Paragangliomas/ feocromocitomas desde una perspectiva genómica

Ignacio Fernández Peña
UGC Endocrinología y Nutrición Hospital Universitario de Valme

1. Introducción
2. Cuadros sindrómicos
    - 2.1 VHL
    - 2.2 MEN2
    - 2.3 NF1
    - 2.4 Paraganglioma familiar
3. Otras mutaciones en línea germinal
4. Avances diagnósticos desde una perspectiva genómica
5. Diagnóstico preimplantacional
6. Realidad/Limitaciones actuales
7. Conclusiones

1.Introducción

- Origen: en cresta neural(células cromafines)→ desarrollo de paraganglios simpáticos y parasimpáticos

  - Médula suprarrenal→feocromocitomas
  - Ganglios espinales→ paragangliomas

- Localización:
  - Tórax y abdomen(S)→secreción de catecolaminas
  - Cabeza y cuello(PS)→no secretores

- Prevalencia:0.2-0.6% de pacientes con HTA

1.Introducción

- Mayoría benignos (SG 10 años 96%)

- 10% de feocromocitomas y hasta 40% de paragangliomas desarrollan metástasis→SG <50% 5 años
  - La presencia de mutación germinal SDHB es el único criterio fuertemente asociado a un mayor riesgo de metástasis (RR 2,7)

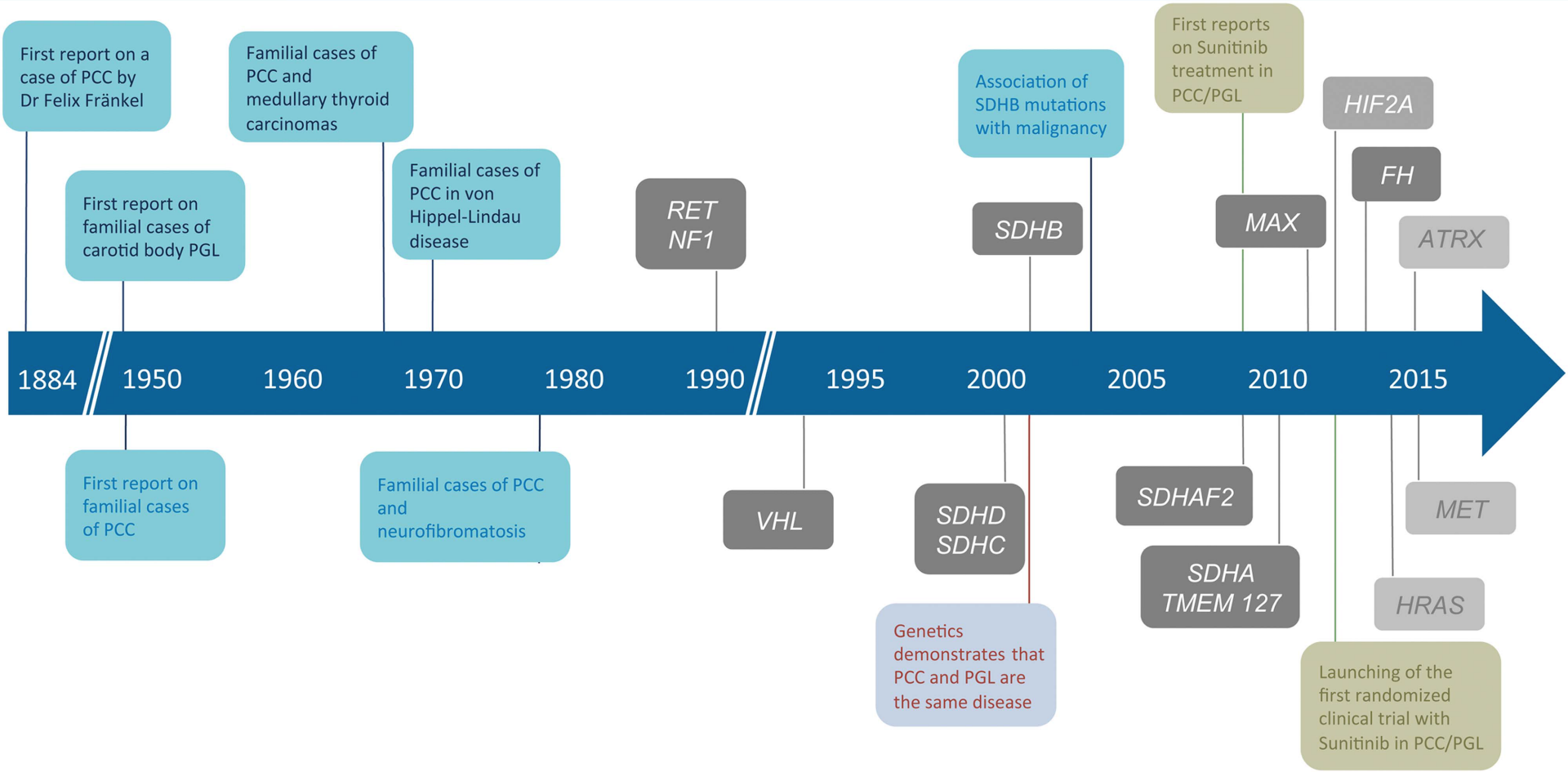
1.Introducción

- Gran determinismo genético

Tienen el mayor grado de heredabilidad conocido en las neoplasias humanas

- Hasta un 40% con mutaciones en línea germinal
  - Herencia AD (cuadros sindrómicos)
  - RET,VHL,NF1,SDHx,FH,TMEM127,MAX,KIF1 β
- Hasta un 30% presentan mutaciones somáticas
  - RET,VHL,NF1,HIF2A,ATRX,HRAS

1.Introducción



1.Introducción

- El cribaje sistemático de todos los genes relacionados es caro y requiere mucho tiempo

→ Se requieren algoritmos basados en la presencia de patologías asociadas o rasgos clínicos o moleculares carácterísticos

→ Balance entre el coste del test y el impacto psicológico en el paciente y su familia al no realizarlo

2.Síndromes familiares

- Historia familiar
- Edad de aparición precoz (24 años vs 43 años en esporádicos)
- Bilaterales/metástasis
- Multifocales
- Extraadrenales
- Tinción SDHB/SDHA en pieza tumoral

Lancet Oncol. 2009 August ; 10(8): 764–771. doi:10.1016/S1470-2045(09)70164-0.

An immunohistochemical procedure to detect patients with paraganglioma and phaeochromocytoma with germline *SDHB*, *SDHC*, or *SDHD* gene mutations: a retrospective and prospective analysis

