



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE BIOMEDICHE**

Curriculum:
Biotecnologie Endocrinologiche Molecolari e Rigenerative

CICLO XXXIII

COORDINATORE Prof. Massimo Stefani

***FEOCROMOCITOMA/PARAGANGLIOMA ED
ALTRE NEOPLASIE NON CROMAFFINI
ASSOCIATE: UNO STUDIO MULTICENTRICO***

Settore Scientifico Disciplinare MED/13

Dottorando

Dr.ssa Giuseppina De Filpo

Tutor

Prof.ssa Michaela Luconi

Coordinatore

Prof. Massimo Stefani

Anni 2017/2020

Indice

1. Introduzione.....	2
1.1 Epidemiologia.....	2
1.2 Predisposizione genetica.....	5
1.3 Diagnosi biochimica.....	13
1.4 <i>Imaging</i> radiologico.....	16
1.5 Presentazione clinica.....	18
1.6 Terapia.....	20
1.6.1 Terapia medica.....	20
1.6.2 Terapia chirurgica.....	22
1.6.3 Cenni ad altre terapie.....	23
2. Associazione con altre neoplasie non cromaffini.....	27
2.1 Tumori stromali gastrointestinali (GIST).....	28
2.2 Carcinomi a cellule renali (RCC).....	31
2.3 Adenomi ipofisari (PA).....	34
2.4 Altre neoplasie.....	36
3. Caso clinico: tumore a cellule germinali mediastinico in un paziente con mutazione germinale del gene <i>SDHB</i>.....	39
4. Scopo.....	44
5. Materiali e metodi.....	45
5.1 Popolazione dello studio.....	45
5.2 Analisi statistica.....	48
6. Risultati.....	50
7. Discussione.....	57
8. Conclusioni.....	68
9. Bibliografia.....	69
10. Pubblicazioni.....	86

1. Introduzione

1.1 Epidemiologia

Feocromocitoma (FEO) e paraganglioma (PGL) sono rari tumori derivati dalla cresta neurale, la cui incidenza, equiparabile tra i due sessi, è di 0.8 casi/100.000/anno con un picco tra la terza e la quinta decade. La prevalenza nella popolazione generale è di 1:6500-1:2500¹.

I FEO originano dalle cellule cromaffini della midollare surrenalica e generalmente producono catecolamine, differentemente i PGL possono svilupparsi dalle cellule cromaffini extrasurrenaliche dei gangli simpatergici toraco-addominali, capaci di produrre catecolamine, oppure dai gangli parasimpatergici del distretto testa-collo, i quali sono generalmente silenti dal punto di vista biochimico e vengono denominati *head and neck* PGL (HNPGGL)².

Circa l'80-85% delle lesioni cromaffini presenta una localizzazione surrenalica, mentre il 15-20% mostra una localizzazione extrasurrenalica³.

Il 10-49% dei FEO/PGL vengono riscontrati incidentalmente durante indagini strumentali effettuate per un altro quesito diagnostico^{3,4,5}.

In passato, i FEO/PGL venivano considerati tumori neuroendocrini a comportamento incerto, vista l'impossibilità sulla base dell'esame anatomico-patologico di discriminare le forme benigne da quelle maligne, la cui diagnosi è possibile solamente in presenza di tessuto cromaffine in sedi in cui normalmente esso è assente⁶. La recente classificazione dei tumori endocrini della *World Health Organization* (WHO) del 2017 ha, invece, incluso i tumori cromaffini tra le neoplasie maligne proprio a causa del loro potenziale metastatico^{7,8}.

Approssimativamente il 5-26% dei FEO/PGL è metastatico con un'incidenza inferiore a 1/100.000/anno^{9,10}. In particolare, circa il 10% dei FEO ed il 34% dei PGL si presentano con diffusione metastatica già alla diagnosi iniziale, tuttavia, la comparsa di lesioni cromaffini a distanza può manifestarsi anche dopo diversi anni dalla diagnosi del tumore primitivo^{10,11}.

Sono stati considerati diversi fattori prognostici nel predire lo sviluppo della malattia metastatica.

Il PASS (*Pheochromocytoma of Adrenal gland Scale Score*) è stato proposto al fine di individuare le lesioni ad alto potenziale metastatico¹². Si tratta di uno score basato sulla valutazione di 12 caratteristiche microscopiche della lesione cromaffine. A ciascuna caratteristica viene assegnato un punteggio da 0 a 2 ed il massimo punteggio ottenibile è di 20. Lesioni con PASS maggiore di 4 sono associate ad aumentato rischio metastatico (Tabella 1). Tuttavia, questo score è utilizzabile soltanto per i FEO ed essendo operatore-dipendente non sempre viene impiegato routinariamente¹³.

Un'altra classificazione, utilizzabile sia per i FEO che per i PGL, è il GAPP (*Grading of Adrenal Pheochromocytoma and Paraganglioma*) score, composto da sei parametri valutabili tra cui il Ki67 e la secrezione tumorale. Il GAPP score permette di distinguere tre differenti categorie di lesioni: ben (0-2 punti), moderatamente (3-6 punti) e scarsamente differenziate (7-10 punti). Le differenti categorie corrispondono a un rischio di sviluppare una malattia metastatica rispettivamente basso, intermedio ed alto¹⁴.

In aggiunta, le mutazioni che coinvolgono la subunità B dell'enzima succinato deidrogenasi (*SDHB*) sono associate a peggior prognosi e si riscontrano in circa il 50% dei FEO/PGL metastatici^{11,15}.

Anche la dimensione del tumore e la sua localizzazione rappresentano fattori prognostici meritevoli di considerazione. Ayala-Ramirez e colleghi hanno riportato, in un ampio

studio retrospettivo, che i pazienti con tumore primitivo maggiore di 5cm di diametro presentavano più alto rischio di sviluppare metastasi così come i pazienti che erano affetti da tumore cromaffine extrasurrenalico. All'analisi multivariata la localizzazione extrasurrenalica del tumore primitivo si è confermata fattore di rischio per lo sviluppo di malattia metastatica¹⁶.

Inoltre, Eisenhofer e colleghi hanno proposto la metossitiramina (MTX), metabolita della dopamina (DA) prodotto dai tumori meno differenziati, come fattore predittivo di possibile malattia metastatica in associazione alla presenza di mutazione del gene *SDHB*, alle maggiori dimensioni ed alla localizzazione extrasurrenalica del tumore primitivo¹⁷.

Tabella 1. PASS (*Pheochromocytoma of Adrenal gland Scale Score*)

Caratteristiche microscopiche	Punti
Invasione capsulare	1
Invasione vascolare	1
Invasione del tessuto adiposo peri-surrenalico	2
Presenza di nidi cellulari o crescita diffusa (in > 10% del volume tumorale)	2
Necrosi centrale o confluyente	2
Elevata cellularità	2
Aspetto fusato delle cellule tumorali anche se focale	2
Monotonia cellulare	2
Aumento del numero delle mitosi (> 3 per campo)	2
Figure mitotiche atipiche	2
Elevato polimorfismo nucleare	1
Ipercromasia nucleare	1

1.2 Predisposizione genetica

Fino agli anni 2000 le uniche sindromi ereditarie considerate predisponenti allo sviluppo di FEO/PGL erano la neurofibromatosi di tipo 1 (NF1), la sindrome di von Hippel Lindau (VHL) e la neoplasia endocrina multipla di tipo 2 (MEN2)^{18,19}. In tale contesto, si attribuiva una causa genetica al 10% dei FEO/PGL²⁰.

La NF1 ha un'incidenza di 1:2500 individui ed è determinata da mutazioni che coinvolgono il gene *NF1* (17q11.2) che codifica per la neurofibromina, oncosoppressore che promuove l'inattivazione di RAS. La diagnosi viene posta quando vengano riscontrate nel/nella paziente almeno due delle seguenti caratteristiche: almeno sei macchie caffè-latte; due o più neurofibromi; due o più noduli di Lisch; glioma ottico; lentiggini ascellari o inguinali; lesioni ossee distintive; parente di primo grado affetto. Un FEO è presente nell'1-3% dei casi e spesso si tratta di lesioni secernenti adrenalina (A)^{21,22}.

La sindrome VHL ha un'incidenza di 1:36.000 nati vivi ed è caratterizzata dalla presenza di mutazioni del gene oncosoppressore *VHL* (3p25.3). Le neoplasie più frequentemente riscontrate sono gli emangioblastomi retinici o del sistema nervoso centrale (SNC), i carcinomi renali ed i FEO, tuttavia sono descritti anche tumori neuroendocrini e cisti del pancreas. Si distinguono quattro fenotipi clinici sulla base della probabilità di presentare FEO o carcinoma renale²³ (Tabella 2).

La sindrome MEN2 ha un'incidenza di 1:200.000 individui ed è causata da mutazioni dell'oncogene *RET* (10q11.21), che codifica per un recettore tirosino-chinasico. Si distinguono due forme: MEN2A e MEN2B. La MEN2A è caratterizzata dalla presenza di carcinoma midollare tiroideo (CMT), FEO ed iperparatiroidismo primitivo. Nella

MEN2B, oltre al CMT e al FEO, i pazienti mostrano un caratteristico *habitus* marfanoide ed, inoltre, possono associarsi neurinomi mucosi multipli^{18,24}.

Tabella 2. Fenotipi clinici della sindrome VHL

Tipo 1	Emangioblastomi retinici e cerebellari Cisti renali e carcinoma renale a cellule chiare Cisti pancreatiche/tumori neuroendocrini pancreatici
Tipo 2A	Feocromocitoma Emangioblastomi retinici e cerebellari
Tipo 2B	Feocromocitoma Emangioblastomi retinici e cerebellari Cisti renali e carcinoma renale a cellule chiare Cisti pancreatiche/tumori neuroendocrini pancreatici
Tipo 2C	Feocromocitoma

Successivamente, i progressi in ambito genetico hanno portato alla scoperta di numerosi altri geni responsabili dell'insorgenza dei tumori cromaffini (Tabella 3). Ad oggi, una mutazione germinale o somatica a carico di uno dei geni di suscettibilità viene individuata in circa il 50% dei casi di FEO/PGL^{25,26,27}.

Tabella 3. Geni di suscettibilità per FEO/PGL, tipi di mutazione e relative frequenze

Gene	Frequenza di mutazioni rilevate	Tipo di mutazione
<i>ATRX</i>	<5%	Somatica
<i>BRAF</i>	<2%	Somatica
<i>CDKN2A</i>	<2%	Somatica
<i>EGLN1/PHD2</i>	<1%	Germinale o Somatica
<i>EPAS1</i>	6-12%	Mosaicismo o Somatica
<i>FGFR1</i>	~1%	Somatica
<i>FH</i>	1-2%	Germinale
<i>H3F3A</i>	<2%	Mosaicismo
<i>HRAS</i>	7-8%	Somatica
<i>IDH2</i>	<0.5%	Somatica
<i>KIF1Bβ</i>	<5%	Germinale o Somatica
<i>KMT2D</i>	<2%	Germinale o Somatica

MAX	1-2%	Germinale o Somatica
MDH2	<2%	Germinale
MERTK	<2%	Germinale
MET	<2%	Germinale o Somatica
NF1	1-3%	Germinale o Somatica
RET	5-6%	Germinale o Somatica
SDHA	<1%	Germinale o Somatica
SDHAF2	<1%	Germinale
SDHB	8-10%	Germinale
SDHC	1-2%	Germinale
SDHD	5-7%	Germinale
TMEM127	1-2%	Germinale
TP53	<5%	Somatica
VHL	7-10%	Germinale o Somatica

Tra i geni scoperti dagli anni 2000 in poi, rientrano quelli che codificano per le quattro diverse subunità (A, B, C, D) dell'enzima succinato deidrogenasi (SDH), o complesso mitocondriale di tipo II, così come il gene *SDHAF2*, codificante per il fattore AF2 necessario per il corretto assemblaggio e funzionamento del complesso enzimatico. Le mutazioni che interessano uno di questi geni sono responsabili dello sviluppo delle paragangliomatosi familiari 1-5 (PGL 1-5)^{28,29,30,31,32} (Tabella 4).

La PGL1 è dovuta alla mutazione del gene *SDHD* (11q 23) e rappresenta la più frequente causa di HNPGL ereditari (>50%). È clinicamente caratterizzata da HNPGL multipli che insorgono mediamente intorno ai 28–31 anni. I pazienti presentano un rischio del 75% di sviluppare HNPGL nell'arco della loro vita ma possono presentare anche PGL toraco-addominali in circa il 10% dei casi e FEO uni o bilaterali^{31,33,34}.

La PGL2 è causata dalla mutazione del gene *SDHAF2* (11q 12.2). I pazienti sviluppano HNPGL spesso multipli con età media alla diagnosi di 33 anni, anche se sono stati descritti casi a insorgenza più precoce (22 anni). Ad oggi non sono stati riportati PGL toraco-addominali o FEO associati a PGL2³⁰.

La PGL3 è legata alla mutazione del gene *SDHC* (1q 21), responsabile di circa il 15% degli HNPGL ereditari. L'età media alla diagnosi è di 38 anni. I pazienti possono sviluppare HNPGL (spesso unilaterali) ma anche PGL addominali e FEO³⁵.

La PGL4 è causata da mutazioni del gene *SDHB* (1p 36.13) ed è associata prevalentemente alla comparsa di PGL addominali e/o FEO; gli HNPGL si presentano nel 20–30% dei casi. L'età media alla diagnosi è di 25–30 anni e un terzo dei pazienti presenta malattia metastatica, in quanto le mutazioni a carico di *SDHB* sono quelle caratterizzate da più elevato rischio di malignità^{30,34}.

Le mutazioni di *SDHA* (5p 15), responsabili della PGL5, erano originariamente state descritte come causa di una encefalopatia giovanile trasmessa in modalità autosomica recessiva (Sindrome di Leigh). La PGL5 è una condizione rara in cui sono stati riportati casi di PGL addominali e FEO^{30,34}.

Tabella 4. Caratteristiche cliniche delle paragangliomatosi familiari (PGL 1-5) (HNPGL: *head and neck* paraganglioma; FEO: feocromocitoma; PGL: paraganglioma)

Gene	Lesione	Lesioni multiple	Penetranza	Malignità	Familiarità paterna
<i>SDHD</i> (PGL1)	HNPGL PGL toraco-addominali FEO	Si	Alta	Molto rara	Si
<i>SDHAF2</i> (PGL2)	HNPGL	Rare	Non nota	Non nota	Si
<i>SDHC</i> (PGL3)	HNPGL PGL addominali	Rare	Non nota	Non nota	No
<i>SDHB</i> (PGL4)	PGL addominali HNPGL FEO	Si (rare)	Bassa	Frequente	No
<i>SDHA</i> (PGL5)	PGL addominali	Rare	Non nota	Non nota	No

Oltre a quelli sopracitati, altri numerosi geni sono coinvolti nello sviluppo di FEO/PGL.

I geni *TMEM127* e *MAX* erano in origine ritenuti responsabili del solo sviluppo di tumori cromaffini^{36,37}, anche se recentemente sono stati riportati casi di mutazioni germinali di

MAX in pazienti affetti da FEO ed adenoma ipofisario senza, tuttavia, dimostrazione del ruolo patogenetico di *MAX* nello sviluppo della concomitante patologia ipofisaria³⁸.

Mutazioni somatiche attivanti il fattore ipossia-inducibile tipo 2 α (HIF2 α) sono state descritte in pazienti con FEO/PGL, policitemia e somatostatinomi^{39,40}.

Mutazioni somatiche di *ATRX* sono associate a FEO/PGL caratterizzati da maggiore aggressività a causa della conseguente instabilità telomerica dovuta alla perdita di funzione dell'omonima proteina codificata dal suddetto gene⁴¹.

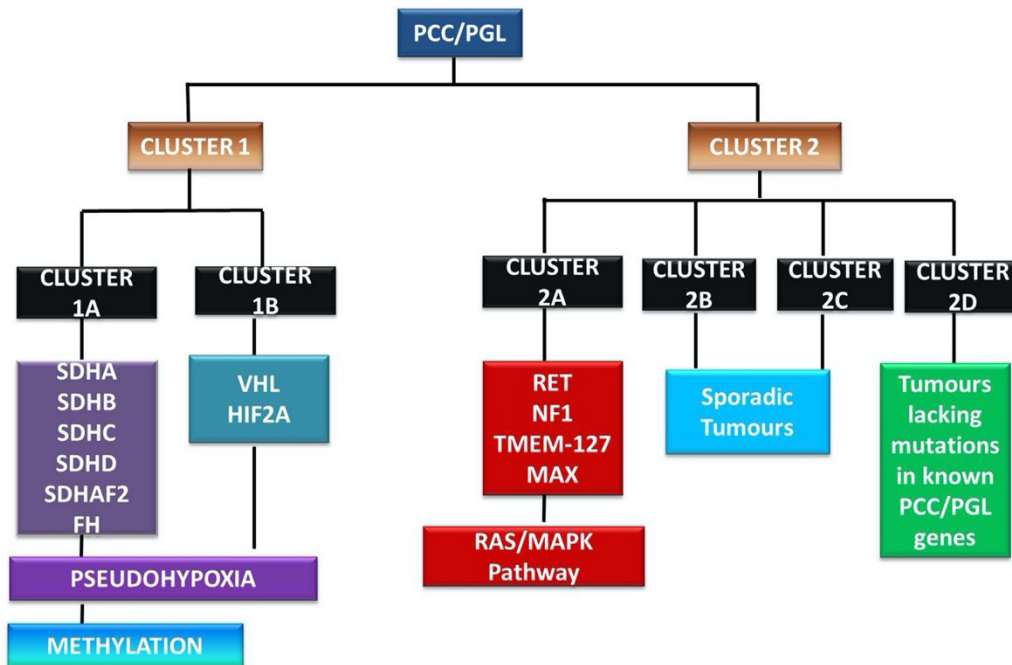
E' stata descritta, inoltre, la presenza di tumori cromaffini in pazienti con mutazioni della fumarato idratasi (FH), associate allo sviluppo di patologie quali la leiomiomatosi ereditaria ed il carcinoma renale⁴².

Vengono riportati anche casi aneddotici di FEO/PGL dovuti a mutazioni della isocitrato deidrogenasi tipo 1 (IDH1)⁴³, della proteina tipo 1 associata al carcinoma mammario (BAP1)⁴⁴ e del gene *KIF1B β* , le cui mutazioni germinali sono state descritte in una famiglia affetta dalla sindrome di Charcot-Marie-Tooth (CMT) di tipo 2A^{45,46,47}.

Una piccola parte di FEO/PGL si sviluppa nell'ambito della triade di Carney, nella sindrome di Carney-Stratakis e, molto raramente, nella MEN1^{48,49}.

La genotipizzazione dei FEO/PGL ha permesso di distinguere due principali *clusters* genici, ciascuno caratterizzato da un proprio profilo biochimico³⁴ (Figura 1)

Figura 1. Rappresentazione schematica dei *clusters* FEO/PGL³⁴.



Il *cluster 1* comprende i geni *VHL*, *SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SDHAF2*, *HIF2 α* , *PHD2*, *IDH1*, *FH*, *MDH2*. Questo gruppo può essere a sua volta distinto in due sottogruppi: il *cluster 1A* comprende i FEO/PGL correlati a mutazioni del complesso SDH (*SDHx*) e di *FH*, mentre il *cluster 1B* include tumori correlati ai geni *HIF2 α* e *VHL*³⁴. L'eziopatogenesi dei tumori appartenenti al *cluster 1* è legata all'attivazione costitutiva del fattore ipossia-inducibile (HIF), che determina l'instaurarsi di una condizione definita di "pseudo-ipossia", la quale induce la trascrizione di numerosi geni coinvolti nell'angiogenesi, nell'ematopoiesi, nella proliferazione e nella migrazione cellulare. I tumori appartenenti a questo gruppo mostrano un elevato incremento della vascolarizzazione, dell'espressione del *vascular endothelial growth factor* (VEGF) e dei suoi recettori^{50,51}.

Dal punto di vista biochimico i tumori appartenenti al *cluster 1* mostrano un profilo di secrezione noradrenergico, a causa della mancata espressione dell'enzima feniletanolamina-N-metiltrasferasi (PNMT), responsabile della metilazione della noradrenalina (NA) in adrenalina (A).

Il *cluster 2* comprende i tumori legati a mutazioni dei geni *RET*, *NF1*, *TMEM127*, *MAX* e *KIF1B*³⁴. I tumori appartenenti a questo gruppo si caratterizzano per l'attivazione di vie di segnalazione mediate da tirosino-chinasi. In particolare, sono coinvolte la via della fosfatidil-inositolo-3-chinasi (PI3K)/AKT/mTOR e di RAS/RAF/ERK, le quali promuovono la proliferazione e la sopravvivenza cellulare conducendo allo sviluppo di FEO/PGL⁵².

Anche all'interno del *cluster 2* possono essere distinti dei sottogruppi: il 2A comprende i FEO/PGL associati ai geni *RET*, *MAX*, *NF1* e *TMEM127*, il 2B e il 2C includono le forme tumorali sporadiche, mentre nel 2D rientrano i tumori per cui non sia stata riscontrata nessuna delle note mutazioni associate allo sviluppo di FEO/PGL³⁴.

Dal punto di vista biochimico, i tumori del *cluster 2* sono in grado di secernere A, in funzione dell'espressione dell'enzima PNMT.

Nonostante l'identificazione dei due *clusters* corrisponda ad un differente profilo di attivazione trascrizionale e biochimico, tale distinzione non è da considerarsi così netta. E' stato dimostrato come i tumori cromaffini causati dalle mutazioni del gene *MAX*, appartenente al *cluster 2*, presentino un profilo di secrezione intermedio caratterizzato dalla prevalente produzione di NA e, allo stesso tempo, dalla conservata capacità di produrre A. Nel tessuto di questi tumori, infatti, sono state identificate concentrazioni intermedie di A e di mRNA codificante per l'enzima PNMT⁵³.

Più recentemente è stato designato un altro gruppo, il *cluster 3*, che comprende tumori cromaffini dovuti a mutazioni somatiche dei geni di fusione CSDE1 e MAML3. Questo

gruppo è caratterizzato dall'attivazione delle vie di segnalazione di WNT, coinvolte nella proliferazione, nella motilità e nella differenziazione cellulare⁵⁴. I tumori appartenenti al *cluster 3* mostrano un comportamento aggressivo ed un precoce sviluppo di malattia metastatica⁵⁵.

Attualmente gli esperti raccomandano l'utilizzo della metodica NGS (*Next Generation Sequencing*) e di un pannello genetico validato per fare diagnosi delle forme ereditarie di FEO/PGL⁵⁶.

1.3 Diagnosi biochimica

La diagnosi di FEO/PGL si basa sul riscontro biochimico di un eccesso di produzione da parte del tumore di catecolamine (CA), la cui sintesi avviene a partire dall'aminoacido L-tirosina⁵⁷.

Nello specifico, le correnti linee guida raccomandano di effettuare il dosaggio delle metanefrine (MNs) plasmatiche o urinarie libere frazionate per porre diagnosi di FEO/PGL².

Le MNs vengono prodotte a partire dalle CA ad opera delle catecol-O-metiltrasferasi (COMT) tumorali in maniera continua ed indipendente dal rilascio di CA offrendo, quindi, un vantaggio diagnostico rispetto a queste ultime. In particolare, dall'adrenalina (A) viene prodotta la metanefrina (MN), dalla noradrenalina (NA) la normetanefrina (NMN) e dalla dopamina (DA) la metossitiramina (MTX)⁵⁸. Valori maggiori di tre volte il limite superiore di riferimento in uno dei singoli metaboliti sono diagnostici per FEO/PGL^{2,59}.

Le MNs libere frazionate plasmatiche ed urinarie hanno un'elevata sensibilità diagnostica (99 vs 97% rispettivamente), ma quelle plasmatiche mostrano una specificità superiore (89 vs 69%). L'alta sensibilità delle MNs sia plasmatiche che urinarie permette in maniera efficace di escludere la presenza di FEO/PGL in caso di test con esito negativo. Differentemente, in ragione della più elevata specificità, le MNs plasmatiche consentono di avere un minor numero di falsi positivi⁵⁷.

Per il dosaggio delle MNs plasmatiche è prevista l'esecuzione del prelievo a digiuno, in posizione supina da almeno 30 minuti. La MN e la NMN plasmatiche non sembrano essere influenzate dalle amine assunte con la dieta, aspetto invece da considerare nella misurazione della MTX⁵⁸.

Il dosaggio delle MNs urinarie richiede l'esecuzione di una corretta raccolta delle 24 ore. A partire dalle 48 ore prima, e per tutta la durata della raccolta urinaria, è necessario non assumere alimenti ricchi di amine (es. caffè, tè, cioccolato, vaniglia, banane, agrumi, legumi) in quanto soggetti all'azione di una sulfo-trasferasi localizzata principalmente nel tratto digerente ed implicata sia nel metabolismo delle monoamine prodotte localmente che di quelle assunte con la dieta^{60,61}.

Inoltre, un'accurata anamnesi si rende indispensabile al fine di individuare le potenziali interferenze farmacologiche e le condizioni patologiche che possono alterare l'esito dei test determinando risultati falsi positivi. Difatti, condizioni patologiche che causano un'iperattivazione del sistema simpato-adrenergico quali lo scompenso cardiaco, la cirrosi epatica, l'insufficienza renale e, frequentemente nei pazienti obesi, la sindrome delle apnee notturne (OSAS), vanno tenute in considerazione quando viene richiesta la misurazione delle MNs.

Le principali sostanze che possono interferire con il dosaggio delle MNs vengono riportate in Tabella 5.

Tabella 5. Principali sostanze interferenti sul dosaggio delle metanefrine (MNs)

Meccanismo d'azione	Classe	Farmaco
Inibizione del <i>re-uptake</i> della noradrenalina	Antidepressivi triciclici	Amitriptilina, clomipramina, imipramina, noritriptilina, trimipramina, mianserina, maprotilina
	Antipsicotici	Clozapina, quetiapina, amisulpiride, aripiprazolo, risperidone, olanzapina, clorpromazina, flufenazina, periciazina, trifluoperazina
	Inibitori del <i>re-uptake</i> della noradrenalina	Bupropione, reboxetina
	Altri	Reserpina, proclorperazina
Blocco del recettore adrenergico	Beta-bloccanti	Carvedilolo, labetalolo, bisoprololo, acebutolo, celiprololo, metoprololo, pindololo, propanololo, sotalolo
	Alfa 2-bloccanti	Fenossibenzamina, fentolamina
Inibizione delle monoaminossidasi	Inibitori delle monoaminossidasi	Tranilcipromina
Modulazione del rilascio delle catecolamine	Amfetamine, xantine	Cocaina, metamfetamina, caffeina
Struttura simile alle catecolamine	Simpatico-mimetici	Pseudoefedrina, fenilefrina, dobutamina, isoprenalina, salbutamolo, terbutalina
	Altri	Paracetamolo, levodopa

1.4 *Imaging* radiologico

Dopo la conferma biochimica è opportuno procedere alla localizzazione diagnostica di malattia.

La tomografia computerizzata (TC) e la risonanza magnetica (RMN) individuano la neoplasia con una sensibilità del 90-100% ed una specificità del 70-80%⁶².

La TC rappresenta l'esame strumentale di prima scelta nella valutazione delle masse incidentali surrenaliche⁶³. L'esame diretto è finalizzato alla valutazione del valore di attenuazione, espresso in *Hounsfield Units* (HU). Il *cut off* utilizzato per identificare le lesioni surrenaliche benigne è di 10 HU con una sensibilità del 71% ed una specificità del 98%⁶⁴. L'esame con mezzo di contrasto (mdc) permette di stimare i valori di *washout* assoluto (AWP: *absolute percentage washout*) e relativo (RPW: *relative percentage washout*). Le lesioni benigne presentano elevati valori di *washout* rispetto a quelle maligne, le quali avendo una ricca e tortuosa rete vascolare mostrano una più lenta dismissione del mdc con conseguente riduzione dei valori di *washout*⁶³. Un valore di *washout* assoluto ≥ 60 e relativo ≥ 40 suggeriscono la presenza di una lesione benigna^{65,66,67}.

