

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΟΙ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΤΗΣ  
ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ (SDH) ΚΑΙ Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥΣ ΣΤΑ  
ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΑ»

ΙΩΑΝΝΗΣ Κ. ΓΚΟΥΝΤΙΟΣ  
ΙΑΤΡΟΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΛΙΑΚΟΣ, ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ Π.Θ. (Επιβλέπων)  
ΑΣΠΑΣΙΑ ΤΣΕΖΟΥ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ Π.Θ. (Μέλος Τριμελούς Επιτροπής)  
ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΔΗΜΑΣ, ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ Π.Θ. (Μέλος Τριμελούς Επιτροπής)

ΛΑΡΙΣΑ, 2019

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

**«SUCCINATE DEHYDROGENASE (SDH) COMPLEX GENES  
MUTATIONS AND THEIR CONTRIBUTION TO THE  
PARAGANGLIOMAS»**

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	03
ABSTRACT.....	05
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	07
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Η ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1 Η ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ ΚΑΙ Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΣΤΟΝ ΚΥΚΛΟ ΤΟΥ KREBS .....</b>	<b>10</b>
<b>1.2 ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ.....</b>	<b>12</b>
<b>1.3 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ.....</b>	<b>13</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Η ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ ΚΑΙ Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕ ΤΑ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΑ .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ ΑΥΤΟΝΟΜΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1.1 ΤΟ ΑΥΤΟΝΟΜΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1.2 ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΑ.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1.3 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΝ.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2 ΟΙ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ.....</b>	<b>20</b>
<b>2.4 ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ .....</b>	<b>23</b>
<b>2.4.1 ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΠΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΣΤΙΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΤΟΥΣ ΟΓΚΟΥΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΝ.....</b>	<b>23</b>
<b>2.4.2 ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ (PGL1, PGL2, PGL3, PGL4 ΚΑΙ PGL5) ΚΑΙ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ.....</b>	<b>29</b>
<b>2.4.2.1 ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ ΤΥΠΟΥ 1 (PGL1) .....</b>	<b>31</b>
<b>2.4.2.2 ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ ΤΥΠΟΥ 2 (PGL2) .....</b>	<b>36</b>

2.4.2.3 ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ ΤΥΠΟΥ 3 (PGL3) .....	37
2.4.2.4 ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ ΤΥΠΟΥ 4 (PGL4) .....	39
2.4.2.5 ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ ΤΥΠΟΥ 5 (PGL5) 00.....	42
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΟΓΚΟΓΕΝΕΣΗΣ ΜΕ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΠΟΥ ΠΡΟΞΕΝΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ.....</b>	<b>47</b>
3.1 Η ΥΠΟΘΕΣΗ ΤΗΣ ΨΕΥΔΟΫΠΟΘΕΣΙΑΣ .....	49
3.2 Η ΥΠΟΘΕΣΗ ΤΗΣ ΑΥΞΗΜΕΝΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΟΞΥΓΟΝΟΥ .....	52
3.3 Η ΥΠΟΘΕΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΦΥΓΗΣ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΜΒΡΥΪΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ.....	55
3.4 ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ DNA.....	55
3.5 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ.....	57
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΚΑΙ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ.....</b>	<b>58</b>
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	61
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	66

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ηλεκτρική αφυδρογονάση είναι ενζυμικό σύμπλοκο αποτελούμενο από τέσσερις πρωτεϊνικές υπομονάδες. Είναι συγχρόνως ένζυμο του κύκλου του Krebs και σύμπλοκο της αναπνευστικής αλυσίδας στα μιτοχόνδρια. Κληρονομικές μεταλλάξεις των γονιδίων που κωδικοποιούν τις υπομονάδες της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης στο πυρηνικό DNA οδηγούν σε ελαττωμένη λειτουργία του ενζύμου και έχουν συνδεθεί με την παθογένεση των κληρονομικών συνδρόμων παραγαγγλιωμάτων, με κληρονομικότητα αυτοσωμικού κυρίαρχου χαρακτήρα. Οι αλλαγές στα γονίδια της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης που προδιαθέτουν για την εκδήλωση κληρονομικού συνδρόμου παραγαγγλιώματος είναι ετερόζυγες κληρονομικές μεταλλάξεις. Ο νεοπλασματικός μετασχηματισμός εμφανίζεται όταν υπάρξει απώλεια και του φυσιολογικού αλληλόμορφου στα σωματικά κύτταρα του όγκου. Έτσι, τα γονίδια του ενζυμικού συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης έχουν συμπεριφορά ογκοκατασταλτικού γονιδίου.

Οι όγκοι της μυελώδους ουσίας του επινεφριδίου ονομάζονται φαιοχρωμοκυττώματα. Οι μορφολογικά πανομοιότυποι όγκοι που αποτελούνται από χρωμιόφιλα κύτταρα και συναντώνται εκτός των επινεφριδίων ονομάζονται παραγαγγλιώματα. Τα παραγαγγλιώματα έχουν από τις υψηλότερες συχνότητες εμφάνισης ως κληρονομικών μεταξύ των διαφόρων τύπων νεοπλασμάτων. Υπάρχουν τουλάχιστον 27 γονίδια που εμπλέκονται στη μοριακή παθογένεση των παραγαγγλιωμάτων. Ορισμένα από αυτά τα γονίδια μεταλλάσσονται αποκλειστικά στην γενετική γραμμή και ως εκ τούτου είναι κλασσικά γονίδια ευαισθησίας. Περίπου 30% των περιπτώσεων παραγαγγλιωμάτων είναι κληρονομικά. Η πλειοψηφία αυτών προκαλούνται από μεταλλάξεις των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης και εμφανίζονται στα πλαίσια των κληρονομικών συνδρόμων παραγαγγλιωμάτων τύπου 1 έως 5. Ακολουθούν σε σειρά συχνότητας οι περιπτώσεις που εμφανίζονται σε κληρονομικά σύνδρομα νεοπλασίας, δηλαδή στο σύνδρομο von Hippel-Lindau, στο σύνδρομο MEN2 και στη νευροϊνωμάτωση τύπου 1 και εδώ πρόκειται συχνότερα για φαιοχρωμοκυττώματα με αμφοτερόπλευρη εντόπιση.

Από τα κληρονομικά σύνδρομα παραγαγγλιωμάτων συχνότερο είναι το τύπου 4 που προκαλείται από μεταλλάξεις του γονιδίου SDHB. Πιο συχνή εκδήλωσή του είναι τα εξωεπινεφριδιακά συμπαθητικά παραγαγγλιώματα και εμφανίζει το υψηλότερο ποσοστό περιπτώσεων με μεταστατική νόσο από τα υπόλοιπα σύνδρομα.

Ακολουθεί σε συχνότητα το τύπου 1 που οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου SDHD και έχει πιο συχνή εκδήλωση παρααγγλιώματα κεφαλής και τραχήλου, τις περισσότερες φορές πολυεστιακά. Συνολικά οι μεταλλάξεις των γονιδίων SDHB και SDHD είναι υπεύθυνες για τη μεγάλη πλειοψηφία (πάνω από το 60%) όλων των περιπτώσεων παρααγγλιωμάτων που οφείλονται σε μεταλλάξεις κληρονομικές των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. Τα υπόλοιπα τρία κληρονομικά σύνδρομα παρααγγλιωμάτων (τύπου 2 - γονίδιο SDHAF2, τύπου 3 - γονίδιο SDHC και τύπου 5 - γονίδιο SDHA) είναι εξαιρετικά σπάνια και έχουν κύρια εκδήλωση παρααγγλιώματα κεφαλής και τραχήλου.

Οι μεταλλάξεις των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης είναι συνήθως αντικαταστάσεις ζεύγους βάσεων και ελλείψεις ζευγών βάσεων, που οδηγούν σε διαταραχή της σύνθεσης του ενζύμου και ελαττωμένη λειτουργία. Πρόκειται συχνότερα για ανερμηνεύσιμες μεταλλάξεις και μεταλλάξεις μετατόπισης του πλαισίου ανάγνωσης. Κατανέμονται σε όλη την έκταση κυρίως των κωδικοποιητικών περιοχών γονιδίων, χωρίς να εντοπίζονται «θερμές» περιοχές. Υπάρχουν και ορισμένες ιδρυτικές μεταλλάξεις με πιο χαρακτηριστικές τις ολλανδικές του γονιδίου SDHD.

Έχουν προταθεί διάφορες υποθέσεις μηχανισμών με τους οποίους οι μεταλλάξεις των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης οδηγούν στην αρχική εμφάνιση και την ανάπτυξη των νεοπλασμάτων. Αυτές είναι οι υποθέσεις της ψευδοϋποξίας, της αυξημένης παραγωγής ελεύθερων ριζών οξυγόνου, της διαφυγής νευρικών κυττάρων από την απόπτωση κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη, της υπερμεθυλίωσης του DNA και των ιστονών και της σηματοδότησης μέσω του υποδοχέα της κυτταρικής μεμβράνης του ηλεκτρικού οξέος. Σε όλες τις υποθέσεις ως αφετηρία εμφανίζεται η ελάττωμένη λειτουργία της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης που συνοδεύεται από ενδοκυττάρια συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος ως αποτέλεσμα μειωμένου καταβολισμού του.

Από τον ευρύ μοριακό χαρακτηρισμό με μεθόδους ανάλυσης του γονιδιώματος στο πρόγραμμα Cancer Genome Atlas (TCGA) προήλθε μια βασική διαίρεση του παρααγγλιώματος σε ομάδες (clusters) με παρόμοια παθογένεση και βιολογία, βασισμένη στο προφίλ έκφρασης mRNA στους όγκους. Οι περιπτώσεις με κληρονομικές μεταλλάξεις των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης κατατάχθηκαν στην ομάδα στην οποία υπήρχαν ευρήματα ενεργοποίησης του μονοπατιού της ψευδοϋποξίας.

## ABSTRACT

Succinate dehydrogenase is an enzymic complex comprised of four protein subunits. It is at the same time mitochondrial enzyme of the Krebs cycle and respiratory chain complex. Germline mutations of the genes encoding succinate dehydrogenase subunits in nuclear DNA impair enzyme function and have been linked with the pathogenesis of the syndromes of hereditary paraganglioma, inherited as autosomal dominant traits. Alterations in succinate dehydrogenase genes that predispose to hereditary paraganglioma syndromes are germline heterozygous mutations. Neoplastic transformation follows the loss of the normal allele in tumor somatic cells. In that way, succinate dehydrogenase complex genes behave like tumor-suppressor genes.

Tumors of the adrenal medullary substance are designated pheochromocytomas. Morphologically identical tumors comprised of chromaffin cells and located outside of the adrenal glands are designated as paragangliomas.

Paragangliomas exhibit one from the highest frequencies of appearance as hereditary among the various types of neoplasms. There are at least 27 genes involved in the molecular pathogenesis of paraganglioma. Several of those genes are mutated exclusively in germline and in this way are classic susceptibility genes. About 30% of all cases of paragangliomas are inherited. The majority of them are caused by mutations of the succinate dehydrogenase genes and present in the context of hereditary syndromes of paraganglioma type 1 to 5. Following in order of frequency are cases of hereditary neoplasia syndromes, that is von Hippel-Lindau syndrome, MEN2 syndrome and neurofibromatosis type 1 and here is more often about bilateral pheochromocytomas.

Commonest among hereditary syndromes of paraganglioma is syndrome type 4 which is caused by mutations of the SDHB gene. Its most frequent manifestation is extraadrenal sympathetic paraganglioma and also it keeps the highest proportion of metastatic disease among the rest syndromes. Next in order of frequency is the syndrome of hereditary paraganglioma type 1 caused by mutations in the SDHD gene. Its most common manifestation is head and neck paragangliomas, most times multifocal. SDHB and SDHD genes mutations in total are responsible for the great majority (over 60%) of all cases of paragangliomas caused by germline mutations of succinate dehydrogenase genes. The rest three hereditary paraganglioma syndromes

(type 2 - SDHAF2 gene, type 3 - SDHC gene and type 5 - SDHA gene) are very rare and their main manifestation is head and neck paragangliomas.

Succinate dehydrogenase genes mutations are at most base pair substitutions and base pairs deletions that lead to disorderd synthesis of the enzyme and impaired function. In most times are nonsense mutations and frame-shift mutations. Mutations are distributed in all the length mainly of the genes' coding sequences without defined "hot-spot" areas. There are some mutations with founder effect, characteristically the Dutch founder mutations of the SDHD gene.

Several hypotheses of existing mechanisms have been suggested to describe tumor initiation and progression led by mutations of succinate dehydrogenase complex genes. They include the pseudohypoxia hypothesis, the increased reactive oxygen species production, neural cells evading developmental apoptosis, DNA and histone hypermethylation and signaling through succinate cell membrane receptor hypotheses. At the base of the above hypotheses is impaired succinate dehydrogenase function accompanied by intracellular accumulation of succinate as a result of its reduced catabolism.

Information derived by comprehensive molecular characterization with genomic analysis methods in The Cancer Genome Atlas (TCGA) program gave rise to a classification of paraganglioma in clusters with similar pathogenesis and biology, based on tumor mRNA expression profile. Cases with germline mutations of succinate dehydrogenase genes were classified into the cluster of pseudohypoxia.



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ηλεκτρική αφυδρογονάση είναι ένα ενζυμικό σύμπλοκο. Δραστηριοποιείται στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων ως ένα ένζυμο με σημαντική λειτουργία στο μεταβολισμό και την παραγωγή ενέργειας στον ανθρώπινο οργανισμό. Η ηλεκτρική αφυδρογονάση αποτελεί το συστατικό του συμπλόκου II της αναπνευστικής αλυσίδας. Είναι το μοναδικό ένζυμο που συμμετέχει και στη μεταφορά ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα και στον κύκλο του Krebs, στον καταβολισμό του ηλεκτρικού οξέος. Αλλαγές των γονιδίων που κωδικοποιούν για τις πρωτεϊνικές υπομονάδες της, συνδέονται με παθολογικές καταστάσεις που οφείλονται στην ελάττωση της λειτουργίας της.

Οι γονιδιακοί τόποι των γονιδίων της βρίσκονται στο πυρηνικό DNA. Μετάλλαξη σε οποιοδήποτε από τα γονίδια αυτά μπορεί να διαταράσσει τη σύνθεση της υπομονάδας που κωδικοποιεί και συνολικά την ενζυμική λειτουργία του συμπλόκου. Κληρονομική ανεπάρκεια της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης είχε συνδεθεί με πολύ σπάνιες υποτελείς διαταραχές που εκδηλώνονται με εγκεφαλομυοπάθεια και άλλες βαρείες πολυσυστηματικές εκδηλώσεις, από τη βρεφική ακόμη ηλικία. Από τις αρχές του 21<sup>ου</sup> αιώνα, κατά απροσδόκητο τότε τρόπο επειδή επρόκειτο για γονίδια ενζύμων του μεταβολισμού, κληρονομικές μεταλλάξεις της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης έχουν συνδεθεί με την παθογένεση της νεοπλασίας.

Οι παθολογικές καταστάσεις που συνδέονται πιο συχνά με ελάττωση της λειτουργίας της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης είναι τα κληρονομικά σύνδρομα των παραγαγγλιωμάτων. Οι όγκοι των παραγαγγλίων, οργάνων που συνδέονται με το αυτόνομο νευρικό σύστημα, είναι σε υψηλό ποσοστό περιπτώσεων κληρονομικοί, προκαλούμενοι από κληρονομικές μεταλλάξεις των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, με κληρονόμηση αυτοσωμικού κυρίαρχου χαρακτήρα. Νεοπλάσματα προερχόμενα από άλλους κυτταρικούς τύπους συνδεόμενα με μεταλλάξεις της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης παρατηρούνται με πολύ μικρή συχνότητα, κυρίως στα πλαίσια των παραπάνω συνδρόμων. [1], [2].

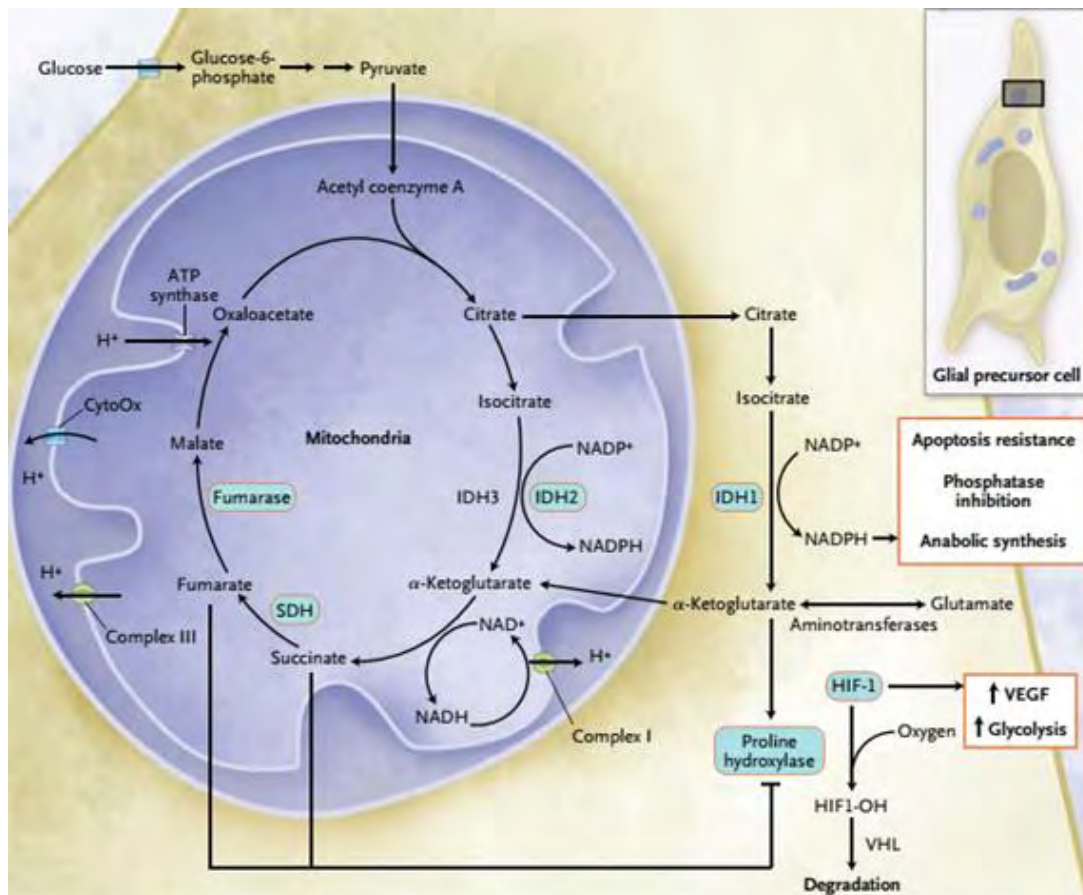
Η διαταραχή της ρύθμισης του μεταβολισμού στα κακοήθη νεοπλασματικά κύτταρα είναι γνωστή για περισσότερα από 80 χρόνια, ως το «φαινόμενο του Warburg», από το όνομα του επιστήμονα που παρατήρησε πρώτος μια αύξηση της γλυκόλυσης στα καρκινικά κύτταρα, ακόμη και παρουσία οξυγόνου. Η υποκείμενη

αιτία για την συνέχιση της παραγωγής γαλακτικού οξέος από τα καρκινικά κύτταρα παρουσία οξυγόνου μπορεί να σχετίζεται με τη διαφορετική συμπεριφορά των κακοήθων κυττάρων, έτσι ώστε η επιβίωση και ο πολλαπλασιασμός να είναι οι ευνοούμενες λειτουργίες. Η μετάβαση από την κυτταρική αναπνοή στη γλυκόλυση έχει συνήθως θεωρηθεί ως συνέπεια και όχι ως αιτία του καρκίνου. Ωστόσο, η ανακάλυψη τα τελευταία χρόνια των κληρονομικών μεταβολών των μιτοχονδριακών ενζύμων που προκαλούν κληρονομικούς όγκους, έχει αλλάξει αυτή την άποψη. Η επαναλαμβανόμενη ανεύρεση μεταλλάξεων γονιδίων μεταβολικών ενζύμων σε διάφορους τύπους νεοπλασμάτων αναδεικνύει τη συμμετοχή των αλλαγών του κυτταρικού μεταβολισμού στην παθογένεση των νεοπλασμάτων στον άνθρωπο. Για παράδειγμα, διαπιστώθηκε ότι στη μεγάλη πλειοψηφία των χαμηλού βαθμού κακοήθειας γλοιωμάτων, νεοπλασμάτων του κεντρικού νευρικού συστήματος, ανευρίσκονται σωματικές μεταλλάξεις σε ένα από τα δυο ισοένζυμα της ισοηλεκτρικής αφυδρογονάσης (IDH1 και IDH2). Κληρονομικές μεταλλάξεις στα γονίδια που κωδικοποιούν τις υπομονάδες του ενζύμου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης (SDH), τον παράγοντα συναρμολόγησης AF2 της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης (SDHAF2) και το ένζυμο φουμαράση (FH, fumarate hydratase) όπως οι σωματικές μεταλλάξεις των γονιδίων των ισοενζύμων 1 και 2 της ισοηλεκτρικής αφυδρογονάσης (IDH1 και IDH2) έχουν αιτιοπαθογενετική σχέση με την ανάπτυξη νεοπλασμάτων. [3]

Από την ερευνητικά δεδομένα διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί έχουν προταθεί, οι οποίοι ερμηνεύουν τη δημιουργία όγκων παρουσία αυτών των μεταλλάξεων, με πιο σημαντικό την επίδραση στην αποικοδόμηση του επαγόμενου από την υποξία μεταγραφικού παράγοντα HIF1. Τα αλληλόμορφα των γονιδίων των μιτοχονδριακών ενζύμων του κύκλου του Krebs, φουμαράσης και ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, που φέρουν τις κληρονομικές μεταλλάξεις και παρατηρούνται στα νεοπλάσματα, βρίσκονται σε ετερόζυγη κατάσταση με τα αντίστοιχα φυσιολογικά αλληλόμορφα. Οδηγούν σε ελάττωση ή απώλεια της ενζυμικής λειτουργίας στα κύτταρα των νεοπλασμάτων και ως αποτέλεσμα στη συσσώρευση φουμαρικού και ηλεκτρικού οξέος (succinate) στο κυτταρόπλασμα, λόγω διακοπής του μεταβολισμού τους. Η περίσσεια αυτών των μεταβολιτών αναστέλλει τις υδροξυλάσες της προλίνης, οι οποίες φυσιολογικά συμβάλλουν στην αποικοδόμηση στο πρωτεάσωμα του HIF-1α, ένας μεταγραφικός παράγοντας που συμβάλλει στην ανάπτυξη της νεοπλασίας. που εμπλέκεται στη νεοπλασματική αγγειογένεση. Ελλείψεις των ισοενζύμων της

ισοκιτρικής αφυδρογονάσης IDH1 και IDH2 μπορεί επίσης να αποτρέψουν την αποικοδόμηση του παράγοντα HIF-1α. (Εικ. 1) [4], [5], [6], [7]

Οι αλλαγές στα γονίδια της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης που προδιαθέτουν για την εκδήλωση κληρονομικού συνδρόμου παραγαγγλιώματος είναι ετερόζυγες κληρονομικές μεταλλάξεις. Ο νεοπλασματικός μετασχηματισμός εμφανίζεται όταν υπάρξει απώλεια και του φυσιολογικού αλληλόμορφου στα σωματικά κύτταρα του όγκου. Έτσι, τα γονίδια του ενζυμικού συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης έχουν συμπεριφορά ογκοκατασταλτικού γονιδίου. [8]



Εικόνα 1. Οι ρόλοι των ισοενζύμων της ισοκιτρικής αφυδρογονάσης 1 και 2 (IDH1, IDH2), της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης (SDH) και της φουμαράσης (Fumarase, FH) στον κυτταρικό μεταβολισμό και των μεταλλάξεών τους στην αποικοδόμηση του HIF-1. (CytoOx, οξειδάση του κυτοχρώματος, HIF-1, επαγόμενος από την υποξία παράγοντας 1. HIF-1-OH, υδροξυλιωμένος HIF-1. VEGF, αυξητικός παράγοντας αγγειακού ενδοθηλίου. VHL, ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη von Hippel-Lindau.)

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Η ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ

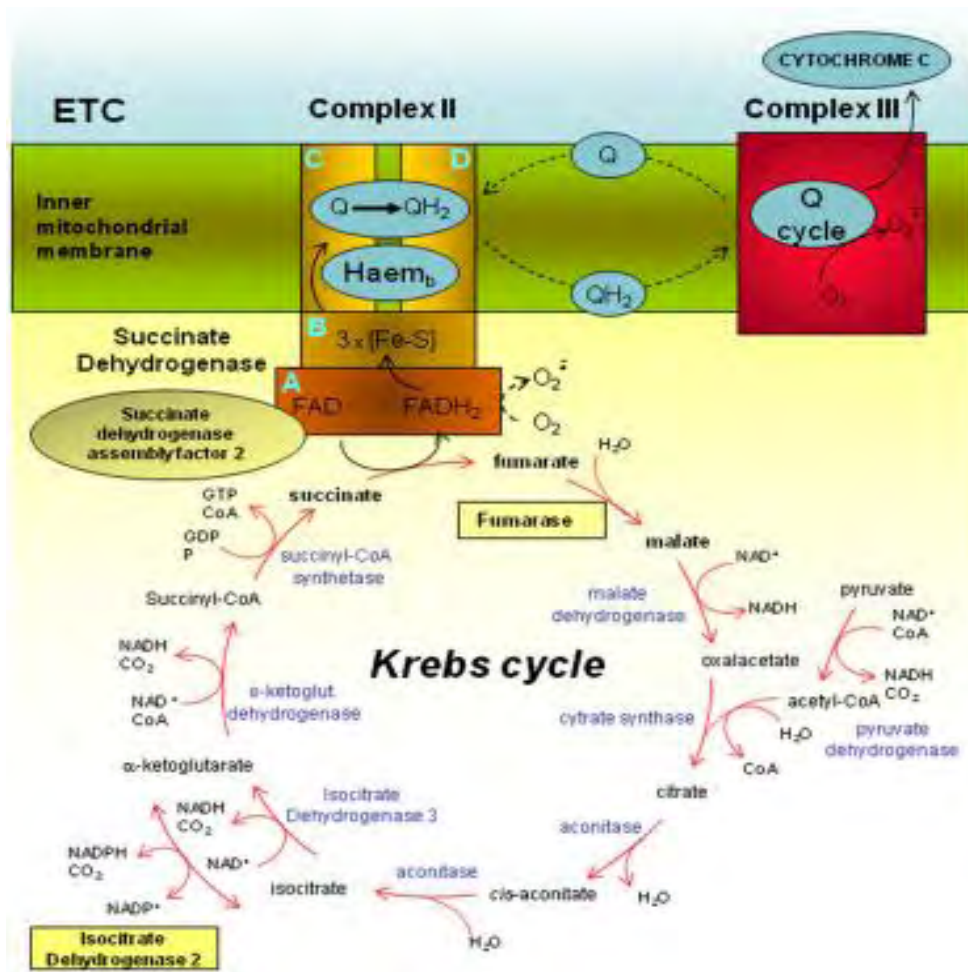
### 1.1 Η ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ ΚΑΙ Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΣΤΟΝ ΚΥΚΛΟ ΤΟΥ KREBS

Στους αερόβιους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, οι αντιδράσεις του κύκλου του Krebs και η οξειδωτική φωσφορυλίωση συνιστούν την κυτταρική αναπνοή. Κατά τις αντιδράσεις του κύκλου του Krebs ή κύκλο του κιτρικού οξέος, στη μιτοχονδριακή ουσία, παράγονται ανηγμένα μόρια NADH και FADH<sub>2</sub>. Τα μόρια αυτά οξειδώνονται με τη μεταφορά ηλεκτρονίων μέσω φορέων ηλεκτρονίων που αποτελούν την αναπνευστική αλυσίδα στην εσωτερική μεμβράνη του μιτοχονδρίου. Τελικός αποδέκτης της σταδιακής μεταφοράς των ηλεκτρονίων είναι το μοριακό οξυγόνο. Συγχρόνως συντίθενται μόρια ATP, γι' αυτό η διαδικασία ονομάζεται οξειδωτική φωσφορυλίωση.

