

**AMANDA TEIXEIRA RODRIGUES**

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E FUNCIONAL  
DE CÉLULAS DE TUMORES ADRENOCORTICAIS  
HUMANOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfofuncionais do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

**Área de Concentração:** Ciências Morfofuncionais

**Orientadora:** Profa. Dra. Claudimara Ferini Pacicco Lotfi.

Versão original

São Paulo  
2014

## RESUMO

Rodrigues AT. Caracterização molecular e funcional de células de tumores adrenocorticais humanos. [dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2014.

Os adenomas adrenocorticais possuem 3 a 7% de frequência em humanos adultos, no entanto, o carcinoma adrenocortical é considerado raro e altamente agressivo, com uma incidência entre meio a dois casos por milhão de habitantes por ano. Os carcinomas detectados em estágios avançados apresentam altos índices de metástase ou recidiva e, mesmo com a utilização de critérios padronizados, ainda há dificuldade em se diferenciar tumores benignos de malignos. Desta forma, é necessário o estudo de marcadores eficientes capazes de melhorar a detecção e a diferenciação entre os tipos de tumores. Por serem raros e possuírem diversas manifestações clínicas, a utilização de culturas *in vitro* para tumores adrenais pode ser uma ferramenta valiosa para o estudo dos processos fisiopatológicos responsáveis pela gênese e progressão da doença. Nosso laboratório tem se empenhado em obter e caracterizar culturas de células derivadas de tumores do córtex adrenal. Com isso, espera-se aumentar o número de ferramentas disponíveis para o estudo de diferentes aspectos das doenças proliferativas do córtex adrenal. Portanto, esse trabalho teve como objetivo a caracterização molecular e funcional de culturas de células de tumores adrenocorticais obtidas de fragmentos de tumores de pacientes. Para essa caracterização foram analisados os perfis de expressão de oncogenes e genes supressores de tumor nas culturas de células obtidas, através de PCR array e qPCR. A produção de cortisol e testosterona no meio de cultura das células foi avaliada através de kits comerciais específicos. Os resultados da expressão de oncogenes e genes supressores de tumor, não mostraram um padrão de expressão que diferenciasses as culturas em função dos diagnósticos dos tumores. Dos oncogenes e supressores de tumor analisados, 7 oncogenes apresentaram maior expressão na maioria culturas com diferentes aspectos clínicos e 9 supressores de tumor apresentaram baixa expressão na maior parte das culturas analisadas. Os genes selecionados para validação por qPCR, *WWOX*, *FHIT* e *TP73* confirmaram os resultados obtidos por PCR Array e a sugestiva interação entre esses fatores nos tumores adrenocorticais merecem futuras investigações. O potencial funcional das culturas T83-ACC, T36-REC e T7-ACA(P) foram evidenciados, e mostraram que podem ser bons modelos para estudo da ação de hormônios e seus mecanismos.

**Palavras-Chave:** Tumor adrenocortical. Oncogenes. Genes supressores de tumor. Culturas de células. Expressão Genica. Esteroidogênese.

## ABSTRACT

Rodrigues AT. Molecular and Functional Characterization of Human Adrenocortical Cell Cultures. [dissertação (Master in Sciences Morphofunctional)]. São Paulo: Institute of Biomedical Sciences, Universidade de São Paulo; 2014.

The frequency of adrenocortical adenomas is 3 - 7% in adult humans. However, adrenocortical carcinoma is rare and highly aggressive, with an incidence of 0.5-2 million individual per year. Carcinomas detected in advanced stages have high rates of metastasis or relapse, and there are difficulties in distinguish between benign and malignant tumors even with the use of standardized scores. Thus, the study of efficient markers is necessary to improve the detection and differentiation between tumor types. Because they are rare and they have different clinical manifestations, the use of in vitro cultures of adrenal tumor cells can be a valuable tool, which can contribute to the study of pathophysiological processes responsible for the genesis and progression of the disease. Our laboratory has been working in obtaining and characterizing cultures of cells derived from tumors of the adrenal cortex. It is expected to increase the number of tools available for the study of different aspects of proliferative diseases of the adrenal cortex. This work aimed at molecular and functional characterization of cell cultures of adrenocortical tumors obtained from tumors fragments of patients. We analyzed the expression of oncogenes and tumor suppressor genes of cultured tumor cells, by using PCR array and qPCR. The production of cortisol and testosterone levels in the culture medium of the cells was also measured using specific commercial kits. We did not find a pattern of oncogenes and tumor suppressor genes expression in order to differentiated cell cultures of tumors presenting distinct diagnosis. Among the oncogenes and tumor suppressor genes analyzed 7 oncogenes showed higher expression and 9 supressor genes low expression in most cultures analyzed. To validation in qPCR, it was selected *WWOX*, *FHIT* and *TP73* genes confirmed the results obtained by PCR Array, and the suggestive interaction of these factors in adrenocortical tumors deserve further investigation. The functional potential of T83-ACC, T36-REC and T7-ACA(P) cell cultures were found, and shown confirm that they can be good models for studying the action of hormones and their mechanisms.

**Keywords:** Adrenocortical tumor. Oncogenes. Tumor suppressor genes. Cell cultures. Gene expression. Steroidogenesis.

## **1 INTRODUÇÃO**

As glândulas suprarrenais estão localizadas na cavidade abdominal em posição retroperitoneal nos polos superiores dos rins. A glândula é composta por um córtex e medula envoltos por uma cápsula. Abaixo da cápsula (Figura 1) encontramos o córtex adrenal, que é composto por três zonas distintas que sintetizam diferentes hormônios esteroides. A zona glomerulosa (ZG) responde à Angiotensina II e Potássio ( $K^+$ ) em conjunto com o hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), produzindo mineralocorticoides, como a aldosterona. Os mineralocorticoides estão relacionados com a homeostase de eletrólitos no plasma sanguíneo, promovendo a reabsorção de sódio e excreção de potássio nos rins. A zona fasciculada (ZF) é regulada pelo ACTH que induz a produção de glicocorticoides, como o cortisol, o qual está envolvido com o metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas que estimulam a gliconeogênese. A zona reticulada (ZR) é também regulada pelo ACTH e outros fatores não totalmente conhecidos e produz hormônios sexuais em humanos, como a dehidroepiandrosterona (DHEA) (Orth, Kovacs, 1998). A medula, situada na parte mais interna da glândula, tem como função produzir catecolaminas que são liberadas em situações de estresse, calor, frio ou dor.