Sensibilidad 100%,Especificidad 84% para la detección de mutación SDHx

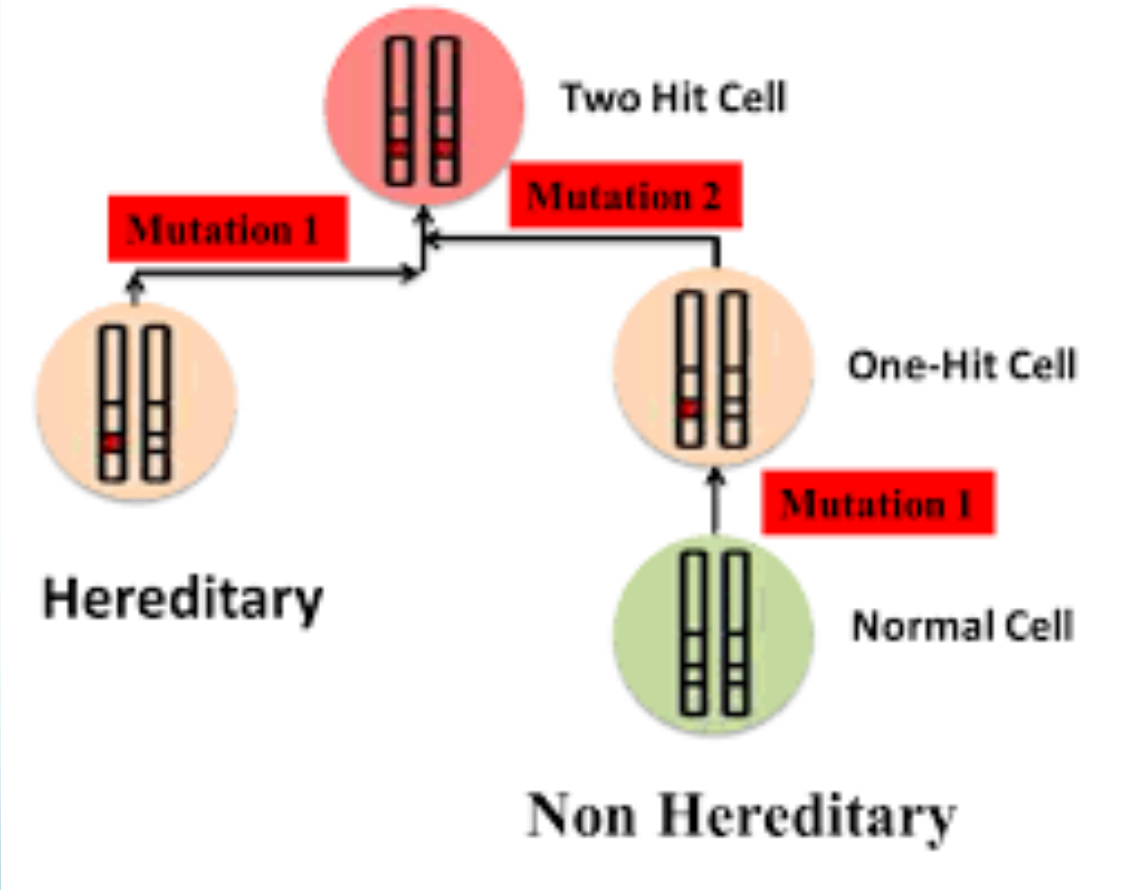
SDHA Immunohistochemistry Detects Germline *SDHA* Gene Mutations in Apparently Sporadic Paragangliomas and Pheochromocytomas

J Clin Endocrinol Metab, September 2011, 96(9):E1472–E1476

2.1Enfermedad de Von Hippel-Lindau

- AD
- Incidencia 1/36000
- Manifestaciones iniciales en infancia o adolescencia (media 26 años)
- Cromosoma 3p25.Gen VHL es supresor de tumores

Two-hit model (hipótesis de Knudson)



2.1Enfermedad de Von Hippel-Lindau

- Factores inducibles por hipoxia HIFa y HIF2a son regulados por VHLp (permite su degradación por proteosomas)

- **HIPOXIA LIKE en VHL**→Aumento de HIF1a y HIF2a→transcripción proteica→angiogénesis
  - Matriz extracelular
  - Regulación de cilios de centrosomas y microtúbulos
  - Control del ciclo celular

2.1Enfermedad de Von Hippel-Lindau

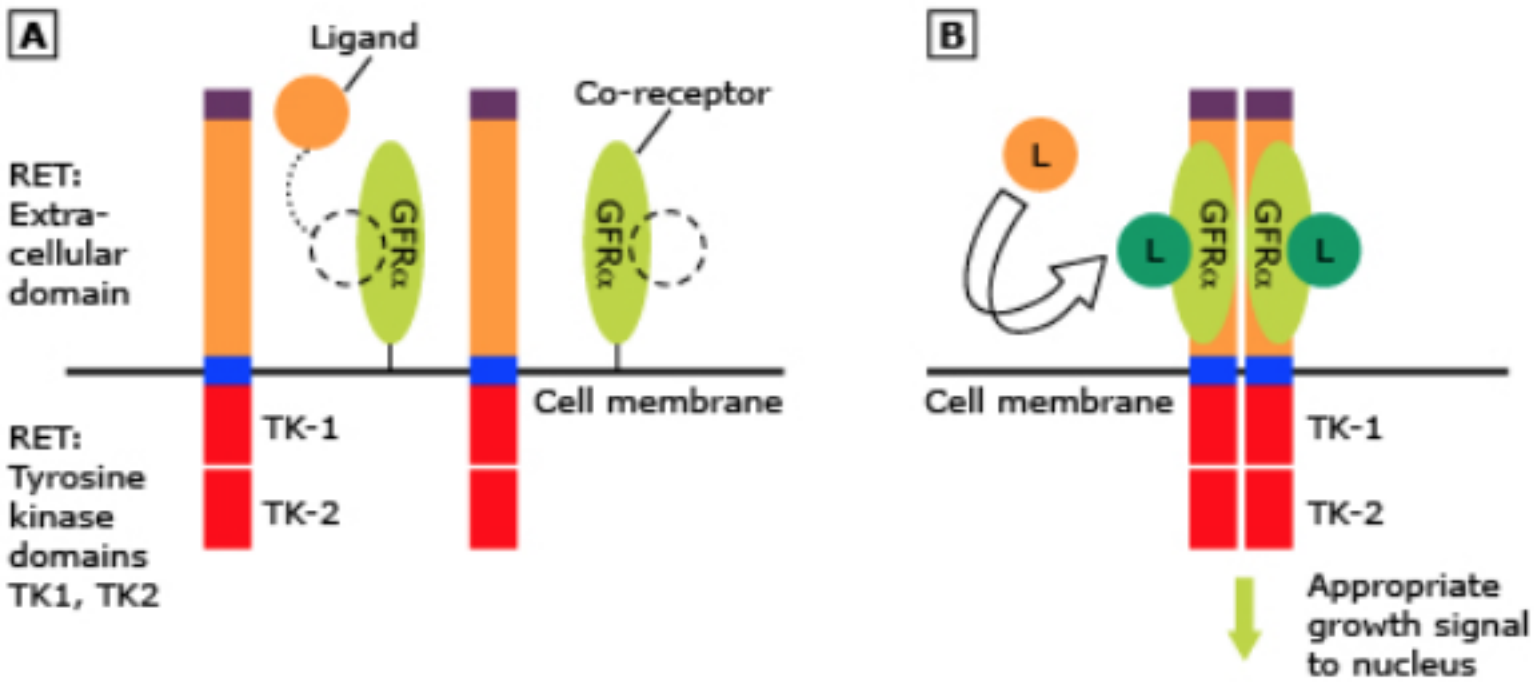
- Feocromocitoma (frecuentemente bilateral)
- Paraganglioma(mediastínico,abdominal,pélvico)
- Hemangioblastoma(cerebelo, tronco encefálico,médula espinal)
- Angiomas retinianos
- Carcinoma renal de células claras
- Tumores neuroendocrinos pancreáticos
- Tumores del saco endolinfático en el oído medio
- Cistoadenomas serosos de páncreas
- Cistoadenomas de epidídimo y ligamento ancho

-Gen supresor VHL 3p25-26).300 mutaciones en línea germinal que conllevan pérdida de función de la proteína (98% missense)

2.2 MEN 2

- AD con alta penetrancia
- RETp es un receptor de TK→crecimiento y diferenciación de distintos tejidos (cresta neural)
- Ligandos GDNF, TNT, artemina, persefina +cofactores→dimerización de ret-autofosforilación→ACTIVACIÓN
- Mutaciones en línea germinal→ganancia de función

RET receptor tyrosine kinase: normal situation



No ligand binding: no signal
RET and co-receptor GFRα
in monomeric form
- No activation of RET kinase
- No signal transduction
- No cell division

