

Genetické pozadie nádorov adrenomedulárneho a extraadrenálneho chromafinného tkaniva – aktuality

P. Vaňuga¹, M. Pura¹, A. Kreze jr.²

¹ Endokrinologické oddelenie Národného endokrinologického a diabetologického ústavu Ľubochňa, Slovenská republika, prednosta prim. MUDr. Peter Vaňuga, PhD.

² II. interní oddělení FN Na Bulovce Praha, přednosta prim. MUDr. Jiří Koskuba

Súhrn: Podiel vrodených/familiárnych foriem feochromocytómov sa dnes odhaduje na približne 20 % všetkých prípadov feochromocytómov. Preto už neplatí klasické „pravidlo 10“, slúžiace na zapamätanie si kľúčovej klinickej charakteristiky ochorenia. Sú identifikované viaceré gény, ktorých mutácie podmieňujú syndrómy s výskytom paragangliómov a/alebo feochromocytómov. Pribúdaním kandidátnych génov ubúdajú počty pacientov so zdanlivo sporadickými formami ochorenia. V práci je podaný prehľad aktuálnych poznatkov týkajúcich sa problematiky genetického pozadia nádorov adrenomedulárneho alebo extraadrenálneho chromafinného tkaniva.

Kľúčové slová: nadoblička – vrodený nádor – feochromocytóm – paraganglióm – neuroblastóm – ganglioneuróm – gény

Genetic background of tumors originating from adrenomedullar and extraadrenal chromaffin tissue – update

Summary: It is anticipated that an inherited/familial forms of pheochromocytomas cause approximately 20% of all pheochromocytomas. Therefore, the classic “rule of 10” axiom used to remember the key features of disorder is invalid. Various mutations in several genes have been identified, which underly syndromes with paragangliomas and/or pheochromocytomas. The more candidate genes, the less numbers of patients with apparently sporadic forms of the disorder. This review has summarized the current knowledge of the genetic background of tumors originating from adrenomedullar and extra-adrenal chromaffin tissue.

Key words: adrenal gland – inherited tumor – pheochromocytoma – paraganglioma – neuroblastoma – ganglioneuroma – genes

Prvým, všeobecne akceptovaným popisom feochromocytómu (FEO) je prípad 18-ročnej Minny Rollovej z Wittenweieru z roku 1886 [1]. Hoci v tom čase boli vedomosti o nádoroch vychádzajúcich z drene nadobličiek minimálne, vtedajšia dôkladnosť doktora Felixa Fränkela a jeho spolupracovníkov v Univerzitnej nemocnici vo Freiburgu umožnila aj po 120 rokoch dokázať, že išlo o vrodenú formu FEO v rámci syndrómu mnohopočetnej endokrinnej neoplázie typu 2 [2]. V poslednej dobe sme svedkami prehlbovania poznatkov týkajúcich sa nádorov adrenomedulárneho alebo extraadrenálneho chromafinného tkaniva. Na základe genetických štúdií pomerne veľkých kohort pacientov sa podarilo identifikovať viaceré gény, ktorých mutácie sú podkladom syndrómov s výskytom paragangliómov (PGL) a/alebo FEO (t.j. PGL-FEO syndrómy) (tab. 1) [3–5]. Pribúdaním kandidátnych génov podmieňujúcich vrodené/fami-

liárne formy nádorov ubúdajú počty pacientov so zdanlivo sporadickými formami ochorenia. Podiel vrodených nádorov sa dnes odhaduje na približne 20 % všetkých prípadov FEO [6–8]. Preto už neplatí klasické „pravidlo 10“, slúžiace na zapamätanie si kľúčovej klinickej charakteristiky ochorenia.

Podnetom na napísanie nasledujúceho textu, v ktorom je podaný prehľad aktuálnych poznatkov týkajúcich sa problematiky genetického pozadia nádorov adrenomedulárneho alebo extraadrenálneho chromafinného tkaniva, je významné životné jubileum, ktorého sa v novembri tohto roku dožíva významná osobnosť československej endokrinológie – profesor MUDr. RNDr. Luboslav Stárka, DrSc. Na rozdiel od FEO pre profesora Stárku „pravidlo 10“ platí. V prvom rade, pre autorov článku a určite aj pre celú endokrinologickú komunitu je pán profesor jedným z „top 10“ morálnych autorít a nedosiahnuteľných vzorov správania. Patrí

medzi 10 najuznávanejších odborníkov v odbore endokrinológie a je jedným asi nie z viac ako 10 endokrinológov, ktorí majú steroidogézu v malíčku. Priemerný počet jeho odborných publikácií je viac ako 10 za rok, pričom veríme, že ešte minimálne 10 rokov bude.

Pán Boh a dehydroepiandrosterón mu v tom pomáhaj.

Fechochromocytómy a paragangliómy

FEO a PGL môžu vznikať v rámci viacerých syndrómov, o ktorých sa podrobnejšie zmieňujeme nižšie, v literatúre však existujú aj popisy familiárnych ne-syndrómových prípadov FEO. Kandidátnymi lokusmi pre tieto nové formy FEO sú oblasť centroméry 2. chromozómu (2cen) a krátke ramienko 16. chromozómu (16p13) [9,10].

Von Hippel-Lindauova choroba (VHL)

VHL je ochorenie s incidenciou približne 1 : 36 000 a autozomálne dominant-

Tab. 1. Syndrómy s výskytom nádorov drene nadobličiek.