Η αναπνευστική αλυσίδα στην εσωτερική μεμβράνη του μιτοχονδρίου αποτελείται από τέσσερα διαμεμβρανικά πρωτεϊνικά σύμπλοκα. Το σύμπλοκο I ή NADH-αφυδρογονάσης, το σύμπλοκο II ή ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, το σύμπλοκο III ή αναγωγάσης του κυτοχρώματος και το σύμπλοκο IV ή οξειδάσης του κυτοχρώματος. Συμμετέχουν επίσης δύο μικρότεροι φορείς ηλεκτρονίων για να συνδέουν τα μεγάλα πρωτεϊνικά σύμπλοκα μεταξύ τους, η ουβικινόνη ή συνένζυμο Q και το κυτόχρωμα c. Τα σύμπλοκα I, III και IV λειτουργούν ως αντλίες πρωτονίων από τη μιτοχονδριακή ουσία προς το διαμεμβρανικό χώρο μεταξύ εσωτερικής και εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης και η αυξημένη συγκέντρωση πρωτονίων που δημιουργείται ενεργοποιεί το ενζυμικό σύμπλοκο της συνθάσης του ATP.

Τα ηλεκτρόνια του NADH εισέρχονται στην αλυσίδα μέσω της NADH - αφυδρογονάσης και μεταφέρονται μέσω της ουβικινόνης ή συνένζυμου Q στο σύμπλοκο III. Η ουβικινόνη μεταφέρει επίσης ηλεκτρόνια από το FADH<sub>2</sub> του συμπλόκου II στο σύμπλοκο III. (Εικ.2) Η ουβικινόνη είναι μεταφορέας ηλεκτρονίων της αναπνευστικής αλυσίδας, ο οποίος δεν είναι μόνιμα συνδεδεμένος με μία πρωτεΐνη. Η αναγωγή του κυτοχρώματος καταλύει τη μεταφορά ηλεκτρονίων από την ουβικινόλη προς το κυτόχρωμα c, που είναι μία μικρή υδατοδιαλυτή περιφερειακή πρωτεΐνη της μεμβράνης. Η οξειδάση του κυτοχρώματος καταλύει τη μεταφορά των ηλεκτρονίων από το κυτόχρωμα c προς το μοριακό οξυγόνο που είναι ο τελικός

αποδέκτης των ηλεκτρονίων. Τελικά τα ηλεκτρόνια διοχετεύονται στο μοριακό οξυγόνο το οποίο ανάγεται σε H<sub>2</sub>O.



Εικόνα 2. Το σύμπλοκο της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και στον κύκλο του Krebs. Η ηλεκτρική αφυδρογονάση (SDH, succinate dehydrogenase) είναι το μόνο συνδεδεμένο με την εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη ένζυμο του κύκλου του Krebs και επίσης λειτουργικό συστατικό του συμπλόκου II της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC, electron transfer chain). Η ηλεκτρική αφυδρογονάση είναι σύμπλοκο τεσσάρων διαφορετικών πολυπεπτιδίων (υπομονάδες A, B, C και D), μαζί με προσθετικές ομάδες στις οποίες περιλαμβάνονται το φλαβινο-αδενινο-δι-νουκλεοτίδιο (FAD), η ουβικινόνη (Q) και αίμη b (Haem<sub>b</sub>).

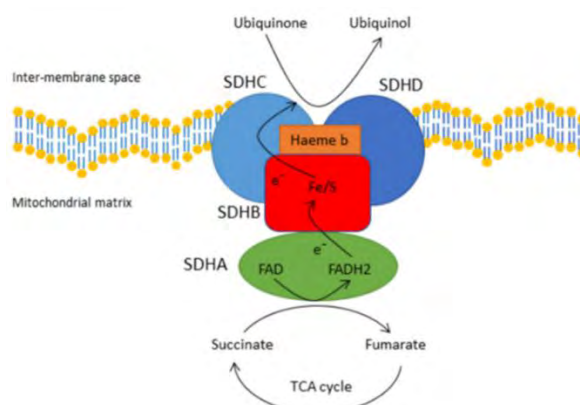
Οι αντιδράσεις οξείδωσης του κύκλου του Krebs τροφοδοτούν την αναπνευστική αλυσίδα με μια μεγάλη ροή ηλεκτρονίων, μέσω των μορίων NADH και FADH<sub>2</sub>, με αποτέλεσμα τη σύνθεση μεγάλου αριθμού μορίων ATP κατά την οξειδωτική φωσφορυλίωση. Κατά την οξειδωτική φωσφορυλίωση τα ηλεκτρόνια των NADH και FADH<sub>2</sub> χρησιμοποιούνται για την αναγωγή του μοριακού οξυγόνου σε νερό.

Οι αντιδράσεις του κύκλου του Krebs λαμβάνουν χώρα στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων, στη μιτοχονδριακή ουσία. Σε ένα από τα διαδοχικά βήματα αυτού του κύκλου των αντιδράσεων, το ηλεκτρικό οξύ (succinate, σουκινικό) που σχηματίζεται από ηλεκτρυλσυνένζυμο A, οξειδώνεται σε φουμαρικό οξύ με την ενζυμική δράση της φλαβοπρωτεΐνης ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, η ηλεκτρική αφυδρογονάση είναι στενά συνδεδεμένη στην έσω επιφάνεια της εσωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων. Το ένζυμο περιέχει τρεις διαφορετικές ομάδες σιδήρου-θείου και ένα ομοιοπολικά συνδεδεμένο μόριο FAD. Τα ηλεκτρόνια διέρχονται από το ηλεκτρικό οξύ μέσω του FAD και των ομάδων σιδήρου-θείου πριν εισέλθουν στην αλυσίδα των φορέων των ηλεκτρονίων στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη. Η ροή των ηλεκτρονίων από το ηλεκτρικό οξύ μέσω αυτών των φορέων στον τελικό αποδέκτη, το μοριακό οξυγόνο, είναι συζευγμένη με τη σύνθεση περίπου 1,5 μορίων ATP ανά ζεύγος ηλεκτρονίων (φωσφορυλίωση συνδεδεμένη με την αναπνοή). Το μαλονικό οξύ, ένα ανάλογο του ηλεκτρικού οξέος, που δεν συναντάται φυσιολογικά στα κύτταρα, είναι ισχυρός ανταγωνιστικός αναστολέας της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης και η προσθήκη του στα μιτοχόνδρια διακόπτει τη δραστηριότητα του κύκλου του κιτρικού οξέος.

## 1.2 ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ

Το πρωτεϊνικό σύμπλοκο της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης αποτελείται από τέσσερις υπομονάδες οι οποίες κωδικοποιούνται στο πυρηνικό γονιδίωμα. [1] Στη δομή του πρωτεϊνικού συμπλόκου περιλαμβάνεται μια υδρόφιλη κεφαλή, η οποία προβάλλει μέσα στη μιτοχονδριακή ουσία ή μήτρα και μια υδρόφοβη ουρά, η οποία αγκυρώνει το πρωτεϊνικό σύμπλοκο στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη. (Εικ. 3) [2] Το τμήμα της κεφαλής αποτελείται από μια φλαβοπρωτεΐνη, την υπομονάδα A και από μία πρωτεΐνη που περιέχει ενώσεις σιδήρου - θείου (Fe-S), την υπομονάδα B, και λειτουργεί ως ο καταλυτικός πυρήνας του ενζύμου. Η μεμβρανική περιοχή του πρωτεϊνικού συμπλόκου αποτελείται από τις υπομονάδες C και D και περιέχει μια συνδεδεμένη ένωση που περιέχει αίμη και μια θέση σύνδεσης για την ουβικινόνη. [2,3,4] Η υπομονάδα A είναι συνδεδεμένη με τον συμπάραγοντα FAD και εμπεριέχει τη θέση σύνδεσης του ηλεκτρικού οξέος. Το γονίδιο που κωδικοποιεί την υπομονάδα A (γονίδιο SDHA = γονίδιο φλαβοπρωτεϊνικής υπομονάδας A ηλεκτρικής αφυδρογονάσης) εντοπίζεται στη χρωμοσωμική περιοχή 5p15.33 και περιλαμβάνει 16 εξόνια. [5] Η πολυπεπτιδική αλυσίδα της A υπομονάδας περιέχει 664 αμινοξέα και έχει

μοριακό βάρος 72,7 kDa. [6] Η υπομονάδα B περιέχει τρία κέντρα σιδήρου - θείου (Fe-S) διαμέσου των οποίων γίνεται η μεταφορά των ηλεκτρονίων στην ουβικινόνη, περιέχει 280 αμινοξέα και έχει μοριακό βάρος 31,6 kDa. [3,6,7] Το γονίδιο που κωδικοποιεί την υπομονάδα B (γονίδιο SDHB = γονίδιο σιδηρο-θειο-πρωτεϊνικής υπομονάδας B ηλεκτρικής αφυδρογονάσης) εντοπίζεται στη χρωμοσωμική περιοχή 1p35-36.1 και αποτελείται από 8 εξόνια. [8,9] Το τμήμα της ουράς του πρωτεϊνικού συμπλόκου αποτελείται από τις υπομονάδες C και D και περιέχει ένα συνδεδεμένο μόριο αίμης b που δεν συμμετέχει στη μεταφορά ηλεκτρονίων και επίσης θέση σύνδεσης για την ουβικινόνη. Το γονίδιο που κωδικοποιεί την πολυπεπτιδική αλυσίδα της υπομονάδας C (γονίδιο SDHC) εντοπίζεται στη χρωμοσωμική περιοχή 1q21 και αποτελείται από 6 εξόνια, ενώ το γονίδιο που κωδικοποιεί την υπομονάδα D (γονίδιο SDHD) εντοπίζεται στη χρωμοσωμική περιοχή 11q23 και αποτελείται από 4 εξόνια. [9,10,11,12] Η υπομονάδα C περιέχει 169 αμινοξέα και έχει μοριακό βάρος 18,6 kDa. [6] Η υπομονάδα D περιλαμβάνει 159 αμινοξέα και έχει μοριακό βάρος 17 kDa. [6]



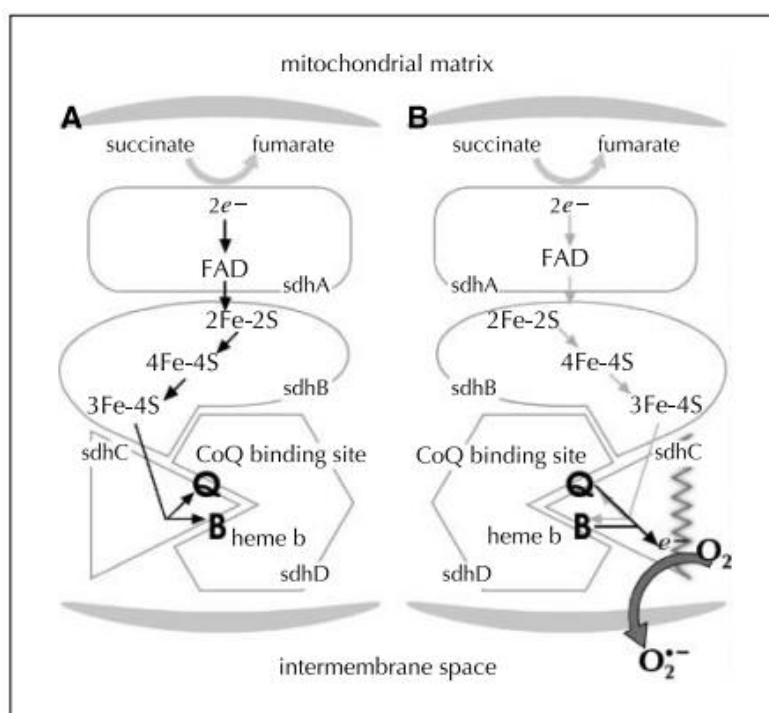
Εικόνα 3. Δομή και μονοπάτι λειτουργίας της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. (inter - membrane space διαμεμβρανικός χώρος μεταξύ εσωτερικής - που απεικονίζεται και εξωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου, mitochondrial matrix μιτοχονδριακή ουσία, succinate ηλεκτρικό οξύ, SDHA/B/C/D υπομονάδες ηλεκτρικής αφυδρογονάσης)

### 1.3 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ

Η ηλεκτρική αφυδρογονάση είναι μοναδική μεταξύ των μιτοχονδριακών αναπνευστικών ενζύμων στο ότι συμμετέχει και στον κύκλο του κιτρικού οξέος και στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Η σύνδεση του ηλεκτρικού οξέος στην υπομονάδα A προκαλεί μεταβολή της δομής της περιοχής, τοποθετώντας το κοντά στο FAD όπου οξειδώνεται σε φουμαρικό οξύ, δημιουργώντας ελεύθερα ηλεκτρόνια, τα οποία μεταφέρονται στην υπομονάδα B. [1,13] Τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται μεταξύ των κέντρων σιδήρου - θείου [Fe-S] έως ότου φθάσουν στο



σύμπλοκο [3Fe-4S], μετά από το οποίο μεταφέρονται στο μόριο της ουβικινόνης (που είναι συνδεδεμένη στην υπομονάδα D) και που ανάγεται σε ουβικινόλη. (Εικ. 4) [13] Η καταλυτική δραστηριότητα της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης τροποποιείται από μεταμεταφραστική φωσφορυλίωση και ακετυλίωση της υπομονάδας A, όπως επίσης και από αναστολή με τη σύνδεση ενδιάμεσων ενώσεων του κύκλου του κιτρικού οξέος. Η μηχανισμός συναρμολόγησης του συμπλόκου παρέμενε αδιευκρίνιστος μέχρι το 2009 όταν περιγράφηκαν δυο νέοι παράγοντες. Το γονίδιο SDHAF1 που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 19, κωδικοποιεί μια μικρή διαλυτή πρωτεΐνη 115 αμινοξέων που βρίσκεται στη μιτοχονδριακή μήτρα και η οποία εισάγει τις μονάδες Fe-S στην υπομονάδα B. [14] Το γονίδιο SDHAF2, γνωστό και ως SDH5, κωδικοποιεί μια διαλυτή μιτοχονδριακή πρωτεΐνη υπεύθυνη για την εισαγωγή του FAD στην υπομονάδα A, και το οποίο είναι απαραίτητο για να σχηματισθεί το ενζυμικό σύμπλοκο. [15,16]



Εικόνα 4. Υποθετικό μοντέλο συμπλόκου II της αναπνευστικής αλυσίδας, άγριου - τύπου (A) και με τροποποιημένη υπομονάδα C λόγω μετάλλαξης (B) που διακόπτει τη ροή των ηλεκτρονίων, τα οποία εν συνεχεία συμβάλλουν στην παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου (Με βέλη η ροή των ηλεκτρονίων από το ηλεκτρικό οξύ (succinate), στο FAD, τις ομάδες Fe-S και προς τη θέση σύνδεσης της ουβικινόνης (Q). Η αίμη b δεν συμμετέχει στη φυσιολογική ροή των ηλεκτρονίων στο εσωτερικό του συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Η ΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ ΚΑΙ Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕ ΤΑ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΑ**

Διαταραχές στη λειτουργία του ενζύμου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης συνδέονται με την εμφάνιση παθολογικών καταστάσεων όπως τα παραγαγγλιώματα. Πιο συγκεκριμένα ελαττωμένη λειτουργία της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης προκαλείται από κληρονομικές μεταλλάξεις των γονιδίων της και διαμορφώνει στους φορείς των μεταλλάξεων αυτών προδιάθεση εμφάνισης κληρονομικού συνδρόμου παραγαγγλιωμάτων. Νεοπλάσματα άλλων τύπων εμφανίζονται με μικρή συχνότητα. Τα παραγαγγλιώματα που προέρχονται από τη μυελώδη ουσία των επινεφριδίων ονομάζονται παραδοσιακά φαιοχρωμοκυττώματα ενώ παραγαγγλιώματα ονομάζονται οι εξωεπινεφριδιακής προέλευσης όγκοι. Ωστόσο πρόκειται για τον ίδιο τύπο νεοπλάσματος.

### **2.1 ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ ΑΥΤΟΝΟΜΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ**

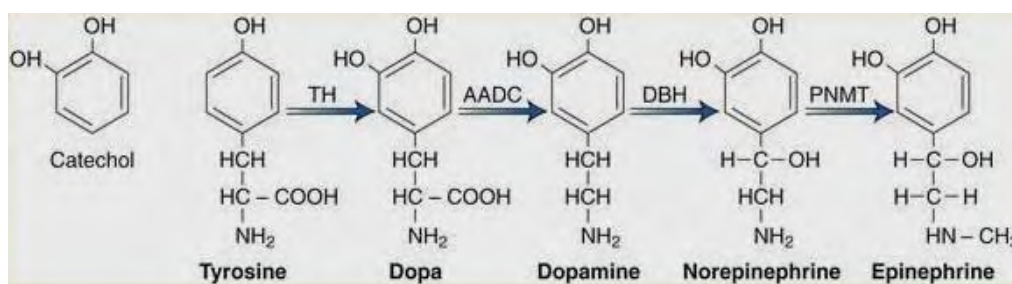
#### **2.1.1. ΤΟ ΑΥΤΟΝΟΜΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**

Η κινητική μοίρα του περιφερικού αυτόνομου νευρικού συστήματος διαιρείται σε δυο επι μέρους συστήματα το συμπαθητικό και το παρασυμπαθητικό σύστημα. Και τα δυο συστήματα διαθέτουν στην περιφέρεια δυο σε σειρά συνδεδεμένα νευρικά κύτταρα, τον προγαγγλιακό και το μεταγαγγλιακό νευρώνα, οι οποίοι συνάπτονται, στα περιφερικά γάγγλια του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Τα γάγγλια του συμπαθητικού συστήματος σχηματίζουν τις δυο αλυσίδες των παρασπονδυλικών γαγγλίων, ενώ τα γάγγλια του παρασυμπαθητικού βρίσκονται κοντά στα όργανα που νευρώνονται από αυτό.

Τα σώματα των προγαγγλιακών νευρώνων εντοπίζονται στο νωτιαίο μυελό, στο εγκεφαλικό στέλεχος και το μέσο εγκέφαλο. Οι νευρικές τους απολήξεις είναι οι προγαγγλιακές ίνες και κατευθύνονται προς τα αυτόνομα γάγγλια όπου βρίσκονται τα κυτταρικά σώματα των μεταγαγγλιακών νευρώνων. Οι νευρικές απολήξεις των τελευταίων αποτελούν τις μεταγαγγλιακές ίνες οι οποίες κατανέμονται στα όργανα του σώματος, νευρώνοντας λείους μύες και αδένες και ρυθμίζοντας λειτουργίες που δεν βρίσκονται υπο συνειδητό έλεγχο. Στις μεταγαγγλιακές συνάψεις του συμπαθητικού διαβιβαστική ουσία είναι η νοραδρεναλίνη. Στα τελικά εκτελεστικά όργανα υπάρχουν στις κυτταρικές μεμβράνες υποδοχείς των διαβιβαστικών ουσιών. Οι αδρενεργικοί

υποδοχείς είναι ευαίσθητοι στις κατεχολαμίνες, δηλαδή προς τη νοραδρεναλίνη ή νορεπινεφρίνη, αλλά και προς την αδρεναλίνη ή επινεφρίνη.

Η αδρεναλίνη συντίθεται και αποθηκεύεται στη μυελώδη ουσία των επινεφριδίων και απελευθερώνεται στη συστηματική κυκλοφορία. Η νοραδρεναλίνη συντίθεται και αποθηκεύεται και στη μυελώδη ουσία των επινεφριδίων και στα περιφερικά μεταγαγγλιακά νεύρα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος. (Εικ. 5)



Εικόνα 5. Βιοσυνθετική οδός των κατεχολαμινών.

### 2.1.2. ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΑ

Τα παραγάγγλια είναι μικρά σωματίδια που αποτελούνται από χρωμόφιλα κύτταρα με εμβρυολογική προέλευση από το νευροεξώδερμα, τα οποία δέχονται νεύρωση από προγαγγλιακές νευρικές ίνες του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Τα κύτταρα των παραγαγγλίων διαθέτουν την ικανότητα σύνθεσης και έκκρισης κατεχολαμινών, τις οποίες μπορούν να αποθηκεύουν σε ικανοποιητική ποσότητα σε κυτταροπλασματικά κοκκία, ώστε να δίνουν θετική χρωμόφιλη χρώση με άλατα χρωμίου.

Τα παραγάγγλια δεν είναι μακροσκοπικά ορατά, παρά μόνο όταν στις πιθανές θέσεις κατανομής τους αναπτυχθούν νεοπλάσματα, τα παραγαγγλιώματα. Εξαιρέση αποτελεί η μυελώδης ουσία των επινεφριδίων, η οποία καταλαμβάνει το κεντρικό τμήμα των επινεφριδίων σχηματίζοντας περίπου το 10% του όγκου τους και στην πραγματικότητα αποτελεί το μεγαλύτερο παραγάγγλιο του ανθρώπινου σώματος. Τα κύτταρα των παραγαγγλίων έχουν στο σώμα θέση αντίστοιχη με τα κυτταρικά σώματα των μεταγαγγλιακών νευρικών κυττάρων του αυτόνομου νευρικού συστήματος, χωρίς να εμφανίζουν νευρικές απολήξεις και χαρακτηριστικά διαφοροποίησης νευρικού κυττάρου, αλλά ασκούν τις δράσεις τους με ενδοκρινικό τρόπο. Από αυτή την

αντιστοιχία προέρχεται και η ονομασία τους, δηλαδή κατέχουν θέσεις αντίστοιχες με τα περιφερικά γάγγλια του αυτόνομου νευρικού συστήματος και γενικά κατανέμονται και κοντά σε αυτά.

Η κατανομή των παραγαγγλιακών κυττάρων στο ανθρώπινο έμβρυο και νεογνό είναι γενικά πιο εκτεταμένη και εμφανής από ότι στον ενήλικα. Κατά το τελευταίο διάστημα της κύησης τα περισσότερα παραγάγγλια αρχίζουν να υποστρέφουν. Τα όργανα του Zuckerkandl, μικρές συλλογές παραγαγγλιακών κυττάρων κοντά στην κοιλιακή αορτή, μεταξύ της ρίζας της κάτω μεσεντέριας αρτηρίας και του διχασμού της αορτής συνεχίζουν να μεγαλώνουν μέχρι την ηλικία των 3 ετών περίπου και μετά υποστρέφουν. Θεωρείται ότι τα παραγαγγλιώματα είναι νεοπλάσματα που δημιουργούνται σε αυτές τις υπολειπόμενες κυτταρικές εστίες.

### **2.1.3. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΝ**

Οι αρχικές ονομασίες του συστήματος των παραγαγγλίων και η ταξινόμηση των νεοπλασμάτων του βασίστηκαν στις χρωστικές ιδιότητες των κυττάρων. Θεωρήθηκε ότι οι λειτουργικοί όγκοι, δηλαδή που εκκρίνουν κατεχολαμίνες, επιδείκνυαν όλοι θετική χρωμόφιλη αντίδραση (φαιά χρώση κατά τη μονιμοποίηση με άλατα χρωμίου), ενώ οι μη λειτουργικοί όγκοι όχι. Παρόλα αυτά επόμενες αναφορές λειτουργικών - μη χρωμόφιλων όγκων των παραγαγγλίων όπως επίσης και χρωμόφιλων - μη λειτουργικών υπονόμωσε τη χρήση αυτής της ταξινόμησης. Η διάκριση των όγκων των παραγαγγλίων σε χρωμόφιλους και μη δεν έχει πρακτική σημασία. [9]

Η αναλυτικότερη περιγραφή της ανατομικής κατανομής των παραγαγγλίων είναι περισσότερο χρήσιμη. Η εξωεπινεφριδιακή μοίρα του συστήματος των παραγαγγλίων ομαδοποιείται σύμφωνα με την ανατομική κατανομή, τη νεύρωση και τη μικροσκοπική δομή τους σε: 1) Βραγχιακής μοίρας. 2) Πνευμονογαστρικού. 3) Αορτικο-συμπαθητική και 4) Σπλαγγχική-αυτόνομη.

*Τα παραγάγγλια της βραγχιακής μοίρας βρίσκονται σε στενή σχέση με τα αρτηριακά αγγεία και τα εγκεφαλικά νεύρα της περιοχής κεφαλής και τραχήλου. Βρίσκονται στις περιοχές του σφαγιτιδικού βολβού, του μέσου ωτός, του οφθαλμικού κόγχου, του διχασμού της κοινής καρωτίδας, της υποκλείδιας αρτηρίας, του λάρυγγα, των στεφανιαίων αγγείων και των πνευμόνων. Ο όγκος του καρωτιδικού σωματίου*

(χημειοδέκτωμα) και ο όγκος του σφαγιτιδικού σωματίου είναι οι πιο συχνοί όγκοι αυτής της οικογένειας.

*Τα παραγάγγλια του πνευμονογαστρικού* βρίσκονται μέσα στο περινεύριο του νεύρου και θεωρούνται παρόμοια με της προηγούμενης οικογένειας. Όγκοι τους έχουν βρεθεί σε διάφορες θέσεις κατα μήκος του νεύρου και συχνότερα κοντά στο σφαγιτιδικό ή οπίσθιο ρηγματώδες τμήμα από το οποίο το νεύρο εξέρχεται από το κρανίο. Τα νεοπλάσματα προερχόμενα από τα βραγχιακά και τα ενδοπνευμονογαστρικά παραγάγγλια είναι συνήθως μη χρωμιόφιλα και σπάνια λειτουργικά.

*Τα αορτικο-συμπαθητικά παραγάγγλια* βρίσκονται στην περιοχή των παρασπονδυλικών συμπαθητικών γαγγλίων των συμπαθητικών αλύσων και των υπολοίπων συμπαθητικών προσπονδυλικών γαγγλίων. Εντοπίζονται στον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο κατά μήκος της αορτής, μεταξύ των νεφρικών αρτηριών και γύρω από το διχασμό των λαγόνιων αρτηριών. Τα όργανα του Zuckerkandl ανήκουν σε αυτή την οικογένεια.

*Τα σπλαγχνικά - αυτόνομα παραγάγγλια* δεν έχουν σαφή ακριβή καθορισμό της θέσης τους και βρίσκονται συνήθως στην πορεία αγγείων ή κοντά σε σπλάγχνα, όπως π.χ. στην ουροδόχο κύστη. Οι όγκοι που προέρχονται από τα αορτικο-συμπαθητικά και τα σπλαγχνικά-αυτόνομα παραγάγγλια είναι πιο συχνά χρωμιόφιλοι και λειτουργικοί.

Οι γνώμες διαφέρουν για την ιδανική ονοματολογία των όγκων των παραγαγγλίων. Υποστηρίζεται ότι η ονομασία των παραγαγγλιωμάτων πρέπει να εξειδικεύεται με την ανατομική θέση προέλευσης και τη λειτουργική κατάσταση του όγκου.

## **2.2 ΟΙ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ**

Η ταξινόμηση των όγκων της WHO χρησιμοποιεί τον όρο φαιοχρωμοκύττωμα αποκλειστικά για τους όγκους της μυελώδους ουσίας των επινεφριδίων. [10] Η λέξη φαιοχρωμοκύττωμα είναι ελληνικής προέλευσης και αναφέρεται στην καφέ χρώση των κοκκίων των κυττάρων του όγκου κατά τη μονιμοποίηση των παρασκευασμάτων με άλατα χρωμίου. Η λέξη παραγαγγλίωμα είναι παθολογοανατομικός όρος και σημαίνει όγκο των παραγαγγλίων του αυτόνομου νευρικού συστήματος, τα μεγαλύτερα εκ των οποίων τα αποτελεί η μυελώδης ουσία των δυο επινεφριδίων. Άρα, όγκοι αποτελούμενοι από τον ίδιο τύπο κυττάρων ονομάζονται φαιοχρωμοκυττώματα ή

παραγαγγλιώματα εφόσον είναι επινεφριδιακά ή εξωεπινεφριδιακά αντίστοιχα. Αναφέρονται και ως συμπαθητικά παραγαγγλιώματα, προερχόμενα δηλαδή από συμπαθητικά παραγάγγλια, γιατί οι εντοπίσεις τους βρίσκονται στις περιοχές κατανομής των περιφερικών νωτιαίων νεύρων που μεταφέρουν συμπαθητικές νευρικές ίνες στα όργανα των περιοχών κοιλιάς, πυέλου και θώρακα. Παράγουν και υπερεκκρίνουν καταχολαμίνες, όπως αδρεναλίνη και νοραδρεναλίνη και εμφανίζουν συμπτώματα προκαλούμενα από αυτή την υπερέκκριση.