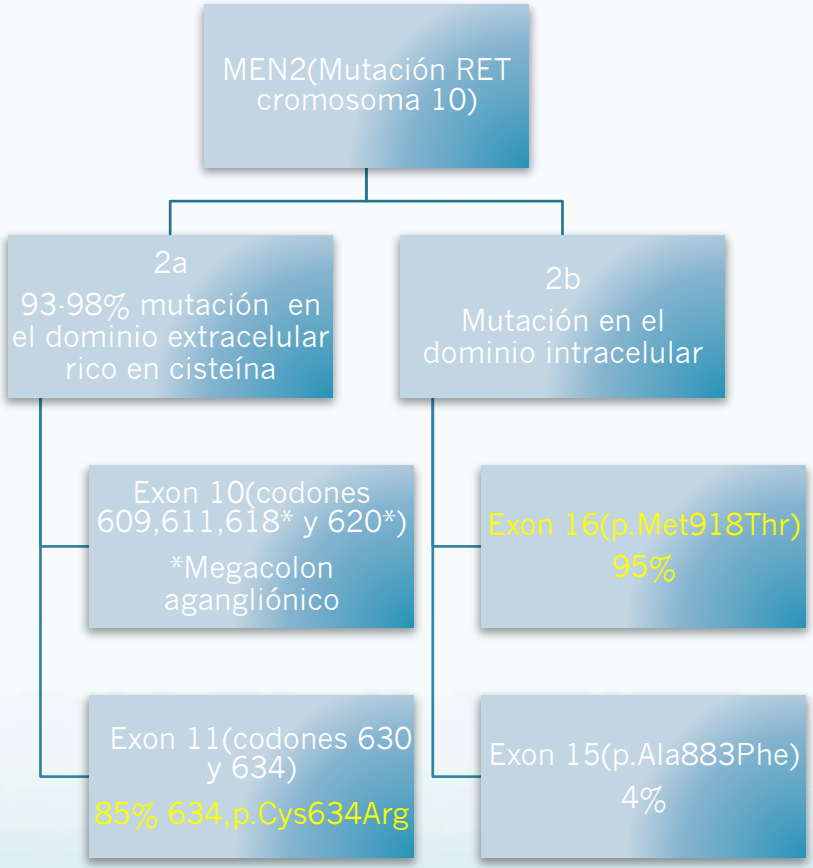
Ligand binds to co-receptor
Interaction with co-receptor:
RET and RET dimerization
- Activation of RET kinase
- Signal transduction
- Normal cell division

GFRa: co-receptor glial cell line-derived neurotrophic factor-receptor family a.

2.2 MEN 2

- **MEN2a 95%**

- Cáncer medular de tiroides en todos los pacientes
- Feocromocitoma(50 %)
- Hiperparatiroidismo primario(20%)
- Liquen cutáneo amiloide(5%)



- **MEN2b 5%**

- Cáncer medular de tiroides en todos los pacientes
- Feocromocitoma(50%)
- Neuromas mucocutáneos
- Deformidades óseas
- Laxitud articular
- Ganglioneuromas intestinales(megacolon hiperganglionico
- Mielinización de nervios corneales

Dd MEN2 Y VHL

MEN2 más sintomáticos (>incidencia de HTA, paroxística)

MEN 2 elevación de metanefrina/VHL elevación de normetanefrina

VHL tienen una menos secreción de catecolaminas

- Menor expresión de tirosina hidroxilasa
- Menor expresión de PNMT
- Menores depósitos de epinefrina

2.3 Neurofibromatosis tipo 1

- AD (50% familiares)
- Incidencia 1/2600-3000
- Mutaciones en gen NF1 (17q11.2)→Neurofibromina(p):
  - Expresión en cerebro,riñón,bazo y timo
  - GTPase activate proteins→ras p21→stem cell factor / c-kit,mTOR,MAPK
  - Escasa producción proteica (amplio espectro clínico)
  - Penetrancia completa

2.3 Neurofibromatosis tipo 1

- AD
- Neurofibromas
- Manchas café con leche
- Efélides axilares e inguinales
- Hamartomas en iris(nódulos de Lisch)
- Anomalías óseas
- Gliomas SNC
- Déficit cognitivos
- **2% tumores secretores de catecolaminas**

Feocromocitoma solitario benigno

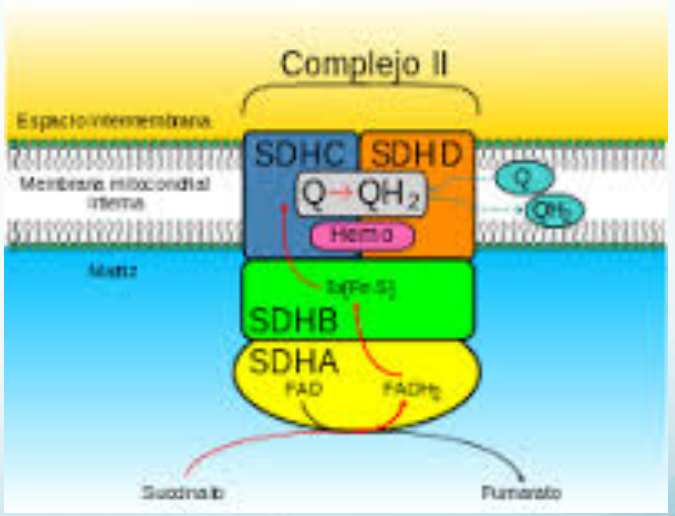
Feocromocitoma bilateral adrenal

Paraganglioma periadrenal abdominal

2.4 Paraganglioma familiar

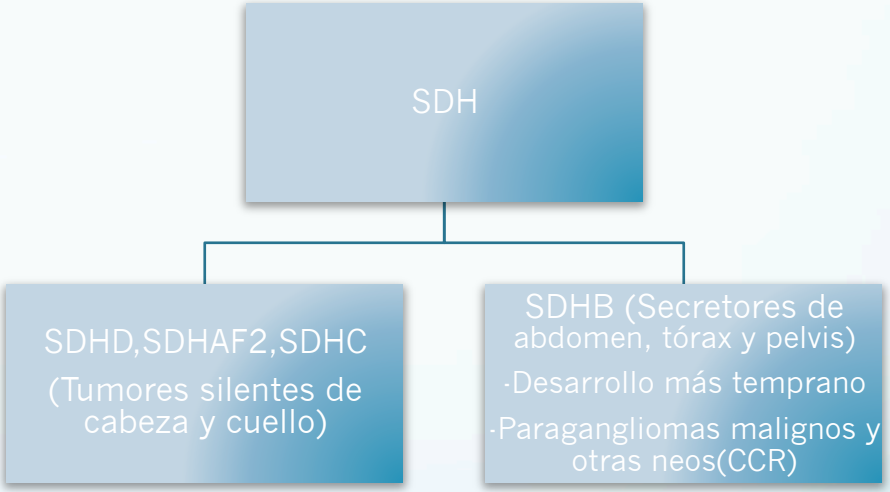
- Complejo SDH (supresor de tumores)→ control del metabolismo energético (enzima del ciclo del ácido tricarboxílico y complejo II de la cadena respiratoria mitocondrial)