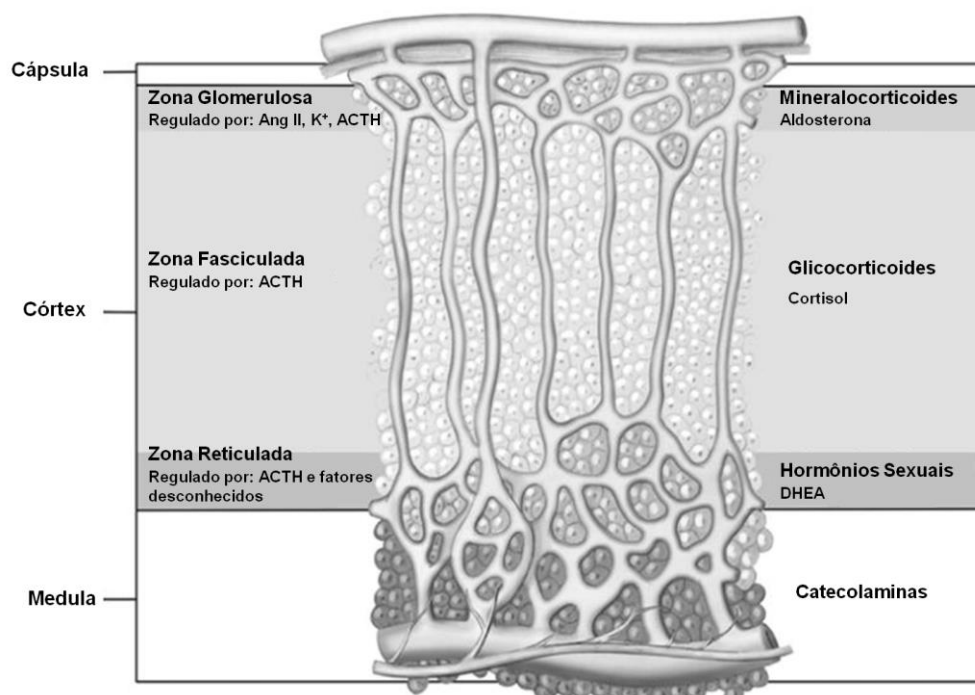


Figura 1 - Divisões da glândula adrenal e principais produtos sintetizados. Adaptado de: Wang, Rainey, 2012.

O ACTH, responsável pelo estímulo de células adrenocorticais produtoras de glicocorticoides e outros esteroides, é regulado pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). O eixo HPA aumenta ou reduz os níveis de ACTH no sangue de acordo com estímulos externos, fisiológicos ou patológicos.

A biossíntese de hormônios esteroides é mediada basicamente pela via cAMP (monofosfato cíclico de adenosina), conforme mostrado no esquema da Figura 2. Após a ligação do ACTH ao receptor 2 de melanocortina (MC2R), há a estimulação da adenilato-ciclase que, por sua vez, eleva o cAMP. A elevação do cAMP ativa a proteína quinase A (PKA) (Xing et al., 2010), que estimula a fosforilação de fatores de transcrição para a produção de enzimas esteroidogênicas e da proteína reguladora esteroidogênica aguda (StAR). A proteína StAR participa do processo de transporte do colesterol, substrato da produção de esteroides, da membrana externa para a interna da mitocôndria (Stocco et al., 2005).

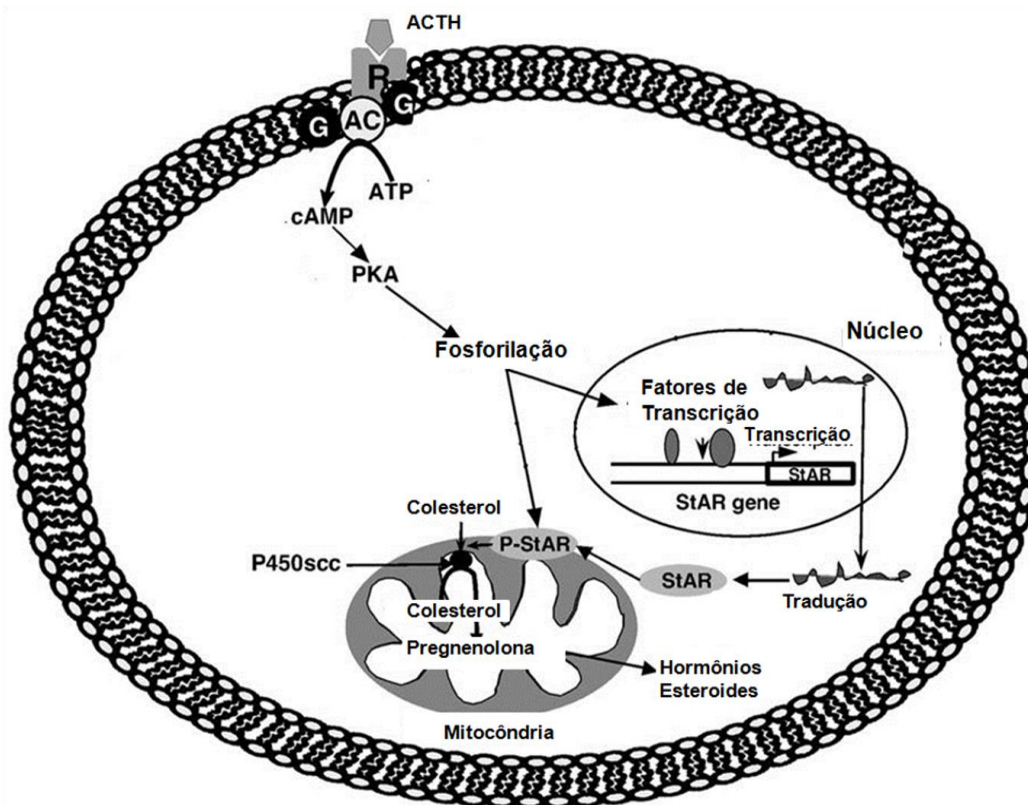


Figura 2 - Esquema representativo da via cAMP. Adaptado de: Stocco e colaboradores, 2005

Na parte interna da mitocôndria, se inicia a cascata esteroidogênica (Figura 3). Primeiramente, ocorre a clivagem da cadeia lateral do colesterol pela enzima citocromo P450SCC (CYP11A1), formando a pregnenolona que, depois de

sintetizada, dirige-se para o retículo endoplasmático podendo seguir diferentes caminhos. Na zona glomerulosa, a pregnenolona pode ser convertida diretamente em progesterona pela ação da enzima  $3\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase tipo II (HSD3B2). A progesterona ao sofrer a ação da enzima P-450C21 (CYP21) resulta no 11-desoxicorticosterona que, por meio da P45011B1 (CYP11B1), forma a corticosterona. Esta, através da proteína P45011B2 (CYP11B2), disponível somente nessa zona, possibilita a formação da aldosterona. Na zona fasciculada, a pregnenolona é convertida pela enzima P45017a (CYP17) em 17 $\alpha$ -hidroxipregnenolona. Em seguida, essa forma é convertida em 17 $\alpha$ -hidroxiprogesterona através da enzima  $3\beta$ -HSD que sofre a ação da P450C21 (CYP21) formando o 11-desoxicortisol. Este retorna à mitocôndria para a etapa final da produção de glicocorticoides por ação da P-45011B1, que catalisa o 11-desoxicortisol em cortisol. Na zona reticulada, a 17,20-liase promove a produção de dehidroepiandrosterona (DHEA) e androstenediona, precursores de hormônios sexuais nas adrenais de humanos (Miller, 1988; Simpson, Waterman, 1988).

