alexander JM, Hedley-Whyte T, Scheithauer BW, Jameson JL, Zervas NT, et al. Ras mutations in human prolactinomas and pituitary carcinomas. **J Clin Endocrinol Metab** 1994;78:89-93.
144. Lopes MB, Gaylinn BD, Thorner MO, Stoler MH. Growth hormone-releasing hormone receptor mRNA in acromegalic pituitary tumors. **Am J Pathol** 1997;150:1885-91.
145. Salvatori R, Thakker RV, Lopes MB, Fan X, Eswara JR, Ellison D, et al. Absence of mutations in the growth hormone (GH)-releasing hormone receptor gene in GH-secreting pituitary adenomas. **Clin Endocrinol** 2001;54:301-7.
146. Lee EJ, Kotlar TJ, Ciric I, Lee MK, Lim SK, Lee HC, et al. Absence of constitutively activating mutations in the GHRH receptor in GH-producing pituitary tumors. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:3989-95.
147. Thapar K, Kovacs K, Stefanescu L, Scheithauer B, Killinger DW, Lloyd RV, et al. Overexpression of the growth-hormone-releasing hormone gene in acromegaly-associated pituitary tumors. **Am J Pathol** 1997;151:769-84.

Endereço para correspondência:
Mônica Gadelha
Rua Nascimento Silva 555, apto. 101
22421-020 Rio de Janeiro, RJ
e-mail: mgadelha@hucff.ufrj.br