La RMN rappresenta un esame di seconda scelta, consigliato nei pazienti con controindicazione all'*imaging* TC, da preferire nei bambini e negli adolescenti per ridurre l'esposizione alle radiazioni ionizzanti⁶³. All'esame RMN diretto le lesioni benigne, come gli adenomi ricchi in lipidi, si caratterizzano per la caduta di segnale nelle sequenze fuori fase^{68,69}. La metodica RMN permette di valutare anche l'intensità della lesione rispetto al parenchima epatico nelle sequenze T1 e T2 pesate. Gli adenomi appaiono isointensi nelle sequenze T1 e iso/lievemente iperintensi in quelle T2, mentre i FEO, le

lesioni metastatiche, i carcinomi corticosurrenali (ACC) si presentano iperintensi nelle sequenze T2 pesate⁷⁰.

L'*imaging* funzionale medico-nucleare viene utilizzato principalmente nel sospetto di malattia metastatica. La scintigrafia con metaiodiobenzilguanidina (¹²³I-MIBG) ha un'elevata specificità ma una più bassa sensibilità nell'individuare i tumori extrasurrenali rispetto a quelli intrasurrenali. La tomografia ad emissione di positroni (PET), combinata con la TC (PET/TC) e mediante l'utilizzo di specifici radiotraccianti, fornisce una migliore risoluzione delle immagini rispetto alla sola metodica scintigrafica. Tra i radiotraccianti adoperati vi sono la ¹⁸F-fluorodopamina, ¹⁸F-fluoroidrossifenilalanina, la ¹⁸F-fluorodopa e il ⁶⁸Ga-DOTATOC⁷¹. La PET con ¹⁸F-fluorodesossiglucosio è particolarmente utile nell'individuare l'estensione della malattia nei FEO/PGL metastatici^{2,72}.

1.5 Presentazione clinica

L'ampio spettro di presentazioni cliniche dei pazienti con FEO/PGL è dovuto alla produzione e al rilascio di CA da parte del tumore⁷³ (Tabella 6).

Tabella 6. Frequenza di segni e sintomi nei pazienti con FEO/PGL: elevata (++++), bassa (+)⁷³

Segni		Sintomi	
Ipertensione	++++	Cefalea	++++
Ipertensione sostenuta	++	Palpitazioni	++++
Ipertensione parossistica	++	Ansia/nervosismo	+++
Ipotensione posturale	+	Tremori	++
Tachicardia o bradicardia riflessa	+++	Astenia	++
Sudorazione eccessiva	++++	Nausea/vomito	+
Pallore	++	Dolore toracico/addominale	+
<i>Flushing</i>	+	Vertigini o debolezza	+
Perdita di peso	+	Parestesie	+
Iperglicemia	++	Costipazione (raramente diarrea)	+
Riduzione della motilità gastrointestinale	+	Disturbi visivi	+
Aumento della frequenza respiratoria	+		

I sintomi più frequentemente riferiti dai pazienti sono il cardiopalmo (58.1%), la cefalea (51.9%), la sudorazione (48.8%) e l'agitazione (35.3%). Tuttavia, essi si mostrano contemporaneamente presenti solo nel 15.5% dei casi, mentre molto più spesso la sintomatologia è parossistica (67.1%). Inoltre, il 21.1% dei pazienti presenta normali livelli di pressione arteriosa, mentre crisi ipertensive compaiono nel 59.7% dei casi⁷⁴.

La crisi ipertensiva può essere precipitata da cambiamenti posturali, dalle emozioni, dalla minzione così come dall'uso di farmaci, in particolare metoclopramide, fenotiazine ed antidepressivi triciclici. Sicuramente la chirurgia e le procedure

invasive nei pazienti con FEO/PGL, soprattutto se non diagnosticati, sono associate ad elevato rischio di crisi ipertensiva⁷⁵.

Gli HNPGL, generalmente silenti dal punto di vista biochimico, determinano sintomi legati alla compressione e/o infiltrazione delle strutture circostanti (es. disfonia, disfagia, acufeni)³³.

La patologia cardiovascolare (aritmie, infarto del miocardio, ictus ischemico) rappresenta la principale causa di morte dei pazienti affetti da FEO/PGL. D'altro canto, la vasocostrizione e l'effetto inibitorio sulla peristalsi intestinale dovuto all'eccesso di CA può determinare costipazione, la quale, se non riconosciuta e trattata adeguatamente, può portare all'ostruzione intestinale e, nei casi più gravi, alla necrosi ed alla perforazione intestinale⁷⁶.

Una sintomatologia legata alla secrezione ectopica di composti bioattivi da parte dei FEO/PGL è molto rara. E' stato riportato che l'1.3% dei tumori cromaffini sia in grado di produrre corticotropina (ACTH), in casi ancora più rari è stata descritta la produzione del fattore di rilascio della corticotropina (CRH), del peptide relato al paratormone (PTHrp), del peptide intestinale vasoattivo (VIP) e del neuropeptide Y¹⁰.

1.6 Terapia

1.6.1 Terapia medica

Le correnti linee guida raccomandano di trattare tutti i pazienti affetti da FEO/PGL con un adeguato blocco alfa-adrenergico in previsione dell'intervento chirurgico di asportazione del tumore².

I risultati ottenuti dagli studi retrospettivi supportano l'utilizzo degli antagonisti alfa-adrenergici come farmaci di prima scelta per minimizzare le complicanze perioperatorie^{77,78}. Infatti, gli antagonisti alfa-adrenergici, quali la fenossibenzamina e la doxazosina, sono in grado di contrastare gli effetti cardiovascolari delle CA, permettendo di ridurre le resistenze vascolari periferiche ed i livelli di pressione arteriosa, espandendo il volume ematico circolante ed antagonizzando la *down-regulation* recettoriale⁷⁹.

D'altro canto, i calcio-antagonisti possono rappresentare una possibile opzione aggiuntiva agli alfa-litici per ottimizzare il controllo pressorio e, raramente, un'alternativa al blocco alfa-adrenergico nei pazienti che presentano severa ipotensione ortostatica in corso di terapia alfa-litica⁸⁰.

I beta-bloccanti possono essere utili nel controllo della frequenza cardiaca in pazienti già in trattamento con alfa-litici; la loro somministrazione è controindicata in monoterapia per il rischio di scatenare una grave crisi ipertensiva dovuta al blocco dei recettori beta-2 vasodilatatori^{2,73,81}. La metirosina (α -metil-paratirosina), un inibitore competitivo della tirosina idrossilasi, può essere utilizzata in caso di mancato controllo pressorio con le altre terapie farmacologiche, anche se il suo utilizzo è limitato a causa degli effetti collaterali a livello del sistema nervoso centrale (es.: sonnolenza, agitazione e, raramente, parkinsonismo)^{73,79}.

L'utilizzo di agenti osmotici (es. lattulosio) ed un'alimentazione ricca di fibre devono essere impiegati per migliorare la costipazione, complicanza gastrointestinale che può presentarsi nei pazienti con malattia di lunga durata ed ipersecrezione ormonale, la quale se non trattata può portare anche a gravi conseguenze come l'infarto e la perforazione intestinale⁸².

Gli esperti consigliano di iniziare la terapia medica con alfa-litico almeno 7-14 giorni prima dell'intervento chirurgico, così da avere il tempo sufficiente per ottenere il controllo della pressione arteriosa, della frequenza cardiaca e consentire l'espansione del volume ematico circolante^{2,79}.

Vi sono dati contrastanti sulla necessità di ricorrere al blocco alfa-adrenergico preoperatorio nei pazienti normotesi affetti da FEO/PGL (circa il 40% dei casi)⁸³. Tuttavia, visti i potenziali effetti catastrofici legati al rilascio di CA durante la chirurgia, viene raccomandata un'adeguata preparazione anche in questi pazienti^{2,84}.

Il raggiungimento di una pressione arteriosa < 130/80 mmHg, con una frequenza cardiaca compresa tra 60 e 70 bpm da seduti, e di una pressione arteriosa sistolica > 90mmHg, con una frequenza cardiaca compresa tra 70 e 80 bpm, in ortostatismo, sembra rappresentare un obiettivo ragionevole in previsione della chirurgia².

1.6.2 Terapia chirurgica

La chirurgia rappresenta il trattamento di prima linea nei pazienti con FEO/PGL. Attualmente, nella maggior parte dei casi, l'intervento viene condotto mediante l'utilizzo di un approccio laparoscopico. I due principali approcci laparoscopici sono il transaddominale/transperitoneale laterale (di Gagner) ed il retroperitoneale posteriore (di Walz)². L'intervento chirurgico per via laparoscopica, associato ad un'adeguata preparazione medica preoperatoria, si è mostrato in grado di ridurre la mortalità perioperatoria, la morbidità, la durata della degenza ed i relativi costi. La chirurgia in modalità *open* viene riservata alle neoplasie di grosse dimensioni (maggiori di 6 cm) o difficilmente asportabili con la chirurgia laparoscopica⁷⁹. Non vi sono dati relativi ad una eventuale differenza tra la percentuale di recidiva di malattia a seguito della chirurgia laparoscopica rispetto all'approccio *open*².

Per quanto riguarda i FEO, la surrenectomia con tecnica "*sparing*", che ha il fine di preservare la componente corticale, viene raccomandata nei pazienti affetti da forme familiari e/o bilaterali per evitare l'insufficienza surrenalica e la conseguente necessità di terapia sostitutiva *life-long*. Tuttavia, tale modalità di intervento può aumentare il rischio di recidiva di malattia e, per tali motivi, i rischi ed i benefici vanno accuratamente discussi con il paziente e valutati caso per caso⁷¹.

Nei pazienti con malattia metastatica il trattamento chirurgico ha prevalentemente uno scopo palliativo con il fine di ridurre i sintomi legati all'eccesso di CA, migliorando il controllo pressorio e riducendo le comorbidity cardiovascolari e gastrointestinali^{85,86}.

1.6.3 Cenni ad altre terapie

Nei pazienti affetti da FEO/PGL metastatico le opzioni terapeutiche da impiegare vanno valutate caso per caso in considerazione del rapporto rischio/beneficio, in quanto, ad oggi, non vi sono delle linee guida dedicate.

Uno schema chemioterapico a base di ciclofosfamide, vincristina e dacarbazina (CVD) rappresenta il trattamento di scelta nei pazienti con elevato carico tumorale e rapida progressione di malattia⁸⁷. Alcuni autori hanno riportato una migliore risposta al trattamento con lo schema CVD nei pazienti con patologia cromaffine metastatica causata da mutazioni del gene *SDHB*^{88,89}, tuttavia tali evidenze non sono state confermate in altri studi⁹⁰.

Una migliore risposta al trattamento nei pazienti con FEO/PGL metastatico mutati *SDHB* è stata descritta anche per quanto riguarda l'utilizzo della temozolomide (TMZ), chemioterapico somministrato per via orale, la cui efficacia è condizionata dall'espressione della O(6)-metilguanina-DNA metil-trasferasi (MGMT). L'ipermetilazione del promotore della MGMT nei tumori correlati a mutazioni di *SDHB* potrebbe silenziare l'espressione del suddetto enzima giustificando la risposta efficace al trattamento in questi pazienti⁹¹.

Gli inibitori delle tirosino-chinasi (TKI) trovano spazio nel trattamento dei FEO/PGL metastatici grazie alla loro capacità di bloccare i recettori del VEGF inibendo così l'angiogenesi e la crescita tumorale⁸⁵. In particolare, il sunitinib è stato il primo farmaco di questa classe ad essere proposto nel trattamento dei FEO/PGL metastatici⁹² ma anche l'efficacia di altre molecole, quali pazopanib, axitinib, cabozantinib e lenvatinib è stata valutata nel corso di *trials* clinici. I dati preliminari finora ottenuti mostrano una iniziale risposta alla somministrazione dei TKI, dopo la quale si instaura la resistenza al

trattamento. I meccanismi con cui si instaura la resistenza sono molteplici, tra quelli identificati vi sono, ad esempio, l'attivazione delle vie di segnalazione di c-MET che contribuisce all'invasione e alla metastatizzazione tumorale, il reclutamento di progenitori endoteliali resistenti all'azione dei TKI attualmente disponibili, l'utilizzo dei vasi sanguigni in prossimità del tumore al fine di sopperire al bisogno di ossigeno e nutrienti⁹³.

La terapia radiometabolica con ¹³¹I-MIBG ad alta specificità (HSA-¹³¹I-MIBG) è stata di recente approvata dalla *Food and Drug Administration* (FDA) per il trattamento dei pazienti affetti da FEO/PGL metastatico, non resecabile, con *imaging* positivo alla scintigrafia ¹²³I-MIBG⁹⁴. I dati sul suo impiego derivati da uno studio di fase II hanno mostrato una risposta parziale o una stabilità di malattia nel 92% dei pazienti⁹⁵.

Allo stesso modo, la terapia radio-recettoriale (PRRT) con ⁹⁰Y o ¹⁷⁷Lu-DOTATATE, attualmente approvata per il trattamento dei tumori neuroendocrini del distretto gastroenterico in diversi Paesi, può rappresentare una valida opzione di trattamento nei pazienti con FEO/PGL metastatici che mostrano captazione alla PET/TC con ⁶⁸Ga-DOTATATE. Un recente studio retrospettivo ha mostrato un vantaggio terapeutico della PRRT rispetto alla terapia con ¹³¹I-MIBG nel migliorare *progression free survival* (PFS) e la *overall survival* (OS), in particolare nei pazienti affetti da PGL metastatici⁹⁶. Tuttavia, il disegno retrospettivo dello studio, l'utilizzo di diversi protocolli di trattamento ed il fatto che alcuni dei pazienti arruolati siano stati sottoposti sia alla PRRT che alla terapia con ¹³¹I-MIBG rappresentano importanti limiti. Per questi motivi, studi prospettici si rendono necessari per validare tali osservazioni.

L'utilizzo di analoghi freddi della somatostatina (SSA) *long acting*, già approvati per il trattamento dei tumori neuroendocrini gastrointestinali ben differenziati, dovrebbe essere

valutato anche nei pazienti con FEO/PGL metastatici, alla luce dell'elevata espressione dei recettori di tipo 2 della somatostatina (SSTR2) che questi tumori presentano⁹⁷.

La radiochirurgia e la radioterapia esterna possono contribuire ad ottenere un controllo locale della malattia nei pazienti con FEO/PGL metastatici non operabili. In particolare, tali trattamenti vengono utilizzati in caso di metastasi ossee anche al fine di alleviare la sintomatologia algica associata^{98,99}.

Sono in corso di valutazione nuove terapie molecolari mirate. Gli inibitori di HIF2 α interferiscono con le vie di segnalazione attivate nei FEO/PGL appartenenti al *cluster 1* e possono, dunque, rappresentare un'opzione terapeutica futura nelle forme metastatiche¹⁰⁰. La condizione di "pseudo-ipossia" inibisce l'attivazione dei linfociti T citotossici ed incrementa l'espressione della proteina del check-point immunitario PD-L1 (*Programmed Death-Ligand 1*) e dei suoi recettori (PD-1). Sono disponibili i dati di uno studio di fase I/II sull'impiego dello spartalizumab (Clinicaltrials.gov NCT02404441), anticorpo monoclonale IgG4k in grado di legare PD-1 e bloccarne la sua interazione con PD-L1, che hanno mostrato una stabilità di malattia (SD) nella metà (n 22) dei pazienti valutati (n 44)¹⁰¹. Anche studi di fase II che prevedono l'utilizzo di pembrolizumab (Clinicaltrials.gov NCT02721732), ipilimumab e nivolumab (Clinicaltrials.gov NCT02834013) sono attualmente in corso.

In considerazione dell'iperattivazione delle vie di segnalazione delle tirosino-chinasi che si riscontra nei FEO/PGL appartenenti al *cluster 2*, l'impiego di everolimus, inibitore di mTOR, è stato proposto nei pazienti affetti da FEO/PGL metastatico. Tuttavia, scarsi risultati sono stati ottenuti con evidenza di progressione di malattia in questi pazienti¹⁰².

La talidomide, agente antiangiogenetico, è stata utilizzata in combinazione con TMZ nei tumori neuroendocrini. In un recente *case report*, l'utilizzo di talidomide come unico

trattamento si è dimostrato efficace nel controllare la progressione di malattia in un uomo di 38 anni affetto da PGL metastatico originato dall'organo dello Zuckerkandl¹⁰³.

2. Associazione con altre neoplasie non cromaffini

Negli ultimi anni è cresciuto l'interesse riguardante l'insorgenza di seconde neoplasie non cromaffini nei pazienti affetti da FEO/PGL. In particolare, i dati riportati in letteratura sono focalizzati sulle mutazioni del complesso *SDHx*, risultate più frequentemente associate ai tumori stromali gastrointestinali (GIST)^{104,105,106}, ai carcinomi renali (RCC)^{107,108} e agli adenomi ipofisari (PA)^{109,110}.

Per dimostrare la patogenicità delle mutazioni di *SDHx* nello sviluppo delle neoplasie non cromaffini, l'analisi immunoistochimica (IHC) per SDHB rappresenta una metodica dotata di alta specificità e sensibilità, nonché facilmente disponibile e poco costosa, utile per identificare l'alterata espressione di SDH a livello del tessuto tumorale^{111,112}. Nello specifico, una mutazione germinale di *SDHx* destabilizza il complesso enzimatico determinando all'analisi IHC la perdita dell'espressione di *SDHB* nei tumori con mutazioni dei geni *SDHB*, *SDHC* e *SDHD*. Differentemente, la perdita dell'espressione di *SDHA* si riscontra soltanto nei tumori con mutazioni del gene *SDHA*¹¹¹. In considerazione di tali evidenze, la valutazione IHC può essere impiegata come *marker* surrogato delle mutazioni di *SDHx*.

Tuttavia, i risultati dell'esame immunoistochimico devono essere interpretati con cautela a causa dei possibili esiti falsi positivi che si possono riscontrare, in particolar modo, nel caso delle mutazioni del gene *SDHD*^{113,114}.

A tal proposito, l'impiego dell'analisi genetica eseguita su prelievo ematico del paziente, al fine di riscontrare la presenza di mutazioni germinali, e sul tessuto tumorale, al fine di rilevare l'eventuale perdita di eterozigotà (*loss of heterozygosity*, LOH), può essere utilizzata per convalidare l'esito dell'IHC e confermare o meno la patogenicità delle mutazioni di *SDHx*.

2.1 Tumori stromali gastrointestinali (GIST)

Nell'85-90% dei casi i GIST sono dovuti a mutazioni attivanti di KIT¹¹⁵ o PDGFRA¹¹⁶, mentre il restante 10-15%, in cui un'alterazione di questi geni non viene riscontrata, è definito *wild type*. In realtà, una mutazione di NF1¹¹⁷ o BRAF¹¹⁸ si evidenzia in circa il 50% dei casi cosiddetti *wild type*, mentre l'altro 50% è dovuto a mutazioni di *SDHx* sporadiche o facenti parte di forme sindromiche quali la Sindrome di Carney Stratakis, in cui lo sviluppo dei GIST si associa ai PGL, e la triade di Carney, nella quale i GIST si associano ai PGL ed ai condromi polmonari³¹.

Circa il 5-7.5% di tutti i GIST sono determinati da mutazioni di *SDHx*, si localizzano prevalentemente a livello gastrico, sono multipli¹¹⁹ e presentano caratteristiche morfologiche simili a quelli non correlati a deficit di *SDHx*¹⁰⁵. Circa il 47% di questi tumori sono dovuti a mutazioni del gene *SDHA*¹²⁰, si riscontrano più frequentemente in bambini e giovani adulti, prediligendo il sesso femminile¹²¹. Essi mostrano un decorso generalmente indolente, anche se sono stati descritti casi di metastatizzazione epatica e linfonodale^{122,123}. A causa del differente meccanismo patogenetico rispetto ai GIST dovuti a mutazioni di KIT, sono resistenti alla terapia con imatinib¹²¹. Ad oggi, non vi è indicazione ad eseguire uno screening per GIST nei pazienti asintomatici che presentano mutazioni di *SDHx*¹²⁰.

Nel 2011 Miettinen e colleghi¹²⁴ hanno sottoposto ad analisi IHC per SDHB 1134 casi di GIST (7 esofagei, 756 gastrici, 265 dell'intestino tenue, 23 colici, 43 rettali, 40 con localizzazione extra-gastrointestinale). Tra questi, un totale di 66 GIST ha mostrato un *immunostaining* negativo per SDHB. I pazienti appartenenti a questo gruppo erano per lo più bambini e giovani adulti, in particolare la metà aveva meno di 21 anni. Il sesso

femminile era prevalente tra i pazienti con età inferiore a 21 anni, mentre nessuna differenza tra i due sessi si è riscontrata nel gruppo di pazienti con età maggiore di 30 anni. Un paziente ha sviluppato un FEO 24 anni prima della diagnosi del GIST ed un altro un HNPGL 25.5 anni dopo il primo GIST. La valutazione della perdita di eterozigotà nei tumori risultati deficitari all'analisi IHC per SDHB non è stata eseguita.

Pantaleo *et al.*¹²² hanno valutato 69 pazienti affetti da GIST metastatici (31 gastrici, 33 dell'intestino tenue, 5 in altre sedi) di cui 34 femmine e 35 maschi con età media di 56.2 anni (range 27-79 anni). Undici pazienti sono risultati affetti da un GIST *wild type* per KIT/PDGFR e sono stati sottoposti ad analisi IHC per SDHB, nonché a sequenziamento genico per *SDHx*. In sei di questi pazienti è stata riscontrata l'assenza di proteina SDHB all'analisi IHC e la presenza di mutazione germinale del gene *SDHA*. L'età media dei pazienti con GIST dovuti a mutazione *SDHA* era inferiore rispetto a quelli dovuti a mutazioni attivanti di *KIT/PDGFR* (27 vs 55 anni). Non si sono riscontrati decessi in questo gruppo di pazienti nell'intero periodo di *follow up*, avvalorando il decorso indolente di queste forme tumorali.

Un'altra casistica descritta in letteratura riporta 76 GIST sottoposti ad analisi IHC sia per SDHB che per SDHA. Tutti i tumori hanno mostrato una mancata espressione proteica di SDHB, mentre nel 37% (n 28) è stata riscontrata un'espressione deficitaria di SDHA. Dei 35 pazienti sottoposti ad analisi genetica per *SDHx* è stata più frequentemente riscontrata una mutazione germinale del gene *SDHA* (n 11), seguita da *SDHB* (n 8), *SDHC* (n 6) ed *SDHD* (n 1)¹²⁵.

In alcuni recenti *reports* è stata dimostrata la presenza di un *immunostaining* negativo per SDHB, ma tale dato non è stato avvalorato dall'esecuzione del sequenziamento genetico su sangue periferico del paziente o sul tessuto tumorale^{126,127}.

In Tabella 7 vengono riportati i principali lavori disponibili sull'associazione tra *SDHx* e GIST.

Tabella 7. Associazione tra *SDHx* e GIST (GIST: tumori stromali gastrointestinali; IHC: immunohistochimica; LOH: *loss of heterozygosity*)

	Popolazione iniziale	Casi	IHC negativa	LOH
Benn DE et al, 2006 ¹²⁸	116 pazienti (da 62 famiglie con mutazioni <i>SDHB</i> o <i>SDHD</i>)	1 GIST	1 <i>SDHB</i> -/1	0/0
McWhinney SR et al, 2007 ¹⁰⁴	9 GIST	9 GIST	0/0	8/8
Gill AJ et al, 2010 ¹¹²	121 GIST	121 GIST	10 <i>SDHB</i> -/121	0/0
Miettinen M et al, 2011 ¹²⁴	1134 GIST	1134 GIST	66 <i>SDHB</i> -/1134	0/0
Janeway KA et al, 2011 ¹⁰⁵	34 GIST	34 GIST	2 <i>SDHB</i> -/3	0/0
Gaal J et al, 2011 ¹²⁹	57 GIST 1 carcinoma midollare tiroideo (CMT) in paziente con GIST	57 GIST 1 CMT	11 <i>SDHB</i> -/57 0/1	0/0 1 mutazione somatica RET/1
Doyle LA et al, 2012 ¹³⁰	264 GIST	264 GIST	22 <i>SDHB</i> -/264	0/0
Italiano A et al, 2012 ¹³¹	28 GIST	28 GIST	4 <i>SDHB</i> - (di cui 3 <i>SDHB</i> -/ <i>SDHA</i> -) /7	1 perdita parziale, 1 mutazione somatica/17
Belinsky MG et al, 2013 ¹³²	24 GIST	24 GIST	11 <i>SDHB</i> -/24	4/6
Oudijk L et al, 2013 ¹³³	33 GIST	33 GIST	16 (di cui 4 <i>SDHB</i> -/ <i>A</i> -)/33	2/4
Wagner AJ et al, 2013 ¹³⁴	33 GIST	33 GIST	33 <i>SDHB</i> - (di cui 9 <i>SDHB</i> -/ <i>A</i> -)/33	5 (+ 1 delezione ed 1 mutazione somatica)/9 <i>SDHA</i> -
Miettinen M et al, 2013 ¹⁰⁶	944 GIST	944 GIST	127 <i>SDHB</i> - (di cui 36 <i>SDHB</i> -/ <i>A</i> -)/944	6/7 <i>SDHA</i> -
Pantaleo MA et al, 2014 ¹³⁵	358 GIST (34 <i>wild type</i> per KIT/PDGFR α)	34 GIST	6 <i>SDHB</i> -(2/6 <i>SDHA</i> -)/20	2/8
Pantaleo MA et al, 2015 ¹²²	69 GIST metastatici (11 <i>wild type</i> per KIT/PDGFR α)	11 GIST	6 <i>SDHB</i> -/11	6 mutazioni germinali <i>SDHA</i> /11
Jiang Q et al, 2015 ¹³⁶	1 paziente affetto da GIST e carcinoma renale cromofobo	1 GIST	1 <i>SDHB</i> -/1	1/1
Niemeijer ND et al, 2015 ¹³⁷	26 pazienti mutati <i>SDHx</i>	2 GIST	2 <i>SDHB</i> -/2	2/2
Mason EF et al, 2016 ¹²⁵	705 GIST	76 GIST	76 <i>SDHB</i> - (di cui 28 <i>SDHB</i> -/ <i>A</i> -)/76	0/0
Brcic I et al, 2019 ¹³⁸	1 GIST	1 GIST	1 <i>SDHB</i> -/1	1 mutazione somatica <i>SDHB</i> /1
Malik F et al, 2019 ¹³⁹	1 GIST	1 GIST	1 <i>SDHB</i> -/1	1 mutazione somatica <i>SDHB</i> /1
Ricci R et al, 2019 ¹⁴⁰	43 GIST	43 GIST	9 <i>SDHB</i> -/34	3 LOH, 5 mutazioni somatiche/ 9
Stanley A et al, 2019 ¹²⁶	1 GIST	1 GIST	1 <i>SDHB</i> -/1	0/0
Carrera S et al, 2019 ¹⁴¹	1 GIST	1 GIST	0/0	1 mutazione germinale <i>SDHA</i> /1
Gokozan HN et al, 2020 ¹²⁷	1 GIST	1 GIST	1 <i>SDHB</i> -/1	0/0

2.2 Carcinomi a cellule renali (RCC)

I carcinomi a cellule renali (RCC) dovuti a mutazioni di *SDHx* costituiscono lo 0.05-2% di tutti i RCC e dal 2016 sono stati riconosciuti come categoria distinta dalla *World Health Organization* (WHO) rispetto agli altri carcinomi renali¹⁴². Una mutazione germinale di *SDHB* è stata riportata nell'83% dei pazienti¹²⁰, anche se sono stati descritti casi legati a mutazioni di *SDHA*¹⁴³, di *SDHC*¹⁴⁴ e di *SDHD*¹⁴⁵.