Skratka syndrómu	Typ dedičnosti	Klinický fenotyp
Carneyho triáda	?	mnohopočetné PGL, GIST, pľúcne chondrómy, ACT, unilaterálne alebo bilaterálne ACA, leiomyómy pažeráka
CSS	AD	PGL a GIST (pozri syndrómy PGL 1, PGL 3, PGL 4), vzácne ACT
MEN 2A	AD	FEO (<50% pacientov), MTC, hyperparatyreóza
MEN 2B	AD	FEO (<50% pacientov), MTC, škvrny vzhľadu café-au-lait, kožné a slizničné neurinómy, ganglioneuromatóza, marfanoidný habitus
MEN 4	AD	nádory hypofýzy, prištítnych teliesok, renálny angiomyolipóm, karcinóm semenníkov, na zvieracom modeli aj bilaterálna hyperplázia drene nadobličiek/bilaterálne FEO
NF 1	AD	škvrny vzhľadu café-au-lait, kožné neurofibrómy, nádory periférneho a centrálného nervového systému, FEO (2% pacientov), periampulárne NET, hyperplázia submukózných alebo myenterických nervových plexov, nádory zo Schwannových buniek, GIST, makrocefália, skolióza, pseudoartróza, epilepsia, myeloidná leukémia v detskom veku
PGL 1	AD	solitárne alebo viacpočetné HNPGL, menej často PGL a kombinácie PGL ± FEO, HN _{PGL} ± PGL ± FEO, PGL ± RCC, PGL ± GIST
PGL 3	AD	HN _{PGL} , menej často PGL a kombinácie PGL ± FEO, HN _{PGL} ± PGL ± FEO, PGL ± RCC, PGL ± GIST
PGL 4	AD	najčastejšie solitárne abdominálne PGL (vrátane panvy a retroperitonea), menej hrudné, mediastinálne PGL, HN _{PGL} , menej často viacpočetné PGL a kombinácie PGL ± FEO, HN _{PGL} ± PGL ± FEO, PGL ± RCC, PGL ± GIST; pomerne často malígne (35%)
VHL	AD	FEO (<40% pacientov), hemangiómy/hemangioblastómy mozočku a sietnice, bilaterálny multifokálny CCRCC, cysty obličiek, pankreasu, nadsemenníkov, NET pankreasu, hyperparatyreóza

ACA – adrenokortikálny adenóm, ACT – adrenokortikálny tumor, AD – autozomálne dominantný, CCRCC – svetlobunkový karcinóm obličiek (clear cell renal cell carcinoma), CSS – Carney-Stratakisov syndróm (dyáda), FEO – feochromocytóm, HN_{PGL} – paraganglióm hlavy a krku (head & neck paraganglioma), GIST – gastrointestinálny stromálny tumor, MEN 2A – syndróm mnohopočetnej endokrinnnej neoplázie typu 2A, MEN 2B – syndróm mnohopočetnej endokrinnnej neoplázie typu 2B, MTC – medulárny karcinóm štítnej žľazy (medullary thyroid cancer), NET – neuroendokrinný tumor, NF 1 – neurofibromatóza 1. typu, PGL – paraganglióm, PGL 1 – paragangliomatóza 1. typu, PGL 3 – paragangliomatóza 3. typu, PGL 4 – paragangliomatóza 4. typu, RCC – karcinóm obličiek (renal cell cancer), VHL – von Hippel-Lindauova choroba

ným typom dedičnosti, ktoré predisponuje pacientov na viacpočetné vaskularizované nádory (tab. 1 a 2). VHL vzniká ako dôsledok inaktivačnej mutácie tumor-supresorového génu *VHL*, pričom približne v 20% prípadov ide o de novo mutácie bez pozitívnej rodinnej anamnézy [11]. VHL sa rozdeľuje na

typ 1, pri ktorom môžu mať postihnutí jedinci hemangioblastómy a adenokarcinóm obličiek, ale nie FEO, a typ 2, kde minimálne 1 postihnutý jedinec má FEO. Pri VHL koreluje genotyp s fenotypom, najmä čo sa týka prítomnosti FEO [11]. V rodinách s VHL typu 1 dominujú veľké delécie a bodové mutácie

génu, ktoré vedú ku skráteniu polypeptidového reťazca, väčšina pacientov s VHL typu 2 má bodové missense mutácie [11,12]. VHL je najčastejšou príčinou familiárneho FEO, ktorý v závislosti od špecifickej mutácie postihuje 10–25% pacientov a diagnostikuje sa veku asi 20 rokov [7,11]. Pre vznik FEO pri VHL je okrem germinatívnej mutácie jednej alely *VHL* génu nutná strata aktivity druhej alely na somatickej úrovni. Produkty génu *VHL* (súhrnne nazývané pVHL) sú súčasťou ubiquitínového komplexu, ktorý viaže ubiquitín na substráty, čím ich vystavuje degradácii v proteazómoch [11,13]. Jeden z cieľových substrátov pre ubiquitín ligázový komplex E3 obsahujúci pVHL je HIF- α (transkripčný faktor aktivujúci hypoxiou-indukovateľné gény), pričom práve dysregulácia HIF- α zohráva kľúčovú úlohu v patogenéze FEO a/alebo PGL pri mutáciách génov *VHL* a *SDHx* (pozri nižšie) [4,13].

Mnohopočetná endokrinná neoplázia typ 1 (MEN 1)

Syndróm MEN 1 je autozomálne dominantným ochorením s výskytom nádorov endokrinných a neendokrinných orgánov. Napriek tomu, že u pacientov s MEN 1 sa najčastejšie vyskytujú hormonálne inaktívne benígne adrenokortikálne adenómy, zriedkavo prípady periférneho hyperkortizolizmu a primárneho aldosteronizmu, boli popísané aj prípady pacientov s unilaterálnym FEO [6,14].

Mnohopočetná endokrinná neoplázia typ 2 (MEN 2)

Syndróm MEN 2 je ochorením s autozomálne dominantným typom dedičnosti a s incidenciou 1 : 40 000. Aktívne mutácie *RET*-protoonkogénu spôsobujú konštitučnú aktiváciu tyrozínkinázového receptora [15]. So vznikom FEO v rámci MEN 2A sa spájajú germinatívne mutácie v kodónoch 611, 618, 620, 634. Riziko vzniku FEO je vyššie pri mutáciách v kodóne 634. Vznik FEO pri MEN 2B podmieňujú mutácie v kodónoch 883 a 918 [6].

Tab. 2. Prehľad hereditárnych foriem feochromocytómov a paragangliómov. Podľa [3].

