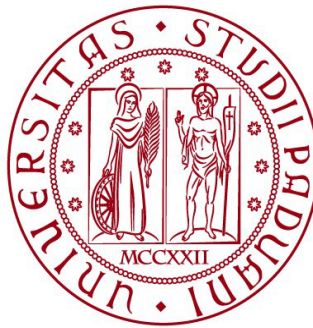


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biologia



ELABORATO DI LAUREA

**Annotazione funzionale dei lncRNA nei tre
sottotipi molecolari dei tumori ipofisari
neuroendocrini GH secernenti**

Tutor: Prof. Gianluca Occhi

Dipartimento di Biologia

Laureanda: Aurora Danese

ANNO ACCADEMICO 2025/2026

INDICE

Sommario

1. ABSTRACT	3
2. INTRODUZIONE	4
2.1 L'ipofisi e il controllo endocrino dell'ormone della crescita	4
2.2 L'acromegalia.....	4
2.3 Caratteristiche dei tumori GH-PitNETs	5
2.4 Caratterizzazione dei sottogruppi molecolari dei GH-PitNETs	5
2.5 Caratteristiche e funzione dei lncRNA, uso come marcatori molecolari	6
3. OBIETTIVO DEL LAVORO	7
4. METODI	8
5. RISULTATI	10
5.1 Sottogruppo "par-OGTT"	10
LINC00052	10
ST8SIA6-AS1	11
5.2 Sottogruppo "invasive"	12
CCND2-AS1	12
MSC-AS1	13
MIR181A2HG	14
5.3 Sottogruppo "gsp+"	15
PURPL.....	15
PYDC2-AS1	16
EPIC1	17
6. CONCLUSIONI	19
7. BIBLIOGRAFIA	21

1. ABSTRACT

Il presente lavoro di tesi si focalizza sullo studio dei long non-coding RNA (lncRNA) come elementi chiave nella caratterizzazione della diversità tumorale in tumori ipofisari neuroendocrini GH-secernenti. I tumori ipofisari neuroendocrini GH-secernenti rappresentano la principale causa di acromegalia, una rara patologia endocrina caratterizzata da un'eccessiva secrezione di ormone della crescita (GH) e dal conseguente aumento dei livelli di IGF-1. Se non adeguatamente trattata, l'acromegalia è associata a un aumento della morbidità e della mortalità, con un significativo impatto sulla qualità di vita dei pazienti. Sebbene siano stati recentemente identificati tre sottogruppi trascrittomici di questi tumori ("Invasive", "gsp+" e "par-OGTT"), il ruolo degli RNA non codificanti nella loro caratterizzazione molecolare resta ad oggi scarsamente indagato. A partire da una serie di lncRNA differenzialmente espressi nei tre sottogruppi, è stato effettuato un approfondimento delle loro caratteristiche molecolari e del loro potenziale ruolo come ulteriori elementi distintivi tra i sottotipi tumorali. Per ciascun sottogruppo è stata effettuata una selezione mirata tra i candidati rilasciati per via esosomiale, per un totale di 8 lncRNA analizzati in dettaglio. Per ciascun trascritto d'interesse è stata condotta una ricerca bibliografica (tramite PubMed) volta a definirne il ruolo funzionale e il coinvolgimento in pathway oncogeni (es. proliferazione, EMT), parallelamente alla consultazione di banche dati genomiche (GeneCards, UCSC Genome Browser, LNCipedia, NONCODE). L'analisi condotta suggerisce che l'espressione differenziale dei lncRNA esosomiali possa contribuire alla caratterizzazione molecolare dei sottogruppi di GH-PitNET, aprendo prospettive per futuri studi sul loro potenziale come marcatori molecolari circolanti nell'ambito della medicina personalizzata.

2. INTRODUZIONE

2.1 L'ipofisi e il controllo endocrino dell'ormone della crescita

L'ipofisi è una ghiandola endocrina responsabile della sintesi di ormoni peptidici che regolano il metabolismo, la crescita e la riproduzione. Si compone di due strutture principali: adenoipofisi o lobo anteriore e neuroipofisi o lobo posteriore. Nell'adenoipofisi sono presenti 5 differenti popolazioni cellulari, ognuna deputata ad una precisa funzione e secrezione ormonale, tra queste le cellule somatotrope sono responsabili della secrezione di GH. Il controllo sulla secrezione dell'ormone è esercitato dall'ipotalamo tramite l'azione stimolante dell'ormone di rilascio della somatotropina (GHRH) e l'azione inibitoria della somatostatina (SST). Una volta rilasciato in circolo l'azione dell'ormone GH è mediata dall'interazione con recettori dimerici di membrana; l'occupazione da parte del ligando ne determina un riarrangiamento conformazionale, innescando una cascata trasduzionale che porta alla sintesi e alla secrezione di IGF-1 (Fattore di crescita insulino-simile 1) principalmente a livello epatico [1]. L'IGF-1 agisce come principale mediatore sistemico dell'azione del GH e regola la secrezione di quest'ultimo attraverso un meccanismo di feedback negativo a livello ipotalamico e ipofisario.

2.2 L'acromegalia

L'acromegalia è una patologia endocrina causata dall'esposizione prolungata dell'organismo ad livelli elevati di GH e IGF1. La prevalenza è di circa 60 casi per milione individui e ha un'incidenza annua di circa 3-4 casi su un milione di individui [10]. Nel 95% dei pazienti questa patologia è riconducibile alla presenza di un tumore ipofisario neuroendocrino secernente ormone della crescita (GH-PitNETs). Nei pazienti affetti da acromegalia, l'ipersecrezione cronica di GH determina un innalzamento costitutivo dei livelli di IGF-1, che promuove la proliferazione cellulare e inibisce l'apoptosi. L'elevata secrezione di IGF-1 è responsabile, inoltre, della maggior parte delle manifestazioni cliniche della patologia, tra cui ipertrofia degli arti, cambiamento dei tratti del viso, ispessimento cutaneo, alterazioni del metabolismo e insufficienza respiratoria e cardiaca. La diagnosi di acromegalia è solitamente basata sull'osservazione dei sintomi clinici, come le tipiche alterazioni dei tratti somatici. Dal punto di vista biochimico è possibile diagnosticare la patologia grazie al test da carico orale di glucosio (OGTT), in condizioni fisiologiche infatti l'iperglicemia sopprime la secrezione di GH; tuttavia nei pazienti affetti da GH-PitNETs si riscontra una mancata soppressione o, in alcuni casi, un inaspettato incremento della concentrazione sierica dell'ormone. Nell'OGTT in seguito alla somministrazione di 75 g di glucosio i livelli di GH vengono misurati in intervalli di 30 minuti per 2 ore. La diagnosi di acromegalia viene confermata se i livelli dell'ormone non scendono al di sotto del valore soglia di 1,0 µg/L. [2] Ad oggi, la terapia farmacologica di prima linea per contenere la secrezione di GH si basa

sull'impiego degli analoghi della somatostatina (SRL, somatostatin receptor ligands) come lanreotide, octreotide e pasireotide. Tuttavia tali molecole si dimostrano inefficaci in circa la metà dei pazienti e la rimozione del tumore tramite chirurgia transfenoidale continua a rappresentare il trattamento d'elezione per l'acromegalia [11, 12].

2.3 Caratteristiche dei tumori GH-PitNETs

I GH-PitNETs sono tumori prevalentemente benigni della ghiandola ipofisaria, che originano dalle cellule somatotrope situate nel lobo anteriore (adenipofisi). I GH-PitNETs sono sporadici nel 95% dei casi e solo una piccola porzione deriva da forme familiari. A livello molecolare tra il 30% e il 40% di questi presenta una mutazione somatica a carico del gene *GNAS1*, che codifica la subunità alfa della proteina G stimolatoria (gsp), mentre nei restanti casi altri geni responsabili non sono ancora stati completamente identificati. La mutazione in *GNAS1* determina l'attivazione costitutiva della subunità alfa della proteina G stimolatoria ($G\alpha$) che mantiene attiva l'adenilato ciclasi, con conseguente aumento cronico di cAMP intracellulare; questo porta a una maggiore attivazione della via CREB e a un conseguente aumento della trascrizione di pit-1 che risulta in una maggiore secrezione di GH [3]. Nel loro complesso questi tumori mostrano un'ampia eterogeneità biologica e clinica. Tale variabilità si manifesta nella possibile co-secrezione accessoria di altri ormoni (la secrezione di somatotropina è occasionalmente associata a quella di prolattina o di tireotropina), per il livello di invasività e per la risposta ai trattamenti farmacologici. Tale eterogeneità si riflette in differenze istologiche e molecolari caratteristiche tra le diverse varianti tumorali, al punto che l'acromegalia è stata proposta non come una patologia unica, ma come uno spettro di tumori distinti [4].