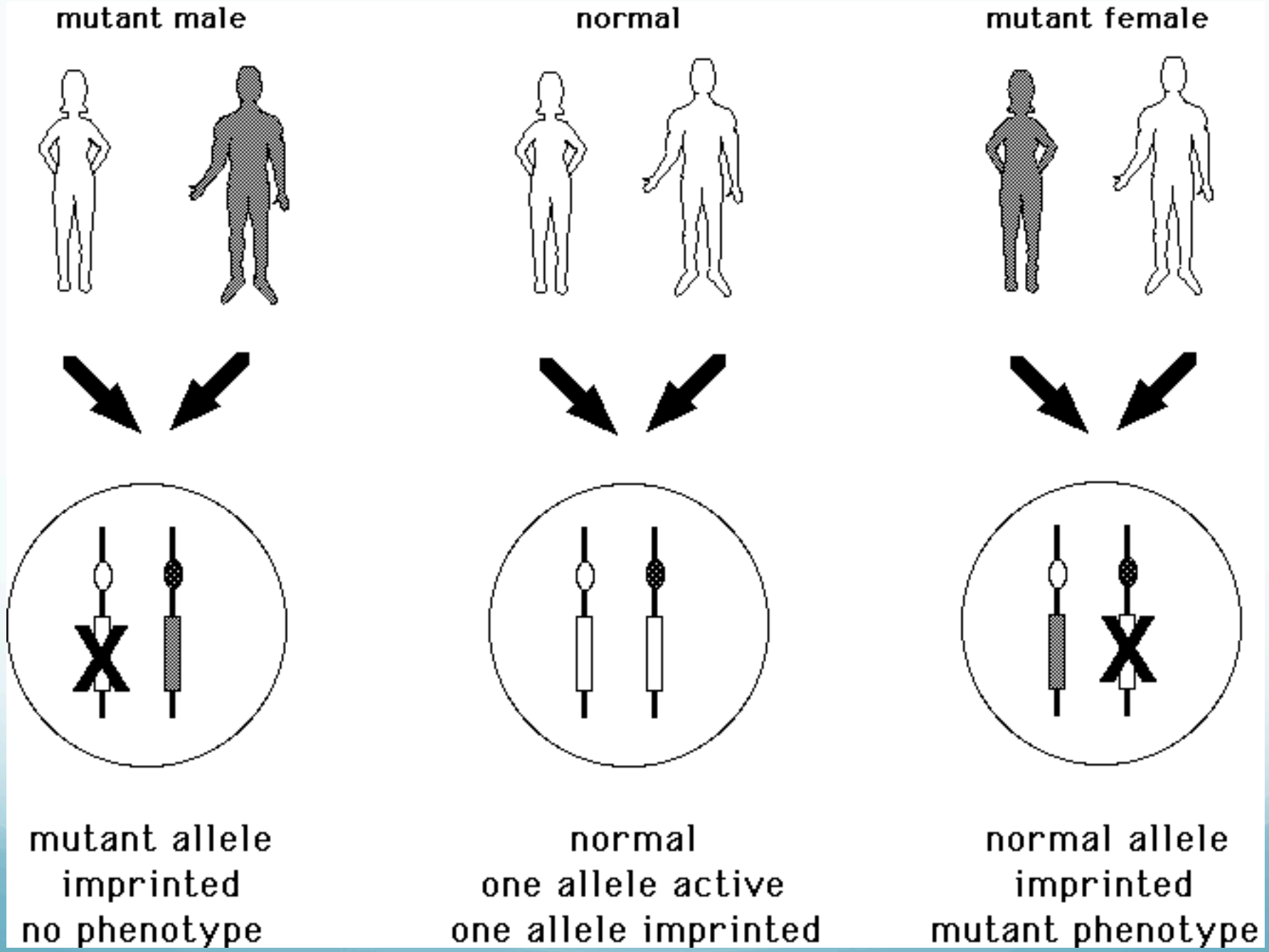
  - SDHD(11q23)
  - SDHB (1.p36.1-35)
  - SDHC(1q21)
  - SDHAF2(11q12.2)
  - SDHA*



2.4 Paraganglioma familiar

- AD
- Cabeza y cuello (menos frecuentes en tórax,abdomen,pelvis y vejiga)
- Secreción en función de localización(cabeza y cuello 5%/ abdomen 50%)
- Imprinting materno/alta penetrancia paterna en SDHD y SDHAF2

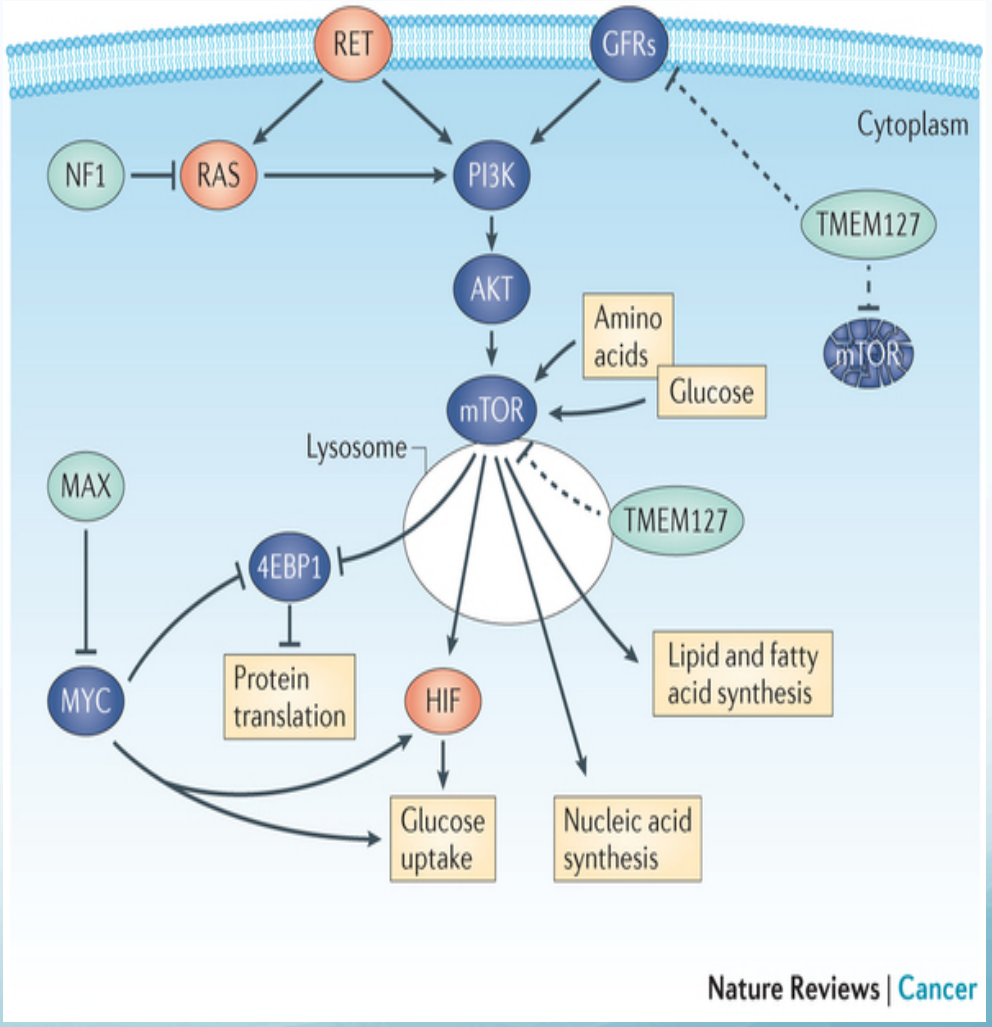



mutant male
normal
mutant female
mutant allele
imprinted
no phenotype
normal
one allele active
one allele imprinted
normal allele
imprinted
mutant phenotype

3.Otras mutaciones en línea germinal

- **TMEM127**:
  - Feocromocitoma familiar y esporádico
  - Regulador negativo de la proteína mTOR (11/547-2% en feocromocitoma esporádico-tumor adrenal unilateral con historia familiar negativa)

- **MAX**:
  - Feocromocitoma familiar
  - .Componente de MYC-MAX-MXD1, factores de transcripción que regulan la proliferación,diferenciación y apoptosis celular.
  - 8.5% pacientes con sospecha de feocromocitoma familiar



3.Otras mutaciones en línea germinal

Germline mutations in *FH* confer predisposition to malignant pheochromocytomas and paragangliomas