A seconda delle casistiche l'età media alla diagnosi è compresa tra i 37 e i 40 anni^{146,147}. Forme bilaterali vengono riscontrate in circa il 26% dei pazienti, mentre una malattia metastatica è stata descritta nel 33% dei casi. Le caratteristiche istologiche distintive di queste forme tumorali sono la presenza di vacuoli citoplasmatici, inclusioni flocculente e citoplasma eosinofilo¹⁴⁶; in molti casi vengono descritti anche aspetti "oncocitari".

Nel 2004 è stata riportata per la prima volta un'associazione patogenetica tra *SDHB* e RCC. In una popolazione di 352 pazienti affetti da FEO/PGL vi erano tre casi di RCC in cui è stata riscontrata la LOH¹⁰⁸.

Nel 2014 Miettinen *et al.*¹¹⁹ hanno eseguito uno studio di analisi IHC su un campione di 2258 neoplasie epiteliali tra cui 711 RCC. Soltanto in quattro di questi casi è stata riportata una IHC negativa per *SDHB*.

Un'altra casistica descritta in letteratura era costituita da 37 RCC con caratteristiche istologiche compatibili con RCC da compromissione di *SDHx*. Tra i 37 tumori analizzati un *immunostaining* negativo per *SDHB* è stato rilevato in 11 casi, in particolare in un caso è stata riportata una IHC negativa sia per *SDHB* che per *SDHA*. La perdita allelica somatica è stata riscontrata in cinque dei sei casi esaminati¹⁴⁷.

Gupta *et al.*¹⁴⁸ hanno recentemente pubblicato i dati dell'analisi IHC eseguita in 1009 RCC (400 papillari; 203 a cellule chiare; 87 cromofobi; 273 oncocitomi; 46 non

classificati). In tre RCC, tutti appartenenti al sottogruppo degli oncocitomi, è stata confermata la mancata espressione proteica di SDHB.

Nella Tabella 8 sono riportati i principali lavori riguardanti l'associazione tra *SDHx* e RCC.

Tabella 8. Associazione tra *SDHx* e RCC (RCC: carcinoma a cellule renali; IHC: immunohistochimica; LOH: *loss of heterozygosity*)

	Popolazione iniziale	Casi	IHC negativa	LOH
Vanharanta S et al, 2004¹⁰⁸	352 pazienti con FEO/PGL	3 RCC	0/0	3/3
Morris MR et al, 2004¹⁴⁹	51 RCC + 4 oncocitomi	29 RCC	0/0	0/29
Housley SL et al, 2010¹⁵⁰	1 RCC in paziente mutato <i>SDHB</i>	1 RCC	0/0	1/1
Gill AJ et al, 2011¹⁰⁷	5 RCC	5 RCC	4 SDHB-/4	0/0
Malinoc A et al, 2012¹⁵¹	35 pazienti mutati <i>SDHC</i>	2 RCC	1 SDHB-/2	2/2
Gill AJ et al, 2014¹⁴⁶	36 RCC in 27 pazienti mutati <i>SDHx</i>	36 RCC	36 SDHB-/36	0/0
Fleming S et al, 2014¹⁵²	3 RCC in pazienti mutati <i>SDHB</i>	2 RCC	2 SDHB-/2	0/0
Papathomas TG et al, 2014¹⁵³	Serie di 348 tumori (non solo RCC)	5 RCC	4 SDHB-/4	4/4
Miettinen M et al, 2014¹¹⁹	2558 tumori epiteliali	1547 altri tumori 711 RCC	3 SDHB- (adc prostata, adc gastrico, seminoma testicolare) /1547 4 SDHB-/711	0/0 0/0
Paik JY et al, 2014¹⁵⁴	1 RCC in paziente mutato <i>SDHB</i>	1 RCC	1 SDHB-/1	0/0
Williamson SR et al, 2015¹⁴⁷	37 RCC con caratteristiche istologiche compatibili con <i>SDHx</i>	37	11 SDHB- (di cui 1 SDHB-/A-)/37	5/6
Niemeijer ND et al, 2015¹³⁷	26 pazienti mutati <i>SDHx</i>	3 RCC	3 SDHB-/3	3/3
Casey RT et al, 2017¹⁵⁵	12 pazienti con FEO/PGL + RCC	11 RCC	0/0	1 (MAX)/1
Calìo A et al, 2017¹⁵⁶	4 RCC (3 mutati <i>SDHB</i>)	4 RCC	4 SDHB-/4	0/0
Gupta S et al, 2017¹⁵⁷	14 RCC+PGL (3 pazienti affetti da VHL)	11 RCC	0/11	0/0
Iwashita H et al, 2017¹⁵⁸	1 RCC	1 RCC	1 SDHB-/1	1/1
Kumar R et al, 2018¹⁵⁹	1 RCC	1 RCC	1 SDHB-/1	0/0
Li Y et al, 2018¹⁶⁰	33 RCC	33 RCC	8 SDHB-/A+; 4 FH -/33	0/0
Mc Evoy CR et al, 2018¹⁶¹	1 RCC	1 RCC	1 SDHB-/A-/1	1/1
Michalova K et al, 2018¹⁶²	10 RCC	10 RCC	0/10	0/0
Nicolas K et al, 2019¹⁶³	10 RCC	10 RCC	0/10	0/0
Gupta S et al, 2019¹⁴⁸	1009 RCC	1009 RCC	3 SDHB-/1009	0/0
Ugarte-Camera M et al, 2019¹⁶⁴	2 RCC in un paziente mutato <i>SDHB</i>	2 RCC	0/2	0/0
Wilczek Y et al, 2020¹⁶⁵	1 RCC	1 RCC	1 SDHB-/1	1 mutazione germinale <i>SDHB</i> /1

2.3 Adenomi ipofisari (PA)

Gli adenomi ipofisari (PA) dovuti a mutazioni di *SDHx* sono rari, si tratta più frequentemente di prolattinomi o di somatotropinomi, anche se sono stati descritti casi di gonadotropinomi silenti e corticotropinomi. La prevalenza di mutazioni *SDHx* nei PA è di 0.3-1.8% in casi non selezionati con un'età media alla diagnosi è di 44 anni^{120,166}. Sono stati riportati sia casi di micro che macroadenomi³¹. Da quanto emerge dalla letteratura, tali tumori sembrano avere un comportamento più aggressivo rispetto alle forme di PA non legate a mutazioni di *SDHx* vista la necessità di impiegare più linee terapeutiche e/o lo sviluppo di resistenza al trattamento¹⁶⁶. La loro principale caratteristica istologica è rappresentata dalla presenza di vacuoli citoplasmatici chiari^{120,167}.

Nel 2012 Xekouki e colleghi¹⁰⁹ hanno descritto il primo caso di somatotropinoma in un paziente di 37 anni con PGL multipli (collo, torace, addome) portatore di mutazione *SDHD*. Il tessuto tumorale del PA mostrava LOH ed un *immunostaining* negativo per SDHB.

In una popolazione costituita da 309 PA, Gill *et al.*¹¹⁰ hanno riportato la presenza di due mutazioni somatiche di *SDHA* a livello del tessuto tumorale senza evidenza di mutazioni germinali di *SDHx*.

In un'altra serie costituita da 348 tumori differenti, 2 PA sono stati sottoposti ad analisi IHC e genetica per valutare la presenza di LOH. In uno solo dei due casi è stata riscontrata una IHC negativa per SDHB e la presenza di LOH¹⁵³.

In Tabella 9 vengono riportati i principali lavori focalizzati sull'associazione tra *SDHx* e PA.

Tabella 9. Associazione tra *SDHx* e PA (PA: *pituitary adenoma*; IHC: immunistoichimica; LOH: *loss of heterozygosity*)

	Popolazione iniziale	Casi	IHC negativa	LOH
Xekouki P et al, 2012 ¹⁰⁹	PA + FEO/PGL in un paziente mutato <i>SDHD</i>	1 PA	1 SDHB-/1	1/1
Dwight T et al, 2013 ¹⁶⁸	1 PA in un paziente mutato <i>SDHA</i>	1 PA	1 SDHB-/A-/1	1/1
Gill AJ et al, 2014 ¹¹⁰	309 PA	309 PA	1 SDHB-/A-/309	2 mutazioni inattivanti non presenti a livello germinale/1
Papathomas TG et al, 2014 ¹⁵³	Serie di 348 tumori differenti	2 PA	1 SDHB-/2	1/2
Dénes J et al, 2015 ¹⁶⁹	39 pazienti	23 PA (5 SDHB, 1 SDHC, 1 SDHA, 1SDHAF2)	1 SDHB-/7	3/5
O'Toole M et al, 2015 ¹⁷⁰	72 casi di letteratura	60 PA	0/0	2/non noto
Niemeijer ND et al, 2015 ¹³⁷	26 pazienti mutati <i>SDHx</i>	2 PA	2 SDHB-/2	1(+ 1mutazione somatica)/2
Tuflon N et al, 2017 ¹⁷¹	1 PA + HNPGL in paziente mutato <i>SDHB</i>	1 PA	0/0	2 mutazioni somatiche <i>SDHA</i> /1
Maher M et al, 2018 ¹⁷²	1 PA	1 PA	0/1	Ritenzione parziale del normale allele a livello del sito mutazionale/1
Saavedra A et al, 2019 ¹⁷³	1 PA + PGL metastatico	1 PA	1 pattern eterogeneo per SDHB/1	0/1
Lemelin A et al, 2019 ¹⁷⁴	1 paziente con FEO/PGL mutato <i>SDHD</i>	1 PA	0/0	0/0

2.4 Altre neoplasie

Oltre ai GIST, ai RCC e ai PA anche altri tumori sono stati associati a mutazioni del complesso *SDHx*, seppur si tratti di casi molto rari.

Un'ampia casistica di 754 pazienti affetti da carcinoma differenziato tiroideo (CDT) è stata valutata da Ni e colleghi¹⁷⁵. Una mutazione germinale a carico di *SDHC* o di *SDHD* è stata trovata nel 6% dei casi (n 48), anche se generalmente le mutazioni riscontrate venivano classificate come non patogenetiche. Una LOH è stata rilevata in 5 dei 37 carcinomi tiroidei analizzati, tra cui tre carcinomi papillari classici e due carcinomi follicolari, e correlava con una più precoce insorgenza di malattia ed uno stadio più avanzato¹⁷⁵.

Senza conoscere il *background* genetico dei pazienti, Papathomas *et al.*¹⁵³ hanno studiato mediante analisi IHC per SDHB un gruppo di differenti tipi tumorali tra cui 60 carcinomi papillari della tiroide, 47 tumori neuroblastici, 50 seminomi testicolari e 10 tumori adenomatoidi con evidenza di un *immunostaining* positivo in tutti i casi.

La perdita di espressione di SDHB all'analisi IHC è stata evidenziata in un tumore neuroendocrino (NET) del pancreas in un paziente portatore di mutazione *SDHD* ed affetto da HNPGL multipli. E' stata anche dimostrata la LOH supportando la patogenicità della mutazione¹³⁷.

Una mutazione germinale del gene *SDHB* è stata riportata in un paziente affetto da linfoma di Hodgkin, non sono state eseguite ulteriori indagini per stabilire la causalità della mutazione nello sviluppo della neoplasia ematologica¹⁷⁶.

Nel 2014 Choi e colleghi¹⁷⁷ hanno analizzato 206 tumori filloidi della mammella (156 benigni, 34 borderline, 16 maligni). Una mancata espressione proteica di SDHA è stata riscontrata in 5 casi, mentre un *immunostaining* negativo per SDHB è stato descritto in

31 casi. I tumori negativi per SDHB all'IHC presentavano un minor grado di atipia stromale e un *grading* istologico più basso.

Nello stesso anno, Miettinen *et al.*¹¹⁹ hanno eseguito l'analisi IHC su 1547 diverse neoplasie epiteliali con evidenza di un *immunistaining* negativo per SDHB in un adenocarcinoma prostatico, in un adenocarcinoma gastrico ed in un seminoma testicolare. Nessuna ulteriore indagine genetica è stata condotta.

Recentemente, in una serie di 90 tumori del sistema nervoso centrale (SNC), la mancata espressione di SDHB all'analisi IHC è stata descritta in tre emangioblastomi¹⁷⁸.

In Tabella 10 vengono riportati i principali lavori disponibili riguardanti l'associazione tra mutazioni di *SDHx* ed altre neoplasie, fatta eccezione per i GIST, i RCC e i PA.

Tabella 10. Associazione tra *SDHx* ed altri tumori (non GIST, RCC, PA) (IHC: immunistoichimica; LOH: loss of heterozygosity)

	Popolazione iniziale	Casi	IHC negativa	LOH
Solis DC et al, 2009 ¹⁷⁹	41 pazienti mutati <i>SDHB</i>	1 carcinoma papillare tiroideo 1 leiomioma uterino 1 HNPGL + RCC 1 HNPGL + carcinoma papillare vescicale 1 HNPGL + carcinoma basocellulare 1 carcinoma polmonare	0/0	1/1 RCC + 1/1 PTC
Gaal J et al, 2011 ¹²⁹	1 carcinoma midollare della tiroide (CMT)	1 CMT	0/1	1 mutazione somatica RET/1
Choi J et al, 2014 ¹⁷⁷	206 casi di tumore filloide della mammella	206 casi di tumore filloide della mammella	36 SDHB- (di cui 5 SDHB-/A-)/206	0/0
Miettinen M et al, 2014 ¹¹⁹	1547 tumori epiteliali	1547 tumori epiteliali	3 SDHB- (1 adc prostatico; 1 adc gastrico; 1 seminoma testicolare)/1547	0/0
Papathomas TG et al, 2014 ¹⁵³	Serie di 348 tumori differenti	60 PTC 47 tumori neuroblastici 50 seminomi testicolari 10 tumori adenomatoidi	0/60 0/47 0/50 0/10	0/0 0/0 0/0 0/0
Niemeijer ND et al, 2015 ¹³⁷	26 pazienti mutati <i>SDHx</i>	4 pazienti <i>SDHx</i> con 5 diversi tumori	2 SDHB- (ganglioneuroma e NET del pancreas)/5	1 (NET del pancreas)/2
Ni Y et al, 2015 ¹⁷⁵	802 pazienti affetti da differenti tipologie tumorali	754 pazienti con carcinoma differenziato tiroideo	0/0	5/37 carcinomi tiroidei apparentemente sporadici (7 follicolari; 4 varianti follicolari del papillare; 26 papillari)
Else T et al, 2017 ¹⁸⁰	4 pazienti con carcinoma corticosurrenalico (ACC) mutati <i>SDHx</i>	4 ACC	0/3	1/4
Rasquin L et al, 2018 ¹⁸¹	1 paziente con FEO+PGL addominale + carcinoma differenziato tiroideo	1 paziente con FEO+PGL addominale + carcinoma differenziato tiroideo	0/1	0/1
Roh TH et al, 2019 ¹⁷⁸	90 tumori del SNC	17 glioblastomi 7 astrocitomi 9 oligodendrogliomi 9 ependimomi 7 neurocitomi centrali 3 schwannomi 10 meningiomi 6 emangiopericitomi 3 emangioblastomi 5 craniofaringiomi 12 PA Ulteriore analisi su 35 emangioblastomi	3 SDHB- (emangioblastomi)/90 9 SDHB-/35	0/0 0/0
Heiling CE et al, 2020 ¹⁸²	1 sarcoma gastrico indifferenziato "spindle cell"	1 sarcoma gastrico indifferenziato "spindle cell"	1 SDHB-/1	1/1
De Filpo G et al, 2020 ¹⁸³	1 tumore a cellule germinali mediastinico in paziente mutato <i>SDHB</i>	1 tumore a cellule germinali mediastinico in paziente mutato <i>SDHB</i>	0/1	0/1

3. Caso clinico: tumore a cellule germinali mediastinico in un paziente con mutazione germinale del gene *SDHB*

Viene riportato il caso clinico di un paziente afferito alla SOD di Endocrinologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Careggi (Firenze), portatore di mutazione del gene *SDHB* e con diagnosi incidentale di tumore a cellule germinali (GCT) del mediastino¹⁸³.

Nel Luglio 2019, un maschio di 19 anni giungeva alla nostra osservazione per acne *vulgaris* non responsiva alla terapia medica. Era nota una familiarità per paragangliomatosi di tipo 4 (madre affetta, portatrice della mutazione c.470T>G, p.Leu157Trp a livello dell'esone 5 del gene *SDHB*).

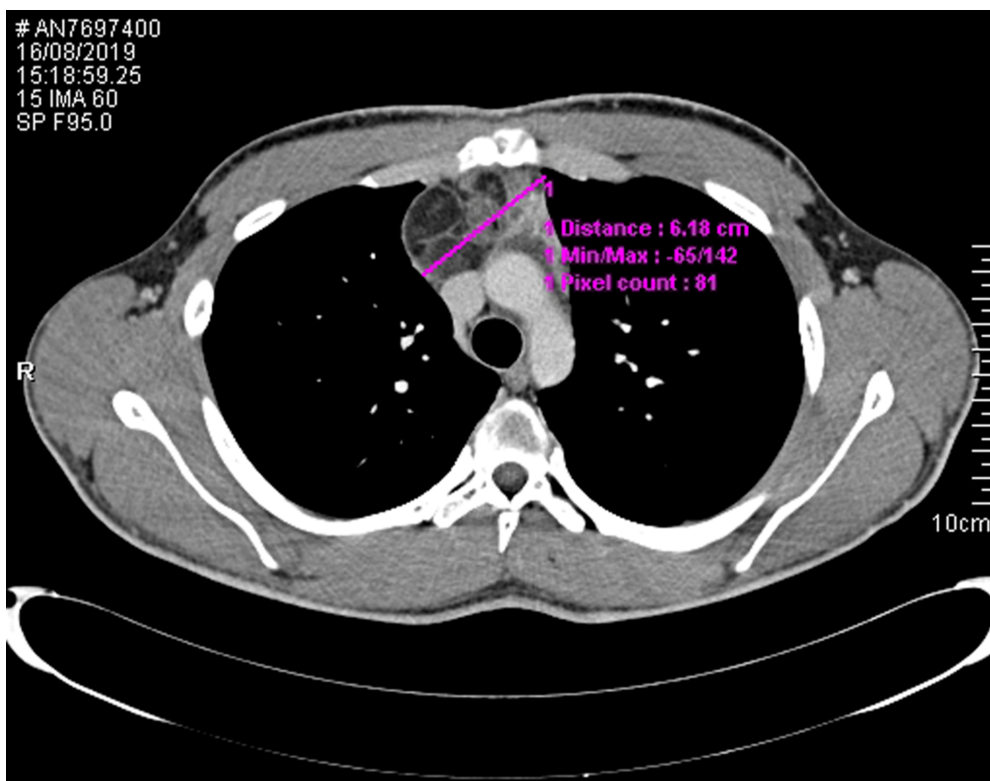
All'esame obiettivo il paziente presentava acne cistica sul volto e sul dorso, un volume testicolare lievemente ridotto (testicolo sinistro 12ml; testicolo destro 10ml); non era rilevabile ginecomastia e non venivano riferiti disturbi del campo visivo, cefalea o anosmia. Il paziente negava assunzione di farmaci o l'utilizzo di droghe.

In considerazione della familiarità per paragangliomatosi di tipo 4, dopo acquisizione dello specifico consenso informato da parte del paziente, veniva eseguita l'analisi genetica. L'esito del sequenziamento genico confermava la presenza della mutazione germinale c.470T>G, p.Leu157Trp a livello dell'esone 5 del gene *SDHB*, già descritta nella madre.

Gli esami ematochimici ed urinari, richiesti sia in relazione alla familiarità per patologia cromaffine che per la presenza di acne *vulgaris*, mostravano normali livelli di metanefrine urinarie e di cromogranina A; d'altro canto venivano riscontrati livelli soppressi di gonadotropine (FSH <0.3mUI/ml – vn 1.5-12.4; LH <0.2mUI/ml – vn 1.7-8.6) con testosterone ai limiti superiori dell'intervallo di riferimento (32nmol/L – vn 4.1-32.9)

ed incrementati livelli di β -hCG (35.4U/L – vn 0.1-2). La restante funzione ipofisaria ed il dosaggio di LDH ed α FP (121UI/L- vn 135-225 e 1.7U/ml- vn 0-5.8, rispettivamente) erano nei limiti. Non venivano evidenziate lesioni testicolari all'esame ecografico dedicato. Differentemente, alla TC torace/addome con mdc si evidenziava una lesione mediastinica di 6x5.8x3.6cm, compatibile con GCT (Figura 2). A completamento veniva richiesta una 18 FDG-PET che mostrava un basso metabolismo glucidico a livello della nota lesione mediastinica.

Figura 2. Immagine TC del tumore a cellule germinali (GCT) mediastinico



A Settembre 2019 il paziente veniva sottoposto ad intervento di rimozione chirurgica della massa mediastinica. L'esame istologico confermava la presenza di un GCT misto, composto da teratoma per il 95% e da seminoma per il 5%. Dopo l'intervento il paziente mostrava miglioramento dell'acne e normalizzazione degli indici ormonali (Tabella 11).

Il paziente sta attualmente proseguendo il suo *follow up* per la patologia cromaffine e per il GCT.

Tabella 11. Esami ormonali prima e dopo l'intervento chirurgico di asportazione del tumore a cellule germinali (GCT) mediastinico. LH (luteinizing hormone); FSH (follicle-stimulating hormone); β -hCG (β -human chorionic gonadotropin)

	LH (vn 1.7-8.6mUI/ml)	FSH (vn 1.5-12.4mUI/ml)	β-hCG (vn 0.1-2U/L)
Prima dell'intervento	<0.3	<0.3	35.4
Dopo l'intervento	7.4	5.1	0.1

Per appurare se la mutazione del gene *SDHB* fosse responsabile dello sviluppo del GCT mediastinico, l'analisi immunocitochimica (IHC) e la valutazione della perdita di eterozigosità (LOH) sul tessuto tumorale venivano eseguite.

Non è stata riscontrata la presenza di LOH a livello del tessuto tumorale del GCT, come riportato in Figura 3.

Similmente, non emergevano differenze significative di espressione della proteina SDHB all'esame immunocitochimico rispetto alle cellule non neoplastiche (Figura 4).

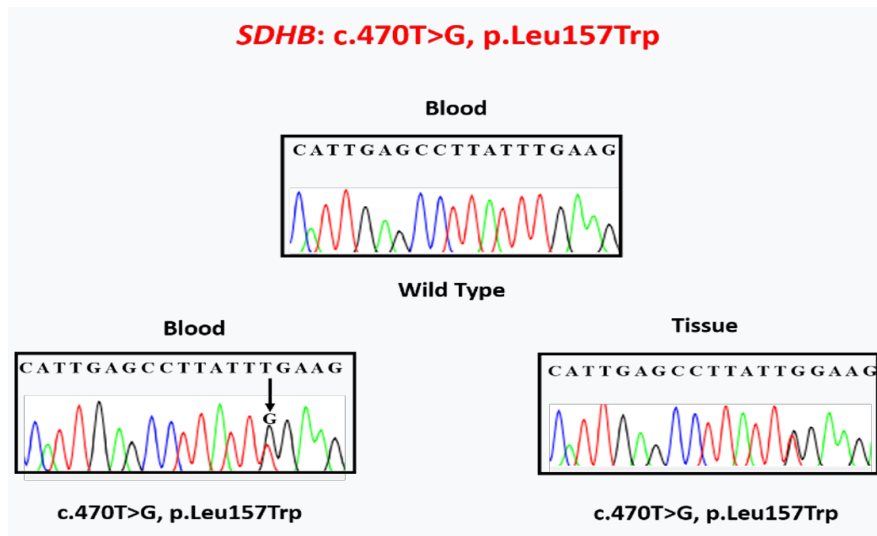


Figura 3. Elettroferogramma *wild type* (sopra) e del paziente (sotto) che mostra la mutazione germinale p.Leu175Trp nell'esone 5 del gene *SDHB* (sinistra) e l'assenza di LOH sul tessuto tumorale (destra)

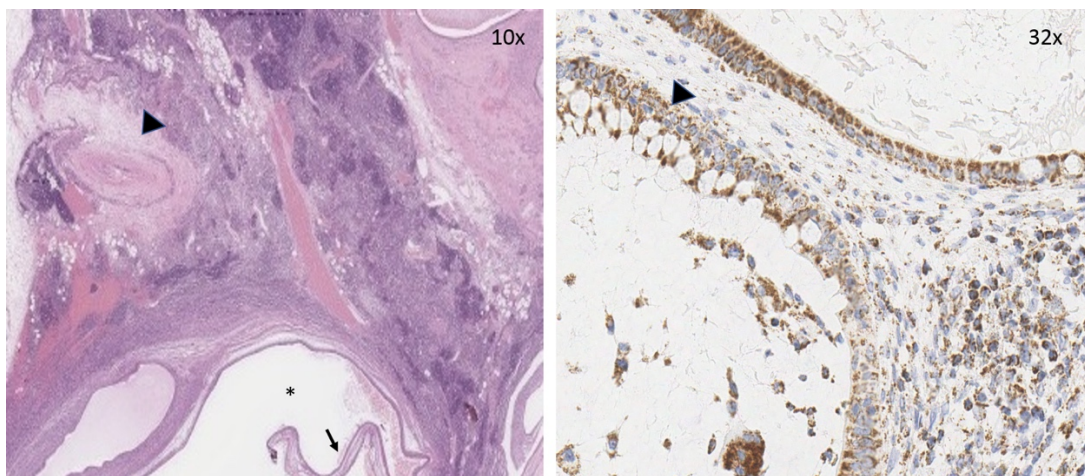


Figura 4. (Sinistra) Teratoma maturo con strutture cistiche (*) circondate da aree di epitelio respiratorio e mucinoso secernente (freccia). Un corpuscolo del Pacini (punta della freccia). **(Destra)** Cellule epiteliali secernenti muco (punta della freccia) con mantenuta espressione proteica *SDHB* (il precipitato bruno indica la presenza dell'antigene; colorazione ematossilina).

Tali evidenze hanno permesso di ipotizzare, in questo paziente, un'associazione incidentale tra la mutazione del gene *SDHB* e lo sviluppo di GCT. In particolare, l'assenza di LOH suggerisce il coinvolgimento di geni differenti da quelli *SDHx* nello sviluppo del GCT. Sebbene l'analisi IHC sia stata proposta come esame di *screening*^{111,112}, l'IHC per la valutazione di SDHA ed SDHB dovrebbe essere interpretata con cautela a causa dei possibili risultati falsi positivi, in particolare in presenza di mutazioni del gene *SDHD*^{113,114}. Per tali motivi, l'analisi genetica su campione ematico e/o sul tessuto tumorale è essenziale per confermare il dato immunohistochimico.

Ad oggi, una deficitaria espressione di *SDHx* è stata descritta solo in un caso di GCT. Miettinen e colleghi¹¹⁹ hanno descritto un caso di seminoma testicolare con un'analisi IHC negativa per SDHB, ma non è stata effettuata nessuna analisi genetica a completamento. Sulla base dei limitati dati di letteratura, i portatori di mutazione di *SDHx* dovrebbero essere esaminati per la presenza di GCT soltanto in caso di clinica suggestiva. Allo stesso modo, nei pazienti che non presentano patologia cromaffine, è consigliabile la ricerca di mutazioni germinali di *SDHx* se un deficit è sospettato.

Ulteriori studi saranno necessari per caratterizzare il decorso clinico dei GCT dovuti a mutazioni di *SDHx* e per valutare le eventuali differenze esistenti tra questi ed i GCT non legati a compromissione di *SDHx*.

