



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Pediatria Salus Pueri

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN: MEDICINA DELLO SVILUPPO E

SCIENZE DELLA PROGRAMMAZIONE

INDIRIZZO: MALATTIE RARE

CICLO XX°

TITOLO TESI

TUMORI RARI PEDIATRICI COME SPIA DI SINDROMI GENETICHE:

UN REPORT DAL PROGETTO TREP (TUMORI RARI IN ETA' PEDIATRICA)

SU CARCINOMA RENALE E FEOCROMOCITOMA

Direttore della Scuola: Prof. Giuseppe Basso

Coordinatore di Indirizzo: Prof. Giorgio Perilongo

Supervisori: Dott. Gianni Bisogno

Prof. Giovanni Cecchetto

Dottorando: Elena Carretto

Un sentito ringraziamento a:

Elisa Mancini, data manager del Progetto TREP

Paola Collini, Dipartimento di Patologia, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano

Rita Alaggio, Anatomia Patologica, Università degli Studi di Padova

Maddalena Martella, Laboratorio di riferimento Diagnostica Molecolare VHL del Dipartimento di Pediatria Salus Pueri, Padova

Francesca Schiavi, Unità Tumori Ereditari, Istituto Oncologico Veneto, Padova

Tutti i colleghi chirurgi ed onco-ematologi che hanno coinvolto i loro pazienti in questo studio.

Il loro contributo è stato cruciale per la riuscita del lavoro.

TUMORI RARI PEDIATRICI COME SPIA DI SINDROMI GENETICHE: UN REPORT DAL PROGETTO TREP (TUMORI RARI IN ETÀ PEDIATRICA) SU CARCINOMA RENALE E FEOCROMOCITOMA

INTRODUZIONE

Consideriamo “tumori rari in età pediatrica” quei tumori con un’incidenza inferiore ai 2 casi/1.000.000 bambini/anno e che non sono inclusi in protocolli di trattamento dell’Associazione Italiana di Emato-Oncologia Pediatrica (AIEOP). Questi Tumori sono l’oggetto di un progetto nazionale denominato Progetto TREP che si propone fra gli obiettivi la registrazione dei pazienti con tumore raro e l’avvio di studi a loro dedicati.

Questo studio si basa sull’ipotesi che l’insorgenza in un bambino di un tumore tipico dell’età adulta, ma estremamente raro in età pediatrica possa essere l’espressione di una condizione genetica predisponente. Infatti più è precoce l’età di insorgenza di un tumore meno è facile che sia avvenuta un’esposizione a fattori ambientali.

Il carcinoma renale (CR) può presentarsi in forma sporadica o come parte del quadro clinico di alcune malattie genetiche, tra cui la malattia di Von Hippel-Lindau.

Analogamente feocromocitoma e paraganglioma possono presentarsi sia in forma sporadica che associati ad alcune malattie geneticamente trasmissibili tra cui la malattia di Von Hippel-Lindau, la sindrome del feocromocitoma/paraganglioma ereditario, la sindrome da neoplasie endocrine multiple tipo 2 (MEN 2) e la neurofibromatosi tipo 1.

SCOPO

Nella tesi riportiamo i dati preliminari di uno studio retrospettivo e prospettico condotto nell’ambito del Progetto TREP, che ha lo scopo di valutare la prevalenza delle principali sindromi genetiche associate a carcinoma renale e a feocromocitoma in età pediatrica.

MATERIALI E METODI

Sono stati considerati i pazienti con carcinoma renale e con feocromocitoma registrati nel Progetto TREP di età ≤ 18 anni, con diagnosi da gennaio 2000 a maggio 2009 e vivi, con o senza evidenza di malattia, al momento dello svolgimento di questo studio. Questi pazienti sono stati registrati da 18 Centri italiani di Chirurgia o Oncologia Pediatrica.

I pazienti, sono stati ricontattati dal medico del centro di riferimento e gli è stato proposto di essere sottoposti a prelievo di sangue periferico per ricerca di alterazioni genetiche. In particolare sono state ricercate:

VHL (malattia di Von Hippel-Lindau): sia per i carcinomi renali che per i feocromocitomi

RET (MEN2), SDHB, SDHC e SDHD (sindrome del feocromocitoma/paraganglioma familiare): solo per i feocromocitomi.

Inoltre per i carcinomi renali è stato compilato dal clinico che aveva in cura il paziente un questionario che cercava di identificare sintomi e segni delle possibili sindromi associate.

L’analisi delle mutazioni del gene VHL per l’identificazione di mutazioni puntiformi o di piccola taglia è stata condotta sull’intera sequenza codificante e sulle zone di giunzione introne-esone attraverso amplificazione in PCR, DHPLC e sequenziamento diretto. La PCR Real Time quantitativa è stata utilizzata su frammenti di DNA genomico rappresentanti ogni esone del gene VHL per identificare delezioni di parti o dell’intero gene.

L’analisi genetica del gene RET e dei geni SDHB, SDHC ed SDHD è stata condotta mediante sequenziamento diretto delle regioni codificanti e delle regioni introniche fiancheggianti. Per il gene RET sono stati sequenziati gli esoni 8, 10, 11, 13, 15 e 16. Per quanto riguarda i geni SDHx sono stati sequenziati interamente gli 8 esoni di SDHB, i 6 di SDHC e i 4 di SDHD; inoltre è stata condotta l’analisi dei riarrangiamenti mediante MLPA (Multiple Ligation Probe Assay).

Abbiamo infine analizzato i risultati del trattamento correlandoli alla presenza di una sindrome genetica.

RISULTATI

Per quanto riguarda i carcinomi renali sono stati identificati 32 pazienti eligibili al nostro studio. La scheda anamnestica è stata somministrata in 11 pazienti, e non ha posto in nessun paziente il sospetto clinico di una sindrome genetica associata. L'analisi genetica per VHL è stata condotta in 13 pazienti ed in tutti i casi ha dato esito negativo.

Clinicamente la prognosi è apparsa correlata con lo stadio e quindi con la chirurgia: i pazienti con tumore localizzato asportato completamente hanno mostrato un'ottima sopravvivenza.

Per i feocromocitomi l'analisi genetica è stata condotta in 14 pazienti su 20 eligibili ed ha evidenziato una mutazione germinale in 7 (2 VHL, 1 SDHD, 4 SDHB) con una prevalenza totale del 50%. Ove possibile l'analisi genetica è stata estesa anche ai familiari: finora sono stati identificati 9 familiari con mutazione del gene SDHB e uno con mutazione di SDHD.

Dal punto di vista clinico i nostri dati confermano l'importanza di una chirurgia completa del tumore. Non è stata riscontrata una differenza significativa nelle manifestazioni cliniche e nella prognosi dei pazienti sindormici quando confrontati a quelli non sindormici.

CONCLUSIONI

Per quanto riguarda il carcinoma renale, non siamo riusciti ad evidenziare una associazione con la sindrome di VHL, ma la limitata numerosità del campione esaminato ci permette di trarre solo delle conclusioni preliminari.

Nei feocromocitomi abbiamo riscontrato un'elevata prevalenza (50%) di sindromi genetiche associate. Tale frequenza è superiore rispetto a quanto riportato in casistiche di pazienti adulti confermando che l'insorgenza di un feocromocitoma in età pediatrica è maggiormente associata ad una sindrome genetica.

I nostri dati dimostrano che alcuni tumori rari per l'età pediatrica possono rappresentare la prima manifestazione di una sindrome genetica. Il risultato del trattamento è strettamente correlato all'esito della chirurgia sia per i carcinomi renali che per il feocromocitoma. E' però importante sottolineare che oltre le problematiche inerenti al trattamento vanno considerate quelle di tipo genetico per le implicazioni che una family cancer syndrome può avere per la famiglia e il paziente stesso.

RARE PEDIATRIC TUMORS AS INDICATORS OF GENETIC SYNDROMES: A REPORT FROM THE TREP (RARE TUMORS IN PEDIATRIC AGE) PROJECT ON RENAL CARCINOMA AND PHEOCHROMOCYTOMA.

We consider rare tumors in pediatric age those tumors with an incidence less than 2 cases/1.000.000 children/year, which are not included in treatment protocols of the “Associazione Italiana di Emato-Oncologia Pediatrica” (AIEOP). These tumors are object of a national project called TREP, aiming to register patients with rare tumors and promote studies of these cancers.

We hypothesize that infancy-onset of typically adulthood tumors, extremely rare in pediatric age, could be the expression of an underlying predisposing genetic condition. In fact, the earliest is the age of onset, the least is the exposition to environmental factors.

The renal cell carcinoma (RCC) occurs in a sporadic form or as part of genetic diseases, such as Von Hippel-Lindau disease.

Likewise, pheochromocytoma and paraganglioma occur in a sporadic form or associated with hereditary disorders such as Von Hippel-Lindau disease, Hereditary Paraganglioma-Pheochromocytoma Syndrome, Multiple endocrine neoplasia type 2 (MEN2) syndrome and neurofibromatosis, type 1.

AIM

We report the preliminary results of a retrospective and prospective study of a TREP project aiming to evaluate the prevalence of main hereditary syndromes associated with renal cell carcinoma and pheochromocytoma in pediatric age.

MATERIALS AND METHODS.

Patients diagnosed with renal cell carcinoma or pheochromocytoma from January 2000 until May 2009 (age at diagnosis <18 years) and registered in the TREP, alive, with or without disease, were considered for this study. These patients were registered at 18 reference Italian Pediatric Surgery or Oncology centers.

Patients were contacted by the Reference Center in order to obtain blood DNA to detect germ-line mutation of the following genes:

VHL (Von Hippel-Lindau disease): in renal cell carcinomas and pheochromocytomas

RET (MEN2), SDHB, SDHC, SDHD (Hereditary Paraganglioma-Pheochromocytoma Syndrome): in pheochromocytomas only.

For patients with renal cell carcinoma, referring clinicians were asked to complete a questionnaire, aimed to enlighten the presence of signs and symptoms suggestive of the possible associated syndromes.

Mutation scanning of the VHL gene for identification of point or small size mutations was conducted on the entire coding sequence and intron-exon boundaries, by PCR amplification, DHPLC and direct sequence analysis. Quantitative Real Time PCR for the identification of deletions of part or the entire gene, was performed on genomic DNA fragments representing each VHL exon.

Genetic analysis of RET, SDHB, SDHC, SDHD genes was conducted by direct sequencing of coding sequence and intron-exon boundaries. For RET gene, exons 8, 10, 11, 13, 15 and 16 were sequenced. For SDHx genes, all 8 SDHB exons, all 6 SDHC and 4 SDHD exons were entirely sequenced. Rearrangement analysis was conducted by MLPA (Multiple Ligation Probe Assay).

Finally we analyzed clinical data in relation to the presence of genetic syndromes.

RESULTS

Genetic analysis was performed in 13 on 32 eligible patients with renal cell carcinoma. In all cases no mutation were found. In no case the questionnaire, completed in 11 patients, suggested the presence of an underlying genetic syndrome.

14 patients with pheochromocytoma (on 20 eligible) underwent the genetic analysis: we found a germ-line mutation in 7 (2 VHL, 1 SDHD, 4 SDHB) with an overall prevalence of

50%. When possible, genetic analysis was extended to family members: until now we found 9 mutations in SDHB gene and 1 mutation of SDHD.

From a clinical point of view our data support the role of a complete surgery of the tumor. Patients with genetic syndrome did not significantly differ from nonsyndromic ones in terms of clinical manifestations and prognosis.

CONCLUSIONS

As far as renal cell carcinoma is concerned, the limited number of cases analyzed until today does not allow to draw any significant conclusion. Particularly, we could not detect an association with VHL disease.

We found an high prevalence (50%) of genetic disorders associated with pheochromocytoma otherwise labeled "sporadic". This prevalence is higher than what reported in adulthood, confirming that the incidence of pheochromocytoma in pediatric age is more frequently associated to an inherited disorder.

Our data show that some rare tumors in pediatric age can be the first manifestation of a genetic syndrome. Both renal cell carcinoma and pheochromocytoma clinical outcome strictly depend on completeness of surgery; however these patients need to be considered also from a genetic point of view for the possible implication that a family cancer syndrome can have for the patient and other family members.

INDICE

1) <u>PRESENTAZIONE E SCOPI DEL LAVORO</u>	3
2) <u>TUMORI ED EREDITARIETA'</u>	4
• ANOMALIE CROMOSOMICHE COSTITUZIONALI	4
• ANOMALIE CROMOSOMICHE STRUTTURALI	5
• DISORDINI DA IPERACCRESIMENTO ED ERRORI DI IMPRINTING	6
• EREDITARIETA' MENDELIANA DELLA PREDISPOSIZIONE ALLO SVILUPPO DI NEOPLASIE	7
1. <u>Patologie autosomiche dominanti</u>	7
2. <u>Patologie autosomiche recessive</u>	11
3) <u>I TUMORI RARI IN ETA' PEDIATRICA E IL PROGETTO TREP</u>	13
4) <u>CARCINOMA RENALE E MALATTIE EREDITARIE</u>	15
• INTRODUZIONE	15
• SCOPO DEL LAVORO	29
• MATERIALI E METODI	30
• RISULTATI	31
• DISCUSSIONE	33
5) <u>FEOCROMOCITOMA E MALATTIE EREDITARIE</u>	35
• INTRODUZIONE	35
• SCOPO DEL LAVORO	48
• MATERIALI E METODI	49
• RISULTATI	50
• DISCUSSIONE	54
6) <u>CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE SUL LAVORO SVOLTO</u>	56
7) <u>SVILUPPI FUTURI</u>	58
8) <u>APPENDICE</u>	59
9) <u>BIBLIOGRAFIA</u>	62

1) PRESENTAZIONE E SCOPI DEL LAVORO

In questo lavoro di tesi sono presentati gli argomenti che hanno costituito il principale ambito di studio durante il periodo di Dottorato in Medicina dello Sviluppo e Scienze della Programmazione, svolto presso il Dipartimento di Pediatria dell'Università di Padova (anni accademici 2005 – 2009). Il lavoro è stato prevalentemente incentrato sul rapporto tra sindromi genetiche e tumori rari dell'età pediatrica, il cui centro epidemiologico di raccolta (Progetto TREP) ha sede a Padova e per i quali il dipartimento presso il quale è stato condotto il lavoro di Dottorato è centro di riferimento.

Nella prima parte abbiamo approfondito lo studio delle basi genetiche dei tumori rari in età pediatrica, ricercando le possibili sindromi associate a carcinoma renale pediatrico. In particolare si è voluto determinare la prevalenza della malattia di von Hippel-Lindau nei pazienti con carcinoma renale pediatrico (ed in particolare nei carcinomi renali a cellule chiare e nei translocation carcinoma) dato non ancora presente in letteratura e che va ridefinito alla luce della recente classificazione dei carcinomi renali WHO 2004¹¹⁰.

Nella seconda parte abbiamo voluto valutare la prevalenza di mutazioni germinali dei geni VHL, RET, SDHB, SDHC e SDHD nei pazienti con feocromocitoma e paraganglioma arruolati nel Protocollo TREP ed valutare su base clinica la presenza di altre sindromi genetiche.

2) TUMORI ED EREDITARIETA'

Numerose evidenze scientifiche hanno dimostrato che una neoplasia è il risultato di multiple mutazioni del DNA nelle cellule tumorali. In contrasto con la predominanza di tali mutazioni somatiche, la proporzione di neoplasie pediatriche con una chiara componente ereditaria è piccola. "Ereditario" in questo caso indica un'alterazione genetica trasmessa al figlio da uno dei genitori o una nuova mutazione costituzionale occorsa nell'ovocita o nello spermatozoo prima della fecondazione. La percentuale di casi di tumore dovuti a fattori ereditari varia molto tra i diversi tipi di tumore, essendo molto elevata per carcinoma adrenocorticale, glioma ottico e retinoblastoma.

I genetisti classificano tali disordini in base al meccanismo di ereditarietà: anomalie cromosomiche costituzionali, ereditarietà mendeliana autosomica dominante, recessiva o X-linked ed ereditarietà non mendeliane. Quest'ultima categoria include disordini ereditari causati da mutazioni in geni multipli o nel DNA mitocondriale o ancora mutazioni riguardanti geni imprinted.

ANOMALIE CROMOSOMICHE COSTITUZIONALI

Per quanto riguarda le anomalie cromosomiche costituzionali, i bambini affetti hanno un fenotipo ben definito che include solitamente dismorfismo, anomalie congenite, ritardo di crescita e ritardo mentale. La maggior parte di questi errori occorre durante l'oogenesi o la spermatogenesi, ed entrambi i genitori hanno un cariotipo normale. Raramente alcuni disordini possono essere trasmessi da un genitore portatore di una traslocazione bilanciata.

Uno degli esempi classici di predisposizione a neoplasia dovuta ad anomalia cromosomica costituzionale è rappresentato dall'aumentato rischio di leucemia nei bambini con trisomia 21^{1,2}. Il rischio di sviluppare una leucemia per un paziente con sindrome di Down è circa 20 volte maggiore rispetto alla popolazione generale². La trisomia 21 viene riscontrata comunemente anche nel cariotipo delle cellule leucemiche dei pazienti senza sindrome di Down^{3,4}, dunque la presenza di un extracromosoma 21 appare essere un fattore "leucemogeno", sia che esso venga acquisito nella linea germinale che in quella somatica.

Anche le anomalie dei cromosomi sessuali, ad esempio la sindrome di Klinefelter e quella di Turner, determinano un rischio aumentato di alcune neoplasie.

Un individuo fenotipicamente femmina con una parte o tutto il cromosoma Y è a rischio di sviluppare un gonadoblastoma in gonadi "streak"⁵. Tale rischio supera il 25% durante la terza decade di vita. Pazienti con questo problema includono ragazze con sindrome da resistenza agli androgeni (femminizzazione testicolare) con cariotipo 46 XY, bambini con disgenesia

gonadica e ragazze con sindrome di Turner e cariotipo mosaico 45X/46XY. In un individuo con mosaicismo coesistono differenti popolazioni cellulari dovute presumibilmente alla perdita di un cromosoma Y da parte di uno zigote 46XY nelle prime divisioni mitotiche. Circa il 25% delle ragazze con sindrome di Turner hanno evidenza di una qualche forma di mosaicismo⁶. Il gene TSPY sul cromosoma Y è responsabile dello sviluppo di gonadoblastoma in questo tipo di condizioni⁷. In tali pazienti è indicata l'asportazione profilattica delle gonadi, che nella maggior parte dei casi sono comunque non-funzionanti. Tuttavia, la scoperta di un sesso cromosomico diverso da quello fenotipico può essere devastante per la paziente e per la sua famiglia⁸.

Il fenotipo dei pazienti con sindrome di Klinefelter (47XXY) è variabile: caratteristiche frequenti sono l'alta statura, l'infertilità, la scarsa rappresentazione dei caratteri sessuali secondari e la ginecomastia. La sindrome di Klinefelter raramente viene diagnosticata prima dell'età adulta: risulta quindi difficile condurre studi epidemiologici sull'incremento di neoplasie in età pediatrica. Tuttavia alcuni studi dimostrerebbero un aumento dei disgerminomi⁹ e dei tumori germinali extra-gonadici¹⁰, oltre che un aumento del rischio di tumore della mammella¹¹ non correlabile alla ginecomastia^{12, 13}.

ANOMALIE CROMOSOMICHE STRUTTURALI

Per quanto riguarda le anomalie cromosomiche strutturali, è ormai chiaro che molte delle sindromi dismorfiche sono il risultato di ampie delezioni che possono essere identificate tramite analisi citogenetica. Tali delezioni possono essere eventi "de novo" o essere ereditate dai genitori. La sindrome WAGR (Wilms Tumor, Aniridia, Genital abnormalities, mental Retardation) ha una prevalenza inferiore a 1 su 100.000 nati. La sindrome è associata ad un rischio aumentato di sviluppare tumore di Wilms (a qualsiasi età), ad aniridia totale o parziale (con possibile glaucoma o cataratta), a disturbi genitourinari (da ambiguità sessuale a ectopia testis) e grado variabile di deficit cognitivo. La sindrome è dovuta a una microdelezione nella regione 11p13 del cromosoma 11^{14,15} ed è una delle "sindromi da geni contigui" meglio studiata (malattie a eredità mendeliana causate da delezioni di geni adiacenti su un cromosoma). Nella maggior parte dei casi la microdelezione è de novo, ma può essere il risultato di una traslocazione parentale ereditata. Il gene responsabile del fenotipo Wilms tumor è stato clonato e chiamato *WT1*; codifica per un fattore di trascrizione zinc finger¹⁶ ed è situato sul cromosoma 11¹⁷. Tutto o parte di *WT1* è deletato nei pazienti con sindrome WAGR e tumore di Wilms¹⁸, viceversa mutazioni puntiformi di *WT1* sono state riscontrate in bambini con sindrome di Denys-Drash, caratterizzata da severe anomalie dei genitali e tumore di

Wilms^{18,19}. Mutazioni somatiche nel gene *WT1* nei tumori di Wilms sporadici sono state riscontrate nel 10% dei casi¹⁶. Studi di linkage condotti nei familiari dei pazienti con tumore di Wilms dimostrerebbero l'esistenza di più di un gene coinvolto^{20,21}.

DISORDINI DA IPERACCRESIMENTO ED ERRORI DI IMPRINTING

Per quanto riguarda i disordini da iperaccrescimento e gli errori legati ad imprinting è nota da tempo la relazione fra disordini legati ad aumentata crescita e predisposizione allo sviluppo di neoplasie. Due sindromi in particolare, la Beckwith-Wiedemann (BWS) e l'emiipertrofia (HH), sono legate ad un aumento significativo di tumori addominali, tra cui nefroblastoma ed epatoblastoma^{22,23}. La sindrome di Beckwith-Wiedemann è caratterizzata da macrosomia, macroglossia, organomegalia²³. L'organomegalia può determinare onfalocela ed ernia ombelicale. L'emiipertrofia è definita come una crescita somatica asimmetrica dovuta a iperaccrescimento di un emisoma rispetto all'altro. Può coinvolgere unicamente un arto o l'intero emisoma; può essere una manifestazione della BWS o un reperto isolato. Per i bambini con HH, il rischio di sviluppare un tumore di Wilms è approssimativamente il 3%²⁴. Numerosi studi hanno inoltre evidenziato che bambini affetti da BWS e HH hanno rischio maggiore di sviluppare questo tumore rispetto a bambini con una malattia soltanto^{25,26}. Le basi genetiche della BWS e dell'HH è complessa²⁷. Alcune famiglie hanno apparentemente un pattern di trasmissione autosomico dominante, che mappa in 11p15^{28,29}. In queste famiglie la BWS viene più facilmente ereditata dalla madre che dal padre^{29,30}. Ci sono anche alcuni bambini con un riarrangiamento citogeneticamente visibile nella regione 11p15 che è il risultato di duplicazioni del cromosoma paterno 11p³¹. Tuttavia vi sono bambini con BWS apparentemente sporadiche. Il meccanismo sotteso a tale inconsueta trasmissione genetica può essere spiegato come imprinting genetico. Il termine imprinting fa riferimento al fatto che alcuni geni possono essere espressi diversamente a seconda che vengano ereditati dal cromosoma materno o paterno³². Questa forma di ereditarietà non è spiegabile in base alle leggi di Mendel e risulta in alberi genealogici inusuali. La BWS può risultare in bambini citogeneticamente normali che ereditano due copie del cromosoma paterno 11 e nessuna copia materna (disomia uniparentale). Bambini con BWS e HH possono mostrare disomia uniparentale del cromosoma 11³³. Numerosi sforzi sono stati compiuti per identificare quale gene imprintato sia distrutto nella BWS. Inizialmente è stato coinvolto l'insulin-like growth factor-2 gene (IGF-2) localizzato in 11p15³⁴, attualmente sono stati identificati almeno altri 3 geni coinvolti in tale patologia^{35,36}.

Un altro esempio di patologia legata ad errori di imprinting è il paraganglioma, costellazione di tumori detto anche tumore del glomo, chemodectoma e tumore del corpo della carotide. Si tratta di una famiglia di neoplasie che origina dai paragangli (organi chemocettori distribuiti in tutto il corpo). Circa il 20% dei paragangliomi hanno presentazione familiare, la cui modalità di trasmissione si pensava fosse di tipo autosomico dominante con penetranza incompleta ed espressività variabile. L'analisi degli alberi genealogici ha poi suggerito un imprinting di tipo materno, anche se il meccanismo molecolare non è ancora noto. Almeno 4 loci sono stati legati all'ereditarietà del paraganglioma: PGL1 (SDHD)³⁷, PGL2, PGL3 (SDHC)^{38,39} e PGL4 (SDHB). SDHB, SDHC, SDHD codificano per una proteina della catena respiratoria mitocondriale, la cui perdita di funzione determina stimolazione cronica ipossica e proliferazione cellulare.

EREDITARIETA' MENDELIANA DELLA PREDISPOSIZIONE ALLO SVILUPPO DI NEOPLASIE

Ci sono numerose patologie legate a mutazioni di un singolo gene che comportano un aumento dello sviluppo di neoplasie.

Patologie autosomiche dominanti

Rappresentano la maggior parte delle patologie da mutazione di un singolo gene in grado di aumentare il rischio di sviluppo di una neoplasia.

Le caratteristiche comuni a questo gruppo di neoplasie sono:

- Pazienti affetti da neoplasia in numerose generazioni
- Trasmissione attraverso sia la madre che il padre, al figlio o alla figlia
- Più precoce comparsa di neoplasia rispetto ai casi sporadici
- Aumento dell'incidenza di tumori multipli e bilaterali
- Aumento del rischio di uno o pochi tipi di neoplasia all'interno di una famiglia
- La penetranza (probabilità che un individuo che eredita una mutazione sviluppi la patologia a livello fenotipico) variabile può far sì che vi siano portatori (carriers) che non sviluppano tumore

La maggior parte delle nostre conoscenze riguardo alle "autosomal dominant cancer families" deriva da studi condotti sul retinoblastoma. Nel 1971 Knudson mette a punto una teoria che costituisce tutt'oggi una pietra miliare dell'ereditarietà dei tumori.

Si tratta della così detta "two-hit" o "two-mutation hypothesis"^{40,41}: in tutti i tumori, la medesima cellula va incontro almeno a due mutazioni per divenire maligna, la seconda delle quali avviene sempre in epoca post-concezionale. Nei tumori sporadici e non-ereditari, anche

la prima mutazione avviene dopo il concepimento. Nei tumori ereditari la prima mutazione è in una cellula germinale (spermatozoo o cellula uovo) così che tutte le cellule che ne derivano ereditano la prima mutazione.

