

FEOCROMOCITOMA/PARAGANGLIOMA: QUALE GENETICA?

Responsabile Editoriale
Renato Cozzi

Feocromocitoma (FEO) e paraganglioma (PGL) sono **tumori rari** di derivazione dalla cresta neurale (incidenza: 2/milione/anno), a localizzazione, rispettivamente, intra- o extra-surrenalica. I PGL si suddividono in simpatergici (localizzati a livello di torace e addome) e parasimpatergici (localizzazione a livello di testa/collo, HNPGL). Le lesioni simpatergiche si caratterizzano per la capacità di liberare catecolamine (CA).

Circa il **40%** di queste lesioni è **causato da una mutazione germinale** a carico di uno dei geni di suscettibilità: questi tumori sono quelli con il maggior tasso di ereditabilità, il che giustifica **l'indicazione a effettuare in tutti i pazienti affetti lo screening genetico sul DNA dei leucociti circolanti**.

Le mutazioni possono verificarsi a livello germinale ma anche somatico, interessando queste ultime esclusivamente le cellule del tumore (1). Fino all'avvento di piattaforme di sequenziamento di nuova generazione (NGS), lo *screening* genetico veniva effettuato mediante tecnica Sanger, che, considerando l'elevata eterogeneità genetica di questi tumori, risultava molto dispendiosa in termini di costi e di tempo, essendo effettuata separatamente sui singoli geni, con algoritmi dettati dalle caratteristiche cliniche dei pazienti e da quelle biochimiche e immuno-istochimiche del tumore. Sono state identificate mutazioni germinali in numerosi geni, ma il numero è probabilmente destinato ad aumentare (tabella).

Esiste una **correlazione genotipo/fenotipo** per questi tumori, basata su specifiche caratteristiche che possono guidare un clinico esperto nel suggerire al genetista quali geni analizzare:

- il tipo di tumore: FEO/PGL o HNPGL;
- il numero dei tumori: singolo o multipli;
- la localizzazione: intra- o extra-surrenalica;
- le caratteristiche biochimiche: adrenergico o noradrenergico o anche dopaminergico;
- le caratteristiche immuno-istochimiche: SDHB negativo o positivo;
- la presenza di metastasi.

Tutta questa problematica è ora superata dall'avvento della tecnica NGS che permette il sequenziamento contemporaneo di più geni, anche se il sequenziamento Sanger mantiene la sua rilevanza per la conferma di varianti e per le eventuali "coperture" di regioni che non vengono riconosciute durante l'analisi in NGS.

Recentemente è stata pubblicata una *consensus* sull'utilizzo dell'NGS nei pazienti affetti da FEO/PGL (2). Gli esperti che vi hanno preso parte hanno decretato che a oggi questa metodica, in particolare il sequenziamento dell'intero esoma (WES, *whole exome sequencing*), **rappresenta il miglior approccio di screening genetico**, potendo anche identificare nuovi geni di suscettibilità. Tuttavia, nei centri di diagnostica clinica si tende a privilegiare un approccio di "*targeted sequencing*", con un pannello limitato ai geni di suscettibilità conosciuti. Sono in commercio diverse piattaforme che possono essere utilizzate per questo tipo di analisi.

L'utilizzo dell'NGS da un lato permette un'analisi genetica più rapida e meno costosa, dall'altro implica il riscontro di numerose nuove varianti genetiche delle quali non conosciamo il significato clinico. La IARC (*International Agency for Reserch on Cancer*) utilizza una **classificazione delle varianti** in cinque diverse categorie: non patogenetica, probabilmente non patogenetica, VUS (**variante di significato sconosciuto**), probabilmente patogenetica e patogenetica.