4. Scopo

Questo studio multicentrico retrospettivo ha avuto lo scopo di identificare quali fossero le più frequenti seconde neoplasie maligne di natura non cromaffine presenti nei pazienti affetti da FEO/PGL, se vi fossero dei fattori predisponenti all'insorgenza di seconde neoplasie maligne e se la loro incidenza nella nostra popolazione fosse superiore a quella della popolazione generale, utilizzando i dati dell'Associazione Italiana Registri Tumori (AIRTUM) relativi al 2019.

5. Materiali e metodi

5.1 Popolazione dello studio

Sono stati inclusi nello studio 741 pazienti affetti da FEO/PGL ed afferiti tra il 1962 al 2019 nei seguenti 12 Centri italiani: Istituto Oncologico Veneto IRCCS, Padova; Dipartimento di Scienze Biomediche Sperimentali e Cliniche, AOU Careggi, Firenze; Centro Specialistico Ipertensioni Secondarie, Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, Università di Roma “Sapienza”, Policlinico Umberto I, Roma; Endocrinologia, Diabetologia e Metabolismo, Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Torino, Città della Salute e della Scienza ed Endocrinologia Oncologica, Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Torino, Città della Salute e della Scienza, Torino; Medicina Interna ed Endocrinologia, Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino, AOU San Luigi, Orbassano (Torino); Unità di Endocrinologia e Malattie Metaboliche Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano; Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Divisione di Endocrinologia Università Federico II, Napoli; Endocrinologia AO S. Croce e Carle, Cuneo; Unità di Endocrinologia Istituto Nazionale Tumori Regina Elena, Roma; Medicina Interna e Ipertensione, Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Torino, Città della Salute e della Scienza, Torino; Endocrinologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Molecolare, Università Roma “Sapienza”, Ospedale Sant’Andrea, Roma; Endocrinologia, AO Ordine Mauriziano, Torino.

Nella maggior parte dei pazienti arruolati la diagnosi di patologia cromaffine è avvenuta tra il 2009 ed il 2019 (46.8%). Nello specifico, la diagnosi è stata posta sulla base

dell'esame istologico nei pazienti sottoposti a chirurgia e sulla base degli esami biochimici e/o strumentali nei pazienti non operati.

La mediana del *follow up* dalla diagnosi di FEO/PGL fino al termine dello studio è stata di 48 [12-108] mesi.

L'analisi genetica dei geni di suscettibilità per FEO/PGL è stata presa in considerazione solo se almeno *SDHx*, *MAX* e *TMEM127* erano stati valutati.

Sono stati esclusi i FEO/PGL insorti nell'ambito di forme sindromiche, quali la sindrome di Von Hippel Lindau (VHL), la Neoplasia Endocrina Multipla di tipo 2 (MEN2) e la Neurofibromatosi di tipo 1 (NF1).

Dopo acquisizione del consenso informato, i dati clinici relativi a ciascuno dei pazienti arruolati sono stati raccolti retrospettivamente ed inseriti in un apposito database.

In particolare, sono stati considerati: età e data della diagnosi di FEO/PGL, sesso, livelli di metanefrina (MN), normetanefrina (NMN), metossitiramina (MTX), diagnosi di neoplasia maligna non cromaffine prima o dopo quella di FEO/PGL, familiarità per neoplasie, abitudine tabagica, consumo di alcol, esposizione a sostanze tossiche. Le caratteristiche della popolazione in esame sono riportate in Tabella 1.

L'incidenza di seconde neoplasie maligne non cromaffini nel nostro campione di pazienti è stata confrontata con quella della popolazione generale, utilizzando i dati dell'Associazione Italiana Registri Tumori (AIRTUM) relativi al 2019.

Tale confronto è stato effettuato tenendo conto anche della recente classificazione della *World Health Organization* (WHO) del 2017 dei tumori endocrini che colloca i FEO/PGL tra i tumori maligni in considerazione del loro potenziale metastatico^{8,14}.

Tabella 1. Caratteristiche della popolazione in esame (FEO: feocromocitoma; PGL: paraganglioma; HNPGL: *head and neck* PGL)

CARATTERISTICHE	NUMERO TOTALE	CASI
Femmine (%)	741	415 (56.0)
Classi di età (%)	728	
0-49 anni (%)		368 (50.5)
50-59 anni (%)		170 (23.4)
> 60 anni (%)		190 (26.1)
Età alla diagnosi di FEO/PGL - mediana [IQR]	728	49 [36-60]
FEO/PGL metastatici (%)	612	54 (8.8)
Forme secernenti (%)	572	379 (66.3)
Localizzazione FEO/PGL (%)	741	
PGL addominale		172 (23.1)
PGL mediastinico		2 (0.3)
HNPGL		3 (0.4)
FEO		37 (5.0)
PGL addominale + FEO		58 (7.8)
PGL mediastinico + HNPGL		56 (7.6)
PGL addominale + HNPGL		5 (0.7)
FEO + HNPGL		408 (55.1)
Familiarità per neoplasie (%)	727	264 (36.3)
Fattori di rischio		
Fumo (%)	672	159 (23.7)
Alcol (%)	678	32 (4.7)
Esposizione a sostanze tossiche (%)	625	29 (4.6)
Analisi genetica (%)	515	
<i>Wild type</i>		351 (68.1)
SDHD (%)		86 (16.2)
SDHB (%)		44 (8.3)
MAX (%)		12 (2.3)
TMEM127 (%)		11 (2.2)
SDHC (%)		7 (1.3)
SDHA (%)		3 (0.6)
SDHAF2 (%)		1 (0.2)
Cluster 1 (%)	515	142 (27.6)
Cluster 2 (%)	515	22 (4.3)
Anni tra la diagnosi di FEO/PGL e la seconda neoplasia maligna – mediana [IQR]	741	6 [2-14]
Seconda neoplasia e familiarità per neoplasie (%)	658	54 (8.2)
Epoca di insorgenza della seconda neoplasia maligna (%)	741	
Prima della diagnosi di FEO/PGL		40 (44.9)
Dopo la diagnosi di FEO/PGL		29 (32.6)
Al momento della diagnosi di FEO/PGL		20 (22.5)
Genetica positiva e familiarità per neoplasie	652	51 (7.8)
Decesso (%)	741	26 (3.5)
Decesso per FEO/PGL (%)	741	11 (1.5)
Follow up mesi - mediana [IQR]	726	48 [12-108]
Follow up di almeno 12 mesi	726	641 (88.3)

5.2 Analisi statistica

L'analisi dei dati è stata condotta con R, versione 3.5.0. Le variabili continue sono state descritte utilizzando la mediana ed il range interquartile (IQR) come misura di variabilità; le variabili categoriali sono state riportate con frequenze e percentuali.

Le differenze tra i gruppi sono state testate con il test di Mann-Whitney per le variabili continue ed il test del Chi-quadrato o, quando opportuno, il test di Fisher per le variabili categoriche.

Per valutare i fattori di rischio associati allo sviluppo di seconde neoplasie maligne è stata condotta un'analisi univariata al fine di stimare l'*odds ratio* (OR) e l'Intervallo di Confidenza al 95% (IC 95%) corrispondente. Un'analisi multivariata è stata successivamente condotta sulla base dei fattori di rischio identificati all'analisi univariata. Sono state valutate tutte le possibili combinazioni dei fattori di rischio; la selezione del modello finale è stata ottenuta attraverso l'*Akaike Information Criterion* (AIC).

Una seconda analisi è stata condotta escludendo i pazienti che hanno sviluppato una seconda neoplasia prima o simultaneamente alla patologia cromaffine, quindi sono stati considerati soltanto i pazienti con seconda neoplasia maligna non cromaffine sviluppata dopo la diagnosi di FEO/PGL. Nella seconda analisi, vengono riportati l'*hazard ratio* (HR) ed il corrispondente Intervallo di Confidenza (IC) al 95%, stimato con il modello del rischio proporzionale di Cox. Al fine di identificare il modello multivariato finale, è stata adottata la stessa strategia basata sull'AIC per tutte le possibili combinazioni dei fattori di rischio.

Il metodo basato sui residui di Schoenfeld è stato utilizzato per verificare l'assunzione di proporzionalità dei rischi.

Infine, il rapporto di incidenza standardizzato, o *Standardized Incidence Ratio* (SIR), delle seconde neoplasie maligne per età e sesso è stato calcolato facendo riferimento ai dati di incidenza sulla popolazione italiana, utilizzando i dati del registro AIRTUM aggiornati al 2019. Un SIR maggiore di 1 indica una più alta incidenza rispetto alla popolazione di riferimento. Anche in questo caso, l'Intervallo di Confidenza al 95% (IC 95%) corrispondente è stato calcolato.

6. Risultati

Nello studio sono stati inclusi 741 pazienti con diagnosi di FEO/PGL, di cui 415 femmine (56%). Stratificando i pazienti in base all'età, il 50.5% aveva meno di 50 anni, il 23.4% un'età compresa tra 50 e 59 anni, mentre il 26.1% più di 60 anni. In relazione alla sede del tumore lo 0.4% presentava esclusivamente HNPGL, il 36.2% un FEO o PGL toraco-addominale ed il 63.4% sia lesioni simpatergiche che parasimpatergiche. Il 66.3% presentava lesioni secernenti, una malattia metastatica è stata riportata nell'8.8% dei casi. Un'anamnesi familiare positiva per patologia oncologica era presente nel 36.3% dei pazienti, il 23.7% riferiva un'abitudine tabagica, il 4.7% consumava alcol abitualmente e il 4.6% presentava un'esposizione a fattori di rischio ambientali, ad esempio durante l'attività lavorativa (Tabella 1).

L'analisi genetica è stata condotta nel 69.5% dei casi e sono state individuate mutazioni a carico dei geni di suscettibilità nel 31.1% dei pazienti. In particolare, i geni coinvolti sono stati rispettivamente nel 16.2% *SDHD*, nel 8.3% *SDHB*, nel 2.3% *MAX*, nel 2.2% *TMEM127*, nel 1.3% *SDHC*, nello 0.6% *SDHA* e nello 0.2% *SDHAF2*. Considerando la suddivisione in *clusters*, il 27.6% dei pazienti era incluso nel *cluster* 1 mentre il 4.3% nel *cluster* 2.

Novantacinque (12.8%) pazienti hanno sviluppato nel corso del *follow up* una seconda neoplasia maligna (Tabella 2).

Tabella 2. Seconde neoplasie maligne riscontrate nei pazienti con FEO/PGL (SNC: sistema nervoso centrale)

SEDE DELLA SECONDA NEOPLASIA MALIGNA	n (%)
Mammella	16 (16.8)
Melanoma	11 (11.6)
Tiroide	11 (11.6)
Colon-retto	8 (8.4)
Prostata	8 (8.4)
Polmone e bronchi	7 (7.4)
Rene	5 (5.3)
Cute	4 (4.2)
Vescica	3 (3.2)
Ovaio	3 (3.2)
Mieloma multiplo	3 (3.2)
Stomaco	3 (3.2)
Utero	3 (3.2)
Sistema emopoietico	2 (2.1)
Cavo orale	2 (2.1)
Testa/collo	1 (1.1)
Fegato	1 (1.1)
Colecisti	1 (1.1)
Laringe	1 (1.1)
Testicolo	1 (1.1)
Pancreas	0 (0.0)
Encefalo e SNC	0 (0.0)
Altri	1 (1.1)

Confrontando i 646 pazienti con FEO/PGL che non hanno presentato una seconda neoplasia maligna con i 95 che hanno, invece, sviluppato un secondo tumore maligno non cromaffine, è stato riscontrato che i pazienti con diagnosi di secondo tumore avevano più frequentemente un'età maggiore di 60 anni (46.2% vs 23.2% dei pazienti senza secondo tumore associato, $p < 0.001$). Inoltre, i pazienti che hanno sviluppato un secondo tumore

maligno appartenevano meno frequentemente al *cluster 1* (11.1% vs 29.8%, p= 0.006). I dati relativi al confronto tra i pazienti che hanno sviluppato un secondo tumore maligno e quelli che non lo hanno sviluppato vengono riportati in Tabella 3.

Tabella 3. Caratteristiche dei pazienti stratificate in base alla presenza/assenza di secondo tumore maligno non cromaffine

CARATTERISTICHE	PAZIENTI CON SECONDA NEOPLASIA MALIGNA (N =95)	PAZIENTI SENZA SECONDA NEOPLASIA MALIGNA (N=646)	P VALUE
Femmine (%)	56/95 (58.9)	359/646 (55.6)	0.611
Classi di età (%)			<0.001
0-49 anni (%)	21/91 (23.1)	347/637 (54.5)	
50-59 anni (%)	28/91 (30.8)	142/637 (22.3)	
> 60 anni (%)	42/91 (46.2)	148/637 (23.2)	
Età alla diagnosi di FEO/PGL – mediana [IQR]	58 [50-65.8]	47 [35-58]	<0.001
FEO/PGL metastatici (%)	5/76 (6.6)	49/536 (9.1)	0.602
Forme secernenti (%)	51/72 (70.8)	328/500 (65.6)	0.456
Localizzazione FEO/PGL (%)			0.434
PGL addominale	23/95 (24.3)	149/646 (23.1)	
PGL mediastinico	0/95 (0.0)	2/646 (0.3)	
HNPGL	0/95 (0.0)	3/646 (0.4)	
FEO	2/95 (2.1)	35/646 (5.4)	
PGL addominale + FEO	4/95 (4.2)	54/646 (8.4)	
PGL mediastinico + HNPGL	6/95 (6.3)	50/646 (7.7)	
PGL addominale + HNPGL	0/95 (0.0)	5/646 (0.8)	
FEO + HNPGL	60/95 (63.1)	348/646 (53.9)	
Familiarità per neoplasie (%)	36/89 (40.4)	228/638 (35.7)	0.454
Fattori di rischio			
Fumo (%)	21/83 (25.3)	138/589 (23.4)	0.812
Alcol (%)	4/86 (4.7)	28/592 (4.7)	1.000
Esposizione a sostanze tossiche (%)	3/77 (3.9)	26/548 (4.7)	0.966
Analisi genetica (%)			
<i>Wild type</i>	46/56 (82.1)	303/459 (66.0)	0.180
<i>SDHA</i> (%)	0/56 (0.0)	4/459 (0.9)	1.000
<i>SDHB</i> (%)	1/56 (1.7)	44/459 (9.6)	0.084
<i>SDHC</i> (%)	0/56 (0.0)	7/459 (1.5)	0.727
<i>SDHD</i> (%)	5/56 (8.3)	81/459 (17.2)	0.117
<i>SDHAF2</i> (%)	0/56 (0.0)	1/459 (0.2)	1.000
<i>MAX</i> (%)	2/56 (3.6)	10/459 (2.2)	0.857
<i>TMEM127</i> (%)	2/56 (3.5)	9/459 (2.0)	0.793
Cluster 1 (%)	6/54 (11.1)	137/459 (29.8)	0.006
Cluster 2 (%)	4/54 (7.4)	19/459 (4.1)	0.453
Genetica positiva e familiarità per neoplasie (%)	3/81 (3.7)	48/571 (8.4)	0.210
Decesso (%)	7/95 (7.4)	19/646 (2.9)	0.059
Decesso per FEO/PGL (%)	3/95 (3.2)	8/646 (1.2)	0.322
Follow up mesi – mediana [IQR]	36 [12-108]	48 [15.2-108]	0.471
Follow up di almeno 12 mesi	76/91 (83.5)	565/635 (89)	0.18

Sono stati, inoltre, comparati i pazienti in funzione della presenza o meno di secrezione ormonale (Tabella 4).

Il 28.0% dei pazienti del gruppo dei tumori secernenti aveva un'età compresa tra 50 ed i 59 anni rispetto al 16.7% del gruppo delle lesioni non secernenti ($p=0.001$); considerando il gruppo dei tumori non secernenti nel 46.6% dei casi vi era una familiarità per neoplasia, rispetto al 35.8% di quello comprendente i tumori secernenti ($p=0.018$). Infine, i pazienti con tumori secernenti presentavano meno frequentemente lesioni parasimpatergiche (0.5% vs 90.2%, $p<0.001$) ed appartenevano meno frequentemente al *cluster 1* (11.3% vs 50.9%, $p<0.001$) e più frequentemente al *cluster 2* (5.0% vs 0.0%, $p=0.007$).

Tabella 4. Caratteristiche dei FEO/PGL in relazione tipo di tumore (forme secernenti/forme non secernenti).

FEO: feocromocitoma; PGL: paraganglioma

CARATTERISTICHE	FORME SECERNENTI (N= 379)	FORME NON SECERNENTI (N=193)	P VALUE
Femmine (%)	200/379 (52.8)	122/193 (63.2)	0.022
Classi di età (%)			0.001
0-49 anni	163/371 (43.9)	1137/192 (58.9)	
50-59 anni	104/371 (28.0)	32/192 (16.7)	
>60 anni	104/371 (28.0)	47/192 (24.5)	
Età alla diagnosi di FEO/PGL - mediana [IQR]	52 [39.5-61]	45 [33-59]	0.004
Lesioni parasimpatergiche	2/379 (0.5)	174/193 (90.2)	<0.001
FEO/PGL metastatici (%)	20/308 (6.5)	9/179 (5.0)	0.558
Seconda neoplasia maligna (%)	50/67 (74.6)	21/32 (65.6)	0.489
Familiarità per neoplasie (%)	133/371 (35.8)	88/189 (46.6)	0.018
Analisi genetica (%)			
<i>Wilde Type</i>	202/241 (83.8)	86/175 (49.1)	<0.001
<i>SDHA</i> (%)	3/241 (1.2)	1/175 (0.6)	0.999
<i>SDHB</i> (%)	12/241 (4.7)	18/175 (10.3)	0.052
<i>SDHC</i> (%)	1/241 (0.4)	6/175 (3.4)	0.021
<i>SDHD</i> (%)	11/241 (4.3)	63/175 (35.6)	<0.001
<i>SDHAF2</i> (%)	0/241 (0.0)	1/175 (0.6)	0.415
<i>MAX</i> (%)	6/241 (2.4)	0/175 (0.0)	0.085
<i>TMEM127</i> (%)	6/241 (2.4)	0/175 (0.0)	0.085
Cluster 1 (%)	27/239 (11.3)	89/175 (50.9)	<0.001
Cluster 2 (%)	12/239 (5.0)	0/175 (0.0)	0.007
Altre neoplasie (benigne e maligne) (%)	72/373 (19.3)	34/192 (17.7)	0.729
Epoca di insorgenza della seconda neoplasia maligna (%)			0.448

Prima della diagnosi di FEO/PGL	34/62 (54.8)	14/32 (43.8)	
Dopo la diagnosi di FEO/PGL	17/62 (27.4)	13/32 (40.6)	
Al momento della diagnosi di FEO/PGL	11/62 (17.7)	5/32 (15.6)	
Sede della seconda neoplasia maligna (%)			0.625
Testa-collo	0/53 (0.0)	0/21 (0.0)	
Colon-retto	5/53 (9.4)	2/21 (9.5)	
Fegato	0/53 (0.0)	0/21 (0.0)	
Colecisti	1/53 (1.9)	0/21 (0.0)	
Pancreas	1/53 (1.9)	0/21 (0.0)	
Laringe	0/53 (0.0)	0/21 (0.0)	
Polmone e bronchi	4/53 (7.5)	0/21 (0.0)	
Melanoma	8/53 (15.1)	2/21 (9.5)	
Prostata	5/53 (9.4)	3/21 (14.3)	
Testicolo	0/53 (0.0)	1/21 (4.8)	
Rene	3/53 (5.7)	2/21 (9.5)	
Vescica	3/53 (5.7)	0/21 (0.0)	
Encefalo e SNC	0/53 (0.0)	0/21 (0.0)	
Cavo orale	0/53 (0.0)	0/21 (0.0)	
Tiroide	6/53 (11.3)	5/21 (23.8)	
Mieloma multiplo	0/53 (0.0)	1/21 (4.8)	
Sistema emopoietico	1/53 (1.9)	0/21 (0.0)	
Cute	4/53 (7.5)	1/21 (4.8)	
Mammella	10/53 (18.9)	3/21 (14.3)	
Utero	1/53 (1.9)	0/21 (0.0)	
Ovaio	0/53 (0.0)	1/21 (4.8)	
Stomaco	1/53 (1.9)	0/21 (0.0)	
Altri	0/53 (0.0)	0/21 (0.0)	
Genetica positiva e familiarità per neoplasie	15/347 (4.3)	28/179 (15.6)	<0.001
Decesso (%)	14/379 (3.7)	4/193 (2.1)	0.425
Decesso per FEO/PGL (%)	5/379 (1.3)	0/193 (0.0)	0.259

I fattori di rischio associati allo sviluppo di seconda neoplasia maligna non cromaffine sono stati valutati attraverso analisi univariata (Tabella 5). L'analisi ha mostrato un rischio più elevato con l'avanzare dell'età (50-59 anni vs 0-49 anni, OR=2.592, IC 95% [1.359 - 4.945]; p=0.004; età maggiore di 60 anni vs 40-49 anni, OR=4.570 IC 95% [2.539 - 8.228]; p<0.001). Per quanto riguarda invece la genetica, l'assenza di mutazioni a carico dei geni di suscettibilità (OR 0.352, IC 95% [0.160 - 0.774]; p=0.009) e l'assenza di mutazioni di geni appartenenti al *cluster 1* (OR 0.322, IC 95% [0.133 - 0.781]; p=0.012) sono risultate associate ad un aumentato rischio di sviluppare una seconda neoplasia maligna.

Tabella 5. Analisi univariata e multivariata relativa alle seconde neoplasie maligne non cromaffini

	Univariata				Multivariata			
	OR	IC 95%		p value	OR	IC 95%		p value
Maschi vs femmine	0.843	0.519	1.372	0.493	1.021	0.557	1.872	0.946
Classe di età								
50-59 anni vs 0-49 anni	2.592	1.359	4.945	0.004	4.031	1.921	8.455	<0.001
> 60 anni vs 0-49 anni	4.570	2.539	8.228	< 0.001	5.775	2.856	11.676	< 0.001
FEO/PGL metastatico (si vs no)	0.839	0.320	2.203	0.722				
Forme secernenti (no vs si)	0.798	0.437	1.458	0.462				
Lesioni parasimpatergiche vs lesioni simpatergiche	0.828	0.473	1.450	0.51				
Familiarità per neoplasie (si vs no)	1.099	0.662	1.827	0.714	1.735	0.996	3.024	0.052
Wild type vs genetica positiva	0.352	0.160	0.774	0.009				
Cluster 1 (no vs si)	0.322	0.133	0.781	0.012				
Cluster 2 (no vs si)	1.005	0.225	4.484	0.994				
Genetica positiva e familiarità per neoplasie (si vs no)	0.326	0.077	1.380	0.128	0.126	0.016	0.971	0.047
Fattori di rischio								
Fumo (si vs no)	0.932	0.507	1.713	0.82	1.465	0.643	3.340	0.363
Alcol (si vs no)	0.895	0.263	3.045	0.858	0.635	0.178	2.264	0.484
Esposizione a sostanze tossiche (si vs no)	0.306	0.041	2.298	0.25				

All'analisi multivariata (Tabella 5) si sono confermati significativi fattori di rischio per aumentato sviluppo di seconde neoplasie maligne l'età (50-59 vs 0-49 anni: OR=4.031, IC 95% [1.921 - 8.455]; $p < 0.001$; età maggiore di 60 vs 40-49 anni: OR 5.775, IC 95% [2.856 - 11.676]; $p < 0.001$) così come la presenza di una genetica positiva associata ad una familiarità per neoplasie (OR=0.126, IC 95% [0.016 - 0.971]; $p=0.047$). La sola familiarità per neoplasie si mantiene ai limiti della significatività (OR 1.735, IC 95% [0.996 - 3.024]; $p=0.052$).

Escludendo i pazienti che hanno sviluppato una seconda neoplasia maligna prima o simultaneamente alla patologia cromaffine, il rischio di sviluppare un secondo tumore maligno non cromaffine aumenta all'aumentare dell'età alla diagnosi di FEO/PGL (HR=2.503, IC 95% [1.151 - 5.443]; p=0.021 per i pazienti con età compresa tra i 50-59 anni rispetto a quelli con età compresa tra 0-49 anni; HR = 3.456, IC 95% [1.670 - 7.150], p<0.001 per i pazienti con età > 60 anni rispetto a quelli con età compresa tra 0-49 anni). Valutando i pazienti sottoposti ad analisi genetica, la presenza di mutazione a carico dei geni di suscettibilità si è dimostrata protettiva nei confronti dello sviluppo di una seconda neoplasia (HR = 0.252, IC 95% [0.102- 0.627]; p = 0.003) (Tabella 6).

Tabella 6. Analisi multivariata sul rischio di sviluppare una seconda neoplasia maligna non cromaffine escludendo i pazienti che hanno sviluppato un secondo tumore prima o simultaneamente alla patologia cromaffine (A) e limitata ai pazienti sottoposti ad analisi genetica per i geni di suscettibilità per FEO/PGL (B)

	A				B			
	HR	IC 95%		p value	HR	IC 95%		p value
Classi di età								
50-59 anni vs 0-49 anni	2.503	1.151	5.443	0.021	1.708	0.716	4.070	0.227
> 60 anni vs 0-49 anni	3.456	1.670	7.150	<0.001	1.457	0.539	3.938	0.458
Maschi vs Femmine	1.231	0.629	2.406	0.544	1.177	0.532	2.605	0.688
Fumatori	2.102	0.819	5.391	0.122	1.640	0.570	4.722	0.359
Genetica (positiva vs negativa)					0.252	0.102	0.627	0.003

Infine, considerando soltanto i casi incidenti (n=29), per stimare se vi fosse un rischio maggiore nella nostra popolazione rispetto alla popolazione generale di sviluppare una seconda neoplasia maligna, è stata valutata la *Standardized Incidence Ratio* (SIR). L'analisi ha mostrato un rischio incrementato nella nostra popolazione di 9.59 volte (IC 95% 5.46 - 15.71) nei maschi e 13.21 volte (IC 95% 7.52 - 21.63) nelle femmine rispetto alla popolazione generale.

7. Discussione

In questo studio multicentrico sono stati analizzati i possibili fattori di rischio coinvolti nello sviluppo di altre neoplasie maligne non cromaffini nei pazienti affetti da FEO/PGL. Dall'analisi dei nostri dati è emerso che la maggiore età alla diagnosi di FEO/PGL aumenta in maniera significativa il rischio di sviluppare un secondo tumore maligno non cromaffine. Suddividendo, infatti, la popolazione in esame per classi di età è emerso un rischio più elevato per i pazienti con età compresa tra i 50-59 anni rispetto a quelli con età tra 0-49 anni ($p < 0.001$) e per i pazienti con età > 60 anni rispetto a quelli con età compresa tra 0-49 anni ($p < 0.001$).

E' da sottolineare che, ad oggi, per il FEO/PGL non esistono criteri anatomico-patologici che permettano di distinguere le lesioni benigne da quelle maligne, difatti l'unica condizione in grado di definire un FEO/PGL maligno è la presenza di metastasi. In particolare, circa il 10% dei FEO ed il 34% dei PGL sono metastatici alla diagnosi, tuttavia la comparsa di metastasi può verificarsi anche dopo diversi anni dalla prima valutazione¹⁸⁴. Per tale motivo, viene attualmente consigliato un *follow up* di almeno 10 anni per le forme sporadiche e non metastatiche alla diagnosi iniziale, differentemente un monitoraggio *life-long* è contemplato per le forme ereditarie¹⁸⁵. Rispetto ad altri tipi di neoplasie in cui è previsto uno stretto *follow up* per i primi cinque anni dalla diagnosi, ed oltre il quale, se non vi è ripresa di malattia, i controlli cessano, i pazienti affetti da patologia cromaffine possono essere sottoposti ad un *follow up* più lungo che può permettere di diagnosticare l'insorgenza di una seconda neoplasia associata.