	MEN 2	VHL	NF1	PGL 1	PGL 2	PGL 3	PGL 4	PGL	PGL
gén	<i>RET</i>	<i>VHL</i>	<i>NF1</i>	<i>SDHD</i>	<i>SDH5</i>	<i>SDHC</i>	<i>SDHB</i>	<i>SDHA</i>	<i>PHD2</i>
lokus	10q11.2	3p25–26	17q11.2	11q23	11q13.1	1q21	1p36	5p15	11q42.1
dedičnosť	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD
vek pri diagnóze (roky)	~34	~16	~43	~26	n.d.	~41	~34	32*	43*
FEO (%)	30–60	15–20	3–5	34	n.d.	<1	37	0*	0*
A/EA (%)	97/3	92/8	94/6	43/57	n.d.	50/50*	42/58	0/100*	0/100*
HN _{PGL} (%)	<1*	<1*	0	~80	n.d.	~100	~50	0*	0*
malígne (%)	3	4	12	<1	n.d.	0*	24	0*	0*
multifokálnosť	65	55	12	~50	n.d.	~10	~10	0*	100*

A/EA – adrenálny/extraadrenálny, AD – autozomálne dominantná, FEO – feochromocytóm, HN_{PGL} – paraganglióm v oblasti hlavy a krku (head & neck paraganglioma), MEN 2 – mnohopočetná endokrinná neoplázia typ 2, NF1 – neurofibromatóza 1. typu, *NF1* – gén pre neurofibromín, *PHD2* – gén pre dioxygenázu PHD2 (prolyl hydroxylase domain protein 2 gene), PGL 1 – paragangliomatóza 1. typu, PGL 2 – paragangliomatóza 2. typu, PGL 3 – paragangliomatóza 3. typu, PGL 4 – paragangliomatóza 4. typu, *RET* – RET-protoonkogén, *SDH5* – gén pre podjednotku A2 sukcinyldehydrogenázy (succinate dehydrogenase complex subunit A2 gene), *SDHA* – gén pre podjednotku A sukcinyldehydrogenázy (succinate dehydrogenase complex subunit A gene), *SDHB* – gén pre podjednotku B sukcinyldehydrogenázy (succinate dehydrogenase complex subunit B gene), *SDHC* – gén pre podjednotku C sukcinyldehydrogenázy (succinate dehydrogenase complex subunit C gene), *SDHD* – gén pre podjednotku D sukcinyldehydrogenázy (succinate dehydrogenase complex subunit D gene), VHL – von Hippel-Lindauova choroba, *VHL* – gén pre von Hippel-Lindauovu chorobu, *izolované prípady, n.d. – nedostupné údaje

RET ovplyvňuje proliferáciu a diferenciáciu buniek odvodených od neuroektodermu. Pri aktivačných mutáciách *RET* génu dochádza v dôsledku jeho tkanivo-špecifickej expresie k hyperplázii parafolikulárnych C-buniek v štítnej žľaze a chromafinných buniek v dreni nadobličiek, s vysokým rizikom ich následnej nádorovej transformácie. V určitom počte prípadov sa nepodarí odhaliť mutácie *RET*, pri oboch podtypoch MEN 2 syndrómu navyše existujú značné fenotypové rozdiely v rámci rodín a medzi rodinami s identickou mutáciou génu *RET*, čo svedčí pre existenciu genetických modifikátorov a/alebo ďalších lokusov, resp. kandidátnych génov [15–19].

RET je receptorom pre ligandy zo skupiny neurotrofných faktorov odvodených od gliovej bunkovej línie (GFL – glial cell-derived neurotrophic factor family of ligands), menovite GDNF (glial cell-derived neurotrophic factor), neurturín, persefín a artemín. Ligandy najskôr vytvoria komplex s ich koreceptorom zo skupiny GFRα1 až GFRα4, následne GFL-GFRα komplex aktivuje RET [15–19]. Analýzy génov

GDNF, resp. *GFRα*, zatiaľ nevedli k identifikácii germinatívnych mutácií, preto sa zdá, že mutácie *GDNF*, resp. *GFRα* nemajú veľkú úlohu v patogenéze familiárnych alebo sporadických FEO, alelické variácie lokusu *GDNF* však môžu modifikovať riziko vzniku FEO [15]. Rovnako sa doteraz nedokázali ani somatické mutácie žiadneho z génov kódujúcich GFL/GFRα, hoci gény *GFL/GFRα* sa nachádzajú v oblastiach, v ktorých sa zaznamenali alelické inbalancie napr. pri medulárnom karcinóme štítnej žľazy [19]. Boli publikované práce o polymorfizmoch génov *GFL* a ich koreceptorov, najmä génu *GFRα1* (kódujúceho GFRα1) pri familiárnych a génu *GFRα4* (kódujúceho GFRα4) pri sporadických prípadoch MTC [16,18,19]. Inou cestou skúmania vzťahu genotyp-fenotyp pri syndróme MEN 2 je štúdium rodín so zriedkavými dvojitémi germinatívnymi mutáciami *RET*-protoonkogénu. Príkladom je dvojitá mutácia C634Y/Y791F, pri ktorej sa dokázala vysoká penetrancia FEO (u 11 z 13 nositeľov mutácie), frekventný výskyt bilaterálnych nádorov (5 z 11) a najmä náchylnosť na vznik

nádorov veľkých rozmerov (5–14 cm). Pri in vitro štúdiu bol RET proteín s dvojitou mutáciou C634Y/Y791F fosforylovaný signifikantne viac ako aktivovaný nemutovaný receptor, resp. receptory so samostatnými mutáciami C634Y a Y791F [20].