Un particolare interesse è rivolto alle VUS, in quanto la loro corretta interpretazione è difficoltosa e richiede una stretta collaborazione tra Genetista ed Endocrinologo. In alcuni casi, infatti, **è possibile riscontrare una variante a carico di un gene che non concorda con il fenotipo** clinico e/o biochimico del paziente (3). In tutti i casi di VUS, a maggior ragione in presenza di dati discordanti, è necessario ricorrere a **test funzionali** condotti in laboratorio (ad esempio saggi cellulari, utilizzo di lievito o *zebrafish*, analisi in silico), **allo scopo di capire se la mutazione riscontrata abbia effettivamente un ruolo patogenetico**. Al fine di conoscere il ruolo patogenetico delle nuove varianti, è di fondamentale importanza che gli specialisti che si occupano di FEO/PGL abbiano cura di compilare appositi *database* (LOVD, *Leiden Open-source Variation Database*), così da poter condividere con il resto della comunità scientifica i risultati di analisi funzionali condotte sulle nuove varianti.

Nell'epoca dell'NGS risulta ancora cruciale il **ruolo del clinico**, che non ha più il compito di selezionare i geni da sottoporre a *screening* genetico, bensì quello ancor più arduo di **interpretare correttamente i risultati ottenuti** dall'analisi condotta con l'utilizzo della NGS.



Geni di suscettibilità per lo sviluppo di FEO/PGL (1)			
Gene	Tipo di mutazione*	Frequenza	Pannello NGS°
ATRX	S	< 5%	Comprehensive
BRAF	S	< 2%	Comprehensive
CDKN2A	S	< 2%	Comprehensive
EGLN1/PHD2	G o S	< 1%	Extended
EPAS1	M o S	6-12%	Extended
FGFR1	S	circa 1%	Comprehensive
FH	G	1-2%	Basic
H3F3A	M	< 2%	Comprehensive
HRAS	S	7-8%	Comprehensive
IDH2	S	< 0.5%	Comprehensive
KIF1B	G o S	< 5%	Extended
KMT2D	G o S	< 2%	Comprehensive
MAX	G o S	1-2%	Basic
MDH2	G	< 2%	Comprehensive
MERTK	G	< 2%	Comprehensive
MET	G	< 2%	Extended
	S	< 2-10%	
NF1	G	3%	Basic
	S	20-25%	
RET	G o S	5-6%	Basic
SDHA	G o S	< 1%	Basic
SDHAF2	G	< 1%	Extended
SDHB	G	8-10%	Basic
SDHC	G	1-2%	Basic
SDHD	G	5-7%	Basic
TMEM127	G	1-2%	Basic
TP53	S	< 5%	Comprehensive
VHL	G o S	7-10%	Basic

* S = somatica, G = germinale, M = mosaicismo

° Assegnazione a uno dei pannelli di NGS attualmente in uso per l'analisi genetica:

- *basic*: geni con chiaro ruolo patogenetico
- *extended*: pannello *basic* + geni mutati in < 1% delle forme ereditarie di FEO/PGL con prove funzionali a supporto del loro ruolo patogenetico
- *comprehensive*: pannello *basic* ed *extended* + geni a carico dei quali sono state riscontrate mutazioni somatiche e geni identificati recentemente con mutazioni somatiche o germinali per i quali ci sono ancora poche evidenze riguardo al ruolo patogenetico

Bibliografia

1. Burnichon N, Vescovo L, Amar L, et al. Integrative genomic analysis reveals somatic mutations in pheochromocytoma and paraganglioma. *Hum Mol Genet* 2011, 20: 3974–85.
2. The NGS in PPGL (NGSnPPGL) Study Group, Toledo RA, Burnichon N, et al. Consensus statement on next-generation-sequencing-based diagnostic testing of hereditary pheochromocytomas and paragangliomas. *Nat Rev Endocrinol* 2017, 13: 233-47.
3. Canu L, Rapizzi E, Zampetti B, et al. Pitfalls in genetic analysis of pheochromocytomas/paragangliomas – case reports. *J Clin Endocrinol Metab* 2014, 99: 2321-6.