2.4 Caratterizzazione dei sottogruppi molecolari dei GH-PitNETs

A causa della parziale conoscenza dei meccanismi molecolari alla base degli adenomi ipofisari e della spiccata eterogeneità clinica che caratterizza i GH-PitNETs, la ricerca si è concentrata sulla definizione del loro profilo molecolare: diversi studi condotti mediante analisi trascrittomiche, proteomiche, genomiche ed epigenomiche hanno consentito di delineare almeno tre macrogruppi tumorali [5, 13, 14, 15, 16, 17, 18]. In questi studi l'eterogeneità clinica dei GH-PitNETs viene associata a caratteristiche molecolari peculiari come differenze nei pathway di segnalazione attivati, nel profilo dei geni differenzialmente espressi e nelle alterazioni genetiche ricorrenti. Il primo tra i sottogruppi identificati raccoglie circa il 20% dei pazienti, è caratterizzato da tumori wild-type per la mutazione in *GNAS1*, più differenziati e caratterizzati dalla co-espressione di *GIPR* (Glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor) e *NR5A1*, include tumori principalmente densamente granulati, più piccoli e meno invasivi. Il secondo sottogruppo è il più frequente (circa il 46% dei casi) e comprende

prevalentemente tumori densamente granulati portatori di mutazioni attivanti del gene *GNAS1*. Questi tumori presentano dimensioni ridotte e un profilo di espressione associato a una prognosi favorevole. Il terzo sottogruppo, che interessa circa il 35% dei pazienti, è costituito principalmente da tumori scarsamente granulati, con alcuni casi di mutazioni in *GNAS1* e un profilo trascrizionale sfavorevole (poco differenziati, e con pathway pro-proliferativi); questi tumori mostrano un tasso di crescita invasiva significativamente superiore rispetto agli altri due sottogruppi [5, 17, 18]. Questa stratificazione potrebbe avere implicazioni non solo molecolari, ma anche cliniche; le differenze biologiche tra i sottogruppi, infatti, aprono la strada a un possibile sviluppo di strategie terapeutiche più mirate e specifiche per ciascun gruppo. Oltre alle caratteristiche molecolari precedentemente descritte, ulteriori aspetti potrebbero contribuire a distinguere i diversi sottotipi tumorali. Tra questi rientrano gli RNA non codificanti, il cui ruolo resta ad oggi scarsamente indagato nei tumori ipofisari in generale e nei GH-PitNET in particolare. La disponibilità di un sistema di classificazione applicabile in fase pre-operatoria permetterebbe quindi di orientare la scelta della strategia terapeutica fin dalle prime fasi, con potenziali benefici per i pazienti [5, 6, 18].

2.5 Caratteristiche e funzione dei lncRNA, uso come marcatori molecolari

I long non-coding RNA (lncRNA) sono molecole di RNA non codificante dalla lunghezza superiore a 200 nucleotidi che, pur non codificando per proteine, svolgono un ruolo fondamentale nei processi di regolazione dell'espressione genica [69]. La classificazione dei lncRNA nei diversi sottogruppi dipende dal loro locus di origine rispetto ai geni codificanti. Nello specifico, si distinguono gli intergenic lncRNA (lincRNA), localizzati nelle regioni intergeniche tra due geni codificanti proteine; gli intronic lncRNA, nelle regioni introniche di un gene codificante; gli antisense lncRNA (aslncRNA), trascritti dal filamento complementare a quello del gene codificante; i bidirectional lncRNA, che originano dalla trascrizione bidirezionale in corrispondenza dei promotori dei geni codificanti; e infine gli enhancer RNA (eRNA), provenienti da regioni enhancer, la cui funzione è mediare il posizionamento dei fattori di trascrizione sui promotori dei geni bersaglio. Negli ultimi tempi gli lncRNA hanno acquisito progressivamente maggiore importanza grazie alla scoperta della loro capacità di interagire con numerose macromolecole come acidi nucleici e proteine; tali interazioni sono mediate dalla capacità di questi trascritti di assumere strutture secondarie e terziarie. In particolare, i lncRNA interagiscono strettamente con i microRNA (miRNA), un'altra classe di RNA non codificanti coinvolta nella regolazione genica post-trascrizionale. Uno dei principali meccanismi proposti per questa interazione è quello dello sponge molecolare, descritto nel contesto del modello dei competing endogenous RNA (ceRNA), secondo cui i lncRNA possono presentare siti di legame complementari ai miRNA, sequestrandoli e

riducendone così la disponibilità per il legame con gli mRNA bersaglio. Oltre a questa funzione, alcuni lncRNA possono fungere da precursori di specifici miRNA, mentre in altri casi, sono gli stessi miRNA a modulare la stabilità o l'espressione dei lncRNA, evidenziando l'esistenza di un sistema di regolazione reciproca tra queste due classi di trascritti [7]. Un'altra caratteristica fondamentale degli lncRNA è un pattern di espressione altamente specifico, variabile in funzione del tipo cellulare, del tessuto e dello stadio di sviluppo. Questa specificità è maggiore rispetto a quella tipicamente osservata per i geni codificanti proteine e qualifica i lncRNA come promettenti biomarcatori diagnostici, in quanto la loro alterazione potrebbe riflettere in maniera precisa e attendibile le condizioni patologiche di uno specifico tessuto. In aggiunta è stata osservata la presenza di lncRNA veicolati da vescicole extracellulari in fluidi corporei (come sangue e urine) in diversi tipi di cancro, aspetto che evidenzia ulteriormente il potenziale diagnostico e prognostico di questi trascritti. La combinazione di questi due aspetti, specificità e presenza negli esosomi, rende gli lncRNA candidati ideali per un'applicazione clinica, tanto come biomarcatori quanto come target terapeutici. Un valido esempio si riscontra nel caso del carcinoma prostatico, dove alcuni lncRNA (PCA3, MALAT1) sono già stati studiati come potenziali marcatori molecolari; un altro è rappresentato dal melanoma, in cui il lncRNA SAMMSON svolge un ruolo determinante nello sviluppo della malattia [8].

3. OBIETTIVO DEL LAVORO

Ad oggi, la caratterizzazione molecolare dei GH-PitNET si basa prevalentemente su alterazioni genetiche e trascrittomiche a carico di geni codificanti proteine, mentre il ruolo degli RNA non codificanti nella definizione dei tre sottogruppi tumorali resta in gran parte inesplorato. Per questo motivo si rende necessario approfondire ulteriormente il profilo molecolare di questi tumori, valutando se l'espressione differenziale dei lncRNA possa rappresentare un ulteriore elemento distintivo tra i sottogruppi trascrittomici descritti in precedenza. Alla luce delle proprietà di specificità tissutale e di presenza in circolo descritte per i lncRNA esosomiali, l'obiettivo di questo lavoro è pertanto valutare, attraverso l'analisi dei dati relativi all'espressione differenziale di lncRNA in pazienti affetti da GH-PitNETs e la successiva revisione della letteratura disponibile, il potenziale di tali trascritti come ulteriori marcatori molecolari caratterizzanti i sottogruppi tumorali, con possibili future applicazioni in ambito diagnostico.

4. METODI

Il presente lavoro si inserisce in un progetto di ricerca preesistente; il gruppo di laboratorio ha analizzato un dataset di RNA-seq relativo a campioni tumorali provenienti da pazienti affetti da GH-PitNETs, filtrando 18.758 lncRNA fino a un sottoinsieme di 301 trascritti maggiormente espressi e variabili tra i campioni. Su questi, analisi di clustering non supervisionato (PCA, UMAP, dendrogramma) hanno confermato la suddivisione dei tumori in tre sottogruppi, sovrapponibile a quella ottenuta da Rymuza et al. (2022). Attraverso confronti a coppie tra i gruppi sono stati identificati i lncRNA differenzialmente espressi in ciascun sottogruppo (77 in par-OGTT, 104 in invasive e 68 in gsp+). A partire da queste liste di lncRNA caratteristici di ciascun sottotipo tumorale, il mio contributo personale è consistito nella ricerca di dati sul singolo trascritto e di letteratura che ne studiasse le funzioni in pathway oncogeniche al fine di delinearne il potenziale ruolo anche nei tumori ipofisari. Per ciascun lncRNA è stata condotta una serie standardizzata di ricerche. In primo luogo, è stata verificata su GeneCards l'eventuale presenza di nomi alternativi (alias) con cui il trascritto è indicato in letteratura; qualora presenti, le successive ricerche sono state ripetute anche per ciascun alias identificato. È stata quindi verificata, tramite il database NONCODE, l'eventuale presenza del lncRNA in vescicole extracellulari (esosomi), requisito necessario per la sua rilevabilità in un contesto di biopsia liquida. Parallelamente, è stata condotta una ricerca su PubMed e Google Scholar per individuare studi che avessero già caratterizzato il ruolo del trascritto in ambito oncologico, con particolare attenzione a funzioni quali la promozione o l'inibizione della transizione epitelio-mesenchimale (EMT), della proliferazione cellulare, della migrazione e della chemioresistenza, nonché a eventuali correlazioni, positive o negative, con la prognosi, e a un'eventuale attività oncoprotettiva. Infine, tramite Genome Browser (assemblaggio di riferimento hg38), è stata analizzata la localizzazione genomica di ciascun lncRNA, individuando i geni adiacenti o in configurazione antisense e le rispettive funzioni note, per valutare una possibile influenza regolatoria locale. I lncRNA localizzati in regioni telomeriche sono stati esclusi dall'analisi. Applicando questi criteri il pool iniziale di 249 lncRNA è stato progressivamente ridotto. Un primo filtro, basato sulla presenza in esosomi, ha selezionato circa 80 trascritti. Da questi sono stati mantenuti solo i lncRNA per cui erano disponibili pubblicazioni che ne documentassero un ruolo in ambito oncologico. Il pool è stato ulteriormente ristretto privilegiando i trascritti con funzioni biologiche più rilevanti (non limitate alla semplice segnalazione di up- o down-regolazione) o supportati da un maggior numero di pubblicazioni, riducendo la selezione a circa una decina di candidati. La scelta finale è stata condotta identificando, tra questi, i lncRNA più interessanti dal punto di vista funzionale e allo stesso tempo differenzialmente espressi in modo specifico nei tre sottogruppi. Le informazioni ottenute nel corso della ricerca sono state organizzate sotto forma di tabella ogni colonna della quale era dedicata a una delle