Syndróm mnohopočetnej endokrinné neoplázie typ 4 (MEN 4)

Syndróm MEN 4 je novým syndrómom s autozomálne dominantným typom dedičnosti a prekrývajúcim sa fenotypom MEN 1 a MEN 2 syndrómov (tab. 1). U pacientov s MEN 4 boli identifikované germinatívne mutácie génov kódujúcich inhibítory cyklín-dependentných kináz (CDKi) s predpokladanou tumor-supresorovou aktivitou. Zo 7 známych CDKi sa zatiaľ dokázali mutácie génov *CDKN2B* (p15^{Ink4b}), *CDKN2C* (p18^{Ink4c}), *CDKN1A* (p21^{Cip1}) a *CDKN1B* (p27^{Kip1}) [21–25]. Bilaterálna hyperplázia drene a/alebo bilaterálne FEO sú súčasťou fenotypu iba na zvieracom modeli s mutáciami génu *Cdkn1b* (kódujúceho proteín p27^{Kip1}), u doteraz identifikovaných pacientov s mutáciami CDKi sa nádory vychádza-

júce z chromafinných buniek zatiaľ nedokázali [22,26,27]. Je zaujímavé, že regulátormi exprese *p27^{Kip1}* sú menín (podmieňujúci syndróm MEN 1), ako aj AIP (aryl hydrocarbon receptor-interacting protein) (predisponujúci na familiárny výskyt adenómov hypofýzy, navyše s novoozrejmou úlohou v tumorigenéze adrenokortikálnych nádorov) [22,23,28,29].

Neurofibromatóza 1. typu

NF1 je ochorenie s autozomálne dominantným typom dedičnosti, s incidenciou asi 1 : 3 000–4 000. Podkladom sú mutácie génu *NF1*, pričom vysoké percento (približne 50%) mutácií vzniká *de novo*. Génový produkt, neurofibromín, pôsobí ako tumor-supresorový gén. Jeho tumor-supresorová aktivita je daná schopnosťou regulovať RAS proto-onkogény (*Hras*, *Kras* a *Nras*) urýchľovaním inaktívácie proto-onkogénu p21ras. Inaktívacia neurofibromínu je alternatívnym mechanizmom na hyperaktiváciu MAP-kinázovej dráhy. Okrem toho NF1 inhibuje signalizačnú kaskádu NGF receptora a strata NF1 umožňuje prežívanie embryonálnych periférnych neurónov nezávisle od NGF [30].

Gén *NF1* obsahuje 57 kódujúcich exónov a je jedným z najdlhších v ľudskom genóme. Mutačnú analýzu komplikuje aj prítomnosť 36 pseudogénov. Objasnenie vzťahu genotyp-fenotyp u pacientov s NF1, navyše sťažuje nízka prevalencia FEO, ktorá sa odhaduje na 0,1–5,7% [31,32]. Mutačná analýza tak predstavuje pomerne veľký technický a logistický problém. V štúdiu 37 pacientov s FEO asociovanými s NF1 napriek rôznym stupňom poškodenia génu *NF1* Bausch et al nepozorovali výraznejšie rozdiely vo fenotype [31,32]. Stupeň fenotypových zmien pravdepodobne modulujú rôzne delécie génov v okolí *NF1* [33]. Hoci ozrejmene mutácie postihujú celú kódujúcu sekvenciu génu bez špecifických horúcich mutačných miest, najviac mutácií sa nachádza v oblasti domény bohatej na cysteín a serín, tzv. CSR domény (CSD). Výsledky štúdie nazna-

čujú, že CSD je predominantnou mutačnou oblasťou minimálne v prípade FEO asociovaných s NF1, ak nie u všetkých vrodených a sporadických FEO [32]. Pomerne novým zistením týkajúcim sa klinickej manifestácie NF1 je asociácia s gastrointestinálnymi stromálnymi nádormi (GIST). V priebehu poslednej dekády bolo publikovaných niekoľko prípadov GIST u pacientov s NF1, či už s alebo bez FEO [34]. Dôkaz somatickej inaktívácie génu *NF1* v tkanivách nádorov, pri absencii mutácií génov *KIT* alebo *PDGFRA*, jednoznačne priradzuje GIST do spektra klinických symptómov NF1 [35].

Syndrómy s paragangliómami

O genetickej predispozícii na paragangliómy (PGL), najmä hlavy a krku, sa vie minimálne 20 rokov [4], avšak iba nedávno boli identifikované gény, ktoré sú v kauzálnom vzťahu s výskytom paragangliómov. Ich podkladom sú (až na výnimky) mutácie podjednotiek B, C a D sukcinyldehydrogenázy (SDH). Gény kódujúce podjednotky SDH súhrnne zastrešuje skratka *SDHx*. SDH je enzýmový komplex mitochondriálneho dýchacieho reťazca, nevyhnutný v citrátovom cykle. V nádoroch deficitných pre SDH inhibuje akumulácia sukcinátu funkciu dioxxygenáz, čo vedie k hyperaktivite HIF. Mutácia ktorejkoľvek z podjednotiek SDH alebo strata SDH pri poškodení chromozómu vedie k poruche Krebsovho cyklu a vyúsťuje do pseudohypoxie. Preto pacienti s predispozíciou na FEO alebo PGL s mutáciami génov *VHL*, *SDHA*, *SDHB*, *SDHC* alebo *SDHD* zdieľajú poruchu systému monitorujúceho hladinu kyslíka v bunkách.

Syndrómy sa aktuálne rozčleňujú na PGL 1 (s mutáciami génu podjednotky *SDHD*), PGL 2 (mutácie génu *SDH5*), PGL 3 (mutácie podjednotky *SDHC*) a PGL 4 (mutácie podjednotky *SDHB*). Ako zriedkavá príčina PGL bola potvrdená aj mutácia génu pre podjednotku *SDHA* [4,36]. Charakteristika fenotypov jednotlivých syndrómov je uvedená v tab. 1 a 2.