Nello specifico, i nostri dati hanno mostrato che la mediana degli anni che intercorrono tra la diagnosi di FEO/PGL e quella della seconda neoplasia maligna è di 6 [2-14]. Alla luce di tali evidenze, la lunghezza del *follow up* previsto dalle attuali linee guida, in

particolare per quanto riguarda le forme sporadiche, risulterebbe appropriata al fine di diagnosticare l'insorgenza di un secondo tumore associato.

Una mutazione a carico dei geni di suscettibilità, escludendo le forme sindromiche (VHL, NF1, MEN2), è stata riportata nel 31.1% della nostra popolazione. Una storia familiare positiva per neoplasie si è riscontrata nel 36.3% dei pazienti inclusi. All'analisi multivariata l'associazione delle due variabili (genetica positiva + familiarità per neoplasie) si conferma fattore di rischio per lo sviluppo di una seconda neoplasia ($p=0.047$). Tuttavia, considerando le variabili singolarmente si è osservato che la familiarità per neoplasie mantiene un suo peso anche se ai limiti della significatività statistica ($p=0.052$), mentre, valutando i casi di neoplasie maligne insorte dopo la diagnosi di FEO/PGL, la presenza di mutazioni dei geni di suscettibilità risulta un fattore protettivo nei confronti dello sviluppo di un secondo tumore ($p=0.003$).

Infatti, diversamente da quanto atteso, l'82.1% dei pazienti in cui è stato diagnosticato un secondo tumore maligno era *wild type*, per cui l'assenza di mutazioni a carico dei geni di suscettibilità è risultata un fattore di rischio per lo sviluppo di una seconda neoplasia nei pazienti con FEO/PGL.

Vi sono dati interessanti in letteratura riguardanti il potenziale ruolo dei polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs), mutazioni che interessano un singolo nucleotide e che possono essere presenti in eterozigosi o in omozigosi nella linea germinale¹⁸⁶.

In particolare, un ruolo protettivo di alcuni SNPs di geni coinvolti nel *Base Excision Repair* (BER), ossia il principale meccanismo di riparazione del DNA dal danno indotto dalle specie reattive dell'ossigeno (ROS), è stato riportato per quanto riguarda lo sviluppo del tumore di Wilms¹⁸⁷, del carcinoma a cellule squamose del distretto testa/collo¹⁸⁸ e del carcinoma mammario¹⁸⁹. Ciò che emerge dai dati della letteratura è che i diversi SNPs mostrano un ruolo selettivo per tipo di neoplasia, difatti gli SNPs che risultano protettivi

per lo sviluppo di un determinato tipo di tumore, possono svolgere un ruolo favorente per lo sviluppo di altri tipi di neoplasie^{187,188}.

Sulla base di tali evidenze, si potrebbe ipotizzare un possibile ruolo analogo per quanto riguarda le mutazioni dei geni di suscettibilità per FEO/PGL, che potrebbero essere predisponenti per lo sviluppo della patologia cromaffine e, d'altro canto, avere un effetto protettivo nei confronti dello sviluppo delle neoplasie non cromaffini.

Un altro dato estremamente interessante ed inatteso è il fatto che i pazienti che sviluppano una seconda neoplasia maligna appartengano meno frequentemente al *cluster 1*. Tra i geni appartenenti a questo *cluster* rientrano quelli del complesso *SDHx* ed è ben noto che le mutazioni che coinvolgono il gene *SDHB* siano caratterizzate da una maggiore aggressività³¹.

E' presente in letteratura un lavoro di Brand e colleghi che hanno osservato *in vitro*, in una linea cellulare primaria di timociti di ratto, il cambiamento metabolico che avviene durante il passaggio dalla fase quiescente a quella proliferante¹⁹⁰. Nei timociti non proliferanti la produzione di energia avviene per la maggior parte attraverso il metabolismo ossidativo del glucosio, il quale determina anche produzione di ROS che possono interagire con le macromolecole cellulari determinando un danno ossidativo se le difese antiossidanti non sono sufficienti. Differentemente, le cellule proliferanti traggono la loro energia soprattutto dalla glicolisi aerobia, che permette di ottenere l'energia necessaria per la replicazione del DNA e per la divisione cellulare, con una ridotta produzione di ROS, tale da evitare gli eventi mutazionali durante la sintesi del DNA, e permettendo la formazione di piruvato che agisce a sua volta da antiossidante (*scavenger*). Quindi, la glicolisi aerobia rappresenterebbe un meccanismo protettivo per la cellula proliferante dal potenziale danno indotto dai ROS e, allo stesso tempo,

permetterebbe di mantenere un'adeguata riserva cellulare di antiossidanti attraverso la produzione di piruvato.

Le cellule con mutazioni di *SDHx*, o complesso mitocondriale di tipo II, presentano un deficitario funzionamento enzimatico e, conseguentemente, una compromissione della catena di trasporto degli elettroni con aumentata produzione di ROS³⁴. Esse rimodulano il proprio metabolismo traendo energia dalla glicolisi aerobia (effetto Warburg). Essendo questo un meccanismo cronicamente attivo, considerando quanto precedentemente già osservato da Brand e colleghi, le cellule mutate potrebbero in questo modo ridurre in parte la produzione di ROS. Le mutazioni a carico del complesso *SDHx* predispongono senza dubbio allo sviluppo di FEO/PGL ma, d'altro canto, potrebbero essere protettive nei confronti dello sviluppo di altre neoplasie maligne proprio a causa del meccanismo adattivo messo in atto dalle cellule mutate. Ciò potrebbe giustificare, nella nostra casistica, il perché i pazienti appartenenti al *cluster 1* sviluppino meno frequentemente una seconda neoplasia maligna rispetto a quelli appartenenti al *cluster 2*.

Difatti, sebbene le associazioni tra le mutazioni di *SDHx* e le neoplasie non cromaffini siano quelle che hanno suscitato maggior interesse negli ultimi anni, non sempre è stata dimostrata la causalità della mutazione nel determinare lo sviluppo del tumore associato, potendosi dunque anche trattare di associazioni fortuite.

Si potrebbe ipotizzare, inoltre, che l'instaurarsi di un alterato bilancio ossidativo nelle cellule *wild type* dei pazienti con FEO/PGL, a causa di condizioni favorevoli come l'assenza di un'adeguata riserva antiossidante, potrebbe compromettere l'integrità genomica, grazie dell'accumulo di episodi mutazionali, predisponendo allo sviluppo di un secondo tumore. Inoltre, è noto che con l'avanzare dell'età i sistemi cellulari coinvolti nella riparazione del danno del DNA diventano meno efficienti¹⁹¹. Anche questo aspetto potrebbe contribuire alla comparsa di una nuova neoplasia.

Nessuno degli altri potenziali fattori di rischio vagliati nella nostra casistica, quali la presenza o meno di forme secernenti, l'abitudine tabagica, il consumo di alcolici e l'esposizione a sostanze tossiche, ha mostrato un'influenza significativa nello sviluppo di una seconda neoplasia maligna.

Considerando le associazioni più frequentemente riportate in letteratura, nella nostra popolazione è emersa la presenza di due GIST, tra cui un caso diagnosticato dopo il FEO/PGL, e di un adenoma ipofisario (PA) GH-secernente. Infine, in cinque pazienti è stato diagnosticato un tumore renale, in quattro casi comparso dopo la diagnosi di patologia cromaffine (un carcinoma a cellule chiare, un carcinoma papillare, un oncocitoma ed un carcinoma non altrimenti specificato).

Le tre neoplasie maligne più frequentemente riscontrate nella nostra popolazione sono risultate il carcinoma della mammella (16.8%), il carcinoma differenziato della tiroide (11.6%) ed il melanoma (11.6%).

Nella popolazione generale il carcinoma della mammella rappresenta il più frequente tumore maligno nel sesso femminile in tutte le fasce di età (30% - dati del registro AIRTUM aggiornati al 2019).

Nella nostra popolazione la mediana dell'età alla diagnosi di FEO/PGL è risultata di 49 [36-60] anni mentre, come già detto, la mediana degli anni intercorrenti tra la diagnosi della patologia cromaffine e quella della seconda neoplasia maligna non cromaffine è di 6 [2-14].

In considerazione di tali evidenze non sarebbe necessario modificare le tempistiche dello *screening* mammografico, il quale viene garantito nella fascia di età compresa tra i 50 ed i 69 anni a cadenza biennale. Tuttavia, dai nostri dati è emerso che l'avanzare dell'età alla diagnosi di FEO/PGL rappresenti un fattore di rischio per lo sviluppo di una seconda neoplasia maligna. A tal riguardo, si potrebbe valutare l'opportunità di proseguire lo

screening mammografico anche dopo i 70 anni. Alcune regioni italiane stanno già rendendo disponibile l'esame mammografico nelle donne tra i 45 ed i 74 anni, mantenendo un controllo a cadenza annuale in quelle con età inferiore ai 50 anni.

Dei 16 casi di carcinoma della mammella diagnosticati nel nostro campione, due pazienti presentavano una mutazione di *SDHD*, in un caso era mutato *MAX* ed in un altro caso *TMEM127*.

In letteratura vengono riportati dei *case reports* riguardanti l'associazione tra FEO e carcinoma della mammella. Nel 1987 è stato descritto un raro caso di carcinoma della mammella metastatico con coinvolgimento surrenalico. L'esame istologico eseguito dopo l'intervento di surrenectomia ha portato alla diagnosi di metastasi da carcinoma della mammella e contestuale FEO, fino ad allora clinicamente silente¹⁹². Anche più recentemente è stato riportato un caso di presentazione sincrona di carcinoma della mammella e FEO¹⁹³. Nel 2012 Wadt e colleghi hanno, invece, descritto la presenza di una mutazione germinale in *BAP1* (c.1708C>G, p. Leu570Val) in una famiglia danese con storia di melanoma uveale multiplo, melanoma cutaneo, sospetto mesotelioma, carcinoma della mammella e PGL⁴⁴. La mutazione è stata riscontrata in tutti i membri della famiglia affetti dalle neoplasie sopracitate. Inoltre, di recente Maffeis *et al*¹⁹⁴ hanno descritto la perdita dell'espressione tissutale di BAP1 in 2/22 PGL e in 12/34 FEO.

Alla luce di tali evidenze, sarebbe interessante valutare l'eventuale presenza di mutazioni del gene *BAP1* anche nei pazienti che hanno sviluppato un carcinoma della mammella nella nostra casistica, nonché in coloro in cui è stato diagnosticato un melanoma.

Nella popolazione generale il carcinoma tiroideo si colloca al quarto posto per frequenza tra le neoplasie maligne nel sesso femminile (5% - dati del registro AIRTUM aggiornati al 2019).

Il frequente riscontro nella nostra popolazione di carcinoma differenziato tiroideo (CDT) è influenzato dal fatto che i pazienti sono affidati a specialistici endocrinologi per cui è possibile, durante le visite, che essi vengano sottoposti ad ecografia del collo a seguito del riscontro di alterazione biochimica della funzione tiroidea o di nodularità tiroidee palpabili all'esame obiettivo; in alternativa i pazienti possono portare in visione al proprio endocrinologo di riferimento altri esami strumentali nel corso dei quali è avvenuto il riscontro incidentale della tireopatia nodulare.

Tra gli 11 pazienti che hanno sviluppato un CDT, uno presentava una mutazione di *SDHD*. Tale dato è in accordo con la letteratura^{153,195}. D'altro canto, nella maggior parte dei nostri pazienti non è stata evidenziata alcuna mutazione. A tal proposito, in letteratura vengono riportati casi di associazione tra CDT e FEO/PGL *wild type* per i noti geni di suscettibilità^{181,196}. Gli autori speculano sulla possibile influenza di altri geni non ancora noti che potrebbero portare allo sviluppo di questi due tumori. In un recente lavoro Bugalho e colleghi¹⁹⁷ hanno ipotizzato che l'associazione tra FEO/PGL e CDT (in particolare la forma papillare) sottenda un *background* genetico eterogeneo che può scaturire da differenti varianti genetiche che comprendono sia mutazioni che polimorfismi. Difatti, in due delle quattro pazienti oggetto di studio, sono state identificate due varianti di *SDHB* (Ser163Pro e Ala3Gly), precedentemente riportate come potenzialmente patogenetiche, mentre in tutte e quattro è stato identificato un singolo polimorfismo di *CDK1NB* (c.79T>C), già descritto in passato essere associato a CDT¹⁹⁸.

La terza neoplasia maligna più frequentemente riscontrata nella nostra casistica di FEO/PGL è il melanoma. Tra i pazienti della nostra popolazione è stata riportata una mutazione di *TMEM127*.

Anche per quanto riguarda l'associazione tra FEO/PGL e melanoma vengono riportati dei casi in letteratura. In una casistica di 60 FEO/PGL (tra cui 7 forme non sporadiche), Lamovec e colleghi¹⁹⁹ hanno descritto la comparsa di melanoma in due pazienti sottoposti ad intervento chirurgico per FEO. Essendo pochi casi, gli autori concludono che potrebbe trattarsi di un'associazione casuale ma va, in ogni caso, tenuta presente la comune origine delle cellule cromaffini e dei melanociti a partire dalla cresta neurale.

Sulla base di quest'ultima evidenza, Castro Vega *et al.*²⁰⁰ hanno focalizzato la loro attenzione sul *microphthalmia-associated transcription factor* (MITF), fattore di trascrizione coinvolto nello sviluppo della cresta neurale e la cui rara variante genica p.E318K è stata associata ad aumentato rischio di sviluppare melanoma²⁰¹. Sono stati sottoposti a genotipizzazione per la variante p.E318K di MITF 555 pazienti con FEO/PGL. La prevalenza della mutazione nei FEO/PGL è stata comparata con un gruppo controllo di 2348 soggetti. Tra i tumori cromaffini analizzati, sono stati individuati sette *carriers* della suddetta variante, la cui prevalenza è risultata più elevata nei FEO/PGL rispetto al gruppo controllo ed appare essere un significativo fattore di rischio per lo sviluppo di patologia cromaffine (OR 3.19, IC 95%:1.34-7.59; p=0.005). Tuttavia, poiché la variante p.E318K è stata riscontrata in un piccolo numero di pazienti, è necessario un ampliamento della casistica per validare tale dato.

A tal proposito, anche in questo caso, potrebbe essere interessante valutare la presenza della variante p.E318K di MITF nei pazienti appartenenti alla nostra popolazione con diagnosi di melanoma.

Vista la rarità delle associazioni riportate, ad oggi non vi sono indicazioni per eseguire uno *screening* per neoplasie non cromaffini nei pazienti affetti da FEO/PGL e/o con mutazioni dei geni di suscettibilità².

In particolare, i GIST, i RCC e i PA sono considerate le tre neoplasie descritte in letteratura come più frequentemente associate ai FEO/PGL. Per poter individuare i GIST è necessaria l'esecuzione di una TC addome con mdc, esame che viene impiegato, anche se non di routine, nel corso del *follow up* per la patologia cromaffine, in particolar modo nei pazienti con mutazioni ad alto rischio di sviluppare malattia metastatica come, ad esempio, quelle che coinvolgono il gene *SDHB*.

Le lesioni renali sono riscontrabili con una semplice ecografia addome, per cui il carcinoma renale è verosimilmente il tipo tumorale più facilmente individuabile nel corso del monitoraggio dei pazienti con FEO/PGL.

D'altro canto, di più difficile riscontro sono i PA in quanto sarebbe necessario sottoporre i pazienti ad una RMN della sella turcica con mdc. Generalmente, nei pazienti con rischio di sviluppare HNPGL, si esegue una RMN collo con mdc ma, nelle scansioni utilizzate per questa metodica, non è possibile identificare le lesioni ipofisarie. Tuttavia, tra i casi di PA descritti in letteratura vi sono macroadenomi e per lo più lesioni secernenti PRL o GH, quindi la comparsa di sintomatologia legata all'effetto massa (es. cefalea) o alla secrezione ormonale associata dovrebbe indirizzare verso l'esecuzione di una RMN dedicata.

Facendo riferimento, invece, alle neoplasie più frequentemente riscontrate nella nostra popolazione, per quanto riguarda il carcinoma della mammella, come già fatto presente, è previsto uno strutturato programma di *screening*. L'individuazione del carcinoma tiroideo prevede l'esecuzione di una ecografia collo che, in particolar modo i pazienti a rischio di sviluppare HNPGL, effettuano regolarmente durante il *follow up*. Infine, per quanto riguarda il melanoma è sufficiente una visita dermatologica con nevoscopia, metodica non invasiva e facilmente eseguibile.

Dal confronto tra la nostra popolazione di FEO/PGL e la popolazione generale (dati del registro AIRTUM aggiornati al 2019) l'incidenza di seconde neoplasie maligne è risultata aumentata nella nostra casistica, in particolare di 9.59 (IC 95% 5.46- 15.71) volte nei maschi e di 13.21 (IC 95% 7.52 - 21.63) nelle femmine.

In un precedente studio svedese²⁰² condotto su 121 FEO/PGL (FEO n 110, PGL n 11), i pazienti con patologia cromaffine mostravano un aumentato rischio di sviluppare un secondo tumore rispetto alla popolazione generale. In particolare, nelle donne il tumore più frequentemente diagnosticato era il melanoma, seguito dal carcinoma della cervice uterina, mentre negli uomini le neoplasie più frequenti erano quelle del distretto epatico e delle vie biliari e quelle del SNC. Tuttavia, in questo studio sono stati inclusi anche pazienti affetti da forme sindromiche di FEO/PGL.

Il nostro studio multicentrico, ad oggi, rappresenta lo studio con il più alto numero di pazienti affetti da FEO/PGL finalizzato a valutare la comparsa di seconde neoplasie maligne non cromaffini associate.

Tuttavia, esso presenta delle limitazioni. Si tratta, infatti, di uno studio retrospettivo e questo non ha permesso di reperire tutti i dati valutati per ogni singolo paziente incluso. Ad esempio, non tutti i pazienti sono stati sottoposti ad analisi genetica. Inoltre, visto l'esteso periodo di valutazione (1962-2019) anche tra i pazienti sottoposti ad analisi genetica sono presenti delle differenze, in quanto in alcuni è stata utilizzata la metodica tradizionale di sequenziamento (*Sanger*), mentre in altri è stata utilizzata la nuova metodica di *Next Generation Sequencing* (NGS), che permette di analizzare un ampio pannello genico. Ad oggi, non è stata ancora effettuata l'analisi genetica sul tessuto dei tumori associati per valutare se, nei pazienti con mutazione germinale, la mutazione riscontrata fosse responsabile anche dello sviluppo della neoplasia non cromaffine associata. A tal proposito, la nostra intenzione è quella di richiedere, ove disponibile, da

un lato un campione di sangue periferico di ciascun paziente incluso per poter eseguire l'analisi genetica con metodica NGS e, dall'altro, il tessuto paraffinato delle neoplasie maligne associate per eseguire il sequenziamento genico anche sul tessuto dei pazienti mutati.

La mediana del *follow up* nella nostra casistica è risultata di 48 [12-108] mesi, nell'88.3% dei casi era stato effettuato un monitoraggio di almeno un anno. Trattandosi di patologie neoplastiche il *follow up* potrebbe essere considerato non sufficientemente lungo.

Infine, il confronto con la popolazione generale è stato possibile soltanto in relazione all'incidenza delle neoplasie maligne, in quanto i dati del registro AIRTUM sono relativi soltanto ai tumori maligni. Sarebbe interessante valutare anche nella nostra popolazione l'incidenza delle neoplasie benigne, ad esempio per valutare l'incidenza degli adenomi ipofisari che rientrano tra le tre forme tumorali più frequentemente associate in letteratura. A tal fine, sarà necessaria la creazione di un gruppo di controllo dedicato per effettuare il relativo confronto.

8. Conclusioni

I dati derivati da questo studio multicentrico hanno dimostrato una maggiore incidenza di seconde neoplasie maligne nei pazienti affetti da FEO/PGL rispetto alla popolazione generale. In particolare, il rischio è risultato più elevato nel sesso femminile, dunque, questa classe di pazienti potrebbe beneficiare di una maggiore attenzione nella ricerca di altre neoplasie associate nel corso del *follow up* per la patologia cromaffine.

Differentemente da quanto atteso, la presenza di mutazioni a carico dei geni di suscettibilità per FEO/PGL non si è mostrata un fattore di rischio per lo sviluppo di un secondo tumore non cromaffine. Tale risultato rafforza la necessità di uno stretto monitoraggio dei pazienti *wild type* al fine di diagnosticare precocemente l'insorgenza di una seconda neoplasia associata.

9. Bibliografia

- (1) Chen, H.; Sippel, R. S.; O'Dorisio, M. S.; Vinik, A. I.; Lloyd, R. V.; Pacak, K. The North American Neuroendocrine Tumor Society Consensus Guideline for the Diagnosis and Management of Neuroendocrine Tumors: Pheochromocytoma, Paraganglioma, and Medullary Thyroid Cancer. *Pancreas* **2010**, *39* (6), 775–783. <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e3181ebb4f0>.
- (2) Lenders, J. W. M.; Duh, Q.-Y.; Eisenhofer, G.; Gimenez-Roqueplo, A.-P.; Grebe, S. K. G.; Murad, M. H.; Naruse, M.; Pacak, K.; Young, W. F. Pheochromocytoma and Paraganglioma: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2014**, *99* (6), 1915–1942. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-1498>.
- (3) Lenders JWM; Eisenhofer G; Mannelli M; Pacak K. Phaeochromocytoma. *Lancet* **2005**, *366* (8), 665–675. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)67139-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)67139-5).
- (4) Kopetschke, R.; Slisko, M.; Kilisli, A.; Tuschy, U.; Wallaschofski, H.; Fassnacht, M.; Vents, M.; Beuschlein, F.; Reincke, M.; Reisch, N.; Quinkler, M. Frequent Incidental Discovery of Pheochromocytoma: Data from a German Cohort of 201 Pheochromocytoma. *European Journal of Endocrinology* **2009**, *161* (2), 355–361. <https://doi.org/10.1530/EJE-09-0384>.
- (5) Solorzano, C. C.; Lew, J. I.; Wilhelm, S. M.; Sumner, W.; Huang, W.; Wu, W.; Montano, R.; Sleeman, D.; Prinz, R. A. Outcomes of Pheochromocytoma Management in the Laparoscopic Era. *Ann Surg Oncol* **2007**, *14* (10), 3004–3010. <https://doi.org/10.1245/s10434-007-9489-2>.
- (6) Thompson LD; Young WF; Kawashima A; Komminoth P. *Malignant Adrenal Pheochromocytoma*. In DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, et al, Eds. *Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs: WHO Classification of Tumours Series*, 3rd ed.; IARC: Lyon, 2004; Vol. 8.
- (7) Lam, A. K. Update on Adrenal Tumours in 2017 World Health Organization (WHO) of Endocrine Tumours. *Endocr Pathol* **2017**, *28* (3), 213–227. <https://doi.org/10.1007/s12022-017-9484-5>.
- (8) Tischler AS; de Krijger RR. *Phaeochromocytoma*. In: Lloyd Rv, Osamura RY, Kloppel G (Eds) *WHO Classification of Tumors of Endocrine Organs*, 4th ed.; IARC: Lyon, 2017; Vol. 10.
- (9) Eisenhofer, G.; Bornstein, S. R.; Brouwers, F. M.; Cheung, N.-K. V.; Dahia, P. L.; de Krijger, R. R.; Giordano, T. J.; Greene, L. A.; Goldstein, D. S.; Lehnert, H.; Manger, W. M.; Maris, J. M.; Neumann, H. P. H.; Pacak, K.; Shulkin, B. L.; Smith, D. I.; Tischler, A. S.; Young, W. F. Malignant Pheochromocytoma: Current Status and Initiatives for Future Progress. *Endocrine-Related Cancer* **2004**, *11*, 423–436. <https://doi.org/10.1677/erc.1.00829>.
- (10) Angelousi, A.; Peppas, M.; Chrisoulidou, A.; Alexandraki, K.; Berthon, A.; Faucz, F. R.; Kassi, E.; Kaltsas, G. Malignant Pheochromocytomas/Paragangliomas and Ectopic Hormonal Secretion: A Case Series and Review of the Literature. *Cancers* **2019**, *11* (5), 724. <https://doi.org/10.3390/cancers11050724>.
- (11) Scholz, T.; Eisenhofer, G.; Pacak, K.; Dralle, H.; Lehnert, H. Current Treatment of Malignant Pheochromocytoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2007**, *92* (4), 1217–1225. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1544>.
- (12) Thompson, L. D. R. Pheochromocytoma of the Adrenal Gland Scaled Score (PASS) to Separate Benign From Malignant Neoplasms: A Clinicopathologic and Immunophenotypic Study of 100 Cases. *The American Journal of Surgical Pathology* **2002**, *26* (5), 551–566. <https://doi.org/10.1097/00000478-200205000-00002>.

- (13) Wu, D.; Tischler, A. S.; DeLellis, R. A.; Nose, V. Observer Variation in the Application of the Pheochromocytoma of the Adrenal Gland Scaled Score. *Am J Surg Pathol* **2009**, *33* (4), 10.
- (14) Kimura, N.; Takekoshi, K.; Naruse, M. Risk Stratification on Pheochromocytoma and Paraganglioma from Laboratory and Clinical Medicine. *JCM* **2018**, *7* (9), 242. <https://doi.org/10.3390/jcm7090242>.
- (15) Fuentes C; Menéndez E, M. E.; Pineda J, P. J.; Martínez De Esteban JP, M. D. E. J.; Anda E; Goni MJ; Bausch B; Neumann HPH. The Malignant Potential of a Succinate Dehydrogenase Subunit B Germline Mutation. *J Endocrinol Invest* **2006**, *4*, 350–352. <https://doi.org/10.1007/bf03344107>.
- (16) Ayala-Ramirez, M.; Feng, L.; Johnson, M. M.; Ejaz, S.; Habra, M. A.; Rich, T.; Busaidy, N.; Cote, G. J.; Perrier, N.; Phan, A.; Patel, S.; Waguespack, S.; Jimenez, C. Clinical Risk Factors for Malignancy and Overall Survival in Patients with Pheochromocytomas and Sympathetic Paragangliomas: Primary Tumor Size and Primary Tumor Location as Prognostic Indicators. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2011**, *96* (3), 717–725. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-1946>.
- (17) Eisenhofer, G.; Lenders, J. W. M.; Siegert, G.; Bornstein, S. R.; Friberg, P.; Milosevic, D.; Mannelli, M.; Linehan, W. M.; Adams, K.; Timmers, H. J.; Pacak, K. Plasma Methoxytyramine: A Novel Biomarker of Metastatic Pheochromocytoma and Paraganglioma in Relation to Established Risk Factors of Tumour Size, Location and SDHB Mutation Status. *European Journal of Cancer* **2012**, *48* (11), 1739–1749. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2011.07.016>.
- (18) Mulligan LM; Kwok JB; Healey CS; Elsdon MJ; Eng C; Gardner E; Love DR; Mole SE; Moore JK; Papi L; Ponder MA; Telenius H; Tunnaclyffe A; Ponder BAJ. Germ-Line Mutations of the RET Proto-Oncogene in Multiple Endocrine Neoplasia Type 2A. *Nature* **1993**, *363* (6428), 458–460. <https://doi.org/10.1038/363458a0>.
- (19) E R Maher; A R Webster; F M Richards; J S Green; P A Crossey; S J Payne; A T Moore. Phenotypic Expression in von Hippel-Lindau Disease: Correlations with Germline VHL Gene Mutations. *Journal of Medical Genetics* **1996**, *33* (4), 328–332. <https://doi.org/10.1136/jmg.33.4.328>.
- (20) Graham JB. Pheochromocytoma and Hypertension; an Analysis of 207 Cases. *Int Abstr Surg* **1951**, *92* (2), 105–121.
- (21) Patil, S.; Chamberlain, R. S. Neoplasms Associated with Germline and Somatic *NFI* Gene Mutations. *The Oncologist* **2012**, *17* (1), 101–116. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2010-0181>.
- (22) Cimino, P. J.; Gutmann, D. H. Neurofibromatosis Type 1. In *Handbook of Clinical Neurology*; Elsevier, 2018; Vol. 148, pp 799–811. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64076-5.00051-X>.
- (23) Chittiboina, P.; Lonser, R. R. Von Hippel–Lindau Disease. In *Handbook of Clinical Neurology*; Elsevier, 2015; Vol. 132, pp 139–156. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62702-5.00010-X>.
- (24) Moline, J.; Eng, C. Multiple Endocrine Neoplasia Type 2: An Overview: *Genetics in Medicine* **2011**, *13* (9), 755–764. <https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e318216cc6d>.
- (25) Baysal BE; Ferrell RE; Willett-Brozick JE; Lawrence EC; Myssiorek D; van der Mey A; Taschner PE; Rubinstein WS; Myers EN; Richard 3rd CW; Cornelisse CJ; Devilee P; Devlin B. Mutations in SDHD, a Mitochondrial Complex II Gene, in Hereditary Paraganglioma. *Science* **2000**, *287* (5454), 848–851. <https://doi.org/10.1126/science.287.5454.848>.
- (26) Gimenez-Roqueplo, A.-P.; Dahia, P.; Robledo, M. An Update on the Genetics of Paraganglioma, Pheochromocytoma, and Associated Hereditary Syndromes. *Horm Metab Res* **2012**, *44* (05), 328–333. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1301302>.