seguenti caratteristiche: Ensemble ID, Gene Name, presenza in esosomi e tipologia degli stessi, funzione osservata in ambito oncologico, coordinate genomiche, eventuali alias e note sulla presenza di geni nelle regioni adiacenti, considerazioni generali.

5. RISULTATI

5.1 Sottogruppo "par-OGTT"

Nel sottogruppo "par-OGTT" sono stati identificati 77 lncRNA upregolati rispetto agli altri sottogruppi, prevalentemente associati a pathway di proliferazione cellulare, di 20 di questi è stata osservata la presenza in esosomi tramite il database NONCODE e sono stati presi in considerazione per analisi più accurata, tra essi 2 trascritti sono emersi come particolarmente rilevanti nel contesto tumorale:

LINC00052 (ENSG00000259527, alias TMEM83 e FLJ31461)

LINC00052 rappresenta uno dei lncRNA più studiati tra i candidati individuati, con un numero considerevole di studi pubblicati che ne descrivono il ruolo in diverse neoplasie umane. Il trascritto ha una lunghezza di 1,786 paia di basi e secondo i dati riportati dal database NONCODE mostra differenti livelli di espressione a seconda del contesto e dei tipi cellulari: viene infatti rilevato negli esosomi derivati da adenomi ipofisari non funzionanti (NFPAs) sia invasivi che non invasivi, così come in pazienti affetti da tubercolosi, mentre presenta livelli di espressione più bassi nelle cellule di epatocarcinoma (HepG2) e un'elevata presenza nelle cellule di carcinoma epidermoide (A431). Il quadro che emerge dalla letteratura è complesso, in quanto LINC00052 mostra un comportamento marcatamente tessuto-specifico, agendo da oncogene in alcuni contesti tumorali e da oncosoppressore in altri [19]. Nel carcinoma epatocellulare, LINC00052 svolge funzione oncosoppressiva, come dimostrato da tre studi indipendenti che ne hanno caratterizzato altrettanti assi molecolari. Nello studio Xiong et al. (2016) LINC00052 inibisce invasione e migrazione delle cellule tumorali agendo da sponge per miR-128 e miR-485-3p, con conseguente upregolazione del gene bersaglio *NTRK3* (neurotrophic receptor tyrosine kinase 3) [20]. Zhu et al. (2017) hanno successivamente identificato un secondo asse: LINC00052 sequestra miR-452-5p promuovendo l'espressione di *EPB41L3* (Erythrocyte membrane protein band 4.1-like 3), anch'esso associato all'inibizione delle capacità migratorie e invasive [21]. Infine, Yan et al. (2018) hanno descritto un meccanismo in cui LINC00052 promuove l'espressione di miR-101-3p interagendo con il suo promotore, che a sua volta silenzia l'oncogene *SOX9*, sopprimendo così la proliferazione e la metastasi delle cellule tumorali [22]. Un comportamento opposto, di tipo oncogenico, è stato invece osservato nel carcinoma mammario, dove LINC00052 promuove la proliferazione cellulare tramite l'aumento della trasduzione del segnale mediata da HER3/ErbB3 [23]. Anche nel glioma l'overespressione di LINC00052 inibisce proliferazione, migrazione e invasione [24]; e nel carcinoma pancreatico agisce da oncosoppressore modulando negativamente miR-330-3p [25]. In aggiunta LINC00052 è sovraespresso nel tumore al seno e ne promuove la proliferazione, migrazione e invasione cellulare.

A livello molecolare, LINC00052 favorisce la progressione tumorale agendo come "spugna" verso microRNA regolatori: da un lato sequestra miR-145-5p determinando l'up-regolazione di *TGFBR2*, e dall'altro regola l'asse miR-548p / Notch2 / Pyk2, promuovendo la proliferazione, migrazione e invasione cellulare [26, 27]. Complessivamente, la letteratura disponibile indica che LINC00052 agisce prevalentemente attraverso il meccanismo di ceRNA/sponge per miRNA, ma con target molecolari e funzione (oncogenica o oncosoppressiva) variabili in funzione del contesto tissutale.

ST8SIA6-AS1 (ENSG00000204832, alias APAL)

ST8SIA6-AS1 (alias APAL, Aurora A/Polo-like-kinase 1-Associated LncRNA), localizzato sul cromosoma 10p12.33 e trascritto antisenso del gene *ST8SIA6*, è emerso come lncRNA oncogenico coinvolto in numerose neoplasie umane: a differenza di LINC00052, che mostra comportamenti tessuto-specifici opposti, ST8SIA6-AS1 agisce in modo prevalentemente oncogenico nei tumori in cui è stato caratterizzato, con una sola eccezione. Secondo i dati riportati dal database NONCODE mostra livelli di espressione vari a seconda dei tipi cellulari: viene rilevato negli esosomi derivati da adenomi ipofisari non funzionanti (NFPAs) sia invasivi che non invasivi, così come in pazienti affetti da tubercolosi, mentre presenta livelli di espressione più bassi nelle cellule di epatocarcinoma (HepG2). In quest'ultimo tipo di tumore Feng et al. (2023) hanno dimostrato che ST8SIA6-AS1 favorisce la crescita cellulare e sopprime l'apoptosi legando e sequestrando miR-142-3p, questo determina l'upregolazione di *HMGAI*, un oncogene che regola il ciclo cellulare e la progressione metastatica [28]. Un secondo studio ha identificato un ulteriore asse regolatorio, in cui ST8SIA6-AS1 sequestra miR-4656 promuovendo l'espressione di HDAC11, un enzima istoni deacetilasi coinvolto nella progressione tumorale, favorendo così la proliferazione e la resistenza all'apoptosi delle cellule di epatocarcinoma [29]. Anche nel carcinoma polmonare ST8SIA6-AS1 risulta frequentemente sovraespresso, correlando con dimensione tumorale maggiore, metastasi ai linfonodi e stadio più avanzato. La trascrizione del lncRNA è normalmente repressa dall'oncosoppressore p53, è dunque possibile che l'upregolazione di ST8SIA6-AS1 in questo tipo di cancro sia dovuta all'inattivazione di p53. Il meccanismo d'azione di ST8SIA6-AS1 consiste nel sequestro di miR-125a-3p, incrementando l'espressione di *NNMT* (nicotinamide N-metiltransferasi) e favorendo la progressione tumorale [30]. Un ruolo oncogenico è stato descritto anche nel colangiocarcinoma e nel carcinoma coloretale [32, 33]. L'unica eccezione a questo pattern oncogenico è stata osservata nel carcinoma mammario, dove ST8SIA6-AS1 (indicato in questo studio con l'alias STAR1) agisce invece da oncosoppressore: la sua sovraespressione sopprime la capacità migratoria delle cellule tumorali e ne induce l'apoptosi [31]. Un ulteriore livello funzionale, indipendente dal meccanismo ceRNA precedentemente osservato, riguarda l'interazione diretta tra ST8SIA6-AS1 e le chinasi Aurora A e PLK1 (Polo-like-kinase 1) che regolano la

divisione cellulare: il lncRNA infatti promuove la fosforilazione di PLK1 mediata da Aurora A, favorendo la sopravvivenza e la proliferazione tumorale; in aggiunta la sua inibizione aumenta l'apoptosi cellulare e sopprime la crescita tumorale nei carcinomi mammario, pancreatico e polmonare, suggerendo un potenziale ruolo come target terapeutico oltre che come biomarcatore [34]. Infine Li et al. (2022) ha indagato direttamente il ruolo di ST8SIA6-AS1 nell'adenoma ipofisario. Lo studio ha mostrato che ST8SIA6-AS1 e il fattore di trascrizione HOXA9 risultano maggiormente espressi negli adenomi ipofisari invasivi rispetto ai non invasivi, e che il silenziamento del lncRNA inibisce proliferazione, invasione, migrazione e angiogenesi del tumore. Il meccanismo proposto prevede che ST8SIA6-AS1 sequestri miR-5195-3p, il cui gene bersaglio è *HOXA9*, regolando così la transizione epitelio-mesenchimale (EMT) nell'adenoma ipofisario [35]. Complessivamente, il quadro che emerge da questi studi indica che ST8SIA6-AS1 agisce prevalentemente da lncRNA oncogenico attraverso un meccanismo di tipo ceRNA in diversi contesti tumorali, tra cui gli adenomi ipofisari, con l'eccezione del carcinoma mammario dove agisce invece da oncosoppressore; l'interazione proteica diretta con l'asse Aurora A/PLK1 osservata in alcuni tipi di tumore rappresenta invece un ulteriore livello regolativo, indipendente dal classico meccanismo ceRNA, non ancora indagato nel contesto ipofisario.