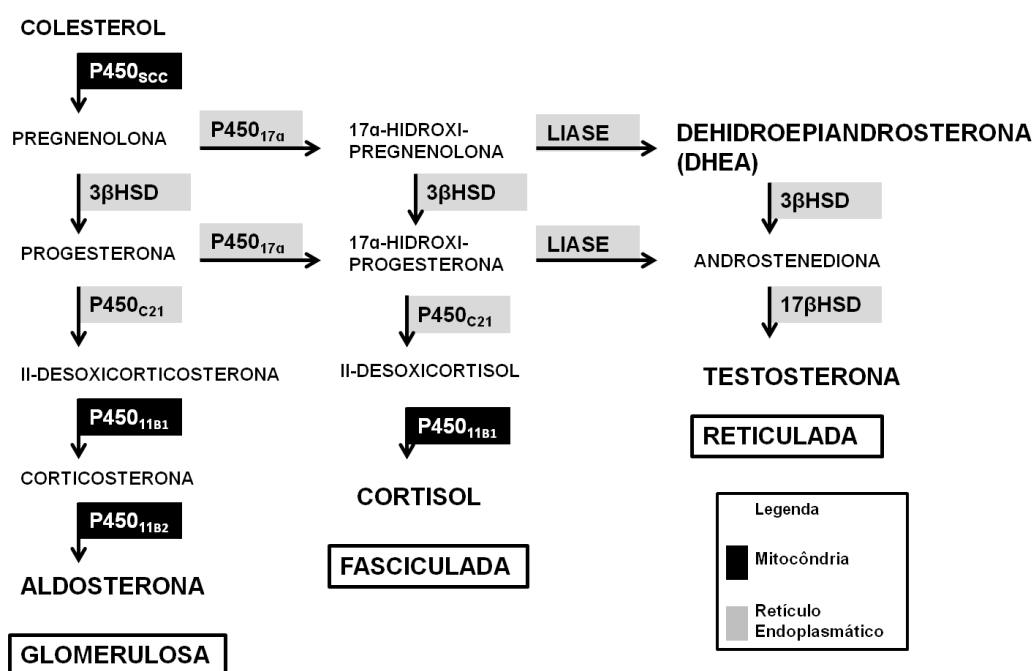


Figura 3 - Esquema demonstrativo da via esteroidogênica no córtex adrenal humano para a produção de glicocorticoides, mineralocorticoides e hormônios sexuais. Adaptado de: Simpson & Waterman, 1988.

Alterações patológicas na glândula adrenal podem favorecer a formação de neoplasias. Os tumores adrenocorticais estão divididos em benignos e malignos, podendo ser encontrados de forma incidental durante a realização de exames de imagem (Bornstein et al., 1999) e estar associados à algumas síndromes, como:

hipercortisolismo na síndrome de Cushing, hiperandrogenismo na virilização ou excesso mineralocorticoides na síndrome de Conn (Arnaldi, Boscaro, 2012; Grumbach et al., 2003; Lerario et al., 2014).

Os adenomas adrenocorticais (ACA), ocorrem com certa frequência em humanos e aumenta com a idade, com uma incidência entre 3 a 7% em adultos acima de 50 anos (Kloos et al., 1995; Ross, Aron, 1990). No entanto, o carcinoma adrenocortical (ACC) é raro, agressivo e de prognóstico pouco favorável (Allolio, Fassnacht, 2006; Fassnacht *et al.*, 2011). Possui uma incidência mundial de 0,5-2 casos por milhão de habitantes, representando 0,02% de todos os cânceres (Zini et al., 2011). Apresenta maior prevalência nos primeiros 5 anos e na vida adulta, entre 40-50 anos, sendo mais frequentes em mulheres (Fassnacht et al., 2011; Flack, Chrousos, 1996; Sandrini et al., 1997). Sua incidência nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, é de 12 a 15 vezes mais alta em relação às outras regiões do mundo, principalmente em crianças, com 3,4 casos por milhão (Sandrini et al., 1997). A causa da maior incidência está associada a uma mutação germinativa no gene *TP53* (Pianovski et al., 2006). Para diferenciar adenomas e carcinomas, são utilizados nove critérios de classificação, conhecidos como escore de Weiss, considerando-se malignos aqueles que obedecem à três ou mais critérios (Weiss, 1984; Weiss et al., 1989). Porém, tais preceitos foram recentemente reavaliados (Aubert et al., 2002), resultando na redução de seu número através da eliminação de critérios subjetivos e de difícil interpretação (Lau, Weiss, 2009). A classificação do grau de estadiamento é baseada no tamanho e peso do tumor, no comprometimento de linfonodos e na doença metastática, através da escala proposta por MacFarlane (MacFarlane, 1958), que foi modificada por Sullivan (Sullivan et al., 1978). Tumores pediátricos, embora algumas vezes apresentem características morfológicas de malignidade, geralmente apresentam um comportamento clínico menos agressivo (Cagle et al., 1986). Portanto, os sistemas de classificação utilizados para diferenciar tumores benignos de malignos em adultos não são totalmente aplicáveis a tumores pediátricos (Lau, Weiss, 2009). Para a classificação do estadiamento desses tumores existe um sistema proposto por Sandrini (Sandrini et al., 1997).

Mesmo com a utilização destes critérios, existem relatos indicando que tumores classificados como adenomas, de acordo com as características histológicas, apresentaram posteriormente recidiva local ou metástase, enquanto outros confirmados como malignos não apresentaram reincidência, mesmo depois



de muitos anos (Flack, Chrousos, 1996; Weiss, 1984). Portanto, novos marcadores histológicos e moleculares são necessários para que auxiliem na detecção da doença, bem como na sua classificação.

Fatores envolvidos em processos fisiopatológicos foram descritos por serem potenciais marcadores moleculares. Dentre eles, está o receptor do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF1R), que possui um papel importante na proliferação celular. O IGF1R é expresso de forma semelhante nos adenomas e carcinomas adultos (Almeida et al., 2008; Ragazzon et al., 2011; Slater et al., 2006). Por outro lado, o IGF1R está mais expresso em tumores pediátricos clinicamente considerados carcinomas, e pode ser um marcador para esse tipo de tumor (Almeida et al., 2008). Outros marcadores incluem o receptor do fator de crescimento do fibroblasto 1 (FGFR1) e o receptor do fator de crescimento do fibroblasto 4 (FGFR4), que se apresentaram hiperexpressos em carcinomas adrenocorticais em um estudo de “microarray” (de Fraipont et al., 2005). Resultados mais recentes da análise da expressão de FGFR4 mostraram que 65% dos tumores adrenocorticais de adultos e pediátricos apresentaram hiperexpressão desse receptor, enquanto que um subgrupo apresentou amplificação gênica. Além disso, mostrou-se uma diferença significativa de expressão entre adenomas e carcinomas adultos, de forma que a alta expressão de FGFR4 pode caracterizar um diagnóstico pior desse tipo de tumor (Brito et al., 2012).