- (27) Neumann, H. P. H.; Gimm, O.; Zerres, K. GERM-LINE MUTATIONS IN NONSYNDROMIC PHEOCHROMOCYTOMA. *The New England Journal of Medicine* **2002**, *8*.
- (28) Astuti, D.; Latif, F.; Dallol, A.; Dahia, P. L. M.; Douglas, F.; George, E.; Sköldbberg, F.; Husebye, E. S.; Eng, C.; Maher, E. R. Gene Mutations in the Succinate Dehydrogenase Subunit SDHB Cause Susceptibility to Familial Pheochromocytoma and to Familial Paraganglioma. *The American Journal of Human Genetics* **2001**, *69* (1), 49–54. <https://doi.org/10.1086/321282>.
- (29) Hao, H.-X.; Khalimonchuk, O.; Schraders, M.; Dephoure, N.; Bayley, J.-P.; Kunst, H.; Devilee, P.; Cremers, C. W. R. J.; Schiffman, J. D.; Bentz, B. G.; Gygi, S. P.; Winge, D. R.; Kremer, H.; Rutter, J. SDH5, a Gene Required for Flavination of Succinate Dehydrogenase, Is Mutated in Paraganglioma. *Science* **2009**, *325* (5944), 1139–1142. <https://doi.org/10.1126/science.1175689>.
- (30) Benn, D. E.; Robinson, B. G.; Clifton-Bligh, R. J. 15 YEARS OF PARAGANGLIOMA: Clinical Manifestations of Paraganglioma Syndromes Types 1–5. *Endocrine-Related Cancer* **2015**, *22* (4), T91–T103. <https://doi.org/10.1530/ERC-15-0268>.
- (31) Mannelli, M.; Canu, L.; Ercolino, T.; Rapizzi, E.; Martinelli, S.; Parenti, G.; De Filipo, G.; Nesi, G. DIAGNOSIS of ENDOCRINE DISEASE: SDHx Mutations: Beyond Pheochromocytomas and Paragangliomas. *European Journal of Endocrinology* **2018**, *178* (1), R11–R17. <https://doi.org/10.1530/EJE-17-0523>.
- (32) Aldera, A. P.; Govender, D. Gene of the Month: SDH. *J Clin Pathol* **2018**, *71* (2), 95–97. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2017-204677>.
- (33) Taïeb, D.; Kaliski, A.; Boedeker, C. C.; Martucci, V.; Fojo, T.; Adler, J. R.; Pacak, K. Current Approaches and Recent Developments in the Management of Head and Neck Paragangliomas. *Endocrine Reviews* **2014**, *35* (5), 795–819. <https://doi.org/10.1210/er.2014-1026>.
- (34) Pillai, S.; Gopalan, V.; Smith, R. A.; Lam, A. K.-Y. Updates on the Genetics and the Clinical Impacts on Pheochromocytoma and Paraganglioma in the New Era. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **2016**, *100*, 190–208. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.01.022>.
- (35) Mannelli, M.; Ercolino, T.; Giache, V.; Simi, L.; Cirami, C.; Parenti, G. Genetic Screening for Pheochromocytoma: Should SDHC Gene Analysis Be Included? *Journal of Medical Genetics* **2007**, *44* (9), 586–587. <https://doi.org/10.1136/jmg.2007.051045>.
- (36) Qin, Y.; Yao, L.; King, E. E.; Buddavarapu, K.; Lenci, R. E.; Chocron, E. S.; Lechleiter, J. D.; Sass, M.; Aronin, N.; Schiavi, F.; Boaretto, F.; Opocher, G.; Toledo, R. A.; Toledo, S. P. A.; Stiles, C.; Aguiar, R. C. T.; Dahia, P. L. M. Germline Mutations in TMEM127 Confer Susceptibility to Pheochromocytoma. *Nat Genet* **2010**, *42* (3), 229–233. <https://doi.org/10.1038/ng.533>.
- (37) Comino-Méndez, I.; Gracia-Aznárez, F. J.; Schiavi, F.; Landa, I.; Leandro-García, L. J.; Letón, R.; Honrado, E.; Ramos-Medina, R.; Caronia, D.; Pita, G.; Gómez-Graña, Á.; de Cubas, A. A.; Inglada-Pérez, L.; Maliszewska, A.; Taschin, E.; Bobisse, S.; Pica, G.; Loli, P.; Hernández-Lavado, R.; Díaz, J. A.; Gómez-Morales, M.; González-Neira, A.; Roncador, G.; Rodríguez-Antona, C.; Benítez, J.; Mannelli, M.; Opocher, G.; Robledo, M.; Cascón, A. Exome Sequencing Identifies MAX Mutations as a Cause of Hereditary Pheochromocytoma. *Nat Genet* **2011**, *43* (7), 663–667. <https://doi.org/10.1038/ng.861>.
- (38) Daly, A. F.; Castermans, E.; Oudijk, L.; Guitelman, M. A.; Beckers, P.; Potorac, I.; Neggers, S. J. C. M. M.; Sacre, N.; van der Lely, A.-J.; Bours, V.; de Herder, W. W.; Beckers, A. Pheochromocytomas and Pituitary Adenomas in Three Patients with MAX Exon Deletions. *Endocrine-Related Cancer* **2018**, *25* (5), L37–L42. <https://doi.org/10.1530/ERC-18-0065>.
- (39) Zhuang, Z.; Yang, C.; Lorenzo, F.; Merino, M.; Fojo, T.; Kebebew, E.; Popovic, V.; Stratakis, C. A.; Prchal, J. T.; Pacak, K. Somatic *HIF2A* Gain-of-Function Mutations in Paraganglioma with

Polycythemia. *N Engl J Med* **2012**, *367* (10), 922–930. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1205119>.

(40) Pacak, K.; Jochmanova, I.; Prodanov, T.; Yang, C.; Merino, M. J.; Fojo, T.; Prchal, J. T.; Tischler, A. S.; Lechan, R. M.; Zhuang, Z. New Syndrome of Paraganglioma and Somatostatinoma Associated With Polycythemia. *JCO* **2013**, *31* (13), 1690–1698. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.47.1912>.

(41) Fishbein, L.; Khare, S.; Wubbenhorst, B.; DeSloover, D.; D'Andrea, K.; Merrill, S.; Cho, N. W.; Greenberg, R. A.; Else, T.; Montone, K.; LiVolsi, V.; Fraker, D.; Daber, R.; Cohen, D. L.; Nathanson, K. L. Whole-Exome Sequencing Identifies Somatic ATRX Mutations in Pheochromocytomas and Paragangliomas. *Nat Commun* **2015**, *6* (1), 6140. <https://doi.org/10.1038/ncomms7140>.

(42) Clark, G. R.; Sciacovelli, M.; Gaude, E.; Walsh, D. M.; Kirby, G.; Simpson, M. A.; Trembath, R. C.; Berg, J. N.; Woodward, E. R.; Kinning, E.; Morrison, P. J.; Frezza, C.; Maher, E. R. Germline FH Mutations Presenting With Pheochromocytoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2014**, *99* (10), E2046–E2050. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-1659>.

(43) Gaal, J.; Burnichon, N.; Korpershoek, E.; Roncelin, I.; Bertherat, J.; Plouin, P.-F.; de Krijger, R. R.; Gimenez-Roqueplo, A.-P.; Dinjens, W. N. M. Isocitrate Dehydrogenase Mutations Are Rare in Pheochromocytomas and Paragangliomas. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2010**, *95* (3), 1274–1278. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-2170>.

(44) Wadt, K.; Choi, J.; Chung, J.-Y.; Kiilgaard, J.; Heegaard, S.; Drzewiecki, K. T.; Trent, J. M.; Hewitt, S. M.; Hayward, N. K.; Gerdes, A.-M.; Brown, K. M. A Cryptic *BAP1* Splice Mutation in a Family with Uveal and Cutaneous Melanoma, and Paraganglioma. *Pigment Cell Melanoma Res* **2012**, *25* (6), 815–818. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12006>.

(45) Yeh, I.-T.; Lenci, R. E.; Qin, Y.; Buddavarapu, K.; Ligon, A. H.; Leteurtre, E.; Cao, C. D.; Cardot-Bauters, C.; Pigny, P.; Dahia, P. L. M. A Germline Mutation of the *KIF1B β* Gene on 1p36 in a Family with Neural and Nonneural Tumors. *Hum Genet* **2008**, *124* (3), 279–285. <https://doi.org/10.1007/s00439-008-0553-1>.

(46) Zhao, C.; Takita, J.; Tanaka, Y.; Setou, M.; Nakagawa, T.; Takeda, S.; Yang, H. W.; Terada, S.; Nakata, T.; Takei, Y.; Saito, M.; Tsuji, S.; Hayashi, Y.; Hirokawa, N. Charcot-Marie-Tooth Disease Type 2A Caused by Mutation in a Microtubule Motor *KIF1B α* . **11**.

(47) De Filipo, G.; Contini, E.; Serio, V.; Valeri, A.; Chetta, M.; Guasti, D.; Bani, D.; Mannelli, M.; Rapizzi, E.; Luconi, M.; Maggi, M.; Ercolino, T.; Canu, L. Germline Mutation in *KIF1B β* Gene Associated with Loss of Heterozygosity: Usefulness of Next-Generation Sequencing in the Genetic Screening of Patients with Pheochromocytoma. *International Journal of Endocrinology* **2020**, *2020*, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/3671396>.

(48) Stratakis, C. A.; Carney, J. A. The Triad of Paragangliomas, Gastric Stromal Tumours and Pulmonary Chondromas (Carney Triad), and the Dyad of Paragangliomas and Gastric Stromal Sarcomas (Carney-Stratakis Syndrome): Molecular Genetics and Clinical Implications. *Journal of Internal Medicine* **2009**, *266* (1), 43–52. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2009.02110.x>.

(49) Schussheim, D. H.; Skarulis, M. C.; Agarwal, S. K.; Simonds, W. F.; Burns, A. L.; Spiegel, A. M.; Marx, S. J. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1: New Clinical and Basic Findings. *Trends in Endocrinology & Metabolism* **2001**, *12* (4), 173–178. [https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(00\)00372-6](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(00)00372-6).

(50) Semenza, G. L. Hypoxia-Inducible Factor 1: Oxygen Homeostasis and Disease Pathophysiology. *Trends in Molecular Medicine* **2001**, *7* (8), 345–350. [https://doi.org/10.1016/S1471-4914\(01\)02090-1](https://doi.org/10.1016/S1471-4914(01)02090-1).

(51) Jochmanová, I.; Zelinka, T.; Jr, J. W.; Pacak, K. HIF Signaling Pathway in Pheochromocytoma and Other Neuroendocrine Tumors. **2014**, *63*, 12.

- (52) McCubrey, J. A.; Steelman, L. S.; Chappell, W. H.; Abrams, S. L.; Wong, E. W. T.; Chang, F.; Lehmann, B.; Terrian, D. M.; Milella, M.; Tafuri, A.; Stivala, F.; Libra, M.; Basecke, J.; Evangelisti, C.; Martelli, A. M.; Franklin, R. A. Roles of the Raf/MEK/ERK Pathway in Cell Growth, Malignant Transformation and Drug Resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* **2007**, *1773* (8), 1263–1284. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.10.001>.
- (53) Burnichon, N.; Cascon, A.; Schiavi, F.; Morales, N. P.; Comino-Mendez, I.; Abermil, N.; Inglada-Perez, L.; de Cubas, A. A.; Amar, L.; Barontini, M.; de Quiros, S. B.; Bertherat, J.; Bignon, Y.-J.; Blok, M. J.; Bobisse, S.; Borrego, S.; Castellano, M.; Chanson, P.; Chiara, M.-D.; Corssmit, E. P. M.; Giacche, M.; de Krijger, R. R.; Ercolino, T.; Girerd, X.; Gomez-Garcia, E. B.; Gomez-Grana, A.; Guilhem, I.; Hes, F. J.; Honrado, E.; Korpershoek, E.; Lenders, J. W. M.; Leton, R.; Mensenkamp, A. R.; Merlo, A.; Mori, L.; Murat, A.; Pierre, P.; Plouin, P.-F.; Prodanov, T.; Quesada-Charneco, M.; Qin, N.; Rapizzi, E.; Raymond, V.; Reisch, N.; Roncador, G.; Ruiz-Ferrer, M.; Schillo, F.; Stegmann, A. P. A.; Suarez, C.; Taschin, E.; Timmers, H. J. L. M.; Tops, C. M. J.; Urioste, M.; Beuschlein, F.; Pacak, K.; Mannelli, M.; Dahia, P. L. M.; Opocher, G.; Eisenhofer, G.; Gimenez-Roqueplo, A.-P.; Robledo, M. MAX Mutations Cause Hereditary and Sporadic Pheochromocytoma and Paraganglioma. *Clinical Cancer Research* **2012**, *18* (10), 2828–2837. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-0160>.
- (54) Jochmanova, I.; Pacak, K. Genomic Landscape of Pheochromocytoma and Paraganglioma. *Trends in Cancer* **2018**, *4* (1), 6–9. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2017.11.001>.
- (55) Corssmit, E. P. M.; Snel, M.; Kapiteijn, E. Malignant Pheochromocytoma and Paraganglioma: Management Options. *Current Opinion in Oncology* **2020**, *32* (1), 20–26. <https://doi.org/10.1097/CCO.0000000000000589>.
- (56) The NGS in PPGL (NGSnPPGL) Study Group; Toledo, R. A.; Burnichon, N.; Cascon, A.; Benn, D. E.; Bayley, J.-P.; Welander, J.; Tops, C. M.; Firth, H.; Dwight, T.; Ercolino, T.; Mannelli, M.; Opocher, G.; Clifton-Bligh, R.; Gimm, O.; Maher, E. R.; Robledo, M.; Gimenez-Roqueplo, A.-P.; Dahia, P. L. M. Consensus Statement on Next-Generation-Sequencing-Based Diagnostic Testing of Hereditary Pheochromocytomas and Paragangliomas. *Nat Rev Endocrinol* **2017**, *13* (4), 233–247. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.185>.
- (57) Eisenhofer, G.; Goldstein, D. S.; Walther, M. M.; Friberg, P.; Lenders, J. W. M.; Keiser, H. R.; Pacak, K. Biochemical Diagnosis of Pheochromocytoma: How to Distinguish True- from False-Positive Test Results. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2003**, *88* (6), 2656–2666. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-030005>.
- (58) de Jong, W. H. A.; Eisenhofer, G.; Post, W. J.; Muskiet, F. A. J.; de Vries, E. G. E.; Kema, I. P. Dietary Influences on Plasma and Urinary Metanephrines: Implications for Diagnosis of Catecholamine-Producing Tumors. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2009**, *94* (8), 2841–2849. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-0303>.
- (59) Eisenhofer, G.; Lenders, J. W.; Goldstein, D. S.; Mannelli, M.; Csako, G.; Walther, M. M.; Brouwers, F. M.; Pacak, K. Pheochromocytoma Catecholamine Phenotypes and Prediction of Tumor Size and Location by Use of Plasma Free Metanephrines. *Clinical Chemistry* **2005**, *51* (4), 735–744. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.045484>.
- (60) Eisenhofer, G.; Aneman, A.; Hooper, D.; Rundqvist, B.; Friberg, P. Mesenteric Organ Production, Hepatic Metabolism, and Renal Elimination of Norepinephrine and Its Metabolites in Humans. *Journal of Neurochemistry* **2002**, *66* (4), 1565–1573. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1996.66041565.x>.
- (61) Goldstein, D. S.; Swoboda, K. J.; Miles, J. M.; Coppack, S. W.; Aneman, A.; Holmes, C.; Lamensdorf, I.; Eisenhofer, G. Sources and Physiological Significance of Plasma Dopamine Sulfate. **1999**, *84* (7), 9.

- (62) Maurea S; Cuocolo A; Reynolds JC; Neumann RD; Salvatore M. Diagnostic Imaging in Patients with Paragangliomas. Computed Tomography, Magnetic Resonance and MIBG Scintigraphy Comparison. *Q J Nucl Med* **1996**, *40*, 365–371.
- (63) Fassnacht, M.; Arlt, W.; Bancos, I.; Dralle, H.; Newell-Price, J.; Sahdev, A.; Tabarin, A.; Terzolo, M.; Tsagarakis, S.; Dekkers, O. M. Management of Adrenal Incidentalomas: European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline in Collaboration with the European Network for the Study of Adrenal Tumors. *European Journal of Endocrinology* **2016**, *175* (2), G1–G34. <https://doi.org/10.1530/EJE-16-0467>.
- (64) Boland, G. L.; Lee, M.; Halpern, E.; McNicholas, M. M. J.; Mueller, P. C. Characterization of Adrenal Masses Using Unenhanced CT: An Analysis of the CT Literature. **1998**, *4*.
- (65) Dunnick, N. R.; Korobkin, M. Imaging of Adrenal Incidentalomas: Current Status. *American Journal of Roentgenology* **2002**, *179* (3), 559–568. <https://doi.org/10.2214/ajr.179.3.1790559>.
- (66) Peña, C. S.; Boland, G. W. L.; Hahn, P. F.; Lee, M. J.; Mueller, P. R. Characterization of Indeterminate (Lipid-Poor) Adrenal Masses: Use of Washout Characteristics at Contrast-Enhanced CT. *Radiology* **2000**, *217* (3), 798–802. <https://doi.org/10.1148/radiology.217.3.r00dc29798>.
- (67) Szolar DH; Kammerhuber FH. Adrenal Adenomas and Nonadenomas: Assessment of Washout at Delayed Contrast-Enhanced CT. *Radiology* **1998**, *207* (2), 369–375. <https://doi.org/10.1148/radiology.207.2.9577483>.
- (68) Haider, M. A.; Ghai, S.; Jhaveri, K.; Lockwood, G. Chemical Shift MR Imaging of Hyperattenuating (>10 HU) Adrenal Masses: Does It Still Have a Role? *Radiology* **2004**, *231* (3), 711–716. <https://doi.org/10.1148/radiol.2313030676>.
- (69) Korobkin M; Giordano TJ; Brodeur FJ; Francis IR; Siegelman ES; Quint LE; Dunnick NR; Wang HH. Adrenal Adenomas: Relationship between Histologic Lipid and CT and MR Findings. *Radiology* **1996**, *200* (3), 743–747. <https://doi.org/10.1148/radiology.200.3.8756925>.
- (70) Hönigschnabl, S.; Gallo, S.; Niederle, B.; Prager, G.; Kaserer, K.; Lechner, G.; Heinz-Peer, G. How Accurate Is MR Imaging in Characterisation of Adrenal Masses: Update of a Long-Term Study. *European Journal of Radiology* **2002**, *41* (2), 113–122. [https://doi.org/10.1016/S0720-048X\(01\)00443-0](https://doi.org/10.1016/S0720-048X(01)00443-0).
- (71) Därr, R.; Lenders, J. W. M.; Hofbauer, L. C.; Naumann, B.; Bornstein, S. R.; Eisenhofer, G. Pheochromocytoma – Update on Disease Management. *Therapeutic Advances in Endocrinology* **2012**, *3* (1), 11–26. <https://doi.org/10.1177/2042018812437356>.
- (72) Timmers, H. J. L. M.; Chen, C. C.; Carrasquillo, J. A.; Whatley, M.; Ling, A.; Havekes, B.; Eisenhofer, G.; Martiniova, L.; Adams, K. T.; Pacak, K. Comparison of 18F-Fluoro-L-DOPA, 18F-Fluoro-Deoxyglucose, and 18F-Fluorodopamine PET and 123I-MIBG Scintigraphy in the Localization of Pheochromocytoma and Paraganglioma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2009**, *94* (12), 4757–4767. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-1248>.
- (73) Pacak, K. Preoperative Management of the Pheochromocytoma Patient. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2007**, *92* (11), 4069–4079. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-1720>.
- (74) Mannelli, M.; Ianni, L.; Cilotti, A.; Conti, A. Pheochromocytoma in Italy: A Multicentric Retrospective Study. *European Journal of Endocrinology* **1999**, *619–624*. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1410619>.
- (75) Yu, R.; Nissen, N. N.; Chopra, P.; Dhall, D.; Phillips, E.; Wei, M. Diagnosis and Treatment of Pheochromocytoma in an Academic Hospital from 1997 to 2007. *The American Journal of Medicine* **2009**, *122* (1), 85–95. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2008.08.021>.

- (76) Thosani, S.; Ayala-Ramirez, M.; Román-González, A.; Zhou, S.; Thosani, N.; Bisanz, A.; Jimenez, C. Constipation: An Overlooked, Unmanaged Symptom of Patients with Pheochromocytoma and Sympathetic Paraganglioma. *European Journal of Endocrinology* **2015**, *173* (3), 377–387. <https://doi.org/10.1530/EJE-15-0456>.
- (77) Plouin, P.-F. O.; Duclos, J.-M.; Soppelsa, F.; Boublil, G.; Chatellier, G. Factors Associated with Perioperative Morbidity and Mortality in Patients with Pheochromocytoma: Analysis of 165 Operations at a Single Center. *J Clin Endocrinol Metab* **2001**, *86* (4), 7.
- (78) Goldstein, R. E.; O'Neill, J. A.; Holcomb, G. W.; Morgan, W. M.; Neblett, W. W.; Oates, J. A.; Brown, N.; Nadeau, J.; Smith, B.; Page, D. L.; Abumrad, N. N.; Scott, H. W. Clinical Experience Over 48 Years With Pheochromocytoma: *Annals of Surgery* **1999**, *229* (6), 755. <https://doi.org/10.1097/00000658-199906000-00001>.
- (79) Mannelli, M. Management and Treatment of Pheochromocytomas and Paragangliomas. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2006**, *1073* (1), 405–416. <https://doi.org/10.1196/annals.1353.044>.
- (80) Lebuffe, G.; Dosseh, E. D.; Tek, G.; Tytgat, H.; Moreno, S.; Tavernier, B.; Vallet, B.; Proye, C. A. G. The Effect of Calcium Channel Blockers on Outcome Following the Surgical Treatment of Pheochromocytomas and Paragangliomas: CCBs Effects in Pheochromocytoma or Paraganglioma Surgery. *Anaesthesia* **2005**, *60* (5), 439–444. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.2005.04156.x>.
- (81) Sibal, L.; Jovanovic, A.; Agarwal, S. C.; Peaston, R. T.; James, R. A.; Lennard, T. W. J.; Bliss, R.; Batchelor, A.; Perros, P. Pheochromocytomas Presenting as Acute Crises after Beta Blockade Therapy. *Clin Endocrinol* **2006**, *65* (2), 186–190. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2006.02571.x>.
- (82) Baudin, E.; Habra, M. A.; Deschamps, F.; Cote, G.; Dumont, F.; Cabanillas, M.; Arfi-Roufe, J.; Berdelou, A.; Moon, B.; Al Ghuzlan, A.; Patel, S.; Leboulleux, S.; Jimenez, C. THERAPY OF ENDOCRINE DISEASE: Treatment of Malignant Pheochromocytoma and Paraganglioma. *European Journal of Endocrinology* **2014**, *171* (3), R111–R122. <https://doi.org/10.1530/EJE-14-0113>.
- (83) Isaacs, M.; Lee, P. Preoperative Alpha-Blockade in Pheochromocytoma and Paraganglioma: Is It Always Necessary? *Clin Endocrinol* **2017**, *86* (3), 309–314. <https://doi.org/10.1111/cen.13284>.
- (84) Agarwal, A.; Gupta, S.; Mishra, A. K.; Singh, N.; Mishra, S. K. Normotensive Pheochromocytoma: Institutional Experience. *World J. Surg.* **2005**, *29* (9), 1185–1188. <https://doi.org/10.1007/s00268-005-7839-4>.
- (85) Hamidi, O. Metastatic Pheochromocytoma and Paraganglioma: Recent Advances in Prognosis and Management. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity* **2019**, *26* (3), 146–154. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000476>.
- (86) Jimenez, C. Treatment for Patients With Malignant Pheochromocytomas and Paragangliomas: A Perspective From the Hallmarks of Cancer. *Front. Endocrinol.* **2018**, *9*, 277. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00277>.
- (87) Averbuch, S. D. Malignant Pheochromocytoma: Effective Treatment with a Combination of Cyclophosphamide, Vincristine, and Dacarbazine. *Ann Intern Med* **1988**, *109* (4), 267. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-109-4-267>.
- (88) Fishbein, L.; Ben-Maimon, S.; Keefe, S.; Cengel, K.; Pryma, D. A.; Loaiza-Bonilla, A.; Fraker, D. L.; Nathanson, K. L.; Cohen, D. L. SDHB Mutation Carriers with Malignant Pheochromocytoma Respond Better to CVD. *Endocrine-Related Cancer* **2017**, *24* (8), L51–L55. <https://doi.org/10.1530/ERC-17-0086>.
- (89) Jawed, I.; Velarde, M.; Därr, R.; Wolf, K. I.; Adams, K.; Venkatesan, A. M.; Balasubramaniam,

S.; Poruchynsky, M. S.; Reynolds, J. C.; Pacak, K.; Fojo, T. Continued Tumor Reduction of Metastatic Pheochromocytoma/Paraganglioma Harboring Succinate Dehydrogenase Subunit B Mutations with Cyclical Chemotherapy. *Cell Mol Neurobiol* **2018**, *38* (5), 1099–1106. <https://doi.org/10.1007/s10571-018-0579-4>.

(90) Ayala-Ramirez, M.; Feng, L.; Habra, M. A.; Rich, T.; Dickson, P. V.; Perrier, N.; Phan, A.; Waguespack, S.; Patel, S.; Jimenez, C. Clinical Benefits of Systemic Chemotherapy for Patients with Metastatic Pheochromocytomas or Sympathetic Extra-Adrenal Paragangliomas: Insights from the Largest Single-Institutional Experience. *Cancer* **2012**, *118* (11), 2804–2812. <https://doi.org/10.1002/cncr.26577>.