5.2 Sottogruppo "invasive"

Nel gruppo “invasive” sono stati identificati 104 lncRNA, molti di essi coinvolti nei processi di proliferazione, invasione e transizione epitelio-mesenchimale, per 37 di questi è stata osservata la presenza in esosomi tramite il database NONCODE. Tra essi, 3 trascritti sono emersi come particolarmente rilevanti nel contesto tumorale in virtù della solida caratterizzazione funzionale descritta in letteratura:

CCND2-AS1 (ENSG00000255920, alias CCND2-AS2)

CCND2-AS1 è un trascritto antisense del gene *CCND2* (Cyclin D2) localizzato sul cromosoma 12p13.32; *CCND2* codifica la ciclina D2, una proteina che forma complessi con le chinasi CDK4 e CDK6 (Cyclin-Dependent Kinases) e regola la transizione G1/S del ciclo cellulare. Secondo i dati riportati dal database NONCODE la presenza del lnc è osservata principalmente in pazienti affetti da tubercolosi e adenomi ipofisari non funzionanti, invasivi e non invasivi; livelli di espressione molto più contenuti sono presenti nelle linee cellulari endoteliali HUVEC e fibroblasti cutanei BJ. Nel contesto tumorale, analogamente a quanto osservato per LINC00052, CCND2-AS1 presenta un profilo funzionale tessuto-specifico, agendo da oncogene in alcuni tumori e da oncosoppressore in altri. CCND2-AS1 è stato caratterizzato principalmente nel glioma, dove è sovraespresso e ha ruolo oncogenico: Zhang et al. (2017) hanno dimostrato che

alti livelli del trascritto promuovono la proliferazione cellulare attraverso l'attivazione del signaling Wnt/ β -catenina [36]. Un ruolo oncogenico è stato descritto anche nel carcinoma mammario: Chen et al. (2018) hanno mostrato che CCND2-AS1 risulta sovraespresso rispetto alle cellule epiteliali mammarie normali, e che il suo knockdown sopprime significativamente proliferazione, migrazione e invasione, mentre la sua overespressione produce l'effetto opposto [37]. È stato inoltre riportato da Xia et al. (2018) un ruolo oncogenico anche nel carcinoma papillare della tiroide, mediato dalla regolazione dei marcatori EMT N-caderina e vimentina [38]. Un comportamento opposto, di tipo oncosoppressore, è stato invece descritto nel carcinoma cervicale da Zhao et al. (2020): CCND2-AS1 risulta significativamente sottoespresso nei tessuti tumorali rispetto al tessuto cervicale normale; la sua overespressione inibisce infatti la crescita tumorale, inducendo arresto del ciclo cellulare in fase G1/S tramite down-regolazione di *CDK4*, *CCND1* e *CCND2* [39]. Complessivamente, il quadro che emerge dalla letteratura conferma per CCND2-AS1 un duplice comportamento, con meccanismi sia oncogenici sia oncosoppressivi a seconda del tessuto tumorale considerato.

MSC-AS1 (ENSG00000235531, alias MAT1)

MSC-AS1 (Musculin Antisense RNA 1) è un lncRNA localizzato sul cromosoma 8q13.3-q21.11 e presenta un profilo prevalentemente oncogenico: una recente review sistematica riporta che il trascritto risulta disregolato in numerosi tipi di tumore, agendo prevalentemente attraverso il sequestro di miRNA (meccanismo ceRNA) o tramite interazione proteica diretta, convergendo principalmente sull'attivazione dei pathway PI3K/AKT e Wnt/ β -catenina [40]. In particolare nel carcinoma epatocellulare, Cao et al. (2020) hanno dimostrato che MSC-AS1 è sovraespresso e promuove proliferazione, migrazione e invasione inducendo l'espressione di PGK1 (fosfoglicerato chinasi 1), enzima chiave della glicolisi con documentato ruolo oncogenico in HCC [41]. Nel carcinoma gastrico invece, Jin et al. (2021) hanno mostrato un ruolo analogo di MSC-AS1 nella promozione di proliferazione e glicolisi tumorale tramite la regolazione di *PFKFB3* (6-fosfofrutto-2-chinasi/fruttosio-2,6-bifosfatasi 3); PFKFB3 è infatti un enzima di fondamentale importanza coinvolto nel processo di glicolisi, che consente alle cellule tumorali di crescere a ritmi elevati e che ne promuove l'angiogenesi. La sovraespressione di MSC-AS1 nel carcinoma gastrico comporta dunque una maggiore attivazione di PFKFB3 supportando metabolicamente la crescita tumorale [42]. In aggiunta Liu et al. (2021) hanno osservato che la sovraespressione del lncRNA correla negativamente con l'espressione di miR-142-5p agendo da sponge per quest'ultimo e mediando crescita, progressione del ciclo cellulare e secrezione di mediatori dell'infiammazione come IL-1 β , IL-6 e TNF- α , fungendo da oncogene nel carcinoma gastrico [43]. Anche nel carcinoma pancreatico duttale, MSC-AS1 è sovraespresso e agisce da sponge per miR-29b-

3p, incrementando l'espressione di CDK14, una chinasi ciclina-dipendente il cui ruolo oncogenico è largamente riconosciuto, e favorendo dunque la proliferazione cellulare [44]. Meccanismi analoghi sono stati osservati nel carcinoma renale, dove MSC-AS1 promuove proliferazione e invasione attivando il pathway Wnt/ β -catenina tramite l'asse miR-3924 [45], nel carcinoma coloretale, dove il knockdown di MSC-AS1 inibisce proliferazione, migrazione e invasione, tramite l'asse miR-325/TRIM14 [46], e nel carcinoma nasofaringeo, dove MSC-AS1 sostiene la progressione tumorale sequestrando miR-524-5p e incrementando l'espressione dell'oncogene *NR4A2*, con effetto sia sulla proliferazione sia sulla transizione epitelio-mesenchimale (EMT) [47]. L'unica eccezione a questo pattern oncogenico è rappresentata dal carcinoma ovarico, dove Zhao et al. hanno osservato un comportamento opposto: MSC-AS1 risulta sottoespresso nei tessuti tumorali mentre la sua sovraespressione inibisce la proliferazione cellulare e induce l'apoptosi, agendo da sponge per miR-425-5p [48]. Come per i lncRNA precedentemente discussi, non risultano ad oggi studi che caratterizzino MSC-AS1 in tessuto ipofisario. La sua presenza in esosomi è documentata dal database NONCODE: viene rilevato negli esosomi derivati da adenomi ipofisari non funzionanti (NFPAs) sia invasivi che non invasivi, mentre presenta i livelli di espressione più elevati nei pazienti affetti da tubercolosi e nella linea di fibroblasti cutanei BJ. Livelli di espressione più contenuti si riscontrano invece nel sangue di soggetti normali e nella linea di carcinoma epidermoide A431, mentre risulta quasi assente negli esosomi da cellule endoteliali HUVEC e nella linea di epatocarcinoma HepG2.