Μια διακριτή ομάδα των παραγαγγλίων, είναι αυτή που έχει ως εντόπιση την περιοχή του τραχήλου και της βάσης του εγκεφαλικού κρανίου. Οι όγκοι των παραγαγγλίων αυτής της περιοχής προέρχονται από παρασυμπαθητικά παραγάγγλια και ονομάζονται παρασυμπαθητικά γιατί βρίσκονται στις περιοχές που κατανέμονται περιφερικά εγκεφαλονωτιαία νεύρα που περιέχουν και νευρικές ίνες του παρασυμπαθητικού αυτόνομου νευρικού συστήματος, όπως είναι το γλωσσοφαρυγγικό και το πνευμονογαστρικό νεύρο. Επομένως παραγαγγλιώματα της διακριτής αυτής ομάδας της κεφαλής και του τραχήλου προέρχονται από τα παρασυμπαθητικά παραγάγγλια, κυρίως από το καρωτιδικό σωματίο, αλλά και από τα παραγάγγλια του μέσου ωτός («τυμπανικά»), του βολβού της έσω σφαγιτίδας φλέβας («σφαγιτιδικά»), της πορείας του πνευμονογαστρικού νεύρου («πνευμονογαστρικά») και από άλλα. Για τους όγκους αυτής της ομάδας χρησιμοποιείται στην αγγλική βιβλιογραφία η συντομογραφία HNPG, από τα αρχικά του όρου παραγαγγλιώματα κεφαλής και τραχήλου. Γενικά, είναι κυρίως ασυμπτωματικά, δεν παρουσιάζουν υπερέκκριση κατεχολαμινών και πολύ σπάνια είναι μεταστατικά.

Συμπερασματικά, τα φαιοχρωμοκυττώματα είναι όγκοι της μυελώδους ουσίας του επινεφριδίου, ενώ μορφολογικά πανομοιότυποι όγκοι που αποτελούνται από χρωμιόφιλα κύτταρα του αυτόνομου νευρικού συστήματος και βρίσκονται εκτός των επινεφριδίων ονομάζονται παραγαγγλιώματα. Συνεπώς η διάκριση σε φαιοχρωμοκύττωμα και παραγαγγλιώμα είναι αυθαίρετη γιατί και οι δυο όροι αναφέρονται στο ίδιο τύπου νεόπλασμα. Τα παραγαγγλιώματα υποδιαιρούνται περαιτέρω σε συμπαθητικά και παρασυμπαθητικά με βάση τη λειτουργία και τη θέση τους. Τυπικές θέσεις των συμπαθητικών είναι στις περιοχές των αλύσων των συμπαθητικών γαγγλίων, και άλλες θέσεις, της κοιλιάς και του θώρακα. Το φαιοχρωμοκύττωμα ανήκει στα συμπαθητικά. Τα παρασυμπαθητικά

παραγαγγλιώματα εντοπίζονται συνήθως στην περιοχή της κεφαλής και του τραχήλου στις περιοχές που πορεύονται περιφερικά εγκεφαλικά νεύρα. [9]

### **2.3. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ**

Οι όγκοι των παραγαγγλίων είναι σπάνιοι όγκοι με αναφορές που εκτιμούν την ετήσια επίπτωση έως 3 περιπτώσεις ανά εκατομμύριο πληθυσμού, με τα παραγαγγλιώματα (εξωεπινεφριδιακά) να είναι περίπου διπλάσια από τα φαιοχρωμοκυττώματα (επινεφριδιακά). [11] [12] Μια ολλανδική μελέτη αρχείου καταγραφής παθολογοανατομικών εκθέσεων από ολόκληρη τη χώρα των ετών 1995 έως 2015 αναγνώρισε 1.210 ασθενείς με φαιοχρωμοκύττωμα και επίπτωση 0,4/100.000 άτομα-έτη και 274 ασθενείς με εξωεπινεφριδιακό παραγαγγλιώμα και επίπτωση 0,1/100.000 άτομα έτη. [13]

Φαιοχρωμοκυττώματα (επινεφριδιακά παραγαγγλιώματα) διαγιγνώσκονται σε ασθενείς με εύρος ηλικιών από 4 έως άνω των 80 ετών. Η πλειονότητα των όγκων γίνονται συμπτωματικοί στη μέση ηλικία, κατά της τέταρτη και την πέμπτη δεκαετία. Υπάρχει ίση κατανομή στα δυο φύλα. [10] Τα παραγαγγλιώματα που παρουσιάζονται σε νεαρής ηλικίας ασθενείς είναι πιθανότερο να είναι κληρονομικά, ιδιαίτερα σε παιδιά όπου κληρονομικές μεταλλάξεις αναφέρονται τουλάχιστον στο 70% των ασθενών. [14]

Παρασυμπαθητικά παραγαγγλιώματα τα οποία παρουσιάζονται κυρίως στην περιοχή κεφαλής και τραχήλου αναλογούν στο 20% των παραγαγγλιωμάτων, στο 0,6% των νεοπλασμάτων της περιοχής κεφαλής και τραχήλου και στο 0,03% όλων των όγκων. Μέση ηλικία εμφάνισης είναι τα 44 έτη, με υπεροχή των θηλυκών ατόμων σε αναλογία έως 8:1 προς τους άρρενα άτομα. Είναι συχνά αμφοτερόπλευρα ή πολλαπλά, γεγονός που σε συνδυασμό με εμφάνιση σε νεαρή ηλικία προϋδεάζει προς την κατεύθυνση κληρονομικού νοσήματος. Κατά κανόνα δεν παρουσιάζουν υπερέκκριση κατεχολαμινών και έτσι λειτουργικά είναι πολύ σπάνια. Σε σύγκριση με παραγαγγλιώματα άλλων θέσεων δημιουργούν μεταστάσεις σπανιότερα. [15] Εκδηλώνονται ως ανώδυνες μάζες με αργή αύξηση του μεγέθους τους, κυρίως όταν πρόκειται για όγκους των καρωτιδικών σωματίων και των παραγαγγλίων του πνευμονογαστρικού. Τα σφαγιτιδοτυμπανικά παραγαγγλιώματα εκδηλώνονται με

βαρνηκοῖα αγωγιμότητας και σφύζουσες εμβοές. Σε προχωρημένες περιπτώσεις εμφανίζονται ελλείμματα από τα κατώτερα εγκεφαλικά νεύρα. [16]

Η πλειονότητα των συμπαθητικών παραγαγγλιωμάτων εντοπίζονται σε περιοχές κάτω από το διάφραγμα, στην περιοχή κοντά στα επινεφρίδια στο 42%, του οργάνου του Zuckerkandl προσθίως της κοιλιακής αορτής στο 28% και της ουροδόχου κύστης στο 10%. Περίπου 12% προέρχονται από την περιοχή του θώρακα πάνω από το διάφραγμα, με το 2% από την περιοχή της καρδιάς. [10] Εμφανίζονται με ίση κατανομή μεταξύ των δυο φύλων, με συχνότερη ηλικία εμφάνισης την πέμπτη δεκαετία και με νεότερη ηλικία εμφάνισης για τις κληρονομικές περιπτώσεις. Η επίπτωση μεταστάσεων για τα συμπαθητικά εξωεπινεφριδιακά παραγαγγλιώματα σε διάφορες σειρές ασθενών κυμαίνεται από 2,5% έως 50% και για τα φαιοχρωμοκυττώματα (επινεφριδιακά) από 2% έως 13%. [17] Θεωρείται ότι τα ενδοκοιλιακά εξωεπινεφριδιακά παραγαγγλιώματα εμφανίζουν υψηλότερη συχνότητα μεταστάσεων.

Στη βάση δεδομένων SEER στις ΗΠΑ, που συγκεντρώνει στοιχεία από 18 πολιτείες, την περίοδο 1998-2009 καταγράφηκαν 287 και 221 ασθενείς με κακοήθη φαιοχρωμοκυττώματα (επινεφριδιακά) και εξωεπινεφριδιακά παραγαγγλιώματα αντίστοιχα. Όσον αφορά τα κακοήθη παραγαγγλιώματα περίπου το 40% ήταν κεφαλής και τραχήλου και το 60% κορμού. [17] Τα παραγαγγλιώματα χαρακτηρίζονται ως καλοήθη ή κακοήθη με κριτήριο την παρουσία μεταστατικής νόσου. Δηλαδή όλα θεωρούνται ότι διαθέτουν δυνητικά κακοήθη βιολογική συμπεριφορά και η ιστολογική εξέταση του αρχικού όγκου έχει προγνωστική αξία. Για την επιβεβαίωση της παρουσίας μεταστατικής νόσου χρειάζεται η αναγνώριση μεταστατικού όγκου σε θέσεις που φυσιολογικά δεν παρατηρείται πληθυσμός χρωμιόφιλων κυττάρων. Τέτοιες θέσεις θεωρούνται ότι είναι τα οστά, το πνευμονικό και το ηπατικό παρέγχυμα και οι ιστολογικά επιβεβαιωμένοι λεμφαδένες.

Τα παραγαγγλιώματα μπορεί να είναι είτε λειτουργικά, δηλαδή να εκκρίνουν κατεχολαμίνες, είτε μη λειτουργικά οπότε παρουσιάζονται ως μια μάζα και ανευρίσκονται τυχαία σε μια απεικονιστική εξέταση που γίνεται για άλλο λόγο. Οι κατεχολαμίνες που παράγονται είτε μεθυλιώνονται στα κύτταρα του όγκου κι έτσι είναι αδρανοποιημένες ή δεν είναι μεθυλιωμένες και όταν εκκρίνονται προκαλούν συμπτώματα που σχετίζονται με αυτές. Το φάσμα των κλινικών εκδηλώσεων των συμπαθητικών φαιοχρωμοκυττωμάτων - παραγαγγλιωμάτων είναι ευρύ. Η κλασσική τριάδα συμπτωμάτων περιλαμβάνει εφίδρωση, αίσθημα παλμών και κεφαλαλγία, αλλά

δεν εμφανίζεται σε όλους τους ασθενείς. Οι λειτουργικοί όγκοι μπορεί να συνοδεύονται από παροξυσμική ή σταθερή παρουσία υπέρτασης, ωχρότητα, ανησυχία, διαταραχή πανικού ή δυσκοιλιότητα. Όγκοι που παράγουν κατεχολαμίνες πιο σπάνια εντοπίζονται στην πύελο, κοντά στο ορθό, τον κόλπο ή την ουροδόχο κύστη. Στην τελευταία περίπτωση συσπάσεις της κύστης μπορεί να προκαλούν υπερτασικές κρίσεις. Έχουν αναφερθεί και παρανεοπλασματικά σύνδρομα τα οποία δεν σχετίζονται με την παραγωγή κατεχολαμινών αλλά οφείλονται σε πεπτίδια που συντίθενται στα νεοπλασματικά κύτταρα των παραγαγγλιωμάτων, όπως π.χ. έκκριση ACTH που οδηγεί σε υπερέκκριση κορτιζόλης και σύνδρομο Cushing. [10]

Τα συμπαθητικά εξωεπινεφριδιακά παραγαγγλιώματα εκκρίνουν αδρεναλίνη πολύ σπάνια. Θεωρείται ότι η ενζυμική μετατροπή της νοραδρεναλίνης σε αδρεναλίνη απαιτεί υψηλή συγκέντρωση κορτιζόλης για την επαγωγή του ενζύμου και τέτοια συνθήκη υπάρχει στη μυελώδη ουσία των επινεφριδίων και όχι εξωεπινεφριδιακά. Τα φαιοχρωμοκυττώματα (επινεφριδιακά) επομένως εκκρίνουν αδρεναλίνη και από τα συμπαθητικά εξωεπινεφριδιακά παραγαγγλιώματα, τα λειτουργικά, τα οποία είναι περίπου τα μισά, εκκρίνουν νοραδρεναλίνη ή ντοπαμίνη.

Η διάγνωση των παραγαγγλιωμάτων απαιτεί απόδειξη αυξημένης έκκρισης κατεχολαμινών, μέσω προσδιορισμού των ίδιων ή μεταβολιτών τους στο αίμα και τα ούρα, και ανατομικής παρουσίας όγκου με τις μεθόδους απεικόνισης. Οι μεταβολίτες που προσδιορίζονται είναι η προερχόμενη από την αδρεναλίνη, μετανεφρίνη, η προερχόμενη από τη νοραδρεναλίνη, νορμετανεφρίνη και η προερχόμενη από τη ντοπαμίνη, μεθοξυτυραμίνη. Μορφολογικές απεικονιστικές μέθοδοι είναι η αξονική τομογραφία και η μαγνητική τομογραφία. Λειτουργικές απεικονιστικές μέθοδοι είναι το σπινθηρογράφημα με <sup>123</sup>I-MIBG, το σπινθηρογράφημα με <sup>111</sup>In-pentetreotide, το <sup>18</sup>F-FDG PET/CT, το <sup>18</sup>F-FDOPA PET/CT, το <sup>18</sup>F-FDA PET/CT και το <sup>68</sup>Ga-DOTATATE PET/CT.

Το βιοχημικό προφίλ μπορεί να προΐδεάσει για την παρουσία κληρονομικής νόσου καθώς οι όγκοι των παραγαγγλίων που εμφανίζονται στο σύνδρομο πολλαπλής ενδοκρινικής νεοπλασίας τύπου 2 και στη νευροινωμάτωση τύπου 1 είναι πιθανότερο να παράγουν αδρεναλίνη και στο σύνδρομο von Hippel-Lindau νοραδρεναλίνη. Αυξημένα επίπεδα 3-μεθοξυτυραμίνης, που είναι μεθυλιωμένος μεταβολίτης της ντοπαμίνης, μπορεί να υποδεικνύει παρουσία μετάλλαξης των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. [18]



Χρειάζεται να διευκρινιστεί ότι μη λειτουργικοί όγκοι κλινικά (ασυμπτωματικοί), μπορεί βιοχημικά να είναι είτε επίσης μη λειτουργικοί είτε λειτουργικοί. Η βιοχημική λειτουργικότητα, δηλαδή η ικανότητα παραγωγής κατεχολαμινών ή μεταβολιτών των κατεχολαμινών προϋποθέτει την έκφραση στα κύτταρα του όγκου του ενζύμου υδροξυλάση της τυροσίνης (TH, tyrosine hydroxylase), του αρχικού ενζύμου της οδού βιοσύνθεσης των κατεχολαμινών. Η ανοσοϊστοχημική χρώση για την υδροξυλάση της τυροσίνης είναι θετική στα περισσότερα συμπαθητικά παραγαγγλιώματα, αλλά μόνο σε μικρή αναλογία παρασυμπαθητικών παραγαγγλιωμάτων. Η εφαρμογή αυτής της χρώσης στα παραγαγγλιώματα κεφαλής και τραχήλου είναι πολύ χρήσιμη για τον εξής επιπλέον λόγο. Η επανεμφάνιση ή η παραμονή βιοχημικού προφίλ αυξημένων κατεχολαμινών σε ασθενή του οποίου ο όγκος έχει αρνητική χρώση για την υδροξυλάση της τυροσίνης είναι πιο πιθανό να σημαίνει παρουσία ενός δεύτερου πρωτοπαθούς όγκου από τα συμπαθητικά παραγάγγλια, παρά υποτροπή του αρχικού ή μετάστασή του.

Πολυεστιακοί όγκοι εμφανίζονται και στα δυο επινεφρίδια ή στο ένα επινεφρίδιο και εξωεπινεφριδιακά ή μόνο εξωεπινεφριδιακά.

Τα μεταστατικά παραγαγγλιώματα είναι σπάνια. Περίπου 10 % των εντοπιζόμενων στα επινεφρίδια δημιουργούν μεταστάσεις και 40% των εξωεπινεφριδιακών συμπαθητικών. Η ιστολογική εικόνα του όγκου δεν έχει σημαντική αξία ως προγνωστικός παράγοντας εμφάνισης μεταστάσεων και τα διάφορα συστήματα βαθμονόμησης που προκύπτουν από αυτή δεν είναι αποδεκτά χωρίς επιφυλάξεις ως προγνωστικά εργαλεία. Όλα τα παραγαγγλιώματα θεωρείται ότι διαθέτουν μεταστατική δυναμική και στην ταξινόμηση της WHO χρησιμοποιούνται οι όροι μεταστατικό και μη μεταστατικό αντί για καλόηθες και κακόηθες, όσον αφορά τη βιολογική συμπεριφορά αυτών των νεοπλασμάτων. [20]

## **2.4 ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ**

### **2.4.1. ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΠΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΣΤΙΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΤΟΥΣ ΟΓΚΟΥΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΝ**

Τα παραγαγγλιώματα έχουν από τις υψηλότερες συχνότητες εμφάνισης ως κληρονομικών μεταξύ των διαφόρων τύπων νεοπλασμάτων. Κληρονομικές μεταλλάξεις σε ένα από τα πολλά γνωστά γονίδια προδιάθεσης αναγνωρίζονται ως

αιτία περίπου στο 40% των ασθενών με παραγαγγλίωμα, ανεξάρτητα εάν είναι γνωστή ή όχι η ύπαρξη θετικού οικογενειακού ιστορικού. Παράλληλα, οι γονιδιωματικές μελέτες ανέδειξαν σωματικές μεταλλάξεις που εμφανίζονται αποκλειστικά στους όγκους, αν και έδειξαν επίσης ότι η συχνότητα μεταλλάξεων των παραγαγγλιωμάτων είναι μια από τις μικρότερες μεταξύ των όγκων που έχουν αλληλουχηθεί. [19]

Υπάρχουν τουλάχιστον 27 γονίδια που εμπλέκονται στη μοριακή παθογένεση των παραγαγγλιωμάτων. Ορισμένα από αυτά τα γονίδια μεταλλάσσονται αποκλειστικά στην γενετική γραμμή και ως εκ τούτου είναι κλασσικά γονίδια ευαισθησίας. Άλλα γονίδια βρίσκονται μεταλλαγμένα στη γενετική γραμμή ή στο σωματικό επίπεδο. Σε μια τρίτη ομάδα έχουν αναφερθεί μόνο σωματικές μεταλλάξεις. (Πίνακας 1)

Πίνακας 1. Κατάλογος των γονιδίων που συμμετέχουν στην παθογένεση των παραγαγγλιωμάτων [19]

Γονίδιο	Πλήρες όνομα	Πρωτεϊνική λειτουργία	Μοριακό μονοπάτι	Τύπος μετάλλαξης - Λειτουργία	Συχνότ.
1	<b>ATRX</b>	ATRX chromatin remodeler	Chromatin remodelling protein	Αναδιαμόρφωση της χρωματίνης	Σωματικές, αδρανοποιητικές (<5%)
2	<b>BRAF</b>	B-Raf protooncogene, serine/threonine kinase	Ser/Thr protein kinase	Οδός σηματοδότησης ψευδοϋποξίας ή Οδός σηματοδότησης MAPK?	Σωματικές, ενεργοποιητικές (<2%)
3	<b>CDKN2A</b>	cyclin dependent kinase inhibitor 2A	CDK4 kinase inhibitor and p53 stabilizer	Ρύθμισης κυτταρικού κύκλου	Σωματικές, αδρανοποιητικές (<2%)
4	<b>EGLN1/PHD2</b>	egl-9 family hypoxia inducible factor 1	HIFa targeting for proteosomal degradation	Οδός σηματοδότησης ψευδοϋποξίας	Κληρονομικές ή Σωματικές, αδρανοποιητικές (<1%)
5	<b>EPAS1/HIF2A</b>	endothelial PAS domain protein 1	Transcription factor	Οδός σηματοδότησης ψευδοϋποξίας	Μωσαϊκισμός ή Σωματικές, Σταθεροποιητικές του HIF (>10%)
6	<b>FGFR1</b>	fibroblast growth factor receptor 1	Growth factor receptor	Οδός σηματοδότησης MAPK	Σωματικές, ενεργοποιητικές (<5%)
7	<b>FH</b>	fumarate hydratase	TCA cycle enzyme	Οδός σηματοδότησης ψευδοϋποξίας	Κληρονομικές, αδρανοποιητικές (<2%)
8	<b>H3F3A</b>	H3.3 histone A	Histone remodelling	Αναδιαμόρφωση της χρωματίνης/Οδός σηματοδότηση MYC	Μωσαϊκισμός, προς τα άνω ρυθμιστής γονιδίου MYCN (<2%)
9	<b>HRAS</b>	HRas proto-oncogene, GTPase		Οδός σηματοδότησης MAPK	Σωματικές, ενεργοποιητικές (5-10%)
10	<b>IDH1</b>	isocitrate dehydrogenase (NADP(+)) 1	TCA cycle enzyme	Οδός σηματοδότησης ψευδοϋποξίας	Σωματικές, ανεξάρτητες της υποξίας (<1%)
11	<b>KIF1B</b>	kinesin family member 1B	Motor protein transports mitochondr.	Οδός ανεξάρτητη της υποξίας	Κληρονομικές ή Σωματικές (<5%)

12	<b>KMT2D</b>	lysine methyltransferase 2D	Histone methyltransferase	Αναδιαμόρφωση της χρωματίνης	Κληρονομικές ή Σωματικές	(5-10%)
13	<b>MAX</b>	MYC associated factor X	Transcription factor	Οδός σηματοδότησης MYC	Κληρονομικές ή Σωματικές, αδρανοποιητικές	(<2%)
14	<b>MDH2</b>	malate dehydrogenase 2	TCA cycle enzyme Malate dehydrogenase	Οδός σηματοδότησης ψευδοϋποξίας	Κληρονομικές, αδρανοποιητικές	(<2%)
15	<b>MERTK</b>	MER proto-oncogene, tyrosine kinase	Receptor tyrosine kinase	Οδός σηματοδότησης MAPK	Κληρονομικές, ενεργοποιητικές	(<2%)
16	<b>MET</b>	MET proto-oncogene, receptor tyrosine kinase	Receptor tyrosine kinase	Οδός σηματοδότησης MAPK	Κληρονομικές ή Σωματικές, ενεργοποιητικές	(<2%) germline, (5-10%) somatic
17	<b>MYCN</b>	MYC associated factor X	Transcription factor	Οδός σηματοδότησης MYC	Σωματικές, ενεργοποιητικές	(<1%)
18	<b>NF1</b>	neurofibromin 1	Negative regulator of RAS signal transduction	Οδός σηματοδότησης MAPK	Κληρονομικές ή Σωματικές, αδρανοποιητικές	(<5%) germline, (>10%) somatic
19	<b>RET</b>	ret proto-oncogene	Receptor tyrosine kinase	Οδός σηματοδότησης MAPK	Κληρονομικές ή Σωματικές, ενεργοποιητικές	(5-10%)
20	<b>SDHA</b>	succinate dehydrogenase complex flavoprotein subunit A	TCA cycle enzyme	Οδός σηματοδότησης ψευδοϋποξίας	Κληρονομικές, αδρανοποιητικές	(<2%)
21	<b>SDHAF2</b>	succinate dehydrogenase complex assembly factor 2	TCA cycle enzyme	Οδός σηματοδότησης ψευδοϋποξίας	Κληρονομικές, αδρανοποιητικές	(<1%)
22	<b>SDHB</b>	succinate dehydrogenase complex iron sulfur subunit B	TCA cycle enzyme	Οδός σηματοδότησης ψευδοϋποξίας	Κληρονομικές, αδρανοποιητικές	(>10%)
23	<b>SDHC</b>	succinate dehydrogenase complex subunit C	TCA cycle enzyme	Οδός σηματοδότησης ψευδοϋποξίας	Κληρονομικές, επιγενετικές αλλαγές, αδρανοποιητικές	(<2%)
24	<b>SDHD</b>	succinate dehydrogenase complex subunit D	TCA cycle enzyme	Οδός σηματοδότησης ψευδοϋποξίας	Κληρονομικές, αδρανοποιητικές	(5-10%)
25	<b>TMEM127</b>	transmembrane protein 127	Protein trafficking transmembrane protein	Αρνητικός ρυθμιστής mTOR	Κληρονομικές, αδρανοποιητικές	(<2%)
26	<b>TP53</b>	Tumor protein p53	Tumor suppression	TP53 multifunction	Σωματικές, αδρανοποιητικές	(<5%)
27	<b>VHL</b>	von Hippel-Lindau tumor suppressor	HIF degradation	Οδός σηματοδότησης ψευδοϋποξίας	Κληρονομικές ή Σωματικές, αδρανοποιητικές	(>10%)

Οι όγκοι (νεοπλάσματα) των παραγαγγλίων εκδηλώνονται πιο συχνά ως σποραδικοί και ιστορικά, πριν από το 2000, μόνο περίπου το 10% αυτών θεωρούνταν ότι ανήκαν στους κληρονομικούς. Ειδικότερα ότι, οι κληρονομικοί σχετίζονταν μόνο με τρία ευρύτερα γενετικά σύνδρομα νεοπλασματικής προδιάθεσης, που

περιελάμβαναν κατά κύριο λόγο νεοπλάσματα άλλου τύπου, τη νόσο von Hippel-Lindau, την πολλαπλή ενδοκρινική νεοπλασία τύπου 2 και τη νευροϊνωμάτωση τύπου 1.

Η νόσος von Hippel-Lindau είναι ένα αυτοσωμικό επικρατές σύνδρομο νεοπλασματικής προδιάθεσης. Σχετίζεται με κληρονομικές μεταλλάξεις του γονιδίου VHL, που το πρωτεϊνικό προϊόν του έχει δραστικότητα λιγάσης E3 της ουβικουϊτίνης και ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων που επάγονται από κατάσταση υποξίας. Αναφέρεται επίπτωση 1/36.000 γεννήσεις ανά έτος στη Μ. Βρετανία. [20] Χαρακτηρίζεται από ποικιλία καλοήθων και κακοήθων όγκων με πιο συχνούς τα αιμαγγειοβλαστώματα του αμφιβληστροειδούς και του κεντρικού νευρικού συστήματος, το καρκίνωμα του νεφρού και νεφρικές, παγκρεατικές και επιδιδυμικές κύστες. Όγκοι των παραγαγγλίων εμφανίζονται στο 10%-20% των ασθενών, με μέση ηλικία εμφάνισης τα 30 έτη και 5% των όγκων είναι κακοήθεις. Πρόκειται κατά 90% για όγκους με εντόπιση στα επινεφρίδια, αμφοτερόπλευρους στο 44% των πασχόντων. Εξωεπινεφριδιακά παραγαγγλιώματα, συμπαθητικά και παρασυμπαθητικά, συνήθως με μονήρη εντόπιση, εμφανίζονται στο 19% των ασθενών.[21]

Το σύνδρομο πολλαπλής ενδοκρινικής νεοπλασίας τύπου 2 (MEN2) οφείλεται σε ενεργοποιητικές μεταλλάξεις του γονιδίου RET το οποίο κωδικοποιεί έναν υποδοχέα τυροσινικής κινάσης της επιφάνειας της κυτταρικής μεμβράνης. Στα πλαίσια του συνδρόμου, το 100% των ασθενών αναπτύσσουν μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς και περίπου το 50% όγκους των παραγαγγλίων. Οι όγκοι αυτοί εκτός ελάχιστων περιπτώσεων που είναι εξωεπινεφριδιακοί, εντοπίζονται στα επινεφρίδια (φαιοχρωμοκυτώματα), είναι στην πλειοψηφία αμφοτερόπλευροι, υποτροπιάζουν συχνά, αλλά μόνο το 3% αυτών είναι κακοήθεις. Εως και στο 25% των ασθενών μπορεί να εμφανίζονται πριν από την εμφάνιση του μυελοειδούς καρκινώματος του θυρεοειδούς, με μέση ηλικία εμφάνισης τα 36 έτη.