Sulla base di studi di citogenetica, è stato isolato il gene mutato nel retinoblastoma⁴² e studi molecolari hanno confermato l'ipotesi dei "two hit" di Knudson: per lo sviluppo di un retinoblastoma è necessario che entrambe le copie del gene *Rb* vengano perse. La normale funzione del prodotto del gene *Rb* è di regolare negativamente il ciclo cellulare^{43,44} la perdita di questa funzione, chiamata "tumor suppression", comporta la perdita del controllo del ciclo cellulare. Nelle forme familiari, la mutazione di un gene *Rb* viene ereditata e perciò tutte le cellule del corpo hanno solo un allele normale. Se durante lo sviluppo l'allele normale subisce una mutazione o viene perso, viene meno il meccanismo di controllo del ciclo cellulare e si può sviluppare un retinoblastoma.

Una situazione del tutto analoga si riscontra nella sindrome di Li-Fraumeni^{45,46}. La forma classica di questa patologia si realizza quando si ha^{47,48}:

- paziente con un sarcoma diagnosticato prima dei 45 anni di età
- parente di primo grado con un qualsiasi tumore manifestatosi prima dei 45 anni
- altro parente di primo o secondo grado con un tumore sviluppato prima dei 45 anni o un sarcoma sviluppato a qualsiasi età.

I pazienti con questa sindrome tendono a sviluppare sarcomi, tumori al seno in epoca premenopausale, tumori cerebrali, leucemie e carcinomi adrenocorticali; il gene coinvolto è il "p53 suppressor gene".

Infine le neoplasie endocrine multiple (MEN) rappresentano almeno 3 differenti patologie che sono tutte "cancer family syndromes" autosomiche dominanti e che colpiscono organi endocrini.

La MEN 1 è caratterizzata da coinvolgimento di paratiroidi, pancreas endocrino e ipofisi⁴⁹: l'interessamento paratiroideo e quello di maggior riscontro e soventemente questi pazienti sviluppano anche una sindrome di Zollinger-Ellison. Il gene responsabile di questa sindrome, *MEN1*, è stato identificato⁵⁰ e mappa sul cromosoma 11⁵¹.

Sia la MEN2A che la MEN2B si manifestano in età pediatrica. La MEN2A è associata con carcinoma midollare della tiroide, adenoma delle paratiroidi e feocromocitoma. La MEN2B è una malattia correlata con esordio di tumori in età pediatrica, ganglioneuromi del tratto gastro-intestinale e anomalie scheletriche. Altre famiglie manifestano carcinoma midollare della tiroide autosomico dominante senza altre caratteristiche della MEN2A. Il trattamento della MEN2 comprende la tiroidectomia profilattica in età pediatrica⁵². Prima

dell'identificazione del gene responsabile della MEN2A e B, la diagnosi si basava su complessi screening biochimici (es. rilascio di calcitonina dopo stimolo con pentagastrina⁵³). Con la scoperta delle basi molecolari delle MEN2A e 2B alla diagnosi biochimica si è sostituita quella genetica.

Il gene responsabile della MEN2A è il proto-oncogene *RET* (60 chilobasi, 21 esoni), localizzato sulla regione pericentromerica del cromosoma 10 (10q11.2) e codificante per un recettore di membrana con attività tirosinasi. Le mutazioni di *RET* associate alla MEN2 determinano una auto attivazione costitutiva del dominio tirosinasi ed un'attività ontogenetica^{54,55}. Anche nella MEN2B si sono riscontrate 2 specifiche mutazioni missense nella regione altamente conservata del dominio tirosinasi del gene *RET*^{56,57,58,59}. Tuttavia il pattern di mutazioni evidenziate nelle famiglie con MEN2 non supporta il modello delle two-hit hypothesis⁶⁰. Nella MEN2A e 2B la predisposizione allo sviluppo di neoplasie è dato dall'ereditarietà di una mutazione che attiva l'oncogene *RET* (viceversa l'ereditarietà di una mutazione inattivante *RET* sarebbe responsabile di una piccola percentuale di megacolon agangliosi o malattia di Hirschsprung⁶¹). L'analisi molecolare del gene *RET* dev'essere condotta in tutti i pazienti a rischio di MEN2. Quando possibile la specifica mutazione verrà ricercata in primis in un membro affetto della famiglia. Tutti i bambini con mutazione positiva devono essere sottoposti a tiroidectomia profilattica^{62,63} e richiedono una sorveglianza a vita riguardo la possibilità di sviluppare feocromocitoma o patologia a carico delle paratiroidi.

Altri esempi di patologie e sindromi con modalità di trasmissione autosomica dominante e che comportano una predisposizione allo sviluppo di tumori sono le facomatosi.

A questo gruppo appartengono la Neurofibromatosi tipo 1 (NF1), la neurofibromatosi tipo 2 (NF2), la sclerosi tuberosa (TS), la malattia di von Hippel-Lindau (VHL) e la sindrome la nevus basal cell carcinoma sindrome (NBCCS).

La NF1 è una delle malattie genetiche più frequenti nella popolazione generale, con un'incidenza di 1:2500 nuovi nati⁶⁴.

I criteri diagnostici per la NF1 comprendono almeno 2 tra⁶⁵:

- Parente di 1° grado affetto (genitore, fratello, figlio)
- Almeno 6 macchie café au lait di diametro >1,5 cm. dopo la pubertà o <1,5 cm. prima della pubertà
- Lentiginosi ascellare o inguinale ("freckling")
- 2 neurofibromi o 1 neurofibroma plessiforme
- 1 glioma del nervo ottico

- 2 noduli di Lisch (amartomi dell'iride)
- 1 lesione ossea (displasia dell'ala dello sfenoide, assottigliamento della corticale delle ossa lunghe con o senza pseudoartrosi)

La caratteristica della NF1 è lo sviluppo di tumori benigni, tra cui neurofibromi, neurofibromi plessiformi, glomi della via ottica, altri glomi di basso grado e feocromocitoma. La più chiara associazione tra NF1 e neoplasie pediatriche si manifesta nell'aumento del rischio di glioma ottici e di "malignant peripheral nerve sheath tumors (PNST)" e altri sarcomi^{66,67,68}. Inoltre i bambini con NF1 hanno un aumentato rischio di numerosi disordini mieloproliferativi, comprendenti AML⁶⁹ (leucemia mieloide acuta), mielodisplasia e sindromi mieloproliferative^{70,71,72}.

Anche nella NF2 vi è un aumentato rischio di tumori, tuttavia tale patologia è più rara della NF1 e le manifestazioni cliniche si hanno soprattutto in età adulta. E' caratterizzata da macchi caffè-latte, schwannomi vestibolari bilaterali, neurofibromi centrali, meningiomi⁷³; la morbilità è alta a causa dei numerosi tumori che vengono a svilupparsi. Il gene *NF2* si trova sul cromosoma 22 e codifica per una proteina chiamata *merlina* o *schwannomina* che gioca un ruolo nell'architettura del citoscheletro⁷⁴.

La sclerosi tuberosa (TS) è caratterizzata dalla triade: crisi convulsive, ritardo mentale e angiofibromi facciali; vi è un'ampia gamma di variabilità intra ed inter-familiare, espressione di un disordine geneticamente eterogeneo^{75,76}. Sono finora stati identificati 2 geni: *TSC1*, sul cromosoma 9, codifica per una proteina chiamata *amartina*, la cui funzione non è ancora nota; *TSC2*, sul cromosoma 16, codifica per la *tuberina* che mostra attività Rag1-Gap^{77,78,79}. La TS è caratterizzata dalla crescita di tumori usualmente benigni in numerosi organi. La perdita di eterozigosi di *TSC1* e *TSC2* riscontrata in questi tumori, ha suggerito che entrambi i geni coinvolti abbiano attività di tumor suppressor gene^{80,81}.

La malattia di von Hippel-Lindau verrà trattata nel capitolo dedicato a carcinoma renale ed ereditarietà.

L'ultima facomatosi è la sindrome da carcinoma nevico basocellulare (Nevus Basal Cell Carcinoma Syndrome, NBCCS) o sindrome di Gorlin-Goltz: si tratta di una sindrome ereditata con modalità autosomica dominante caratterizzata da carcinomi delle cellule basali, cisti odontogeniche della mandibola, nevi basocellulari, ipercheratosi/fossette palmo-plantari, anomalie scheletriche (coste bifide⁸², quarto raggio metacarpale corto, modesto dismorfismo facciale), calcificazioni della falce cerebrale^{83,84}. L'elevata incidenza di medulloblastomi è una caratteristica significativa dei pazienti con NBCCS⁸⁵. Il gene responsabile di tale sindrome è *PTCH*: mutazioni di tale gene sono state riscontrate nella maggior parte delle

famiglie con NBCCS ed in una larga percentuale di carcinomi delle cellule basali sporadici, rendendolo uno dei geni più frequentemente mutato dei tumori umani⁸⁶.

Patologie autosomiche recessive

Le malattie genetiche autosomiche recessive sono generalmente più rare nella popolazione generale rispetto a quelle autosomiche dominanti; richiedendo la mutazione di due alleli, queste patologie occorrono normalmente nei consanguinei e non sono evidenti in tutte le generazioni. Tra i consanguinei c'è solo una probabilità su quattro che un figlio abbia la malattia. Per questa ragione un singolo individuo affetto in una piccola famiglia può sembrare un caso sporadico.

Generalmente il range di espressività nelle patologie autosomiche recessive è più limitato ed i sintomi spesso sono più severi rispetto alle patologie autosomiche dominanti. La maggior parte di queste patologie si manifestano in età infantile, proprio a causa della severità del quadro clinico.

Gran parte delle “autosomal recessive cancer syndromes” sono causate da mutazioni in geni che codificano per enzimi riparatori del DNA o “DNA damage checkpoint genes” e sono anche chiamate “chromosome breakage syndromes”. Questa deficienza risulta in un aumento della sensibilità a danni genetici sia spontanei che esogeni ed ad un aumento di specifici tipi di tumore. Un esempio classico di questo tipo di patologia è lo Xeroderma Pigmentosum, caratterizzato da vulnerabilità cutanea (fotosensibilità, teleangectasie, lentiginosi) ed oculare. I pazienti con tale patologia sviluppano carcinomi squamosi e carcinomi basocellulari ad un'età media di circa 8 anni, oltre a melanomi e neoplasie viscerali⁸⁷. A livello cellulare la sensibilità agli ultravioletti⁸⁸ è il risultato di difetti nei meccanismi di riparazione del DNA⁸⁹. Tale meccanismo è essenziale per la rottura dei dimeri di timina e altre strutture risultanti dal danno da ultravioletti. Patologie correlate allo Xeroderma Pigmentosum, con analoga modalità di trasmissione sono la tricotiodistrofia (capelli fragili, spesso associati a ritardo dello sviluppo e mentale, ittiosi congenita e displasia ungueale)⁹⁰ e la Cockayne Sindrome (poichilodermia, nanismo, ritardo mentale, retinite pigmentosa, cecità e sordità neurosensoriale)⁹¹.

Un altro gruppo di patologie a trasmissione autosomica recessiva è rappresentato dalle patologie della elicasi. La sindrome di Bloom (bassa statura, rash fotosensibile ed immunodeficienza) espone ad un alto rischio di sviluppo di neoplasie quali leucemie, linfomi, tumori solidi⁹². La sindrome di Werner (invecchiamento precoce, cataratta, diabete, aterosclerosi) è associata ad un elevato rischio di sarcomi delle parti molli⁹³, mentre la sindrome di Rothmund-Thomson (rash poikiloderma, displasie scheletriche, cataratta)

predisporre ad osteosarcoma e tumori cutanei⁹⁴. Tutte e tre queste patologie sono il risultato di mutazioni nei geni “RecQ helicase”, responsabili dell’instabilità cromosomica evidente in queste patologie⁹⁵.

Infine tra le patologie a trasmissione autosomica recessiva va ricordata la atassia-teleangectasia (AT), caratterizzata dalla comparsa di atassia truncale prima che alle estremità, già durante la prima infanzia⁹⁶, coreoatetosi, aprassia oculo-motoria e teleangectasie oculo-cutanee. In questi bambini vi è un’elevata incidenza di leucemie^{97,98} e linfomi; inoltre c’è un aumentato rischio di numerosi differenti tipi di tumori solidi, inclusi tumori del SNC⁹⁸.

Il gene mutato in questa malattia, chiamato *ATM* è localizzato sul cromosoma 11q22-q23 e codifica per una proteina con omologie con il prodotto di alcuni geni del lievito deputati al controllo delle fasi S e G2 del ciclo cellulare.

Normalmente non viene proposta una sorveglianza specifica dei pazienti con AT, viceversa la diagnosi di AT ha un impatto molto importante nei pazienti che sviluppano una neoplasia; infatti, visto il difetto nei meccanismi di riparazione del DNA, questi pazienti hanno un’aumentata sensibilità alla chemioterapia e alla radioterapia e necessitano di schemi terapeutici adattati ad hoc⁹⁹.

Numerosi studi¹⁰⁰ hanno suggerito che una percentuale variabile tra il 4 ed il 10% dei tumori pediatrici derivi da mutazioni genetiche ereditarie, rendendo così indispensabile da parte dei medici la conoscenza dei criteri clinici suggestivi delle family cancer syndromes. La maggior parte di queste sindromi possono essere sospettate già sulla base di un’accurata e dettagliata anamnesi familiare, con particolare attenzione alla presenza di tumori e alla loro età di esordio; infatti la maggior parte delle sindromi che predispongono ai tumori hanno un fenotipo riconoscibile che permette di gli individui a rischio.

3) I TUMORI RARI IN ETÀ PEDIATRICA E IL PROGETTO TREP

Il Progetto TREP (Tumori Rari in Età Pediatrica) nasce primariamente all'interno dell'AIEOP (Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica) e della SICP (Società Italiana di Chirurgia Pediatrica): nel 2000 è stato formato un comitato strategico di studio e di ricerca che oltre ad occuparsi di altri tumori sostanzialmente rari ma già considerati in protocolli di studio, come i tumori a cellule germinali (extra-cranici), i retinoblastomi, i tumori primitivi del fegato (epatoblastoma ed epatocarcinoma), affronta per la prima volta in Italia in modo prospettico la problematica dei tumori rari "propriamente detti".

Abbiamo convenuto di definire "tumori rari in età pediatrica" quelle neoplasie che hanno un'incidenza inferiore ai 2 casi/1.000.000 di bambini/anno e che non sono inclusi in protocolli di trattamento dell'Associazione Italiana di Emato-Oncologia Pediatrica (AIEOP).

Queste neoplasie comprendono una grande varietà di istotipi. Se considerate per singoli gruppi istologici queste forme non superano il 2% di tutte le neoplasie pediatriche. Si tratta di forme di inusuale osservazione, alcune rare ad ogni età, altre tipiche dell'adulto e rare nel bambino.

Il gruppo di lavoro TREP si è dedicato a questo insieme di neoplasie organizzandosi in un piano di lavoro denominato "Progetto TREP".

Per l'arruolamento dei casi raccolti in ambito nazionale sono stati posti i seguenti criteri di eleggibilità:

- Casi diagnosticati a partire dal 2000
- Età del paziente compresa tra 0 e 18 anni
- Diagnosi istologicamente documentata e confermata di neoplasia solida, maligna, rara. Tutte le diagnosi istologiche vanno riviste dagli anatomo-patologi del panel, ognuno dedicato alla revisione di uno o più istotipi.

Lo studio ha obiettivi primari e secondari.

Gli obiettivi primari sono:

- Registrare i bambini e gli adolescenti fino ai 18 anni affetti da neoplasia solida maligna rara in ambito nazionale
- Formulare delle "linee-guida" diagnostico-terapeutiche
- Valutare l'efficacia delle "linee-guida" stesse.

Gli obiettivi secondari sono:

- “Centralizzare” la diagnosi istologica per uniformare i criteri di valutazione e confrontare questi tumori con quelli degli adulti
- Raccogliere e conservare tessuto tumorale per studi di tipo biologico futuri
- Individuare un database e degli “esperti” in tumori rari che possano dare un servizio di consulenza
- Creare degli strumenti informativi sui tumori rari dell’età pediatrica
- Creare collaborazioni con altri paesi che si occupano dello stesso argomento.

Nel data base del Progetto TREP sono stati registrati tutti i casi di carcinoma renale, feocromocitoma e paraganglioma, oggetto di questa tesi.

4) CARCINOMA RENALE E MALATTIE EREDITARIE

INTRODUZIONE

Il carcinoma a cellule renali (Renal Cell Carcinoma, RCC) è una neoplasia maligna che prende origine dalle cellule epiteliali dei tubuli renali. Rappresenta il 2-3% di tutte le neoplasie degli adulti e raramente si manifesta nei bambini¹⁰¹. L'incidenza di questo tumore in età pediatrica è stimata variare tra lo 0.1% e lo 0.3% di tutte le neoplasie^{102,103} e tra l'1.8% e il 6.3% di tutti i tumori maligni del rene^{102,103,104,105}.

La prognosi del RCC in età pediatrica è buona negli stadi localizzati, ma, ancora oggi, sono controversi i risultati nei pazienti con interessamento linfonodale o con metastasi a distanza. In uno studio condotto su 84 bambini la sopravvivenza attuariale è stata del 60% a 2 anni e del 56% a 5 anni¹⁰⁶.

Il RCC pediatrico si osserva di solito in soggetti in terza infanzia, con un'età media osservata di 9 anni¹⁰⁷. Di converso, il tumore di Wilms è diagnosticato abitualmente in bambini di età inferiore ai 5 anni. Nei bambini non esiste una predilezione per il sesso maschile, come si verifica nell'adulto.

Nel paziente adulto il RCC si manifesta con la classica triade sintomatologica di dolore, ematuria, massa; nella maggior parte dei casi pediatrici è presente uno solo di questi sintomi. Raramente la massa addominale rappresenta il sintomo di esordio, diversamente da quanto avviene nel tumore di Wilms. I fenomeni paraneoplastici, comuni nell'adulto¹⁰⁸, così come le infezioni o le metastasi, sono di rado sintomi di esordio nei bambini.

La diagnosi differenziale si pone essenzialmente con il tumore di Wilms anche se la diversa età d'insorgenza (dai 9 anni in poi il RCC diventa la diagnosi più probabile), le dimensioni della massa all'imaging, la presenza di dolori addominali o al fianco, associati o meno ad ematuria macroscopica, possono orientare la diagnosi.

Questa neoplasia può percorrere tutte le vie di diffusione conosciute:

- *localmente* tende ad ingrandirsi invadendo progressivamente da un lato la pelvi renale e dall'altro la capsula renale, poi il grasso perirenale ed infine gli organi e le strutture vicinarie. Anche i tumori ben differenziati non possiedono una vera e propria capsula, ma hanno piuttosto una pseudocapsula composta dal parenchima circostante compresso e da tessuto fibroso reattivo.

- *per via linfatica* interessa sia i linfonodi dell'ilo renale che quelli paraaortici, fino ad arrivare, passando sotto i pilastri del diaframma, a quelli mediastinici e sovraclaveari. I linfonodi iliaci possono essere interessati soprattutto nei tumori del rene destro.

- la notevole tendenza a diffondere attraverso *la via ematica* è confermata dal frequente riscontro di trombosi neoplastica venosa. I trombi neoplastici iniziano nelle vene intrarenali e si estendono progressivamente alla vena renale, alla cava inferiore fino a raggiungere l'atrio destro.

L'interessamento metastatico a distanza coinvolge con maggior frequenza il polmone, i linfonodi mediastinici e le ossa. Altri possibili siti di metastasi, molto più rari, sono il fegato, il diaframma, la cute, la pleura, il SNC ed il midollo.

Si era soliti considerare il carcinoma del rene come una patologia singola, omogenea. Oggi sappiamo che vi sono numerosi tipi diversi di carcinoma del rene, differenti sul piano istologico e clinico, e causati da alterazioni genetiche distinte. Nell'adulto circa il 75% dei carcinomi renali sono a cellule chiare, il 15% è papillare (del quale esistono almeno 2 varianti, il tipo 1 e il tipo 2), il 5% cromofobo e il 5% oncocitoma. Il carcinoma dei dotti collettori e il carcinoma della midollare renale rappresentano meno dell'1% dei casi¹⁰⁹.

Le conoscenze in fatto di classificazione istopatologica, graduazione, stadiazione, storia naturale e prognosi dei RCC pediatrici sono in gran parte mutuare da studi su casistiche di adulti, e fino a pochi anni fa la classificazione dei carcinomi del rene pediatrici era praticamente sovrapponibile a quella dell'adulto.

Dal punto di vista istopatologico viene attualmente seguita la Classificazione WHO 2004¹¹⁰, che tiene conto di aspetti patologici e genetici.

WHO histological classification of tumours of the kidney

Renal cell tumours		Haemangiopericytoma	9150/1
Clear cell renal cell carcinoma	8310/3 ¹	Osteosarcoma	9180/3
Multilocular clear cell renal cell carcinoma	8310/3	Angiomyolipoma	8860/0
Papillary renal cell carcinoma	8260/3	Epithelioid angiomyolipoma	
Chromophobe renal cell carcinoma	8317/3	Leiomyoma	8890/0
Carcinoma of the collecting ducts of Bellini	8319/3	Haemangioma	9120/0
Renal medullary carcinoma	8319/3	Lymphangioma	9170/0
Xp11 translocation carcinomas		Juxtglomerular cell tumour	8361/0
Carcinoma associated with neuroblastoma		Renomedullary interstitial cell tumour	8966/0
Mucinous tubular and spindle cell carcinoma		Schwannoma	9560/0
Renal cell carcinoma, unclassified	8312/3	Solitary fibrous tumour	8815/0
Papillary adenoma	8260/0		
Oncocytoma	8290/0	Mixed mesenchymal and epithelial tumours	
		Cystic nephroma	8959/0
Metanephric tumours		Mixed epithelial and stromal tumour	
Metanephric adenoma	8325/0	Synovial sarcoma	9040/3
Metanephric adenofibroma	9013/0		
Metanephric stromal tumour	8935/1	Neuroendocrine tumours	
		Carcinoid	8240/3
Nephroblastic tumours		Neuroendocrine carcinoma	8246/3
Nephrogenic rests		Primitive neuroectodermal tumour	9364/3
Nephroblastoma	8960/3	Neuroblastoma	9500/3
Cystic partially differentiated nephroblastoma	8959/1	Phaeochromocytoma	8700/0
Mesenchymal tumours		Haematopoietic and lymphoid tumours	
Occurring Mainly in Children		Lymphoma	
Clear cell sarcoma	9044/3	Leukaemia	
Rhabdoid tumour	8963/3	Plasmacytoma	9731/3
Congenital mesoblastic nephroma	8960/1		
Ossifying renal tumour of infants	8967/0	Germ cell tumours	
		Teratoma	9080/1
Occurring Mainly in Adults		Choriocarcinoma	9100/3
Leiomyosarcoma (including renal vein)	8890/3		
Angiosarcoma	9120/3	Metastatic tumours	
Rhabdomyosarcoma	8900/3		
Malignant fibrous histiocytoma	8830/3		

¹ Morphology code of the International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O) (808) and the Systematized Nomenclature of Medicine (<http://snomed.org>). Behaviour is coded /0 for benign tumours, /3 for malignant tumours, and /1 for borderline or uncertain behaviour.

In età pediatrica vi è una diversa suddivisione degli istotipi: in un lavoro condotto su una popolazione di età ≤ 22 anni, i diversi istotipi sono stati: 22% papillare, 20% translocation carcinoma, 15% carcinoma a cellule chiare, 25% carcinoma renale inclassificato, ed altri istotipi poco rappresentati¹¹¹.

Rispetto all'adulto sono oggi note alcune importanti differenze:

- sono più frequenti le forme papillari
- è meno frequente la forma a cellule chiare (15% nei pz < 22 anni vs 70-80% nei pz adulti)¹⁴⁸
- può essere associato a nefroblastoma ed adenoma metanefrico¹¹²
- circa 1/3 dei carcinomi renali pediatrici appartiene alla categoria dei “translocation carcinoma”¹¹³

Vale la pena di spendere alcune parole su questa nuova realtà nosologica, inesistente fino a pochi anni fa; infatti negli ultimi anni sono emerse diversità a livello morfologico e genetico-

molecolare caratterizzanti un gruppo di carcinomi, denominati “carcinomi con translocazione Xp11.2^{114,115,116}” (translocation carcinoma), tipici dell’età infantile e del giovane adulto. Il nuovo istotipo è stato incluso per la prima volta nella Classificazione WHO del 2004¹¹⁰. Questi tumori sono definiti da numerose differenti traslocazioni che coinvolgono il cromosoma Xp11.2, tutte risultanti in un gene di fusione coinvolgente il gene TFE3¹¹⁵. Colpiscono prevalentemente bambini e giovani adulti: meno del 3% dei pazienti ha tra i 18 e i 45 anni ed è infrequente sopra i 45¹¹⁷. Il comportamento clinico è piuttosto favorevole anche se quelli con gene di fusione ASPL-TFE3 si presentano spesso in stadi avanzati. Dal punto di vista morfologico questi tumori hanno somiglianze sia con il carcinoma renale a cellule chiare che con il carcinoma renale papillare e spesso sono da questi indistinguibili¹¹⁸; l’immunoistochimica sottolinea la presenza nucleare sregolata ed iperespressa di proteina TFE3; TFE3 è un membro della famiglia dei fattori di trascrizione “basic-helix-loop-helix” e le proteine di fusione tradotte dai geni coinvolgenti il TFE3 possono funzionare come fattori di trascrizione aberranti^{119,120}.

Ai carcinomi a cellule renali si applica la gradazione di Fuhrman¹²¹ e la stadiazione di Robson¹²².

Grading citologico secondo Furhman

<i>Grading</i>	<i>Grandezza nucleo</i>	<i>Aspetto nucleo</i>	<i>Nucleoli</i>
1	10 µm	uniforme	assenti
2	15 µm	irregolare	presenti
3	20 µm	irregolare	grandi
4	20 µm	multilobulato	grandi

Stadiazione secondo Robson-modificata

Stadio 1	Tumore confinato al rene senza coinvolgimento del grasso perirenale
Stadio 2	Tumore confinato al rene con estensione al grasso perirenale ma confinato entro la capsula di Gerota
Stadio 3A	Tumore localizzato ma con coinvolgimento vascolare (vena renale o vena cava inferiore)
Stadio 3B	Tumore localizzato ma con metastasi ai linfonodi regionali
Stadio 4	Presenza di metastasi a distanza

Il fattore prognostico più importante nel carcinoma a cellule renali è lo stadio, seguito dal grado.