MIR181A2HG (ENSG00000224020)

MIR181A2HG è un lncRNA "host gene" ossia un trascritto che ospita nel proprio introne il gene codificante per miR-181a-2/miR-181b-2; rispetto ai lncRNA affrontati in precedenza ci sono meno studi a sostegno della funzione specifica di questo trascritto nel contesto tumorale. Lo studio di maggiore interesse è relativo al suo ruolo oncogenico nel carcinoma gastrico: Zhang et al. (2025) hanno dimostrato che MIR181A2HG risulta sovraespresso e correlato a prognosi infausta nel cancro allo stomaco. Attraverso l'asse ceRNA miR-5680/VCAN, il trascritto induce l'espressione di *VCAN* che, legandosi al recettore CD44 sui macrofagi associati al tumore, ne guida la polarizzazione verso il fenotipo M2. Questo stimola il rilascio di VEGF-C (vascular endothelial growth factor C), favorendo la linfangiogenesi e la diffusione metastatica ai linfonodi, oltre ad alimentare un loop autocrino che sostiene l'espressione dello stesso lncRNA [49]. MIR181A2HG è stato inoltre identificato come lncRNA immuno-correlato con valore prognostico positivo se sovraespresso nel carcinoma della vescica [50]. Non risultano ad oggi studi che caratterizzino MIR181A2HG in tessuto ipofisario. La presenza in esosomi del trascritto è documentata dal database NONCODE: si osservano i livelli più elevati nella linea di fibroblasti cutanei BJ e negli esosomi

derivati da cellule endoteliali HUVEC, seguiti da livelli intermedi nel siero di pazienti affetti da tubercolosi. Il trascritto è inoltre rilevabile, seppur a livelli più contenuti, negli esosomi derivati da adenomi ipofisari non funzionanti (NFPAs), con un'espressione lievemente superiore nella forma non invasiva rispetto a quella invasiva.

5.3 Sottogruppo "gsp+"

Nel sottogruppo "gsp+" sono stati identificati 68 lncRNA upregolati rispetto agli altri sottogruppi, le funzioni più osservate in contesti tumorali comprendono la partecipazione a processi di chemioresistenza e di promozione della crescita tumorale, alcuni trascritti hanno anche funzione oncosoppressiva. È stata osservata la presenza di 21 di questi trascritti in esosomi tramite i dati forniti dal database NONCODE, tra essi, 3 sono emersi come particolarmente rilevanti:

PURPL (ENSG00000250337, alias LOC643401, RP11-46C20.1, Lnc-CDH6-22)

PURPL (p53-upregulated regulator of p53 levels) è un lncRNA intergenico che svolge un ruolo oncogenico in diversi tipi di tumore; la sua funzione principale riguarda la regolazione della via di p53, uno dei più importanti soppressori tumorali della cellula [51]. Una recente review ne conferma il profilo prevalentemente oncogenico nei tumori finora studiati, con meccanismi che spaziano dalla stabilizzazione di regolatori di p53 all'attività ceRNA nei confronti di diversi miRNA [52]. Secondo i dati riportati dal database NONCODE la presenza del lnc è osservata principalmente in pazienti affetti da tubercolosi e nelle linee cellulari di epatocarcinoma, PURPL è presente anche adenomi ipofisari non funzionanti, invasivi e non invasivi; mentre si osservano livelli di espressione minori per i fibroblasti cutanei BJ. Lo studio che ha caratterizzato per primo il trascritto, Li et al. (2017), ha dimostrato che nel carcinoma coloretale PURPL si associa a MYBBP1A (MYB Binding Protein 1A), una proteina che lega e stabilizza p53, inibendone l'interazione con quest'ultimo: la deplezione di PURPL innalza così i livelli basali di p53 sopprimendo la crescita cellulare, mentre la sua sovraespressione promuove la tumorigenesi [51]. Un meccanismo analogo, incentrato sulla soppressione di p53, è stato descritto nel carcinoma epatocellulare: Fu et al. (2019) hanno osservato che PURPL è sovraespresso nei tessuti tumorali, correla con lo stadio di differenziazione e le dimensioni del tumore ed è inversamente correlato ai livelli di mRNA di p53; il silenziamento del lncRNA inibisce la proliferazione, blocca il ciclo cellulare e induce apoptosi [53]. In aggiunta Hartford et al. (2022) descrive il lncRNA PURPL come un regolatore molecolare con funzioni contesto-dipendenti; il trascritto non regola direttamente i livelli di p53, ma interviene a valle della sua attivazione per "regolare finemente" l'espressione di circa 800 geni, impedendo che p53 inibisca eccessivamente i geni necessari per la mitosi e permettendo così alla cellula tumorale di proseguire il

ciclo cellulare [54]. Al di là delle funzioni legate alla regolazione di p53, PURPL è stato oggetto di studio anche in numerosi altri tipi tumorali: nel carcinoma gastrico per esempio, Cheng et al. (2022) hanno delineato l'asse regolatorio PURPL-miR-137-ZBTB7A secondo il quale PURPL sequestra miR-137, con conseguente aumento dell'espressione di *ZBTB7A* (Zinc Finger and BTB Domain-Containing Protein 7A) e attivazione della via PI3K/AKT/NF-κB, promuovendo così la formazione di colonie, migrazione, invasività e crescita tumorale, mentre la sua inibizione ne inverte l'effetto [55]. Anche nel melanoma cutaneo, PURPL agisce con meccanismo proteico diretto, indipendente da p53: Han et al. (2021) hanno dimostrato che il lncRNA interagisce fisicamente con ULK1 (Unc-51 Like Autophagy Activating Kinase 1), un enzima che ha un ruolo chiave nell'autofagia; in questo modo PURPL previene la morte cellulare autofagica, sostenendo la progressione tumorale [56]. Uno studio successivo ha inoltre dimostrato che nelle cellule di melanoma PURPL ha un ruolo anche nella promozione della radioresistenza [57]. Anche nel carcinoma tiroideo e in quello ovarico, PURPL esplica un ruolo oncogenico agendo attraverso reti molecolari distinte. Nel tumore della tiroide correla positivamente con l'oncogene *MDM2* [58]; nel carcinoma ovarico reprime invece i microRNA miR-338-3p e miR-363-3p, guidando l'attivazione dell'asse PURPL/miR-363-3p/ADAM10, associato a uno stadio clinico avanzato e a una prognosi sfavorevole [59, 60]. Non risultano ad oggi studi che abbiano indagato il ruolo di PURPL nei tumori ipofisari. Nel complesso, la letteratura presenta PURPL come un lncRNA dal comportamento oncogenico e con meccanismi molecolari eterogenei (soppressione di p53, attività ceRNA su diversi miRNA, interazione proteica diretta su regolatori dell'autofagia e dell'apoptosi).

PYDC2-AS1 (ENSG00000223812, alias LINC-R-0002, Lnc-PYDC2-1, RP11-197K6.1)

PYDC2-AS1 è un lncRNA la cui caratterizzazione funzionale in ambito oncologico risulta, ad oggi, più limitata rispetto agli altri trascritti affrontati. Wang et al. (2024) hanno dimostrato che il trascritto è sovraespresso nell'adenocarcinoma del colon rispetto al tessuto normale, con espressione inversamente correlata alla sopravvivenza dei pazienti, e agisce come ceRNA sequestrando miR-135a-5p; in questo modo riduce la repressione di *DLX5* (Distal-less homeobox 5), promuovendo la migrazione e la metastatizzazione delle cellule tumorali [61]. Un secondo studio ha identificato un asse distinto e convergente sullo stesso lncRNA: in Wang et al. (2023) RP11-197K6.1 regola positivamente l'espressione dell'oncosoppressore *CDKN2A* tramite il sequestro di miR-125b-5p [62]. Questi due lavori indipendenti convergono nel delineare RP11-197K6.1 come lncRNA oncogenico nel contesto coloretale, operante attraverso più assi ceRNA distinti (miR-135a-5p/DLX5 e miR-125b-5p/CDKN2A). Per l'alias LINC-R-0002 invece non sono stati reperiti studi in ambito oncologico. Inoltre, secondo i dati riportati dal database NONCODE la

presenza del lnc è osservata principalmente in pazienti affetti da tubercolosi e negli adenomi ipofisari non funzionanti, sia invasivi che non invasivi; i livelli di espressione sono più contenuti nel caso di esosomi derivanti da cellule di epatocarcinomi o endoteliali HUVEC. Nel complesso, il potenziale di PYDC2-AS1 come biomarcatore appare circoscritto al carcinoma coloretale, e la sua caratterizzazione funzionale in altri contesti tumorali, incluso quello ipofisario, resta un'area sostanzialmente inesplorata.