O estudo clonal de tumores é importante para estabelecer a origem da neoplasia e os mecanismos para a progressão do tumor. O estado monoclonal indica que o tumor é resultado de uma mutação genética intrínseca. Por outro lado, o estado policlonal indica que as células foram afetadas por estímulos locais ou sistêmicos (Libè et al., 2007). As análises do estado clonal, que envolve a inativação do cromossomo X nos tumores adrenocorticais, mostraram que os carcinomas adrenocorticais são monoclonais. No entanto os adenomas adrenocorticais podem ser tanto monoclonais, como policlonais (Beuschlein et al., 1994, Gicquel et al., 1994). Estes eventos genéticos podem ser estudados através da análise de todo o genoma e pela verificação das perdas ou ganhos de parte ou da totalidade de um cromossomo. Através destes estudos foi possível observar que alterações genéticas se acumulam durante a progressão do tumor (Sidhu et al., 2002). Estudos cromossômicos mostraram também locais específicos no DNA que são frequentemente modificados causando maior instabilidade cromossômica. Estes

locais são denominados sítios frágeis (Durkin, Glover, 2007). Os genes envolvidos nessas alterações moleculares podem ser classificados como oncogenes ou supressores de tumor. Os oncogenes codificam fatores de crescimento, receptores de fator de crescimento entre outros que participam da modulação do crescimento e diferenciação celular. Através da modificação genética, por mutação, amplificação e translocação cromossômica, ocorre uma ativação destes oncogenes e uma desregulação na transcrição e crescimento celular. Por outro lado, os supressores de tumor possuem um efeito inibitório no crescimento e sobrevivência celular, e sua inativação pode predispor à tumorigênese (Sidhu et al., 2003).

Dentre os oncogenes descritos está o fator de crescimento semelhante à insulina 2 (IGF2), que parece ser na importante na proliferação celular e no desenvolvimento do córtex adrenal. Esse gene está altamente expresso em carcinomas adrenocorticais, sendo considerado um marcador eficiente para diferenciar adenomas de carcinomas e um oncogene nesse tipo de tumor (Almeida et al., 2008; Gicquel et al., 1997; Ragazzon et al., 2011; Slater et al., 2006).

Um membro chave da via de sinalização Wnt é o gene da  $\beta$ -catenina (*CTNNB1*), que é essencial para o desenvolvimento embrionário, para a adesão célula-célula e a renovação celular (Berthon et al., 2010). Alterações na via Wnt podem causar acúmulo da proteína  $\beta$ -catenina no núcleo celular e interação com fatores de transcrição e ativação da transcrição gênica. Mutação no gene *CTNNB1* é frequente em tumores adrenocorticais benignos e malignos e pode estar associada a um fenótipo mais agressivo em carcinomas (Tissier et al., 2005). Em um trabalho recente, foi avaliada a presença da mutação de *CTNNB1* e TP53 p.R337H em 66 tumores pediátricos e 25 tumores adultos. A associação das mutações em tumores adultos e pediátricos foi relacionada a um pior prognóstico, com aumento de eventos de morte (Mermejo et al., 2014).

O Fator esteroideogênico 1 (SF-1), que é um fator de transcrição com papel fundamental no desenvolvimento e função do córtex adrenal (Parker, Schimmer, 1997). Trabalhos sobre a análise da expressão gênica e proteica de SF-1 relatam hiperexpressão desse fator em tumores adrenocorticais (Figueiredo et al., 2005). Entretanto, análises por imunohistoquímica de carcinomas e adenomas adrenocorticais mostraram que SF-1 não é eficaz para diferenciar carcinomas e adenomas, porém possibilita a distinção entre um carcinoma primário e metástase (Soon et al., 2008). As amplificações de SF-1 estão presentes em 47% dos casos de

tumores pediátricos, e em apenas 10% dos pacientes adultos (Almeida et al., 2010), indicando assim, que SF-1 tem um papel importante na tumorigênese adrenocortical pediátrica.

O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que está relacionado com a angiogênese e com crescimento de carcinomas e metástases, também tem sido investigado por apresentar alta expressão em carcinomas adrenocorticais quando comparado com adenomas (Antonini et al., 2011; Libè et al., 2007).

O gene supressor de tumor *TP53* é um dos mais estudados no processo tumorigênico adrenocortical. A alteração desse gene está associada a uma mutação na região R337H (Latronico et al., 2001; Ribeiro et al., 2001). Alguns estudos mostraram que a perda de heterozigidade do gene que codifica a proteína p53 no locus do cromossomo 17 ocorre em aproximadamente 85% dos carcinomas e menos de 30% de adenomas (Gicquel et al., 2001; Ragazzon et al., 2011).

Outro supressor de tumor relatado é o componente chave da via de sinalização de cAMP, *PRKAR1A* (Subunidade R1A reguladora da proteína quinase A) tem sido descrito por estar ligado a tumorigênese endócrina (Bertherat, 2001; Bossis, Stratakis, 2004). Este gene, localizado no locus 17q22-24, está relacionado com o desenvolvimento de neoplasias que são provenientes da patologia denominada complexo de Carney (Carney et al., 1995). Em adenomas secretores foram observadas mutações somáticas (Bertherat et al., 2003) e perda de heterozigidade (LOH) no locus 17q22-24, em uma região restrita ao gene *PRKAR1A* (Libé et al., 2007).

O receptor de melanocortina 2 (MC2R) pertence à superfamília de receptores acoplados G-proteína. Foi observada perda de heterozigidade (LOH) em 2 de 4 carcinomas adrenocorticais, mas não em 15 adenomas funcionais, sugerindo que este gene esteja envolvido com a diferenciação celular (Reincke et al., 1997). Este gene apresenta expressão regulada em adenomas adrenocorticais (que são funcionais) e baixa expressão em carcinomas adrenocorticais não funcionantes (Beuschlein et al., 2001).

O estudo dos mecanismos celulares e moleculares relacionados com as alterações do córtex adrenal é limitado pela disponibilidade de modelos biológicos apropriados (Wang, Rainey, 2012). Existem poucos sistemas *in vitro* disponíveis para o estudo dos tumores adrenocorticais. Dentre eles estão a linhagem de tumor de camundongo, células Y1 (Yasumura et al., 1966) e as linhagens tumorais

humanas SW-13, NCI-H295 e sua variação NCI-H295R (Bird et al., 1993; Gazdar et al., 1990; Leibovitz et al., 1973; Rainey et al., 1994). Muitas das contribuições importantes no estudo dos mecanismos moleculares e bioquímicos que controlam a esteroidogênese adrenocortical e suas alterações foram obtidas a partir desses modelos. No entanto, por diferentes razões, esses sistemas apresentam limitações, principalmente para estudos da expressão gênica e proteica de tumores adrenais humanos (Rainey et al., 2004). Foram descritas algumas culturas de células como RL-251 (Schteingart et al., 2001), em cujo meio de cultura foram observadas altas concentrações de citocinas, e cujas células, quando inoculadas em camundongos, formaram tumores que apresentaram as mesmas características do tumor do paciente de onde as células foram obtidas. As células HAC15, foram obtidas de um carcinoma pediátrico (Parmar et al., 2008), uma cultura de células de carcinoma R1 $\alpha$  haploinsuficiente devido a uma mutação PRKAR1A (Nesterova et al., 2008). Porém, na sua caracterização observou-se que, provavelmente devido a uma contaminação com a linhagem H295R, essa cultura foi substituída por uma cultura clonal dessa linhagem (comunicação pessoal).