Luis Jaime Castro-Vega[1,2,†], Alexandre Buffet[1,2,3,†], Aguirre A. De Cubas[4,†], Alberto Cascón[4,
Mélanie Menara[1,2], Emmanuel Khalifa[1,2,3], Laurence Amar[1,2,6], Sharona Azriel[7],
Isabelle Bourdeau[8], Olivier Chabre[9], Maria Currás-Freixes[4], Valérie Franco-Vidal[10],
Marine Guillaud-Bataille[11], Christophe Simian[3], Aurélie Morin[1,2], Rocío Letón[4,5],
Álvaro Gómez-Graña[4], Patrick J. Pollard[12], Pierre Rustin[13], Mercedes Robledo[4,5,‡],
Judith Favier[1,2,†] and Anne-Paule Gimenez-Roqueplo[1,2,3,‡,*]

Human Molecular Genetics, 2014, Vol. 23, No. 9

- Pérdida de función de Fumarato Hidratasa(FH)
- Modificaciones epigenéticas similares a las de SDHB
- Fenotipo metastásico, multiples tumores

3.Otras mutaciones en línea germinal

Whole-Exome Sequencing Identifies *MDH2* as a New Familial Paraganglioma Gene

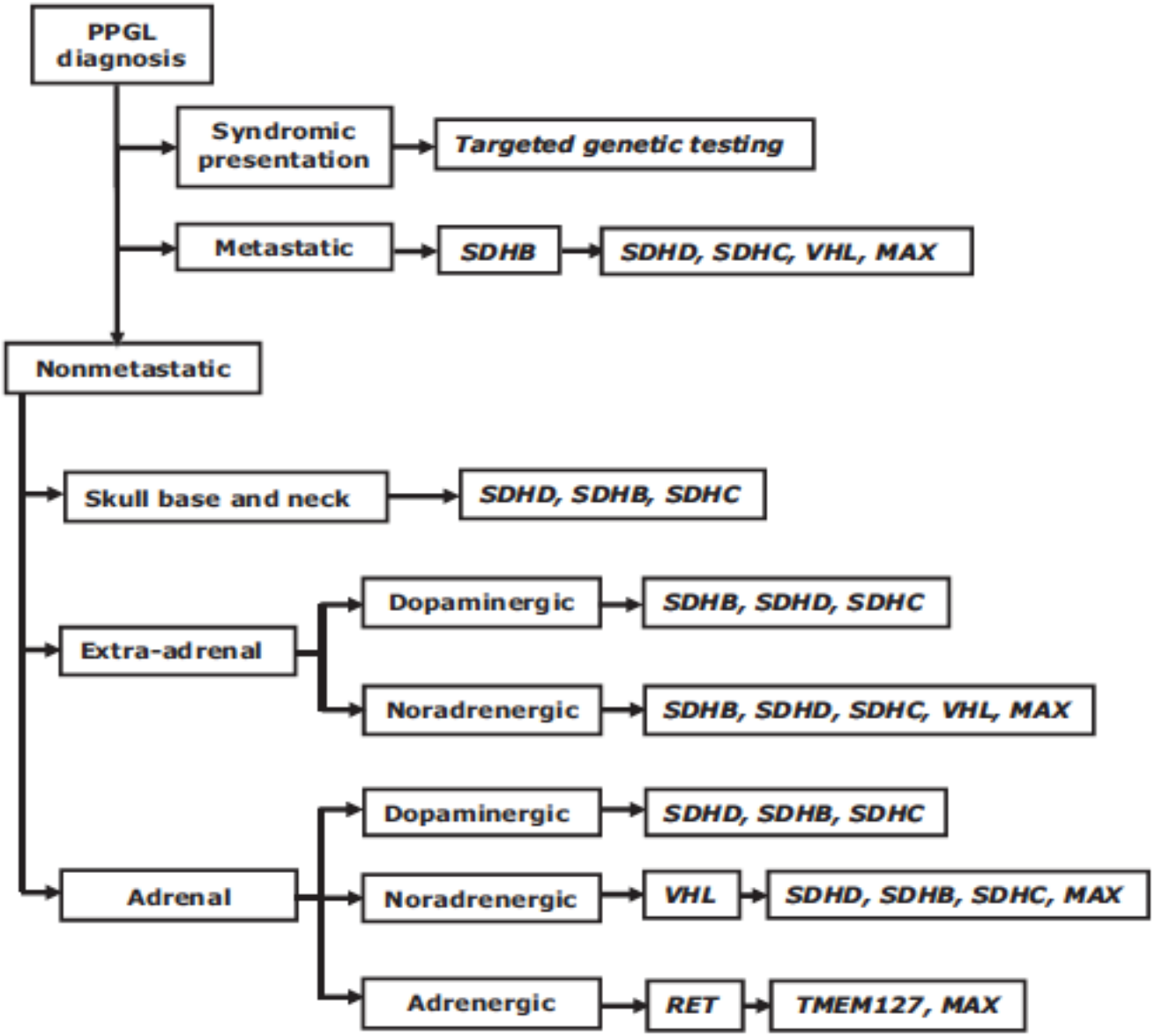
Alberto Cascón*, Iñaki Comino-Méndez*, María Currás-Freixes, Aguirre A. de Cubas, Laura Contreras, Susan Richter, Mirko Peitzsch, Veronika Mancikova, Lucía Inglada-Pérez, Andrés Pérez-Barrios, María Calatayud, Sharona Azriel, Rosa Villar-Vicente, Javier Aller, Fernando Setién, Sebastian Moran, Juan F. Garcia, Ana Río-Machín, Rocío Letón, Álvaro Gómez-Graña, María Apellániz-Ruiz, Giovanna Roncador, Manel Esteller, Cristina Rodríguez-Antona, Jorgina Satrústegui, Graeme Eisenhofer, Miguel Urioste, Mercedes Robledo

JNCI J Natl Cancer Inst (2015) 107(5): djv053

- MDH2 asociado al desarrollo de neuroblastomas-paragangliomas
- Gen supresor de tumores
- Alteración en el ciclo de Krebs→Desarrollo tumoral

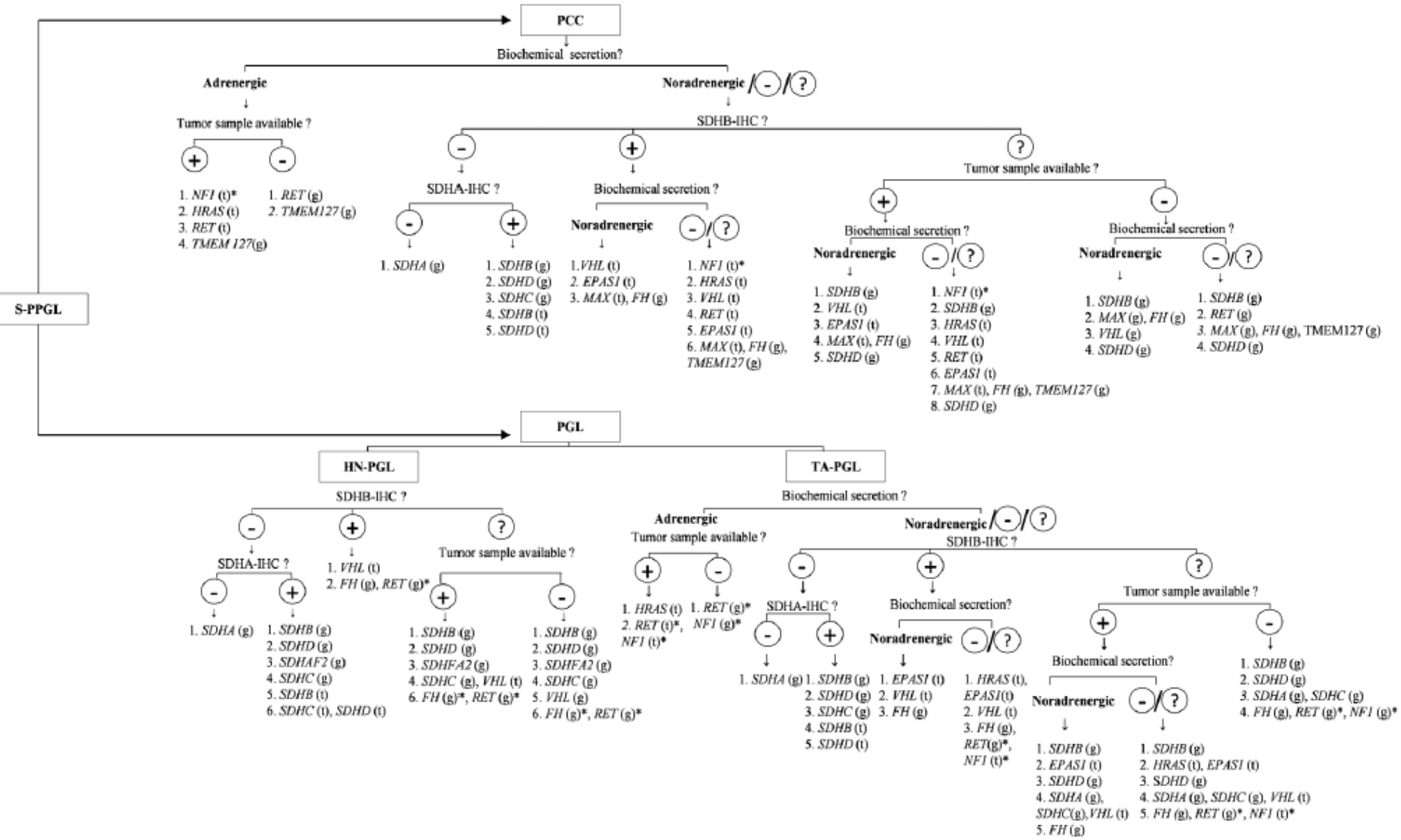
Pheochromocytoma and Paraganglioma:

An Endocrine Society Clinical Practice Guideline



Recommendations for somatic and germline genetic testing of single pheochromocytoma and paraganglioma based on findings from a series of 329 patients

Currás-Freixes M, *et al. J Med Genet* 2015;**52**:647–656. doi:10.1136/jmedgenet-2015-103218



4.AVANCES DIAGNÓSTICOS EN LOS PARAGANGLIOMAS Y FEOCROMOCITOMAS DESDE UNA PERSPECTIVA GENÓMICA

4.1.Perfiles de expresión génica

4.2.Patrón de inestabilidad genómica

4.3.Caracterización de mutaciones somáticas

4.4.Modificación en la metilación del ADN

4.5.Modificaciones en el MiRNA

4.6.Aplicación en la medicina de precisión

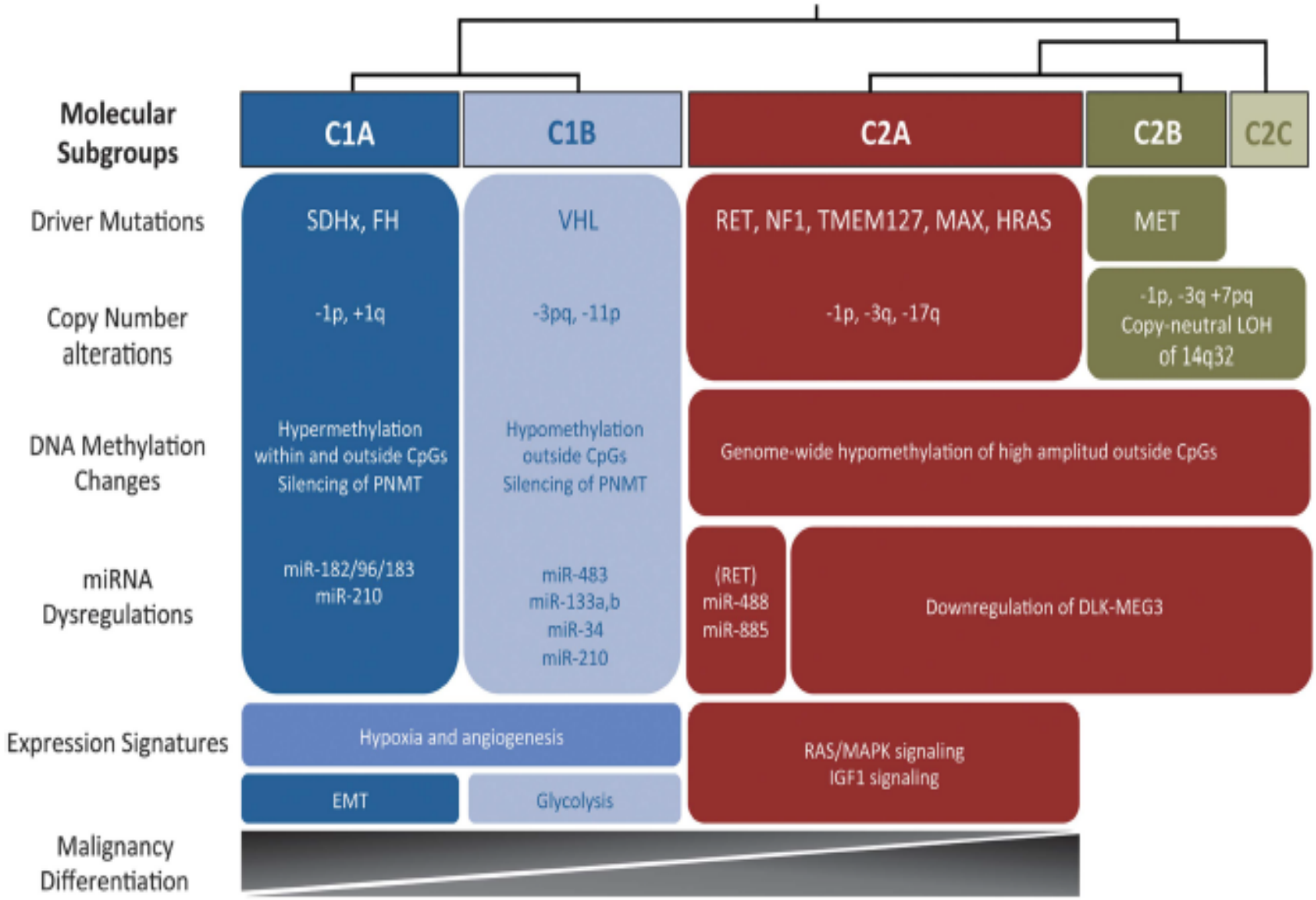
4.7.Secuenciación masiva

4.1.Perfiles de expresión génica

- **Cluster 1 (NA): SDHx, VHL,FH→***Vías hipoxia-dependientes*→estimulación de angiogénesis y organización de la matriz extracelular/inhibición de genes implicados en cadena de transporte de electrones (ciclo de Krebs)

  - SDHx,FH→ EMT (transición epitelial→mesenquimal)
  - VHL →Glucólisis (efecto Warburg)

- **Cluster 2 (NA y A):genes que codifican proteínas que activan la** *Vía de las quinasas* RET,NF1,TMEM127,MAX,HRAS,MET→Vías RAS/MAPK/IGF-1→Estimulación de la diferenciación neuroendocrina


Molecular Subgroups
C1A
C1B
C2A
C2B
C2C
Driver Mutations
SDHx, FH
VHL
RET, NF1, TMEM127, MAX, HRAS
MET
Copy Number alterations
-1p, +1q
-3pq, -11p
-1p, -3q, -17q
-1p, -3q +7pq
Copy-neutral LOH of 14q32
DNA Methylation Changes
Hypermethylation within and outside CpGs
Silencing of PNMT
Hypomethylation outside CpGs
Silencing of PNMT
Genome-wide hypomethylation of high amplitud outside CpGs
miRNA Dysregulations
miR-182/96/183
miR-210
miR-483
miR-133a,b
miR-34
miR-210
(RET)
miR-488
miR-885
Downregulation of DLK-MEG3
Expression Signatures
Hypoxia and angiogenesis
EMT
Glycolysis
RAS/MAPK signaling
IGF1 signaling
Malignancy Differentiation