EPIC1 (ENSG00000224271, alias Lnc-TBC1D22A-4, Lnc-EPIC1, Lnc-FAM19A5-17)

EPIC1 (Epigenetically-Induced lncRNA 1) è un lncRNA intergenico identificato tramite un'analisi di oltre 6.000 tumori che ne ha rivelato una ricorrente ipometilazione oncogenica; a differenza di molti lncRNA discussi finora, il suo meccanismo prevalente non è di tipo ceRNA ma lega direttamente MYC, un proto-oncogene che promuove la proliferazione cellulare, potenziandone l'attività trascrizionale. Questo studio dimostra infatti che nel carcinoma mammario EPIC1 si lega a MYC, aumentandone l'occupazione sui geni bersaglio (CDKN1A, CCNA2, CDC20, CDC45) e promuovendo la progressione del ciclo cellulare; la sovraespressione di EPIC1 correla con prognosi sfavorevole e sostiene la crescita tumorale [63]. Lo stesso asse è stato successivamente confermato anche nel carcinoma del colon e del polmone [64, 65]. Un asse alternativo è stato invece descritto nel carcinoma pancreatico da Xia et al. (2020): anche in questo caso EPIC1 è sovraespresso e correla con positivamente con la gravità dello stadio tumorale ma non lega MYC bensì YAP1 (Yes1 Associated Transcriptional Regulator), regolandone i bersagli CDC20 e CDK4 [66]. In aggiunta Wang et al. (2020) hanno identificato Cdc20 come principale effettore a valle di EPIC1 nel glioma: la sua inibizione riduce vitalità e invasività e aumenta la sensibilità delle cellule alla temozolomide, mentre la sovraespressione di Cdc20 ripristina il fenotipo aggressivo anche in assenza di EPIC1, suggerendo un possibile ruolo di EPIC1 nella chemioresistenza [67]. L'unica eccezione a questo pattern oncogenico è rappresentata dall'osteosarcoma: in questo tipo di tumore EPIC1 risulta sottoespresso mentre la sua sovraespressione inibisce vitalità e invasività cellulare. Il lnc lega direttamente la proteina MEF2D, identificata come oncogenica in diversi tipi di cancro, e ne promuove l'ubiquitinazione e la conseguente degradazione [68]. Non risultano ad oggi studi che abbiano indagato il ruolo di EPIC1 nei tumori ipofisari. La presenza in esosomi del trascritto è documentata dal database NONCODE: si osservano i livelli di espressione più elevati nelle cellule di epatocarcinoma, nei pazienti affetti da tubercolosi e negli adenomi ipofisari non funzionanti invasivi, mentre per quelli non invasivi l'espressione è molto minore. Nel complesso, EPIC1 emerge come un lncRNA multifunzionale con azione oncogenica, prevalentemente mediata dal legame

diretto con MYC, in diversi tipi di tumore con l'eccezione dell'osteosarcoma dove agisce invece da soppressore tumorale.

6. CONCLUSIONI

Le conclusioni di questo lavoro si inseriscono in un ambito di ricerca relativamente giovane. I lncRNA, precedentemente considerati un semplice “rumore” della trascrizione genica privo di funzione biologica, hanno infatti acquisito rilevanza clinica negli ultimi anni. Come sottolineato da Beylerli et al. (2022) nella loro review sul potenziale dei lncRNA circolanti come biomarcatori oncologici, questi trascritti, se veicolati da esosomi o microvescicole, risultano protetti dalla degradazione ribonucleasica e stabili in diversi fluidi biologici (sangue, urina, saliva), caratteristiche che ne hanno già permesso la validazione come marcatori diagnostici in numerosi tumori (polmonare, mammario, gastrico, epatico, prostatico) [69]. È in questo contesto di crescente, ma ancora parziale, comprensione della biologia dei lncRNA che si inserisce il presente lavoro di tesi, che affronta la questione in relazione ai tre sottogruppi molecolari dei tumori ipofisari GH-secernti. Partendo da un dataset preesistente di RNA-seq relativo a campioni tumorali di pazienti affetti da GH-PitNET, e dalla conseguente suddivisione dei tumori nei tre sottogruppi molecolari “par-OGTT”, “invasive” e “gsp+” (sovrapponibile a quella descritta da Rymuza et al., 2022), sono stati selezionati progressivamente, attraverso un processo di filtraggio basato sulla presenza in esosomi (database NONCODE) e sulla rilevanza funzionale in ambito oncologico documentata in letteratura, otto lncRNA candidati come potenziali biomarcatori differenziali dei tre sottotipi tumorali. Per la maggior parte di questi trascritti la letteratura oncologica disponibile riguarda esclusivamente altri tipi di tumore: nel sottogruppo “par-OGTT”, LINC00052 mostra un comportamento tessuto-specifico ambivalente, agendo da oncosoppressore nel carcinoma epatocellulare, nel glioma e nel carcinoma pancreatico, e da oncogene nel carcinoma mammario, mentre ST8SIA6-AS1 agisce in modo prevalentemente oncogenico attraverso meccanismi sia ceRNA sia di interazione proteica diretta (asse Aurora A/PLK1), con l’eccezione del carcinoma mammario dove risulta oncosoppressore, ed è l’unico dei candidati per cui esiste già una caratterizzazione diretta in adenoma ipofisario, dove promuove invasività, migrazione, angiogenesi ed EMT tramite l’asse miR-5195-3p/HOXA9; nel sottogruppo “invasive”, CCND2-AS1 presenta anch’esso un profilo context-dependent (oncogene in glioma, mammella e tiroide, oncosoppressore nel carcinoma cervicale), MSC-AS1 agisce da oncogene in quasi tutti i tumori in cui è stato studiato, con la sola eccezione del carcinoma ovarico, convergendo prevalentemente sui pathway PI3K/AKT e Wnt/ β -catenina, e MIR181A2HG, trascritto ancora poco caratterizzato, risulta oncogenico nel carcinoma gastrico tramite l’asse miR-5680/VCAN; nel sottogruppo “gsp+”, PURPL mostra un comportamento costantemente oncogenico attraverso meccanismi eterogenei incentrati sulla regolazione di p53 e su interazioni sia ceRNA sia proteiche, PYDC2-AS1 presenta una caratterizzazione funzionale ancora limitata e circoscritta al carcinoma coloretale, ed EPIC1 agisce da oncogene in più tipi tumorali legando

direttamente MYC o, alternativamente, YAP1 e Cdc20, con l'unica eccezione dell'osteosarcoma, dove funge invece da oncosoppressore. Per sette di questi otto trascritti non risulta, ad oggi, alcuno studio che ne abbia indagato il ruolo specifico nei tumori ipofisari. Ciò nonostante, la rilevazione della presenza di questi trascritti negli esosomi, unita al loro ruolo in meccanismi oncogenici in altri contesti tumorali e alla loro espressione differenziale nei tre sottogruppi molecolari dei GH-PitNET, ne suggerisce un possibile ruolo anche in questo contesto, da verificare sperimentalmente. Così come già avvenuto per PCA3 e MALAT1 nel carcinoma prostatico o per SAMMSON nel melanoma, la caratterizzazione di lncRNA esosomiali specifici per sottotipo potrebbe inoltre fornire in futuro uno strumento diagnostico minimamente invasivo, applicabile in fase pre-operatoria, capace di orientare la scelta terapeutica dei pazienti affetti da GH-PitNETs verso un approccio di medicina personalizzata.

7. BIBLIOGRAFIA

- [1] Melmed, S. (2006). Acromegaly. *The New England Journal of Medicine*, 355(24), 2558–2573. <https://doi.org/10.1056/NEJMra062453>
- [2] Chanson, P., Salenave, S., Kamenický, P., & Young, J. (2009). Acromegaly. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 23(5), 555–574. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2009.05.002>
- [3] Landis, C. A., Masters, S. B., Spada, A., Pace, A. M., Bourne, H. R., & Vallar, L. (1989). GTPase inhibiting mutations activate the α chain of Gs and stimulate adenylyl cyclase in human pituitary tumours. *Nature*, 340(6236), 692–696.
- [4] Asa, S. L., Kucharczyk, W., & Ezzat, S. (2017). Pituitary acromegaly: not one disease. *Endocr Relat Cancer*, 24(3), C1–C4. <https://doi.org/10.1530/ERC-16-0496>
- [5] Rymuza, J., Kober, P., Rusetska, N., Mossakowska, B. J., Maksymowicz, M., Nyc, A., Baluszek, S., Zieliński, G., Kunicki, J., & Bujko, M. (2022). Transcriptomic Classification of Pituitary Neuroendocrine Tumors Causing Acromegaly. *Cells*, 11(23), 3846. <https://doi.org/10.3390/cells11233846>
- [6] Flaseriu, M., Biller, B. M. K., Freda, P. U., Gadelha, M. R., Giustina, A., Katznelson, L., Molitch, M. E., Samson, S. L., Strasburger, C. J., van der Lely, A. J., & Melmed, S. (2021). A Pituitary Society update to acromegaly management guidelines. *Pituitary*, 24(1), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s11102-020-01091-7>
- [7] Fernandes, J. C. R., Acuña, S. M., Aoki, J. I., Floeter-Winter, L. M., & Muxel, S. M. (2019). Long Non-Coding RNAs in the Regulation of Gene Expression: Physiology and Disease. *Non-coding RNA*, 5(1), 17. <https://doi.org/10.3390/ncrna5010017>
- [8] Lorenzi, L., Avila Cobos, F., Decock, A., Everaert, C., Helsmoortel, H., Lefever, S., ... & Mestdagh, P. (2019). Long noncoding RNA expression profiling in cancer: challenges and opportunities. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 58(4), 191–199.
- [9] Ceccato, F., Vedolin, C. K., Voltan, G., Antonelli, G., Barbot, M., Basso, D., ... & Occhi, G. (2024). Paradoxical GH increase after oral glucose load in subjects with and without acromegaly. *Journal of Endocrinological Investigation*, 47(1), 213–221. <https://doi.org/10.1007/s40618-023-02138-9>
- [10] Holdaway, I. M., & Rajasoorya, C. (1999). Epidemiology of acromegaly. *Pituitary*, 2(1), 29–41.
- [11] Melmed, S. (2009). Acromegaly pathogenesis and treatment. *The Journal of clinical investigation*, 119(11), 3189–3202.
- [12] Gadelha, M. R., Wildemberg, L. E., & Kasuki, L. (2022). The Future of Somatostatin Receptor Ligands in Acromegaly. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 107(2), 297–308. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab726>
- [13] Neou, M., Villa, C., Armignacco, R., Jouinot, A., Raffin-Sanson, M. L., Septier, A., ... & Assié, G. (2020). Pangenomic classification of pituitary neuroendocrine tumors. *Cancer cell*, 37(1), 123–134.
- [14] Kober, P., Rymuza, J., Baluszek, S., Maksymowicz, M., Nyc, A., Mossakowska, B. J., ... & Bujko, M. (2024). DNA methylation pattern in somatotroph pituitary neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology*, 114(1), 51–63.
- [15] Rymuza, J., Kober, P., Maksymowicz, M., Nyc, A., Mossakowska, B. J., Woroniecka, R., ... & Bujko, M. (2024). High level of aneuploidy and recurrent loss of chromosome 11 as relevant features of somatotroph pituitary tumors. *Journal of translational medicine*, 22(1), 994.