La Classificazione TNM dei Tumori Maligni più recente è la 6° Edizione del 2002, che prevede un cut-off di 7 cm fra pT1 e pT2, anche se la misura prognosticamente più valida sia in realtà 4 cm. Nel caso dei carcinomi a cellule renali pediatrici la classificazione TNM non viene considerata ai fini del trattamento. Per fini di studio devono comunque essere riportati nella diagnosi istopatologica tutti i parametri che consentono di effettuare una corretta classificazione TNM, che verrà paragonata alla Classificazione di Robson.

Il trattamento, considerata la rarità di tale neoplasia, non è ancora ben codificato. La chirurgia rappresenta sicuramente la terapia di elezione. Meno chiaro è il ruolo della radioterapia o dei modificatori della risposta biologica, mentre la chemioterapia ha mostrato una minima attività.

La resezione completa della neoplasia al momento dell'intervento chirurgico iniziale, rappresenta l'evenienza più favorevole sotto il profilo prognostico. Pertanto la nefrectomia radicale, cioè l'asportazione in unico blocco del rene, del grasso perirenale e del surrene omolaterale (nefrectomia extrafasciale) rappresenta sicuramente il trattamento di elezione in tutti i casi di RCC.

Resta dibattuto il ruolo della linfoadenectomia profilattica^{123,124}; è opportuno eseguire sempre una campionatura bioptica dei linfonodi regionali anche se macroscopicamente normali e l'asportazione di tutti quelli ingrossati. La nefrectomia con linfoadenectomia regionale è

imperativa in tutti i casi nei quali l'imaging pre-chirurgico evidenzi un coinvolgimento linfonodale o una biopsia linfonodale estemporanea confermi un'infiltrazione locale¹²⁵.

Analogamente, anche la possibilità di eseguire una nefrectomia parziale resta al momento da limitarsi a casi selezionati^{126,127,128,129}: pazienti con rene unico o con tumore bilaterale al fine di evitare il successivo trattamento dialitico cronico

La chirurgia, infine, riveste un ruolo importante nel trattamento delle metastasi uniche o comunque confinate ad un singolo organo o apparato¹³⁰.

Il RCC è considerato un tumore chemioresistente, con tassi di risposta per i singoli chemioterapici che varano dal 4 al 6%. Il ruolo della radioterapia post-operatoria non è ancora ben chiaro. In uno dei pochi studi condotti in età pediatrica tale trattamento è sembrato essere efficace nei pazienti con coinvolgimento linfonodale alla diagnosi: 5/6 vivi, senza malattia a 5 anni¹³¹.

Nell'adulto il ruolo della radioterapia nel trattamento del carcinoma renale è praticamente limitato alla terapia palliativa delle metastasi ossee e di quelle cerebrali. Alcuni autori utilizzano la radioterapia postoperatoria, sulla loggia renale, nell'intento di prevenire o diminuire l'incidenza delle recidive locali. Non esiste però alcuno studio recente che confermi, anche nei pazienti con malattia avanzata, l'efficacia di questo trattamento.

Diversi trials hanno dimostrato l'attività dei modificatori della risposta biologica nel RCC avanzato dell'adulto: l'Interferone α (IFN α)¹³² e l'Interleukina 2 (IL2) a dosi elevate¹³³ sono stati utilizzati singolarmente o in associazione¹³⁴. Poco può essere detto per l'età pediatrica, considerato il limitato numero di pazienti trattati. L'attività degli immunomodulatori contro il RCC ha portato alcuni ricercatori ad utilizzare il trapianto di midollo allogenico da familiare compatibile nella speranza di promuovere una graft versus tumor^{135,136,137,138}; risultati al momento paiono incoraggianti.

Per alcuni istotipi di RCC è stato dimostrato che alcune alterazioni genetiche sono responsabili di un'iperespressione dei fattori di crescita vascolare endoteliale (VEGF) e di derivazione piastrinica (PDGF). Tali fattori di crescita promuovrebbero l'angiogenesi tumorale contribuendo alla ipervascolarizzazione dei RCC. In rapporto a tale considerazione l'impiego di inibitori di tali fattori di crescita sembra ostacolare la progressione tumorale. Sono già diversi gli studi riportati nell'adulto relativamente all'impiego di tali farmaci nei RCC avanzati e tra essi il Sunitinib¹³⁹ ed il Sorafenib¹⁴⁰ sembrano aver mostrato una maggiore efficacia¹⁴¹. Non sono al momento disponibili ampie casistiche riguardanti l'età pediatrica.

LA GENETICA DEL RCC

Così come per il cancro del colon, della prostata e della mammella, il carcinoma del rene può manifestarsi sia in forma sporadica che ereditaria. Lo studio delle forme ereditarie di carcinoma renale è stato d'aiuto nell'identificazione delle anomalie genetiche alla base delle corrispettive forme sporadiche. Linehan et al.¹⁰⁹ hanno identificato 4 forme ereditarie principali:

- la sindrome di Von Hippel-Lindau è la forma ereditaria di carcinoma renale a cellule chiare
- il carcinoma papillare renale ereditario (hereditary papillary renal carcinoma HPRC) è la forma ereditaria di carcinoma papillare tipo 1
- la sindrome Birt-Hogg-Dubé (BHD) è la forma ereditaria di carcinoma cromofobo ed oncocitoma
- la leiomiomatosi familiare e carcinoma renale (Hereditary Leiomyomatosis renal cell carcinoma HLRCC) è la forma ereditaria di ca. papillare tipo 2.

Da un esame accurato della letteratura, si riscontrano almeno una decina di familial renal cancer syndromes¹⁴², come riportato nella seguente tabella:

SINDROME	EREDITARIETA'	LOCUS	GENE	PROTEINA	CLINICA	ISTOLOGIA
Von Hippel-Lindau	AD	3p25-26	VHL	Proteina VHL	Emangioblastomi del SNC, emangioblastomi retinici, ca. renale o cisti renali, feocromocitoma, cisti o t. neuroendocrini pancreatici, t. del sacco endolinfatico	Ca. a cells chiare
Ca. renale papillare ereditario	AD	7q31	MET	Recettore dell'hepatocyte growth factor	Ca. renali papillari multifocali, bilaterali	Ca papillare tipo 1
Leiomiomatosi familiare e ca. renale	AD	1q42.3-43	HLRC C	Fumarato idratasi	Leiomiomi cutanei multipli, leiomiomi uterini, ca. renale	Ca. papillare
Birt-Hogg-Dubé	AD	17p11.2	FLCN (BHD)	Follicolina	Fibrofollicolomi tricodiscomi e acrocordoni cutanei, cisti polmonari e PNX spontaneo, t. renali bilat e multifocali	T. oncocotico ibrido Ca. a cells cromofobe Oncocitoma, Ca. a cells chiare
Traslocazione costituzionale del Cr. 3	?	Vari	vari	?	Ca. renali multipli bilaterali	Ca. a cells chiare
Iperparatiroidismo-t. della mandibola	AD	1q25-32	HRPT2	Parafibromina	Iperparatiroidismo, t. della mandibola	Ca. papillare Wilms
Beckwith-Wiedemann	variabile	11p15	vari	varie	Macroglossia, macrosomia o iperaccrescimento, difetti della parete addominale, organomegalia	
Cowden	AD	10q23.2	PTEN	fosfatasi	Amartoma multipli a livello di cute, mammella, tiroide, tubo digerente, endometrio, cervello, t. maligni (mammella, endometrio, cute).	
Ca. renale a cell. Chiare familiare non sindromico	AD	?	?	?	Ca. renale a cellule chiare unilaterale, ad esordio precoce, senza manifestazioni extra-renali.	Ca. a cells chiare
Sclerosi tuberosa	AD	9q34 16p13.3	TSC1 TSC2	Amartina Tuberina	Epilessia (tuberi), lesioni cutanee (macule ipopigmentatae, angiofibromi, placche), amartomi retinici, rabdomiomi cardiaci	Angiomiolipomi Cisti Carcinoma (aumentato rischio)

La **malattia di von Hippel-Lindau** è un'affezione ereditaria a trasmissione autosomica dominante, la cui penetranza è completa all'età di 60 anni. E' rara ma non eccezionale; l'incidenza è di almeno un nuovo caso ogni 36.000 nascite.

La diagnosi si basa su alcuni criteri maggiori:

- Emangioblastomi del nevrasso (cervelletto e midollo spinale essenzialmente)
- Emangioblastomi della retina
- Carcinoma renale a cellule chiare o cisti renali
- Feocromocitoma
- Cisti o tumori neuroendocrini pancreatici
- Tumori del sacco endolinfatico

La diagnosi clinica si pone in presenza di due lesioni maggiori (di cui un'emangioblastoma) in assenza di antecedenti familiari, oppure di una sola lesione in presenza di antecedenti familiari.

Due grandi tipi clinici si distinguono in base all'assenza (tipo 1) o alla presenza (tipo 2) di feocromocitoma. Il tipo 2 è lui stesso diviso in 3 sottotipi: tipo 2A (basso rischio di carcinoma renale), tipo 2B (elevato rischio di carcinoma renale) e tipo 2C (presenza esclusiva di feocromocitoma). Non è ancora completamente chiaro se quest'ultimo gruppo comprenda casi in cui l'insorgenza di altre manifestazioni caratteristiche della sindrome debba ancora avvenire. Due lesioni minori vanno ricordate: i cistoadenomi dell'epididimo (frequenti) e il loro equivalente nella femmina, i cistoadenomi del legamento largo (eccezionali). Per quanto riguarda la diagnosi differenziale, è impossibile confonderla con altre facomatosi in quanto manca l'interessamento cutaneo. Va quindi indirizzata essenzialmente dalle forme sporadiche dei tumori osservati durante la malattia che devono sistematicamente farla ricercare, soprattutto se compaiono nel giovane o se sono multipli.

I sintomi compaiono di solito tra i 15 e i 30 anni. Questa malattia è potenzialmente grave in assenza di trattamento in quanto può determinare: cecità (danno retinico), ipertensione endocranica, sindrome cerebellare, danno midollare, poussées ipertensive parossistiche (feocromocitoma), sordità. Il carcinoma del rene è attualmente la principale causa di decesso.

La sorveglianza delle differenti lesioni si basa sulla RMN (emangioblastomi del nevrasso, tumori del sacco endolinfatico), esame del fondo dell'occhio o angiografia (emangioblastomi della retina), ecografia e TAC addome (carcinoma renale a cellule chiare o cisti renali, feocromocitoma, cisti o tumori neuroendocrini pancreatici), dosaggio delle catecolamine urinarie.

Il trattamento è chirurgico nella maggior parte dei casi (emangioblastomi del nevrasso, tumori del sacco endolinfatico, carcinoma renale, feocromocitoma, tumori neuroendocrini pancreatici).

Il gene-malattia è stato clonato, per cui è possibile individuare le persone a rischio, proponendo loro un'attenta sorveglianza delle eventuali lesioni tumorali. In particolare per i carcinomi renali, una nefrectomia parziale andrà tentata ogni qual volta possibile per evitare o ritardare il ricorso alla dialisi.

La VHL è una malattia a trasmissione autosomica dominante, causata (come classicamente nelle patologie neoplastiche familiari) da alterazioni di un gene oncosoppressore o Tumour Suppressor Gene (TSG): si tratta del gene *VHL*, situato in 3p25-26. Questa sindrome richiede una seconda mutazione a livello somatico per manifestarsi clinicamente, secondo il “modello dei due hit” di Knudson⁴⁰; la malattia, la cui penetranza è virtualmente completa entro i 60 anni, ha infatti un'insorgenza età-dipendente e si manifesta tipicamente nella seconda decade di vita, essendo tuttavia possibili manifestazioni più precoci, prevalentemente lesioni angiomatose a carico della retina o feocromocitomi.

La proteina VHL normale (pVHL) gioca un ruolo fondamentale nella regolazione dell'angiogenesi. Quando il gene *VHL* è mutato, l'assenza di degradazione dell'HIF- α (hypoxia inducing factor – alpha) ha come conseguenza principale una produzione anormale di VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) all'origine della proliferazione vascolare caratteristica degli emangioblastomi. La proteina VHL inibisce anche la produzione di TGF- α (transforming growth factor- α) la cui superespressione sarebbe all'origine della tumorigenesi renale, e la produzione delle anidrasi carboniche CA9 e CA12 che contribuirebbero alla crescita e alla disseminazione tumorale. Tale proteina favorisce inoltre l'uscita dal ciclo cellulare e il passaggio in fase G0 di riposo. Infine pVHL gioca un ruolo nell'assemblaggio della fibronectina extracellulare. Mutazioni somatiche del gene *VHL* o ipermetilazioni del suo promotore sono state messe in evidenza nella maggior parte dei carcinomi renali a cellule chiare sporadici così come negli emangiomi del nevrasso sporadici.

I tumori renali in VHL sono uniformemente a cellule chiare e si manifestano nel 35%-45% dei pazienti con VHL¹⁴³.

L'associazione tra RCC e malattia di von Hippel Lindau, anche se rara in età pediatrica, sembra determinare una prognosi più favorevole¹⁴⁴. La percentuale di pazienti con malattia di von Hippel-Lindau in un gruppo di carcinomi renali sporadici (tutti gli istotipi) è circa l'1,6%¹⁴⁴.

Nel contesto della malattia di Von Hippel-Lindau il carcinoma a cellule chiare si manifesta ad un'età più giovane del solito e frequentemente è multiplo e bilaterale. Il *VHL* tumor suppressor gene non è mutato solo nei pazienti con l'omonima sindrome, ma è strettamente coinvolto anche nell'iniziazione dei carcinomi renali a cellule chiare sporadici degli adulti^{145,146}. Numerosi studi hanno evidenziato che delezioni di VHL sono coinvolte nella maggior parte dei carcinomi a cellule chiare sporadici^{147,148,149,150}, mentre nella parte restante sono coinvolte altri tipi di mutazioni^{151,152,153,154}.

In letteratura è stato finora pubblicato un unico caso di associazione di una mutazione germinale del gene VHL con un carcinoma renale del tipo translocation carcinoma¹⁵⁵: si tratta di un bambino di 3 anni al quale viene diagnosticato un carcinoma renale del tipo translocation carcinoma e nel quale viene riscontrata una mutazione germinale del gene VHL, già descritta nella malattia di Von Hippel-Lindau tipo 2C, ovvero associata a feocromocitoma. Non è noto quale possa essere il contributo relativo di ognuna delle aberrazioni molecolari, tuttavia gli autori ritengono che la mutazione del gene VHL possa spiegare la l'inusuale giovane età del paziente.

Il **carcinoma renale papillare ereditario** è caratterizzato dalla predisposizione a multipli, bilaterali tumori renali papillari tipo 1, ed è causata da una mutazione ereditaria missense che attiva in maniera costitutiva il dominio tirosin-kinasi del proto-oncogene MET¹⁵⁶.

Questo gene codifica per un recettore transmembrana ad attività tirosin-kinasica che lega l'HGF (hepatocyte growth factor). L'interazione MET-HGF è coinvolto nella modulazione di numerosi processi biologici che includono lo sviluppo embrionale, la crescita e la differenziazione cellulare. Tale interazione è inoltre coinvolta nella oncogenesi. Gli individui con tale mutazione sono a rischio di tumori renali multifocali e bilaterali, in età precoce (seconda decade).

La **leiomiomatosi familiare**¹⁵⁷ consiste nella presenza di leiomiomi cutanei multipli in diversi soggetti della stessa famiglia. I leiomiomi sono neoplasie benigne dei tessuti molli che originano dalla muscolatura liscia, in particolare dal muscolo erettore del pelo. Questa rara sindrome si trasmette di solito con modalità autosomica dominante e può associarsi a tumori in altri organi.

Il gene-malattia mappa sul cromosoma 1q42.3-43¹⁵⁸ e codifica per l'enzima mitocondriale fumarato-idratasi (FH), coinvolto nel ciclo di Krebs e che catalizza la conversione di fumarato in malato. Si ritiene che questo gene funzioni come un tumor suppressor gene in quanto la sua

attività è significativamente soppressa negli individui affetti. L'esatto meccanismo di tumorigenesi rimane poco chiaro: l'accumulo di fumarato condurrebbe ad un aumento di fattori inducenti l'ipossia che a loro volta determinerebbero un aumento dell'espressione di geni antiapoptotici¹⁵⁹.

Le lesioni cutanee usualmente compaiono durante la seconda decade; la sede più comune è l'arto superiore, ma possono essere anche interessate le estremità inferiori, il tronco e il viso. Ogni singola lesione si manifesta come un nodulo, a forma di pisello, dermico, di colore carne, che può essere doloroso al tatto e alla pressione. Il numero dei tumori aumenta gradualmente negli anni; inizialmente possono essere misconosciuti o scambiati con cicatrici dell'acne volgare.

Le patologie più comuni presenti negli organi viscerali sono i leiomiomi uterini e il carcinoma renale.

I leiomiomi uterini compaiono solitamente attorno alla quarta decade, anche se sono descritti esordi più precoci già nella seconda decade. Raramente sono stati descritti leiomiosarcomi, ad esordio anche precoce^{160, 161}.

Il secondo tumore viscerale associato a tale sindrome è il carcinoma renale, in particolare la sua variante papillare tipo 2¹⁶¹. Tale lesione si manifesta in una minoranza degli individui affetti; tuttavia l'esordio è spesso precoce (3° decade), il tumore è aggressivo e sono frequenti metastasi alla diagnosi.

La diagnosi di leiomiomatosi viene facilmente confermata dall'esame microscopico condotto su biopsia di un nodulo cutaneo.

Dal punto di vista terapeutico, i noduli cutanei inestetici o dolorosi possono essere rimossi, anche se è possibile la recidiva¹⁵⁸. Un attento è regolare follow-up dev'essere messo in atto nei confronti delle possibili lesioni uterine o renali. In particolare la precoce identificazione del carcinoma renale dev'essere attuata tramite controlli TAC o RMN dell'addome e della pelvi annui, oltre alla valutazione genetica dei giovani pazienti con manifestazioni cutanee e RCC^{162, 163}.

Le caratteristiche cliniche della **sindrome di Birt-Hogg-Dubé (BHD)** includono manifestazioni cutanee (fibrofollicolomi, tricodiscomi e acrocordoni), cisti polmonari o pneumotorace, vari tipi di tumori renali. La severità della malattia può variare significativamente. Le lesioni cutanee appaiono tipicamente durante la terza o quarta decade di vita ed aumentano in dimensioni e numero con l'età. Le cisti polmonari sono soprattutto bilaterali e multifocali; la maggior parte degli individui sono asintomatici ma hanno un

elevato rischio di pneumotorace spontaneo. Circa il 15-29%^{164,165} degli individui con la sindrome BHD hanno tumori renali: si tratta di neoplasie multifocali, bilaterali e, di solito, a lenta crescita. L'età media di diagnosi di tumore è 48 anni. I tumori renali più comuni sono il tumore oncocitico ibrido (67%), il carcinoma a cellule cromofobe (23%), l'oncocitoma (3%), il carcinoma renale a cellule chiare e quello papillare. Le manifestazioni cutanee possono mancare.

La malattia si trasmette con modalità autosomica dominante. L'unico gene noto responsabile della sindrome è il FLCN (BHD), il cui locus cromosomico è 17p11.2 e che codifica per la follicolina. La mutazione a carico del gene FLCN comporta perdita di funzione della follicolina.

Un sottogruppo di pazienti con carcinoma renale a cellule chiare è portatore una **traslocazione costituzionale del cromosoma 3**.

Nove differenti traslocazioni del cromosoma 3 sono state associate con un'aumentata suscettibilità al carcinoma renale. In 7 casi le traslocazioni t(1;3)(q32;q13), t(2;3)(q33;q21), t(2;3)(q35;q21); t(3;4)(p13;p16), t(3;6)(q12;q15), t(3;8)(p13;q24) e t(3;8)(p14.1;q24.23) sono state associate a carcinoma renale familiare a cellule chiare e in due casi, individui con una traslocazione familiare t(3;6)(p13;q25.1) e t(3;6)(q23;q16.2) hanno sviluppato carcinomi renali a cellule chiare multicentrici.

L'inattivazione del gene HRPT2¹⁶⁶ è stato recentemente identificato come responsabile della sindrome **iperparatiroidismo - tumore della mandibola**¹⁶⁷; si tratta di una sindrome rara a trasmissione autosomica dominante, caratterizzata da una predisposizione allo sviluppo di adenomi paratiroidi (con iperparatiroidismo), fibromi ossificanti localizzati soprattutto a livello di mandibola e mascella e varie lesioni renali sia cistiche che neoplastiche (tumori misti epiteliali-stromali¹⁶⁸, carcinoma renale papillare, tumore di Wilms^{169,170}, adenomi renali multipli¹⁷¹). Il gene HRPT2 è situato sul cromosoma 1q25-q32 e codifica per la parafibromina, una proteina nucleare componente del Paf 1 complex (fattore associato alla RNAPolimerasi II umana) implicato nel processo di trascrizione, allungamento e processing dell'RNA. Mutazioni a livello di tale gene sono implicati in un'anormale proliferazione cellulare. Uno studio recente¹⁶⁷ ha evidenziato come le mutazioni somatiche di HRPT2 siano rare nei tumori renali, a differenza di quanto avviene nei carcinomi delle paratiroidi, tuttavia un'"allele imbalance" è evidenziabile in differenti sottotipi di tumori renali sporadici.

L'inattivazione dell'HRPT2 tramite mutazione e perdita dell'eterozigosi potrebbe essere un evento critico nella tumorigenesi renale.

La **sindrome di Beckwith-Wiedemann** (SBW)¹⁷² è una malattia da iperaccrescimento, caratterizzata da macrosomia, macroglossia, organomegalia e anomalie dello sviluppo (in particolare difetti della parete addominale associati ad onfalocele). Il 7.5-10% dei pazienti affetti sviluppa un tumore, soprattutto nei primi 6 anni di età: il tumore di Wilms è il più rappresentato (60%) ma altri istotipi sono possibili (neuroblastoma, carcinoma corticosurrenalico, epatoblastoma, rhabdomyosarcoma, gonadoblastoma, carcinoma renale¹⁷³). L'incidenza stimata della SBW è di 1/13.700 nati vivi¹⁷⁴; si tratta di una patologia poligenica causata da disregolazione dell'espressione dei geni presenti nella regione cromosomica 11p15, regione soggetta a imprinting. Questa regione comprende geni che codificano per fattori di crescita e geni oncosoppressori. La gestione del soggetto affetto da SBW comprende il trattamento chirurgico dell'onfalocele e il monitoraggio dell'ipoglicemia nel periodo neonatale, il trattamento della macroglossia e gli esami di screening per neoplasia, in particolare per il tumore embrionale¹⁷⁵.

La **sindrome di Cowden**¹⁷⁶ è una malattia caratterizzata da amartomi multipli a livello di cute, mammella, tiroide, tubo digerente, endometrio, cervello e da un elevato rischio di tumori maligni (mammella, endometrio e tiroide). La cute è interessata nel 90-100% dei casi (trichilemmomi, papillomatosi della mucosa orale, cheratosi alle estremità e palmo-plantare). La grande variabilità dell'espressione della malattia e il carattere spesso poco specifico delle lesioni osservate rendono la diagnosi di questa malattia relativamente difficile. La prevalenza non è nota, ma è stimata in 1/200.000. La presa in carico della malattia mira principalmente alla diagnosi precoce dei tumori maligni; infatti il tumore della mammella colpisce circa il 30% delle donne con malattia di Cowden e quello della tiroide circa il 15% di tutti i pazienti con questa malattia¹⁷⁷.

La trasmissione è di tipo autosomico dominante, con espressività variabile e penetranza non nota ma che sembra essere molto elevata dopo i 20 anni; è dovuta ad una mutazione nel gene PTEN (Phosphatase on chromosome TEN and homologue to TENSine) nel locus 10q23.2¹⁷⁸. L'identificazione del gene responsabile di questa malattia ha permesso di avvicinarla ad una sindrome pediatrica rara, nota con il nome di sindrome Bannayan, Riley, Ruvalcaba (BRR)¹⁷⁹, caratterizzata da macrocefalia, lipomi multipli, polipi amartomatosi intestinali, malformazioni vascolari e iperpigmentazione genitale. La comunanza fenotipica e l'evidenza della stessa

mutazione germinale ha permesso di considerare la sindrome BRR come una forma pediatrica della malattia di Cowden.

La **sclerosi tuberosa** (ST) è una malattia ereditaria autosomica dominante con un'incidenza di 1/10.000 nati. La prevalenza nella popolazione generale europea è stata stimata in 8,8/100.000. Questa malattia è caratterizzata da crisi epilettiche, ritardo mentale e tumori benigni a carico di cervello, cuore, cute e rene. Sono stati identificati due loci principali: uno in 9q34 (TSC1), l'altro in 16p13 (TSC2). Entrambi i geni sono oncosoppressori. Il gene TSC1 codifica per la amartina, mentre TSC2 codifica per la tuberina; queste due proteine insieme formano un dimero che regola un passaggio chiave nel processo di trasmissione del segnale intracellulare. Oltre metà dei casi sono sporadici (mutazioni spontanee). La penetranza raggiunge il 95% e l'espressività varia ampiamente anche all'interno di una stessa famiglia. In età adulta il 95% dei pazienti presenta lesioni molto evocative: angiofibromi facciali, tumori di Koenen, placche fibrose sulla fronte e sul cuoio capelluto, angiomiolipomi renali, noduli subependimali o tuberi corticali multipli, amartoma retinico. I sintomi possono essere molto sfumati durante l'infanzia. L'epilessia, spesso generalizzata, è comune (60% dei casi) e difficile da controllare. Il ritardo mentale è presente in oltre il 50% dei casi. L'accuratezza della diagnosi è essenziale per riconoscere e trattare le lesioni sintomatiche (lesioni neurologiche, renali, cardiache e, a volte, polmonari), che costituiscono le principali cause di morte nei pazienti, tuttavia la consulenza genetica è difficile data la grande variabilità fenotipica. Nei pazienti con ST, si riscontra anche un'aumentata incidenza di tumori maligni, in particolare RCC e angiomiolipomi maligni¹⁸⁰.