(91) Hadoux, J.; Favier, J.; Scoazec, J.-Y.; Leboulleux, S.; Al Ghuzlan, A.; Caramella, C.; Déandreis, D.; Borget, I.; Lorient, C.; Chougnet, C.; Letouzé, E.; Young, J.; Amar, L.; Bertherat, J.; Libé, R.; Dumont, F.; Deschamps, F.; Schlumberger, M.; Gimenez-Roqueplo, A. P.; Baudin, E. *SDHB* Mutations Are Associated with Response to Temozolomide in Patients with Metastatic Pheochromocytoma or Paraganglioma: Temozolomide for Malignant Pheochromocytoma/Paraganglioma. *Int. J. Cancer* **2014**, *135* (11), 2711–2720. <https://doi.org/10.1002/ijc.28913>.

(92) O’Kane, G. M.; Ezzat, S.; Joshua, A. M.; Bourdeau, I.; Leibowitz-Amit, R.; Olney, H. J.; Krzyzanowska, M.; Reuther, D.; Chin, S.; Wang, L.; Brooks, K.; Hansen, A. R.; Asa, S. L.; Knox, J. J. A Phase 2 Trial of Sunitinib in Patients with Progressive Paraganglioma or Pheochromocytoma: The SNIPP Trial. *Br J Cancer* **2019**, *120* (12), 1113–1119. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0474-x>.

(93) Jimenez, C.; Fazeli, S.; Román-Gonzalez, A. Antiangiogenic Therapies for Pheochromocytoma and Paraganglioma. *Endocrine-Related Cancer* **2020**, *27* (7), R239–R254. <https://doi.org/10.1530/ERC-20-0043>.

(94) Jimenez, C.; Erwin, W.; Chasen, B. Targeted Radionuclide Therapy for Patients with Metastatic Pheochromocytoma and Paraganglioma: From Low-Specific-Activity to High-Specific-Activity Iodine-131 Metaiodobenzylguanidine. *Cancers* **2019**, *11* (7), 1018. <https://doi.org/10.3390/cancers11071018>.

(95) Gonias, S.; Goldsby, R.; Matthay, K. K.; Hawkins, R.; Price, D.; Huberty, J.; Damon, L.; Linker, C.; Sznewajns, A.; Shiboski, S.; Fitzgerald, P. Phase II Study of High-Dose [¹³¹I]Metaiodobenzylguanidine Therapy for Patients With Metastatic Pheochromocytoma and Paraganglioma. *JCO* **2009**, *27* (25), 4162–4168. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.21.3496>.

(96) Nastos, K.; Cheung, V. T. F.; Toumpanakis, C.; Navalkisoor, S.; Quigley, A.-M.; Caplin, M.; Khoo, B. Peptide Receptor Radionuclide Treatment and (131)I-MIBG in the Management of Patients with Metastatic/Progressive Pheochromocytomas and Paragangliomas. *J. Surg. Oncol.* **2017**, *115* (4), 425–434. <https://doi.org/10.1002/jso.24553>.

(97) Nölting, S.; Grossman, A.; Pacak, K. Metastatic Pheochromocytoma: Spinning Towards More Promising Treatment Options. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* **2019**, *127* (02/03), 117–128. <https://doi.org/10.1055/a-0715-1888>.

(98) Breen, W.; Bancos, I.; Young, W. F.; Bible, K. C.; Laack, N. N.; Foote, R. L.; Hallemeier, C. L. External Beam Radiation Therapy for Advanced/Unresectable Malignant Paraganglioma and Pheochromocytoma. *Advances in Radiation Oncology* **2018**, *3* (1), 25–29. <https://doi.org/10.1016/j.adro.2017.11.002>.

(99) Mesko S; Deegan BJ; D’Souza NM; Ghia AJ; Chapman BV; Amini B; McAleer MF; Wang XA; Brown PD; Tatsui CE; Rinhes L; Li J. Spine Stereotactic Radiosurgery for Metastatic Pheochromocytoma. *Cureus* **2019**, *5*, e4742. <https://doi.org/10.7759/cureus.4742>.

(100) Toledo R; Jimenez C. Recent Advances in the Management of Malignant Pheochromocytoma and Paraganglioma: Focus on Tyrosine Kinase and Hypoxia-Inducible Factor Inhibitors. *F1000Res* **2018**, *30*

(7), F1000 Faculty Rev-1148. <https://doi.org/10.12688/f1000research.13995.1>.

(101) Naing, A.; Gainor, J. F.; Gelderblom, H.; Forde, P. M.; Butler, M. O.; Lin, C.-C.; Sharma, S.; Ochoa de Olza, M.; Varga, A.; Taylor, M.; Schellens, J. H. M.; Wu, H.; Sun, H.; Silva, A. P.; Faris, J.; Mataraza, J.; Cameron, S.; Bauer, T. M. A First-in-Human Phase 1 Dose Escalation Study of Spartalizumab (PDR001), an Anti-PD-1 Antibody, in Patients with Advanced Solid Tumors. *J Immunother Cancer* **2020**, *8* (1), e000530. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-000530>.

(102) Druce, M. R.; Kaltsas, G. A.; Fraenkel, M.; Gross, D. J.; Grossman, A. B. Novel and Evolving Therapies in the Treatment of Malignant Pheochromocytoma: Experience with the MTOR Inhibitor Everolimus (RAD001). *Horm Metab Res* **2009**, *41* (09), 697–702. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1220687>.

(103) Shindorf, M. L.; Chaudhuri, P. K. Single-Agent Thalidomide for Treatment of Malignant Paraganglioma of the Organ of Zuckerkandl. *Case Reports in Medicine* **2019**, *2019*, 1–4. <https://doi.org/10.1155/2019/7185973>.

(104) McWhinney, S. R.; Pasini, B.; Stratakis, C. A. Familial Gastrointestinal Stromal Tumors and Germ-Line Mutations. *N Engl J Med* **2007**, *357* (10), 1054–1056. <https://doi.org/10.1056/NEJMc071191>.

(105) Janeway, K. A.; Kim, S. Y.; Lodish, M.; Nosé, V.; Rustin, P.; Gaal, J.; Dahia, P. L. M.; Liegl, B.; Ball, E. R.; Raygada, M.; Lai, A. H.; Kelly, L.; Hornick, J. L.; NIH Pediatric and Wild-Type GIST Clinic; O’Sullivan, M.; de Krijger, R. R.; Dinjens, W. N. M.; Demetri, G. D.; Antonescu, C. R.; Fletcher, J. A.; Helman, L.; Stratakis, C. A. Defects in Succinate Dehydrogenase in Gastrointestinal Stromal Tumors Lacking *KIT* and *PDGFRA* Mutations. *Proc Natl Acad Sci USA* **2011**, *108* (1), 314–318. <https://doi.org/10.1073/pnas.1009199108>.

(106) Miettinen, M.; Killian, J. K.; Wang, Z.-F.; Lasota, J.; Lau, C.; Jones, L.; Walker, R.; Pineda, M.; Zhu, Y. J.; Kim, S. Y.; Helman, L.; Meltzer, P. Immunohistochemical Loss of Succinate Dehydrogenase Subunit A (SDHA) in Gastrointestinal Stromal Tumors (GISTs) Signals SDHA Germline Mutation: *The American Journal of Surgical Pathology* **2013**, *37* (2), 234–240. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3182671178>.

(107) Gill, A. J.; Young, B.; Clarkson, A.; Tucker, K. M.; Winship, I. M.; Fleming, S.; Clifton-Bligh, R. J. Renal Tumors Associated With Germline SDHB Mutation Show Distinctive Morphology. *Am J Surg Pathol* **2011**, *35* (10), 8.

(108) Vanharanta, S.; Buchta, M.; McWhinney, S. R.; Virta, S. K.; Peczkowska, M.; Morrison, C. D.; Lehtonen, R.; Januszewicz, A.; Jarvinen, H.; Juhola, M.; Mecklin, J.-P.; Pukkala, E.; Herva, R.; Kiuru, M.; Nupponen, N. N.; Aaltonen, L. A.; Neumann, H. P. H.; Eng, C. Early-Onset Renal Cell Carcinoma as a Novel Extraparaganglial Component of SDHB-Associated Heritable Paraganglioma. *Am. J. Hum. Genet.* **2004**, *7*.

(109) Xekouki, P.; Pacak, K.; Almeida, M.; Wassif, C. A.; Rustin, P.; Nesterova, M.; Azevedo, M.; Horvath, A.; Lyssikatos, C.; Quezado, M.; Patronas, N.; Ferrando, B.; Pasini, B.; Lytras, A.; Tolis, G.; Stratakis, C. A. Succinate Dehydrogenase (SDH) D Subunit (SDHD) Inactivation in a Growth-Hormone-Producing Pituitary Tumor: A New Association for SDH? *J Clin Endocrinol Metab* **2012**, *10*.

(110) Gill, A. J.; Toon, C. W.; Clarkson, A.; Sioson, L.; Chou, A.; Winship, I.; Robinson, B. G.; Benn, D. E.; Clifton-Bligh, R. J.; Dwight, T. Succinate Dehydrogenase Deficiency Is Rare in Pituitary Adenomas: *The American Journal of Surgical Pathology* **2014**, *38* (4), 560–566. <https://doi.org/10.1097/PAS.000000000000149>.

(111) Papatthomas, T. G.; Oudijk, L.; Persu, A.; Gill, A. J.; van Nederveen, F.; Tischler, A. S.; Tissier, F.; Volante, M.; Matias-Guiu, X.; Smid, M.; Favier, J.; Rapizzi, E.; Libe, R.; Currás-Freixes, M.; Aydin, S.; Huynh, T.; Lichtenauer, U.; van Berkel, A.; Canu, L.; Domingues, R.; Clifton-Bligh, R. J.; Bialas, M.;

- Vikkula, M.; Baretton, G.; Papotti, M.; Nesi, G.; Badoual, C.; Pacak, K.; Eisenhofer, G.; Timmers, H. J.; Beuschlein, F.; Bertherat, J.; Mannelli, M.; Robledo, M.; Gimenez-Roqueplo, A.-P.; Dinjens, W. N.; Korpershoek, E.; de Krijger, R. R. SDHB/SDHA Immunohistochemistry in Pheochromocytomas and Paragangliomas: A Multicenter Interobserver Variation Analysis Using Virtual Microscopy: A Multinational Study of the European Network for the Study of Adrenal Tumors (ENS@T). *Mod Pathol* **2015**, *28* (6), 807–821. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2015.41>.
- (112) Gill, A. J.; Benn, D. E.; Chou, A.; Clarkson, A.; Muljono, A.; Meyer-Rochow, G. Y.; Richardson, A. L.; Sidhu, S. B.; Robinson, B. G.; Clifton-Bligh, R. J. Immunohistochemistry for SDHB Triages Genetic Testing of SDHB, SDHC, and SDHD in Paraganglioma-Pheochromocytoma Syndromes. *Human Pathology* **2010**, *41* (6), 805–814. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2009.12.005>.
- (113) Santi, R.; Rapizzi, E.; Canu, L.; Ercolino, T.; Baroni, G.; Fucci, R.; Costa, G.; Mannelli, M.; Nesi, G. Potential Pitfalls of SDH Immunohistochemical Detection in Paragangliomas and Pheochromocytomas Harboring Germline SDHx Gene Mutation. *AR* **2017**, *37* (2), 805–812. <https://doi.org/10.21873/anticanres.11381>.
- (114) Gill, A. J. Succinate Dehydrogenase (SDH)-Deficient Neoplasia. *Histopathology* **2018**, *72* (1), 106–116. <https://doi.org/10.1111/his.13277>.
- (115) Hirota, S. Gain-of-Function Mutations of c-Kit in Human Gastrointestinal Stromal Tumors. *Science* **1998**, *279* (5350), 577–580. <https://doi.org/10.1126/science.279.5350.577>.
- (116) Heinrich, M. C. PDGFRA Activating Mutations in Gastrointestinal Stromal Tumors. *Science* **2003**, *299* (5607), 708–710. <https://doi.org/10.1126/science.1079666>.
- (117) Maertens, O.; Prenen, H.; Debiec-Rychter, M.; Wozniak, A.; Sciot, R.; Pauwels, P.; De Wever, I.; Vermeesch, J. R.; de Raedt, T.; De Paepe, A.; Speleman, F.; van Oosterom, A.; Messiaen, L.; Legius, E. Molecular Pathogenesis of Multiple Gastrointestinal Stromal Tumors in NF1 Patients. *Human Molecular Genetics* **2006**, *15* (6), 1015–1023. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl016>.
- (118) Agaram, N. P.; Wong, G. C.; Guo, T.; Maki, R. G.; Singer, S.; DeMatteo, R. P.; Besmer, P.; Antonescu, C. R. Novel V600E BRAF Mutations in Imatinib-Naive and Imatinib-Resistant Gastrointestinal Stromal Tumors. *Genes Chromosom. Cancer* **2008**, *47* (10), 853–859. <https://doi.org/10.1002/gcc.20589>.
- (119) Miettinen, M.; Sarlomo-Rikala, M.; McCue, P.; Czapiewski, P.; Langfort, R.; Waloszczyk, P.; Wazny, K.; Biernat, W.; Lasota, J.; Wang, Z. Mapping of Succinate Dehydrogenase Losses in 2258 Epithelial Neoplasms: *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology* **2014**, *22* (1), 31–36. <https://doi.org/10.1097/PAI.0b013e31828bfd3>.
- (120) MacFarlane, J.; Seong, K. C.; Bisambar, C.; Madhu, B.; Allinson, K.; Marker, A.; Warren, A.; Park, S.; Giger, O.; Challis, B. G.; Maher, E. R.; Casey, R. T. A Review of the Tumour Spectrum of Germline Succinate Dehydrogenase Gene Mutations: Beyond Pheochromocytoma and Paraganglioma. *Clin Endocrinol* **2020**, cen.14289. <https://doi.org/10.1111/cen.14289>.
- (121) Wang, Y.-M. Succinate Dehydrogenase-Deficient Gastrointestinal Stromal Tumors. *WJG* **2015**, *21* (8), 2303. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i8.2303>.
- (122) Pantaleo, M. A.; Lolli, C.; Nannini, M.; Astolfi, A.; Indio, V.; Saponara, M.; Urbini, M.; La Rovere, S.; Gill, A.; Goldstein, D.; Ceccarelli, C.; Santini, D.; Rossi, G.; Fiorentino, M.; Di Scioscio, V.; Fusaroli, P.; Mandrioli, A.; Gatto, L.; Catena, F.; Basso, U.; Ercolani, G.; Pinna, A. D.; Biasco, G. Good Survival Outcome of Metastatic SDH-Deficient Gastrointestinal Stromal Tumors Harboring SDHA Mutations. *Genet Med* **2015**, *17* (5), 391–395. <https://doi.org/10.1038/gim.2014.115>.
- (123) Boikos, S. A.; Stratakis, C. A. The Genetic Landscape of Gastrointestinal Stromal Tumor Lacking KIT and PDGFRA Mutations. *Endocrine* **2014**, *47* (2), 401–408. <https://doi.org/10.1007/s12020-014-0346->

3.

(124) Miettinen, M.; Wang, Z.-F.; Sarlomo-Rikala, M.; Osuch, C.; Rutkowski, P.; Lasota, J. Succinate Dehydrogenase-Deficient GISTs: A Clinicopathologic, Immunohistochemical, and Molecular Genetic Study of 66 Gastric GISTs With Predilection to Young Age. *The American Journal of Surgical Pathology* **2011**, *35* (11), 1712–1721. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3182260752>.

(125) Mason, E. F.; Hornick, J. L. Conventional Risk Stratification Fails to Predict Progression of Succinate Dehydrogenase-Deficient Gastrointestinal Stromal Tumors: A Clinicopathologic Study of 76 Cases. *The American Journal of Surgical Pathology* **2016**, *40* (12), 1616–1621. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000685>.

(126) Stanley, K.; Friehling, E.; Davis, A.; Ranganathan, S. Succinate Dehydrogenase-Deficient Gastrointestinal Stromal Tumor With *SDHC* Germline Mutation and Bilateral Renal and Neck Cysts. *Pediatr Dev Pathol* **2019**, *22* (3), 265–268. <https://doi.org/10.1177/1093526618805354>.

(127) Gokozan, H. N.; Bomeisl, P. Succinate Dehydrogenase-deficient Gastrointestinal Stromal Tumor of Stomach Diagnosed by Endoscopic ULTRASOUND-GUIDED FINE-NEEDLE Biopsy: Report of a Distinct Subtype in Cytology. *Diagnostic Cytopathology* **2020**, dc.24591. <https://doi.org/10.1002/dc.24591>.

(128) Benn, D. E.; Gimenez-Roqueplo, A.-P.; Reilly, J. R.; Bertherat, J.; Burgess, J.; Byth, K.; Croxson, M.; Dahia, P. L. M.; Elston, M.; Gimm, O.; Henley, D.; Herman, P.; Murday, V.; Niccoli-Sire, P.; Pasieka, J. L.; Rohmer, V.; Tucker, K.; Jeunemaitre, X.; Marsh, D. J.; Plouin, P.-F.; Robinson, B. G. Clinical Presentation and Penetrance of Pheochromocytoma/Paraganglioma Syndromes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2006**, *91* (3), 827–836. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-1862>.

(129) Gaal, J.; Stratakis, C. A.; Carney, J. A.; Ball, E. R.; Korpershoek, E.; Lodish, M. B.; Levy, I.; Xekouki, P.; van Nederveen, F. H.; den Bakker, M. A.; O’Sullivan, M.; Dinjens, W. N.; de Krijger, R. R. SDHB Immunohistochemistry: A Useful Tool in the Diagnosis of Carney–Stratakis and Carney Triad Gastrointestinal Stromal Tumors. *Mod Pathol* **2011**, *24* (1), 147–151. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2010.185>.

(130) Doyle, L. A.; Nelson, D.; Heinrich, M. C.; Corless, C. L.; Hornick, J. L. Loss of Succinate Dehydrogenase Subunit B (SDHB) Expression Is Limited to a Distinctive Subset of Gastric Wild-Type Gastrointestinal Stromal Tumours: A Comprehensive Genotype-Phenotype Correlation Study: *SDHB Expression in GIST*. *Histopathology* **2012**, *61* (5), 801–809. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2012.04300.x>.

(131) Italiano, A.; Chen, C.-L.; Sung, Y.-S.; Singer, S.; DeMatteo, R. P.; LaQuaglia, M. P.; Besmer, P.; Succi, N.; Antonescu, C. R. SDHA Loss of Function Mutations in a Subset of Young Adult Wild-Type Gastrointestinal Stromal Tumors. *BMC Cancer* **2012**, *12* (1), 408. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-408>.

(132) Belinsky, M. G.; Rink, L.; Flieder, D. B.; Jahromi, M. S.; Schiffman, J. D.; Godwin, A. K.; Mehren, M. von. Overexpression of Insulin-like Growth Factor 1 Receptor and Frequent Mutational Inactivation of *SDHA* in Wild-Type SDHB-Negative Gastrointestinal Stromal Tumors. *Genes Chromosom. Cancer* **2013**, *52* (2), 214–224. <https://doi.org/10.1002/gcc.22023>.

(133) Oudijk, L.; Gaal, J.; Korpershoek, E.; van Nederveen, F. H.; Kelly, L.; Schiavon, G.; Verweij, J.; Mathijssen, R. H. J.; den Bakker, M. A.; Oldenburg, R. A.; van Loon, R. L. E.; O’Sullivan, M. J.; de Krijger, R. R.; Dinjens, W. N. M. SDHA Mutations in Adult and Pediatric Wild-Type Gastrointestinal Stromal Tumors. *Mod Pathol* **2013**, *26* (3), 456–463. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2012.186>.

(134) Wagner, A. J.; Remillard, S. P.; Zhang, Y.-X.; Doyle, L. A.; George, S.; Hornick, J. L. Loss of Expression of SDHA Predicts SDHA Mutations in Gastrointestinal Stromal Tumors. *Mod Pathol* **2013**, *26*

(2), 289–294. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2012.153>.

(135) on behalf of GIST Study Group; Pantaleo, M. A.; Astolfi, A.; Urbini, M.; Nannini, M.; Paterini, P.; Indio, V.; Saponara, M.; Formica, S.; Ceccarelli, C.; Casadio, R.; Rossi, G.; Bertolini, F.; Santini, D.; Pirini, M. G.; Fiorentino, M.; Basso, U.; Biasco, G. Analysis of All Subunits, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, of the Succinate Dehydrogenase Complex in KIT/PDGFRA Wild-Type GIST. *Eur J Hum Genet* **2014**, *22* (1), 32–39. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.80>.

(136) Jiang, Q.; Zhang, Y.; Zhou, Y.-H.; Hou, Y.-Y.; Wang, J.-Y.; Li, J.-L.; Li, M.; Tong, H.-X.; Lu, W.-Q. Case of Gastrointestinal Stromal Tumor Complicated with Renal Cell Carcinoma. *10*.

(137) Niemeijer, N. D.; Papathomas, T. G.; Korpershoek, E.; de Krijger, R. R.; Oudijk, L.; Morreau, H.; Bayley, J.-P.; Hes, F. J.; Jansen, J. C.; Dinjens, W. N. M.; Corssmit, E. P. M. Succinate Dehydrogenase (SDH)-Deficient Pancreatic Neuroendocrine Tumor Expands the SDH-Related Tumor Spectrum. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2015**, *100* (10), E1386–E1393. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-2689>.

(138) Brecic, I.; Kashofer, K.; Skone, D.; Liegl-Atzwanger, B. KIT Mutation in a Naïve Succinate Dehydrogenase-deficient Gastric GIST. *Genes Chromosomes Cancer* **2019**, *58* (11), 798–803. <https://doi.org/10.1002/gcc.22768>.

(139) Malik, F.; Santiago, T.; Bahrami, A.; Davis, E.; McCarville, B.; Newman, S.; Azzato, E. M.; Davidoff, A. M.; Brennan, R.; Ellison, D. W.; Clay, M. R. Dedifferentiation in SDH-Deficient Gastrointestinal Stromal Tumor: A Report With Histologic, Immunophenotypic, and Molecular Characterization. *Pediatr Dev Pathol* **2019**, *22* (5), 492–498. <https://doi.org/10.1177/1093526619846222>.

(140) Ricci, R.; Martini, M.; Ravegnini, G.; Cenci, T.; Milione, M.; Lanza, P.; Pierconti, F.; Santini, D.; Angelini, S.; Biondi, A.; Rosa, F.; Alfieri, S.; Clemente, G.; Persiani, R.; Cassano, A.; Pantaleo, M. A.; Larocca, L. M. Preferential MGMT Methylation Could Predispose a Subset of KIT/PDGFRA-WT GISTs, Including SDH-Deficient Ones, to Respond to Alkylating Agents. *Clin Epigenet* **2019**, *11* (1), 2. <https://doi.org/10.1186/s13148-018-0594-9>.

(141) Carrera, S.; Beristain, E.; Sancho, A.; Iruarizaga, E.; Rivero, P.; Mañe, J. M.; López Vivanco, G. Germline c.1A>C Heterozygous Pathogenic Variant in SDHA Reported for the First Time in a Young Adult with a Gastric Gastrointestinal Stromal Tumour (GIST): A Case Report. *Hered Cancer Clin Pract* **2019**, *17* (1), 23. <https://doi.org/10.1186/s13053-019-0124-6>.

(142) Moch, H.; Cubilla, A. L.; Humphrey, P. A.; Reuter, V. E.; Ulbright, T. M. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. *European Urology* **2016**, *70* (1), 93–105. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.029>.

(143) Ozluk, Y.; Taheri, D.; Matoso, A.; Sanli, O.; Berker, N. K.; Yakirevich, E.; Balasubramanian, S.; Ross, J. S.; Ali, S. M.; Netto, G. J. Renal Carcinoma Associated with a Novel Succinate Dehydrogenase A Mutation: A Case Report and Review of Literature of a Rare Subtype of Renal Carcinoma. *Human Pathology* **2015**, *46* (12), 1951–1955. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2015.07.027>.

(144) Gill, A. J.; Lipton, L.; Taylor, J.; Benn, D. E.; Richardson, A. L.; Frydenberg, M.; Shapiro, J.; Clifton-Bligh, R. J.; Chow, C. W.; Bogwitz, M. Germline SDHC Mutation Presenting as Recurrent SDH Deficient GIST and Renal Carcinoma. *Pathology* **2013**, *45* (7), 689–691. <https://doi.org/10.1097/PAT.000000000000018>.

(145) Ricketts, C. J.; Shuch, B.; Vocke, C. D.; Metwalli, A. R.; Bratslavsky, G.; Middleton, L.; Yang, Y.; Wei, M.-H.; Pautler, S. E.; Peterson, J.; Stolle, C. A.; Zbar, B.; Merino, M. J.; Schmidt, L. S.; Pinto, P. A.; Srinivasan, R.; Pacak, K.; Linehan, W. M. Succinate Dehydrogenase Kidney Cancer: An Aggressive

Example of the Warburg Effect in Cancer. *Journal of Urology* **2012**, *188* (6), 2063–2071. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2012.08.030>.

(146) Gill, A. J.; S'edivcova, M.; Andresen, P. A.; Kedziora, A.; Toon, C. W.; Chou, A.; Robinson, B. G.; Maclean, F.; Vlatkovic, L.; Hartmann, A.; Corssmit, E. P. M. Succinate Dehydrogenase (SDH)-Deficient Renal Carcinoma: A Morphologically Distinct Entity. *Am J Surg Pathol* **2014**, *38* (12), 15.

(147) Williamson, S. R.; Eble, J. N.; Amin, M. B.; Gupta, N. S.; Smith, S. C.; Sholl, L. M.; Montironi, R.; Hirsch, M. S.; Hornick, J. L. Succinate Dehydrogenase-Deficient Renal Cell Carcinoma: Detailed Characterization of 11 Tumors Defining a Unique Subtype of Renal Cell Carcinoma. *Mod Pathol* **2015**, *28* (1), 80–94. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2014.86>.

(148) Gupta, S.; Swanson, A. A.; Chen, Y.-B.; Lopez, T.; Milosevic, D.; Kipp, B. R.; Leibovich, B. C.; Thompson, R. H.; Herrera-Hernandez, L.; Cheville, J. C.; Jimenez, R. E. Incidence of Succinate Dehydrogenase and Fumarate Hydratase-Deficient Renal Cell Carcinoma Based on Immunohistochemical Screening with SDHA/SDHB and FH/2SC. *Human Pathology* **2019**, *91*, 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2019.07.004>.

(149) Morris, M. R. Molecular Genetic Analysis of FH1-1, FH, and SDHB Candidate Tumour Suppressor Genes in Renal Cell Carcinoma. *Journal of Clinical Pathology* **2004**, *57* (7), 706–711. <https://doi.org/10.1136/jcp.2003.011767>.

(150) Housley, S. L.; Lindsay, R. S.; Young, B.; McConachie, M.; Mechan, D.; Baty, D.; Christie, L.; Rahilly, M.; Qureshi, K.; Fleming, S. Renal Carcinoma with Giant Mitochondria Associated with Germ-Line Mutation and Somatic Loss of the Succinate Dehydrogenase B Gene. *Histopathology* **2010**, *56* (3), 405–408. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2010.03482.x>.

(151) Malinoc, A.; Sullivan, M.; Wiech, T.; Schmid, K. W.; Jilg, C.; Straeter, J.; Deger, S.; Hoffmann, M. M.; Bosse, A.; Rasp, G.; Eng, C.; Neumann, H. P. H. Biallelic Inactivation of the SDHC Gene in Renal Carcinoma Associated with Paraganglioma Syndrome Type 3. *Endocrine-Related Cancer* **2012**, *19* (3), 283–290. <https://doi.org/10.1530/ERC-11-0324>.

(152) Fleming, S.; Mayer, N. J.; Vlatkovic, L. J.; McLean, J.; McConachie, M.; Baty, D. Signalling Pathways in Succinate Dehydrogenase B-Associated Renal Carcinoma. *Histopathology* **2014**, *64* (4), 477–483. <https://doi.org/10.1111/his.12250>.