Paragangliomatóza 1. typu (PGL 1)

Podkladom ochorenia sú germinatívne mutácie génu *SDHD* podjednotky D pre SDH, keď menší podiel doteraz tvoria jedinečné mutácie (14%) oproti rekurventným mutáciám (86%) [4]. Riziko vývoja viacpočetných primárnych nádorov a FEO u nositeľov mutácií génu *SDHD* zvyšujú mutácie vedúce ku skráteniu bielkoviny a život vo vysokej nadmorskej výške. Veľmi nízka nadmorská výška v Holandsku (nízka nadmorská výška zmierňuje hypoxickú stimuláciu paraganglií), v spojitosti s mis-sense mutáciami opakovane dedenými tzv. efektom zakladateľa sú preto možným vysvetlením pre nezvykle vysoké zastúpenie germinatívnych mutácií medzi zdánlivo sporadickými prípadmi HNPGI a celkovo nízke riziko FEO u holandských nositeľov mutácií *SDHD* génu. Výhradný paternálny prenos ochorenia vysvetľuje selektívna somatická strata celého maternálneho chromozómu 11 postihujúca jednak divú alelu *SDHD* a maternálne exprimovaný (zatiaľ neznámy) tumor-supresorový gén umiestnený v blízkosti *SDHD*, ktorý pôsobí cis- alebo aj trans-regulačne. Možným vysvetlením fenotypovej variability syndrómu potom môže byť práve veľkosť a lokalizácia somatických delécií normálnej alely [37].

Paragangliomatóza 2. typu (PGL 2)

Podkladom syndrómu je germinatívna mutácia génu *SDH5*, kódujúceho enzým SDHAF2 (SDH complex assembly factor 2). Tento je potrebný na flavináciu podjednotky SDHA, a tým aj na aktivitu SDH [38]. U 33 členov holandskej rodiny s PGL, nositeľov mutácie G78R, sa ochorenie manifestovalo, naopak u siedmych, ktorí zdedili mutáciu od matky, ochorenie nevzniklo (medián veku 74 rokov), čo svedčí pre podobný typ dedičnosti ako pri syndróme PGL 1 [38].

Paragangliomatóza 3. typu (PGL 3)

Podkladom ochorenia sú germinatívne mutácie génu *SDHC* pre podjednotku C pre SDH. U doteraz identifi-

kovaných pacientov, ktorých počet je zatiaľ malý, dominujú jedinečné mutácie [4].

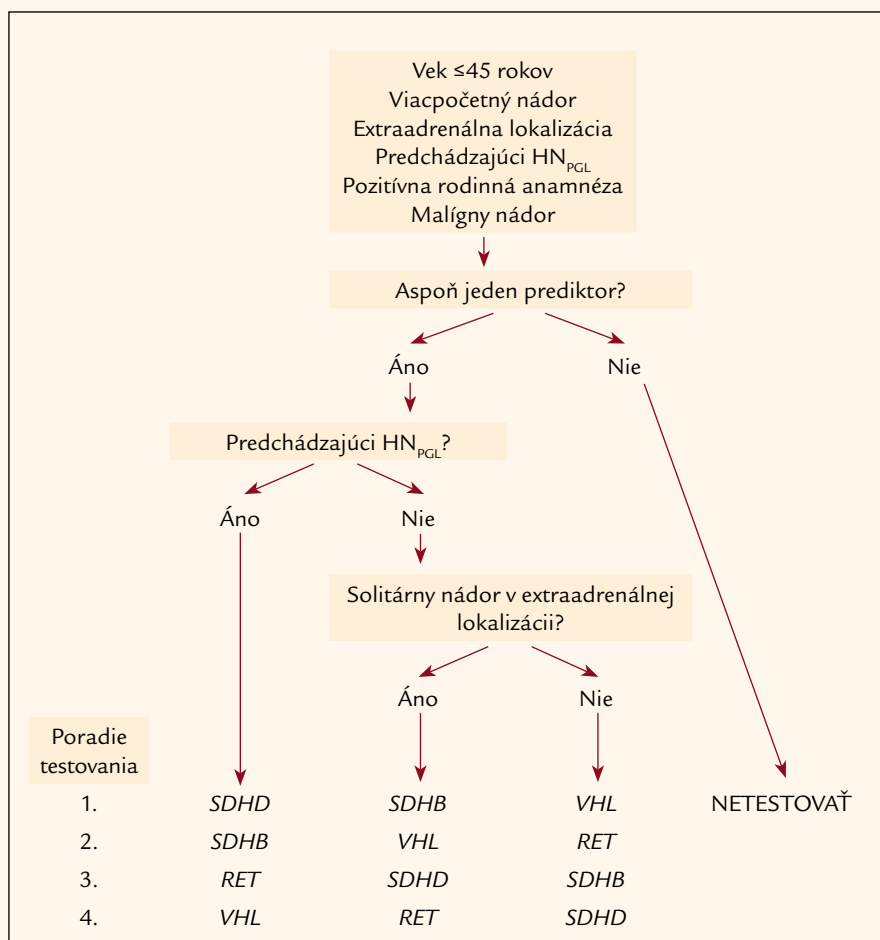
Paragangliomatóza 4. typu (PGL 4)

Podkladom ochorenia sú germinatívne mutácie génu *SDHB* pre podjednotku B pre SDH. Podobne ako syndróme PGL 1 dominujú rekurentné mutácie (73 %), svedčiacie pre efekt zakladateľa [4].

Aktuálne pribúdajú dôkazy o tom, že predispozíciou na nádory môžu byť aj mutácie iných génov zúčastňujúcich sa HIF signálnej kaskády. Pri normo-xických podmienkach sú podjednotky HIF- α hydroxylované dioxigenázami. PHD proteíny sú dioxigenázy, ktoré hydroxylujú kľúčové prolínové rezíduá HIF- α , čím umožňujú naviazanie HIF- α na proteín VHL. Spomedzi viacerých PHD proteínov je kritickým senzorom kyslíka označujúcim HIF-1 α na deštrukciu dioxigenáza PHD2. V roku 2008 bol publikovaný prípad pacienta s erytrocytózou a recidivujúcim PGL, ktorý bol nositeľom germinatívnej mutácie génu *PHD2*. Mutovaná alela (bodová mutácia c.1121A→G, p.H374R) sa spolu so stratou heterozygoty pre *PHD2* dokázala aj v tkanive nádoru, z čoho vyplýva, že *PHD2* môže mať funkciu tumor-supresorového génu [39].