SCOPO DEL LAVORO

Lo scopo di questo lavoro consiste nell'approfondire lo studio delle basi genetiche dei tumori rari in età pediatrica, ricercando le possibili sindromi associate a RCC. In particolare si è voluto determinare la prevalenza della malattia di von Hippel-Lindau nei pazienti con carcinoma renale pediatrico (ed in particolare nei carcinomi renali a cellule chiare e nei translocation carcinoma) dato non ancora presente in letteratura e che va ridefinito alla luce della recente classificazione dei carcinomi renali WHO 2004¹¹⁰.

MATERIALI E METODI

Abbiamo selezionato, in modo retrospettivo e prospettico, tutti i pazienti con RCC registrati nel Progetto TREP con diagnosi tra gennaio 2000 e maggio 2009. I criteri di inclusione per l'arruolamento erano:

- età alla diagnosi < 18 anni
- diagnosi istologicamente confermata
- paziente vivo, con o senza malattia, al momento dello svolgimento di questo studio.

La diagnosi è stata rivista dal Patologo di riferimento in base alla classificazione WHO recentemente modificata¹¹⁰. I pazienti sono stati ricontattati dal Centro presso i quali sono seguiti. Il medico ha quindi interrogato la famiglia del paziente compilando una scheda anamnestica disegnata ad hoc (vedi APPENDICE). La scheda anamnestica ha lo scopo di approfondire la consueta anamnesi clinica, ponendo al paziente domande specifiche riguardo alla presenza o all'assenza nella sua famiglia di determinate manifestazioni cliniche; è stata costruita in base ai principali criteri diagnostici delle varie sindromi indagate, tenendo conto comunque della semplicità di compilazione e della breve durata di somministrazione (1-2 minuti).

I pazienti sono poi stati sottoposti (previo consenso informato) a prelievo di 2 campioni di sangue per la ricerca delle mutazioni germinali del gene VHL. I campioni sono quindi stati inviati presso il Laboratorio di riferimento Diagnostica Molecolare VHL del Dipartimento di Pediatria Salus Pueri di Padova (Responsabile dott.ssa Murgia). Il DNA genomico ad alto peso molecolare è stato estratto da leucociti di sangue periferico secondo protocollo standard. L'analisi delle mutazioni del gene VHL per l'identificazione di mutazioni puntiformi o di piccola taglia è stata condotta sull'intera sequenza codificante e sulle zone di giunzione introne-esone attraverso amplificazione in PCR, DHPLC e sequenziamento diretto.

La PCR Real Time quantitativa è stata utilizzata su frammenti di DNA genomico rappresentanti ogni esone del gene VHL per identificare delezioni di parti o dell'intero gene¹⁸¹.

RISULTATI

Dei 37 pazienti registrati nel progetto TREP 32 sono risultati eligibili a questo studio in quanto 5 erano deceduti in precedenza. Dal punto di vista demografico si tratta di 17 maschi e 15 femmine. La mediana dell'età alla diagnosi è di 10,5 anni con un range variabile tra 9,9 mesi e 17,7 anni.

Per quanto riguarda le malformazioni associate un paziente presentava ipospadia, uno un rene grinzoso-displastico e uno un DIV (difetto interventricolare) corretto chirurgicamente; inoltre un paziente aveva presentato un emangioendotelioma kaposiforme addominale trattato con INF.

Il rene affetto è stato il sinistro in 20 casi e il destro in 12. Non vi sono stati pazienti con tumore bilaterale, ma uno dei pazienti con tumore a destra ha sviluppato un carcinoma nel rene controlaterale 7 anni dopo la prima diagnosi.

In 23 casi i preparati istologici sono stati centralizzati e rivisti da patologo dedicato.

Per quanto riguarda l'istologia abbiamo riscontrato:

- 13 Translocation carcinoma
- 8 carcinomi papillari (3 tipo 1, 2 tipo 2, 3 non specificato)
- 8 carcinomi a cellule chiare
- 3 altro: 1 carcinoma a cellule cromofobe
2 carcinomi a cellule renali inclassificato

Relativamente allo stadio e allo stato dei pazienti, con un follow up mediano per i pazienti vivi di 3,4 anni (range 2,8 mesi-9.3 anni).

- 17 pz. STADIO 1: tutti in 1°RC (Remissione Completa)
- 5 pz. STADIO 2: 3 in 1°RC, 1 in 2°RC (ha inoltre sviluppato una leucemia da cui è attualmente guarita), per uno manca il dato.
- 7 pz. STADIO 3B (coinvolgimento linfonodi loco-regionali): tutti in 1°RC
- 2 pz. STADIO 4: 1 deceduto per malattia, 1 vivo in progressione
- Per un paziente manca il dato relativo allo stadio: è in 1°RC.

Sono stati sottoposti a ricerca della malattia VHL 6 dei 13 translocation CR, 4 degli 8 CR a cellule chiare, 2 dei 8 CR papillari, 1 dei restanti 3 carcinomi ad istologia varia (si tratta di un carcinoma a cellule renali inclassificato a basso grado in adenoma metanefrico). In tutti i casi la ricerca della malattia VHL è risultata negativa, così come la ricerca tramite questionario di

altre forme ereditarie di carcinoma renale (condotta in 11 pazienti). Tali risultati sono riassunti nella tabella:

ISTOTIPO (revisione in 23/32)	N (32)	VHL (13)	ESITO	SCHEDA (11)	ESITO
TRANSLOCATION CA	13	6	NEG	5	NEG
CA. PAPPILLARE	8	2	NEG	2	NEG
CELL. CHIARE	8	4	NEG	3	NEG
MISCELLANEA	3	1	NEG	1	NEG

DISCUSSIONE

Il RCC è solitamente considerato un tumore sporadico; tuttavia esso può presentarsi anche come parte del quadro clinico di una family cancer syndrome.

Sono state individuate numerose patologie ereditarie che possono associarsi al carcinoma renale: malattia di Von Hippel-Lindau, leiomiomatosi familiare e tumore della mandibola, Birth-Hogg-Dubè, traslocazione costituzionale del cromosoma 3, iperparatiroidismo-tumore della mandibola, Beckwith-Wiedemann, Cowden, carcinoma renale a cellule chiare familiare non sindromico, sclerosi tuberosa.

Esempio classico è il RCC a cellule chiare, possibile manifestazione clinica della malattia di Von Hippel-Lindau (VHL)^{182,183,184,185}, malattia monogenica autosomica dominante, dovuta a mutazione del gene *VHL*, che causa tumori (benigni o maligni) e cisti a carico di numerosi apparati.

Secondo i dati presenti in letteratura, nei pazienti con malattia di von Hippel-Lindau il carcinoma renale si manifesta in media tra i 25 e i 50 anni, con un range che varia tra i 16 e i 67 anni¹⁸⁶, e quindi ad un'età più precoce rispetto a quanto avviene per RCC sporadico che insorge in pazienti con un'età media di circa 60 anni¹⁸⁷. Non esistono comunque studi che abbiano preso in considerazione l'età pediatrica.

L'insorgenza più precoce del RCC è dovuta al fatto che la malattia di Von Hippel-Lindau è una family cancer syndrome, ovvero un malattia genetica in cui il gene coinvolto è un oncosoppressore. La patologia è autosomica dominante e gli individui affetti ereditano una mutazione germinale in uno dei due alleli del gene VHL. Secondo il modello dei due hits di Knudson⁴⁰, sarà sufficiente una seconda mutazione nell'allele sano del gene VHL per dare il via alla tumorigenesi a livello renale. Nelle forme di RCC sporadico bisogna che entrambe le coppie alleliche del gene VHL subiscano una mutazione. Questa differenza rende conto del fatto che nei pazienti con malattia di von Hippel-Lindau la prevalenza di RCC sia superiore rispetto alla popolazione generale e che tale neoplasia si manifesti ad un'età inferiore rispetto ai casi sporadici. Infatti il RCC si manifesta nel 25-60% dei pazienti con malattia di von Hippel-Lindau¹⁸⁶, essendo l'incidenza totale dei tumori renali variabile tra 1 e 20 nuovi casi/100000 abitanti/anno¹¹⁰.

Visto che nei pazienti con malattia di Von Hippel-Lindau il carcinoma del rene si manifesta ad un'età inferiore rispetto alla popolazione generale, è ragionevole ipotizzare che, almeno una parte dei casi pediatrici siano legati ad una family cancer syndrome.

I dati da noi presentati non confermano però questa ipotesi, anche se va tenuto presente che siamo di fronte ad una casistica numericamente limitata che potrebbe non essere sufficiente ad

individuare un'associazione con bassa prevalenza. Infatti considerando una serie non selezionata di RCC in pazienti adulti la prevalenza complessiva delle mutazioni germline occulte della malattia di Von Hippel-Lindau è risultata essere dell'1,6% (circa 2% considerando unicamente i pazienti con carcinoma renale a cellule chiare)¹⁴⁴.

Un'altra importante domanda ancora in attesa di risposta è se vi sia in età pediatrica differenza nell'outcome a lungo termine dei carcinomi a cellule chiare sporadici rispetto a quelli legati a VHL. La presenza di questa sindrome è anche importante perché, visto il frequente coinvolgimento bilaterale, sarebbe meglio preferire (ove possibile) la nephron sparing surgery per evitare il futuro trattamento dialitico^{188,189}.

5) FEOCROMOCITOMA E MALATTIE EREDITARIE

INTRODUZIONE

Il feocromocitoma è una neoplasia molto rara nel bambino. La prevalenza nella popolazione generale è circa di 1:10.000¹⁹⁰, interessando nel 10% dei casi pazienti in età pediatrica. L'età di insorgenza è di solito compresa tra i 6 e i 14 anni, con una lieve maggior incidenza nei maschi prima dell'adolescenza e nelle femmine dopo. Il feocromocitoma origina dalle cellule cromaffini delle ghiandole midollari surrenaliche, dell'organo di Zuckerkandl e dei gangli simpatici. Può insorgere quindi in qualsiasi parte dell'organismo in cui si trovi tessuto cromaffine. Nelle sedi extrasurrenaliche viene definito anche paraganglioma¹⁹¹. Più del 95% dei feocromocitomi è localizzato all'addome, interessando nell'85% dei casi la midollare surrenalica. Altre localizzazioni nel bambino sono i gangli simpatici pararenali e paraaortici, i gangli mediastinici o cervicali. Possono essere multicentrici alla diagnosi in circa un quinto dei casi, per lo più per interessamento bilaterale delle ghiandole surrenaliche¹⁹². Le forme maligne, che rappresentano circa il 5-8% dei casi, tendono a metastatizzare nel polmone, pleura, fegato, encefalo e nell'osso, dove producono lesioni osteolitiche.

I segni e i sintomi del feocromocitoma sono quelli tipici dovuti ad un'iperincrezione di catecolamine. Il sintomo d'esordio più comune (90% dei casi) è l'ipertensione arteriosa, costante o parossistica con i disturbi ad essa collegati (cefalea, palpitazioni, vertigini)¹⁹³. Sintomi accessori sono: dolore epigastrico, nausea, vomito, diarrea acquosa, iperventilazione, disturbi dell'attenzione. Una massa addominale può essere palpabile, ma raramente è la causa che porta il bambino all'attenzione del medico. Non necessariamente una massa tumorale più grande si associa ad una maggiore secrezione ormonale.

La vasocostrizione conseguente all'eccesso di produzione di catecolamine può comportare una riduzione della volemia fino al 15%, con comparsa di ipotensione ortostatica e segni tipici di ipovolemia¹⁹⁴. Nei casi più severi può associarsi encefalopatia ipertensiva caratterizzata da disturbi della vista intermittenti, convulsioni ed anche coma. L'eccesso di catecolamine circolanti può provocare una ridotta risposta all'insulina e conseguente iperglicemia, poliuria, polidipsia e glicosuria. Il feocromocitoma non diagnosticato o non trattato adeguatamente può portare alla cosiddetta crisi da feocromocitoma: oltre alla crisi ipertensiva il massiccio rilascio di catecolamine può indurre coagulazione intravasale disseminata, convulsioni, rabdomiolisi, insufficienza renale acuta, shock e morte.

La diagnosi differenziale comprende l'ipertensione arteriosa da cause quali la sindrome ansiosa, la coartazione aortica, la stenosi dell'arteria renale, la pielonefrite, i tumori encefalici e renali, l'avvelenamento da piombo, l'ipertiroidismo¹⁹⁵.

A tutt'oggi non sono state identificate caratteristiche della neoplasia che correlino con sicurezza con la sua malignità e quindi con la prognosi. Di volta in volta sono state suggerite le dimensioni della neoplasia, la sede extrasurrenalica, la presenza di infiltrazione delle strutture circostanti, la ploidia del DNA: tuttavia nessuna di queste caratteristiche ha confermato il proprio valore prognostico nell'ambito di più ampie casistiche¹⁹⁶. E' noto che forme maligne di feocromocitoma sono più frequenti nei casi sporadici piuttosto che nelle forme ereditarie¹⁹⁷.

Gli esami laboratoristici e radiologici sono complementari per la diagnosi di feocromocitoma e la sua localizzazione. Il dosaggio delle catecolamine e dei loro metaboliti urinari e plasmatici (metanefrina, normetanefrina, acido vanilmandelico, dopamina, epinefrina e norepinefrina) è di solito il primo accertamento in caso di sospetto feocromocitoma. La diversa secrezione di catecolamine influenza la sintomatologia (la norepinefrina agisce sui recettori alfa-adrenergici, la epinefrina su quelli alfa e beta adrenergici). Le forme extrasurrenaliche producono soltanto norepinefrina. In caso di livelli borderline di catecolamine plasmatiche (500-2000 pg/ml) va eseguito il test di soppressione alla clonidina, che si basa sulla soppressione di produzione di norepinefrina da parte del sistema nervoso simpatico¹⁹³. In un soggetto sano la somministrazione di clonidina provoca una riduzione maggiore del 50% dei livelli plasmatici di catecolamine, mentre in un soggetto affetto da feocromocitoma non si osserverà alcuna riduzione.

Il feocromocitoma viene localizzato ricorrendo a TC, RM e scintigrafia con MIBG (metaiodobenzilguanidina). Nel caso della TC, dimensioni della massa minori ad 1 cm. e la tipica scarsità di grasso retroperitoneale del bambino, causa di minor contrasto attorno alla neoplasia, possono provocare dei falsi negativi¹⁹⁸. In questo caso la RM con sequenze T1 pesate può essere più sensibile, mentre le sequenze T2 pesate possono essere utili nella diagnosi differenziale tra feocromocitoma ed adenoma o carcinoma¹⁹⁶.

La MIBG viene captata da feocromocitoma, neuroblastoma e carcinoide con una specificità fino al 96%¹⁹⁹. La MIBG viene normalmente captata nelle ghiandole salivari, nelle ghiandole surrenali, nel miocardio, nel fegato, nei polmoni, nell'intestino e nella vescica. La captazione di MIBG tuttavia cessa a distanza di 48 ore nei tessuti normali, mentre persiste in caso di neoplasia, permettendo di rilevare eventuali lesioni sincrone. La captazione della MIBG non è

dipendente dalla quantità di catecolamine e metaboliti prodotti, e non è influenzata dalla terapia anti-ipertensiva¹⁹⁷.

Un'attenta valutazione cardiologica deve precedere l'intervento chirurgico. Elettrocardiogramma ed ecocardiografia permettono di rivelare una eventuale cardiomiopatia ipertensiva, che potrebbe essere causa di complicazioni post-operatorie²⁰⁰.

Una ridotta morbilità e mortalità post-operatoria sono imprescindibili da una preparazione pre-operatoria ottimale. Il blocco dei recettori alfa-adrenergici mediante prazosina o doxazosina va iniziato 1-2 settimane prima dell'intervento. Durante l'intervento chirurgico la massa tumorale va manipolata il meno possibile al fine di evitare il rischio di immettere in circolo massive quantità di catecolamine²⁰⁰, con conseguente comparsa di importanti crisi iper o ipotensive.

La surrenalectomia monolaterale è l'operazione necessaria e sufficiente nel feocromocitoma sporadico monolaterale.

L'asportazione del tumore deve essere seguita da una completa esplorazione dell'addome con particolare attenzione per la surrenale controlaterale, la regione paraspinale e para-aortica, la radice del mesentere, la vescica e la pelvi. Attualmente è possibile asportare la neoplasia anche con tecniche mini invasive, soprattutto tumori di piccole dimensioni.

La presenza di un tumore sincro bilaterale in pazienti con feocromocitoma sporadico richiede la rimozione del tumore di dimensioni maggiori per mezzo di una surrelanectomia totale e di quello di dimensioni minori per mezzo di una surrenalectomia sub-totale. L'approccio nei confronti della ghiandola controlaterale in caso di feocromocitoma monolaterale su base ereditaria è controverso. Tuttavia studi relativamente recenti consigliano di asportare radicalmente la sola surrenale affetta, monitorando attentamente nel tempo la ghiandola controlaterale²⁰¹.

L'asportazione della massa tumorale è consigliabile anche in caso di contemporanea presenza di malattia metastatica, dato che la sua rimozione comporta comunque un miglioramento clinico.

Per lo stesso motivo va presa in considerazione la resezione di localizzazioni metastatiche quando fattibile.

La sola chirurgia radicale è in grado di portare a guarigione definitiva. L'esperienza con l'uso della chemioterapia è molto limitata, tuttavia sono state descritte delle risposte. Masse inizialmente non asportabili possono divenire resecabili dopo chemioterapia^{202,203}. Una polichemioterapia adiuvante può quindi essere somministrata in caso di residuo tumorale o

malattia metastatica; i risultati non sono particolarmente incoraggianti in termini di sopravvivenza a 5 anni che varia, a seconda degli autori, dal 14% al 44%^{193,200}.

E' stata anche tentata la somministrazione di ¹³¹I-MIBG in casi altrimenti non responsivi, con risultati incerti sulla sopravvivenza¹⁹⁷.

Metastasi ossee dolorose possono essere trattate palliativamente con radioterapia^{193,204}.

La localizzazione della neoplasia sembra condizionare una differente prognosi: in genere le localizzazioni extra-surrenaliche si associano ad una prognosi meno favorevole (35-50%)²⁰⁵.

Nella popolazione generale, la sopravvivenza a 5 anni è del 97% nelle forme inizialmente benigne e del 23% nelle forme inizialmente maligne (presenza di interessamento linfonodale o metastasi). Nei casi benigni la probabilità di recidiva è 8% a 5 anni e 20% a 10 anni; le recidive possono essere benigne o maligne e possono verificarsi anche a distanza di 20 anni dalla chirurgia iniziale²⁰⁶.

E' dunque necessario pianificare un accurato follow-up anche a lungo termine.

Entro la prima settimana dall'intervento devono essere raccolti campioni urinari e plasmatici nei quali il dosaggio delle catecolamine servirà come riferimento per i successivi controlli. Nel primo anno il paziente dovrà essere sottoposto periodicamente a nuovi dosaggi e ad ecografia addominale. Se necessario, questa diagnostica strumentale dovrà essere integrata con TC, RM o scintigrafia con MIBG.

FEOCROMOCITOMA, PARAGANGLIOMA E SINDROMI GENETICHE

E' assai diffusa l'opinione che il feocromocitoma sia un tumore sporadico e che solo nel 10% dei casi possa essere legato ad una malattia ereditaria²⁰⁷. Quando ereditario, il feocromocitoma può essere un componente di:

- malattia di Von Hippel-Lindau: angiomatosi retinica, emangioblastoma cerebellare e spinale, carcinoma renale a cellule chiare, cisti e neoplasie pancreatiche endocrine, feocromocitoma; mutazione del gene VHL,
- MEN-2A: carcinoma midollare della tiroide, feocromocitoma ed iperplasia delle paratiroidi; mutazioni del gene RET,
- MEN-IIB: carcinoma midollare della tiroide, feocromocitoma, neuromi mucosi, megacolon ed anomalie scheletriche; mutazione del gene RET,
- Paraganglioma familiare²⁰⁸: malattia neuroendocrina; mutazione dei geni che codificano per le subunità B e D della succinato deidrogenasi (SDHB e SDHD),
- NF-1: macchie caffè-latte, lentiginosi ascellare, neurofibromi, noduli di Lisch (iride), glioma ottico e displasia ossea^{209,210,211,212}.

In questi casi l'ereditarietà è autosomica dominante, la penetranza spesso completa e l'espressività variabile; la malattia di Von Hippel-Lindau è quella che si presenta con maggior frequenza.

In uno studio pubblicato da Neumann et al nel 2002²¹³, sono stati arruolati 271 pazienti (di tutte le età) con feocromocitoma nonsindromico e senza storia familiare di malattia genetica; tutti sono stati sottoposti ad analisi molecolare per ricercare mutazioni germinali a carico di RET, VHL, SDHD e SDHB. Nel 24% dei pazienti (n=66) si è riscontrata una mutazione (in 30 pazienti a carico del gene VHL, in 13 a carico di RET, in 11 a carico di SDHD e in 12 a carico di SDHB). L'età di esordio dei sintomi è risultata statisticamente inferiore nei portatori di una mutazione rispetto quelli con malattia sporadica, tanto che il 70% dei pazienti con meno di 10 anni di età avevano una mutazione germinale. Anche la presenza di feocromocitomi multipli è risultata maggiore nei pazienti con mutazione rispetto a quelli senza ($p < 0.001$). I tumori multifocali, paragonati a quelli solitari, sono risultati essere gene-specifici: nessun paziente con mutazione SDHB presentava malattia multifocale, mentre il 40% di quelli con mutazione di VHL hanno malattia multifocale. Inoltre il 28% dei pazienti con mutazione di VHL, SDHD e SDHB avevano tumori extrasurrenali, comparati con l'8% dei pazienti senza mutazioni ($P=0.006$). Si deve quindi ritenere che nel 25% dei casi il feocromocitoma sia solo apparentemente sporadico, ma si tratti in realtà di una malattia familiare. Il riscontro di tale neoplasia deve quindi comportare necessariamente un'attenta valutazione genetica, al fine di definire la natura sporadica od ereditaria della malattia; un'anamnesi positiva per sindrome familiare dovrà essere integrata dalla ricerca di mutazioni del gene responsabile della sindrome, ma si può ora sostenere, per ogni caso di feocromocitoma sporadico ed in particolare per quelli ad insorgenza precoce, la necessità di ricercare mutazioni dei geni VHL, RET, SDHB, SDHD^{213,214}. Il gene VHL è quello più frequentemente mutato, seguito da SDHB, SDHD, RET e NF1²¹⁵, anche se vi possono essere variazioni geografiche. Usualmente quindi i test genetici andranno condotti in quest'ordine, almeno che la clinica o la storia familiare non suggeriscano diversamente. La NF1 viene di norma diagnosticata clinicamente, solo di rado è necessaria l'analisi molecolare.

Inoltre non mancano le segnalazioni di nuove predisposizioni genetiche a tale neoplasia. Mutazioni nella subunità C della succinato deidrogenasi (SDHC) sono usualmente associate al paraganglioma parasimpatico non-secerne. Tuttavia Mannelli et al²¹⁶ hanno descritto il caso di un paziente di 15 anni con un paraganglioma addominale secernente noradrenalina con una nuova mutazione nonsense nel gene SDHC.

Nella tabella seguente sono riassunte le sindromi genetiche che possono associarsi al feocromocitoma: le prime 4 (Malattia di Von Hippel-Lindau, MEN-2, NF1 e feocromocitoma/paraganglioma ereditario) sono di gran lunga più frequenti rispetto alle altre in cui l'associazione con il feocromocitoma, pur documentata, appare meno stretta.

SINDROME	EREDITARIE TA'	LOCUS	GENE	PROTEINA	CLINICA
Von Hippel-Lindau	AD	3p25-26	VHL	Proteina VHL	Emangioblastomi del SNC, emangioblastomi retinici, ca. renale o cisti renali, feocromocitoma, cisti o t. neuroendocrini pancreatici, t. del sacco endolinfatico
MEN 2	AD	10q11.2	RET	Tirosin Kinasi recettore	2 A: Ca. midollare della tiroide, feocromocitoma, iperparatiroidismo I° 2 B: Ca. midollare della tiroide, feocromocitoma, neuromi multipli e/o ganglioneuromatosi della mucosa gastroenterica
Neurofibromatosi tipo 1	AD 50% de novo	17q11.2	NF1	neurofibromina	Macchie caffè-latte, lentiginosi alle ascelle o all'inguine, neurofibromi cutanei, noduli di Lisch (amatommi all'iride), lesioni scheletriche, glioma del nervo ottico, tumori
Feocromocitoma/Paraganglioma ereditario	AD	1p36.1 p35 11q23	SDHB SDHD	Subunità del II° complesso mitocondriale	Feocromocitoma, paraganglioma
Carney	AD	17q22-24	PRKAR1A	Subunità regolatoria (RIA) della protein kinasi A	Pigmentazione cutanea a chiazze (lentiggini, nevi blu), iperattività endocrina (acromegalia, t. tiroide, t. testicolo, sdr. Cushing), mixomi (cuore, cute, mammella).
Emiiperplasia	Sporad.	ignoto	ignoto	ignota	Asimmetria corporea/emitrofia, scoliosi, scoliosi, torace asimmetrico, denti malposizionati, faccia asimmetrica, ritardo mentale/psicomotorio.
Noonan	AD 25-70% de novo	12q24.1	PTPN11	Guadagno di funzione della tirosina fosfatasi SHP2	Bassa statura, dimorfismi facciali (rime palpebrali oblique verso il basso, ptosi, orecchie ruotate post e bassa attaccatura), cardiopatie congenite (stenosi polm, cardiomiopatia ipertrofica), pterigio del collo, deformità gabbia toracica, deficit cognitivo lieve, criptorchidismo, disturbi alimentari nella prima infanzia, tendenza al sanguinamento e displasia dei vasi linfatici.
Rubinstein-Taybi	AD Sptto sporadica	16p13.3	CBP p300	CREB-binding protein E1A-binding protein	Scarsa crescita, ritardo mentale, microcefalia, facies tipica, grandi pollici e grandi alluci
Sturge-Weber	?				Malformazione capillare della faccia, disturbi oculari e neurologici

La **malattia di von Hippel-Lindau** è già trattata estesamente nella sezione dedicata al carcinoma renale. Il feocromocitoma si manifesta nel 10-20% dei pazienti con questa patologia. L'età media di insorgenza della neoplasia varia tra i 12 e i 25 anni, con un range di 4-58 anni¹⁸⁶.