Η νευροϊνωμάτωση τύπου 1 ή νόσος του von Recklinghausen κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο, όμως 30%-50% των ασθενών έχουν αυτόματες μεταλλάξεις. Υπεύθυνο για τη νόσο είναι το γονίδιο NF1 που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη νευροϊνομίνη, φυσιολογικός ρόλος της οποίας είναι η αδρανοποίηση του μορίου ενδοκυττάριας σηματοδότησης RAS. Η διάγνωση της νευροϊνωμάτωσης τύπου 1 βασίζεται σε κλινικά διαγνωστικά κριτήρια γιατί το μεγάλο μέγεθος του υπεύθυνου γονιδίου και η μη ύπαρξη περιοχών του με αυξημένη συχνότητα μεταλλάξεων (hot

spots) δυσκολεύουν τη γενετική ανάλυση. Ανήκει στα νευροδερματικά σύνδρομα με εκδηλώσεις από το δέρμα και το νευρικό σύστημα. Κύρια κλινικά χαρακτηριστικά είναι οι καφεγαλακτόχρωες δερματικές κηλίδες (CALM), οι εφηλίδες, τα νευρινώματα (υποδόρια, πλεγματοειδή), τα οζίδια του Lisch (αμαρτώματα της ίριδας), γλοιώματα οπτικής οδού και σκελετικές ανωμαλίες - δυσπλασίες των μακρών οστών. Οι όγκοι των παραγαγγλίων εμφανίζονται στο 5% περίπου των πασχόντων, με μέση ηλικία εμφάνισης τα 42 έτη. Το 95% των πασχόντων παρουσιάζουν φαιοχρωμοκυττώματα (επινεφριδιακά παραγαγγλιώματα) και 6% των πασχόντων εξωεπινεφριδιακά παραγαγγλιώματα, όλα συμπαθητικά. Στο 14% των ασθενών τα φαιοχρωμοκυττώματα είναι αμφοτερόπλευρα και 10% περίπου κακοήγη.

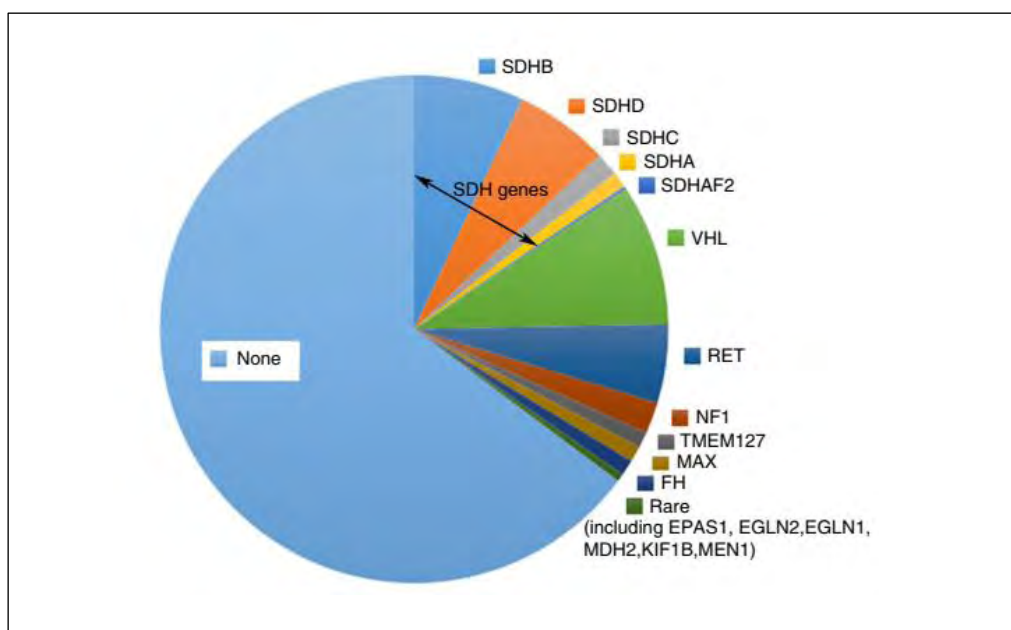
Όπως προκύπτει από τα πρότυπα των κλινικών εκδηλώσεων των παραπάνω τριών γενετικών συνδρόμων νεοπλασματικής προδιάθεσης, στη νόσο von Hippel - Lindau, στο σύνδρομο πολλαπλής ενδοκρινικής νεοπλασίας MEN τύπου 2 και στη νευροϊνομάτωση τύπου 1, παρουσιάζονται συνήθως φαιοχρωμοκυττώματα (επινεφριδιακά παραγαγγλιώματα), συχνά αμφοτερόπλευρα και με χαμηλή συχνότητα κακοήθους βιολογικής συμπεριφοράς.

Τα γενετικά σύνδρομα που περιλαμβάνουν στις εκδηλώσεις τους όγκους των παραγαγγλίων εμφανίζονται με διάφορα πρότυπα. Πριν από την εξέλιξη της γενετικής ανάλυσης η αναφορά στα σύνδρομα γινόταν με περιγραφή οικογενειών με οικογενή νεοπλάσματα σε ορισμένο αριθμό συγγενών - μελών τους. Η γενετική ανάλυση καθορίζει το εάν σε ένα ασθενή δείκτη το φαιοχρωμοκύττωμα - παραγαγγλίωμα είναι κληρονομήσιμο ή όχι.

Μετά την ταυτοποίηση των γονιδίων SDHD, SDHC και SDHB μετά το έτος 2000 ως επιπρόσθετα γονίδια προδιάθεσης έγινε φανερό ότι τουλάχιστον το ¼ των παραγαγγλιωμάτων ήταν κληρονομικά. Ως το 2012 είχαν συνολικά ανακαλυφθεί 10 γονίδια προδιάθεσης. [22] Η έρευνα ως τώρα έχει δείξει ότι περίπου το 40% των ασθενών με παραγαγγλίωμα / φαιοχρωμοκύττωμα φέρει παθογενετική κληρονομική μετάλλαξη σε κάποιο από τα πολλά γονίδια προδιάθεσης. Έτσι το φαιοχρωμοκύττωμα / παραγαγγλίωμα θεωρείται πλέον ως νεόπλασμα που καθορίζεται γενετικά. Ιδιαίτερα στο 80% ασθενών κάτω των 18 ετών [14] βρέθηκαν κληρονομικές μεταλλάξεις στα γονίδια RET, VHL, NF1, SDHA, SDHB, SDHC και SDHD, με πιο συχνά μεταλλαγμένο το VHL ακολουθούμενο από τα SDHB και SDHD.

Ως ομάδα, οι αυτοσωμικές κληρονομικές μεταλλάξεις των γονιδίων που κωδικοποιούν τις υπομονάδες και τους παράγοντες συναρμολόγησης του ενζυμικού συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης (SDH -A, -B, -C, -D, -AF2) αναγνωρίζονται ως η συχνότερη αιτία κληρονομικού παραγαγγλιώματος και αναλογούν σχεδόν στις μισές κληρονομικές μεταλλάξεις που ανευρίσκονται σε τέτοιους όγκους. (Εικ. 6) Οι επόμενες στη σειρά συχνότητας είναι αυτές που συνδέονται με το σύνδρομο von Hippel-Lindau, την πολλαπλή ενδοκρινική νεοπλασία τύπου 2 MEN2 (γονιδίου RET) και την νευροινωμάτωση τύπου 1 (γονιδίου NF1) και με πολύ μικρή συχνότητα με άλλα γονίδια που παρατίθενται στον Πίνακα 1.

Από μελέτη ασθενών που υποβλήθηκαν σε γενετική ανάλυση μετά από την εμφάνιση όγκου των παραγαγγλίων, σποραδικού ή και επί παρουσίας θετικού οικογενειακού ιστορικού, προέκυψαν τα εξής ευρήματα για τη συχνότητα των κληρονομικών όγκων. Μεταξύ του συνόλου των ασθενών, κληρονομικές μεταλλάξεις του γονιδίου VHL είχε το 9%, του γονιδίου RET το 5,3% και του γονιδίου NF1 το 2,9%. Οι ασθενείς με σποραδικό όγκο, δηλ. αυτοί στους οποίους τελικά δεν ανιχνεύθηκαν μεταλλάξεις, ήταν το 70% και επομένως το 30% αποτελούσαν οι όγκοι που σχετίζονταν με κληρονομικά σύνδρομα και γονίδια προδιάθεσης.[21]



Εικόνα 6. Συχνότητα των κληρονομικών μεταλλάξεων σε ασθενείς με παραγαγγλίωμα, όπως αναφέρονται στην ταξινόμηση της WHO 2017. [10]

Έτσι για τη διάγνωση φαιοχρωμοκυττώματος - παραγαγγλιώματος σε έναν ασθενή χρειάζεται να διερευνηθεί αν ο όγκος αυτός είναι σποραδικός ή εμφανίζεται στα πλαίσια κληρονομικής προδιάθεσης από νευροϊνωμάτωση τύπου 1 (προκαλούμενη από μεταλλάξεις του NF1), πολλαπλή ενδοκρινική νεοπλασία τύπου 2 (MEN 2, συνδεόμενη με μεταλλάξεις του RET), νόσο του von Hippel-Lindau (σχετιζόμενη με μεταλλάξεις του VHL), κληρονομικό παραγαγγλίωμα προκαλούμενο από μεταλλάξεις στην ομάδα γονιδίων SDHx, δηλαδή SDHA, SDHB, SDHC, SDHD και SDHAF2, ή από άλλα σπανιότερα αίτια.

Για τη διάγνωση του κληρονομικού παραγαγγλιώματος κομβικά σημεία είναι το οικογενειακό ιστορικό και / ή η παρουσία συγχρόνως και κάποιων άλλων συνδρομικών εκδηλώσεων. Αν το οικογενειακό ιστορικό δεν είναι γνωστό πρέπει να γίνει αναζήτηση για οικογενή νοσήματα σχεδιάζοντας το γενεαλογικό δένδρο και στα μέλη του να αναζητηθούν κλινικά σημεία που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένα κληρονομικά σύνδρομα που περιλαμβάνουν όγκους των παραγαγγλίων.

Οι μεταλλάξεις των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης (γονίδια SDHx) είναι τα αίτια 5 κληρονομικών συνδρόμων παραγαγγλιωμάτων, στα οποία κυριαρχεί η εμφάνιση όγκων των παραγαγγλίων διαφόρων εντοπίσεων, πολυεστιακών και εμφανιζόμενων περισσότερες από μια φορές κατά τη διάρκεια της ζωής των πασχόντων. Άλλου τύπου εκδηλώσεις εμφανίζονται με μικρή συχνότητα στα σύνδρομα αυτά.

#### **2.4.2. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ (PGL1, PGL2, PGL3, PGL4 ΚΑΙ PGL5) ΚΑΙ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ**

Τα κληρονομικά σύνδρομα παραγαγγλιωμάτων (PGLs) χαρακτηρίστηκαν κατά τη δεκαετία από το 2000 έως το 2010. Βρέθηκαν ότι συσχετίζονται με γονίδια που κωδικοποιούν τις υπομονάδες του ενζύμου ηλεκτρική αφυδρογονάση (succinate dehydrogenase, SDH). Κληρονομικές μεταλλάξεις σε ένα από τα γονίδια SDHx, ιδιαίτερα των SDHD και SDHB συναντώνται στο 8%-10% των κληρονομικών παραγαγγλιωμάτων. [10] Τα κληρονομικά παραγαγγλιώματα από το PGL1 έως το PGL5 μεταβιβάζονται με αυτοσωμικό κυρίαρχο πρότυπο. Στα PGL1 και PGL2 οι φορείς που έχουν κληρονομήσει τη μετάλλαξη από την πλευρά της μητέρας δεν εκδηλώνουν τη νόσο.

Το πρώτο από τα γονίδια του συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης που ταυτοποιήθηκε ως υπεύθυνο για κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιώματος ήταν το γονίδιο SDHD, κατά το έτος 2000. Είχε χαρτογραφηθεί στη χρωμοσωμική περιοχή 11q23 και ο γενετικός του τόπος αναφερόταν ως PGL1, δηλαδή ο γενετικός τόπος του υπεύθυνου γονιδίου του κληρονομικού παραγαγγλιώματος τύπου 1. Αρχικά συνδέθηκε με παραγαγγλιώματα, συνήθως πολυεστιακά, κεφαλής και τραχήλου, όμως σύντομα και με επινεφριδιακά και εξωεπινεφριδιακά, κοιλιακά / οπισθοπεριτοναϊκά και θωρακικά παραγαγγλιώματα. [23]

Ένα έτος μετά την ανακάλυψη της πρώτης κληρονομικής μετάλλαξης στο γονίδιο SDHD, σε ασθενείς με παραγαγγλιώμα, περιγράφηκαν και μεταλλάξεις του γονιδίου της υπομονάδας B του ενζυμικού συμπλόκου, ως αίτια του κληρονομικού παραγαγγλιώματος τύπου 4. Σύντομα οι μεταλλάξεις του γονιδίου SDHB που είχαν περιγραφεί ξεπέρασαν σε συχνότητα αυτές του SDHD, σε ασθενείς με παραγαγγλιώματα. Συνολικά οι μεταλλάξεις των γονιδίων SDHB και SDHD είναι υπεύθυνες για τη μεγάλη πλειοψηφία (πάνω από το 60%) όλων των περιπτώσεων παραγαγγλιωμάτων που οφείλονται σε κληρονομικές μεταλλάξεις των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου SDHB ευθύνονται για το 10% των περιπτώσεων όλων των παραγαγγλιωμάτων. Ενώ οι μεταλλάξεις του SDHD συνδέονται συχνότερα με την εκδήλωση πολυεστιακών παραγαγγλιωμάτων κεφαλής και τραχήλου, οι ασθενείς με μεταλλάξεις του SDHB διαγιγνώσκονται συνήθως με μονήρεις όγκους σε διάφορες θέσεις, δηλαδή με παραγαγγλιώμα επινεφριδιακό, ή εξωεπινεφριδιακό κοιλιακό ή κεφαλής και τραχήλου. Οι μεταλλάξεις του SDHB παρουσιάζουν χαμηλή διεισδυτικότητα και τον υψηλότερο κίνδυνο κακοήθειας (περίπου 50%) μεταξύ των μεταλλάξεων των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης.

Το γονίδιο SDHC, το ίδιο χρονικό διάστημα, συνδέθηκε με το κληρονομικό παραγαγγλιώμα τύπου 3. Η συχνότητα κληρονομικών μεταλλάξεων του SDHC που έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με παραγαγγλιώμα είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με των δυο προηγούμενων γονιδίων. Οι μεταλλάξεις του SDHC οδηγούν κυρίως σε καλοήγη, μη λειτουργικά παραγαγγλιώματα κεφαλής και τραχήλου, αναγνωρίζονται όμως ασθενείς και με παραγαγγλιώματα του συμπαθητικού.

Παθογενετικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHAF2, που κωδικοποιεί ένα συμπάραγοντα συναρμολόγησης του ενζυμικού συμπλόκου, σε ασθενείς με



παρααγγλιώμα ταυτοποιήθηκαν μερικά χρόνια μετά, το έτος 2009, ως αίτια του κληρονομικού παρααγγλιώματος τύπου 2, με εκδήλωση σχεδόν αποκλειστικά παρααγγλιώματα κεφαλής και τραχήλου. [7] Ένα έτος μετά, το 2010 αναγνωρίστηκαν μεταλλάξεις του γονιδίου της υπομονάδας A, SDHA ως υπεύθυνες του κληρονομικού παρααγγλιώματος 5.

Η διεισδυτικότητα των συνδρόμων ποικίλλει και έτσι μπορεί να εντοπίζονται ασθενείς δείκτες με εκδήλωση παρααγγλιώματος χωρίς οι φορείς της μετάλλαξης στην προηγούμενη ή και σε προηγούμενες γενεές να έχουν εκδηλώσει τη νόσο. Η σειρά εμφάνισης των όγκων στις διάφορες θέσεις δεν ακολουθεί κάποιο συγκεκριμένο πρότυπο σε κάθε τύπο συνδρόμου. Σπάνια μπορεί να εκδηλώνονται στα πλαίσια των συνδρόμων αυτών και νεοπλάσματα εκτός παρααγγλιωμάτων, όπως νεφροκυτταρικό καρκίνωμα και στρωματικοί όγκοι του γαστρεντερικού. Η εμφάνιση αυτών των σπάνιων εκδηλώσεων δεν ακολουθεί επίσης κάποιο πρότυπο ως προς τη σειρά εμφάνισής τους. [24]

#### **2.4.2.1. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ ΤΥΠΟΥ 1 (PGL1)**

Το κληρονομικό σύνδρομο παρααγγλιωμάτων τύπου 1 (PGL1) προκαλείται από κληρονομικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHD, το οποίο κωδικοποιεί την υπομονάδα D του ενζυμικού συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης (succinate dehydrogenase, SDH). Το γονίδιο SDHD τοποθετείται στη χρωμοσωμική περιοχή 11q23.1 και περιλαμβάνει 4 εξόνια.

Οι κληρονομικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHD προσδίδουν στους ετεροζυγώτες φορείς την προδιάθεση εμφάνισης νεοπλασμάτων των παρααγγλίων. Το κληρονομικό σύνδρομο παρααγγλιωμάτων τύπου 1 (PGL1) παρουσιάζει τρόπο κληρονόμησης αυτοσωματικού κυρίαρχου χαρακτήρα. Το υπεύθυνο γονίδιο SDHD, κατά την παρουσία δυο φυσιολογικών αλληλόμορφων στο γονιδιακό ζεύγος συμπεριφέρεται ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο. Στους φορείς ετερόζυγης μετάλλαξης απαιτείται και δεύτερη γενετική βλαπτική αλλαγή, που να προσβάλλει και το μη μεταλλαγμένο αλληλόμορφο στα σωματικά κύτταρα του ιστού, όπως απώλεια ετεροζυγωτίας (LoH), ώστε να εκδηλωθεί νεόπλασμα.

Η καταχώρηση του γονιδίου στη βάση δεδομένων OMIM του εθνικού κέντρου πληροφοριών βιοτεχνολογίας των Η.Π.Α. (NCBI) περιλαμβάνει τα παρακάτω στοιχεία: [25]

Αντιπροσωπευτικό όνομα γονιδίου σύμφωνα με την επιτροπή ονοματολογίας του ανθρώπινου γονιδιώματος HGNC: Γονίδιο SDHD.

Πλήρης ονομασία σύμφωνα με τη HGNC: Γονίδιο της υπομονάδας D του συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης.

Χρωμοσωμική περιοχή γενετικού τόπου: 11q23.1.

Αριθμός του γονιδίου στη βάση δεδομένων μενδελικής κληρονομικότητας στον άνθρωπο OMIM: \* 602690.

Η ηλεκτρική αφυδρογονάση σύμφωνα με την επιτροπή ονοματολογίας της διεθνούς ένωσης βιοχημείας και μοριακής βιολογίας IUBMB [26] έχει αριθμό επιτροπής ενζύμων EC 1.3.5.1 (παλαιότερα EC 1.3.99.1) και συστηματικό όνομα οξειδοαναγωγή ηλεκτρικού:ουβικινόνης (από την αντίδραση που συμμετέχει ως έζυμο του κύκλου του Krebs στην οξείδωση του ηλεκτρικού οξέος και συγχρόνως συστατικό του συμπλόκου II της αναπνευστικής αλυσίδας στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη των ευκαρυωτικών οργανισμών στη μεταφορά των ηλεκτρονίων στην ουβικινόνη).

Στη βάση δεδομένων μενδελικής κληρονομικότητας OMIM παρατίθενται οι φαινότυποι των νοσημάτων που σχετίζονται με αλλαγές του γονιδίου SDHD. (Πίνακας 2)

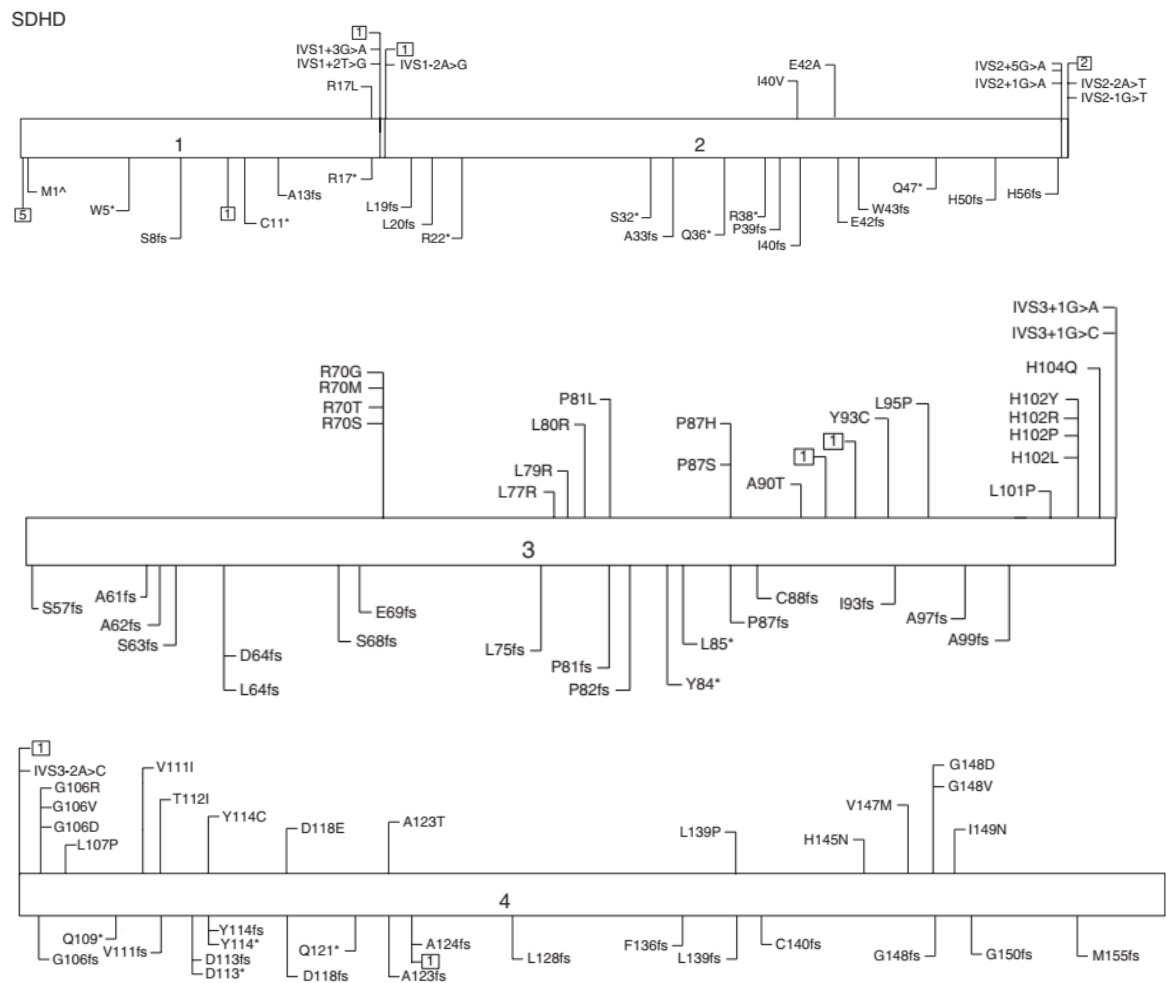
Πίνακας 2. Φαινότυποι νοσημάτων σχετιζόμενων με αλλαγές του γονιδίου SDHD

Φαινότυπος νοσήματος	Αριθμός MIM
Ανεπάρκεια συμπλόκου II μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας.	252011
Παραγαγγλίωμα και στρωματικό γαστρικό σάρκωμα	606864
<b>PGL1</b> , μέ ή χωρίς κώφωση	168000
Φαιοχρωμοκύττωμα	171300

Από τα υπόλοιπα νοσήματα που συνδέονται με το γονίδιο SDHD, εκτός του PGL1, η ανεπάρκεια του συμπλόκου II χαρακτηρίζεται από πολυσυστηματικές εκδηλώσεις από το κεντρικό νευρικό σύστημα, το μυοκάρδιο, τους σκελετικούς μύες, το ήπαρ και τους νεφρούς και εμφανίζει κληρονομικότητα αυτοσωματικού υποτελή χαρακτήρα. Ο συνδυασμός παραγαγγλιώματος με στρωματικό γαστρικό όγκο είναι το σύνδρομο Carney-Stratakis και προκαλείται από μεταλλάξεις του SDHD, αλλά και των γονιδίων SDHB και SDHC των άλλων υπομονάδων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. Το φαιοχρωμοκύττωμα έχει ξεχωριστή καταχώρηση στη βάση δεδομένων μενδελικής κληρονομικότητας OMIM, αλλά όταν προκαλείται από μεταλλάξεις των γονιδίων SDHx περιλαμβάνεται στα κληρονομικά σύνδρομα παραγαγγλιωμάτων PGL 1 έως 5. Ο συνδυασμός PGL1 με νευροαισθητήρια κώφωση έχει αναφερθεί σε δύο μόνο οικογένειες με κληρονομικό παραγαγγλίωμα καρωτιδικού σωματίου. [25]

Κληρονομικές μετάλλαξη του SDHD συνδέθηκε με την ανάπτυξη παραγαγγλιώματος για πρώτη φορά το έτος 2000. Σε ασθενείς με οικογενείς όγκους του καρωτιδικού σωματίου αναγνωρίστηκε η παρουσία αντικαταστάσεων ζευγών βάσεων που οδηγούσαν σε ανερμηνεύσιμες μεταλλάξεις του γονιδίου SDHD. [23] Είχαν προηγηθεί παρατηρήσεις οικογενειών με κληρονομική εμφάνιση παραγαγγλιώματος του καρωτιδικού σωματίου και η χαρτογράφηση του γενετικού τόπου του, πιθανού τότε, υπεύθυνου γονιδίου στο χρωμόσωμα 11. Στο κληρονομικό αυτό σύνδρομο παραγαγγλιωμάτων δόθηκε η ονομασία παραγαγγλίωμα 1 (PGL1), γιατί ήταν το πρώτο κληρονομικό σύνδρομο που ανακαλυπτόταν μετά τα έως τότε γνωστά (νόσος von Hippel-Lindau, MEN2, νευροϊνωμάτωση 1). Το PGL1 είχε ως κύριο χαρακτηριστικό του την εμφάνιση παραγαγγλιωμάτων, ενώ στα προηγούμενα σύνδρομα κυριαρχούσαν συνδρομικά χαρακτηριστικά προερχόμενα από άλλους ιστούς και όργανα. [27]

Έχει αναφερθεί μεγάλος αριθμός μεταλλάξεων κληρονομικές που συνδέονται με το PGL1. Κατανέμονται σε όλη την έκταση του γονιδίου SDHD, στα 4 εξόνια που αυτό περιλαμβάνει στην κωδικοποιητική του περιοχή. Πιο συχνές είναι οι μεταλλάξεις μετατόπισης του πλαισίου ανάγνωσης και οι ανερμηνεύσιμες, που οδηγούν σε πρόωρη διακοπή της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

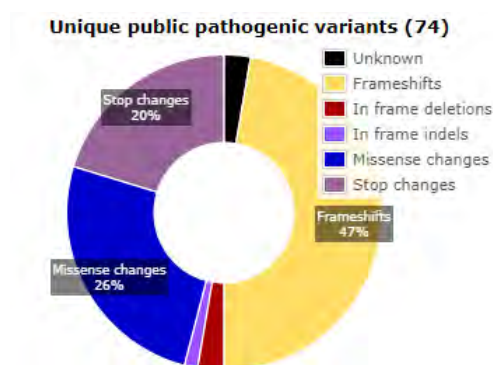


Εικόνα 7. Σχηματική αναπαράσταση των 4 εξονίων του γονιδίου SDHD. Σημειώνονται κληρονομικές γονιδιακές αλλαγές που έχουν συνδεθεί με το κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιωμάτων τύπου 1 (PGL1).