Nos últimos anos, nosso grupo tem se empenhado na obtenção de culturas de células de diferentes tipos de tumores adrenocorticais, pediátricos e adultos. Dentre as culturas de células obtidas, algumas foram utilizadas em alguns estudos, como as células T7-ACA, originadas de um fragmento de tumor pediátrico com características clínicas de um adenoma (Almeida et al., 2008) e a cultura de células obtida de um fragmento de uma recidiva de carcinoma adulto, T36-REC (França et al., 2013).

Durante o processo de estabelecimento das culturas celulares, além da seleção do tipo celular com maior capacidade proliferativa, modificações celulares, moleculares e funcionais podem ocorrer. Por isso, é de fundamental importância que essas culturas de células sejam analisadas do ponto de vista molecular e funcional. Com isso, espera-se aumentar o número de ferramentas disponíveis para o estudo de diferentes aspectos das doenças proliferativas do córtex adrenal.

## **6 CONCLUSÕES**

- A análise da expressão de oncogenes e genes supressores de tumor em 12 culturas de tumores adrenocorticais com diferentes características anatomopatológicas e 2 linhagens, não mostrou um padrão de expressão que diferenciasse as culturas de acordo com os diagnósticos dos tumores.
- Os genes selecionados para validação por qPCR, *WWOX*, *FHIT* e *TP73* confirmaram os resultados obtidos por PCR Array e a provável interação entre esses fatores merecem estudos posteriores.
- O potencial funcional das culturas T83-ACC, T36-REC e T7-ACA(P) foram analisados e podem ser bons modelos para estudo dos mecanismos esteroidogênicos.

## **REFERÊNCIAS**

Allolio B, Fassnacht M. Clinical review: Adrenocortical carcinoma: clinical update. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(6):2027-37.

Almeida MQ, Fragoso MC, Lotfi CF, Santos MG, Nishi MY, Costa MH, Lerario AM, Maciel CC, Mattos GE, Jorge AA, Mendonca BB, Latronico AC. Expression of insulin-like growth factor-II and its receptor in pediatric and adult adrenocortical tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(9): 3524-31.

Almeida MQ, Soares IC, Ribeiro TC, Fragoso MC, Marins LV, Wakamatsu A, Ressio RA, Nishi MY, Jorge AA, Lerario AM, Alves VA, Mendonca BB, Latronico AC. Steroidogenic factor 1 overexpression and gene amplification are more frequent in adrenocortical tumors from children than from adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95(3): 1458-62.

Antonini SRR, Colli L.M, Ferro L, Mermejo L, Castro M. Tumores adrenocorticais na criança: da abordagem clínica à avaliação molecular. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2011; 55(8): 599-606.

Aqeilan RI, Pekarsky Y, Herrero JJ, Palamarchuk A, Letofsky J, Druck T, Trapasso F, Han SY, Melino G, Huebner K, Croce CM. Functional association between *Wwox* tumor suppressor protein and p73, a p53 homolog. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101(13):4401-6.

Aqeilan RI, Trapasso F, Hussain S, Costinean S, Marshall D, Pekarsky Y, Hagan JP, Zanesi N, Kaou M, Stein GS, Lian JB, Croce CM. Targeted deletion of *Wwox* reveals a tumor suppressor function. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007; 104(10):3949-54.

Arnaldi G, Boscaro M. Adrenal incidentaloma. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2012; 26(4):405-19.

Aubert S, Wacrenier A, Leroy X, Devos P, Carnaille B, Proye C, Wemeau JL, Lecomte-Houcke M, Leteurtre E. Weiss system revisited: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 49 adrenocortical tumors. *Am J Surg Pathol.* 2002; 26(12):1612-9.

Baffa R, Veronese ML, Santoro R, Mandes B, Palazzo JP, Ruggie M, Santoro E, Croce CM, Huebner K. Loss of FHIT expression in gastric carcinoma. *Cancer.* 1998; 58(20):4708-14.

Bednarek AK, Laflin KJ, Daniel RL, Liao Q, Hawkins KA, Aldaz CM. WWOX, a novel WW domain-containing protein mapping to human chromosome 16q23.3-24.1, a region frequently affected in breast cancer. *Cancer Res.* 2000; 60(8):2140-5.

\*De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. [Internet]. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. [updated 2011 Jul 15]. Available from: <http://www.icmje.org>



Bertherat J. Protein kinase A in Carney complex: a new example of cAMP pathway alteration in endocrine tumors. *Eur J Endocrinol.* 2001; 144(3):209-11.

Bertherat J, Groussin L, Sandrini F, Matyakhina L, Bei T, Stergiopoulos S, Papageorgiou T, Bourdeau I, Kirschner LS, Vincent-Dejean C, Perlemoine K, Gicquel C, Bertagna X, Stratakis CA. Molecular and functional analysis of PRKAR1A and its locus (17q22-24) in sporadic adrenocortical tumors: 17q losses, somatic mutations, and protein kinase A expression and activity. *Cancer Res.* 2003; 63(17):5308-19.

Berthon A, Sahut-Barnola I, Lambert-Langlais S, de Jossineau C, Damon Soubeyrand C, Louiset E, Taketo MM, Tissier F, Bertherat J, Lefrançois-Martinez AM, Martinez A, Val P. Constitutive beta-catenin activation induces adrenal hyperplasia and promotes adrenal cancer development. *Hum Mol Genet.* 2010; 19(8): 1561-76.

Beuschlein F, Reincke M, Karl M, Travis WD, Jaursch-Hancke C, Abdelhamid S, Chrousos GP, Allolio B. Clonal composition of human adrenocortical neoplasms. *Cancer Res.* 1994; Sep 15;54(18):4927-32.

Beuschlein F, Fassnacht M, Klink A, Allolio B, Reincke M. ACTH-receptor expression, regulation and role in adrenocortical tumor formation. *Eur J Endocrinol.* 2001; Mar;144(3):199-206.

Bird IM, Hanley NA, Word RA, Mathis JM, McCarthy JL, Mason JI, Rainey WE. Human NCI-H295 adrenocortical carcinoma cells: a model for angiotensin-II-responsive aldosterone secretion. *Endocrinology.* 1993; Oct;133(4):1555-61.

Bornstein SR, Stratakis CA, Chrousos G. Adrenocortical Tumors: Recent Advances in Basic Concepts and Clinical Management. *Ann Intern Med.* 1999; 130(9): 759-71.

Bossis I, Stratakis CA. Minireview: PRKAR1A: normal and abnormal functions. *Endocrinology.* 2004; Dec;145(12):5452-8.

Bouteille N, Driouch K, Hage PE, Sin S, Formstecher E, Camonis J, Lidereau R, Lallemand F. Inhibition of the Wnt/beta-catenin pathway by the WWOX tumor suppressor protein. *Oncogene.* 2009; 28(28):2569-80.

Brenner C. Hint, Fhit, and GalT: function, structure, evolution, and mechanism of three branches of the histidine triad superfamily of nucleotide hydrolases and transferases. *Biochemistry.* 2002; Jul 23;41(29):9003-14.