La **sindrome da neoplasie endocrine multiple tipo 2 (MEN2)** è la forma ereditaria del cancro midollare della tiroide (CMT). La trasmissione è autosomica dominante. Esistono tre varianti di MEN2:

- MEN2A (Sindrome di Sipple) associata al cancro midollare della tiroide (CMT) (100% dei pazienti), al feocromocitoma (40-60%) e, più raramente, all'iperparatiroidismo primitivo da adenoma/ipertrofia (10-20%). Possono essere presenti altre lesioni più rare, come il lichen amiloide della cute, o la malattia di Hirschsprung.
- MEN2B (sindrome di Gorlin) associa il CMT al feocromocitoma e a varie lesioni specifiche, come i neuromi mucosi a localizzazione predominante oro-linguale. Alcuni pazienti con MEN2B mostrano un fenotipo marfanoide con pectus excavatum, iperlassità articolare, scoliosi.
- FMTC o forme familiari isolate del cancro midollare della tiroide: il CMT è l'unico sintomo. Le altre lesioni non sono presenti o hanno una penetranza molto ridotta.

La frequenza della MEN2 è stimata in circa 1/30.000. L'analisi genetica del gene RET, che si associa alla predisposizione a questa sindrome, consente in più del 90% dei casi di effettuare lo studio preclinico dei soggetti a rischio e di optare per una tiroidectomia profilattica.

La **neurofibromatosi di tipo 1 (NF1)** o malattia di von Recklinghausen è una delle più comuni patologie genetiche, che colpisce da 1/3.000 a 1/4.000 persone. Si trasmette in modo autosomico dominante e la sua penetranza è quasi completa all'età di 5 anni. Il gene NF1, responsabile della malattia, è localizzato sul braccio lungo del cromosoma 17, in 17q11.2. È un grande gene onco-soppressore (350 kb, 60 esoni), che codifica per una proteina citoplasmatica, la neurofibromina. Le mutazioni germinali si distribuiscono lungo tutto il gene e sono in genere specifiche in ogni famiglia. La frequenza delle nuove mutazioni è particolarmente alta e in circa la metà dei casi la patologia è sporadica. La NF1 è caratterizzata da una grande variabilità clinica, anche nell'ambito della stessa famiglia. Un medico ben informato sulla malattia può porre la diagnosi nella maggior parte dei casi dopo

un esame obiettivo. La NF1 può essere diagnosticata in presenza di almeno due dei seguenti 7 criteri:

- 6 o più macchie caffè-latte;
- lentiginosi alle ascelle o all'inguine;
- 2 o più neurofibromi cutanei di ogni tipo o un fibroma plessiforme;
- 2 o più noduli di Lisch (amartomi dell'iride);
- una lesione scheletrica caratteristica (displasia dell'ala dello sfenoide, assottigliamento della corticale delle ossa lunghe, pseudoartrosi);
- glioma del nervo ottico;
- un consanguineo di primo grado affetto (genitore o fratello).

L'ampia varietà dell'espressione clinica, il rischio di tumori e la totale imprevedibilità dell'evoluzione della malattia impone una sorveglianza regolare dei pazienti con NF1. Il monitoraggio è soprattutto clinico e deve essere adattato all'età del paziente, in modo da assicurare la gestione precoce delle complicanze: le difficoltà di apprendimento, il glioma ottico aggressivo, le scoliosi evolutive, l'ipertensione arteriosa (stenosi delle arterie renali, feocromocitoma), i tumori maligni, ecc.

Il feocromocitoma, pur essendo parte della NF1 si manifesta in una percentuale bassa di pazienti (circa 0.1-5.7%)²¹⁷.

I paragangliomi derivano sia dal tessuto simpatico cromaffine nel surrene ed extrasurrenalico in addome e torace, che dal tessuto parasimpatico della regione testa-collo. Le **sindromi del paraganglioma familiare** sono associate a 3 diversi geni che codificano per le subunità D, C e B dell'enzima mitocondriale succinato deidrogenasi (SDH), un complesso eterotetramerico coinvolto nel ciclo di Krebs e nella catena aerobica di trasporto degli elettroni.

- Gene SDHD: locus PGL1 su 11q23. Le sue mutazioni si associano a paragangliomi della testa-collo multifocali e paragangliomi extrasurrenalici e feocromocitomi usualmente benigni²¹⁸.
- Gene SDHC: locus PGL3 su 1q21. E' una rara causa di paragangliomi della testa-collo²¹⁶ il cui comportamento clinico è simile a quello delle forme sporadiche; recentemente sono stati descritti anche paragangliomi secernenti surrenalici ed extrasurrenalici associati a tale mutazione^{216,219}.
- Gene SDHB: locus PGL4 su 1p35-p36.1. Mutazioni di questo gene predispongono a paragangliomi simpatici extrasurrenalici e a feocromocitomi con elevato potere

maligno²²⁰. L'età media alla diagnosi è di circa 30 anni²¹⁸, con un range che va dai 7 ai 65 anni^{221,222}.

SDH è parte della catena mitocondriale di trasporto degli elettroni (complesso II, succinato-ubiquinone ossido-reduttasi) e catalizza l'ossidazione del succinato in fumarato nel ciclo di Krebs²²³. Le subunità A e B di questo complesso (SDHA, SDHB) costituiscono il cuore catalitico dell'enzima, mentre SDHC e SDHD legano il complesso alla membrana mitocondriale interna. Un'anormale funzione di SDH dovuta a mutazioni del DNA nucleare codificante per una di queste subunità risulta in due fenotipi completamente diversi: difetti nella subunità A causano disordini metabolici neurodegenerativi simili alla sindrome di Leigh²²⁴ ed esordio tardivo di atrofia ottica, atassia e miopia²²⁵, mentre alterazioni delle subunità B, C e D predispongono al paraganglioma familiare. I meccanismi molecolari e cellulari che legano le mutazioni SDHx alla tumorigenesi non sono ancora state chiaramente delucidate. In accordo con la "two-hit hypothesis" di Knudson per la tumorigenesi coinvolgente un oncosoppressore, una mutazione germinale eterozigote in un gene SDHx è usualmente associata con la perdita somatica dell'allele non mutato.

Nei paragangliomi associati a mutazioni di SDHB e SDHD questo risulta in una completa abolizione dell'attività enzimatica di SDH e nell'attivazione del pathway ipossico-angiogenetico attraverso l'attivazione del fattore di trascrizione ipossia-inducibile (HIF1- α) e dei suoi principali geni target quali il VEGF (vascular endothelial growth factor). HIF1 α regola la trascrizione di numerosi geni coinvolti nella tumorigenesi ed angiogenesi²²⁶.

La prevalenza delle mutazioni interessanti i geni SDHx è risultata essere 10% di 371 pazienti con paragangliomi simpatici (feocromocitoma e paragangliomi simpatici extrasurrenali) e 28% di 121 pazienti con paraganglioma della regione testa-collo²²⁷.

Le mutazioni di SDHB, SDHC e SDHD sono ereditate con modalità autosomica dominante. Tuttavia la penetranza è incompleta e vi è imprinting genomico, quindi un numero considerevole di pazienti con paraganglioma SDHx-related hanno una modalità di presentazione apparentemente sporadica (circa il 63-90% dei pazienti con paraganglioma SDHB-related e circa il 21% di quelli SDHD-related)²²⁸; quindi una storia familiare negativa non esclude la diagnosi di paraganglioma familiare. Viceversa, tra i pazienti che si presentano con un paraganglioma apparentemente sporadico, la prevalenza di mutazioni SDHB e SDHD è 4-7% e 1-4% rispettivamente^{229,213}. La ricerca delle mutazioni va considerata in tutti i pazienti con paraganglioma, indipendentemente dalla storia familiare. In particolare la ricerca delle mutazioni di SDHx va attuata in prima battuta nei casi di paragangliomi della testa-collo

(SDHD, SDHB, SDHC), dei paragangliomi extra-surrenali (SDHB, SDHD) e di quelli maligni (SDHB)²³⁰.

Il **complesso di Carney (CNC)** è una sindrome ad eredità autosomica dominante, caratterizzata da pigmentazione cutanea a chiazze, iperattività endocrina e mixomi. La prevalenza non è nota ma si tratta di una malattia rara che conta finora circa 160 casi indice. Le anomalie della pigmentazione cutanea comprendono lentiggini e nevi blu. I disturbi endocrinologici più comuni sono l'acromegalia, i tumori della tiroide e dei testicoli e la sindrome di Cushing ACTH-indipendente (ormone adrenocorticotropo) causata dalla displasia primitiva pigmentata nodulare del surrene (PPNAD). La PPNAD, una rara causa di sindrome di Cushing, è dovuta ad un deficit primitivo bilaterale del surrene, che può anche essere presente in assenza di altre manifestazioni del CNC o di una storia familiare positiva. I mixomi possono insorgere nel cuore, sulla cute e nella mammella. I mixomi cardiaci si possono sviluppare in qualsiasi compartimento cardiaco e possono essere multipli. Uno dei geni putativi del CNC, localizzato su 17q22-24, PRKAR1A, codifica per la subunità regolatrice (R1A) della protein-chinasi A. Le mutazioni eterozigoti inattivanti di PRKAR1A sono state osservate inizialmente nel 45-65% dei casi del CNC e possono essere presenti in circa l'80% delle famiglie CNC con sindrome di Cushing. PRKAR1A è una componente chiave della via metabolica di cAMP, implicata nella tumorigenesi endocrina e potrebbe, almeno parzialmente, funzionare come gene onco-soppressore. Il test genetico dovrebbe essere proposto in tutti i pazienti con CNC. Le persone con CNC o predisposizione genetica al CNC dovrebbero essere sottoposti regolarmente allo screening per la ricerca dei sintomi della malattia. Un check-up clinico in grado di identificare i segni della malattia dovrebbe essere effettuato annualmente in tutti i pazienti, a partire dall'infanzia. I mixomi cardiaci devono essere asportati chirurgicamente; la surrenalectomia bilaterale viene proposta ai pazienti con sindrome di Cushing secondaria a PPNAD. E' necessario discutere il trattamento delle altre manifestazioni cliniche del CNC: il tipo di follow-up, la scelta tra chirurgia o terapia medica (a seconda della localizzazione e delle dimensioni del tumore, della comparsa di segni clinici suggestivi di una massa tumorale, di un aumento dei livelli ormonali, del sospetto di malignità).

La **Sindrome di Noonan (SN)** è caratterizzata da bassa statura, dismorfismi facciali tipici e difetti cardiaci congeniti. L'incidenza della SN è stimata tra 1/1000 e 1/2500 nati vivi²³¹. I principali segni facciali della SN sono l'ipertelorismo con rime palpebrali rivolte verso il

basso, ptosi e orecchie a basso impianto retrorotate con elice ispessito. I difetti cardiaci più comunemente associati con questa condizione sono la stenosi della polmonare e la cardiomiopatia ipertrofica. Altri segni associati sono collo corto, deformità della gabbia toracica, ritardo mentale lieve, criptorchidismo, difficoltà di alimentazione durante l'infanzia, tendenza al sanguinamento e displasia linfatica. La sindrome si trasmette come tratto autosomico dominante. Nel 50% circa dei casi, la malattia è causata da mutazioni missenso nel gene PTPN11 (12q24.1), che risultano nel guadagno di funzione della proteina SHP-2, tirosin-fosfatasi non recettoriale. Recentemente, mutazioni in altri geni della via metabolica di RAS MAPK (KRAS, SOS1, and RAF1) sono stati identificati in una piccola parte dei pazienti con SN. L'analisi di mutazione può essere effettuata su campione di sangue e dovrebbe essere raccomandata a quei soggetti con sospetto diagnostico di SN. Ad ogni modo, la diagnosi non può essere esclusa sulla base del test molecolare, in quanto la sensibilità dello screening combinato di tutti i geni noti permette la conferma in meno del 75% dei pazienti. La diagnosi differenziale va fatta con la sindrome di Turner, la sindrome cardio-facio-cutanea, la sindrome di Costello, la neurofibromatosi tipo 1 (NF1) e la sindrome LEOPARD. La presa in carico di pazienti con questa patologia comprende la gestione delle difficoltà di alimentazione nella prima infanzia (con valutazione della funzione cardiaca, della crescita e dello sviluppo motorio), la fisioterapia e la logopedia, la visita oculistica ed audiologica. E' indicato lo studio preoperatorio della coagulazione. Con cure e consulenze specialistiche, la maggior parte dei bambini con SN avranno crescita e funzioni normali nell'età adulta. Segni e sintomi si attenuano con l'età e molti adulti con SN non richiedono cure mediche specialistiche. L'associazione con il feocromocitoma, benché descritta²³¹, è da considerarsi eccezionale.

La **sindrome di Rubinstein-Taybi** è caratterizzata da anomalie congenite (microcefalia, facies tipica specifica, pollici e alluci larghi e ritardo della crescita postnatale), deficit cognitivo e disturbi comportamentali. La prevalenza alla nascita è 1 su 100.000-125.000. Le caratteristiche facciali, che diventano più marcate con l'età, comprendono sopracciglia fortemente arcuate, ciglia lunghe, rime palpebrali oblique verso il basso, naso a becco, palato ogivale e micrognazia. Sono comuni le cuspidi appuntite degli incisivi permanenti. In molti casi è presente un sorriso atipico associato alla chiusura quasi completa degli occhi. Altre caratteristiche sono le anomalie degli occhi (ostruzione del dotto naso-lacrimale, glaucoma congenito, difetti di rifrazione), le cardiopatie congenite, l'ipermobilità articolare e le alterazioni dermatologiche (in particolare, la formazione di cheloidi). La costipazione di solito persiste per tutta la vita. I pazienti possono sviluppare un sovrappeso nella tarda infanzia o

verso la pubertà. Durante l'infanzia, i pazienti mostrano una propensione nello stabilire buoni rapporti sociali. Nell'età adulta, sono frequenti i cambiamenti dell'umore e il comportamento ossessivo-compulsivo. È stato riscontrato un aumento del rischio di tumore (in particolare, la leucemia durante l'infanzia e il meningioma nell'età adulta): sono stati descritti anche casi di feocromocitoma²³². La sindrome è quasi sempre sporadica. Le cause sono: la microdelezione del cromosoma 16p13.3, le mutazioni della proteina che lega CREB (CBP, 16p13.3) e le mutazioni della proteina che lega E1A (EP300, 22q13). CBP e EP300 presentano un grado elevato di omologia e svolgono un ruolo importante, in quanto sono co-attivatori globali della trascrizione. La patogenesi della sindrome non è nota. La diagnosi si basa sull'esame clinico. In circa il 55% dei pazienti è stata riscontrata un'anomalia molecolare o citogenetica. A volte la sindrome si pone in diagnosi differenziale con la sindrome di Saethre-Clotzen e con la sindrome di Cornelia de Lange. Il rischio di ricorrenza per i genitori dei pazienti è basso (0,1%). Non sono stati descritti soggetti affetti tra i fratelli dei probandi. Il rischio per i pazienti di avere un figlio affetto supera il 50%. Se nel paziente è stata osservata un'anomalia molecolare o citogenetica, è possibile una diagnosi prenatale efficace nelle gravidanze successive mediante la biopsia dei villi coriali. L'ecografia prenatale permette raramente di ottenere una diagnosi affidabile. La presa in carico dei pazienti è per lo più sintomatica. Sono necessari programmi educativi specifici, che si focalizzino fin dalla prima infanzia sullo sviluppo psicomotorio e sulla terapia del linguaggio. Le attese di vita sono buone, tranne che nei bambini affetti da cardiopatie complesse. I tumori maligni e le infezioni respiratorie sono le cause più comuni di morte.

La **sindrome di Sturge-Weber (SSW)** è una malformazione vascolare congenita caratterizzata da una malformazione capillare della faccia associata a disturbi oculari e neurologici di grado variabile. L'incidenza è stimata in 1:50.000. La lesione facciale è un angioma piano (AP), di solito presente alla nascita, che occupa la regione della fronte e la porzione superiore della palpebra (zona comunemente definita V1). L'AP a volte è più esteso e ricopre le aree facciali V2 (mascellare) e V3 (mandibolare) in forma monolaterale o bilaterale; occasionalmente può raggiungere persino il tronco e gli arti. In rari casi, è assente la malformazione capillare facciale, ma sono presenti anomalie vascolari cerebrali simili a quelle della SSW "completa". Più della metà dei pazienti sviluppa un glaucoma sul lato omolaterale all'AP facciale della zona V1, soprattutto se questo si estende alla palpebra superiore e inferiore. In alcuni casi, il glaucoma coesiste con anomalie vascolari del fondo dell'occhio. I pazienti possono anche presentare anomalie vascolari delle leptomeningi, che

possono causare, di solito prima dei 2 anni, crisi comiziali (nel 75% dei pazienti con anomalie vascolari intracraniche), deficit motorio all'emisoma opposto e ritardo delle acquisizioni, di grado variabile. Il danno psicomotorio è variabile, essendo in parte correlato alla eventuale difficoltà nel controllo medico delle crisi epilettiche. Durante l'evoluzione della malattia si possono osservare emiatrofia cerebrale ipsilaterale e calcificazioni corticali che delineano le circonvoluzioni cerebrali. La SSW non è una malattia ereditaria e l'eziologia non è nota. È stata ipotizzata una mutazione somatica a livello del primordio neurale anteriore, prima della migrazione delle creste neurali cefaliche. La diagnosi viene fatta alla nascita, in presenza di sintomi neurologici e di un angioma piano della faccia nella zona V1. Circa il 10% dei bambini che presentano un angioma piano in zona V1 hanno la SSW. Le lesioni neurologiche possono essere individuate con le radiografie del cranio (le calcificazioni sono presenti solo di rado nei neonati), l'elettroencefalogramma e, soprattutto, la TAC con mezzo di contrasto iodato o, meglio, la risonanza magnetica con gadolinio (i cui risultati sono più precoci e più informativi rispetto a quelli ottenuti con la TAC). L'imaging cerebrale funzionale, quando possibile, completa l'esame neurologico (la misurazione del flusso ematico cerebrale con la tecnica di inalazione allo Xenon-133, la tomografia computerizzata a emissione di fotoni singoli [SPECT], l'esame del metabolismo cerebrale con l'analisi del consumo del glucosio o la tomografia ad emissione di positroni [PET]). La SSW è una patologia neuropediatrica e il trattamento è sintomatico. La cura degli angiomi piani con il laser pulsato non è controindicata nei pazienti epilettici controllati con la somministrazione di anticonvulsivanti. Il rischio di glaucoma è significativo e nei primi due anni di vita devono essere ripetuti gli esami oftalmologici. Il follow-up oftalmologico deve proseguire fino all'età adulta, anche quando i primi esami sono normali. In caso di glaucoma si consiglia l'intervento chirurgico. I pazienti che vanno incontro a debolezza muscolare significativa necessitano di cure specifiche. La prognosi dipende soprattutto dalla ricorrenza e dalla gravità delle crisi epilettiche, che insorgono spesso nel primo anno di vita e possono provocare paralisi segmentali e ritardo mentale moderato-grave. Il ricorso alla neurochirurgia è necessario solo in casi eccezionali. Anche in questa patologia è stata descritta l'associazione con feocromocitoma²³³.

SCOPO DEL LAVORO

Scopo di questo lavoro è stato valutare la prevalenza di mutazioni germinali dei geni VHL, RET, SDHB ed SDHD nei pazienti con feocromocitoma e paraganglioma arruolati nel Protocollo TREP ed valutare su base clinica la presenza di altre sindromi genetiche.

MATERIALI E METODI

Abbiamo selezionato tra tutti i pazienti registrati nel Progetto TREP con diagnosi fatta tra gennaio 2000 e maggio 2009 quelli con feocromocitoma e paraganglioma.

I criteri di inclusione per l'arruolamento nello studio erano:

- età alla diagnosi < 18 anni
- diagnosi istologicamente confermata
- vivo, con o senza malattia, al momento dello svolgimento di questo studio.

Nei pazienti eligibili i dati clinici sono stati rivisti al fine di questa analisi. In particolare è stata analizzata la storia clinica per ricercare la presenza nell'anamnesi di sindromi geneticamente trasmissibili note.

I pazienti sono stati ricontattati dai Centri presso i quali erano seguiti per essere sottoposti a prelievo di 2 campioni di sangue per la ricerca delle mutazioni germinali del gene *VHL*, *RET*, *SDHD*, *SDHB*, *SDHC*.

Per quanto riguarda l'analisi molecolare del gene *VHL*, i campioni sono stati inviati presso il Laboratorio di riferimento Diagnostica Molecolare VHL del Dipartimento di Pediatria Salus Pueri di Padova (Responsabile dott.ssa Murgia). Il DNA genomico ad alto peso molecolare è stato estratto da leucociti di sangue periferico secondo protocollo standard. L'analisi delle mutazioni del gene VHL per l'identificazione di mutazioni puntiformi o di piccola taglia è stata condotta sull'intera sequenza codificante e sulle zone di giunzione introne-esone attraverso amplificazione in PCR, DHPLC e sequenziamento diretto. La PCR Real Time quantitativa è stata utilizzata su frammenti di DNA genomico rappresentanti ogni esone del gene VHL per identificare delezioni di parti o dell'intero gene²³⁴.

L'analisi genetica del gene *RET* e dei geni *SDHB*, *SDHC* ed *SDHD* è stata condotta presso il laboratorio dell'Unità Tumori Ereditari dell'Istituto Oncologico Veneto (Responsabile Prof. Opocher), mediante sequenziamento diretto delle regioni codificanti e delle regioni introniche fiancheggianti. Per il gene *RET* sono stati sequenziati gli esoni 8, 10, 11, 13, 15 e 16 (tutte le mutazioni note associate a MEN 2 riguardano tali esoni). Per quanto riguarda i geni *SDHx* sono stati sequenziati interamente gli 8 esoni di *SDHB*, i 6 di *SDHC* e i 4 di *SDHD*; inoltre è stata condotta l'analisi dei riarrangiamenti mediante MLPA (Multiple Ligation Probe Assay).

Per ogni paziente è stato ottenuto un consenso informato all'esecuzione dell'analisi genetica.

Nei pazienti risultati positivi per mutazione l'analisi genetica è stata proposta ai familiari.

RISULTATI

Dal 1° gennaio 2000 al 30 giugno 2009 sono stati registrati nel Progetto TREP 10 pazienti con feocromocitoma e 11 con paraganglioma. Una paziente con paraganglioma è deceduta prima dell'inizio di questo studio e pertanto la popolazione eligibile complessiva è di 20 pazienti.

Per quanto riguarda i 10 pazienti con feocromocitoma si tratta di 7 maschi e 3 femmine con età mediana alla diagnosi di 11.6 anni (range 4,6 – 14,4). In 6 casi la lesione era localizzata a sinistra, in 3 a destra ed in 1 era bilaterale. Un caso con feocromocitoma localizzato a destra ha poi sviluppato il tumore nel surrene controlaterale 3 anni dopo la prima diagnosi.

In un solo caso sono emerse all'anamnesi malattie genetiche note: si tratta di una talassemia major manifestatasi in un bambino figlio di genitori entrambi portatori di trait talassemico.

Non venivano segnalate malformazioni congenite.

In 8 casi il feocromocitoma si era manifestato con sintomi classici legati all'iperincrezione di catecolamine (dimostrata in 8 con indagini di laboratorio), in un caso il tumore è stato scoperto i corso di accertamenti per dolori addominali ricorrenti e per un paziente mancano i dati clinici. In 8 casi è stata eseguita una surrenalectomia, in un caso una surrenalectomia bilaterale ed in un caso è stata eseguita una surrenalectomia da un lato e successivamente anche la surrenalectomia controlaterale; in nessun caso è stata eseguita chemioterapia (CT) o radioterapia (RT) (il dato manca per un paziente). In un caso è stata eseguita MIBG terapeutica. Per quanto riguarda i risultati del trattamento 9 pz. sono in 1°RC, uno in 3°RC con un follow-up mediano di 5,1 anni (range 1,3 – 7).

L'analisi genetica è stata condotta in 9 dei 10 casi: due pazienti sono risultati positivi per mutazioni del gene VHL (malattia di Von Hippel-Lindau), due pazienti sono risultati positivi per mutazioni del gene SDHB (sindrome del feocromocitoma/paraganglioma familiare).

Per quanto riguarda i due pazienti con malattia di VHL, si tratta in entrambi i casi di pazienti con feocromocitoma bilaterale, con interessamento in un caso sincrono e nell'altro metacrono.

Nel primo caso il paziente ha sviluppato un feocromocitoma bilaterale all'età di 12 anni ed è in RC dopo la chirurgia, anche se mancano parte dei dati relativi alla storia clinica. L'indagine genetica per la mutazione del gene VHL è stata estesa anche alla madre, al padre e alla sorella, tutti risultati negativi.

Nel secondo caso si tratta di un bambino di 4 anni con talassemia major; inizialmente sviluppa un feocromocitoma destro secernente che viene asportato in maniera completa (margini chirurgici indenni e assenza di invasione vascolare all'esame istologico) ma lasciando in sede residui corticosurrenali. Dopo 8 mesi il bambino presenta una recidiva

locale, asportata con surrenectomia destra. A distanza di 3 anni dalla prima diagnosi il paziente ha sviluppato un nuovo tumore a carico del surrene controlaterale con interessamento linfonodale loco-regionale. Nuova chirurgia con surrenalectomia sinistra ed asportazione linfonodale seguita da ciclo di MIBG terapeutica. Il paziente è vivo in RC a distanza di 4 anni dall'ultima chirurgia. L'analisi genetica del gene *VHL* è stata estesa ad entrambi i genitori, risultati negativi.

L'analisi genetica per RET è stata condotta in 7 pazienti, ed in tutti è risultata negativa.

Per quanto riguarda i pazienti con positività per SDHB, nel primo caso si tratta di una bambina di 12 anni con un feocromocitoma sinistro secernente di notevoli dimensioni (diametro massimo di 6 cm.) in 1°RC dopo surrenalectomia, il secondo è un maschio di 13 anni anch'esso con un voluminoso feocromocitoma sinistro (diametro massimo di 8 cm.), secernente, in 1°RC dopo surrenalectomia. In entrambi questi pazienti l'analisi è stata estesa anche alla famiglia: nel primo caso sono risultate essere carriers della mutazione la mamma, la nonna materna e due delle tre sorelle, tutte libere da malattia; nel secondo caso la mutazione è stata riscontrata nei due fratelli e non nel padre, quindi la madre (deceduta tempo fa per altra neoplasia) è carrier obbligato della mutazione.