Σε μελέτες οικογενειακών δένδρων οικογενειών με κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιωμάτων τύπου 1 παρατηρήθηκε επίδραση γονικής προέλευσης του μεταλλαγμένου αλληλόμορφου. Η προδιάθεση για την ανάπτυξη παραγαγγλιωμάτων κληρονομείται ως αυτοσωματικός κυρίαρχος χαρακτήρας μόνο όταν το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο μεταβιβάζεται από τον πατέρα. Αυτό το πρότυπο κληρονόμησης είναι ενδεικτικό μητρικού γενετικού εντυπώματος του συγκεκριμένου γονιδίου, του SDHD, και ο φαινότυπος του νοσήματος δεν εκδηλώνεται όταν το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο είναι μητρικής προέλευσης. Ωστόσο, μελέτες έδειξαν έκφραση και των δυο αλληλόμορφων του SDHD σε φυσιολογικό ιστό πασχόντων. Επιπλέον, το γονίδιο

SDHD δεν εμπεριέχεται σε κάποια από τις περιοχές γενετικού εντυπώματος του γονιδιώματος. Για την εξήγηση της φαινομενικής παρουσίας μητρικού εντυπώματος του γονιδίου SDHD προτάθηκε ότι η απώλεια ετεροζυγωτίας στο χρωμοσώμα 11 στα σωματικά κύτταρα του όγκου, εκτός της απώλειας του φυσιολογικού αλληλόμορφου του SDHD περιλαμβάνει και άλλα γονίδια, η παρουσία των οποίων αποτρέπει την έκφραση του μεταλλαγμένου SDHD αλληλόμορφου πατρικής προέλευσης. [28], [29]

Στη διεθνή ανοιχτή βάση δεδομένων μεταλλάξεων των γονιδίων SDHx, LOVD (Leiden Open source Variation Database), περιλαμβάνονται 100 παθογενετικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHD, κυρίως αντικαταστάσεις ζεύγους βάσεων και ελλείψεις ζευγών βάσεων, με το 76% αυτών να εντοπίζονται σε κωδικοποιητικές περιοχές. Οι 74 καταχωρημένες παθογενετικές μεταλλάξεις κατατάσσονται σύμφωνα με τις προβλεπόμενες συνέπειες στο επίπεδο της πρωτεΐνης ως παρερμηνεύσιμες (26%), ανερμηνεύσιμες (20%) και μετατόπισης του πλαισίου ανάγνωσης (47%).



Εικόνα 8. Τύποι παθογενετικών μεταλλάξεων γονιδίου SDHD καταχωρημένες στη διεθνή βάση δεδομένων LOVD. Προβλεπόμενες συνέπειες στο επίπεδο της πρωτεΐνης.

Οι μεταλλάξεις του γονιδίου SDHD, στα πλαίσια του κληρονομικού συνδρόμου παραγαγγλιωμάτων τύπου 1, συνδέονται συνήθως με πολυεστιακά παραγαγγλιώματα κεφαλής και τραχήλου και λιγότερο συχνά με συμπαθητικά, επινεφριδιακά και εξωεπινεφριδιακά παραγαγγλιώματα, τα οποία είναι συνήθως καλοήγη. Σπάνιες περιπτώσεις μεταστατικών παραγαγγλιωμάτων κεφαλής και τραχήλου, έχουν περιγραφεί σε φορείς μεταλλάξεων του SDHD και η εκτιμώμενη συχνότητά τους μεταξύ των πασχόντων είναι 0 – 10%.

Επαναλαμβανόμενες ιδρυτικές μεταλλάξεις έχουν αναγνωρισθεί σε ολλανδικές (p. Asp92Tyr, p. Leu95Pro, p. Leu139Pro), αμερικανικές (p. Pro81Leu), ιταλικές (p. Gln109X), κινεζικές (p. Met1Ile) και ισπανικές (p. Trp43X) οικογένειες. Επιπλέον, μια

ιδρυτική μετάλλαξη μεγάλης έλλειψης 4944 ζευγών βάσεων του γονιδίου SDHD μεταξύ επαναλήψεων Alu αναγνωρίστηκε σε δύο αυστριακές οικογένειες με κληρονομικό παραγαγγλίωμα κεφαλής και τραχήλου.

Η διεισδυτικότητα εφ'όρου ζωής είναι υψηλή με το 75% των φορέων να εκδηλώνουν τη νόσο ως την ηλικία των 40 ετών. [30] Πιο πρόσφατα στοιχεία από μη ενδεικτικές περιπτώσεις φορέων έδειξαν διεισδυτικότητα (αθροιστικός κίνδυνος κλινικής εκδήλωσης νεοπλάσματος) 43% ως την ηλικία των 60 ετών. [31] Μελέτη από το γαλλικό δίκτυο κλινικών κέντρων PGL.NET χρηματοδοτούμενο από το δίκτυο COMETE (Cortico et Medullosurrenale: lesTumeurs Endocrines) έπειτα από γενετική ανάλυση 445 ασθενών, με περίοδο στρατολόγησης από το 2003 έως το 2008, με παραγαγγλίωμα κεφαλής τραχήλου ή κορμού εξωεπινεφριδιακό (αποκλείονταν από τη γενετική ανάλυση ασθενείς με μονήρες λειτουργικό φαιοχρωμοκύττωμα επινεφριδίων και χωρίς οικογενειακό ιστορικό), εντόπισε και συμπεριέλαβε 130 ασθενείς με κληρονομικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHD, υπεύθυνου του συνδρόμου PGL1. Το 97% των ασθενών είχε παραγαγγλίωμα κεφαλής - τραχήλου, στη συντριπτική πλειοψηφία όγκο του καρωτιδικού σωματίου. Θωρακικό, κοιλιακό ή πυελικό παραγαγγλίωμα είχε το 16%. Πολλαπλοί όγκοι (πολυεστιακό) είχαν εντοπιστεί στο 66% και μεταστατική νόσος στο 4% των ασθενών. Θετικό οικογενειακό ιστορικό είχε το 60%, ενώ στο 7% η εκδήλωση είχε παρ'όλα αυτά χαρακτηριστικά σποραδικής νόσου. Η μέση ηλικία της πρώτης διάγνωσης ήταν τα 35 έτη, με εύρος από 10 μέχρι 96 ετών. [32] Στο σύνδρομο PGL1 εκδηλώνονται σπάνια νεοπλάσματα εκτός των παραγαγγλίων, όπως νεφροκυτταρικό καρκίνωμα, στρωματικοί όγκοι του γαστρεντερικού (GISTs) και υποφυσιακά αδενώματα.

#### **2.4.2.2. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ ΤΥΠΟΥ 2 (PGL2)**

Το σύνδρομο PGL2 προκαλείται από κληρονομικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHAF2, το οποίο τοποθετείται στη χρωμοσωμική περιοχή 11q13 και περιλαμβάνει 4 εξόνια. Κατά παρόμοιο τρόπο με το γονίδιο SDHD και διαφορετικά από τα υπόλοιπα γονίδια SDHx, τα άτομα στα οποία το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο μεταβιβάζεται από τη μητέρα δεν αναπτύσσουν όγκους των παραγαγγλίων. Ο συνολικός αριθμός ασθενών που έχουν εντοπιστεί είναι πολύ μικρός. Σε αναφορές από το 2011, ο αριθμός αυτός

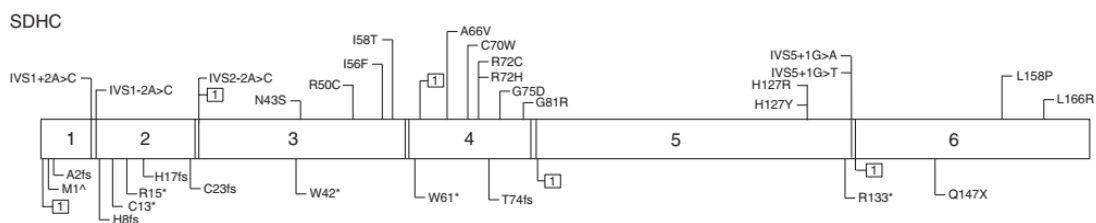
ήταν 37 άτομα, με τα 34 να ανήκουν στο ίδιο ολλανδικό γενεαλογικό δένδρο [28] και τα άλλα σε μια, χωρίς συγγένεια με την προηγούμενη, ισπανική οικογένεια. [33] Στην ολλανδική οικογένεια ταυτοποιήθηκε η παρερμηνεύσιμη μετάλλαξη p. Gly78Arg σε μια περιοχή συντηρημένης αλληλουχίας η οποία οδηγούσε σε κατάργηση της σύνδεσης του μορίου φλαβινοαδενινοδινουκλεοτιδίου (FAD) στην υπομονάδα A του ενζύμου της σουκινικής αφυδρογονάσης και απώλεια της δραστηριότητας του ενζυμικού συμπλόκου. Η ίδια ακριβώς μετάλλαξη ταυτοποιήθηκε και στην ισπανική οικογένεια. Να σημειωθεί ότι στην Ολλανδία η γενετική ετερογένεια των κληρονομικών παραγαγγλιωμάτων είναι σημαντικά μικρότερη από αυτή που συναντάται σε άλλες χώρες και ο επιπολασμός ιδρυτικών μεταλλάξεων των γονιδίων SDHx εξαιρετικά υψηλός. Μελέτη του πανεπιστημίου του Leiden, κέντρου αναφοράς όγκων των παραγαγγλίων στην Ολλανδία, σε δείγματα αίματος που συλλέχθηκαν κατά τα έτη από το 1990 έως το 2010, από ασθενείς με όγκους παραγαγγλίων και συγγενείς, εντόπισε, από τα συνολικά 1.045, μεταλλάξεις των SDHx στα 690, 239 εκ των οποίων ανήκαν σε περιπτώσεις δείκτες. Μεταλλάξεις του SDHD είχαν το 87,1% (σε άλλες χώρες υπερτερούν οι μεταλλάξεις του SDHB), του SDHAF2 το 6,7% (46 άτομα), του SDHB το 5,9% και του SDHC το 0,3%. Υπήρχαν 6 ιδρυτικές μεταλλάξεις των γονιδίων SDHx, τις οποίες έφερε το 90% των φορέων. [34]

Όλοι οι ασθενείς με παθογενετική μετάλλαξη του SDHAF2 εκδηλώνουν παραγαγγλιώματα κεφαλής και τραχήλου, τυπικά πολλαπλούς όγκους των καρωτιδικών σωματίων. Βέβαια τα κλινικά χαρακτηριστικά και το πρότυπο κληρονόμησης περιγράφονται με βάση ένα πολύ περιορισμένο αριθμό ενδεικτικών περιπτώσεων και οικογενειών με πάσχοντα μέλη.

#### **2.4.2.3. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ ΤΥΠΟΥ 3 (PGL3)**

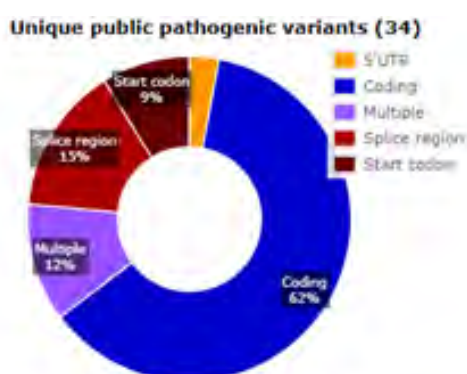
Το κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιωμάτων τύπου 3, PGL3, προκαλείται από κληρονομικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHC, που κωδικοποιεί την υπομονάδα C της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. Το γονίδιο SDHC τοποθετείται στη χρωμοσωμική περιοχή 1q23.3 και περιλαμβάνει 6 εξόνια. Έχει περιγραφεί μια ιδρυτική μετάλλαξη, η ανερμηνεύσιμη c.397C>T, p.Arg133Ter, σε γαλλικής καταγωγής Καναδούς. Οι

υπόλοιπες κληρονομικές μεταλλάξεις κατανέμονται τυχαία σε όλη την έκταση του γονιδίου. [35]

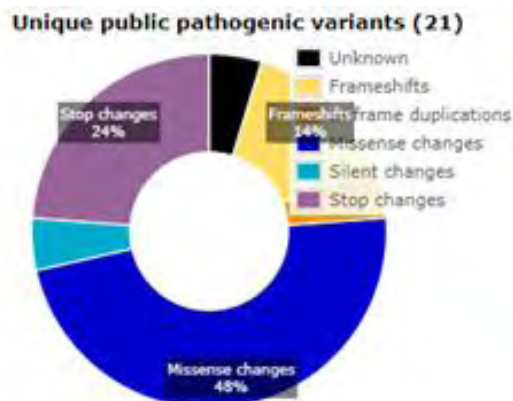


Εικόνα 9. Σχηματική αναπαράσταση των έξι εξονίων του γονιδίου SDHC. Σημειώνονται κληρονομικές γονιδιακές αλλαγές που έχουν συνδεθεί με κληρονομικό σύνδρομο παρααγγλιωμάτων τύπου 3, PGL3.

Περιοχές εντόπισης των μεταλλάξεων στο DNA



Προβλεπόμενες συνέπειες στο επίπεδο της πρωτεΐνης



Εικόνα 10. Τύποι παθογενετικών μεταλλάξεων γονιδίου SDHC καταχωρημένες στη διεθνή βάση δεδομένων LOVD. Περιοχές εντόπισης των μεταλλάξεων στο DNA και προβλεπόμενες συνέπειες στο επίπεδο της πρωτεΐνης.

Στη διεθνή ανοιχτή βάση δεδομένων μεταλλάξεων των γονιδίων SDHx, LOVD (Leiden Open source Variation Database), περιλαμβάνονται 34 παθογενετικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHC, 71% αντικαταστάσεις ζεύγους βάσεων και 18% ελλείψεις ζευγών βάσεων, με 62% αυτών να εντοπίζονται σε κωδικοποιητικές περιοχές του γονιδίου. Οι 21 καταχωρημένες παθογενετικές μεταλλάξεις κατατάσσονται σύμφωνα με τις προβλεπόμενες συνέπειες στο επίπεδο της πρωτεΐνης ως παρερμηνεύσιμες (48%), ανερμηνεύσιμες (24%) και μετατόπισης του πλαισίου ανάγνωσης (14%). [36]



Το διεθνές μητρώο καταγραφής (registry) φαιοχρωμοκυττώματος - παραγαγγλιώματος του Freiburg, μια μελέτη από το Αν Άρμπορ, Μίσιγκαν, ΗΠΑ και μια γαλλική μελέτη του δικτύου κλινικών κέντρων PGL.NET περιλαμβάνουν αθροιστικά 61 ασθενείς. Το 92% αυτών εκδήλωσαν παραγαγγλίωμα κεφαλής και τραχήλου, κυρίως του καρωτιδικού σωματίου. Στο 4% εκδηλώθηκαν οπισθοπεριτοναϊκοί όγκοι και στο 8% θωρακικοί. Πολλαπλοί όγκοι των παραγαγγλίων βρέθηκαν στο 25% των ασθενών και δεν υπήρχαν μεταστατικοί όγκοι. Το 81% των ασθενών είχε την πρώτη εμφάνιση όγκου έως την ηλικία των 50 ετών. Το 87% των ασθενών είχε αποκλειστικά παραγαγγλίωμα κεφαλής και τραχήλου. Η πλειονότητα των ασθενών είχε μονήρη όγκο και αρνητικό οικογενειακό ιστορικό. Έχουν αναφερθεί νεοπλάσματα εκτός των παραγαγγλίων σε ασθενείς με κληρονομικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHC και συγκεκριμένα ελάχιστες περιπτώσεις νεφροκυτταρικού καρκινώματος, στρωματικού όγκου του γαστρεντερικού και υποφυσιακού αδενώματος. [32], [37]

#### **2.4.2.4. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ ΤΥΠΟΥ 4 (PGL4)**

Το κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιωμάτων τύπου 4 (PGL4) προκαλείται από μεταλλάξεις του γονιδίου SDHB, του γονιδίου που κωδικοποιεί την υπομονάδα Β του ενζυμικού συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης (succinate dehydrogenase, SDH). Οι κληρονομικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHB προσδίδουν προδιάθεση εμφάνισης νεοπλασμάτων των παραγαγγλίων, με κληρονομικότητα αυτοσωμικού κυρίαρχου χαρακτήρα. Το γονίδιο SDHB συμπεριφέρεται ως ογκοκατασταλτικό, με την απώλεια ετεροζυγωτίας (LoH) ως δεύτερη γενετική βλαπτική αλλαγή στα σωματικά κύτταρα των νεοπλασμάτων.

Η καταχώρηση του γονιδίου στη βάση δεδομένων OMIM του εθνικού κέντρου πληροφοριών βιοτεχνολογίας των Η.Π.Α. (NCBI) περιλαμβάνει τα παρακάτω στοιχεία.

Αντιπροσωπευτικό όνομα γονιδίου σύμφωνα με την επιτροπή ονοματολογίας του ανθρώπινου γονιδιώματος HGNC: Γονίδιο SDHB.

Πλήρης ονομασία σύμφωνα με τη HGNC: Γονίδιο της πρωτεΐνης σιδήρου - θείου, υπομονάδας Β συμπλόκου ηλεκτρικής αφυδρογονάσης.

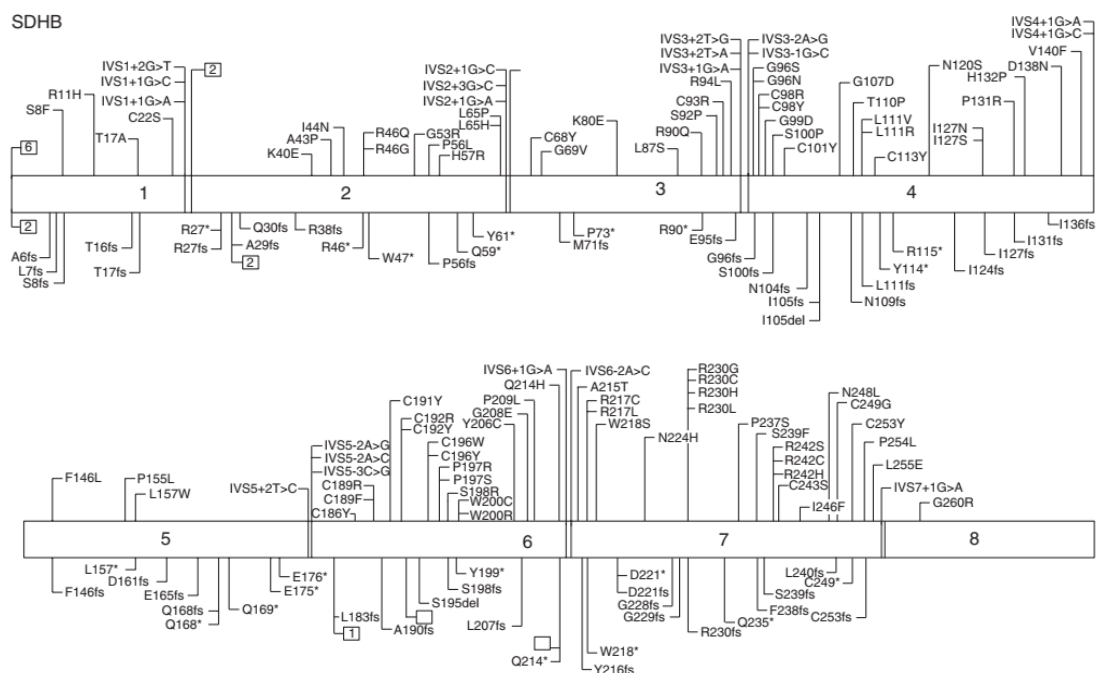
Χρωμοσωμική περιοχή γενετικού τόπου: 1p36.13.

Αριθμός του γονιδίου στη βάση δεδομένων μενδελικής κληρονομικότητας στον άνθρωπο OMIM: \* 185470.

Στη βάση δεδομένων μενδελικής κληρονομικότητας OMIM παρατίθενται οι φαινότυποι των νοσημάτων που σχετίζονται με αλλαγές του γονιδίου SDHB. Περιλαμβάνουν το κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιώματος, παραγαγγλίωμα 4 (PGL4, αριθμός MIM 115310) και το σύνδρομο Carney - Stratakis που περιλαμβάνει εκδήλωση παραγαγγλιώματος και στρωματικού όγκου του γαστρεντερικού, GIST (αριθμός MIM 606864). Αναφέρονται επίσης ως ξεχωριστοί φαινότυποι νοσημάτων η μεμονωμένη εμφάνιση GIST (αριθμός MIM 606764) και η μεμονωμένη εμφάνιση φαιοχρωμοκυττώματος (αριθμός MIM 171300), δηλαδή παραγαγγλιώματος, με εντόπιση τη μυελώδη ουσία των επινεφριδίων. Όσον αφορά τους στρωματικούς όγκους του γαστρεντερικού (GISTs), αυτοί είναι ενδοτοιχωματικοί μεσεγχυματικοί (του συνδετικού ιστού) όγκοι του γαστρεντερικού σωλήνα. Παλαιότερα αναφέρονταν ως σαρκώματα ή λειομυοσαρκώματα του γαστρεντερικού τοιχώματος, θεωρείται όμως ότι προέρχονται από τα διάμεσα κύτταρα του Cajal, εξειδικευμένα κύτταρα διάσπαρτα στην εξωτερική μυϊκή στιβάδα, με συνδέσεις με το εντερικό νευρικό σύστημα και με τα λεία μυϊκά κύτταρα της στιβάδας. Τα διάμεσα κύτταρα του Cajal θεωρούνται απαραίτητα για την γαστρεντερική κινητικότητα, με βηματοδοτική λειτουργία στην περίσταση και ρόλο στη χάλαση των λείων μυϊκών ινών. [38]

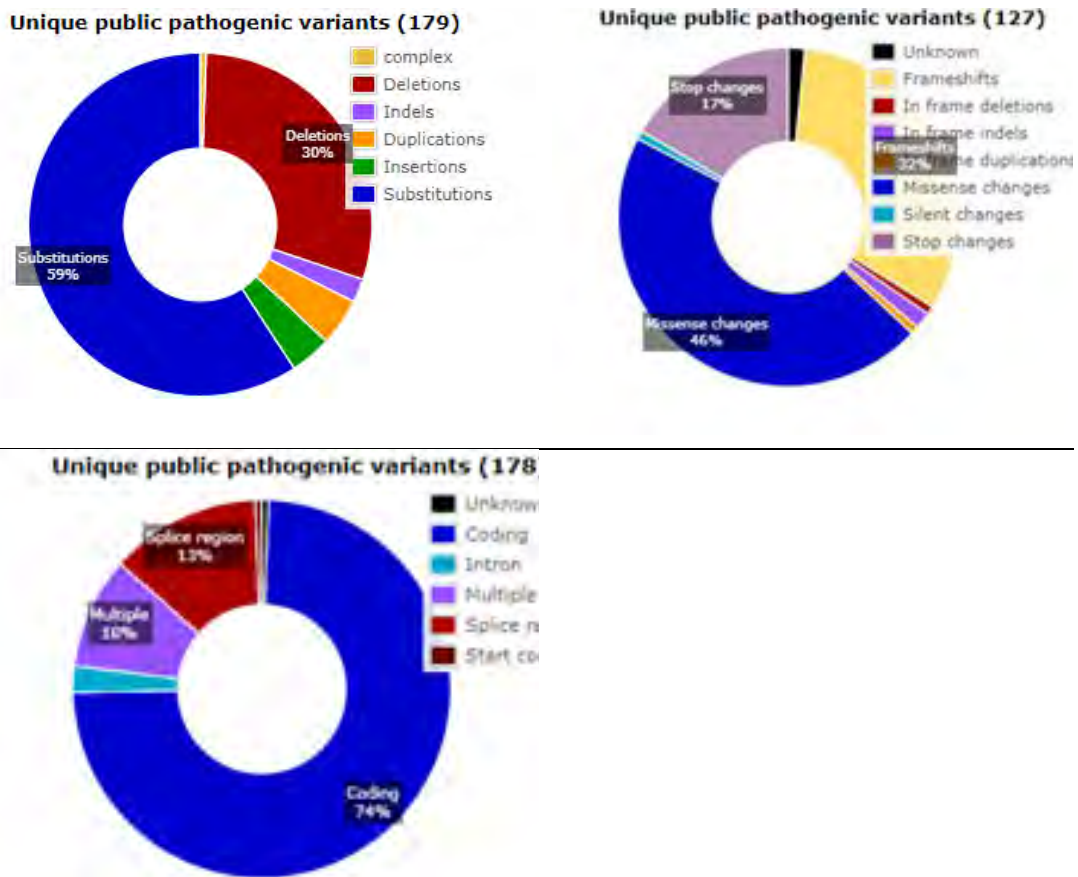
Το γονίδιο SDHB τοποθετείται στη χρωμοσωμική περιοχή 1p36.1 - p35 και περιλαμβάνει οκτώ εξόνια. Διαφορετικές παθογενετικές μεταλλάξεις, κατανομημένες σε όλη την έκταση του γονιδίου έχουν περιγραφεί.

Στη διεθνή ανοιχτή βάση δεδομένων μεταλλάξεων των γονιδίων SDHx, LOVD (Leiden Open source Variation Database), περιλαμβάνονται 179 παθογενετικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHA, 59% αντικαταστάσεις ζεύγους βάσεων και 37% ελλείψεις ζευγών βάσεων, με το 74% αυτών να εντοπίζονται σε κωδικοποιητικές περιοχές. Οι 127 καταχωρημένες παθογενετικές μεταλλάξεις κατατάσσονται σύμφωνα με τις προβλεπόμενες συνέπειες στο επίπεδο της πρωτεΐνης ως παρερμηνεύσιμες (46%), ανερμηνεύσιμες (17%) και μετατόπισης του πλαισίου ανάγνωσης (32%).



Εικόνα 11. Σχηματική αναπαράσταση των 8 εξονίων του γονιδίου SDHB. Σημειώνονται κληρονομικές γονιδιακές αλλαγές που έχουν συνδεθεί με κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιωμάτων τύπου 4, PGL4.

Σε αντίθεση με το PGL1, το PGL4 συνδέεται περισσότερο με εξωεπινεφριδιακά συμπαθητικά παραγαγγλιώματα θωρακικά ή κοιλιακά και με μεταστατικούς όγκους. [39] Το διεθνές μητρώο καταγραφής του Freiburg και τα γαλλικά μητρώα καταγραφής [32], [40] περιλαμβάνουν 287 ασθενείς με κληρονομικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHB. Το 53% αυτών είχαν εξωεπινεφριδιακούς οπισθοπεριτοναϊκούς, πνευλικούς ή θωρακικούς όγκους. Το 43% είχαν παραγαγγλίωμα κεφαλής και τραχήλου. Το 13% εμφάνιζαν πολυεστιακούς όγκους και το 30% μεταστατικούς. Το εύρος ηλικίας κατά τη διάγνωση ήταν 8 έτη έως 78 έτη. Θετικό οικογενειακό ιστορικό για όγκους των παραγαγγλίων είχε το 19% των ασθενών. Η διεισδυτικότητα εφ' όρου ζωής (life-time) εκτιμάται στο 20% μέχρι την ηλικία των 50 ετών και στο 40% μέχρι την ηλικία των 70 ετών. (Jochmanova et al. 2017, Rijken et al. 2018). Για τη γενετική συμβουλευτική, είναι χρήσιμη η διεισδυτικότητα των μη ενδεικτικών περιπτώσεων, που εκτιμήθηκε στο 22% μέχρι την ηλικία των 60 ετών. [31] (Andrews et al. 2018). Νεοπλάσματα εκτός των παραγαγγλίων που έχουν αναφερθεί περιλαμβάνουν πάλι τη σπάνια εμφάνιση νεφροκυτταρικού καρκινώματος, GIST και υποφυσιακού αδενώματος.



Εικόνα 12. Συχνότητες τύπων παθογενετικών μεταλλάξεων γονιδίου SDHB καταχωρημένες στη διεθνή βάση δεδομένων LOVD και προβλεπόμενες συνέπειες στο επίπεδο της πρωτεΐνης

#### 2.4.2.5. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ ΤΥΠΟΥ 5 (PGL5)

Το κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιώματος τύπου 5 ή παραγαγγλίωμα 5 (PGL5) προκαλείται από κληρονομικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHA, το οποίο κωδικοποιεί την υπομονάδα A του ενζυμικού συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης (succinate dehydrogenase, SDH). Το γονίδιο SDHA τοποθετείται στη χρωμοσωμική περιοχή 5p15.33 και περιλαμβάνει 15 εξόνια.

Οι κληρονομικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHA προσδίδουν στους ετεροζυγώτες φορείς την προδιάθεση εμφάνισης νεοπλασμάτων των παραγαγγλίων. Το κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιώματος 5 (PGL5) παρουσιάζει τρόπο κληρονόμησης αυτοσωματικού κυρίαρχου χαρακτήρα. Το υπεύθυνο γονίδιο SDHA,

κατά την παρουσία δυο φυσιολογικών αλληλόμορφων στο γονιδιακό ζεύγος συμπεριφέρεται ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο. Στους φορείς ετερόζυγης μετάλλαξης απαιτείται και δεύτερη γενετική βλαπτική αλλαγή, που να προσβάλλει και το μη μεταλλαγμένο αλληλόμορφο στα σωματικά κύτταρα του ιστού, όπως απώλεια ετεροζυγωτίας (LoH), ώστε να εκδηλωθεί νεόπλασμα.