Brito LP, Ribeiro TC, Almeida MQ, Jorge AAL, Soares IC, Latronico AC, Mendonça BB, Fragoso MCBV, Lerario AM. The Role of fibroblast growth factor receptor 4 (FGFR4) overexpression and gene amplification as prognostic markers in pediatric and adult adrenocortical tumors. *Endocr Relat Cancer.* 2012; May 3;19(3):L11-3.

Cagle PT, Hough AJ, Pysher TJ, Page DL, Johnson EH, Kirkland RT, Holcombe JH, Hawkins EP. Comparison of adrenal cortical tumors in children and adults. *Cancer*. 1986; Jun 1;57(11):2235-7.

Campiglio M, Pekarsky Y, Menard S, Tagliabue E, Pilotti S, Croce CM. FHIT loss of function in human primary breast cancer correlates with advanced stage of the disease. *Cancer Res*. 1999; Aug 15;59(16):3866-9.

Carney JA, Gordon H, Carpenter PC, Shenoy BV, Go VL. The complex of myxomas, spotty pigmentation, and endocrine overactivity. *Medicine (Baltimore)*. 1985; Jul;64(4):270-83.

Chang NS, Pratt N, Heath J, Schultz L, Sleve D, Carey GB, Zevotek N. Hyaluronidase induction of a WW domain-containing oxidoreductase that enhances tumor necrosis factor cytotoxicity. *J Biol Chem*. 2001; Feb 2;276(5):3361-70.

Chen X, Zhang H, Li P, Yang Z, Qin L, Mo W. Gene expression of WWOX, FHIT and p73 in acute lymphoblastic leukemia. *Oncol Lett*. 2013; 6(4):963-969.

de Fraipont F, El Atifi M, Cherradi N, Le Moigne G, Defaye G, Houlgatte R, Bertherat J, Bertagna X, Plouin PF, Baudin E., Berger F., Gicquel C., Chabre O., Feige JJ. Gene expression profiling of human adrenocortical tumors using complementary deoxyribonucleic acid microarrays identifies several candidate genes as markers of malignancy. *J Clin Endocrinol Metabolism*. 2005; 90(3): 1819–29.

de Jossineau C, Sahut-Barnola I, Levy I, Saloustros E, Val P, Stratakis CA, Martinez A. The cAMP pathway and the control of adrenocortical development and growth. *Mol Cell Endocrinol*. 2012; Mar 31;351(1):28-36.

Deyoung MP, Ellisen LW. p63 and p73 in human cancer: defining the network. *Oncogene*. 2007; Aug 9;26(36):5169-83.

Driouch K, Dorion-Bonnet F, Briffod M, Champéme MH, Longy M, Lidereau R. Loss of heterozygosity on chromosome arm 16q in breast cancer metastases. *Genes Chromosomes Cancer*. 1997; Jul;19(3):185-91.

Druck T, Hadaczek P, Fu TB, Ohta M, Siprashvili Z, Baffa R, Negrini M, Kastury K, Veronese ML, Rosen D, Rothstein J, McCue P, Cotticelli MG, Inoue H, Croce CM, Huebner K. Structure and expression of the human FHIT gene in normal and tumor cells. *Cancer Res*. 1997; Feb 1;57(3):504-12.

Durkin SG, Glover TW. Chromosome fragile sites. *Annu Rev Genet*. 2007; 41:169-92.

Fassnacht M, Libé R, Kroiss M, Allolio B. Adrenocortical carcinoma: a clinician's update. *Nat Rev Endocrinol*. 2011; 7(6):323-35.

Figueiredo BC, Cavalli LR, Pianovski MA, Lalli E, Sandrini R, Ribeiro RC, Zambetti G, DeLacerda L, Rodrigues GA, Haddad BR. Amplification of the steroidogenic factor 1 gene in childhood adrenocortical tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(2):615-9.

Flack MR, Chrousos GP. Neoplasms of adrenal cortex. In: JF Holland, RC Bast Jr, DL Morton, E Frei III, DW Kufe, RR Weichselbaum, Eds. *Cancer Medicine*, 4th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1996. v.1, pp 1563–70.

França MM, Ferraz-de-Souza B, Santos MG, Lerario AM, Fragoso MC, Latronico AC, Kuick RD, Hammer GD, Lotfi CF. POD-1 binding to the E-box sequence inhibits SF-1 and StAR expression in human adrenocortical tumor cells. *Mol Cell Endocrinol.* 2013; 22;371(1-2):140-7.

Gaudio E, Palamarchuk A, Palumbo T, Trapasso F, Pekarsky Y, Croce CM, Aqeilan RI. Physical association with WWOX suppresses c-Jun transcriptional activity. *Cancer Res.* 2006; Dec 15;66(24):11585-9.

Gazdar AF, Oie HK, Shackleton CH, Chen TR, Triche TJ, Myers CE, Chrousos GP, Brennan MF, Stein CA, La Rocca RV. Establishment and characterization of a human adrenocortical carcinoma cell line that expresses multiple pathways of steroid biosynthesis. *Cancer Res.* 1990; 50(17): 5488–96.

Gicquel C, Bertagna X, Schneid H, Francillard-Leblond M, Luton JP, Girard F, Le Bouc Y. Rearrangements at the 11p15 locus and overexpression of insulin-like growth factor-II gene in sporadic adrenocortical tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994; Jun;78(6):1444-53.

Gicquel C, Bertagna X, Gaston V, Coste J, Louvel A, Baudin E, Bertherat J, Chapuis Y, Duclos JM, Schlumberger M, Plouin PF, Luton JP, Le Bouc Y. Molecular markers and long-term recurrences in a large cohort of patients with sporadic adrenocortical tumors. *Cancer Res.* 2001; 61(18): 6762–7.

Gicquel C, Baudin E, Lebouc Y, Schlumberger M. Adrenocortical carcinoma. *Ann Oncol.* 1997; May;8(5):423-7.

Grumbach MM, Biller BM, Braunstein GD, Campbell KK, Carney JA, Godley PA, Harris EL, Lee JK, Oertel YC, Posner MC, Schlechte JA, Wieand HS. Management of the clinically inapparent adrenal mass (“incidentaloma”). *Ann. Int. Med.* 2003; 138 (5), pp. 424–429.

Hecker M, Newsted JL, Murphy MB, Higley EB, Jones PD, Wu R, Giesy JP. Human adrenocarcinoma (H295R) cells for rapid in vitro determination of effects on steroidogenesis: hormone production. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006; 217(1):114-24.

Hendricks DT, Taylor R, Reed M, Birrer MJ. FHIT gene expression in human ovarian, endometrial, and cervical cancer cell lines. *Cancer Res.* 1997; Jun 1;57(11):2112-5.

Ilisley JL, Sudol M, Winder SJ. The WW domain: linking cell signalling to the membrane cytoskeleton. *Cell Signal*. 2002; 14(3):183-9.