Per quanto attiene ai 10 pazienti con paraganglioma, si tratta di 8 maschi e 2 femmine, di età mediana 12,5 anni (range 10.3 – 17.1) e localizzati a livello giugolo-timpanico (1), pancreatico (1), paravertebrale (2), paracavale (1), retroperitoneale (2) e pelvico (3).

In nessun paziente era nota anamnesticamente una malattia genetica ereditaria, tuttavia in un caso era noto che la nonna materna era deceduta per un feocromocitoma. Non venivano segnalate malformazioni congenite; un paziente era stato trattato 5 anni prima per una leucemia ed un altro era affetto da celiachia.

In 6 pazienti l'esordio clinico era legato a sintomi riferibili all'iperincretazione ormonale (confermata laboratoristicamente), in uno la malattia si era presentata con la massa (giugolo-timpanico) in 1 caso con dolore addominale (pancreatico) ed in uno la massa è stata scoperta nel corso di accertamenti per dolore conseguente a trauma addominale (in un caso il dato è mancante).

Per quanto riguarda la chirurgia:

- In 8 casi l'intervento è stato conservativo: 7 sono in 1°RC senza necessità di altri trattamenti. In un caso (pelvico) è stata inizialmente asportata la massa con una piccola losanga di parete vaginale. Si è quindi avuta una recidiva locale (circa 10

noduli nello scavo pelvico) che è stata asportata solo parzialmente (5 di 10 lesioni): la paziente è attualmente viva con malattia dopo aver eseguito anche chemioterapia.

- In una paziente è stato necessario un intervento mutilante: si tratta di un paraganglioma pelvico paravescicale che infiltrava l'utero e la vescica e per il quale è stato necessario, alla terza chirurgia e dopo la chemioterapia, l'asportazione di parte del collo vescicale, dell'utero e della vagina. La paziente è in RC a 5 anni dalla prima chirurgia.
- In un altro caso si è eseguita unicamente una biopsia: si trattava di un paraganglioma giugulo-timpanico che infiltrava l'osso temporale, i tessuti molli emicranici, la fossa temporale e l'osso zigomatico. Il paziente è stato sottoposto a biopsia e a chemioterapia: è stato perso al follow-up con malattia.

Il follow-up mediano è stato di 3,2 anni con un range di 1,7 mesi – 6 anni.

L'analisi genetica per VHL è stata condotta in 4 pazienti: uno ha eseguito l'analisi in altra sede e non siamo in possesso del referto dell'esame, i 3 casi analizzati nell'ambito del Progetto TREP sono risultati tutti negativi.

L'analisi genetica per RET è stata condotta in 1 paziente, risultando negativa.

L'analisi genetica per le mutazioni di SDHx è stata condotta in 5 pazienti ed è risultata positiva in 3.

In due pazienti erano coinvolte mutazioni del gene SDHB: in un caso si trattava di un paraganglioma pelvico di grosse dimensioni (diametro massimo 8 cm.), nel secondo di un paraganglioma paravertebrale secernente. In quest'ultimo paziente l'analisi genetica è stata estesa anche alla famiglia: carrier della mutazione sono risultate la mamma e le due sorelle (tutte libere da malattia); la nonna materna era deceduta per feocromocitoma e quindi è verosimilmente anch'essa carrier della mutazione.

In un paziente si è rinvenuta una mutazione a carico del gene SDHD: si trattava di una voluminosa massa pancreatica (diametro maggiore 5 cm.). Anche in questo caso l'indagine è stata estesa alla famiglia identificando la mutazione anche nel padre.

Nella tabella seguente vengono schematizzate le caratteristiche dei pazienti sindromici rispetto ai non sindromici. Vengono considerati solo i pazienti in cui è stata fatta l'indagine genetica nell'ambito del Progetto TREP (14 su 20).

	SINDROMICI		NON SINDROMICI	
	N=7		N=7	
ETA' ALLA DIAGNOSI (MEDIANA)	12.6 anni		10.8 anni	
SESSO	6M 1F	86% 14%	5M 2F	71% 29%
DIMENSIONI	2 <5cm 4 >5cm 1 NN	29% 57%	5 <5cm 2 >5cm	71% 29%
SEDE	4 Surrene 1 Pelvi 1 Pancreas 1 Paravertebrale	57% surrenali 43% extrasurren.	5 Surrene 1 retroperiton. 1 Pelvi	71% surrenali 29% extrasurren.
CLINICA	4 legata all'iperinfezione 2 dolore add. 1 NN	57% 29%	7 legata all'iperinfezione	100%
SECERNENTE CATECOLAMINE	4 si 3 NN	57%	6 si 1 no	86% 14%
OUTCOME	6 1°RC 1 3°RC	86% 14%	6 1°RC 1 vivo con malattia	86% 14%

NN=non noto

Nel confronto fra i due gruppi di pazienti, non emergono differenze di rilievo: segnaliamo in entrambi i gruppi una predominanza del sesso maschile ed un numero maggiore di tumori voluminosi nei pazienti sindromici rispetto ai non sindromici (57% >5 cm vs 29%).

DISCUSSIONE

Classicamente il feocromocitoma è una patologia che segue la regola del 10%:

10% maligno

10% extrasurrenalico

10% bilaterale

10% non secernente

10% associato a sindromi

Tuttavia, abbiamo oggi sufficienti evidenze per mettere in discussione questa regola sia nella popolazione adulta che in quella pediatrica.

Scopo di questo lavoro è stato determinare la prevalenza di mutazioni germ-line nella popolazione pediatrica con feocromocitoma e con paraganglioma.

Lo studio di Neumann pubblicato nel 2002²¹³ rappresenta il modello a cui ci siamo riferiti: l'ampia popolazione arruolata (271 pazienti con feocromocitoma nonsindromico) ha permesso un calcolo fedele della prevalenza di mutazioni germinali, che sono risultate essere presenti nel 24% dei casi, considerando RET, VHL, SDHD, SDHC e SDHB. In questo studio l'età di esordio dei sintomi è risultata statisticamente inferiore nei portatori di una mutazione rispetto quelli con malattia sporadica. Considerando unicamente i pazienti con età ≤ 18 anni, Neumann seleziona una popolazione di 48 individui dei quali 27 (56%) risultano avere una sindrome genetica associata (20 VHL, 3 SDHD, 4 SDHB). Tale percentuale aumenta ancora abbassando l'età considerata, tanto che il 70% dei pazienti con meno di 10 anni di età risultano avere una mutazione germinale.

Lo studio da noi condotto prende in considerazione unicamente l'età pediatrica e conferma parzialmente lavori già pubblicati. Nella nostra popolazione la prevalenza di VHL è stata del 16% (2/12 casi analizzati), mentre quella SDHx è stata del 35% (5/14). Complessivamente 7 dei 14 casi analizzati è risultata positiva per una mutazione genetica per una prevalenza totale del 50%. Il dato da noi riportato è simile a quanto riportato da Neumann e supporterebbe l'ipotesi che un'età precoce di insorgenza di feocromocitoma è strettamente correlata ad una anomalia genetica di base.

Va però tenuto presente la possibilità di un bias di selezione in quanto i casi sono stati registrati nello studio anche grazie alle segnalazioni di laboratori di analisi genetica dove possono essere stati inviati i campioni per casi maggiormente sospetti per anomalie genetiche. In realtà un'analisi della provenienza dei nostri campioni ha dimostrato che solo in un caso il campione sia stato inviato direttamente al laboratorio con sospetto di malattia genetica.

In 3 dei 7 pazienti era presente un dato anamnestico che poteva far sospettare una anomalia genetica, infatti due hanno presentato tumore bilaterale (ambedue positivi per VHL) e in un caso il feocromocitoma era già presente in famiglia. Si conferma che in casi pediatrici con anamnesi positiva è assolutamente necessario eseguire screening genetico.

D'altra parte gli altri 4 casi non presentavano alcun dato sospetto e quindi l'età giovanile appare di per sé un'indicazione allo screening genetico.

Non abbiamo riscontrato differenze cliniche sostanziali fra pazienti sindromici e non sindromici, se non la tendenza nei pazienti sindromici a sviluppare masse più voluminose.

Riguardo i risultati del trattamento abbiamo riscontrato una differenza fra pazienti con feocromocitoma (solo un paziente su 10 ha presentato una recidiva) e quelli affetti da paraganglioma (3/10 hanno avuto una recidiva).

6) CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE SUL LAVORO SVOLTO

E' ormai un'evidenza indiscussa che una neoplasia sia frutto di multiple mutazioni nel DNA nelle cellule tumorali. In contrasto con l'elevata frequenza di queste mutazioni somatiche, la percentuale di tumori con una chiara componente ereditaria è bassa. Numerosi studi hanno suggerito che tra il 4% e il 10% dei tumori pediatrici sia il frutto di mutazioni genetiche ereditarie^{235,236}. "Ereditario" in questo caso significa che l'alterazione genetica viene trasmessa da uno dei genitori o che vi è stata una nuova mutazione costituzionale nell'ovocita o nello spermatozoo prima della fecondazione. Per il riconoscimento di queste family cancer syndromes è fondamentale raccogliere un'accurata anamnesi personale e familiare con particolare attenzione alla presenza di tumori e alla loro età di insorgenza; infatti in queste sindromi può mancare un fenotipo caratteristico per identificare gli individui affetti.

Merks^{237,238} ha condotto un'importante lavoro al fine di determinare la prevalenza di anomalie morfologiche legate a disturbi genetici nei pazienti con tumore. A tal fine ha arruolato una coorte di 1073 pazienti sopravvissuti ad una neoplasia in età pediatrica (casi) e li ha paragonati con una seconda coorte di 1007 bambini in età scolare (controlli) arruolati offrendo un bilancio generale dello stato di salute. La prevalenza di anomalie morfologiche è risultata significativamente più alta nei casi che nei controlli, a dimostrare che vi è un ruolo importante dei difetti genetici costituzionali e/o dei fattori ambientali prenatali nell'oncogenesi pediatrica. In 42 casi (3.9%) è stata diagnosticata una sindrome genetica, dato molto più elevato rispetto a ciò che si osserva nella popolazione generale, i cui una sindrome genetica è presente in meno dell'1%²³⁹; inoltre nella metà circa dei casi la sindrome genetica non era stata riconosciuta prima di questo studio, a dimostrare che queste diagnosi vengono frequentemente sottostimate.

La presenza di un tumore raro in una popolazione pediatrica può essere considerata parte della storia naturale della malattia oppure può essere ipotizzato che l'evento sia il frutto di uno o più fattori predisponenti. Nel caso dei tumori pediatrici la componente genetica ha una rilevanza importante in quanto i bambini sono in teoria meno esposti a fattori esterni.

Per quello che noi conosciamo attualmente la componente ereditaria è più spiccata in tumori pediatrici rari quali il carcinoma adrenocorticale (50-80%) o il retinoblastoma (40%) che per tumori più frequenti quali le leucemie (2,5-5%) o il tumore di Wilms (3-5%)²⁴⁰.

TIPO DI TUMORE	COMPONENTE EREDITARIA (%)
Carcinoma adrenocorticale	50-80
Glioma ottico	45
Retinoblastoma	40
Feocromocitoma	25
Tumore di Wilms	3-5
Neoplasie del SNC	<1-3
Leucemia	2,5-5

Per molti tumori pediatrici rari la componente genetica non è nota o lo è solo parzialmente in quanto gli studi eseguiti si sono rivolti essenzialmente a popolazioni di tipo adulto. Ci è sembrato quindi giustificato esplorare questa componente in due neoplasie rare come il carcinoma renale e il feocromocitoma/paraganglioma.

Mentre per il carcinoma renale i nostri dati, seppur parziali, non rivelerebbero una componente genetica significativa, tale componente appare eclatante nei pazienti affetti da feocromocitoma/paraganglioma.

Infatti il 50% dei bambini da noi analizzati è risultato positivo per una delle mutazioni genetiche analizzate (VHL, RET, SDHB, SDHC, SDHD).

Tale conclusione è importante perché una parte sostanziale della popolazione analizzata non aveva eseguito nessuna indagine dopo la chirurgia.

E' quindi cruciale che questi pazienti, dopo la presa in carico di tipo chirurgico, siano valutati anche dal genetista per il counselling ed il completamento dell'iter diagnostico. Come abbiamo visto, il ritrovamento di una mutazione in un paziente deve poi consentire l'allargamento dell'indagine genetica a tutta la famiglia, per attuare, se necessario, gli opportuni programmi di sorveglianza clinica.

7) SVILUPPI FUTURI

Per quanto riguarda gli sviluppi futuri, si intravede la possibilità di riprodurre il modello messo a punto per il carcinoma renale ed il feocromocitoma ad altre neoplasie rare per le quali sia stata descritta l'associazione con una o più family cancer syndrome.

Infatti il nostro studio verrà esteso al carcinoma adrenocorticale. Questa neoplasia rappresenta lo 0.2% dei tumori pediatrici ed un'incidenza aumentata è stata descritta nei pazienti con emiipertrofia isolata, sindrome di Beckwith-Wiedemann, iperplasia surrenalica congenita, sindrome di Li- Fraumeni, MEN1²⁴¹ e Carney complex²⁴² (vedi tabella sottostante).

SINDROME	EREDITARIETA	LOCUS	GENE	PROTEINA	CLINICA
Beckwith-Wiedemann	variabile	11p15	vari	varie	Macroglossia, macrosomia o iperaccrescimento, difetti della parete addominale, organomegalia
Li-Fraumeni	AD	17p13.1	TP53	In attivazione della funzione oncosoppressiva della p53	predisposizione a tumori diversi
MEN 1	AD	11q13	MEN1	Inattivazione oncosoppressore codificante per la MENINA	Predisposizione a tumori diversi (paratiroidi, pancreas endocrino, ipofisi anteriore, altri)
Emiiperplasia	Sporad.	ignoto	ignoto	ignota	Asimmetria corporea/emitrofia, scoliosi, scoliosi, torace asimmetrico, denti malposizionati, faccia asimmetrica, ritardo mentale/psicomotorio.
Carney complex type 1	AD	17q23-q24	PRKAR1A	Oncosoppressore	Predisposizione a tumori diversi

Per quanto riguarda la Sindrome di Li-Fraumeni, uno studio di analisi molecolare ha dimostrato che il 50% dei bambini con carcinoma adrenocorticale ha una mutazione germline TP53, suggerendo che tale neoplasia in età pediatrica possa essere la prima manifestazione di questa malattia all'interno di una famiglia²⁴³.

Sarà quindi estremamente interessante, sia dal punto di vista della ricerca sia per le possibili ricadute sul piano clinico, estendere il nostro campo di ricerca a questa neoplasia.

8) APPENDICE

CARCINOMA RENALE E SINDROMI GENETICHE SCHEMA ANAMNESTICA

COGNOME
NOME
D.N.

Le risulta che suo figlio o qualche suo parente (inclusi nonni, zii, cugini) sia affetto da **Sindrome di Von Hippel-Lindau**?

NO SI (vedi note)

Suo figlio o qualche membro della sua famiglia ha manifestato:

- emangioblastomi del SNC? NO SI (vedi note)
- emangioblastomi retinici? NO SI (vedi note)
- feocromocitoma? NO SI (vedi note)
- cisti pancreatiche o t. neuroendocrini pancreatici? NO SI (vedi note)
- t. del sacco endolinfatico? NO SI (vedi note)

Le risulta che suo figlio o qualche suo parente sia affetto da **Sindrome del Carcinoma renale papillare**?

NO SI (vedi note)

Per cercare di capire se qualcuno nella sua famiglia ha manifestato una sindrome chiamata "**Leiomiomatosi familiare e carcinoma renale**", mi sa dire se qualcuno nella sua famiglia ha manifestato:

- leiomiomi cutanei multipli? NO SI (vedi note)
- leiomiomi uterini? NO SI (vedi note)
- carcinoma renale? NO SI (vedi note)

Le risulta che suo figlio o qualche suo parente sia affetto da **Sindrome di Birth-Hogg-Dubé**?

NO SI (vedi note)

Qualcuno nella sua famiglia ha manifestato:

- | | | |
|---|----|----------------|
| • fibrofollicolomi, tricodiscomi e acrocordoni cutanei? | NO | SI (vedi note) |
| • cisti polmonari o pneumotorace spontaneo? | NO | SI (vedi note) |
| • tumori renali? | NO | SI (vedi note) |

Per escludere una sindrome che può associarsi al ca. renale (**Sindrome “Iperparatiroidismo/tumore della mandibola”**), ma sa dire se nella sua famiglia qualcuno è stato affetto da:

- | | | |
|---------------------------|----|----------------|
| • iperparatiroidismo? | NO | SI (vedi note) |
| • tumore della mandibola? | NO | SI (vedi note) |

Le risulta che suo figlio o qualche suo parente sia affetto da **Sindrome di Beckwith-Wiedemann**?

NO SI (vedi note)

Qualcuno nella sua famiglia ha manifestato:

- | | | |
|------------------------------------|----|----------------|
| • macroglossia? | NO | SI (vedi note) |
| • macrosomia? | NO | SI (vedi note) |
| • iperaccrescimento? | NO | SI (vedi note) |
| • difetti della parete addominale? | NO | SI (vedi note) |
| • organomegalia? | NO | SI (vedi note) |

Le risulta che suo figlio o qualche suo parente (inclusi nonni, zii, cugini) sia affetto da **Sindrome di Cowden**?

NO SI (vedi note)

Qualcuno nella sua famiglia ha manifestato:

- | | | |
|--|----|----------------|
| • amartomi a livello di cute, mammella, tiroide, tubo digerente, endometrio, cervello? | NO | SI (vedi note) |
| • t. maligni a livello di mammella, endometrio, cute? | NO | SI (vedi note) |

8) BIBLIOGRAFIA

-
- ¹ Zipursky A, Peeters M, Poon A. Megakaryoblastic leukemia and Down's syndrome: a review. *Pediatr Hematol Oncol.* 1987;4(3):211-30. Review.
- ² Avet-Loiseau H, Mechinaud F, Harousseau JL. Clonal hematologic disorders in Down syndrome. A review. *J Pediatr Hematol Oncol.* 1995 Feb;17(1):19-24. Review.
- ³ The Fourth International Workshop on Chromosomes in Leukemia: a prospective study of acute nonlymphocytic leukemia. Chicago, Illinois, U.S.A., September 2-7, 1982. *Cancer Genet Cytogenet.* 1984 Mar;11(3):249-360.
- ⁴ Lu G, Altman AJ, Benn PA. Review of the cytogenetic changes in acute megakaryoblastic leukemia: one disease or several? *Cancer Genet Cytogenet.* 1993 Jun;67(2):81-9.
- ⁵ Manuel M, Katayama PK, Jones HW Jr. The age of occurrence of gonadal tumors in intersex patients with a Y chromosome. *Am J Obstet Gynecol.* 1976 Feb 1;124(3):293-300.
- ⁶ Hook EB, Warburton D. The distribution of chromosomal genotypes associated with Turner's syndrome: livebirth prevalence rates and evidence for diminished fetal mortality and severity in genotypes associated with structural X abnormalities or mosaicism. *Hum Genet.* 1983;64(1):24-7.
- ⁷ Lau YF. Gonadoblastoma, testicular and prostate cancers, and the TSPY gene. *Am J Hum Genet.* 1999 Apr;64(4):921-7. Review.
- ⁸ Reiner WG. Assignment of sex in neonates with ambiguous genitalia. *Curr Opin Pediatr.* 1999 Aug;11(4):363-5. Review.
- ⁹ Chaussain JL, Lemerle J, Roger M, Canlorbe P, Job JC. Klinefelter syndrome, tumor, and sexual precocity. *J Pediatr.* 1980 Oct;97(4):607-9.
- ¹⁰ Bussey KJ, Lawce HJ, Olson SB, Arthur DC, Kalousek DK, Krailo M, Giller R, Heifetz S, Womer R, Magenis RE. Chromosome abnormalities of eighty-one pediatric germ cell tumors: sex-, age-, site-, and histopathology-related differences--a Children's Cancer Group study. *Genes Chromosomes Cancer.* 1999 Jun;25(2):134-46.
- ¹¹ Hultborn R, Hanson C, Köpf I, Verbiené I, Warnhammar E, Weimarck A. Prevalence of Klinefelter's syndrome in male breast cancer patients. *Anticancer Res.* 1997 Nov-Dec;17(6D):4293-7.
- ¹² Evans DB, Crichlow RW. Carcinoma of the male breast and Klinefelter's syndrome: is there an association? *CA Cancer J Clin.* 1987 Jul-Aug;37(4):246-51. Review.
- ¹³ van Geel AN, van Slooten EA, Mavrunac M, Hart AA. A retrospective study of male breast cancer in Holland. *Br J Surg.* 1985 Sep;72(9):724-7.

-
- ¹⁴ Riccardi VM, Sujansky E, Smith AC, Francke U. Chromosomal imbalance in the Aniridia-Wilms' tumor association: 11p interstitial deletion. *Pediatrics*. 1978 Apr;61(4):604-10.
- ¹⁵ Francke U, Holmes LB, Atkins L, Riccardi VM. Aniridia-Wilms' tumor association: evidence for specific deletion of 11p13. *Cytogenet Cell Genet*. 1979;24(3):185-92.
- ¹⁶ Little M, Holmes G, Walsh P. WT1: what has the last decade told us? *Bioessays*. 1999 Mar;21(3):191-202.
- ¹⁷ Call KM, Glaser T, Ito CY et al. Isolation and characterization of a zinc finger polypeptide gene at the human chromosome 11 Wilms' tumor locus. *Cell* 1990; 60: 509-520.
- ¹⁸ Huff V. Genotype/phenotype correlations in Wilms' tumor. *Med Pediatr Oncol*. 1996 Nov;27(5):408-14.
- ¹⁹ Pelletier J, Bruening W, Li FP, Haber DA, Glaser T, Housman DE. WT1 mutations contribute to abnormal genital system development and hereditary Wilms' tumour. *Nature*. 1991 Oct ;353(6343):431-4.
- ²⁰ Schwartz CE, Haber DA, Stanton VP, Strong LC, Skolnick MH, Housman DE. Familial predisposition to Wilms tumor does not segregate with the WT1 gene. *Genomics*. 1991 Aug;10(4):927-30.
- ²¹ McDonald JM, Douglass EC, Fisher R, Geiser CF, Krill CE, Strong LC, Virshup D, Huff V. Linkage of familial Wilms' tumor predisposition to chromosome 19 and a two-locus model for the etiology of familial tumors. *Cancer Res*. 1998 Apr 1;58(7):1387-90.
- ²² Bonaïti-Pellié C, Chompret A, Tournade MF, Hochez J, Moutou C, Zucker JM, Steschenko D, Brunat-Mentigny M, Roché H, Tron P, et al. Genetics and epidemiology of Wilms' tumor: the French Wilms' tumor study. *Med Pediatr Oncol*. 1992;20(4):284-91.
- ²³ Elliott M, Bayly R, Cole T, Temple IK, Maher ER. Clinical features and natural history of Beckwith-Wiedemann syndrome: presentation of 74 new cases. *Clin Genet*. 1994 Aug;46(2):168-74.
- ²⁴ Green DM, Breslow NE, Beckwith JB, Norkool P. Screening of children with hemihypertrophy, aniridia, and Beckwith-Wiedemann syndrome in patients with Wilms tumor: a report from the National Wilms Tumor Study. *Med Pediatr Oncol*. 1993;21(3):188-92.
- ²⁵ Wiedemann HR. Tumours and hemihypertrophy associated with Wiedemann-Beckwith syndrome (Letter). *Eur J Pediatr*. 1983;141:129.
- ²⁶ DeBaun MR, Tucker MA. Risk of cancer during the first four years of life in children from The Beckwith-Wiedemann Syndrome Registry. *J Pediatr*. 1998 Mar;132(3 Pt 1):398-400.
- ²⁷ Weksberg R, Squire JA. Molecular biology of Beckwith-Wiedemann syndrome. *Med Pediatr Oncol*. 1996 Nov;27(5):462-9.

-
- ²⁸ Koufos A, Grundy P, Morgan K, Aleck KA, Hadro T, Lampkin BC, Kalbakji A, Cavenee WK. Familial Wiedemann-Beckwith syndrome and a second Wilms tumor locus both map to 11p15.5. *Am J Hum Genet.* 1989 May;44(5):711-9.
- ²⁹ Viljoen D, Ramesar R. Evidence for paternal imprinting in familial Beckwith-Wiedemann syndrome. *J Med Genet.* 1992 Apr;29(4):221-5.
- ³⁰ Moutou C, Hochez J, Chompert A, Tournade MF, Le Bihan C, Zucker JM, Lemerle J, Bonaïti-Pellié C. The French Wilms' tumour study: no clear evidence for cancer prone families. *J Med Genet.* 1994 Jun;31(6):429-34.
- ³¹ Slavotinek A, Gaunt L, Donnai D. Paternally inherited duplications of 11p15.5 and Beckwith-Wiedemann syndrome. *J Med Genet.* 1997 Oct;34(10):819-26.
- ³² Tycko B. Epigenetic gene silencing in cancer. *J Clin Invest.* 2000 Feb;105(4):401-7.
- ³³ Slatter RE, Elliott M, Welham K, Carrera M, Schofield PN, Barton DE, Maher ER. Mosaic uniparental disomy in Beckwith-Wiedemann syndrome. *J Med Genet.* 1994 Oct;31(10):749-53.
- ³⁴ Reik W, Constancia M, Dean W, Davies K, Bowden L, Murrell A, Feil R, Walter J, Kelsey G. Igf2 imprinting in development and disease. *Int J Dev Biol.* 2000;44(1):145-50.
- ³⁵ Reik W, Maher ER. Imprinting in clusters: lessons from Beckwith-Wiedemann syndrome. *Trends Genet.* 1997 Aug;13(8):330-4.
- ³⁶ Maher ER, Reik W. Beckwith-Wiedemann syndrome: imprinting in clusters revisited. *J Clin Invest.* 2000 Feb;105(3):247-52.
- ³⁷ Baysal BE, Ferrell RE, Willett-Brozick JE, Lawrence EC, Myssiorek D, Bosch A, van der Mey A, Taschner PE, Rubinstein WS, Myers EN, Richard CW 3rd, Cornelisse CJ, Devilee P, Devlin B. Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science.* 2000 Feb 4;287(5454):848-51.
- ³⁸ Baysal BE, van Schothorst EM, Farr JE, Grashof P, Myssiorek D, Rubinstein WS, Taschner P, Cornelisse CJ, Devlin B, Devilee P, Richard CW 3rd. Repositioning the hereditary paraganglioma critical region on chromosome band 11q23. *Hum Genet.* 1999 Mar;104(3):219-25.
- ³⁹ Niemann S, Steinberger D, Müller U. PGL3, a third, not maternally imprinted locus in autosomal dominant paraganglioma. *Neurogenetics.* 1999 Sep;2(3):167-70.
- ⁴⁰ Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1971 Apr;68(4):820-3.
- ⁴¹ Knudson AG. Hereditary and Human cancer. *Am J pathol.* 1974; 77:77-84.
- ⁴² Friend SH, Bernards R, Rogelj S, Weinberg RA, Rapaport JM, Albert DM, Dryja TP. A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature.* 1986 Oct 16-22;323(6089):643-6.