Posledným potvrdeným podkladom PGL syndrómu je mutácia génu *SDHA*, kódujúceho flavoproteínovú podjednotku A komplexu SDH. Germinatívna mutácia R589W, potvrdená u francúzskej pacientky s extraadrenálnym abdominálnym PGL, viedla pri funkčných *in vivo* a *in vitro* štúdiách k rovnakým zmenám (t.j. pseudohypoxii a angiogenéze), aké spôsobujú mutácie ďalších *SDHx* génov [36]. Poruchy ďalších metabolických génov citrátového cyklu (napr. izocitrátdehydrogenáz *IDH1*, *IDH2*), ktoré by mohli podmieňovať pseudohypoxický fenotyp a vznik FEO/PGL, sú vyslovene zriedkavé [40,41].

Analýza klinických dát a genetických nálezov doteraz identifikovaných pacientov so syndrómom PGL viedla k rozpoznaní vzťahu genotyp-feno-



Obr. 1. Algoritmus genetického vyšetrenia pri zdanlivo nesyndrómovom FEO/PGL – podľa [8].

typ. Nositelia mutácií *SDHD* a *SDHC* majú pozitívnu rodinnú anamnézu častejšie (60 %) ako pacienti s mutáciami *SDHB* (30 %). Medián veku v čase diagnózy prvého nádoru pri *SDHB* a *SDHD* je 32, resp. 33 rokov oproti 38 rokom pri *SDHC*. Primárne nádory pri *SDHD* sú často viacpočetné (79 %). Naopak, 67 % pacientov s *SDHB*, resp. 73 % pacientov so *SDHC* má solitárne nádory. Malígny potenciál PGL/FEO pri syndrónoch PGL 1 a PGL 4 stúpa v rade $HN_{PGL} < FEO < PGL$ [4]. Zaujímavá je spojitosť germinatívnych mutácií *SDH* s inými nádormi. Najznámejšou, iba nedávnou ozrejmou, je dyáda PGL a GIST – Carney-Stratakisov syndróm (synonymum Carney-Stratakisova dyáda) [42,43], resp. Carneyho triáda, pri ktorej sú u pacientov navyše prítomné benígne pľúcne chondrómy [44]. Na rozdiel od sporadických GIST, je pri GIST manifesto-

vaných v rámci Carneyho triády častá generalizácia lymfatickými cievami (asi 29 % vs ≤2 %) [45]. Vyšetrenie expresie D2-40 (podoplanínu) v nádorových bunkách GIST možno využiť na identifikáciu syndromologických GIST, pozitívita D2-40 v tkanive GIST môže navyše viesť k aktívnemu pátraniu po PGL [45].

Vzhľadom na finančne nákladnú molekulárnu diagnostiku sú vypracované štatistické modely priority vyšetrenia kandidátnych génov v závislosti od klinického fenotypu. Prediktormi prítomnosti germinatívnych mutácií sú vek <45 rokov, mnohopočetný FEO, extraadrenálna lokalizácia a anamnéza paragangliómov hlavy a krku (head and neck paraganglioma – HN_{PGL}).

Pri splnení minimálne 1 z týchto kritérií je indikované genetické vyšetrenie kandidátnych génov *SDHx*, *RET* a *VHL* podľa algoritmu uvedeného na

obr. 1 [8,46]. Pri bilaterálnych a familiárnych adrenálnych FEO sa mutácie génov *SDHx* vyskytujú menej často ako mutácie génov *RET* a *VHL*. Naopak, prevalencia *SDHx* mutácií je vyššia pri sporadických extraadrenálnych nádoroch, malígnych nádoroch a u nádorov manifestovaných v detskom veku. Vo všetkých týchto prípadoch je vysoká pravdepodobnosť nálezu mutácií *SDHB* génu.

Iné nádory vychádzajúce z drene nadobličiek

Z nervového tkaniva môžu okrem feochromocytómu a/alebo paragangliómu vzniknúť aj neuroblastóm, ganglioneuroblastóm, ganglioneuróm, resp. zmiešané nádory. Základ zmiešaných nádorov tvorí feochromocytóm, ktorý dopĺňa neuroblastómová, ganglioneuroblastómová alebo ganglioneurómová zložka. Adrenálne ganglioneurómy sú vzácne, väčšinou ide o sporadické prípady, boli však publikované aj popisy familiárnych nádorov [7,47]. V rámci syndrómu MEN 2 boli popísané zmiešané nádory [48,49], ale aj čisté ganglioneurómy [50]. Preto je možné, že za určitých okolností môžu u pacientov s MEN 2 aktívne mutácie *RET*-protoonkogénu postihnúť okrem chromafinných aj iné bunky odvodené od neurálnej lišty [50]. Adrenálne neuroblastómy predstavujú nádory vzniknuté z hniezd neurálnych buniek v dreni nadobličky. Vrodená predispozícia podmieňuje menej ako 5% prípadov neuroblastómov a je heterogénna. Výskyt neuroblastómov v spojitosti s kongenitálnym centrálnym hypoventilačným syndrómom a s Hirschprungovou chorobou nasvedčuje tomu, že by mohlo ísť o poruchu génov angažovaných vo vývoji buniek odvodených od neurálnej lišty. Prvým identifikovaným génom predisponujúcim na vrodené neuroblastické nádory je gén *PHOX2B* (16p12–13) [51–56]. Mutácie génu *PHOX2B* narušujú homeodoménu *PHOX2B* proteínu. V nádoroch sa nedokázala alelická strata lokusu *PHOX2B*, onkogénny efekt týchto mu-

tácií preto podmieňuje haploinsuficiencia, aktívna mutácia alebo dominantne negatívny efekt. Podarilo sa lokalizovať ďalšie 2 lokusy predisponujúce na familiárny výskyt neroblastómov [57], konkrétne gény však zatiaľ identifikované nie sú.