- [16] Dottermusch, M., Ryba, A., Ricklefs, F. L., Flitsch, J., Schmid, S., Glatzel, M., ... & Schüller, U. (2024). Pituitary neuroendocrine tumors with PIT1/SF1 co-expression show distinct clinicopathological and molecular features. *Acta neuropathologica*, 147(1), 16.
- [17] Dalle Nogare M. (2026) Unlocking The Heterogeneity of Sporadic Somatotropinomas: A Paradoxical Journey. Tesi di dottorato, Università degli Studi di Padova, a.a. 2024/25.
- [18] Benanteur, N., Villa, C., Bioletto, F., Birtolo, M. F., De Murat, D., Masliah-Planchon, J., ... & Assié, G. (2026). Genomic characterization of aggressiveness in pituitary neuroendocrine tumors (PitNETs). *Neuro-Oncology*, noag074.
- [19] Xiong, D., Wang, D., & Chen, Y. (2021). Role of the long non-coding RNA LINC00052 in tumors. *Oncology letters*, 21(4), 316. <https://doi.org/10.3892/ol.2021.12577>
- [20] Xiong, D., Sheng, Y., Ding, S., Chen, J., Tan, X., Zeng, T., ... & Tang, H. (2016). LINC00052 regulates the expression of NTRK3 by miR-128 and miR-485-3p to strengthen HCC cells invasion and migration. *Oncotarget*, 7(30), 47593. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10250>
- [21] Zhu, L., Yang, N., Chen, J., Zeng, T., Yan, S., Liu, Y., ... & Tang, H. (2017). LINC00052 upregulates EPB41L3 to inhibit migration and invasion of hepatocellular carcinoma by binding miR-452-5p. *Oncotarget*, 8(38), 63724. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18892>
- [22] Yan, S., Shan, X., Chen, K. E., Liu, Y., Yu, G., Chen, Q., ... & Tang, H. (2018). LINC00052/miR-101-3p axis inhibits cell proliferation and metastasis by targeting SOX9 in hepatocellular carcinoma. *Gene*, 679, 138-149. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.08.038>
- [23] Salameh A., Fan X., Choi B., Zhang S., Zhang N., An Z. HER3 and LINC00052 interplay promotes tumor growth in breast cancer. *Oncotarget*. 2016; 8: 6526-6539. Retrieved from <https://www.oncotarget.com/article/14313/>
- [24] Xu, C. F., Liu, P., Tan, J., & Hu, D. F. (2019). Long noncoding RNA LINC00052 suppressed the proliferation, migration and invasion of glioma cells by upregulating KLF6. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 23(11), 4822-4827.
- [25] Xiong, X., Shi, Q., Yang, X., Wang, W., & Tao, J. (2019). LINC00052 functions as a tumor suppressor through negatively modulating miR-330-3p in pancreatic cancer. *Journal of cellular physiology*, 234(9), 15619-15626.
- [26] Dong, M., Xu, T., Li, H., & Li, X. (2021). LINC00052 promotes breast cancer cell progression and metastasis by sponging miR-145-5p to modulate TGFBR2 expression. *Oncology Letters*, 21(5), 368.
- [27] Huang, X., Yu, J., Lai, S., Li, Z., Qu, F., Fu, X., ... & Li, H. (2023). Long Non-Coding RNA LINC00052 Targets miR-548p/Notch2/Pyk2 to Modulate Tumor Budding and Metastasis of Human Breast Cancer: X. Huang et al. *Biochemical Genetics*, 61(1), 336-353.
- [28] Feng, T., Yao, Y., Luo, L., Zou, H., Xiang, G., Wei, L., ... & Lai, C. (2023). ST8SIA6-AS1 contributes to hepatocellular carcinoma progression by targeting miR-142-3p/HMGA1 axis. *Scientific reports*, 13(1), 650.
- [29] Fei, Q., Song, F., Jiang, X., Hong, H., Xu, X., Jin, Z., ... & Xu, M. (2020). LncRNA ST8SIA6-AS1 promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation and resistance to apoptosis by targeting miR-4656/HDAC11 axis. *Cancer cell international*, 20(1), 232.
- [30] Cao, Q., Yang, W., Ji, X., & Wang, W. (2020). Long non-coding RNA ST8SIA6-AS1 promotes lung adenocarcinoma progression through sponging miR-125a-3p. *Frontiers in genetics*, 11, 597795.
- [31] Jeong, G., Bae, H., Jeong, D., Ham, J., Park, S., Kim, H. W., ... & Kim, S. J. (2018). A Kelch domain-containing KLHDC7B and a long non-coding RNA ST8SIA6-AS1 act oppositely on breast cancer cell proliferation via the interferon signaling pathway. *Scientific reports*, 8(1), 12922.

- [32] He, J., Yan, H., Wei, S., & Chen, G. (2021). LncRNA ST8SIA6-AS1 promotes cholangiocarcinoma progression by suppressing the miR-145-5p/MAL2 axis. *OncoTargets and therapy*, 3209-3223.
- [33] Huang, C. M., Cao, G. Y., Yang, C. X., Chen, Y., Liu, G. D., Xu, B. W., & Zhang, X. (2020). LncRNA ST8SIA6-AS1 promotes colorectal cancer cell proliferation, migration and invasion by regulating the miR-5195/PCBP2 axis. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 24(8), 4203.
- [34] Luo, M. L., Li, J., Shen, L., Chu, J., Guo, Q., Liang, G., ... & Song, E. (2020). The role of APAL/ST8SIA6-AS1 lncRNA in PLK1 activation and mitotic catastrophe of tumor cells. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 112(4), 356-368.
- [35] Li, Z., Zhang, C., Zong, X., Wang, Z., Ren, R., Wang, L., ... & Wu, Y. N. (2022). ST8SIA6-AS1 promotes the epithelial-to-mesenchymal transition and angiogenesis of pituitary adenoma. *Journal of Oncology*, 2022(1), 7960261.
- [36] Zhang, H., Wei, D. L., Wan, L., Yan, S. F., & Sun, Y. H. (2017). Highly expressed lncRNA CCND2-AS1 promotes glioma cell proliferation through Wnt/ β -catenin signaling. *Biochemical and biophysical research communications*, 482(4), 1219-1225.
- [37] Chen, C., Xia, E., Bhandari, A., Wang, Y., Shen, Y., Sindan, N., ... & Wang, O. (2018). LncRNA CCND2-AS1 is up-regulated and regulates proliferation, migration, and invasion in breast cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 11(3), 1453.
- [38] Xia, E., Bhandari, A., Shen, Y., Zhou, X., Sindan, N., Xiang, J., ... & Wang, O. (2018). LncRNA CCND2-AS1 promotes proliferation, migration, and invasion in papillary thyroid carcinoma. *Biochemical and biophysical research communications*, 496(2), 628-632.
- [39] Zhao, C., Liu, J., Wu, H., Hu, J., Chen, J., Chen, J., & Qiao, F. (2020). Aberrant methylation-mediated downregulation of lncRNA CCND2 AS1 promotes cell proliferation in cervical cancer. *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, 27(1), 11.
- [40] Yang, J., Peng, F., Liu, K., He, H., Liu, H., Li, L., ... & Yuan, C. (2025). The roles, mechanisms, and clinical significance of long non-coding RNA MSC-AS1 in cancer. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*.
- [41] Cao, C., Zhong, Q., Lu, L., Huang, B., Li, J., Meng, L., & Wei, H. (2020). Long noncoding RNA MSC-AS1 promotes hepatocellular carcinoma oncogenesis via inducing the expression of phosphoglycerate kinase 1. *Cancer Medicine*, 9(14), 5174-5184.
- [42] Jin, X., Qiao, L., Fan, H., Liao, C., Zheng, J., Wang, W., ... & Zhao, W. (2021). Long non-coding RNA MSC-AS1 facilitates the proliferation and glycolysis of gastric cancer cells by regulating PFKFB3 expression. *International journal of medical sciences*, 18(2), 546.
- [43] Liu, Y., Li, L., Wu, X., Qi, H., Gao, Y., Li, Y., & Chen, D. (2021). MSC-AS1 induced cell growth and inflammatory mediators secretion through sponging miR-142-5p/DDX5 in gastric carcinoma. *Aging (Albany NY)*, 13(7), 10387.
- [44] Sun, Y., Wang, P., Yang, W., Shan, Y., Zhang, Q., & Wu, H. (2019). The role of lncRNA MSC-AS1/miR-29b-3p axis-mediated CDK14 modulation in pancreatic cancer proliferation and Gemcitabine-induced apoptosis. *Cancer biology & therapy*, 20(6), 729-739.
- [45] Hu, Z., Li, L., Cheng, P., Liu, Q., Zheng, X., Peng, F., & Zhang, Q. (2020). lncRNA MSC-AS1 activates Wnt/ β -catenin signaling pathway to modulate cell proliferation and migration in kidney renal clear cell carcinoma via miR-3924/WNT5A. *Journal of Cellular Biochemistry*, 121(10), 4085-4093.
- [46] He, C., Wang, X., Du, M., & Dong, Y. (2021). LncRNA MSC-AS1 Promotes Colorectal Cancer Progression by Regulating miR-325/TRIM14 Axis. *Journal of oncology*, 2021(1), 9954214.