Η καταχώρηση του γονιδίου στη βάση δεδομένων OMIM του εθνικού κέντρου πληροφοριών βιοτεχνολογίας των Η.Π.Α. (NCBI) περιλαμβάνει τα παρακάτω στοιχεία: [41]

Αντιπροσωπευτικό όνομα γονιδίου σύμφωνα με την επιτροπή ονοματολογίας του ανθρώπινου γονιδιώματος HGNC: Γονίδιο SDHA.

Πλήρης ονομασία σύμφωνα με τη HGNC: Γονίδιο της πρωτεΐνης σιδήρου - θείου, υπομονάδας A του συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης.

Χρωμοσωμική περιοχή γενετικού τόπου: 5p15.33.

Αριθμός του γονιδίου στη βάση δεδομένων μενδελικής κληρονομικότητας στον άνθρωπο OMIM: \* 600857.

Η ηλεκτρική αφυδρογονάση σύμφωνα με την επιτροπή ονοματολογίας της διεθνούς ένωσης βιοχημείας και μοριακής βιολογίας IUBMB [26] έχει αριθμό επιτροπής ενζύμων EC 1.3.5.1 (παλαιότερα EC 1.3.99.1) και συστηματικό όνομα οξειδοαναγωγή ηλεκτρικού : ουβικινόνης (από την αντίδραση που συμμετέχει ως έζυμο του κύκλου του Krebs στην οξείδωση του ηλεκτρικού οξέος και συγχρόνως συστατικό του συμπλόκου II της αναπνευστικής αλυσίδας στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη των ευκαρυωτικών οργανισμών στη μεταφορά των ηλεκτρονίων στην ουβικινόνη)

Στη βάση δεδομένων μενδελικής κληρονομικότητας OMIM παρατίθενται οι φαινότυποι των νοσημάτων που σχετίζονται με αλλαγές του γονιδίου SDHA. (Πίνακας 3)

Τα νοσήματα που συνδέονται με το γονίδιο SDHA, εκτός του παραγαγγλιώματος 5, είναι νοσήματα με κληρονομικότητα αυτοσωματικού υποτελή χαρακτήρα, εκδηλώνονται από τα πρώτα έτη της ζωής και συνδέονται με διαταραχή της παραγωγής ενέργειας στο μιτοχόνδριο. Το σύνδρομο Leigh ή υποξεία νεκρωτική βρεφική

Πίνακας 3. Φαινότυποι νοσημάτων που σχετίζονται με αλλαγές του γονιδίου SDHA:

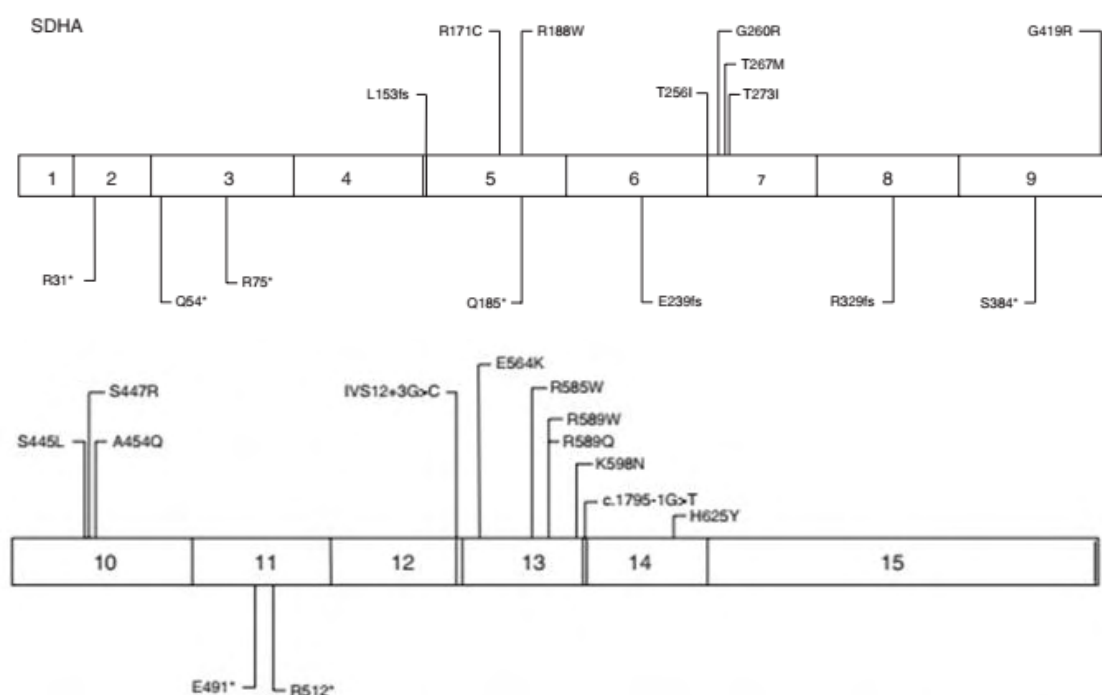
Φαινότυπος νοσήματος	Αριθμός MIM
Σύνδρομο Leigh	256000
Διατατική μυοκαρδιοπάθεια 1GG	613642
Ανεπάρκεια συμπλόκου II μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας	252011
Παραγαγγλίωμα 5	614165

εγκεφαλοπάθεια είναι βαρεία νευροεκφυλιστική διαταραχή. Πολυσυστηματικές εκδηλώσεις από το κεντρικό νευρικό σύστημα, το μυοκάρδιο, τους σκελετικούς μύες, το ήπαρ και τους νεφρούς υπάρχουν στην ανεπάρκεια του συμπλόκου II. Η διατατική μυοκαρδιοπάθεια 1CG έχει περιγραφεί σε μια αιμομεικτική οικογένεια. [41]

Κληρονομικές μετάλλαξη του SDHA συνδέθηκε με την ανάπτυξη παραγαγγλιώματος για πρώτη φορά το έτος 2010. Κατά τη διάρκεια της δεκαετίας που είχε προηγηθεί, όλα τα γονίδια του συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης είχαν συνδεθεί με κληρονομικά σύνδρομα παραγαγγλιώματος (PGL 1 έως 4) και το κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιώματος του SDHA ονομάστηκε PGL5.

Στην αρχική αυτή σύνδεση, σε μια ασθενή με συμπαθητικό, με έκκριση κατεχολαμινών, εξωεπινεφριδιακό κοιλιακό παραγαγγλίωμα ταυτοποιήθηκε μια ετερόζυγη κληρονομικές παρερμηνεύσιμη αντικατάσταση βάσης του SDHA [NM\_004168.4(SDHA):c.1765C>T (p.Arg589Trp ή p.R589W)]. Σε ιστό του όγκου διαπιστώθηκε απώλεια ετεροζυγωτίας για το γενετικό τόπο του SDHA (χρωμοσωμική περιοχή 5p). Οι μεταβολές αυτές οδηγούσαν σε μείωση της λειτουργικότητας της υπομονάδας A και του ενζυμικού συμπλόκου. Έτσι με ανοσοϊστοχημική χρώση, διαπιστώθηκε απουσία έκφρασης της υπομονάδας A της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης στον ιστό του όγκου και επίσης, μετά από έκφραση σε μοντέλο ζυμομύκητα, μειωμένη ενζυμική δραστηριότητα. Παράλληλα, ανάλυση μιας μεγάλης σειράς 202 όγκων έδειξε απώλεια ετεροζυγωτίας του γενετικού τόπου του SDHA μόνο στο 4,5% αυτών, δείχνοντας ότι αποτελεί σπάνιο συμβάν στη διαδικασία ανάπτυξης παραγαγγλιώματος με συνέπεια τη μείωση της διεισδυτικότητας στους ετερόζυγους φορείς μεταλλάξεων του SDHA. [6]

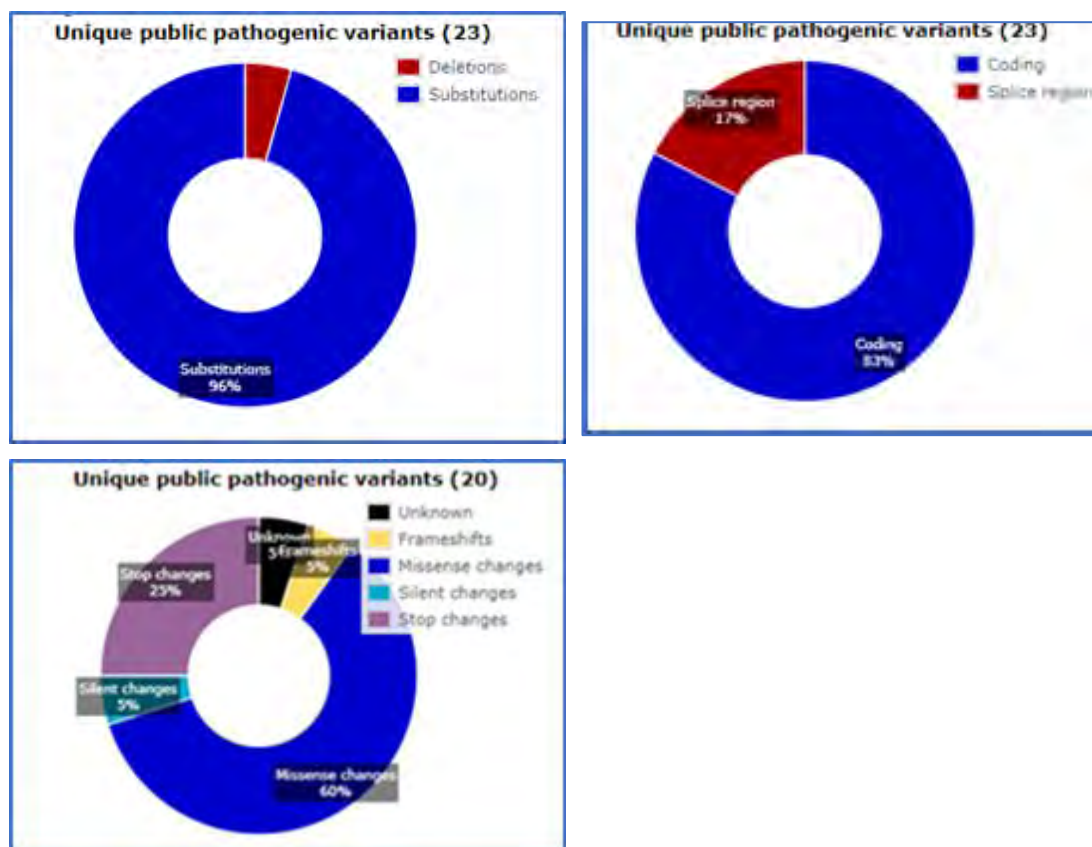
Η γενετική ανάλυση του γονιδίου SDHA δυσχεραίνεται από την παρουσία τριών ψευδογονιδίων του στα χρωμοσώματα 3 και 5, που εμφανίζουν μεγάλη ομολογία με την κωδικοποιητική περιοχή και με περιοχές ιντρονίων του SDHA και από το μεγάλο μέγεθος του γονιδίου που περιλαμβάνει δεκαπέντε εξόνια. [24] Η ανάλυση με ανοσοϊστοχημεία της έκφρασης των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από τα γονίδια SDHA και SDHB, δηλαδή της υπομονάδας A και της υπομονάδας B της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, σε δείγματα ιστού των όγκων, μπορεί να είναι χρήσιμη στην αναγνώριση όγκων που περιέχουν μεταλλάξεις του SDHA, αλλά και των άλλων γονιδίων SDHx. Αρνητική ανοσοϊστοχημική χρώση για την υπομονάδα B είναι ενδεικτική για την παρουσία μετάλλαξης σε οποιοδήποτε από τα γονίδια SDHx, ενώ αρνητική ανοσοϊστοχημική χρώση για την υπομονάδα A κάνει πιθανή την ύπαρξη μετάλλαξης του SDHA. [42]



Εικόνα 13. Σχηματική αναπαράσταση των εξονίων του γονιδίου SDHA. Το γονίδιο SDHA είναι το μεγαλύτερο των SDHx γονιδίων και περιλαμβάνει 15 εξόνια. Σημειώνονται κληρονομικές γονιδιακές αλλαγές που έχουν συνδεθεί με κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιωμάτων τύπου 5, PGL5.

Διαφορετικές παθογενετικές μεταλλάξεις, κατανεμημένες με τυχαίο τρόπο σε όλη την έκταση του γονιδίου έχουν περιγραφεί. Στη διεθνή ανοιχτή βάση δεδομένων μεταλλάξεων των γονιδίων SDHx, LOVD (Leiden Open source Variation Database),

περιλαμβάνονται 23 παθογενετικές μεταλλάξεις του γονιδίου SDHA, 96% αντικαταστάσεις ζεύγους βάσεων και 4% ελλείψεις ζευγών βάσεων, με 83% αυτών να εντοπίζονται σε κωδικοποιητικές περιοχές και το 17% στα σημεία ματίσματος. Οι 20 καταχωρημένες παθογενετικές μεταλλάξεις κατατάσσονται σύμφωνα με τις προβλεπόμενες συνέπειες στο επίπεδο της πρωτεΐνης ως παρερμηνεύσιμες (60%), ανερμηνεύσιμες (25%) και μετατόπιση του πλαισίου ανάγνωσης (5%).



Εικόνα 14. Τύποι παθογενετικών μεταλλάξεων γονιδίου SDHA καταχωρημένες στη διεθνή βάση δεδομένων LOVD. Προβλεπόμενες συνέπειες στο επίπεδο της πρωτεΐνης.[43]

Σε μια μελέτη που παρουσίαζε δεδομένα 972 μη συγγενικών περιπτώσεων ασθενών από το Ευρωπαϊκό - Αμερικανικό - Ασιατικό αρχείο καταγραφής (registry) φαιοχρωμοκυττώματος - παραγαγγλιώματος των ετών 1993-2006, αφού είχαν αποκλειστεί οι φορείς μεταλλάξεων στα θεωρούμενα «κλασσικά» γονίδια προδιάθεσης RET, VHL, NF1, SDHB, -C και -D, βρέθηκαν 29 ασθενείς με μεταλλάξεις του SDHA. Σε αυτές τις 29 ενδεικτικές περιπτώσεις προστέθηκαν και 9 συγγενείς φορείς που ανακαλύφθηκαν με το γενετικό έλεγχο των οικογενειών.



Η διεισδυτικότητα για όλους τους φορείς μεταλλάξεων SDHA ήταν 39% στην ηλικία των 40 ετών, αλλά διέφερε μεταξύ των ασθενών-δεικτών (45%) και των συγγενών φορέων μεταλλάξεων (13%). Η εντόπιση των νεοπλασμάτων ήταν τα επινεφρίδια στο 28% με 4% αμφοτερόπλευρα, εξωεπινεφριδιακά παραγαγγλιώματα οπισθοπεριτοναϊκά και πυελικά στο 41% (μόνο 1 ήταν με εντόπιση το θώρακα) και παραγαγγλιώματα κεφαλής και τραχήλου στο 44% των ασθενών. Πολυεστιακοί όγκοι των παραγαγγλίων βρέθηκαν στο 9% των ασθενών και το 12% των ασθενών εμφάνισε μεταστατικό όγκο. Το εύρος ηλικίας της πρώτης διάγνωσης ήταν από 8 έως 76 ετών, με διάμεση τα 28 έτη. Μόνο το 3% των ασθενών είχε οικογενειακό ιστορικό όγκου των παραγαγγλίων. Δεν παρατηρήθηκαν όγκοι εκτός των παραγαγγλίων. [44]

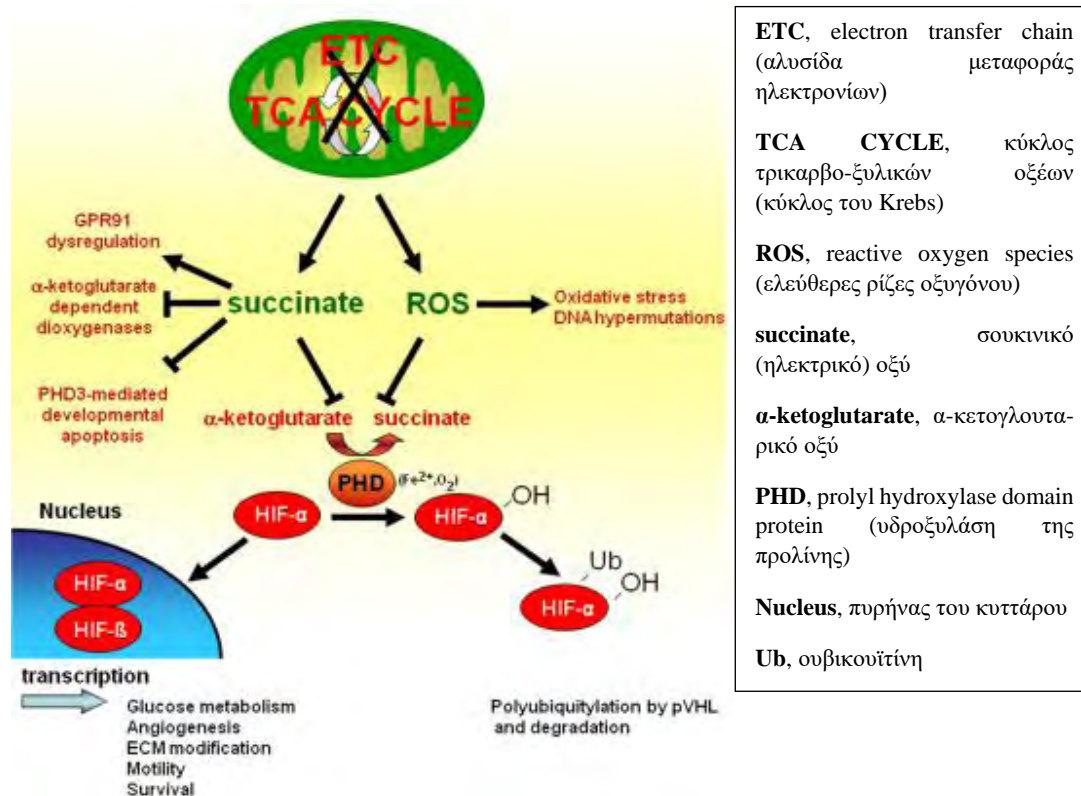
Μια άλλη μελέτη παρουσίασε δεδομένα για τα έτη 2001-2006, περιλαμβάνοντας σχεδόν όλες τις περιπτώσεις που εμφανίστηκαν στα διάφορα κλινικά κέντρα της Ολλανδίας. Σε 393 ασθενείς με παραγαγγλιώμα, ανεξήγητης αιτιολογίας, δηλαδή με αρνητικό έλεγχο για τα «κλασσικά» γονίδια προδιάθεσης, όπως αναφέρθηκαν και πιο πάνω, βρέθηκαν 30 ασθενείς, δηλ.το 7,6% με παθογενετικές μεταλλάξεις του SDHA. Η μια από αυτές, που ήταν ήδη γνωστή, εμφανιζόταν σε 23 από τους 30 και ήταν η ανερμηνεύσιμη μετάλλαξη NM\_004168.2(SDHA) : c.91C>T (p.Arg31\*), η οποία ανήκει στις ολλανδικές ιδρυτικές μεταλλάξεις των γονιδίων SDHx. Οι εντοπίσεις των παραγαγγλιωμάτων ήταν 70% κεφαλής και τραχήλου, 10% επινεφριδιακά και 20% συμπαθητικά εξωεπινεφριδιακά. Δεν παρατηρήθηκαν όγκοι εκτός των παραγαγγλίων που να συνδέονταν με μεταλλάξεις του SDHA. Από το γενετικό έλεγχο των συγγενών βρέθηκαν και 51 συγγενείς φορείς μεταλλάξεων. Η διεισδυτικότητα στην ηλικία των 50 ετών ήταν 26% για τις ενδεικτικές περιπτώσεις μαζί με τους συγγενείς φορείς, ενώ ήταν 2% για τους συγγενείς φορείς μόνο.

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΟΓΚΟΓΕΝΕΣΗΣ ΜΕ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΠΟΥ ΠΡΟΞΕΝΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ**

*Μιτοχόνδρια και ογκογένεση.* Το πρώτο καθοριστικό παράδειγμα της ύπαρξης σχέσης μεταξύ γενετικών αλλαγών με συνέπειες στη μιτοχονδριακή λειτουργία και την ανάπτυξη νεοπλασμάτων ήταν η ανεύρεση κληρονομικών μεταλλάξεων στα γονίδια των υπομονάδων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης σε ασθενείς με κληρονομικό

παραγαγγλίωμα. Τα γονίδια που κωδικοποιούν την ηλεκτρική αφυδρογονάση τοποθετούνται στο πυρηνικό DNA και όχι στο μιτοχονδριακό, παρά το γεγονός ότι η ηλεκτρική αφυδρογονάση είναι συστατικό των μιτοχονδρίων. Σωματικές μεταλλάξεις του μιτοχονδριακού DNA είχαν βρεθεί σε διάφορους τύπους νεοπλασμάτων, αλλά ο ρόλος των μιτοχονδρίων στη διαδικασία της ογκογένεσης δεν ήταν ξεκάθαρος.

*Ηλεκτρική αφυδρογονάση και κύριοι μηχανισμοί ογκογένεσης.* Αφ' ενός, ο ρόλος μεταβολικού σήματος που αναλαμβάνει το ηλεκτρικό οξύ ως ένα είδος ενδοκυττάρου αγγελιοφόρου μεταξύ των μιτοχονδρίων και του κυτταροπλάσματος και αφ' ετέρου η παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου στα μιτοχόνδρια, είναι δυο διαδικασίες που διαταράσσονται από την ελάττωση της λειτουργίας της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. Η διαταραχή της μεταβολικής σηματοδότησης στο εσωτερικό του κυττάρου από τη συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος και το οξειδωτικό στρες από την αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου στα μιτοχόνδρια αποτελούν τους δυο κύριους βιοχημικούς μηχανισμούς που ερμηνεύουν το σχηματισμό όγκων με αφετηρία τη μειωμένη λειτουργία από γενετικές μεταλλάξεις της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης.



**ETC**, electron transfer chain (αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων)

**TCA CYCLE**, κύκλος τρικαρβο-ξυλικών οξέων (κύκλος του Krebs)

**ROS**, reactive oxygen species (ελεύθερες ρίζες οξυγόνου)

**succinate**, σουκινικό (ηλεκτρικό) οξύ

**α-ketoglutarate**, α-κετογλουταρικό οξύ

**PHD**, prolyl hydroxylase domain protein (υδροξυλάση της προλίνης)

**Nucleus**, πυρήνας του κυττάρου

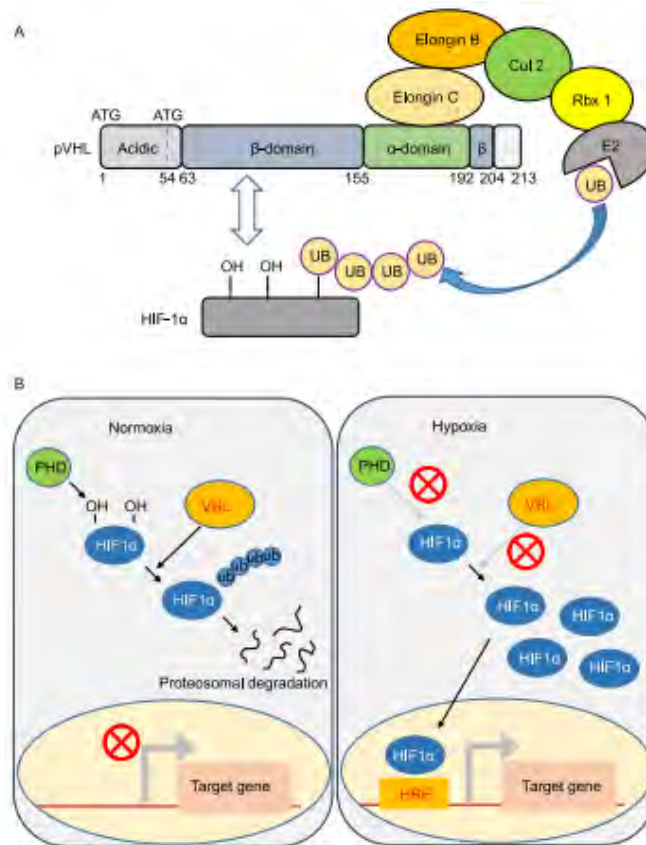
**Ub**, ουβικουΐτινη

Εικόνα 15. Μηχανισμοί ογκογένεσης προερχόμενοι από την αδρανοποίηση της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης (SDH). Πολλοί μηχανισμοί έχουν προταθεί για να ερμηνεύσουν τη σχέση μεταξύ μεταλλάξεων της SDH και ογκογένεσης. Μειωμένη δραστηριότητα της SDH μπορεί να προκαλέσει συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος και παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS). Το ηλεκτρικό οξύ και οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μπορούν ανεξάρτητα ή με συνεργικό τρόπο να οδηγήσουν στην επαγωγή αντίδρασης έναντι υποξίας ενώ επικρατούν συνθήκες φυσιολογικής οξυγόνωσης στο κύτταρο (η αντίδραση αυτή αναφέρεται ως ψευδοϋποξία). Εκτός από ότι συμβαίνει στην ψευδοϋποξία, το ηλεκτρικό οξύ μπορεί να αναστείλει και άλλες διοξυγενάσες που στις αντιδράσεις τους ως ο δότης ηλεκτρονίων χρησιμοποιείται το α-κετογλουταρικό (α-ketoglutarate-dependent dioxygenases). Μπορεί επίσης να αναστείλει την διαμεσολαβούμενη από την PHD3 απόπτωση κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη των νευρικών κυττάρων ή να οδηγήσει σε απορρύθμιση της διεκπεραίωσης της μεταγωγής του σήματος μέσω υποδοχών συζευγμένων με πρωτεΐνες G (GPCRs). Η συσσώρευση ελεύθερων ριζών οξυγόνου μπορεί από την άλλη πλευρά να οδηγήσει σε οξειδωτικές βλάβες του DNA και γονιδιωματική αστάθεια.

### 3.1 Η ΥΠΟΘΕΣΗ ΤΗΣ ΨΕΥΔΟΫΠΟΞΙΑΣ

*Η συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος αναστέλλει τις υδροξυλάσες της προλίνης και οδηγεί σε ψευδοϋποξία. Η ελαττωμένη ενζυμική λειτουργία της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, διαταράσσει τη ροή των αντιδράσεων του κύκλου του Krebs, στο βήμα που συμβαίνει η μετατροπή του ηλεκτρικού οξέος σε φουμαρικό οξύ με αποτέλεσμα να συσσωρεύεται ηλεκτρικό οξύ, αρχικά στα μιτοχόνδρια. Από τα*

μιτοχόνδρια, αφού εξέρχεται με το φορέα των δικαρβοξυλικών οξέων, καταλήγει στο κυτταρόπλασμα όπου αναστέλλει τη δραστηριότητα ενζύμων όπως είναι οι υδροξυλάσες της προλίνης, ένζυμα τα οποία είναι υπεύθυνα για την υδροξυλίωση καταλοίπων προλίνης της άλφα υπομονάδας των μεταγραφικών παραγόντων HIFα. Η αναστολή των PHD θα οδηγήσει σε συνθήκες ψευδοϋποξίας, δηλαδή θα επιφέρει κυτταρική απόκριση που μιμείται τις συνθήκες υποξίας ενώ επικρατούν συνθήκες φυσιολογικής συγκέντρωσης οξυγόνου στο κύτταρο. Η αντίδραση αυτή διαμεσολαβείται από τους μεταγραφικούς παράγοντες HIF οι οποίοι μεταβάλλουν την έκφραση ειδικών γονιδίων στόχων προκειμένου να προκαλέσουν μια νέα κατάσταση ομοιοστασίας των κυττάρων. [45]



Εικόνα 16. [A] Σχηματική αναπαράσταση της πρωτεΐνης VHL που δείχνει την περιοχή (β-domain) που συνδέεται με τον υδροξυλιωμένο στα κατάλοιπα προλίνης παράγοντα HIFα και την περιοχή (α-domain) που συνδέεται με το σύμπλοκο E3 λιγάσης της ουβικιτίνης. [B] Σε φυσιολογική συγκέντρωση οξυγόνου (normoxia) η προλυουϋδροξυλάση (PHD) υδροξυλιώνει το HIFα, που συνδέεται με τη VHL, ουβικιτινυλιώνεται και εν συνεχεία αποικοδομείται από το μονοπάτι του πρωτεασώματος. Σε υποξία ο μη υδροξυλιωμένος HIFα διαφεύγει της ουβικιτινυλίωσης, και μετακινείται από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα για να επάγει τη μεταγραφή γονιδίων στόχων του που ρυθμίζουν το μεταβολισμό της γλυκόζης και την αγγειογένεση.