Literatúra

- Fränkel F. Ein Fall von doppelseitigem, völlig latent verlaufenen Nebennierentumor und gleichzeitiger Nephritis mit Veränderungen am Circulationsapparat und Retinitis. Arch Pathol Anat Physiol Klin Med 1886; 103: 244–263.
- Neumann HP, Vortmeyer A, Schmidt D et al. Evidence of MEN-2 in the original description of classic pheochromocytoma. N Engl J Med 2007; 357: 1311–1315.
- Karagiannis A, Mikhailidis DP, Athyros VG et al. Pheochromocytoma: an update on genetics and management. Endocr Relat Cancer 2007; 14: 935–956.
- Pasini B, Stratakis CA. SDH mutations in tumorigenesis and inherited endocrine tumours: lesson from the phaeochromocytoma-paraganglioma syndromes. J Intern Med 2009; 266: 19–42.
- Erlic Z, Neumann HP. Familial pheochromocytoma. Hormones 2009; 8: 29–38.
- Koch CA, Pacak K, Chrousos GP. The molecular pathogenesis of hereditary and sporadic adrenocortical and adrenomedullary tumors. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87: 5367–5384.
- Neumann HP, Bausch B, McWhinney SR et al. Germ-line mutations in nonsyndromic pheochromocytoma. N Engl J Med 2002; 346: 1459–1466.
- Erlic Z, Rybicki L, Peczkowska M et al. Clinical predictors and algorithm for the genetic diagnosis of pheochromocytoma patients. Clin Cancer Res 2009; 15: 6378–6385.
- Dahia PL, Hao K, Rogus J et al. Novel pheochromocytoma susceptibility loci identified by integrative genomics. Cancer Res 2005; 65: 9651–9658.
- Opocher G, Schiavi F, Iacobone M et al. Familial nonsyndromic pheochromocytoma. Ann NY Acad Sci 2006; 1073: 149–155.
- Woodward ER, Maher ER. Von Hippel-Lindau disease and endocrine tumour susceptibility. Endocr Relat Cancer 2006; 13: 415–425.
- Brauch H, Kishida T, Glavac D et al. Von Hippel-Lindau (VHL) disease with pheochromocytoma in the Black Forest region of Germany: evidence for a founder effect. Hum Genet 1995; 95: 551–556.
- Eisenhofer G, Huynh TT, Pacak K et al. Distinct gene expression profiles in norepi-
- nephine- and epinephrine producing hereditary and sporadic pheochromocytomas: activation of hypoxia-driven angiogenic pathways in von Hippel-Lindau syndrome. Endocr Relat Cancer 2004; 11: 897–911.
- Langer P, Cupisti K, Bartsch DK et al. Adrenal involvement in multiple endocrine neoplasia type 1. World J Surg 2002; 26: 891–896.
- Woodward ER, Eng C, McMahon R et al. Genetic predisposition to phaeochromocytoma: analysis of candidate genes GDNF, RET and VHL. Hum Mol Genet 1997; 6: 1051–1056.
- Vanhorne JB, Andrew SD, Harrison KJ et al. A model for GFR α function and a potential modifying role in multiple endocrine neoplasia 2. Oncogene 2005; 24: 1091–1097.
- Plaza-Menacho I, Burzynski GM, de Groot JW et al. Current concepts in RET-related genetics, signalling and therapeutics. Trends Genet 2006; 22: 627–636.
- Lesueur F, Cebrian A, Robledo M et al. Polymorphisms in RET and its coreceptors and ligands as genetic modifiers of multiple endocrine neoplasia type 2A. Cancer Res 2006; 66: 1177–1180.
- Cerrato A, De Falco V, Santoro M. Molecular genetics of medullary thyroid carcinoma: the quest for novel therapeutic targets. J Mol Endocrinol 2009; 43: 143–155.
- Toledo RA, Wagner SM, Coutinho FL et al. High penetrance of pheochromocytoma associated with the novel C634Y/Y791F double germline mutation in the RET protooncogene. J Clin Endocrinol Metab 2010; 95: 1318–1327.
- Agarwal SK, Mateo CM, Marx SJ. Rare germline mutations in cyclin-dependent kinase inhibitor genes in multiple endocrine neoplasia type 1 and related states. J Clin Endocrinol Metab 2009; 94: 1826–1834.
- Pellegata NS, Quintanilla-Martinez L, Siggelkow H et al. Germ-line mutations in p27Kip1 cause a multiple endocrine neoplasia syndrome in rats and humans. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103: 15558–15563.
- Georgitsi M, Raitila A, Karhu A et al. Germline CDKN1B/p27Kip1 mutation in multiple endocrine neoplasia. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92: 3321–3325.
- Owens M, Stals K, Ellard S et al. Germ-line mutations in the CDKN1B gene encoding p27 Kip1 are a rare cause of multiple endocrine neoplasia type 1. Clin Endocrinol (Oxf) 2009; 70: 499–500.
- Igreja S, Chahal HS, Akker SA et al. Assessment of p27 (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B) and aryl hydrocarbon receptor-interacting protein (AIP) genes in multiple endocrine neoplasia (MEN1) syndrome patients without any detectable