-
- ⁴³ Beijersbergen RL, Bernards R. Cell cycle regulation by the retinoblastoma family of growth inhibitory proteins. *Biochim Biophys Acta*. 1996 Jun 7;1287(2-3):103-20.
- ⁴⁴ Sellers WR, Kaelin WG Jr. Role of the retinoblastoma protein in the pathogenesis of human cancer. *J Clin Oncol*. 1997 Nov;15(11):3301-12.
- ⁴⁵ Li FP, Fraumeni JF Jr. Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms. A familial syndrome? *Ann Intern Med*. 1969 Oct;71(4):747-52.
- ⁴⁶ Li FP, Fraumeni JF Jr. Rhabdomyosarcoma in children: epidemiologic study and identification of a familial cancer syndrome. *J Natl Cancer Inst*. 1969 Dec;43(6):1365-73.
- ⁴⁷ Garber JE, Goldstein AM, Kantor AF, Dreyfus MG, Fraumeni JF Jr, Li FP. Follow-up study of twenty-four families with Li-Fraumeni syndrome. *Cancer Res*. 1991 Nov 15;51(22):6094-7.
- ⁴⁸ Li FP, Fraumeni JF Jr, Mulvihill JJ, Blattner WA, Dreyfus MG, Tucker MA, Miller RW. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. *Cancer Res*. 1988 Sep 15;48(18):5358-62.
- ⁴⁹ Pang JT, Thakker RV. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). *Eur J Cancer*. 1994;30A(13):1961-8.
- ⁵⁰ Chandrasekharappa SC, Guru SC, Manickam P, Olufemi SE, Collins FS, Emmert-Buck MR, Debelenko LV, Zhuang Z, Lubensky IA, Liotta LA, Crabtree JS, Wang Y, Roe BA, Weisemann J, Boguski MS, Agarwal SK, Kester MB, Kim YS, Heppner C, Dong Q, Spiegel AM, Burns AL, Marx SJ. Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type 1. *Science*. 1997 Apr 18;276(5311):404-7.
- ⁵¹ Larsson C, Skogseid B, Oberg K, Nakamura Y, Nordenskjöld M. Multiple endocrine neoplasia type 1 gene maps to chromosome 11 and is lost in insulinoma. *Nature*. 1988 Mar 3;332(6159):85-7.
- ⁵² Telander RL, Moir CR. Medullary thyroid carcinoma in children. *Semin Pediatr Surg*. 1994 Aug;3(3):188-93.
- ⁵³ Ponder BA. Screening for familial medullary thyroid carcinoma: a review. *J R Soc Med*. 1984 Jul;77(7):585-94.
- ⁵⁴ Gardner E, Papi L, Easton DF, Cummings T, Jackson CE, Kaplan M, Love DR, Mole SE, Moore JK, Mulligan LM, et al. Genetic linkage studies map the multiple endocrine neoplasia type 2 loci to a small interval on chromosome 10q11.2. *Hum Mol Genet*. 1993 Mar;2(3):241-6.
- ⁵⁵ Mole SE, Mulligan LM, Healey CS, Ponder BA, Tunnacliffe A. Localisation of the gene for multiple endocrine neoplasia type 2A to a 480 kb region in chromosome band 10q11.2. *Hum Mol Genet*. 1993 Mar;2(3):247-52.
- ⁵⁶ Hofstra RM, Landsvater RM, Ceccherini I, Stulp RP, Stelwagen T, Luo Y, Pasini B, Höppener JW, van Amstel HK, Romeo G, et al. A mutation in the RET proto-oncogene

associated with multiple endocrine neoplasia type 2B and sporadic medullary thyroid carcinoma. *Nature*. 1994 Jan 27;367(6461):375-6.

⁵⁷ Carlson KM, Dou S, Chi D, Scavarda N, Toshima K, Jackson CE, Wells SA Jr, Goodfellow PJ, Donis-Keller H. Single missense mutation in the tyrosine kinase catalytic domain of the RET protooncogene is associated with multiple endocrine neoplasia type 2B. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Feb 15;91(4):1579-83.

⁵⁸ Gimm O, Marsh DJ, Andrew SD, Frilling A, Dahia PL, Mulligan LM, Zajac JD, Robinson BG, Eng C. Germline dinucleotide mutation in codon 883 of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2B without codon 918 mutation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Nov;82(11):3902-4.

⁵⁹ Smith DP, Houghton C, Ponder BA. Germline mutation of RET codon 883 in two cases of de novo MEN 2B. *Oncogene*. 1997 Sep 4;15(10):1213-7.

⁶⁰ Mulligan LM, Ponder BA. Genetic basis of endocrine disease: multiple endocrine neoplasia type 2. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995 Jul;80(7):1989-95.

⁶¹ Martucciello G, Ceccherini I, Lerone M, Jasonni V. Pathogenesis of Hirschsprung's disease. *J Pediatr Surg*. 2000 Jul;35(7):1017-25.

⁶² Wells SA Jr, Donis-Keller H. Current perspectives on the diagnosis and management of patients with multiple endocrine neoplasia type 2 syndromes. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1994 Mar;23(1):215-28.

⁶³ Skinner MA, DeBenedetti MK, Moley JF, Norton JA, Wells SA Jr. Medullary thyroid carcinoma in children with multiple endocrine neoplasia types 2A and 2B. *J Pediatr Surg*. 1996 Jan;31(1):177-81; discussion 181-2.

⁶⁴ Gutmann DH, Geist RT, Rose K, Wallin G, Moley JF. Loss of neurofibromatosis type I (NF1) gene expression in pheochromocytomas from patients without NF1. *Genes Chromosomes Cancer*. 1995 Jun;13(2):104-9.

⁶⁵ Gutmann DH, Aylsworth A, Carey JC, Korf B, Marks J, Pyeritz RE, Rubenstein A, Viskochil D.

The diagnostic evaluation and multidisciplinary management of neurofibromatosis 1 and neurofibromatosis 2. *JAMA*. 1997 Jul 2;278(1):51-7. Review.

⁶⁶ Matsui I, Tanimura M, Kobayashi N, Sawada T, Nagahara N, Akatsuka J. Neurofibromatosis type 1 and childhood cancer. *Cancer*. 1993 Nov 1;72(9):2746-54.

⁶⁷ Shearer P, Parham D, Kovnar E, Kun L, Rao B, Lobe T, Pratt C. Neurofibromatosis type I and malignancy: review of 32 pediatric cases treated at a single institution. *Med Pediatr Oncol*. 1994;22(2):78-83.

⁶⁸ Doorn PF, Molenaar WM, Buter J, Hoekstra HJ. Malignant peripheral nerve sheath tumors in patients with and without neurofibromatosis. *Eur J Surg Oncol*. 1995 Feb;21(1):78-82.

-
- ⁶⁹ Neurofibromatosis and childhood leukemia. Bader JL, Miller RW. *J Pediatr*. 1978 Jun;92(6):925-9.
- ⁷⁰ Shannon KM, Watterson J, Johnson P, O'Connell P, Lange B, Shah N, Steinherz P, Kan YW, Priest JR. Monosomy 7 myeloproliferative disease in children with neurofibromatosis, type 1: epidemiology and molecular analysis. *Blood*. 1992 Mar 1;79(5):1311-8. Review.
- ⁷¹ Brodeur GM. The NF1 gene in myelopoiesis and childhood myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*. 1994 Mar 3;330(9):637-9.
- ⁷² O'Marcaigh AS, Shannon KM. Role of the NF1 gene in leukemogenesis and myeloid growth control. *J Pediatr Hematol Oncol*. 1997 Nov-Dec;19(6):551-4. Review.
- ⁷³ Gutmann DH, Aylsworth A, Carey JC, Korf B, Marks J, Pyeritz RE, Rubenstein A, Viskochil D. The diagnostic evaluation and multidisciplinary management of neurofibromatosis 1 and neurofibromatosis 2. *JAMA*. 1997 Jul 2;278(1):51-7. Review.
- ⁷⁴ Cancer. A gene for neurofibromatosis 2. Kinzler KW, Vogelstein B. *Nature*. 1993 Jun 10;363(6429):495-6.
- ⁷⁵ Kwiatkowski DJ, Short MP. Tuberous sclerosis. *Arch Dermatol*. 1994 Mar;130(3):348-54. Review.
- ⁷⁶ Smalley SL, Burger F, Smith M. Phenotypic variation of tuberous sclerosis in a single extended kindred. *J Med Genet*. 1994 Oct;31(10):761-5.
- ⁷⁷ Sampson JR, Harris PC. The molecular genetics of tuberous sclerosis. *Hum Mol Genet*. 1994;3 Spec No:1477-80.
- ⁷⁸ The European Chromosome 16 Tuberous Sclerosis Consortium. Identification and characterization of the sclerosis gene on chromosome 16. *Cell* 1993; 75: 1305-1315.
- ⁷⁹ Wienecke R, König A, DeClue JE. Identification of tuberin, the tuberous sclerosis-2 product. Tuberin possesses specific Rap1GAP activity. *J Biol Chem*. 1995 Jul 7;270(27):16409-14.
- ⁸⁰ Green AJ, Johnson PH, Yates JR. The tuberous sclerosis gene on chromosome 9q34 acts as a growth suppressor. *Hum Mol Genet*. 1994 Oct;3(10):1833-4.
- ⁸¹ Green AJ, Smith M, Yates JR. Loss of heterozygosity on chromosome 16p13.3 in hamartomas from tuberous sclerosis patients. *Nat Genet*. 1994 Feb;6(2):193-6.
- ⁸² Gorlin RJ, Goltz RW. Multiple nevoid basal-cell epithelioma, jaw cysts and bifid rib. A syndrome. *N Engl J Med*. 1960 May 5;262:908-12.
- ⁸³ Gorlin RJ. Nevoid basal-cell carcinoma syndrome. *Medicine (Baltimore)*. 1987 Mar;66(2):98-113. Review.
- ⁸⁴ Gorlin RJ. Nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Dermatol Clin*. 1995 Jan;13(1):113-25. Review.

-
- ⁸⁵ Evans DG, Farndon PA, Burnell LD, Gattamaneni HR, Birch JM. The incidence of Gorlin syndrome in 173 consecutive cases of medulloblastoma. *Br J Cancer*. 1991 Nov;64(5):959-61. Review.
- ⁸⁶ Gailani MR, Bale AE. Acquired and inherited basal cell carcinomas and the patched gene. *Adv Dermatol*. 1999;14:261-83; discussion 284. Review.
- ⁸⁷ Kraemer KH, Lee MM, Scotto J. DNA repair protects against cutaneous and internal neoplasia: evidence from xeroderma pigmentosum. *Carcinogenesis*. 1984 Apr;5(4):511-4.
- ⁸⁸ Gartler S. Inborn errors of metabolism at the cell culture level. Second International Conference on Congenital Malformations 1964; 94 (abst).
- ⁸⁹ Cleaver JE. Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. *Nature*. 1968 May 18;218(5142):652-6.
- ⁹⁰ Bootsma D, Hoeijmakers JH. The genetic basis of xeroderma pigmentosum. *Ann Genet*. 1991;34(3-4):143-50. Review.
- ⁹¹ Wood RD. DNA repair. Seven genes for three diseases. *Nature*. 1991 Mar 21;350(6315):190.
- ⁹² German J. Bloom's syndrome. *Dermatol Clin*. 1995 Jan;13(1):7-18. Review.
- ⁹³ Shen JC, Loeb LA. The Werner syndrome gene: the molecular basis of RecQ helicase-deficiency diseases. *Trends Genet*. 2000 May;16(5):213-20. Review.
- ⁹⁴ Wang L. The. *Am J Hum Genet* 2000; 65: A348 (abst).
- ⁹⁵ Onoda F, Seki M, Miyajima A, Enomoto T. Elevation of sister chromatid exchange in *Saccharomyces cerevisiae* sgs1 disruptants and the relevance of the disruptants as a system to evaluate mutations in Bloom's syndrome gene. *Mutat Res*. 2000 Apr 28;459(3):203-9.
- ⁹⁶ Woods CG, Taylor AM. Q. Ataxia telangiectasia in the British Isles: the clinical and laboratory features of 70 affected individuals. *J Med*. 1992 Feb;82(298):169-79.
- ⁹⁷ Hecht F., R. D. Koler, D. A. Rigas, G. S. Dahnke, M. P. Case, V. Tisdale, and R. W. Miller: Leukaemia and lymphocytes in ataxia-telangiectasia. *Lancet* 1966/II, 1193
- ⁹⁸ Hecht F, Hecht BK. Cancer in ataxia-telangiectasia patients. *Cancer Genet Cytogenet*. 1990 May;46(1):9-19. Review.
- ⁹⁹ Sandoval C, Swift M. Treatment of lymphoid malignancies in patients with ataxia-telangiectasia. *Med Pediatr Oncol*. 1998 Dec;31(6):491-7.
- ¹⁰⁰ Easton D, Peto J. The contribution of inherited predisposition to cancer incidence. *Cancer Surv* 1990; 9:395-416.

-
- ¹⁰¹ Zhao WP, Gnarr JR, Liu S, Knutsen T, Linehan WM, Whang-Peng J, Zhao WP. Renal cell carcinoma. Cytogenetic analysis of tumors and cell lines. *Cancer Genet Cytogenet* 1995.
- ¹⁰² Riches EW, Griffiths IH, Thackray AC. New growths of the kidney and ureter. *Br J Urol*. 1951 Dec;23(4):297-356.
- ¹⁰³ Kumar S, Carr T, Marsden HB, Calabuig-Crespo MC. Study of childhood renal tumours using antisera to fibronectin, laminin, and epithelial membrane antigen. *J Clin Pathol*. 1986 Jan;39(1):51-7.
- ¹⁰⁴ Booth CM. Renal parenchymal carcinoma in children. *Br J Surg*. 1986 Apr;73(4):313-7.
- ¹⁰⁵ Young JL Jr, Miller RW. Incidence of malignant tumors in U. S. children. *J Pediatr*. 1975 Feb;86(2):254-8.
- ¹⁰⁶ Castellanos RD, Arons BS, Evans AT: Renal adenocarcinoma in children: incidence, therapy and prognosis. *J Urol* 111:534-37,1974
- ¹⁰⁷ Dehner LP, Leetsma JE, Price EB: Renal cell carcinoma in children: A clinicopathologic study of 15 cases and a review of the literature. *J Pediatr* 76:358-68,1970
- ¹⁰⁸ Stenzl A, de Kerion JB: Pathology, biology, and clinical staging of renal cell carcinoma. *Semin Oncol* 16:3-11, 1989
- ¹⁰⁹ Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. *J Urol*. 2003 Dec;170(6 Pt 1):2163-72. Review.
- ¹¹⁰ WHO Classification of Tumours – Pathology and genetics – Tumours of the urinary system and male genital organs – Eble JN, Sauter G, Epstein JI, and Sesterhenn IA eds. – IARC Press 2004
- ¹¹¹ Bruder E, Passera O, Harms D, Leuschner I, Ladanyi M, Argani P, Eble JN, Struckmann K, Schraml P, Moch H. Morphologic and molecular characterization of renal cell carcinoma in children and young adults. *Am J Surg Pathol*. 2004 Sep;28(9):1117-32.
- ¹¹² Muir TE, Chevillat JC, Lager DJ. Metanephric adenoma, nephrogenic rests, and Wilms' tumor: a histologic and immunophenotypic comparison. *Am J Surg Pathol*. 2001 Oct;25(10):1290-6.
- ¹¹³ Argani P and Ladanyi M: Translocation carcinomas of the kidney. *Clin Lab Med* 2005; 25:363
- ¹¹⁴ Argani P, Antonescu CR, Illei PB, Lui MY, Timmons CF, Newbury R, Reuter VE, Garvin AJ, Perez-Atayde AR, Fletcher JA, Beckwith JB, Bridge JA, Ladanyi M. Primary renal neoplasms with the ASPL-TFE3 gene fusion of alveolar soft part sarcoma: a distinctive tumor entity previously included among renal cell carcinomas of children and adolescents. *Am J Pathol*. 2001 Jul;159(1):179-92.
- ¹¹⁵ Argani P, Antonescu CR, Couturier J, Fournet JC, Sciort R, Debiec-Rychter M, Hutchinson B, Reuter VE, Boccon-Gibod L, Timmons C, Hafez N, Ladanyi M. PRCC-TFE3 renal

carcinomas: morphologic, immunohistochemical, ultrastructural, and molecular analysis of an entity associated with the t(X;1)(p11.2;q21). *Am J Surg Pathol.* 2002 Dec;26(12):1553-66.

¹¹⁶ Bruder E, Passera O, Harms D, Leuschner I, Ladanyi M, Argani P, Eble JN, Struckmann K, Schraml P, Moch H. Morphologic and molecular characterization of renal cell carcinoma in children and young adults. *Am J Surg Pathol.* 2004 Sep;28(9):1117-32.

¹¹⁷ Argani P, Olgac S, Tickoo SK, Goldfischer M, Moch H, Chan DY, Eble JN, Bonsib SM, Jimeno M, Lloreta J, Billis A, Hicks J, De Marzo AM, Reuter VE, Ladanyi M. Xp11 translocation renal cell carcinoma in adults: expanded clinical, pathologic, and genetic spectrum. *J Surg Pathol.* 2007 Aug;31(8):1149-60.

¹¹⁸ Bruder E, Passera O, Harms D, Leuschner I, Ladanyi M, Argani P, Eble JN, Struckmann K, Schraml P, Moch H. Morphologic and molecular characterization of renal cell carcinoma in children and young adults. *Am J Surg Pathol.* 2004 Sep;28(9):1117-32.

¹¹⁹ Skalsky YM, Ajuh PM, Parker C, Lamond AI, Goodwin G, Cooper CS (2001). PRCC, the commonest TFE3 fusion partner in papillary renal carcinoma is associated with pre-mRNA splicing factors. *Oncogene* 20: 178-187.

¹²⁰ Weterman MJ, van Groningen JJ, Jansen A, van Kessel AG (2000). Nuclear localization and transactivating capacities of the papillary renal cell carcinoma-associated TFE3 and PRCC (fusion) proteins. *Oncogene* 19: 69-74.

¹²¹ Furhman SA, Lasky RC, Limas C: Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 6:655-63,1982

¹²² Robson CJ, Churchill BM, Anderson W: The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. *J Urol* 101:297-301, 1969

¹²³ Middleton R.G, Presto AJ: Radical thoraco-abdominal nephrectomy for renal cell carcinoma. *J Urol* 110;36,1973

¹²⁴ De Kernion J.B. Radical nephrectomy. In Ehlich R.E. (Ed) *Modern techniques in surgery*, Futura, New York,1980

¹²⁵ Carcao MD, Glenn PT, Greenberg ML, et al: Renal-cell carcinoma in children: a different disorder from its adult counterpart? *Med Pediatr Oncol* 31: 153-58, 1998

¹²⁶ Duque JL, Loughlin KR, O'Leary P, et al: Partial nephrectomy: alternative treatment for selected patients with renal cell carcinoma

¹²⁷ Herring JC, Enquist EG, Chernoff A, et al: Parenchymal sparing surgery in patients with hereditary renal cell carcinoma: 10-year experience. *J Urol* 165:777-81,2001

¹²⁸ Paul R, Morhordst J, Busch R, et al: Adrenal sparing surgery during radical nephrectomy in patients with renal cell cancer: a new algorithm. *J Urol* 165:59-62,2001

¹²⁹ Uzzo RG, Novick AC: Nephron sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes. *J Urol* 166:6-18,2001.

-
- ¹³⁰ Pizzoccaro G, Piva L, Mapelli S, Zucchi V: Surgical treatment of distant metastases in renal cell carcinoma. *Arch It. Urol.* 63; 245-248,1991
- ¹³¹ Stenzl A, de Kerion JB: Pathology, biology, and clinical staging of renal cell carcinoma. *Semin Oncol* 16:3-11, 1989
- ¹³² Motzer RJ, Mazumdar M, Bacik J, et al: Effect of cytokine therapy on survival for patients with advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 18: 1928-35,2000
- ¹³³ Mac Arthur CA, Isaacs H, Miller JH, et al: Pediatric renal cell carcinoma: A complete response to recombinant interleukin-2 in a child with metastatic disease at diagnosis. *Med Pediatr Oncol* 23: 365-71,1994
- ¹³⁴ Atzpodien J, Körfer A, Franks CR, Poliwoda H, Kirchner H. Home therapy with recombinant interleukin-2 and interferon-alpha 2b in advanced human malignancies. *Lancet.* 1990 Jun 23;335(8704):1509-12.
- ¹³⁵ Childs R, Chernoff A, Contentin N, et al: Regression of metastatic renal-cell carcinoma after nonmyeloablative allogeneic peripheral-blood stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 343:750-58,2000
- ¹³⁶ Child R, Barrett J: Nonmyeloablative stem cell transplantation for solid tumors: expanding the application of allogeneic immunotherapy. *Semin Hematol* 39:63-71,2002
- ¹³⁷ Rini B, Zimmerman TM, Gajewski TF, et al: Allogeneic stem cell transplantation for metastatic renal cell cancer after non-myeloablative chemotherapy: engraftment rates, toxicity and initial clinical results. *Proc Am Soc Clin Oncol* 20:719, 2001 (abstr)
- ¹³⁸ Child R, Barrett J: Nonmyeloablative stem cell transplantation for solid tumors: expanding the application of allogeneic immunotherapy. *Semin Hematol* 39:63-71,2002
- ¹³⁹ Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, Oudard S, Negrier S, Szczylik C, Kim ST, Chen I, Bycott PW, Baum CM, Figlin RA. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med.* 2007 Jan 11;356(2):115-24
- ¹⁴⁰ Escudier B, Eisen T, Stadler WM, Szczylik C, Oudard S, Siebels M, Negrier S, Chevreau C, Solska E, Desai AA, Rolland F, Demkow T, Hutson TE, Gore M, Freeman S, Schwartz B, Shan M, Simantov R, Bukowski RM; TARGET Study Group. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med.* 2007 Jan 11;356(2):125-34. Erratum in: *N Engl J Med.* 2007 Jul 12;357(2):203.
- ¹⁴¹ Grandinetti CA, Goldspiel BR. Sorafenib and sunitinib: novel targeted therapies for renal cell cancer. *Pharmacotherapy.* 2007 Aug;27(8):1125-44.
- ¹⁴² Refae MA, Wong N, Patenaude F, Bégin LR, Foulkes WD. Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer: an unusual and aggressive form of hereditary renal carcinoma. *Nat Clin Pract Oncol.* 2007 Apr;4(4):256-61.

-
- ¹⁴³ Glenn GM, Choyke PL, Zbar B, Linehan WM. Von Hippel-Lindau disease: clinical review and molecular genetics. In: Problems in Urologic Surgery: Benign and Malignant Tumors of the Kidney. Edited by E. E. Andreson. Philadelphia: J. B. Lippincott Co., pp. 312-330, 1990.
- ¹⁴⁴ Neumann HP, Bender BU, Berger DP, Laubenberger J, Schultze-Seemann W, Wetterauer U, Ferstl FJ, Herbst EW, Schwarzkopf G, Hes FJ, Lips CJ, Lamiell JM, Masek O, Riegler P, Mueller B, Glavac D, Brauch H. Prevalence, morphology and biology of renal cell carcinoma in von Hippel-Lindau disease compared to sporadic renal cell carcinoma. *J Urol.* 1998 Oct;160(4):1248-54.
- ¹⁴⁵ Gnarr JR. von Hippel-Lindau gene mutations in human and rodent renal tumors--association with clear cell phenotype. *J Natl Cancer Inst.* 1998 Nov 18;90(22):1685-7.
- ¹⁴⁶ Schraml P, Hergovich A, Hatz F, Amin MB, Lim SD, Krek W, Mihatsch MJ, Moch H. Relevance of nuclear and cytoplasmic von hippel lindau protein expression for renal carcinoma progression. *Am J Pathol.* 2003 Sep;163(3):1013-20.
- ¹⁴⁷ Moch H, Presti JC Jr, Sauter G, Buchholz N, Jordan P, Mihatsch MJ, Waldman FM. Genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization are associated with clinical outcome in renal cell carcinoma. *Cancer Res.* 1996 Jan 1;56(1):27-30.
- ¹⁴⁸ Moch H, Schraml P, Bubendorf L, Richter J, Gasser TC, Mihatsch MJ, Sauter G. Intratumoral heterogeneity of von Hippel-Lindau gene deletions in renal cell carcinoma detected by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Res.* 1998 Jun 1;58(11):2304-9.
- ¹⁴⁹ Shuin T, Kondo K, Torigoe S, Kishida T, Kubota Y, Hosaka M, Nagashima Y, Kitamura H, Latif F, Zbar B, et al. Frequent somatic mutations and loss of heterozygosity of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in primary human renal cell carcinomas. Shuin T, Kondo K, Torigoe S, Kishida T, Kubota Y, Hosaka M, Nagashima Y, Kitamura H, Latif F, Zbar B, et al. *Cancer Res.* 1994 Jun 1;54(11):2852-5.
- ¹⁵⁰ Zbar B, Brauch H, Talmadge C, Linehan M. Loss of alleles of loci on the short arm of chromosome 3 in renal cell carcinoma. *Nature.* 1987 Jun 25-Jul 1;327(6124):721-4.
- ¹⁵¹ Brauch H, Weirich G, Brieger J, Glavac D, Rödl H, Eichinger M, Feurer M, Weidt E, Puranakanittha C, Neuhaus C, Pomer S, Brenner W, Schirmacher P, Störkel S, Rotter M, Masera A, Gugeler N, Decker HJ. VHL alterations in human clear cell renal cell carcinoma: association with advanced tumor stage and a novel hot spot mutation. *Cancer Res.* 2000 Apr 1;60(7):1942-8.
- ¹⁵² Foster K, Prowse A, van den Berg A, Fleming S, Hulsbeek MM, Crossey PA, Richards FM, Cairns P, Affara NA, Ferguson-Smith MA, et al. Somatic mutations of the von Hippel-Lindau disease tumour suppressor gene in non-familial clear cell renal carcinoma. *Hum Mol Genet.* 1994 Dec;3(12):2169-73.
- ¹⁵³ Gnarr JR, Tory K, Weng Y, Schmidt L, Wei MH, Li H, Latif F, Liu S, Chen F, Duh FM, et al. Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma. *Nat Genet.* 1994 May;7(1):85-90.