*Σύνδεση του HIF με την πρωτεΐνη VHL και αποικοδόμησή του στο πρωτεάσωμα.*  
Σε συνθήκες φυσιολογικής συγκέντρωσης οξυγόνου στο κύτταρο, ο HIFα, μετά τις υδροξυλιώσεις των υπολειμμάτων προλίνης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας του, συνδέεται με την πρωτεΐνη VHL, πολυ-ουβικουϊτινιλώνεται και αποικοδομείται στο πρωτεάσωμα. Αν όμως οι υδροξυλάσες της προλίνης (PHD) στο κυτταρόπλασμα ανασταλούν από αυξημένη συγκέντρωση ηλεκτρικού οξέος, ο HIFα δεν υδροξυλιώνεται και διαφεύγει της αποικοδόμησης. Εν συνεχεία μετακινείται από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα του κυττάρου όπου σχηματίζει ένα ετεροδιμερές ενεργό σύμπλεγμα με τον HIFβ, και επάγει την έκφραση γονιδίων που συμμετέχουν στην αγγειογένεση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επιβίωση και τη μεταβολική οδό της γλυκόλυσης. [46]

Η συμμετοχή της ψευδοϋποξίας στην ανάπτυξη παραγαγγλιωμάτων υποστηρίζεται από μελέτη σε δείγματα ιστού όγκου μελών οικογένειας με κληρονομικό παραγαγγλίωμα και κληρονομικές μετάλλαξη του γονιδίου SDHD. Διαπιστώθηκε απώλεια ετεροζυγωτίας του SDHD, πλήρης απώλεια των λειτουργιών του συμπλόκου II της αναπνευστικής αλυσίδας, ενεργοποίηση της οδού σηματοδότησης των HIF και της επακόλουθης αγγειογενετικής απάντησης, σε αντιστοιχία με την αυξημένη αγγείωση που παρουσιάζουν οι όγκοι αυτού του τύπου. [47] Η επαγωγή ψευδοϋποξίας από ελαττωμένη δραστηριότητα της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης ερμηνεύθηκε βιοχημικά σε μελέτη που έδειξε ότι το ηλεκτρικό οξύ προκαλούσε τη σταθεροποίηση των HIFα υπομονάδων διότι αναστέλλεται η δραστηριότητα του ενζύμου PHD2. Οι ερευνητές έδειξαν ότι *in vitro*, η προς τα κάτω ρύθμιση της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης αύξησε τα επίπεδα του ηλεκτρικού οξέος το οποίο, αναστέλοντας την υδροξυλίωση της προλίνης του HIFα στο κυτταρόπλασμα, οδήγησε σε σταθεροποίηση των μεταγραφικών παραγόντων HIF σε συνθήκες φυσιολογικών συγκεντρώσεων οξυγόνου. Ως αποτέλεσμα ενεργοποιήθηκαν τα γονίδια στόχοι του HIFα τα οποία κατευθύνουν τις διαδικασίες της αγγειογένεσης, της γλυκόλυσης και της δημιουργίας μετάστασης. [45]

### 3.2 Η ΥΠΟΘΕΣΗ ΤΗΣ ΑΥΞΗΜΕΝΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΟΞΥΓΟΝΟΥ

Με τον όρο «ελεύθερη ρίζα» ορίζεται οποιοδήποτε άτομο (όπως οξυγόνο, άζωτο), μόριο ή ιόν, που διαθέτει τουλάχιστον ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική στοιβάδα των ηλεκτρονίων του. Οι ελεύθερες ρίζες είναι πολύ δραστικές, λόγω της παρουσίας των ασύζευκτων ηλεκτρονίων και τείνουν να "αποσπάσουν" ηλεκτρόνια από γειτονικά μόρια, δηλαδή να προκαλέσουν οξειδωσή τους. Οι ελεύθερες ρίζες με κεντρικό στοιχείο το οξυγόνο αναφέρονται ως "δραστικές ή ελεύθερες ρίζες οξυγόνου" (reactive oxygen species, ROS), ο οποίος είναι γενικός όρος που περιγράφει τα ενδιάμεσα προϊόντα της ατελούς αναγωγής του οξυγόνου. Προς αποφυγή της βλαπτικής δράσης των ελευθέρων ριζών, η οποία, οφείλεται στην οξειδωση (αφαίρεση ηλεκτρονίων) μακρομορίων και μεταβολή της φυσιολογικής δομής τους, έχουν αναπτυχθεί αμυντικοί μηχανισμοί για τον έλεγχο της οξειδωτικής δράσης. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι συστήματα εξουδετέρωσης των ελευθέρων ριζών, γνωστά ως αντιοξειδωτικά συστήματα. Στις περιπτώσεις που η παραγωγή ελευθέρων ριζών υπερβαίνει την ικανότητα του οργανισμού να τις εξουδετερώσει ή στις οποίες η παραγωγή είναι μεν στα φυσιολογικά επίπεδα αλλά τα αντιοξειδωτικά συστήματα του οργανισμού ανεπαρκούν, τότε ο τελευταίος βρίσκεται σε κατάσταση "οξειδωτικού στρες". [48]

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS) μπορούν να επιτελέσουν ρόλο ενδοκυττάριου αγγελιοφόρου προερχόμενου από τα μιτοχόνδρια, όπως, κατά ανάλογο τρόπο, η συσσώρευση του προερχόμενου από τα μιτοχόνδρια ηλεκτρικού οξέος στο κυτταρόπλασμα αποτελεί ένα είδος μεταβολικής σηματοδότησης. Και στις δυο περιπτώσεις μεταφέρεται το μήνυμα της διακοπής της ροής των αντιδράσεων του κύκλου του Krebs, όπως συμβαίνει σε μεταλλάξεις ελάττωσης της λειτουργίας της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης.

Η αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου στα μιτοχόνδρια συμμετέχει στην εμφάνιση νεοπλασμάτων προκαλούμενων από ελαττωμένη λειτουργία της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης και αποτελεί το δεύτερο από τους κύριους μηχανισμούς ερμηνείας του τρόπου εμφάνισης αυτών των νεοπλασμάτων. Κύριες θέσεις παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων της εσωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων είναι το σύμπλοκο I (NADH αφυδρογονάσης) και το σύμπλοκο III (αναγωγάσης κυτοχρώματος c). Το σύμπλοκο II δεν θεωρείται

φυσιολογικά ως θέση μεγάλης παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Υπάρχουν όμως πειραματικά ευρήματα που έδειξαν ότι μεταλλάξεις της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, δηλαδή του συστατικού του συμπλέγματος II της αναπνευστικής αλυσίδας, οδήγησαν σε οξειδωτικό στρες, ελάττωση της διάρκειας ζωής των μελετημένων οργανισμών, γονιδιωματική αστάθεια και διαδικασία ανάπτυξης νεοπλασμάτων. [49]

Η μελέτη της δομής και της λειτουργίας της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης σε βακτήρια ανέδειξε ένα μηχανισμό παραγωγής ελεύθερων ριζών οξυγόνου συνδεδεμένο με τη διαδικασία μεταφοράς ηλεκτρονίων στο σύμπλοκο II της αναπνευστικής αλυσίδας, στις θέσεις του FAD της υπομονάδας A του συμπλόκου. [50] Σε στελέχη του νηματώδη σκόληκα *Caenorhabditis elegans*, με ελαττωμένη δραστηριότητα της δισμουτάσης του σουπεροξειδίου, δηλαδή με μειωμένη ικανότητα εξουδετέρωσης των ελεύθερων ριζών οξυγόνου, ομόζυγη αδρανοποιητική μετάλλαξη της υπομονάδας C της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης συνοδεύτηκε από παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου, στοιχείο που έδειξε ότι είναι δυνατή η παραγωγή τους όταν είναι ελαττωμένη η λειτουργία της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. Η μετάλλαξη δεν επηρέασε την ικανότητα οξείδωσης του ηλεκτρικού σε φουμαρικό στον κύκλο του Krebs, αλλά ελάττωσε την ικανότητά μεταφοράς ηλεκτρονίων από το ηλεκτρικό οξύ στον τελικό αποδέκτη, την ουβικινόνη, οδηγώντας σε διαφυγή ηλεκτρονίων. [51] Η ισοδύναμη μετάλλαξη της υπομονάδας C που μελετήθηκε στο στέλεχος του *C.elegans*, εκφράστηκε σε κυτταρική σειρά ινοβλαστών ποντικού. Τα μεταλλαγμένα στο γονίδιο SDHC κύτταρα, παρουσίαζαν αυξημένο οξειδωτικό στρες και υπερμετάλλαξη του DNA και επίσης αυξημένη συχνότητα μεταμόρφωσης και σχηματισμού όγκων μετά από εμφύτευση σε ποντίκια. [52] Σε άλλη μελέτη, στην οποία μια ανερμηνεύσιμη μετάλλαξη του SDHC εκφράστηκε σε ινοβλάστες προερχόμενους από χάμστερ βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα παραγωγής EPO, οξειδωτικού στρες και γονιδιωματικής αστάθειας των μεταλλαγμένων κυττάρων σε σύγκριση με τα πρόδρομα. [53] Μελέτες λειτουργικότητας σε μοντέλα ζυμομύκητα με έλλειψη των γονιδίων *sdha* ή *sdhb* και σημειακές μεταλλάξεις των *sdhb*, *sdhc* και *sdhd* έδειξαν αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου, δείχνοντας έτσι ότι η δυσλειτουργία όλων των υπομονάδων της SDH στο ζυμομύκητα μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό τους. [54] [55] [56] Η φαρμακολογική αναστολή ή η αναστολή με παρεμβολή RNA των υπομονάδων B σε ανθρώπινα κύτταρα έδειξε ότι αυξάνει την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου και τη συσσώρευση HIFα κάτω από φυσιολογικές συνθήκες οξυγόνου.

Αντίθετα, η αναστολή του συμπλόκου II στο ύψος της υπομονάδας A δεν αυξάνει τα υπό φυσιολογικές συνθήκες οξυγόνου επίπεδα EPO και HIFα. [57] Άλλες μελέτες δεν είχαν ευρήματα παραγωγής EPO και οξειδωτικού στρες οφειλόμενων σε μεταλλάξεις της SDH, αλλά είχαν ευρήματα συσσώρευσης και ενεργοποίησης της HIF1α, από την αναστολή των PHD από το ηλεκτρικό οξύ. [58] Έχει αναφερθεί ότι η μεταμεταγραφική σίγαση του γονιδίου SDHB με μεθόδους παρεμβολής RNA, σε ανθρώπινα κύτταρα, δεν οδήγησε σε παραγωγή EPO και επιπλέον η έκφραση μεταλλαγμένου SDHB, σε κύτταρα που το SDHB είχε αποσιωπηθεί, δεν οδήγησε σε αύξηση των ROS. Παρ' όλα αυτά η αδρανοποίηση του SDHB οδήγησε σε θετική ρύθμιση των HIF1α και HIF2α και σε διαταραγμένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αναπνοή με μια αντίστοιχη μετατόπιση προς την οδό της γλυκόλυσης. [59] Ωστόσο παραμένει αδιευκρίνιστο το αν οι αντικρουόμενες παρατηρήσεις σχετικά με την παραγωγή EPO οφείλεται σε πραγματική αδρανοποίηση των γονιδίων SDHB, SDHD και SDHA ή σε τεχνικά σφάλματα.

Επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι σε κύτταρα με ανεπάρκεια της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μπορούν να επάγουν την ψευδοϋποξία. Αυτό αποτελεί έναν διαφορετικό μηχανισμό συμμετοχής τους στη δημιουργία νεοπλασμάτων από την συμμετοχή τους στην πρόκληση μεταλλάξεων. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μπορούν να αναστείλουν, κάτω από φυσιολογικές συγκεντρώσεις οξυγόνου, τη δραστικότητα της υδροξυλάσης της προλίνης, του παράγοντα HIFα στο κυτταρόπλασμα, προάγοντας την οξείδωση των συμπαραγόντων της, του σιδήρου και του ασκορβικού οξέος. [60] Αντίθετα και προς υποστήριξη ενός κυρίαρχου ρόλου της συσσώρευσης του ηλεκτρικού οξέος στην επαγωγή ψευδοϋποξίας μέσω της αναστολής των προλυλο-υδροξυλασών, αποδείχθηκε ότι η, διαμεσολαβούμενη από το ηλεκτρικό, αναστολή της προλυλοϋδροξυλάσης αναστρεφόταν με την αύξηση των ενδοκυττάρων επιπέδων α-κετογλουταρικού. Οι εστέρες του α-κετογλουταρικού που διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη με κατεύθυνση το εσωτερικό του κυττάρου, είχαν την ικανότητα να αποκαταστήσουν τη φυσιολογική δραστικότητα της προλυλοϋδροξυλάσης και να ελαττώσουν την ψευδοϋποξία που είχε προκληθεί από τη συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος. [61] Επίσης η εξωγενής χορήγηση α-κετογλουταρικού απέτρεψε τη μετατόπιση στον πυρήνα του HIFα σε κύτταρα με μετάλλαξη του γονιδίου SDHA. [1]

Συνοψίζοντας τα παραπάνω, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, όπως το ανιόν σουπεροξειδίου και το υπεροξειδίο, είναι μόρια με δυνητικές βλαπτικές επιδράσεις



λόγω των ασύζευκτων ηλεκτρονίων των ατόμων οξυγόνου. Αυξημένα επίπεδά τους στο κυτταρόπλασμα σταθεροποιούν τον HIFα και επάγεται το μονοπάτι της ψευδοϋποξίας σε παραγαγγλιώματα με μεταλλάξεις της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. Επιπρόσθετα της σταθεροποίησης του HIFα, μπορούν να οδηγήσουν σε οξειδωτική βλάβη του DNA και γονιδιωματική αστάθεια. Η συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος από την ανεπάρκεια της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης οδηγεί συγχρόνως σε αυξημένη συγκέντρωση ανηγμένης ουβικινόνης στο σύμπλοκο II, από την οποία ηλεκτρόνια παλινδρομούν προς το σύμπλοκο I της αναπνευστικής αλυσίδας και μετά διαφεύγουν ως ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Η αυξημένη συγκέντρωση ελεύθερων ριζών οξυγόνου, προκαλεί με τη σειρά της γονιδιωματική αστάθεια που συμβάλλει στην ογκογένεση. [53]

### **3.3 Η ΥΠΟΘΕΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΦΥΓΗΣ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΜΒΡΥΪΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ**

Έχει επίσης προταθεί ότι μεταλλάξεις της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης πιθανόν να προκαλούν παραγαγγλίωμα διότι κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης, πρόδρομα νευρικά κύτταρα που φέρουν τις μεταλλάξεις διαφεύγουν της απόπτωσης όταν αποσύρεται η επίδραση αυξητικών παραγόντων. Αυτή η διαδικασία απόπτωσης κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη εξαρτάται από το μεταγραφικό παράγοντα c-Jun και διαμεσολαβείται από την υδροξυλάση της προλίνης PHD3, η δραστικότητα της οποίας αναστέλεται από τη συσσώρευση ηλεκτρικού, όπως έχει δειχθεί και για την PHD2. [62] Την υπόθεση αυτή φαίνεται να υποστηρίζει και η μελέτη διαγονιδιακών ποντικών με απαλοιφή της PHD3, η οποία έδειξε ελαττωμένη απόπτωση των συμπαθητικών νευρικών κυττάρων. [63]

### **3.4 ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ DNA**

Η συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος, στα κύτταρα με μεταλλάξεις που οδηγούν σε ελαττωμένη λειτουργία της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, εκτός από την αναστολή των υδροξυλασών της προλίνης, μπορεί επιπλέον να προκαλέσει αναστολή και άλλων ενζύμων της οικογένειας των διοξυγενασών που χρησιμοποιούν ως υπόστρωμα το ακετογλουταρικό οξύ. Στις διοξυγενάσες που χρησιμοποιούν ως υπόστρωμα το ακετογλουταρικό οξύ περιλαμβάνονται πολλά ένζυμα με ποικίλους βιολογικούς

ρόλους, τα οποία λαμβάνουν μέρος σε μεγάλο εύρος κυτταρικών διαδικασιών, όπως στη βιοσύνθεση του κολλαγόνου, στο σηματοδοτικό μονοπάτι της υποξίας, στη βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων, στην απομεθυλίωση ιστονών και νουκλεϊκών οξέων, στην υδροξυλίωση πρωτεϊνών που σχετίζονται με το μάτισμα του RNA, στο μεταβολισμό της καρνιτίνης και στην υδροξυλίωση της 5-μεθυλοκυτοσίνης. Ορισμένα μπορεί να παίζουν, επίσης ρόλο στον κυτταρικό μετασχηματισμό, συνδέοντας τη βλαπτική αλλαγή των μιτοχονδρίων με τη διαδικασία της ογκογένεσης. Επιπλέον οι διοξυγενάσες που αναστέλλονται από το ηλεκτρικό οξύ μπορεί να παρουσιάζουν μια ιστοειδική έκφραση. [64]

Η απαλοιφή της Β υπομονάδας της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, που μελετήθηκε σε μοντέλο ζυμομύκητα, οδήγησε στη συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος, που ανέστειλε μια διοξυγενάση που χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα α-κετογλουταρικό και ανήκει στις απομεθυλάσες των ιστονών με JmjC-αυτοτελή δομική περιοχή στην πολυπεπτιδική τους αλυσίδα (JHDMs, jumonji-domain histone demethylases). Στην ίδια μελέτη οι ερευνητές έδειξαν ότι σε κυτταρική καλλιέργεια με υπερέκφραση της JMJD2D (KDM4D), μιας ανθρώπινης απομεθυλάσης των ιστονών, που ανήκει στις απομεθυλάσες των ιστονών θηλαστικών με JmjC-περιοχή, η ενδοκυττάρια συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος ανέστειλε την απομεθυλίωση καταλοίπων H3-K9me3. Οι απομεθυλάσες των ιστονών με JmjC-αυτοτελή δομική περιοχή στην πολυπεπτιδική τους αλυσίδα, μπορεί να επηρεάζουν με τη δράση τους την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων, ορίζοντας πιθανώς μια επιγενετική υπογραφή ειδική για τα κληρονομικά παραγαγγλιώματα με ελαττωμένη λειτουργία της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. [54]

Η ενδοκυττάρια συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος σε ελαττωμένη λειτουργία της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης πιθανώς να συμμετέχει στη διαταραχή της επιγενετικής ρύθμισης της αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης. Η αδρανοποίηση της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, είτε φαρμακολογικά είτε με μεθόδους αποσιώπησης του RNA, οδήγησε σε αυξημένη μεθυλίωση της ιστόνης H3, η οποία αναστρέφεται με την υπερέκφραση της JMJD3 απομεθυλάσης των ιστονών (KDM6B, lysine demethylase 6B των H3K27me2 ή της H3K27me3), σε καλλιέργεια κυττάρων θηλαστικών. Η αύξηση της μεθυλίωσης των ιστονών σε κύτταρα με αποσιώπηση του γονιδίου SDHB είχε ως αποτέλεσμα ελαττωμένη κατάληψη από H3K27me3 (ιστόνη 3, τριμεθυλιωμένη στο κατάλοιπο λυσίνης 27) του πυρήνα (core) του υποκινητή του γονιδίου IGFBP7, που κωδικοποιεί για μια εκκρινόμενη διαλυτή πρωτεΐνη και η μεταγραφή του οποίου

ήταν αυξημένη στην ανάλυση με μικροσυστοιχίες σε κύτταρα με αποσιώπηση του γονιδίου SDHB. Τα κύρια κύτταρα που συγκροτούν το νεοπλασματικό παρέγχυμα των παραγαγγλιωμάτων, ήταν ο κύριος κυτταρικός τύπος με ανοσοδραστικότητα για H3K27me3 και H3K36me2 στα παραγαγγλιώματα του καρωτιδικού σωματίου που εξετάστηκαν. Αυτά τα ευρήματα έδειξαν ότι το ηλεκτρικό οξύ δρα όχι μόνο ως αγγελιοφόρος μεταξύ μιτοχονδρίων και κυτταροπλάσματος, αλλά και ως σήμα μεταξύ των μιτοχονδρίων και του πυρήνα, για τη ρύθμιση της δομής της χρωματίνης και επομένως της γονιδιακής έκφρασης. [65]

Η μεθυλίωση του DNA ρυθμίζεται από ένζυμα μεθυλίωσης όπως είναι οι μεθυλο-τρανσφεράσες και από την οικογένεια των ενζύμων TET (ten-eleven translocation) τα οποία οξειδώνουν την 5-μεθυλο-κυτοσίνη σε 5-υδροξυ-μεθυλοκυτοσίνη, η οποία στη συνέχεια μπορεί να αφαιρεθεί και να αντικατασταθεί με επιδιόρθωση εκτομής βάσης σε ένα μονοπάτι ενεργούς απομεθυλίωσης. Το ηλεκτρικό οξύ συσσωρεύεται στα κύτταρα με ελαττωμένη λειτουργία της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης και αναστέλλει τα ένζυμα TET. Αυτό εμποδίζει την οξείδωση της 5-μεθυλο-κυτοσίνης κι έτσι αναστέλλει το μονοπάτι της ενεργούς απομεθυλίωσης, οδηγώντας σε γενική υπερμεθυλίωση. Στα κύτταρα με ανεπαρκή Β υπομονάδα της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, η συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος και η υποξία, αναστέλλουν τις εξαρτώμενες από το α-κετογλουταρικό διοξυγενάσες, με αποτέλεσμα την υπερμεθυλίωση του DNA και των ιστονών. [66]

### **3.5 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ**

Όπως έχει περιγραφεί παραπάνω το ηλεκτρικό οξύ μπορεί να αποτελέσει έναν ενδοκυττάριο αγγελιοφόρο μεταξύ των μιτοχονδρίων και του κυτταροπλάσματος, σε μεταλλάξεις με μειωμένη λειτουργία της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης προκαλώντας συσσώρευση του στο εσωτερικό του κυττάρου.

Ωστόσο τα ενδιάμεσα προϊόντα του κύκλου του Krebs εξερχόμενα από τα κύτταρα, φυσιολογικά απαντώνται και εξωκυττάρια, για παράδειγμα συναντώνται σε μικρογραμμομοριακές συγκεντρώσεις στο αίμα. Το ηλεκτρικό οξύ διαθέτει πρόσθετες σηματοδοτικές λειτουργίες, μη αναμενόμενες σύμφωνα με τον παραδοσιακό του ρόλο ως μεταβολίτη του κύκλου του Krebs. Συγκεκριμένα έχει βρεθεί ότι είναι ο συνδέτης

του συζευγμένου με G-πρωτεΐνες υποδοχέα της κυτταρικής μεμβράνης, GPR91. [67] Η απορρύθμιση της φυσιολογικής δραστηριότητας του GPR91 υποδοχέα, με τη διατήρηση σε συνεχή ενεργοποίηση του σηματοδοτικού του μονοπατιού από τη συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος που δρα ως συνδέτης του, μπορεί να είναι μια άλλη πιθανή ερμηνεία της συμβολής των μεταλλάξεων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης στην ογκογένεση.

Το ηλεκτρικό οξύ μπορεί να δρα και ως εξωκυττάριο σηματοδοτικό μόριο, με παρακρινικό και ενδοκρινικό τρόπους δράσης, διαμεσολαβούμενους από τον ειδικό του υποδοχέα των κυτταρικών μεμβρανών, συζευγμένο με G πρωτεΐνες υποδοχέα 91 (GPR91), γνωστού επίσης ως υποδοχέα του ηλεκτρικού οξέος 1 (SUCNR1). Συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος έχει διαπιστωθεί σε διάφορους τύπους νεοπλασμάτων συμπεριλαμβανομένων και των παραγαγγλιωμάτων. [47] Το ηλεκτρικό οξύ μπορεί να ασκεί προαγγειογενετική δράση δια του υποδοχέα του GPR91, αυξάνοντας την έκφραση του παράγοντα VEGF μέσω της ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα STAT3 και της ενδοκυττάριας πρωτεϊνικής κινάσης ERK1/2. [68] . Το ηλεκτρικό οξύ σε αμφιβληστροειδή ποντικών προάγει την αγγειογένεση κατά τη φυσιολογική ανάπτυξη του αμφιβληστροειδή και κατά την παραγωγική ισχαιμική αμφιβληστροειδοπάθεια. Η δράση αυτή ασκείται μέσω του υποδοχέα του GPR91, στην επιφάνεια γαγγλιακών νευρικών κυττάρων του αμφιβληστροειδή προκαλώντας την απελευθέρωση προαγγειογενετικών παραγόντων όπως VEGF και αγγειοποιητινών, με μηχανισμό ανεξάρτητο των HIF. [69] Η βιολογική δράση των αυξημένων επιπέδων ηλεκτρικού οξέος του εξωκυττάρου χώρου μέσω του υποδοχέα GPR91 συνδέει τις αλλαγές του μεταβολισμού στα νεοπλασματικά κύτταρα με την αγγειογένεση. [68]

#### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΚΑΙ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΑΓΓΛΙΩΜΑΤΩΝ**

Οι κληρονομικές γενετικές αλλαγές που εγκαθιστούν την κληρονομική προδιάθεση για την εμφάνιση των παραγαγγλιωμάτων, είναι σε μεγάλο βαθμό χαρακτηρισμένες. Παρ'όλα αυτά σε ένα σημαντικό ποσοστό παραγαγγλιωμάτων η αιτιολογική βάση της δημιουργίας τους δεν έχει διευκρινιστεί. Σημαντικές πληροφορίες για την παθογένεση και τη βιολογία των παραγαγγλιωμάτων προήλθαν από τα δεδομένα του προγράμματος «The Cancer Genome Atlas».

Στα πλαίσια του προγράμματος χαρακτηρισμού του γονιδιώματος TCGA (The Cancer Genome Atlas programe) [70], σε σειρά 173 ασθενών με παραγαγγλίωμα, μελετήθηκαν, με μεθόδους ανάλυσης του γονιδιώματος σε δείγματα ιστού των όγκων, η παρουσία γενετικών αλλαγών, η γονιδιακή έκφραση σε επίπεδο RNA, οι επιγενετικές τροποποιήσεις και το προφίλ πρωτεϊνικής έκφρασης. Το 9% των ασθενών της σειράς είχαν επιθετική νόσο, δηλαδή μεταστάσεις ή τοπικές υποτροπές. Υπήρχαν διαθέσιμα αποτελέσματα βιοχημικών εξετάσεων αίματος και ούρων για το χαρακτηρισμό του εκκριτικού προφίλ των όγκων. Η γενετική ανάλυση έγινε και σε δείγματα φυσιολογικού ιστού των ασθενών για την αναγνώριση των κληρονομικών γενετικών αλλαγών που υπήρχαν στη σειρά, εκτός από τις σωματικές. Το 27% των ασθενών είχαν κληρονομικές παθογενετικές αλλαγές σε 8 γνωστά γονίδια ευαισθησίας, με συχνότητα μάλιστα στα επιμέρους γονίδια παρόμοια με την ήδη γνωστή από τα αποτελέσματα του κλινικού γενετικού ελέγχου προηγούμενων μελετών. Όσον αφορά τα γονίδια της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης, 9% των ασθενών είχαν μεταλλάξεις του γονιδίου SDHB και 2% του γονιδίου SDHD. Ένας από τους στόχους της στρατηγικής μοριακής ανάλυσης του προγράμματος ήταν η διαμόρφωση μιας μορφής ταξινόμησης του παραγαγγλιώματος σε υποτύπους σύμφωνα με τις μοριακές συσχετίσεις των κύριων αλλαγών που θα αναγνωρίζονταν και τα μοριακά μονοπάτια που θα διαταράσσονταν. Συγχρόνως θα αναζητούνταν μοριακοί δείκτες μεταστατικής νόσου. [71]

Από τον ευρύ μοριακό χαρακτηρισμό του γονιδιώματος πολλών νεοπλασμάτων με το πρόγραμμα Cancer Genome Atlas (TCGA) προήλθε μια εμπειριστατωμένη μοριακή ταξινόμηση των παραγαγγλιωμάτων. Η κατάταξη σε ομάδες χρησιμεύει ως οδηγός, κατ' αρχάς στην κατανόηση των παραγαγγλιωμάτων, με κύριο στόχο την προσέγγιση σε προσωπικό επίπεδο του ασθενούς της ιατρικής περίθαλψης και θεραπείας τους. Μια βασική διαίρεση του παραγαγγλιώματος σε τρεις ομάδες (clusters) με παρόμοια παθογένεση και βιολογία, βασισμένη στο προφίλ έκφρασης mRNA στους όγκους, είναι η εξής: (Πίνακας 4) [72]

**1. Ομάδα ψευδο-υποξίας.** Μπορεί να χωριστεί σε τουλάχιστον δύο υπο-ομάδες:

**1α.** Τη σχετιζόμενη με τον κύκλο του Krebs, η οποία περιλαμβάνει κληρονομικές μεταλλάξεις των γονιδίων των υπομονάδων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, του παράγοντα συναρμολόγησης του συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης SDHAF2 και ενός άλλου ενζύμου του κύκλου του Krebs, της φουμαράσης (FH).