- MEN1 gene mutations. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009; 70: 259–264.
26. Fritz A, Walch A, Piotrowska K et al. Recessive transmission of a multiple endocrine neoplasia syndrome in the rat. *Cancer Res* 2002; 62: 3048–3051.
27. Franklin DS, Godfrey VL, O'Brien DA et al. Functional collaboration between different cyclin-dependent kinase inhibitors suppresses tumor growth with distinct tissue specificity. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 6147–6158.
28. Molatore S, Kiermaier E, Jung CB et al. Characterization of a naturally-occurring p27 mutation predisposing to multiple endocrine tumors. *Mol Cancer* 2010; 9: 116.
29. Toledo RA, Mendonca BB, Fragoso MC et al. Isolated familial somatotropinoma: 11q13-LOH and gene/protein expression analysis suggests a possible involvement of AIP also in non-pituitary tumorigenesis. *Clinics* 2010; 65: 407–415.
30. Vogel KS, Brannan CI, Jenkins NA et al. Loss of neurofibromin results in neurotrophin-independent survival of embryonic sensory and sympathetic neurons. *Cell* 1995; 82: 733–742.
31. Bausch B, Koschker AC, Fassnacht M et al. Comprehensive mutation scanning of NF1 in apparently sporadic cases of pheochromocytoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 3478–3481.
32. Bausch B, Borozdin W, Mautner VF et al. Germline NF1 mutational spectra and loss-of-heterozygosity analyses in patients with pheochromocytoma and neurofibromatosis type 1. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 2784–2792.
33. Jenne DE, Tinschert S, Reimann H et al. Molecular characterization and gene content of breakpoint boundaries in patients with neurofibromatosis type 1 with 17q11.2 microdeletions. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 516–527.
34. Bouhanick B, Berry M, Hascouet S et al. Intestinal obstruction and pheochromocytoma in a patient suffering from von Recklinghausen's disease. *Clin Med Insights Endocrinol Diab* 2009; 2: 35–41.
35. Maertens O, Prenen H, Debiec-Rychter M et al. Molecular pathogenesis of multiple gastrointestinal stromal tumors in NF1 patients. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 1015–1023.
36. Burnichon N, Brière JJ, Libé R et al. SDHA is a tumor suppressor gene causing paraganglioma. *Hum Mol Genet* 2010; 19: 3011–3020.
37. Hensen EF, Jordanova ES, van Minderhout IJ et al. Somatic loss of maternal chromosome 11 causes parent-of-origin-dependent inheritance in SDHD-linked paraganglioma and pheochromocytoma families. *Oncogene* 2004; 23: 4076–4083.
38. Hao HX, Khalimonchuk O, Schradars M et al. SDH5, a gene required for flavination of succinate dehydrogenase, is mutated in paraganglioma. *Science* 2009; 325: 1139–1142.
39. Ladrone CL, Carcenac R, Leporrier M et al. PHD2 mutation and congenital erythrocytosis with paraganglioma. *N Engl J Med* 2008; 359: 2685–2692.
40. Gaal J, Burnichon N, Korpershoek E et al. Isocitrate dehydrogenase mutations are rare in pheochromocytomas and paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 1274–1278.
41. Yao L, Barontini M, Niederle B et al. Mutations of the metabolic genes IDH1, IDH2, and SDHAF2 are not major determinants of the pseudohypoxic phenotype of sporadic pheochromocytomas and paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 1469–1472.
42. McWhinney SR, Pasini B, Stratakis CA. International Carney Triad and Carney-Stratakis Syndrome Consortium. Familial gastrointestinal stromal tumors and germ-line mutations. *N Engl J Med* 2007; 357: 1054–1056.
43. Pasini B, McWhinney SR, Bei T et al. Clinical and molecular genetics of patients with the Carney-Stratakis syndrome and germline mutations of the genes coding for the succinate dehydrogenase subunits SDHB, SDHC, and SDHD. *Eur J Hum Genet* 2008; 16: 79–88.
44. Matyakhina L, Bei TA, McWhinney SR et al. Genetics of carney triad: recurrent losses at chromosome 1 but lack of germline mutations in genes associated with paragangliomas and gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 2938–2943.
45. Agaimy A, Carney JA. Lymphatics and D2-40/podoplanin expression in gastrointestinal stromal tumours of the stomach with and without lymph node metastasis: an immunohistochemical study with special reference to the Carney triad. *J Clin Pathol* 2010; 63: 229–234.
46. Neumann HP, Erlic Z, Boedeker CC et al. Clinical predictors for germline mutations in head and neck paraganglioma patients: cost reduction strategy in genetic diagnostic process as fall-out. *Cancer Res* 2009; 69: 3650–3656.
47. Koch CA, Vortmeyer AO, Zhuang Z et al. New insights into the genetics of familial chromaffin cell tumors. *Ann NY Acad Sci* 2002; 970: 11–28.
48. Brady S, Lechan RM, Schwaitzberg SD et al. Composite pheochromocytoma/ganglioneuroma of the adrenal gland associated with multiple endocrine neoplasia 2A: case report with immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol* 1997; 21: 102–108.
49. Matias-Guiu X, Garrastazu MT. Composite pheochromocytoma-ganglioneuroblastoma in a patient with multiple endocrine neoplasia type IIA. *Histopathology* 1998; 32: 281–282.
50. Lora MS, Waguespack SG, Moley JF et al. Adrenal ganglioneuromas in children with multiple endocrine neoplasia type 2: a report of two cases. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4383–4387.
51. Trochet D, Bourdeaut F, Janoueix-Lerosey I et al. Germline mutations of the paired-like homeobox 2B (PHOX2B) gene in neuroblastoma. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 761–764.
52. Mosse YP, Laudenslager M, Khazi D et al. Germline PHOX2B mutation in hereditary neuroblastoma. *Am J Hum Genet* 2004; 75: 727–730.
53. van Limpt V, Schramm A, van Laken A et al. The Phox2B homeobox gene is mutated in sporadic neuroblastomas. *Oncogene* 2004; 23: 9280–9288.
54. Bourdeaut F, Trochet D, Janoueix-Lerosey I et al. Germline mutations of the paired-like homeobox 2B (PHOX2B) gene in neuroblastoma. *Cancer Lett* 2005; 228: 51–58.
55. Perri P, Bachetti T, Longo L et al. PHOX2B mutations and genetic predisposition to neuroblastoma. *Oncogene* 2005; 24: 3050–3053.
56. Serra A, Häberle B, König IR et al. Rare occurrence of PHOX2b mutations in sporadic neuroblastomas. *J Pediatr Hematol Oncol* 2008; 30: 728–732.
57. Longo L, Panza E, Schena F. Genetic predisposition to familial neuroblastoma: identification of two novel genomic regions at 2p and 12p. *Hum Hered* 2007; 63: 205–211.

prim. MUDr. Peter Vaňuga, PhD.
www.nedu.sk
e-mail: peter.vanuga@nedu.sk

Doručeno do redakce: 30. 9. 2010