-
- ¹⁵⁴ Schraml P, Struckmann K, Hatz F, Sonnet S, Kully C, Gasser T, Sauter G, Mihatsch MJ, Moch H. VHL mutations and their correlation with tumour cell proliferation, microvessel density, and patient prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *J Pathol.* 2002 Feb;196(2):186-93.
- ¹⁵⁵ Parast MM, Eudy G, Gow KW, Amin M, Shehata B. A unique case of renal carcinoma with Xp11.2 translocations/ TFE3 gene fusions in a 3-year-old child, with coexistent von Hippel-Lindau gene mutation. *Pediatr Dev Pathol.* 2004 Jul-Aug;7(4):403-6.
- ¹⁵⁶ Schmidt LS, Nickerson ML, Angeloni D, Glenn GM, Walther MM, Albert PS, Warren MB, Choyke PL, Torres-Cabala CA, Merino MJ, Brunet J, Bérez V, Borràs J, Sesia G, Middleton L, Phillips JL, Stolle C, Zbar B, Pautler SE, Linehan WM. Early onset hereditary papillary renal carcinoma: germline missense mutations in the tyrosine kinase domain of the met proto-oncogene. *J Urol.* 2004 Oct;172(4 Pt 1):1256-61.
- ¹⁵⁷ Smolle J. Familial leiomyomatosis. *Orphanet Enciclopedia.* March 2004.
- ¹⁵⁸ Fernández-Pugnaire MA, Delgado-Florencio V. Familial multiple cutaneous leiomyomas. *Dermatology.* 1995;191(4):295-8.
- ¹⁵⁹ Isaacs JS, Jung YJ, Mole DR, Lee S, Torres-Cabala C, Chung YL, Merino M, Trepel J, Zbar B, Toro J, Ratcliffe PJ, Linehan WM, Neckers L. HIF overexpression correlates with biallelic loss of fumarate hydratase in renal cancer: novel role of fumarate in regulation of HIF stability. *Cancer Cell.* 2005 Aug;8(2):143-53.
- ¹⁶⁰ Reed WB, Walker R, Horowitz R. Cutaneous leiomyomata with uterine leiomyomata. *Acta Derm Venereol.* 1973;53(5):409-16.
- ¹⁶¹ Launonen V, Vierimaa O, Kiuru M, Isola J, Roth S, Pukkala E, Sistonen P, Herva R, Aaltonen LA. Inherited susceptibility to uterine leiomyomas and renal cell cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Mar 13;98(6):3387-92. Epub 2001 Feb 27.
- ¹⁶² Choyke PL, Walther MM, Glenn GM, Wagner JR, Venzon DJ, Lubensky IA, Zbar B, Linehan WM. Imaging features of hereditary papillary renal cancers. *J Comput Assist Tomogr.* 1997 Sep-Oct;21(5):737-41.
- ¹⁶³ Refae MA, Wong N, Patenaude F, Bégin LR, Foulkes WD. Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer: an unusual and aggressive form of hereditary renal carcinoma. *Nat Clin Pract Oncol.* 2007 Apr;4(4):256-61.
- ¹⁶⁴ Zbar B, Alvord WG, Glenn G, Turner M, Pavlovich CP, Schmidt L, Walther M, Choyke P, Weirich G, Hewitt SM, Duray P, Gabril F, Greenberg C, Merino MJ, Toro J, Linehan WM. Risk of renal and colonic neoplasms and spontaneous pneumothorax in the Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002 Apr;11(4):393-400.
- ¹⁶⁵ Schmidt LS, Nickerson ML, Warren MB, Glenn GM, Toro JR, Merino MJ, Turner ML, Choyke PL, Sharma N, Peterson J, Morrison P, Maher ER, Walther MM, Zbar B, Linehan WM. Germline BHD-mutation spectrum and phenotype analysis of a large cohort of families with Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Am J Hum Genet.* 2005 Jun;76(6):1023-33.

-
- ¹⁶⁶ Carpten JD, Robbins CM, Villablanca A, Forsberg L, Presciuttini S, Bailey-Wilson J, Simonds WF, Gillanders EM, Kennedy AM, Chen JD, Agarwal SK, Sood R, Jones MP, Moses TY, Haven C, Petillo D, Leotlela PD, Harding B, Cameron D, Pannett AA, Höög A, Heath H 3rd, James-Newton LA, Robinson B, Zarbo RJ, Cavaco BM, Wassif W, Perrier ND, Rosen IB, Kristoffersson U, Turnpenny PD, Farnebo LO, Besser GM, Jackson CE, Morreau H, Trent JM, Thakker RV, Marx SJ, Teh BT, Larsson C, Hobbs MR. HRPT2, encoding parafibromin, is mutated in hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome. *Nat Genet.* 2002 Dec;32(4):676-80.
- ¹⁶⁷ Zhao J, Yart A, Frigerio S, Perren A, Schraml P, Weisstanner C, Stallmach T, Krek W, Moch H. Sporadic human renal tumors display frequent allelic imbalances and novel mutations of the HRPT2 gene. *Oncogene.* 2007 May 17;26(23):3440-9.
- ¹⁶⁸ Teh BT, Farnebo F, Kristoffersson U, Sundelin B, Cardinal J, Axelson R, Yap A, Epstein M, Heath H 3rd, Cameron D, Larsson C. Autosomal dominant primary hyperparathyroidism and jaw tumor syndrome associated with renal hamartomas and cystic kidney disease: linkage to 1q21-q32 and loss of the wild type allele in renal hamartomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996 Dec;81(12):4204-11.
- ¹⁶⁹ Kakinuma A, Morimoto I, Nakano Y, Fujimoto R, Ishida O, Okada Y, Inokuchi N, Fujihira T, Eto S. Familial primary hyperparathyroidism complicated with Wilms' tumor. *Intern Med.* 1994 Feb;33(2):123-6.
- ¹⁷⁰ Szabó J, Heath B, Hill VM, Jackson CE, Zarbo RJ, Mallette LE, Chew SL, Besser GM, Thakker RV, Huff V, et al. Hereditary hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome: the endocrine tumor gene HRPT2 maps to chromosome 1q21-q31. *Am J Hum Genet.* 1995 Apr;56(4):944-50.
- ¹⁷¹ Haven CJ, Wong FK, van Dam EW, van der Juijt R, van Asperen C, Jansen J, Rosenberg C, de Wit M, Roijers J, Hoppener J, Lips CJ, Larsson C, Teh BT, Morreau H. A genotypic and histopathological study of a large Dutch kindred with hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Apr;85(4):1449-54.
- ¹⁷² Gicquel C, Rossignol S, Le Bouc Y. Beckwith-Wiedemann Syndrome. *Orphanet encyclopedia.* March 2005.
- ¹⁷³ Yamaguchi T, Fukuda T, Uetani M, Hayashi K, Kurosaki N, Maeda H, Matsumoto T, Miyake H. Renal cell carcinoma in a patient with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Pediatr Radiol.* 1996;26(5):312-4.
- ¹⁷⁴ Thorburn MJ, Wright ES, Miller CG, Smith-Read EH. Exomphalos-macroglossia-gigantism syndrome in Jamaican infants. *Am J Dis Child.* 1970; 119:316-21
- ¹⁷⁵ DeBaun MR, Niemitz EL, McNeil DE, Brandenburg SA, Lee MP, Feinberg AP. Epigenetic alterations of H19 and LIT1 distinguish patients with Beckwith-Wiedemann syndrome with cancer and birth defects. *Am J Hum Genet.* 2002; 70:604-11
- ¹⁷⁶ Longy, M. Maladie de Cowden. *Encyclopédie Orphanet,* septembre 2002

-
- ¹⁷⁷ Liaw D, Marsh DJ, Li J, Dahia PL, Wang SI, Zheng Z, Bose S, Call KM, Tsou HC, Peacocke M, Eng C, Parsons R. Germline mutations of the PTEN gene in Cowden disease, an inherited breast and thyroid cancer syndrome. *Nat Genet.* 1997 May;16(1):64-7.
- ¹⁷⁸ Nelen MR, Padberg GW, Peeters EA, Lin AY, van den Helm B, Frants RR, Coulon V, Goldstein AM, van Reen MM, Easton DF, Eeles RA, Hodgson S, Mulvihill JJ, Murday VA, Tucker MA, Mariman EC, Starink TM, Ponder BA, Ropers HH, Kremer H, Longy M, Eng C. Localization of the gene for Cowden disease to chromosome 10q22-23. *Nat Genet.* 1996 May;13(1):114-6.
- ¹⁷⁹ Marsh DJ, Coulon V, Lunetta KL, Rocca-Serra P, Dahia PL, Zheng Z, Liaw D, Caron S, Duboué B, Lin AY, Richardson AL, Bonnetblanc JM, Bressieux JM, Cabarrot-Moreau A, Chompret A, Demange L, Eeles RA, Yahanda AM, Fearon ER, Fricker JP, Gorlin RJ, Hodgson SV, Huson S, Lacombe D, Eng C, et al. Mutation spectrum and genotype-phenotype analyses in Cowden disease and Bannayan-Zonana syndrome, two hamartoma syndromes with germline PTEN mutation. *Hum Mol Genet.* 1998 Mar;7(3):507-15.
- ¹⁸⁰ Al-Saleem T, Wessner LL, Scheithauer BW, Patterson K, Roach ES, Dreyer SJ, Fujikawa K, Bjornsson J, Bernstein J, Henske EP. Malignant tumors of the kidney, brain, and soft tissues in children and young adults with the tuberous sclerosis complex. *Cancer.* 1998 Nov 15;83(10):2208-16.
- ¹⁸¹ Casarin A, Martella M, Polli R, Leonardi E, Anesi L, Murgia A. Molecular characterization of large deletions in the von Hippel-Lindau (VHL) gene by quantitative real-time PCR: the hypothesis of an alu-mediated mechanism underlying VHL gene rearrangements. *Mol Diagn Ther.* 2006;10(4):243-9.
- ¹⁸² Neumann HPH and Zbar B. Renal cysts, renal cancer and Von Hippel-Lindau disease (Editorial). *Kidney Int.*, 51: 16, 1997
- ¹⁸³ Neumann HP, Wiestler OD. Clustering of features and genetics of von Hippel-Lindau syndrome. *Lancet.* 1991 Jul 27;338(8761):258.
- ¹⁸⁴ Melmon KL, Rosen SW. Lindau's disease. review of the literature and study of a large kindred. *Am J Med.* 1964 Apr;36:595-617.
- ¹⁸⁵ Linehan WM, Lerman MI, Zbar B. Identification of the von Hippel-Lindau (VHL) gene. Its role in renal cancer. *JAMA.* 1995 Feb 15;273(7):564-70.
- ¹⁸⁶ Lonser RR, Glenn GM, Walther M, Chew EY, Libutti SK, Linehan WM, Oldfield EH. Von Hippel-Lindau disease. *Lancet* 2003 Jun 14; 361(9374): 2059-67.
- ¹⁸⁷ Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB (2003). *Cancer Incidence in Five Continents.* IARC Scientific Publications No155. IARC Press: Lyon.
- ¹⁸⁸ Novick AC, Strem SB. Long-term followup after nephron sparing surgery for renal cell carcinoma in von Hippel-Lindau disease. *J Urol.* 1992 Jun;147(6):1488-90.

-
- ¹⁸⁹ Walther MM, Choyke PL, Weiss G, Manolatos C, Long J, Reiter R, Alexander RB, Linehan WM. Parenchymal sparing surgery in patients with hereditary renal cell carcinoma. *J Urol*. 1995 Mar;153(3 Pt 2):913-6.
- ¹⁹⁰ Plouin PF. Les phéochromocytomes sporadiques et familiaux. *Encyclopédie Orphanet*. Février 2002.
- ¹⁹¹ R.Barfield, D.A.Hill, F.A.Hoffer, T.Tekauz, S.L.Spunt. Retroperitoneal Paraganglioma. *Med.Pediatr.Onc*. 39:120-24, 2002
- ¹⁹² MG Caty, AG Coran, M Geagen, et al. Current diagnosis and treatment of pheochromocytoma in children. *Arch Surg* 125:978, 1990
- ¹⁹³ JA Norton, RT Jensen, JL Doppman. Cancer of the endocrine system. In VT De Vita, S Hellman, SA Rosenberg (eds): *Cancer: principles and practice of oncology*. Philadelphia, JB Lippincott Co, 1999
- ¹⁹⁴ E Fonkalsrud. The adrenal glands. In KJ Welch, JG Randolph, MM Ravitch (eds): *Pediatric Surgery*. Chicago, Yearbook Medical Publishers Inc, 1991
- ¹⁹⁵ T Wyszynska, E Cichocka. A single pediatric center experience with 1025 children with hypertension. *Acta Pediatr* 81:244, 1992
- ¹⁹⁶ SS Werbel, KP Ober. Pheochromocytoma update on diagnosis, localisation and management. *Med Clin North Am* 79:131, 1995
- ¹⁹⁷ M Schlumberger, C Gicquel, J Lumbroso, et al. Malignant pheochromocytoma. Clinical, biological, histologic and therapeutic data in a series of 20 patient with distant metastases. *J Endocrinol Invest* 15:631, 1992
- ¹⁹⁸ C Levine, J Skimming, E Levine. Familial pheochromocytomas with unusual associations. *J Ped Surg* 27:447, 1992
- ¹⁹⁹ JJ Doski, FM Robertson, HW Cheu. Endocrine tumors. In RJ Andrassy (ed): *Pediatric Surgical Oncology*. Philadelphia, WB Saunders Co, 1998
- ²⁰⁰ MC Turner, E Liebermann, V De Quattro. The perioperative management of pheochromocytoma in children. *Clin Pediatr* 10:583, 1992
- ²⁰¹ C Albanese, ES Wiener. Routine total bilateral adrenalectomy is not warranted in childhood familial pheochromocytoma. *J Pediatr Surg* 28:1248, 1993
- ²⁰² Kopf D, Goretzki PE, Lehnert H. Clinical management of malignant adrenal tumors. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2001;127(3):143-55.
- ²⁰³ Jirari A, Charpentier A, Popescu S, Boidin P, Eisenmann B A malignant primary cardiac pheochromocytoma. *Ann Thorac Surg*. 1999 Aug;68(2):565-6.
- ²⁰⁴ SH Ein, S Weitzman, P Thorner, et al. Pediatric malignant pheochromocytoma. *J Pediatr Surg* 29:1197, 1994

-
- ²⁰⁵ RF Pommier, J Vetto, K Billingsly, et al. Comparison of adrenal and extra-adrenal pheochromocytoma. *Surgery* 114:1160, 1993
- ²⁰⁶ Plouin PF. Les Phéochromocytomes sporadiques et familiaux. *Encyclopédie Orphanet*. Février 2002.
- ²⁰⁷ Manger WM, Gifford RW Jr. Pheochromocytoma: a clinical overview. In: Laragh JH, Brenner BM, eds. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*. 2nd ed. Vol. 2 New York: Raven Press, 1995: 2225-44
- ²⁰⁸ Baysal BE, Ferrell RE, Willett-Brozick JE, Lawrence EC, Myssiorek D, Bosch A, van der Mey A, Taschner PE, Rubinstein WS, Myers EN, Richard CW 3rd, Cornelisse CJ, Devilee P, Devlin B. Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science*. 2000 Feb 4;287(5454):848-51
- ²⁰⁹ Neumann HP, Berger DP, Sigmund G, Blum U, Schmidt D, Parmer RJ, Volk B, Kirste G. Pheochromocytomas, multiple endocrine neoplasia type 2, and von Hippel-Lindau disease. *N Engl J Med*. 1993 Nov 18;329(21):1531-8. Erratum in: *N Engl J Med* 1994 Dec 1;331(22):1535
- ²¹⁰ Walther MM, Reiter R, Keiser HR, Choyke PL, Venzon D, Hurley K, Gnarr JR, Reynolds JC, Glenn GM, Zbar B, Linehan WM. Clinical and genetic characterization of pheochromocytoma in von Hippel-Lindau families: comparison with sporadic pheochromocytoma gives insight into natural history of pheochromocytoma. *J Urol*. 1999 Sep;162(3 Pt 1):659-64.
- ²¹¹ Eng C. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2 and Hirschsprung's disease. *N Engl J Med*. 1996 Sep 26;335(13):943-51.
- ²¹² Eng C., Maher ER. Dominant genes and phakomatoses associated with multiple primary cancers. In: Neugut AI, Meadows AT, Robinson E, eds. *Multiple primary cancers*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999: 165-95
- ²¹³ Neumann HP, Bausch B, McWhinney SR, Bender BU, Gimm O, Franke G, Schipper J, Klisch J, Althoefer C, Zerres K, Januszewicz A, Eng C, Smith WM, Munk R, Manz T, Glaesker S, Apel TW, Treier M, Reineke M, Walz MK, Hoang-Vu C, Brauckhoff M, Klein-Franke A, Klose P, Schmidt H, Maier-Woelfle M, Peçzkowska M, Szmigielski C, Eng C; Freiburg-Warsaw-Columbus Pheochromocytoma Study Group. Germ-line mutations in nonsyndromic pheochromocytoma. *N Engl J Med*. 2002 May 9;346(19):1459-66.
- ²¹⁴ Young WF Jr. Paragangliomas: clinical overview. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Aug;1073:21-9. Review.
- ²¹⁵ Armstrong R, Sridhar M, Greenhalgh KL, Howell L, Jones C, Landes C, McPartland JL, Moores C, Losty PD, Didi M. Phaeochromocytoma in children. *Arch Dis Child*. 2008 Oct;93(10):899-904.

-
- ²¹⁶ Mannelli M, Ercolino T, Giachè V, Simi L, Cirami C, Parenti G. Genetic screening for pheochromocytoma: should SDHC gene analysis be included? *J Med Genet.* 2007 Sep;44(9):586-7.
- ²¹⁷ Bausch B, Borozdin W, Mautner VF, Hoffmann MM, Boehm D, Robledo M, Cascon A, Harenberg T, Schiavi F, Pawlu C, Peczkowska M, Letizia C, Calvieri S, Arnaldi G, Klingenberg-Noftz RD, Reisch N, Fassina A, Brunaud L, Walter MA, Mannelli M, MacGregor G, Palazzo FF, Barontini M, Walz MK, Kremens B, Brabant G, Pfäffle R, Koschker AC, Lohofner F, Mohaupt M, Gimm O, Jarzab B, McWhinney SR, Opocher G, Januszewicz A, Kohlhase J, Eng C, Neumann HP; European-American Pheochromocytoma Registry Study Group. Germline NF1 mutational spectra and loss-of-heterozygosity analyses in patients with pheochromocytoma and neurofibromatosis type 1. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Jul;92(7):2784-92. Epub 2007 Apr 10.
- ²¹⁸ Neumann HP, Pawlu C, Peczkowska M, Bausch B, McWhinney SR, Muresan M, Buchta M, Franke G, Klisch J, Bley TA, Hoegerle S, Boedeker CC, Opocher G, Schipper J, Januszewicz A, Eng C; European-American Paraganglioma Study Group. Distinct clinical features of paraganglioma syndromes associated with SDHB and SDHD gene mutations. *JAMA.* 2004 Aug 25;292(8):943-51. Erratum in: *JAMA.* 2004 Oct 13;292(14):1686.
- ²¹⁹ Peczkowska M, Cascon A, Prejbisz A, Kubaszek A, Cwikła BJ, Furmanek M, Erlic Z, Eng C, Januszewicz A, Neumann HP. Extra-adrenal and adrenal pheochromocytomas associated with a germline SDHC mutation. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2008 Feb;4(2):111-5.
- ²²⁰ Young AL, Baysal BE, Deb A, Young WF Jr. Familial malignant catecholamine-secreting paraganglioma with prolonged survival associated with mutation in the succinate dehydrogenase B gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Sep;87(9):4101-5.
- ²²¹ Elston MS, Benn D, Robinson BG, Conaglen JV. An apparently sporadic paraganglioma with an SDHB gene germline mutation presentino at age 68 years. *Internal Medicine Journal* 36, 129-131, 2006
- ²²² Pham TH, Moir C, Thompson GB, Zarroug AE, Hamner CE, Farley D, van Heerden J, Lteif AN, Young WF Jr. Pheocromocytoma and paraganglioma in children: a review of medical and surgical mamagement at a tertiaty care center. *Pediatrics* 118, 1109-1117, 2006
- ²²³ Scheffler IE. Molecular genetics of succinate: quinone oxidoreductase in eukaryotes. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology.* 60, 267-315, 1998
- ²²⁴ Bourgeron T, Rustin P, Chretien D, Birch-Machin M, Bourgeois M, Viegas-Péquignot E, Munnich A, Rötig A. Mutation of a nuclear succinate dehydrogenase gene results in mitochondrial respiratory chain deficiency. *Nat Genet.* 1995 Oct;11(2):144-9.
- ²²⁵ Birch-Machin MA, Taylor RW, Cochran B, Ackrell BA, Turnbull DM. Late-onset optic atrophy, ataxia, and myopathy associated with a mutation of a complex II gene. *Ann Neurol.* 2000 Sep;48(3):330-5
- ²²⁶ Selak MA, Armour SM, MacKenzie ED, Boulahbel H, Watson DG, Mansfield KD, Pan Y, Simon MC, Thompson CB, Gottlieb E. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF-alpha prolyl hydroxylase. *Cancer Cell.* 2005 Jan;7(1):77-85.

-
- ²²⁷ Schiavi F, Boedeker CC, Bausch B, Peçzkowska M, Gomez CF, Strassburg T, Pawlu C, Buchta M, Salzman M, Hoffmann MM, Berlis A, Brink I, Cybulla M, Muresan M, Walter MA, Forrer F, Välimäki M, Kawecki A, Szutkowski Z, Schipper J, Walz MK, Pigny P, Bauters C, Willet-Brozick JE, Baysal BE, Januszewicz A, Eng C, Opocher G, Neumann HP; European-American Paraganglioma Study Group. Predictors and prevalence of paraganglioma syndrome associated with mutations of the SDHC gene. *JAMA*. 2005 Oct 26;294(16):2057-63. Erratum in: *JAMA*. 2006 Feb 8;295(6):628.
- ²²⁸ Benn DE, Gimenez-Roqueplo AP, Reilly JR, Bertherat J, Burgess J, Byth K, Croxson M, Dahia PL, Elston M, Gimm O, Henley D, Herman P, Murday V, Niccoli-Sire P, Pasięka JL, Rohmer V, Tucker K, Jeunemaitre X, Marsh DJ, Plouin PF, Robinson BG. Clinical presentation and penetrance of pheochromocytoma/paraganglioma syndromes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Mar;91(3):827-36. Epub 2005 Nov 29.
- ²²⁹ Amar L, Bertherat J, Baudin E, Ajzenberg C, Bressac-de Paillerets B, Chabre O, Chamontin B, Delemer B, Giraud S, Murat A, Niccoli-Sire P, Richard S, Rohmer V, Sadoul JL, Strompf L, Schlumberger M, Bertagna X, Plouin PF, Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo AP. Genetic testing in pheochromocytoma or functional paraganglioma. *J Clin Oncol*. 2005 Dec 1;23(34):8812-8.
- ²³⁰ Timmers HJ, Gimenez-Roqueplo AP, Mannelli M, Pacak K. Clinical aspects of SDHx-related pheochromocytoma and paraganglioma. *Endocr Relat Cancer*. 2009 Jun;16(2):391-400. Epub 2009 Feb 3.
- ²³¹ Allanson JE. Noonan syndrome. *J Med Genet*. 1987 Jan; 24(1):9-13
- ²³² Bonioli E, Bellini C. Rubinstein-Taybi syndrome and pheochromocytoma. *Am J Med Genet*. 1992 Oct 1;44(3):386.
- ²³³ Pizzo PA, Poplack DG. Principles and practice of Pediatric Oncology. Third edition. Lippincott-Raven Ed. Pg 963
- ²³⁴ Casarin A, Martella M, Polli R, Leonardi E, Anesi L, Murgia A. Molecular characterization of large deletions in the von Hippel-Lindau (VHL) gene by quantitative real-time PCR: the hypothesis of an alu-mediated mechanism underlying VHL gene rearrangements. *Mol Diagn Ther*. 2006;10(4):243-9.
- ²³⁵ Easton D, Peto J. The contribution of inherited predisposition to cancer incidence. *Cancer Surv* 1990;9:395-416.
- ²³⁶ Narod SA. Screening for cancer in high risk families. *Clin Biochem* 1995; 28:367-372.
- ²³⁷ Merks JH, Ozgen HM, Koster J, Zwinderman AH, Caron HN, Hennekam RC. Prevalence and patterns of morphological abnormalities in patients with childhood cancer. *JAMA*. 2008 Jan 2;299(1):61-9.
- ²³⁸ Merks JHM, Caron HN, Hennekam RCM. High incidence of palformation syndromes in a series of 1073 children with cancer. *Am J Med Genet*. 2005 134A:132-143

²³⁹ Antony S, Kateman H, Dorrepaal CA, Buitendijk SE. Aangeboren afwijkingen in Nederland 1996-2000: gebaseerd op de landelijke verloskunde en neonatologie registraties. Leiden, the Netherlands: TNO-PG; 2003

²⁴⁰ Pizzo PA, Poplack DG. Principles and practice of Pediatric Oncology. Third edition. Lippincott-Raven Ed. Pg 15

²⁴¹ Brennan B. Adrenocortical carcinoma. Orphanet Encyclopedia. August 2004

²⁴² Libé R, Bertherar J. Molecular genetics of adrenocortical tumours, from familial to sporadic diseases. European Journal of Endocrinology (2005) 153. 477-487

²⁴³ Wagner J, Portwine C, Rabin K, Leclerc JM, Narod SA, Malkin D. High frequency of germline p53 mutations in childhood adrenocortical cancer. J Natl Cancer Inst. 1994 Nov 16;86(22):1707-10.