Kaghad M, Bonnet H, Yang A, Creancier L, Biscan JC, Valent A, Minty A, Chalon P, Lelias JM, Dumont X, Ferrara P, McKeon F, Caput D. Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers. *Cell*. 1997; Aug 22;90(4):809-19.

Kloos RT, Gross MD, Francis IR, Korobkin M, Shapiro B. Incidentally discovered adrenal masses. *Endocr Rev*. 1995; 16:460–483.

Kowal J, Fiedler R. Adrenal cells in tissue culture. I. Assay of steroid products; steroidogenic responses to peptide hormones. *Arch. Biochem. Biophys*. 1968; pp. 406–421.

Kuroki T, Trapasso F, Shiraishi T, Alder H, Mimori K, Mori M, Croce CM. Genetic alterations of the tumor suppressor gene WWOX in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res*. 2002; Apr 15;62(8):2258-60.

Kuroki T, Yendamuri S, Trapasso F, Matsuyama A, Aqeilan RI, Alder H, Rattan S, Cesari R, Nolli ML, Williams NN, Mori M, Kanematsu T, Croce CM. The tumor suppressor gene WWOX at FRA16D is involved in pancreatic carcinogenesis. *Clin Cancer Res*. 2004; Apr 1;10(7):2459-65.

Latronico AC, Pinto EM, Domenice S, Fragoso MC, Martin RM, Zerbini MC, Lucon AM, Mendonca BB. An inherited mutation outside the highly conserved DNA-binding domain of the p53 tumor suppressor protein in children and adults with sporadic adrenocortical tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86(10): 4970-3.

Lau SK, Weiss LM. The Weiss system for evaluating adrenocortical neoplasms: 25 years later. *Hum Pathol*. 2009; Jun;40(6):757-68.

Leibovitz A, McCombs WM 3rd, Johnston D, McCoy CE, Stinson JC. New human cancer cell culture lines. I. SW-13, small-cell carcinoma of the adrenal cortex. *J Natl Cancer Inst*. 1973; Aug; 51(2): 691-7.

Lerario AM, Moraitis A, Hammer GD. Genetics and epigenetics of adrenocortical tumors. *Mol Cell Endocrinol*. 2014; Apr 5;386(1-2):67-84.

Li J, Liu J, Ren Y, Yang J, Liu P. Common Chromosomal Fragile Site Gene WWOX in Metabolic Disorders and Tumors. *Int J Biol Sci*. 2014; 10(2):142-8.

Libè R, Fratticci A, Bertherat J. Adrenocortical cancer: pathophysiology and clinical management. *Endocr Relat Cancer*. 2007; 14(1):13-28.

Macfarlane DA. Cancer of the adrenal cortex; the natural history, prognosis and treatment in a study of fifty-five cases. *Ann R Coll Surg Engl*. 1958; Sep;23(3):155-86.

Melino G, De Laurenzi V, Vousden KH. p73: Friend or foe in tumorigenesis. *Nat Rev Cancer*. 2002; 2(8):605-1.

Mermejo L, Leal L, Colli L, Fragoso M, Latronico A, Tone L, Scrideli C, Tucci S, Martinelli C, Yunes J, Mastellaro M, Seidinger A, Brandalise S, Moreira A, Ramalho L, Antonini S, Castro M. Altered expression of noncanonical wnt pathway genes in paediatric and adult adrenocortical tumours. *Clin Endocrinol*. 2014.

Miller WL. Molecular biology of steroid hormone synthesis. *Endocr Rev*. 1988; 9(3):295-318.

Moll UM, Slade N. p63 and p73: roles in development and tumor formation. *Mol Cancer Res*. 2004; Jul;2(7):371-86.

Nakagawa Y, Akao Y. Fhit protein inhibits cell growth by attenuating the signaling mediated by nuclear factor-kappaB in colon cancer cell lines. *Exp Cell Res*. 2006; 312(13):2433-42.

Nesterova M, Bossis I, Wen F, Horvath A, Matyakhina L, Stratakis CA., An Immortalized Human Cell Line Bearing a PRKAR1A-Inactivating Mutation: Effects of Overexpression of the Wild-Type Allele and Other Protein Kinase A Subunits. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93(2): 565–71.

Orth DN, Kovacs WJ. The adrenal cortex. J.D Wilson, D.W Foster, H.M Kronenberg, P.R Larsen (Eds.), *Williams Textbook of Endocrinology* (9th ed.), W.B. Saunders, Philadelphia, 1998; pp. 517–664.

Oswald C, Stiewe T. In good times and bad: p73 in cancer. *Cell Cycle*. 2008; Jun 15;7(12):1726-31.

Paige AJ, Taylor KJ, Taylor C, Hillier SG, Farrington S, Scott D, Porteous DJ, Smyth JF, Gabra H, Watson JE. WWOX: a candidate tumor suppressor gene involved in multiple tumor types. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(20):11417-22.

Parker KL, Chaplin DD, Wong M, Seidman JG, Smith JA, Schimmer BP. Expression of murine 21-hydroxylase in mouse adrenal glands and in transfected Y1 adrenocortical tumor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985; 82(23):7860-4.

Parker KL, Schimmer BP. Steroidogenic factor 1: A key determinant of endocrine development and function. *Endocr Rev*. 1997; 18: 361-77.

Parmar J, Key RE, Rainey WE. Development of an adrenocorticotropin-responsive human adrenocortical carcinoma cell line. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93(11):4542-6.

Pekarsky Y, Garrison PN, Palamarchuk A, Zanesi N, Aqeilan RI, Huebner K, Barnes LD, Croce CM. Fhit is a physiological target of the protein kinase Src. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101(11):3775-9.

Pianovski MA, Maluf EM, de Carvalho DS, Ribeiro RC, Rodriguez-Galindo C, Boffetta P, Zancanella P, Figueiredo BC. Mortality rate of adrenocortical tumors in children under 15 years of age in Curitiba, Brazil. *Pediatr Blood Cancer*. 2006; 47(1):56-60.

Pierson RWJ. Metabolism of steroid hormones in adrenal cortex tumor cultures. *Endocrinology*, 1967; pp. 693–707.

Ragazzon B., Assié G., Bertherat J. Transcriptome analysis of adrenocortical cancers: from molecular classification to the identification of new treatments. *Endocr Relat Cancer*. 2011; 18(2): R15-27.

Rainey WE, Bird IM, Mason JI. The NCI-H295 cell line: a pluripotent model for human adrenocortical studies. *Mol Cell Endocrinol*. 1994; Apr;100(1-2):45-50.

Rainey WE, Saner K, Schimmer BP. Adrenocortical cell lines. *Mol Cell Endocrinol*. 2004; 228(1-2): 23–38.

Reincke M, Mora P, Beuschlein F, Arlt W, Chrousos GP, Allolio B. Deletion of the adrenocorticotropin receptor gene in human adrenocortical tumors: implications for tumorigenesis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; Sep;82(9):3054-8.

Ribeiro RC, Sandrini F, Figueiredo B, Zambetti GP, Michalkiewicz E, Lafferty AR, DeLacerda L, Rabin M, Cadwell C, Sampaio G, Cat I, Stratakis CA, Sandrini R. An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2001; 98(16): 9330-5.