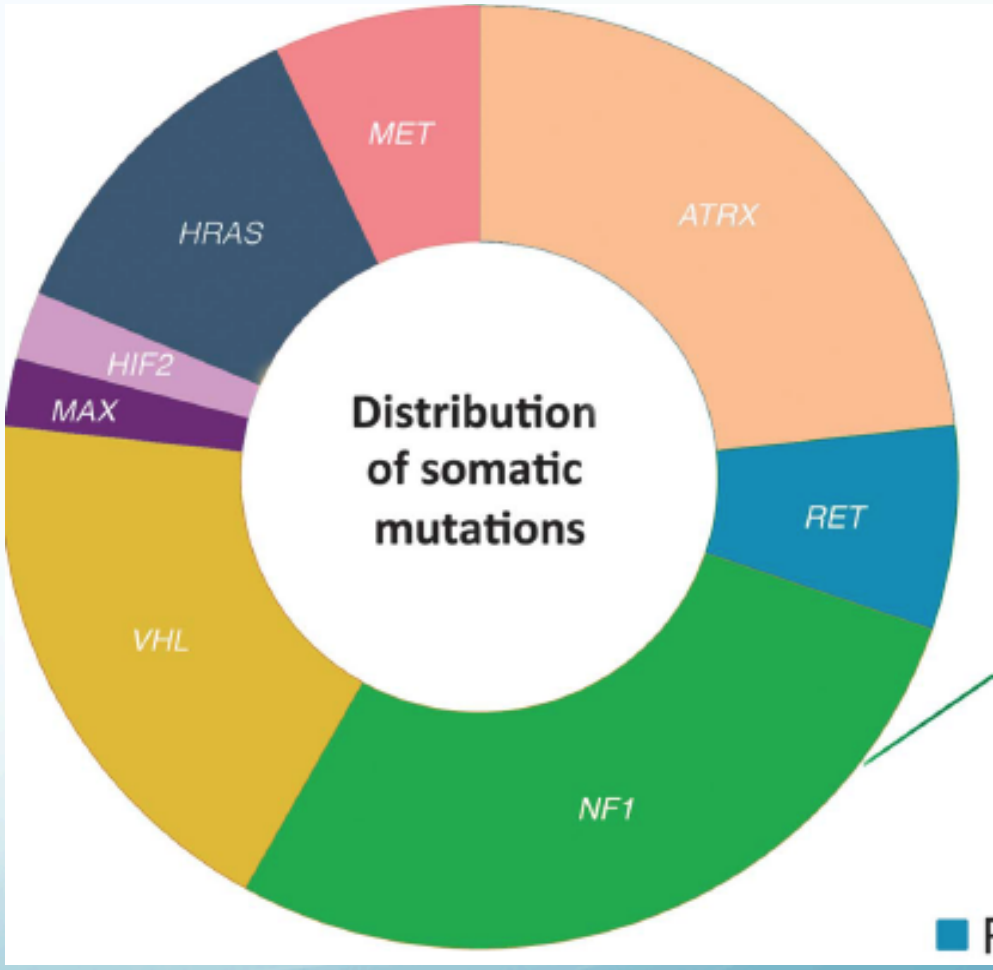
4.2.Patrón de inestabilidad genómica

- Alteración en el número de copias y/o perdida de heterocigosidad
- Detección de drivers complicada. Alteraciones amplias más frecuentes que las focales.
- Grado de inestabilidad genómica baja (15%)
- Probablemente no es el principal mecanismo de tumorogénesis

4.3.Caracterización de mutaciones somáticas

- Escasos estudios (sólo 2 estudios sistemáticos han intentado caracterizarlas a larga escala):
  - 30 muestras, SDHx y esporádicos
  - 36 feocromocitomas y 4 PGL funcionantes

- Baja tasa mutacional (similar a meduloblastomas,neuroblastomas y ependimomas)
  - Aparición temprana
  - Transiciones C>T. Factor ambiental poco relevante

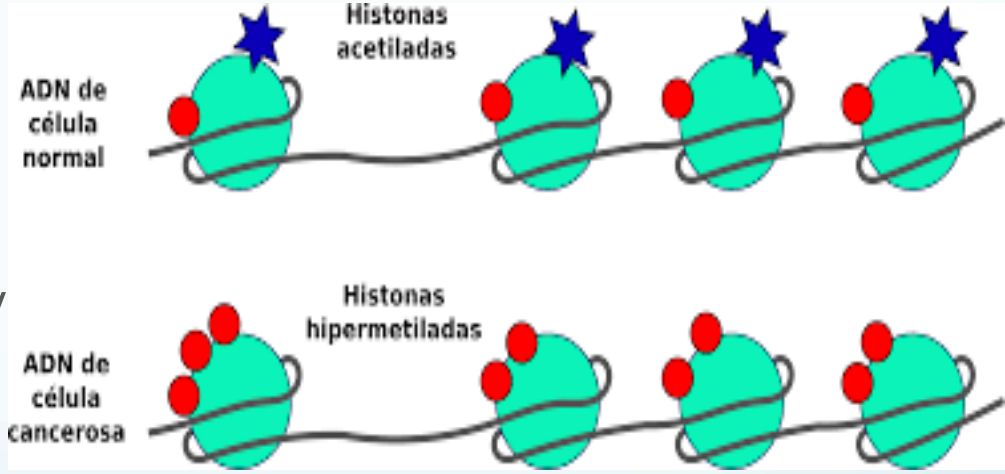


4.4.Modificación en la metilación del ADN

- SDHX :Hipermetilación

- VHL:Metilación intermedia

- RET,NF1,TMEM127,MAX y HRAS:Hipometilación



EPIGENÉTICA→REQUIERE MÁS INVESTIGACIÓN

4.5.Modificaciones en el MiRNA

- MiRNA: Moléculas de ARN de 18-22 nucleótidos que están implicados en la regulación de la expresión génica a nivel post-transcripcional
  - Apoptosis
  - Proliferación
  - Diferenciación
  - Metástasis
  - Oncogenes/genes supresores de tumores
- Escasos estudios.
  - miR-183→SDHB (permite dd con no SDHB)
  - miR-133b→VHL
  - miR-488 y miR-885-5p→RET
  - miR-137 ymiR-382→MAX
- Relación de miR183/96 con la activación EMT→PCC/PGL maligno
- Aún en investigación el papel de los miRNA en la tumorogénesis.Se sugiere relación con vía MAPK