(153) Papatomas, T. G.; Gaal, J.; Corssmit, E. P. M.; Oudijk, L.; Korpershoek, E.; Heimdal, K.; Bayley, J.-P.; Morreau, H.; van Dooren, M.; Papaspyrou, K.; Schreiner, T.; Hansen, T.; Andresen, P. A.; Restuccia, D. F.; van Kessel, I.; van Leenders, G. J. L. H.; Kros, J. M.; Looijenga, L. H. J.; Hofland, L. J.; Mann, W.; van Nederveen, F. H.; Mete, O.; Asa, S. L.; de Krijger, R. R.; Dinjens, W. N. M. Non-Pheochromocytoma (PCC)/Paraganglioma (PGL) Tumors in Patients with Succinate Dehydrogenase-Related PCC–PGL Syndromes: A Clinicopathological and Molecular Analysis. *European Journal of Endocrinology* **2014**, *170* (1), 1–12. <https://doi.org/10.1530/EJE-13-0623>.

(154) Paik, J. Y.; Toon, C. W.; Benn, D. E.; High, H.; Hasovitz, C.; Pavlakis, N.; Clifton-Bligh, R. J.; Gill, A. J. Renal Carcinoma Associated With Succinate Dehydrogenase B Mutation: A New and Unique Subtype of Renal Carcinoma. *JCO* **2014**, *32* (6), e10–e13. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.47.2647>.

(155) Casey, R. T.; Warren, A. Y.; Martin, J. E.; Challis, B. G.; Rattenberry, E.; Whitworth, J.; Andrews, K. A.; Roberts, T.; Clark, G. R.; West, H.; Smith, P. S.; Docquier, F. M.; Rodger, F.; Murray, V.; Simpson, H. L.; Wallis, Y.; Giger, O.; Tran, M.; Tomkins, S.; Stewart, G. D.; Park, S.-M.; Woodward, E. R.; Maher, E. R. Clinical and Molecular Features of Renal and Pheochromocytoma/Paraganglioma Tumor Association Syndrome (RAPTAS): Case Series and Literature Review. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2017**, *102* (11), 4013–4022. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-00562>.

- (156) Calió, A.; Grignon, D. J.; Stohr, B. A.; Williamson, S. R.; Eble, J. N.; Cheng, L. Renal Cell Carcinoma with TFE3 Translocation and Succinate Dehydrogenase B Mutation. *Mod Pathol* **2017**, *30* (3), 407–415. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.200>.
- (157) Gupta, S.; Zhang, J.; Milosevic, D.; Mills, J. R.; Grebe, S. K.; Smith, S. C.; Erickson, L. A. Primary Renal Paragangliomas and Renal Neoplasia Associated with Pheochromocytoma/Paraganglioma: Analysis of von Hippel–Lindau (VHL), Succinate Dehydrogenase (SDHX) and Transmembrane Protein 127 (TMEM127). *Endocr Pathol* **2017**, *28* (3), 253–268. <https://doi.org/10.1007/s12022-017-9489-0>.
- (158) Iwashita, H.; Okudela, K.; Matsumura, M.; Yamanaka, S.; Sawazumi, T.; Enaka, M.; Udaka, N.; Miyake, A.; Hibiya, T.; Miyake, N.; Matsumoto, N.; Makiyama, K.; Yao, M.; Nagashima, Y.; Ohashi, K. Succinate Dehydrogenase B-Deficient Renal Cell Carcinoma: A Case Report with Novel Germline Mutation: SDHB-Deficient RCC. *Pathol Int* **2017**, *67* (11), 585–589. <https://doi.org/10.1111/pin.12587>.
- (159) Kumar, R.; Bonert, M.; Naqvi, A.; Zbuk, K.; Kapoor, A. SDH-Deficient Renal Cell Carcinoma – Clinical, Pathologic and Genetic Correlates: A Case Report. *BMC Urol* **2018**, *18* (1), 109. <https://doi.org/10.1186/s12894-018-0422-8>.
- (160) Li, Y.; Reuter, V. E.; Matoso, A.; Netto, G. J.; Epstein, J. I.; Argani, P. Re-Evaluation of 33 ‘Unclassified’ Eosinophilic Renal Cell Carcinomas in Young Patients. *Histopathology* **2018**, *72* (4), 588–600. <https://doi.org/10.1111/his.13395>.
- (161) McEvoy, C. R.; Koe, L.; Choong, D. Y.; Leong, H. S.; Xu, H.; Karikios, D.; Plew, J. D.; Prall, O. W.; Fellowes, A. P.; Fox, S. B. SDH-Deficient Renal Cell Carcinoma Associated with Biallelic Mutation in Succinate Dehydrogenase A: Comprehensive Genetic Profiling and Its Relation to Therapy Response. *npj Precision Onc* **2018**, *2* (1), 9. <https://doi.org/10.1038/s41698-018-0053-2>.
- (162) Michalova, K.; Steiner, P.; Alaghebandan, R.; Trpkov, K.; Martinek, P.; Grossmann, P.; Montiel, D. P.; Sperga, M.; Straka, L.; Prochazkova, K.; Cempirkova, D.; Horava, V.; Bulimbasic, S.; Pivovarcikova, K.; Daum, O.; Ondic, O.; Rotterova, P.; Michal, M.; Hora, M.; Hes, O. Papillary Renal Cell Carcinoma with Cytologic and Molecular Genetic Features Overlapping with Renal Oncocytoma: Analysis of 10 Cases. *Annals of Diagnostic Pathology* **2018**, *35*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2018.01.010>.
- (163) Nicolas, E.; Demidova, E. V.; Iqbal, W.; Serebriiskii, I. G.; Vlasenkova, R.; Ghatalia, P.; Zhou, Y.; Rainey, K.; Forman, A. F.; Dunbrack, R. L.; Golemis, E. A.; Hall, M. J.; Daly, M. B.; Arora, S. Interaction of Germline Variants in a Family with a History of Early-onset Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Mol Genet Genomic Med* **2019**, *7* (3), e556. <https://doi.org/10.1002/mgg3.556>.
- (164) Ugarte-Camara, M.; Fernandez-Prado, R.; Lorda, I.; Rossello, G.; Gonzalez-Enguita, C.; Cannata-Ortiz, P.; Ortiz, A. Positive/Retained SDHB Immunostaining in Renal Cell Carcinomas Associated to Germline SDHB-Deficiency: Case Report. *Diagn Pathol* **2019**, *14* (1), 42. <https://doi.org/10.1186/s13000-019-0812-6>.
- (165) Wilczek, Y.; Sachdeva, A.; Turner, H.; Veeratterapillay, R. SDH-Deficient Renal Cell Carcinoma: A Clinicopathological Analysis Highlighting the Role of Genetic Counselling. *annals* **2020**, e1–e3. <https://doi.org/10.1308/rcsann.2020.0196>.
- (166) Xekouki, P.; Brennand, A.; Whitelaw, B.; Pacak, K.; Stratakis, C. A. The 3PAs: An Update on the Association of Pheochromocytomas, Paragangliomas, and Pituitary Tumors. *Horm Metab Res* **2019**, *51* (07), 419–436. <https://doi.org/10.1055/a-0661-0341>.
- (167) Dénes, J.; Swords, F.; Rattenberry, E.; Stals, K.; Owens, M.; Cranston, T.; Xekouki, P.; Moran, L.; Kumar, A.; Wassif, C.; Fersht, N.; Baldeweg, S. E.; Morris, D.; Lightman, S.; Agha, A.; Rees, A.; Grieve, J.; Powell, M.; Boguszewski, C. L.; Dutta, P.; Thakker, R. V.; Srirangalingam, U.; Thompson, C.

J.; Druce, M.; Higham, C.; Davis, J.; Eeles, R.; Stevenson, M.; O'Sullivan, B.; Taniere, P.; Skordilis, K.; Gabrovská, P.; Barlier, A.; Webb, S. M.; Aulinas, A.; Drake, W. M.; Bevan, J. S.; Preda, C.; Dalantaeva, N.; Ribeiro-Oliveira, A.; Garcia, I. T.; Yordanova, G.; Iotova, V.; Evanson, J.; Grossman, A. B.; Trouillas, J.; Ellard, S.; Stratakis, C. A.; Maher, E. R.; Roncaroli, F.; Korbonits, M. Heterogeneous Genetic Background of the Association of Pheochromocytoma/Paraganglioma and Pituitary Adenoma: Results From a Large Patient Cohort. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2015**, *100* (3), E531–E541. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-3399>.

(168) Dwight, T.; Mann, K.; Benn, D. E.; Robinson, B. G.; McKelvie, P.; Gill, A. J.; Winship, I.; Clifton-Bligh, R. J. Familial *SDHA* Mutation Associated With Pituitary Adenoma and Pheochromocytoma/Paraganglioma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2013**, *98* (6), E1103–E1108. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-1400>.

(169) Dénes, J.; Swords, F.; Rattenberry, E.; Stals, K.; Owens, M.; Cranston, T.; Xekouki, P.; Moran, L.; Kumar, A.; Wassif, C.; Fersht, N.; Baldeweg, S. E.; Morris, D.; Lightman, S.; Agha, A.; Rees, A.; Grieve, J.; Powell, M.; Boguszewski, C. L.; Dutta, P.; Thakker, R. V.; Srirangalingam, U.; Thompson, C. J.; Druce, M.; Higham, C.; Davis, J.; Eeles, R.; Stevenson, M.; O'Sullivan, B.; Taniere, P.; Skordilis, K.; Gabrovská, P.; Barlier, A.; Webb, S. M.; Aulinas, A.; Drake, W. M.; Bevan, J. S.; Preda, C.; Dalantaeva, N.; Ribeiro-Oliveira, A.; Garcia, I. T.; Yordanova, G.; Iotova, V.; Evanson, J.; Grossman, A. B.; Trouillas, J.; Ellard, S.; Stratakis, C. A.; Maher, E. R.; Roncaroli, F.; Korbonits, M. Heterogeneous Genetic Background of the Association of Pheochromocytoma/Paraganglioma and Pituitary Adenoma: Results From a Large Patient Cohort. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2015**, *100* (3), E531–E541. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-3399>.

(170) O'Toole, S. M.; Dénes, J.; Robledo, M.; Stratakis, C. A.; Korbonits, M. 15 YEARS OF PARAGANGLIOMA: The Association of Pituitary Adenomas and Pheochromocytomas or Paragangliomas. *Endocrine-Related Cancer* **2015**, *22* (4), T105–T122. <https://doi.org/10.1530/ERC-15-0241>.

(171) Tufton, N.; Roncaroli, F.; Hadjimetriou, I.; Dang, M. N.; Dénes, J.; Guasti, L.; Thom, M.; Powell, M.; Baldeweg, S. E.; Fersht, N.; Korbonits, M. Pituitary Carcinoma in a Patient with an *SDHB* Mutation. *Endocr Pathol* **2017**, *28* (4), 320–325. <https://doi.org/10.1007/s12022-017-9474-7>.

(172) Maher, M.; Roncaroli, F.; Mendoza, N.; Meeran, K.; Canham, N.; Kosicka-Slawinska, M.; Bernhard, B.; Collier, D.; Drummond, J.; Skordilis, K.; Tufton, N.; Gontsarova, A.; Martin, N.; Korbonits, M.; Wernig, F. A Patient with a Germline *SDHB* Mutation Presenting with an Isolated Pituitary Macroprolactinoma. *Endocrinology, Diabetes & Metabolism Case Reports* **2018**, *2018*. <https://doi.org/10.1530/EDM-18-0078>.

(173) Saavedra, A.; Lima, J.; Castro, L.; Silva, R.; Macedo, S.; Rodrigues, E.; Carvalho, D. Malignant Paraganglioma and Somatotropinoma in a Patient with Germline *SDHB* Mutation—Genetic and Clinical Features. *Endocrine* **2019**, *63* (1), 182–187. <https://doi.org/10.1007/s12020-018-1726-x>.

(174) Lemelin, A.; Lapoirie, M.; Abeillon, J.; Lasolle, H.; Giraud, S.; Philouze, P.; Ceruse, P.; Raverot, G.; Vighetto, A.; Borson-Chazot, F. Pheochromocytoma, Paragangliomas, and Pituitary Adenoma: An Unusual Association in a Patient with an *SDHD* Mutation. Case Report. *Medicine* **2019**, *98* (30), e16594. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000016594>.

(175) Ni, Y.; Seballos, S.; Ganapathi, S.; Gurin, D.; Fletcher, B.; Ngeow, J.; Nagy, R.; Kloos, R. T.; Ringel, M. D.; LaFramboise, T.; Eng, C. Germline and Somatic *SDHx* Alterations in Apparently Sporadic Differentiated Thyroid Cancer. *Endocrine-Related Cancer* **2015**, *22* (2), 121–130. <https://doi.org/10.1530/ERC-14-0537>.

(176) Renella, R.; Carnevale, J.; Schneider, K. A.; Hornick, J. L.; Rana, H. Q.; Janeway, K. A. Exploring the Association of Succinate Dehydrogenase Complex Mutations with Lymphoid Malignancies. *Familial*

Cancer **2014**, *13* (3), 507–511. <https://doi.org/10.1007/s10689-014-9725-4>.

(177) Choi, J.; Kim, D. H.; Jung, W.; Koo, J. S. The Expression of Succinate Dehydrogenase in Breast Phyllodes Tumor. *Histol Histopathol* **2014**, *29*, 1343–1354. <https://doi.org/10.14670/HH-29.1343>.

(178) Roh, T. H.; Yim, H.; Roh, J.; Lee, K. B.; Park, S. H.; Jeong, S.-Y.; Kim, S.-H.; Kim, J.-H. Hemangioblastoma of the Central Nervous System. *SCIENTIFIC REPORTS* **2019**, *9*.

(179) Solis, D.; Burnichon, N.; Timmers, H.; Raygada, M.; Kozupa, A.; Merino, M.; Makey, D.; Adams, K.; Venisse, A.; Gimenez-Roqueplo, A.-P.; Pacak, K. Penetrance and Clinical Consequences of a Gross *SDHB* Deletion in a Large Family. *Clinical Genetics* **2009**, *75* (4), 354–363. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2009.01157.x>.

(180) Else, T.; Lerario, A. M.; Everett, J.; Haymon, L.; Wham, D.; Mullane, M.; Wilson, T. L.; Rainville, I.; Rana, H.; Worth, A. J.; Snyder, N. W.; Blair, I. A.; McKay, R.; Kilbridge, K.; Hammer, G.; Barletta, J.; Vaidya, A. Adrenocortical Carcinoma and Succinate Dehydrogenase Gene Mutations: An Observational Case Series. *European Journal of Endocrinology* **2017**, *177* (5), 439–444. <https://doi.org/10.1530/EJE-17-0358>.

(181) Rasquin, L.; Prater, J.; Mayrin, J.; Minimo, C. Simultaneous Pheochromocytoma, Paraganglioma, and Papillary Thyroid Carcinoma without Known Mutation. *Case Reports in Endocrinology* **2018**, *2018*, 1–3. <https://doi.org/10.1155/2018/6358485>.

(182) Heilig, C. E.; Horak, P.; Lipka, D. B.; Mock, A.; Uhrig, S.; Kreutzfeldt, S.; Richter, S.; Geldon, L.; Fröhlich, M.; Hutter, B.; Hübschmann, D.; Teleanu, V.; Schmier, J.; Philipzen, J.; Beuthien-Baumann, B.; Schröck, E.; Deimling, A.; Bauer, S.; Heining, C.; Mechtersheimer, G.; Stenzinger, A.; Brors, B.; Wardelmann, E.; Glimm, H.; Hartmann, W.; Fröhling, S. Germline *SDHB* -inactivating Mutation in Gastric Spindle Cell Sarcoma. *Genes Chromosomes Cancer* **2020**, *59* (10), 601–608. <https://doi.org/10.1002/gcc.22876>.

(183) De Filpo, G.; Cilotti, A.; Rolli, L.; Pastorino, U.; Sonzogni, A.; Pradella, S.; Cantini, G.; Ercolino, T.; Nesi, G.; Mannelli, M.; Maggi, M.; Canu, L. SDHx and Non-Chromaffin Tumors: A Mediastinal Germ Cell Tumor Occurring in a Young Man with Germline *SDHB* Mutation. *Medicina* **2020**, *56* (11), 561. <https://doi.org/10.3390/medicina56110561>.

(184) De Filpo, G.; Maggi, M.; Mannelli, M.; Canu, L. Management and Outcome of Metastatic Pheochromocytomas/Paragangliomas: An Overview. *J Endocrinol Invest* **2020**. <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01344-z>.

(185) Plouin, P. F.; Amar, L.; Dekkers, O. M.; Fassnacht, M.; Gimenez-Roqueplo, A. P.; Lenders, J. W. M.; Lusse-Lepoutre, C.; Steichen, O.; __. European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline for Long-Term Follow-up of Patients Operated on for a Pheochromocytoma or a Paraganglioma. *European Journal of Endocrinology* **2016**, *174* (5), G1–G10. <https://doi.org/10.1530/EJE-16-0033>.

(186) Matsuda, K. PCR-Based Detection Methods for Single-Nucleotide Polymorphism or Mutation. In *Advances in Clinical Chemistry*; Elsevier, 2017; Vol. 80, pp 45–72. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2016.11.002>.

(187) Zhu, J.; Jia, W.; Wu, C.; Fu, W.; Xia, H.; Liu, G.; He, J. Base Excision Repair Gene Polymorphisms and Wilms Tumor Susceptibility. *EBioMedicine* **2018**, *33*, 88–93. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.06.018>.

(188) Mitra, A. K.; Singh, S. V.; Garg, V. K.; Sharma, M.; Chaturvedi, R.; Rath, S. K. Protective Association Exhibited by the Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Rs1052133 in the Gene Human 8-Oxoguanine DNA Glycosylase (*HOGG1*) with the Risk of Squamous Cell Carcinomas of the Head & Neck (SCCHN) among North Indians. *INDIAN J MED RES* **2011**, *8*.

- (189) Qiao, L.; Feng, X.; Wang, G.; Zhou, B.; Yang, Y.; Li, M. Polymorphisms in BER Genes and Risk of Breast Cancer: Evidences from 69 Studies with 33760 Cases and 33252 Controls. *Oncotarget* **2018**, *9* (22), 16220–16233. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23804>.
- (190) Brand, K. A.; Hermfisse, U. Aerobic Glycolysis by Proliferating Cells: A Protective Strategy against Reactive Oxygen Species¹. *FASEB j.* **1997**, *11* (5), 388–395. <https://doi.org/10.1096/fasebj.11.5.9141507>.
- (191) Chatterjee, N.; Walker, G. C. Mechanisms of DNA Damage, Repair, and Mutagenesis: DNA Damage and Repair. *Environ. Mol. Mutagen.* **2017**, *58* (5), 235–263. <https://doi.org/10.1002/em.22087>.
- (192) Seitz, G.; Schüder, G. Neoplasm to Neoplasm Metastasis Pheochromocytoma Harboring a Metastasis of Breast Cancer. *Pathology - Research and Practice* **1987**, *182* (2), 228–232. [https://doi.org/10.1016/S0344-0338\(87\)80109-7](https://doi.org/10.1016/S0344-0338(87)80109-7).
- (193) Joseph, K.-A.; El-Tamer, M.; Ditkoff, B. A.; Chabot, J.; Komenaka, I.; Horowitz, L.; Schnabel, F.; Shutter, J. Synchronous Presentation of Breast Cancer and Pheochromocytoma in a 57-Year-Old Woman. *Breast Journal* **2004**, *10* (1), 63–64. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4741.2004.09628.x>.
- (194) Maffei, V.; Cappelleso, R.; Nicolè, L.; Guzzardo, V.; Menin, C.; Elefanti, L.; Schiavi, F.; Guido, M.; Fassina, A. Loss of BAP1 in Pheochromocytomas and Paragangliomas Seems Unrelated to Genetic Mutations. *Endocr Pathol* **2019**, *30* (4), 276–284. <https://doi.org/10.1007/s12022-019-09595-0>.
- (195) Neumann, H. P. H. Distinct Clinical Features of Paraganglioma Syndromes Associated With SDHB and SDHD Gene Mutations. *JAMA* **2004**, *292* (8), 943. <https://doi.org/10.1001/jama.292.8.943>.
- (196) Lin B.; Yang H.-Y., Y. H. Y.; Shen S.Y., S. S. Y. Concomitant Paraganglioma and Thyroid Carcinoma: A Case Report. *World J Clin Cases* **2019**, *7* (5), 656–662. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v7.i5.656>.
- (197) Bugalho, M. J.; Silva, A. L.; Domingues, R. Coexistence of Paraganglioma/Pheochromocytoma and Papillary Thyroid Carcinoma: A Four-Case Series Analysis. *Familial Cancer* **2015**, *14* (4), 603–607. <https://doi.org/10.1007/s10689-015-9818-8>.
- (198) Landa I; Montero-Conde C; Malanga D; De Gisi S; Pita G; Leandro-Garcia; Inglada-Pérez L, I.-P. L.; Letón R, L. R.; De Marco C; Rodríguez-Antona C, R.-A. C.; Viglietto G; Robledo M. Allelic Variant at -79 (C>T) in CDKN1B (P27Kip1) Confers an Increased Risk of Thyroid Cancer and Alters MRNA Levels. *Endocrine-Related Cancer* **2010**, *17*, 317–328.
- (199) Lamovec J.; Frkovic-Grazio S.; Bracko M. Nonsporadic Cases and Unusual Morphological Features in Pheochromocytoma and Paraganglioma. *Arch Pathol Lab Med* **1998**, *122*, 6.
- (200) Castro-Vega, L. J.; Kiando, S. R.; Burnichon, N.; Buffet, A.; Amar, L.; Simian, C.; Berdelou, A.; Galan, P.; Schlumberger, M.; Bouatia-Naji, N.; Favier, J.; Bressac-de Paillerets, B.; Gimenez-Roqueplo, A.-P. The *MITF*, p.E318K Variant, as a Risk Factor for Pheochromocytoma and Paraganglioma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2016**, *101* (12), 4764–4768. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-2103>.
- (201) Cronin, J. C.; Wunderlich, J.; Loftus, S. K.; Prickett, T. D.; Wei, X.; Ridd, K.; Vemula, S.; Burrell, A. S.; Agrawal, N. S.; Lin, J. C.; Banister, C. E.; Buckhaults, P.; Rosenberg, S. A.; Bastian, B. C.; Pavan, W. J.; Samuels, Y. Frequent Mutations in the MITF Pathway in Melanoma. *Pigment Cell & Melanoma Research* **2009**, *22* (4), 435–444. <https://doi.org/10.1111/j.1755-148X.2009.00578.x>.
- (202) Khorram-Manesh, A.; Jansson, S.; Wangberg, B.; Nilsson, O.; Tisell, L.-E.; Ahlman, H. Mortality Associated with Pheochromocytoma: Increased Risk for Additional Tumors. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2006**, *1073* (1), 444–448. <https://doi.org/10.1196/annals.1353.048>.

10. Pubblicazioni

- 1) **DIAGNOSIS OF ENDOCRINE DISEASE: SDHx mutations: beyond pheochromocytomas and paragangliomas.**
Mannelli M, Canu L, Ercolino T, Rapizzi E, Martinelli S, Parenti G, De Filpo G, Nesi G. Eur J Endocrinol, 2018 Jan, 178(1):R11-R17
- 2) **Sindromi feocromocitoma/paraganglioma familiari: paraganglioma bilaterale del collo metastatico in paziente con mutazione SDH.**
M. M. Lanzetta, D. Cozzi, G. Addeo, G. Danti, L. Canu, G. De Filpo, T. Ercolino, M. Mannelli, V. Miele. GIRM 2018, Marzo/Aprile 2018 5(2): 249-56
- 3) **Pheochromocytoma: Malignant**
Massimo Mannelli, Gabriele Parenti, Letizia Canu, Giuseppina De Filpo, Elena Rapizzi. Encyclopedia of Endocrine Diseases – II Edition, Vol 3, pag. 460-468 Elsevier 2019
- 4) **Pheochromocytomas and Paragangliomas as Causes of Endocrine Hypertension**
Letizia Canu, Gabriele Parenti, Giuseppina De Filpo, Massimo Mannelli; Frontiers in Endocrinology, 2019 Jun 4; 10:333
- 5) **La gestione clinica dei paragangliomi della regione testa/collo: un problema irrisolto**
Giuseppina De Filpo, Letizia Canu, Massimo Mannelli. L'Endocrinologo (2019) 20:220-224
- 6) **Mitotane Concentrations Influence the Risk of Recurrence in Adrenocortical Carcinoma Patients on Adjuvant Treatment**
Soraya Puglisi, Anna Calabrese, Vittoria Basile, Filippo Ceccato, Carla Scaroni, Chiara Simeoli, Massimo Torlontano, Salvatore Cannavò, Giorgio Arnaldi, Antonio Stigliano, Pasqualino Malandrino, Laura Saba, Barbara Altieri, Silvia Della Casa, Paola Perotti, Paola Berchiolla, Giuseppina De Filpo, Letizia Canu, Paola Loli, Giuseppe Reimondo and Massimo Terzolo. J Clin Med 2019, 8(11):185
- 7) **Germline Mutation in KIF1B β Gene Associated with Loss of Heterozygosity: Usefulness of Next-Generation Sequencing in the Genetic Screening of Patients with Pheochromocytoma**
G De Filpo, E Contini, V Serio, A Valeri, M Chetta, D Guasti, D Bani, M Mannelli, E Rapizzi, M Luconi, M Maggi, T Ercolino, L Canu. Int J Endocrinol, 2020 May; 2020:3671396

- 8) Management and outcome of metastatic pheochromocytomas/paragangliomas: an overview**
G De Filpo, M Maggi, M Mannelli, L Canu. Journal of Endocrinological Investigation 2020 June 29
- 9) Gestione della terapia adiuvante con mitotane nei pazienti affetti da carcinoma corticosurrenalico**
Giuseppina De Filpo, Letizia Canu. L'Endocrinologo (2020) vol. 21, issue 3 – pag. 292-294
- 10) SDHx and non-chromaffin tumors: a mediastinal germ cell tumor occurring in a young man with germline SDHB mutation**
Giuseppina De Filpo, Antonio Cilotti, Luigi Rolli, Ugo Pastorino, Angelica Sonzogni, Silvia Pradella, Giulia Cantini, Tonino Ercolino, Gabriella Nesi, Massimo Mannelli, Mario Maggi, Letizia Canu. Medicina 2020, 56(11), 561
- 11) Prognostic and Monitoring Value of Circulating Tumor Cells in Adrenocortical Carcinoma: A preliminary Monocentric Study**
Giulia Cantini, Letizia Canu, Roberta Armignacco, Francesca Salvianti, Giuseppina De Filpo, Tonino Ercolino, Gabriella Nesi, Mario Maggi, Massimo Mannelli, Pamela Pinzani, Michaela Luconi. Cancers 2020, 12(11), 3176
- 12) Problemi interpretativi del dosaggio delle metanefrine**
Giuseppina De Filpo, Letizia Canu. L'Endocrinologo 2020 – vol. 21, issue 6, pag 475-477
- 13) Adrenocortical carcinoma: current treatment options**
G De Filpo, M. Mannelli, L. Canu. Curr Opin Oncol. 2021 Jan;33(1):16-22
- 14) Adrenal Incidentalomas**
Massimo Mannelli, Catia Olianti, Giulia Puccini, Valentina Berti, Vittorio Briganti, Letizia Canu, Gabriele Parenti, Giuseppina De Filpo, Roberto Sciagrà. Current Diagnostic and Therapeutic Approaches in Nuclear Endocrinology - Chapter 9 – David Taieb and Karel Pacak Eds, Cambridge University Press - accettato per la pubblicazione
- 15) Pheochromocytoma**
Letizia Canu, Giuseppina De Filpo, Massimo Mannelli. Practical Clinical Endocrinology - Chapter 37 – Peter Igaz Eds, Springer Nature - accettato per la pubblicazione