- [47] Yao, H., Yang, L., Tian, L., Guo, Y., & Li, Y. (2020). LncRNA MSC-AS1 aggravates nasopharyngeal carcinoma progression by targeting miR-524-5p/nuclear receptor subfamily 4 group A member 2 (NR4A2). *Cancer Cell International*, 20(1), 138.
- [48] Zhao, Y., Yuan, D., Zhu, D., Xu, T., Huang, A., Jiang, L., ... & Bu, X. (2021). LncRNA-MSC-AS1 inhibits the ovarian cancer progression by targeting miR-425-5p. *Journal of ovarian research*, 14(1), 109.
- [49] Zang, W., Yang, Y., Chen, J., Mao, Q., Xue, W., & Hu, Y. (2025). The MIR181A2HG/miR-5680/VCAN-CD44 Axis Regulates Gastric Cancer Lymph Node Metastasis by Promoting M2 Macrophage Polarization. *Cancer Medicine*, 14(2), e70600.
- [50] Wu, Y., Zhang, L., He, S., Guan, B., He, A., Yang, K., ... & Zhou, L. (2020). Identification of immune-related LncRNA for predicting prognosis and immunotherapeutic response in bladder cancer. *Aging (Albany NY)*, 12(22), 23306.
- [51] Li, X. L., Subramanian, M., Jones, M. F., Chaudhary, R., Singh, D. K., Zong, X., ... & Lal, A. (2017). Long noncoding RNA PURPL suppresses basal p53 levels and promotes tumorigenicity in colorectal cancer. *Cell reports*, 20(10), 2408-2423.
- [52] Valatabar, N., Safaralizadeh, R., Mokhtarzadeh, A. A., & Feizi, M. A. H. (2026). Long non-coding RNA PURPL in cancer and cellular regulation: Mechanistic insights and therapeutic potential. *BioImpacts: BI*, 16, 33252.
- [53] Fu, X., Wang, Y., Wu, G., Zhang, W., Xu, S., & Wang, W. (2019). Long noncoding RNA PURPL promotes cell proliferation in liver cancer by regulating p53. *Molecular medicine reports*, 19(6), 4998-5006.
- [54] Hartford, C. C. R., Shrestha, R. L., Pongor, L., Zhao, Y., Chen, X., Fromont, C., ... & Lal, A. (2022). Context-dependent function of long noncoding RNA PURPL in transcriptome regulation during p53 activation. *Molecular and Cellular Biology*, 42(12), e00289-22.
- [55] Cheng, Z., Hong, J., Tang, N., Liu, F., Gu, S., & Feng, Z. (2022). Long non-coding RNA p53 upregulated regulator of p53 levels (PURPL) promotes the development of gastric cancer. *Bioengineered*, 13(1), 1359-1376.
- [56] Han, S., Li, X., Wang, K., Zhu, D., Meng, B., Liu, J., ... & Zhou, L. (2021). PURPL represses autophagic cell death to promote cutaneous melanoma by modulating ULK1 phosphorylation. *Cell death & disease*, 12(11), 1070.
- [57] Li, X., Han, S., Liang, X., Liu, J., Wang, K., Jin, Y., ... & Zhou, L. (2025). PURPL Represses Radiation-Induced Apoptosis to Promote Radioresistance in Cutaneous Melanoma by Direct Interfering With BID Cleavage. *Pigment Cell & Melanoma Research*, 38(3), e70018..
- [58] Kazemzadeh, M., Safaralizadeh, R., Mokhtarzadeh, A. A., & Feizi, M. A. H. (2025). Understanding the dysregulation of PURPL, a novel long intergenic noncoding RNA, in thyroid cancer progression. *Human Gene*, 201499.
- [59] Zhang, R., He, T., Shi, H., Yuan, C., Wei, F., Liu, Z., & Wang, W. (2021). Disregulations of PURPL and MiR-338-3p could serve as prognosis biomarkers for epithelial ovarian cancer. *Journal of Cancer*, 12(18), 5674.
- [60] Zhang, R., Guo, X., Zhao, L., He, T., Feng, W., & Ren, S. (2023). Abnormal expressions of PURPL, miR-363-3p and ADAM10 predicted poor prognosis for patients with ovarian serous cystadenocarcinoma. *Journal of Cancer*, 14(15), 2908.
- [61] Wang, M., Niu, X., Wang, M., Zheng, P., Liu, X., Cao, Z., & Zhang, C. (2024). Long non-coding RNA RP11-197K6. 1 as ceRNA promotes colorectal cancer progression via miR-135a-5p/DLX5 axis. *Journal of Translational Medicine*, 22(1), 469.

- [62] Wang, Y., Zhang, X. H., Xie, S. H., Yang, L. L., Xu, E. Y., Liang, J. W., & Meng, F. H. (2023). Identification of key novel lncRNAs RP11-400N13. 3 and RP11-197K6. 1 that construct ceRNA networks associated with recurrence and metastasis in colon cancer. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 28(10), 276.
- [63] Wang, Z., Yang, B., Zhang, M., Guo, W., Wu, Z., Wang, Y., ... & Maglente, D. T. (2018). lncRNA epigenetic landscape analysis identifies EPIC1 as an oncogenic lncRNA that interacts with MYC and promotes cell-cycle progression in cancer. *Cancer cell*, 33(4), 706-720.
- [64] Wu, Q., Wei, J., Zhao, C., Xiang, S., Shi, M., & Wang, Y. (2020). Targeting LncRNA EPIC1 to inhibit human colon cancer cell progression. *Aging (Albany NY)*, 15(2), 583.
- [65] Zhang, B., Lu, H. Y., Xia, Y. H., Jiang, A. G., & Lv, Y. X. (2018). Long non-coding RNA EPIC1 promotes human lung cancer cell growth. *Biochemical and biophysical research communications*, 503(3), 1342-1348.
- [66] Xia, P., Liu, P., Fu, Q., Liu, C., Luo, Q., Zhang, X., ... & Zhang, H. (2020). Long noncoding RNA EPIC1 interacts with YAP1 to regulate the cell cycle and promote the growth of pancreatic cancer cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 522(4), 978-985.
- [67] Wang, J., Yang, S., Ji, Q., Li, Q., Zhou, F., Li, Y., ... & Zheng, Y. (2020). Long non-coding RNA EPIC1 promotes cell proliferation and motility and drug resistance in glioma. *Molecular Therapy-Oncolytics*, 17, 130-137.
- [68] Zhao, W., Zhang, D., Qin, P., Zhang, J., Cui, X., Gao, J., ... & Li, J. (2019). Long non-coding RNA EPIC1 inhibits viability and invasion of osteosarcoma cells by promoting MEF2D ubiquitylation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 128, 566-573.
- [69] Beylerli, O., Gareev, I., Sufianov, A., Ilyasova, T., & Guang, Y. (2022). Long noncoding RNAs as promising biomarkers in cancer. *Non-coding RNA research*, 7(2), 66-70. <https://doi.org/10.1016/j.ncrna.2022.02.004>