4.6.Aplicación en la medicina de precisión

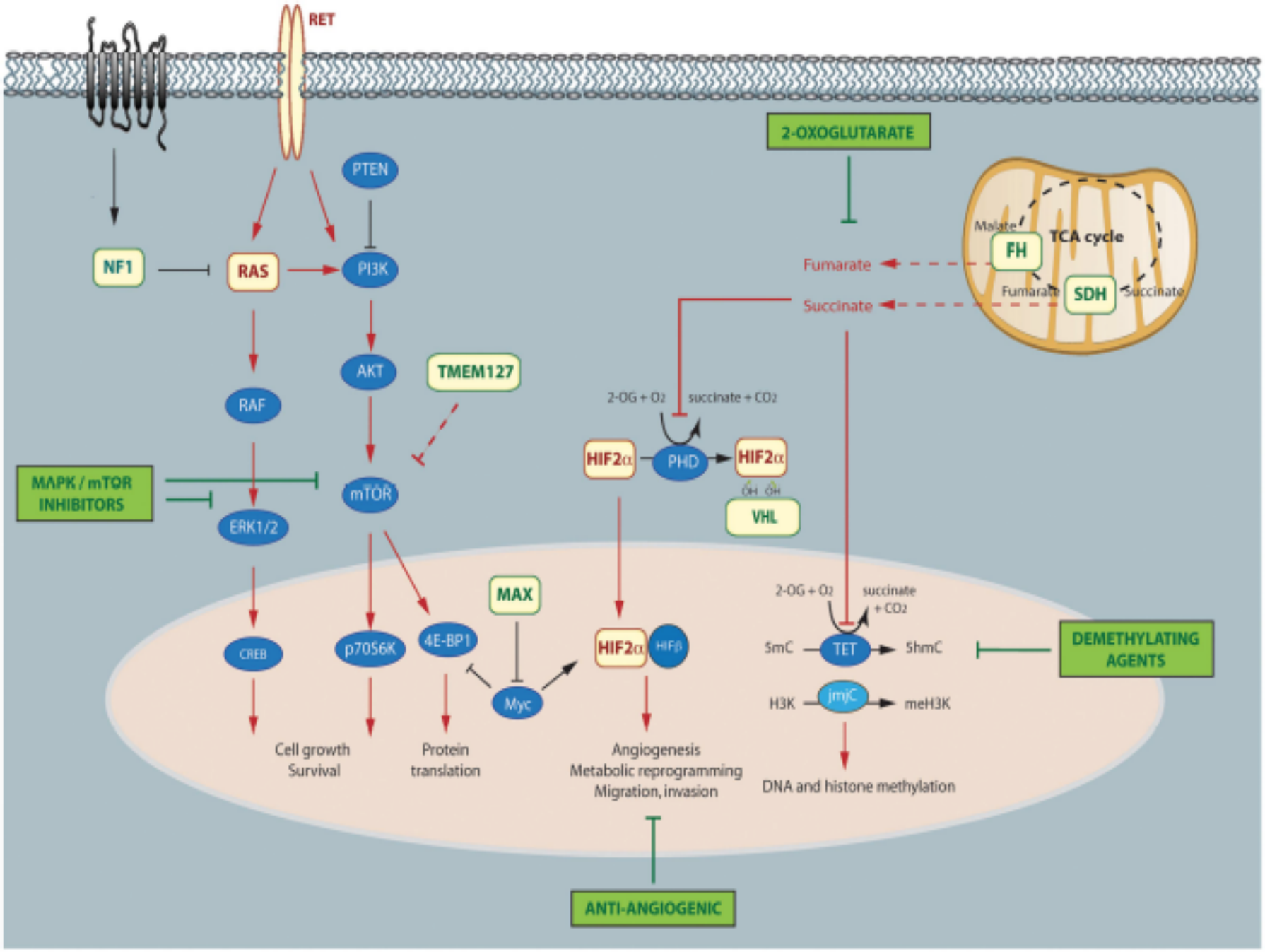
- **Importantes implicaciones→actuación sobre vías específicas**

  - Fármacos antiangiogénicos en tumores hipervascularizados metastásicos como SDHx,VHL (ITK –sunitinib,axitinib)

  - SDHB hipermetilado-vía O6-metilguanina-DNA metiltransferasa→fármacos alquilantes (temozolamida)

125 Hadoux J, Favier J, Scoazec JY, Leboulleux S, Al Ghuzlan A, Caramella C *et al.* SDHB mutations are associated with response to temozolomide in patients with metastatic pheochromocytoma or paraganglioma. *Int J Cancer* 2014; **135**: 2711–2720.

  - Reversión de la metilación en SDHB,FH→Decitabina


RET
PTEN
NF1
RAS
PI3K
AKT
TMEM127
RAF
MAPK / mTOR INHIBITORS
mTOR
ERK1/2
CREB
p70S6K
4E-BP1
MAX
Myc
Cell growth
Survival
Protein
translation
2-OXOGLUTARATE
Malate
FH
TCA cycle
Fumarate
Fumarate
SDH
Succinate
Succinate
2-OG + O2
succinate + CO2
HIF2α
PHD
HIF2α
OH OH
VHL
HIF2α
HIFβ
Angiogenesis
Metabolic reprogramming
Migration, invasion
2-OG + O2
succinate + CO2
5mC
TET
5hmC
H3K
jmjC
meH3K
DNA and histone methylation
DEMETHYLATING AGENTS
ANTI-ANGIOGENIC

4.7.Secuenciación masiva

- Técnica Sanger tradicional es costosa y lenta→análisis de un solo gen
- NGS permite el análisis simultáneo de varios genes→rápida y coste efectiva
- Inclusión de genes menos comunes→mejor conocimiento de la prevalencia real de las mutaciones y sus fenotipos asociados
- Posibilidad de realizarlo en DNA de línea germinal, tejidos parafinados
- Detección de biomarcadoresde respuesta y resistencia→Ajuste preciso del tratamiento
- Papel del ADN circulante??

5.Diagnóstico preimplantacional

GOBIERNO DE ESPAÑA | MINISTERIO DE LA PRESIDENCIA | Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado

- Orden SSI/2065/2014, de 31 de octubre de 2014, por la que se modifican los anexos I, II y III del Real Decreto 1030/2006, de 15 de septiembre, por el que se establece la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud y el procedimiento para su actualización.

5.Diagnóstico preimplantacional

1.º DGP con finalidad de prevención de la transmisión de enfermedades o trastornos de origen cromosómico o genético graves, de aparición precoz y no susceptibles de tratamiento curativo con arreglo a los conocimientos científicos actuales, con objeto de llevar a cabo la selección embrionaria de los preembriones no afectos para su transferencia.

i) Las situaciones que pueden dar lugar a DGP con finalidad preventiva son:

- **Enfermedades monogénicas susceptibles de diagnóstico genético preimplantatorio.**
- Anomalía cromosómica estructural o numérica materna o paterna.

ii) El DGP se realizará con este fin cuando se cumplan los siguientes criterios específicos:

- exista alto riesgo de recurrencia de la enfermedad presente en la familia,
- el trastorno genético genere graves problemas de salud, es decir, que la enfermedad de base genética comprometa la esperanza y/o calidad de vida por producir anomalías congénitas, discapacidad intelectual, sensorial o motora, no susceptibles de un tratamiento curativo con arreglo a los conocimientos científicos actuales.
- el diagnóstico genético sea posible y fiable, e incluya un informe de consejo genético donde se especifique el estatus genético de la pareja o familia consultante en relación a la enfermedad y la identificación del gen implicado, la mutación responsable y la certeza de la relación fenotipo/genotipo.
- sea posible realizar un procedimiento de fecundación in vitro/inyección espermática intracitoplasmática (FIV-ICSI) con una respuesta adecuada tras estimulación ovárica controlada.
- los criterios específicos para FIV con gametos propios.

6.Realidades/Limitaciones actuales

- Sigue siendo complicado prevenir la malignización.Desconocemos las alteraciones moleculares que causan el fenotipo más agresivo de SDHB
- Radiología:RNM de cuerpo entero/inasumibles por áreas
- Medicina nuclear: Coste y perdurabilidad de trazadores (18 F-DOPA)
- Genética: Demora de estudios/coste/viabilidad real del diagnóstico preimplantacional
- Niños:¿Cuándo empezar el screening? Importancia de los comités de bioética de los distintos hospitales

7.Conclusiones

- Durante los últimos 15 años se han identificado al menos 12 genes que explican un 70% de los casos de PPGL
- Se ha modificado de forma absoluta el conocimiento de esta enfermedad→El estudio genómico ha revelado el efecto de genes predisponentes sobre distintos perfiles moleculares somáticos
- Se abre la puerta de la medicina de precisión

GRACIAS

LOCALIZACIÓN FRECUENTE DEL FEOCROMOCITOMA EXTRADRENAL

ZUCKERKANDL