Ross NS, Aron DC. Hormonal evaluation of the patient with an incidentally discovered adrenal mass. *N Engl J Med*. 1990; 323(20):1401-5.

Roz L, Gramegna M, Ishii H, Croce CM, Sozzi G. Restoration of fragile histidine triad (FHIT) expression induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in lung and cervical cancer cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99(6):3615-20.

Saldivar JC, Shibata H, Huebner K. Pathology and biology associated with the fragile FHIT gene and gene product. *J Cell Biochem*. 2010; Apr;109(5):858-6.

Sandrini R, Ribeiro RC, DeLacerda L. Childhood adrenocortical tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82(7): 2027-31.

Sard L, Accornero P, Torielli S, Delia D, Bunone G, Campiglio M, Colombo MP, Gramegna M, Croce CM, Pierotti MA, Sozzi G. The tumor-suppressor gene FHIT is involved in the regulation of apoptosis and in cell cycle control. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999; 96(15):8489-92.

Schteingart DE. Conventional and novel strategies in the treatment of adrenocortical cancer. *Braz J Med Biol Res.* 2000; Oct;33(10):1197-200.

Schteingart DE, Giordano TJ, Benitez RS, Burdick MD, Starkman MN, Arenberg DA, Strieter RM. Overexpression of CXC chemokines by an adrenocortical carcinoma: a novel clinical syndrome. *J Clin Endocrinol Metabolism.* 2001; 86(8): 3968–74.

Sidhu S, Marsh DJ, Theodosopoulos G, Philips J, Bambach CP, Campbell P, Magarey CJ, Russell CF, Schulte KM, Röher HD, Delbridge L, Robinson BG. Comparative genomic hybridization analysis of adrenocortical tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; Jul;87(7):3467-74.

Sidhu S, Gicquel C, Bambach CP, Campbell P, Magarey C, Robinson BG, Delbridge LW. Clinical and molecular aspects of adrenocortical tumorigenesis. *ANZ J Surg.* 2003; Sep;73(9):727-38.

Semba S, Trapasso F, Fabbri M, McCorkell KA, Volinia S, Druck T, Iliopoulos D, Pekarsky Y, Ishii H, Garrison PN, Barnes LD, Croce CM, Huebner K. Fhit modulation of the Akt-survivin pathway in lung cancer cells: Fhit-tyrosine 114 (Y114) is essential. *Oncogene.* 2006; May 11;25(20):2860-72

Simpson ER, Waterman MR. Regulation of the synthesis of steroidogenic enzymes in adrenal cortical cells by ACTH. *Annu Rev Physiol.* 1988; 50:427-40.

Slater EP, Diehl SM, Langer P, Samans B, Ramaswamy A, Zielke A, Bartsch DK. Analysis by cDNA microarrays of gene expression patterns of human adrenocortical tumors. *Eur J Endocrinol.* 2006; 154(4): 587–98.

Soon PS, McDonald KL, Robinson BG, Sidhu SB. Molecular markers and the pathogenesis of adrenocortical cancer. *Oncologist.* 2008; 13(5): 548-61.

Sozzi G, Tornielli S, Tagliabue E, Sard L, Pezzella F, Pastorino U, Minoletti F, Pilotti S, Ratcliffe C, Veronese ML, Goldstraw P, Huebner K, Croce CM, Pierotti MA. Absence of Fhit protein in primary lung tumors and cell lines with FHIT gene abnormalities. *Cancer Res.* 1997; Dec 1;57(23):5207-12.

Staels B, Hum DW, Miller WL. Regulation of steroidogenesis in NCI-H295 cells: a cellular model of the human fetal adrenal. *Mol Endocrinol.* 1993; 7(3):423-33.

Stocco DM, Wang X, Jo Y, Manna PR. Multiple signaling pathways regulating steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein expression: more complicated than we thought. *Mol Endocrinol.* 2005; Nov;19(11):2647-59.

Sullivan M, Boileau M, Hodges CV. Adrenal cortical carcinoma. *J Urol.* 1978; 120(6):660-5.

Tissier F, Cavard C, Groussin L, Perlemoine K, Fumey G, Hagneré AM, René-Corail F, Jullian E, Gicquel C, Bertagna X, Vacher-Lavenu MC, Perret C, Bertherat

J. Mutations of beta-catenin in adrenocortical tumors: activation of the Wnt signaling pathway is a frequent event in both benign and malignant adrenocortical tumors. *Cancer Res.* 2005; Sep 1;65(17):7622-7.

Ueno M, Nakashima J, Akita M, Ban SI, Nakanoma T, Iida M, Deguchi N. Characterization of a newly established cell line derived from human adrenocortical carcinoma. *Int J Urol.* 2001; 8(1):17-22.

Virgilio L, Shuster M, Gollin SM, Veronese ML, Ohta M, Huebner K, Croce CM. FHIT gene alterations in head and neck squamous cell carcinomas. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996; Sep 3;93(18):9770-5.

Vogt PK. Jun, the oncoprotein. *Oncogene.* 2001; 20(19):2365-77.

Wang T, Rainey WE. Human adrenocortical carcinoma cell lines. *Mol Cell Endocrinol.* 2012; 351(1):58-65.

Weiske J, Albring KF, Huber O. The tumor suppressor Fhit acts as a repressor of beta-catenin transcriptional activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007; 104(51):20344-9.

Weiss LM. Comparative histologic study of 43 metastasizing and nonmetastasizing adrenocortical tumors. *Am J Surg Pathol.* 1984; 8:163–169.

Weiss LM, Medeiros LJ, Vickery AL Jr., Pathologic features of prognostic significance in adrenocortical carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1989; 13(3):202-6.

Xing Y, Parker CR, Edwards M, Rainey WE. ACTH is a potent regulator of gene expression in human adrenal cells. *J Mol Endocrinol.* 2010; 45(1):59-68.

Yakicier MC, Legoix P, Vaury C, Gressin L, Tubacher E, Capron F, Bayer J, Degott C, Balabaud C, Zucman-Rossi J. Identification of homozygous deletions at chromosome 16q23 in aflatoxin B1 exposed hepatocellular carcinoma. *Oncogene.* 2001; 20(37):5232-8.

Yang JY, Yang MQ, Luo Z, Ma Y, Li J, Deng Y, Huang X. A hybrid machine learning-based method for classifying the Cushing's Syndrome with comorbid adrenocortical lesions. *BMC Genomics.* 2008; 2008;9.

Yasumura Y, Buonassisi V, Sato G. Clonal analysis of differentiated function in animal cell cultures. I. Possible correlated maintenance of differentiated function and the diploid karyotype. *Cancer Res.* 1966; 26(3): 529-35.

Yendamuri S, Kuroki T, Trapasso F, Henry AC, Dumon KR, Huebner K, Williams NN, Kaiser LR, Croce CM. WW domain containing oxidoreductase gene expression is altered in non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 2003; Feb 15;63(4):878-81.



Zini L, Porpiglia F, Fassnacht M. Contemporary Management of Adrenocortical Carcinoma. *Europe Anurology*. 2011; 60(5): 1055–65.