**1β.** Τη σχετιζόμενη με τα γονίδια VHL/EPAS1, που περιλαμβάνει μεταλλάξεις σωματικές και κληρονομικές.

Η ομάδα της ψευδοϋποξίας στο πρόγραμμα TCGA παρατηρήθηκε και σε επινεφριδιακά και σε εξωεπινεφριδιακά παραγαγγλιώματα που τυπικά δεν εμφάνιζαν έκκριση αδρεναλίνης και του μεταβολίτη της, της μετανεφρίνης.

**2.** Ομάδα οδού σηματοδότησης Wnt.

Περιλαμβάνει σωματικές μεταλλάξεις του CSDE1 και γονιδιακές συντήξεις του MAML3.

**3.** Ομάδα οδών σηματοδότησης κινασών.

Περιλαμβάνει μεταλλάξεις σωματικές ή κληρονομικές των RET, NF1, TMEM127, MAX και HRAS. Αυτή η ομάδα στο πρόγραμμα TCGA παρατηρήθηκε κυρίως σε όγκους με επινεφριδιακή εντόπιση και είχε την υψηλότερη έκφραση του ενζύμου PNMT που μετατρέπει την νοραδρεναλίνη σε αδρεναλίνη και η έκφραση του συσχετίζεται με φαινότυπο έκκρισης αδρεναλίνης.

Πίνακας 4. Ομάδες (clusters) μοριακής ταξινόμησης παραγαγγλιωμάτων (PGL) με βάση το προφίλ έκφρασης mRNA και γονίδια με τις οδηγούς αλλαγές [72]

Μοριακά χαρακτηρισμένη ομάδα	Συχνότητα στο σύνολο των PGL	Συχνότητα κληρονομικών	Σύμβολο γονιδίου	Πήρες όνομα γονιδίου	Τύπος λειτουργίας γονιδίου	Κληρονομικές / Σωματικές αλλαγές
Ψευδο-υποξίας - Σχετιζόμενης με τον κύκλο του Krebs	10% - 15%	~100%	SDHA	SDH complex flavoprotein subunit A	Ογκοκατασταλτική	Κληρονομικές
			SDHB	SDH complex iron sulfur subunit B	Ογκοκατασταλτική	Κληρονομικές
			SDHC	SDH complex subunit C	Ογκοκατασταλτική	Κληρονομικές (γονιδιακές / επιγενωμικές)
			SDHD	SDH complex subunit D	Ογκοκατασταλτική	Κληρονομικές
			SDHAF2	SDH complex assembly factor 2	Ογκοκατασταλτική	Κληρονομικές
			FH	Fumarate hydratase	Ογκοκατασταλτική	Κληρονομικές
Ψευδο-υποξίας - Σχετιζόμενης με τα VHL / EPAS1	15% - 20%	25%	VHL	Von Hippel-Lindau tumor suppressor	Ογκοκατασταλτική	Germline/somatic
			EPAS1	Endothelial PAS domain protein 1	Ογκογονίδιο	Μεταζωογονικές / σωματικές
Οδός σηματοδότησης Wnt	5% - 10%	0%	CSDE1	Cold shock domain containing E1	Ογκοκατασταλτική	Σωματικές
			MAML3	Mastermind like transcriptional coactivator 3	Ογκοκατασταλτική, σύντηξη (fusion)	Σωματικές
Οδών σηματοδότησης κινασών	50% - 60%	20%	RET	Ret proto-oncogene	Ογκογονίδιο	Κληρονομικές / Σωματικές
			NF1	Neurofibromin 1	Ογκοκατασταλτική	Κληρονομικές / Σωματικές
			MAX	MYC-associated factor X	Ογκοκατασταλτική	Κληρονομικές / Σωματικές
			TMEM127	Transmembrane protein 127	Ογκοκατασταλτική	Κληρονομικές
			HRAS	HRas proto-oncogene, GTPase	Ογκογονίδιο	Σωματικές

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ηλεκτρική αφυδρογονάση είναι ένζυμο του κύκλου του Krebs και συγχρόνως σύμπλοκο της αναπνευστικής αλυσίδας στα μιτοχόνδρια. Κληρονομικές μεταλλάξεις των γονιδίων των υπομονάδων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης είναι οι αιτίες συνδρόμων κληρονομικής προδιάθεσης εμφάνισης νεοπλασμάτων, και ειδικά των κληρονομικών συνδρόμων παραγαγγλιωμάτων. Η επίπτωση των παραγαγγλιωμάτων στο γενικό πληθυσμό είναι ιδιαίτερα μικρή (της τάξης περίπου του 1/100.000), όμως έως και το 40% αυτών εμφανίζονται στα πλαίσια κληρονομικής προδιάθεσης και συνδέονται με κληρονομικές γενετικές μεταλλάξεις διαφόρων γονιδίων. Η συχνότητα

κληρονομικής εμφάνισης των παραγαγγλιωμάτων είναι η υψηλότερη μεταξύ όλων των τύπων νεοπλασμάτων, ενώ οι μεταλλάξεις των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης είναι οι πιο συχνές μεταξύ των υπεύθυνων μεταλλάξεων.

Τα παραγαγγλιώματα, επινεφριδιακά (φαιοχρωμοκυττώματα) και εξωεπινεφριδιακά, είναι νεοπλάσματα που προέρχονται από τα χρωμιόφιλα κύτταρα, έναν τύπο κυττάρων κοινής εμβρυολογικής καταγωγής με τα κύτταρα του αυτόνομου νευρικού συστήματος και με ενδοκρινική λειτουργία. Οι θέσεις που εμφανίζονται τα παραγαγγλιώματα στον ανθρώπινο οργανισμό είναι τα συμπαθητικά και τα παρασυμπαθητικά παραγάγγλια, που είναι αθροίσεις χρωμιόφιλων κυττάρων συνήθως κοντά στα γάγγλια του αυτόνομου νευρικού συστήματος και η μυελώδης ουσία των επινεφριδίων, που συνιστά το μεγαλύτερο παραγάγγλιο στον ενήλικα οργανισμό. Το καρωτιδικό σωματίο ανήκει στα παρασυμπαθητικά παραγάγγλια και είναι, μαζί με τη μυελώδη ουσία των επινεφριδίων, τα μόνα μακροσκοπικά διακριτά παραγάγγλια στο φυσιολογικό ενήλικα άνθρωπο.

Τα περισσότερα νεοπλάσματα των παραγαγγλίων παρουσιάζουν καλοήγη βιολογική συμπεριφορά. Μπορεί να συνοδεύονται από σοβαρή νοσηρότητα και υψηλή θνητότητα στις περιπτώσεις με υπερέκκριση κατεχολαμινών που οδηγεί στην εμφάνιση σοβαρής υπέρτασης, καρδιακής αρρυθμίας και αγγειακό επεισόδιο. Σε ποσοστό έως 25% των περιπτώσεων μπορεί να εμφανίζουν κακοήγη βιολογική συμπεριφορά, η οποία ορίζεται ως η εμφάνιση μεταστάσεων σε όργανα του σώματος που φυσιολογικά δεν περιέχουν χρωμιόφιλα κύτταρα. Η πρόγνωση και η επιβίωση των ασθενών με μεταστατικά παραγαγγλιώματα είναι πτωχή.

Οι μεταλλάξεις των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης προκαλούν αυτοσωμικά κυρίαρχα κληρονομικά σύνδρομα νεοπλασμάτων χωρίς σταθερό πρότυπο εκδηλώσεων. Δηλαδή στα διάφορα κληρονομικά σύνδρομα παρουσιάζονται με ποικίλλη διεισδυτικότητα παραγαγγλιώματα κεφαλής και τραχήλου, συμπαθητικά παραγαγγλιώματα, επινεφριδιακά παραγαγγλιώματα (φαιοχρωμοκυττώματα) και με μικρή συχνότητα στρωματικοί όγκοι γαστρεντερικού (GISTs) και νεφροκυτταρικό καρκίνωμα. Αναγνωρίζονται πέντε κληρονομικά σύνδρομα παραγαγγλιωμάτων (PGL 1 έως 5) που συνδέονται με τα 5 γονίδια του συμπλόκου της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης και που πήραν την ονομασία τους με τη χρονική σειρά ανακάλυψης. Η διάγνωση των κληρονομικών συνδρόμων παραγαγγλιωμάτων γίνεται με βάση τα ευρήματα των γενετικών μεταβολών και δεν υπάρχουν κλινικά κριτήρια.



Το κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιωμάτων τύπου 1 συνδέεται με το γονίδιο SDHD και εμφανίζει πατρικής προέλευσης μεταβίβαση. Το συχνότερο χαρακτηριστικό του είναι τα παραγαγγλιώματα κεφαλής και τραχήλου με σχεδόν πλήρη διεισδυτικότητα. Παρουσιάζονται επίσης και συμπαθητικά παραγαγγλιώματα. Ο κίνδυνος μεταστατικής νόσου είναι 8%. Παιδιατρικοί ασθενείς εμφανίζουν δεύτερο και τρίτο όγκο τα επόμενα έτη από την αρχική εμφάνιση.

Το κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιωμάτων τύπου 2 συνδέεται με το γονίδιο SDHAF2 και είναι πολύ σπάνιο. Παρουσιάζει πολλαπλά παραγαγγλιώματα κεφαλής και τραχήλου και δεν εμφανίζει μεταστατική νόσο.

Το κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιωμάτων τύπου 3 συνδέεται με το γονίδιο SDHC και είναι επίσης πολύ σπάνιο. Εκδηλώνεται κυρίως με παρασυμπαθητικά παραγαγγλιώματα, τα περισσότερα μονήρη και πολύ σπάνια μεταστατική νόσο.

Το κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιωμάτων τύπου 4 συνδέεται με το γονίδιο SDHB, παρουσιάζει όλων των τύπων παραγαγγλιώματα με συχνότερο τύπο τα εξωεπινεφριδιακά συμπαθητικά. Το σύνδρομο αυτό έχει τη υψηλότερη συχνότητα μεταστατικής νόσου από τα υπόλοιπα.

Το κληρονομικό σύνδρομο παραγαγγλιωμάτων τύπου 5 συνδέεται με το γονίδιο SDHA, παρουσιάζει παραγαγγλιώματα όλων των τύπων, όμως η διεισδυτικότητα στους φορείς των μεταλλάξεων είναι πολύ χαμηλή.

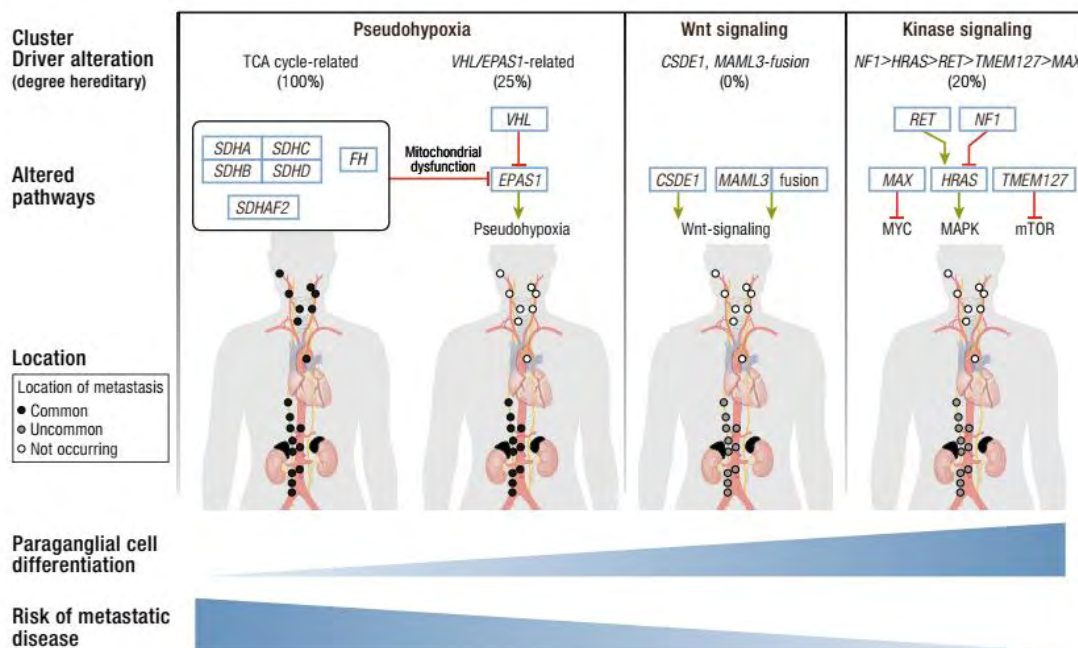
Έχουν διατυπωθεί διάφορες υποθέσεις για την ερμηνεία της δημιουργίας των νεοπλασμάτων στα παραπάνω σύνδρομα. Η μειωμένη λειτουργικότητα της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης στα κύτταρα του όγκου προκαλεί συσσώρευση ηλεκτρικού οξέος στο κυτταρόπλασμα και ενεργοποίηση του μονοπατιού ψευδοϋποξίας και γονιδίων που συμβάλλουν στην ογκογένεση. Η αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου δημιουργεί οξειδωτικό στρες και μπορεί να ενεργοποιήσει την ψευδοϋποξία, ενώ η διαφυγή νευρικών κυττάρων από την απόπτωση κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη, οι επιγενετικές τροποποιήσεις και η δράση μέσω του υποδοχέα της κυτταρικής μεμβράνης του ηλεκτρικού οξέος είναι άλλοι υποθετικοί μηχανισμοί.

Η ανακάλυψη κληρονομικών γενετικών μεταλλάξεων οι οποίες προδιαθέτουν στην ανάπτυξη νεοπλασμάτων όπως το φαιοχρωμοκύττωμα και τα εξωεπινεφριδιακά παραγαγγλιώματα, είχε πολλαπλά οφέλη. Συνοδεύτηκε από προόδους στη μοριακή διάγνωση αυτών των όγκων, στην πρόβλεψη του κινδύνου εκδήλωσης της νόσου σε

ασυμπτωματικούς φορείς και στην παρακολούθηση και αντιμετώπιση των ασθενών με βάση τις προγνωστικές πληροφορίες των αποτελεσμάτων της γενετικής ανάλυσης.

Εξ'ατίας της υψηλής συχνότητας των κληρονομικών περιπτώσεων μεταξύ των παραγαγγλιωμάτων, όλοι οι ασθενείς με παραγαγγλίωμα πρέπει να υποβάλλονται σε γενετική ανάλυση για την ανεύρεση πιθανών υπεύθυνων γονιδιακών αλλαγών. Τα παραγαγγλιώματα που εκδηλώνονται στα διάφορα κληρονομικά σύνδρομα παρουσιάζουν ποικίλα πρότυπα εντόπισης στο ανθρώπινο σώμα και διαφορετικούς βαθμούς παραγαγγλιακής κυτταρικής διαφοροποίησης. Η ιατρική περίθαλψη των ασθενών βελτιώνεται με τη χρησιμοποίηση της ειδικής κλινικής εικόνας και του μοριακού γενετικού προφίλ κάθε περίπτωσης. Τα παραγαγγλιώματα σύμφωνα με το προφίλ γονιδιακής τους έκφρασης ταξινομούνται σε τρεις ομάδες με διαφορετική βιολογία.

Μεταξύ των κληρονομικών παραγαγγλιωμάτων, με τη μεγαλύτερη συχνότητα εμφανίζονται αυτά που οφείλονται σε κληρονομικές μεταλλάξεις των γονιδίων της ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. Ταξινομούνται στην ομάδα της ψευδοϋποξίας, στην υποομάδα που σχετίζεται με τα ένζυμα του κύκλου του Krebs. Τα κύτταρα των παραγαγγλιωμάτων της υποομάδας αυτής εμφανίζουν έκκριση νοραδρεναλίνης, ντοπαμίνης και των μεταβολιτών τους και όχι αδρεναλίνης. Επίσης, εκφράζουν υποδοχείς σωματοστατίνης 2A στην κυτταρική μεμβράνη και παρουσιάζουν αλλαγές του μεταβολισμού τους που οδηγούν σε αυξημένη κατανάλωση γλυκόζης. Η εκμετάλλευση των ιδιοτήτων αυτών επιτρέπει τη διάκριση από τα παραγαγγλιώματα των άλλων ομάδων, που γίνεται στην κλινική πράξη με τις βιοχημικές εξετάσεις προσδιορισμού των εκκρινικών προϊόντων στο αίμα και τα ούρα και με τις εξετάσεις λειτουργικής απεικόνισης με ραδιοσημασμένα μόρια σωματοστατίνης ή δεοξυγλυκόζης. Αποκτά ιδιαίτερη σημασία η δυνατότητα κατάταξης στην υποομάδα της ψευδοϋποξίας - σχετιζόμενης με τον κύκλο του Krebs διότι τα παραγαγγλιώματα της ομάδας αυτής εμφανίζουν μικρότερη περιεκτικότητα κατεχολαμινών, αυξάνονται περισσότερο σε μέγεθος και σχηματίζουν μεταστάσεις, κυρίως τα οφειλόμενα σε μεταλλάξεις του SDHB γονιδίου, πιο συχνά, από των άλλων ομάδων. (Εικόνα 17).



Εικόνα 17. Διαφορετικές μοριακές ομάδες παραγαγγλιωμάτων με τις αντίστοιχες οδηγούς μεταλλάξεις και η αναλογία κληρονομικής νόσου σε κάθε μία. Στις μεταλλάξεις που σχετίζονται με τον κύκλο των τρικαρβοξυλικών οξέων (TCA) περιλαμβάνονται αυτές των γονιδίων SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, SDHAF2, και FH. MYC, οδοί σηματοδότησης επαγόμενες από το c-Myc. MAPK, ακολουθία ενεργοποιούμενων από μιτογόνα πρωτεϊνικών κινασών. mTOR, οδός σηματοδότησης του στόχου της ραπαμυκίνης στα θηλαστικά. [72]

Η γνώση των αποτελεσμάτων της γενετικής ανάλυσης και των χαρακτηριστικών της νόσου προσφέρουν προγνωστικές πληροφορίες που διαμορφώνουν το πρόγραμμα παρακολούθησης ασθενών για τον κίνδυνο υποτροπής μετά από την αρχική θεραπεία. Κατά τον ίδιο τρόπο παρέχουν πληροφορίες πρόβλεψης του κινδύνου ανάπτυξης νέων παραγαγγλιωμάτων σε άτομα που φέρουν τη γενετική προδιάθεση. Όλα αυτά βασίζονται στην πεποίθηση ότι η έγκαιρη αναγνώριση νέας εμφάνισης παραγαγγλιώματος αυξάνει την πιθανότητα επιτυχημένης θεραπείας και συμβάλλει στη βελτίωση της επιβίωσης.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1 Brière J-J, Favier J, Bénit P, Ghouzzi V El, Lorenzato A, Rabier D, Di Renzo MF, Gimenez-Roqueplo A-P, Rustin P. Mitochondrial succinate is instrumental for HIF1 $\alpha$  nuclear translocation in SDHA-mutant fibroblasts under normoxic conditions. *Hum Mol Genet* 2005;**14**:3263–9.
- 2 Rasheed MRH Al, Tarjan G. Succinate Dehydrogenase Complex: An Updated Review. *Arch Pathol Lab Med* 2018;**142**:1564–70.
- 3 Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, Kos I, Batinic-Haberle I, Jones S, Riggins GJ, Friedman H, Friedman A, Reardon D, Herndon J, Kinzler KW, Velculescu VE, Vogelstein B, Bigner DD. *IDH1* and *IDH2* Mutations in Gliomas. *N Engl J Med* 2009;**360**:765–73.
- 4 Thompson CB. Metabolic Enzymes as Oncogenes or Tumor Suppressors. *N Engl J Med* 2009;**360**:813–5.
- 5 Gimm O, Armanios M, Dziema H, Neumann HP, Eng C. Somatic and occult germ-line mutations in *SDHD*, a mitochondrial complex II gene, in nonfamilial pheochromocytoma. *Cancer Res* 2000;**60**:6822–5.
- 6 Burnichon N, Brière J-J, Libé R, Vescovo L, Rivière J, Tissier F, Jouanno E, Jeunemaitre X, Bénit P, Tzagoloff A, Rustin P, Bertherat J, Favier J, Gimenez-Roqueplo A-P. *SDHA* is a tumor suppressor gene causing paraganglioma. *Hum Mol Genet* 2010;**19**:3011–20.
- 7 Hao H-X, Khalimonchuk O, Schraders M, Dephoure N, Bayley J-P, Kunst H, Devilee P, Cremers CWRJ, Schiffman JD, Bentz BG, Gygi SP, Winge DR, Kremer H, Rutter J. *SDH5*, a gene required for flavination of succinate dehydrogenase, is mutated in paraganglioma. *Science* 2009;**325**:1139–42.
- 8 van Nederveen FH, Korpershoek E, Lenders JWM, de Krijger RR, Dinjens WNM. Somatic *SDHB* mutation in an extraadrenal pheochromocytoma. *N Engl J Med* 2007;**357**:306–8.
- 9 Whalen RK, Althausen AF, Daniels GH. Extra-adrenal pheochromocytoma. *J Urol* 1992;**147**:1–10.

- 10 Turchini J, Cheung VKY, Tischler AS, De Krijger RR, Gill AJ. Pathology and genetics of pheochromocytoma and paraganglioma. *Histopathology* 2018;**72**:97–105.
- 11 Andersen GS, Toftdahl DB, Lund JO, Strandgaard S, Nielsen PE. The incidence rate of pheochromocytoma and Conn's syndrome in Denmark, 1977-1981. *J Hum Hypertens* 1988;**2**:187–9.
- 12 Baysal BE. Hereditary paraganglioma targets diverse paraganglia. *J Med Genet* 2002;**39**:617–22.
- 13 Berends AMA, Buitenwerf E, de Krijger RR, Veeger NJGM, van der Horst-Schrivers ANA, Links TP, Kerstens MN. Incidence of pheochromocytoma and sympathetic paraganglioma in the Netherlands: A nationwide study and systematic review. *Eur J Intern Med* 2018;**51**:68–73.
- 14 Bausch B, Wellner U, Bausch D, Schiavi F, Barontini M, Sanso G, Walz MK, Peczkowska M, Weryha G, Dall'Igna P, Cecchetto G, Bisogno G, Moeller LC, Bockenbauer D, Patocs A, Rácz K, Zabolotnyi D, Yaremchuk S, Dzivite-Krisane I, Castinetti F, Taieb D, Malinoc A, von Dobschuetz E, Roessler J, Schmid KW, Opocher G, Eng C, Neumann HPH. Long-term prognosis of patients with pediatric pheochromocytoma. *Endocr Relat Cancer* 2014;**21**:17–25.
- 15 Taïeb D, Kaliski A, Boedeker CC, Martucci V, Fojo T, Adler JR, Pacak K. Current Approaches and Recent Developments in the Management of Head and Neck Paragangliomas. *Endocr Rev* 2014;**35**:795–819.
- 16 Neumann HPH, Young WF, Eng C. Pheochromocytoma and Paraganglioma. *N Engl J Med* 2019;**381**:552–65.
- 17 Goffredo P, Sosa JA, Roman SA. Malignant pheochromocytoma and paraganglioma: a population level analysis of long-term survival over two decades. *J Surg Oncol* 2013;**107**:659–64.
- 18 Eisenhofer G, Peitzsch M. Laboratory Evaluation of Pheochromocytoma and Paraganglioma. *Clin Chem* 2014;**60**:1486–99.
- 19 Toledo RA. Genetics of Pheochromocytomas and Paragangliomas: An Overview on the Recently Implicated Genes MERTK, MET, Fibroblast

- Growth Factor Receptor 1, and H3F3A. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2017;**46**:459–89.
- 20 Maher ER, Iselius L, Yates JR, Littler M, Benjamin C, Harris R, Sampson J, Williams A, Ferguson-Smith MA, Morton N. Von Hippel-Lindau disease: a genetic study. *J Med Genet* 1991;**28**:443–7.
- 21 Welander J, Söderkvist P, Gimm O. Genetics and clinical characteristics of hereditary pheochromocytomas and paragangliomas. *Endocr Relat Cancer* 2011;**18**:R253–76.
- 22 Gimenez-Roqueplo A-P, Dahia P, Robledo M. An Update on the Genetics of Paraganglioma, Pheochromocytoma, and Associated Hereditary Syndromes. *Horm Metab Res* 2012;**44**:328–33.
- 23 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, Cornilisse CJ, Devilee P, Devlin B. Mutations in SDHD, a Mitochondrial Complex II Gene, in Hereditary Paraganglioma. *Science (80- )* 2000;**287**:848–51.
- 24 Benn DE, Robinson BG, Clifton-Bligh RJ. 15 YEARS OF PARAGANGLIOMA: Clinical manifestations of paraganglioma syndromes types 1-5. *Endocr Relat Cancer* 2015;**22**:T91-103.
- 25 Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: {602690}:{07/24/2019}.  
<https://www.omim.org/entry/602690>
- 26 IUBMB Enzyme Nomenclature EC 1.3.5.1. Last modified: 2014.  
<https://www.qmul.ac.uk/sbcs/iubmb/enzyme/EC1/3/5/1.html> (accessed 7 Sep2019).
- 27 Dluhy RG. Pheochromocytoma — Death of an Axiom. *N Engl J Med* 2002;**346**:1486–8.
- 28 Hensen EF, Bayley J-P. Recent advances in the genetics of SDH-related paraganglioma and pheochromocytoma. *Fam Cancer* 2011;**10**:355–63.
- 29 Pasini B, Stratakis CA. SDH mutations in tumorigenesis and inherited endocrine tumours: lesson from the phaeochromocytoma-paraganglioma

- syndromes. *J Intern Med* 2009;**266**:19–42.
- 30 Benn DE, Gimenez-Roqueplo A-P, Reilly JR, Bertherat J, Burgess J, Byth K, Crosson M, Dahia PLM, Elston M, Gimm O, Henley D, Herman P, Murday V, Niccoli-Sire P, Pasiëka JL, Rohmer V, Tucker K, Jeunemaitre X, Marsh DJ, Plouin P-F, Robinson BG. Clinical presentation and penetrance of pheochromocytoma/paraganglioma syndromes. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;**91**:827–36.
- 31 Andrews KA, Ascher DB, Pires DEV, Barnes DR, Vialard L, Casey RT, Bradshaw N, Adlard J, Aylwin S, Brennan P, Brewer C, Cole T, Cook JA, Davidson R, Donaldson A, Fryer A, Greenhalgh L, Hodgson S V, Irving R, Lalloo F, McConachie M, McConnell VPM, Morrison PJ, Murday V, Park S-M, Simpson HL, Snape K, Stewart S, Tomkins SE, Wallis Y, Izatt L, Goudie D, Lindsay RS, Perry CG, Woodward ER, Antoniou AC, Maher ER. Tumour risks and genotype–phenotype correlations associated with germline variants in succinate dehydrogenase subunit genes *SDHB*, *SDHC* and *SDHD*. *J Med Genet* 2018;**55**:jmedgenet-2017-105127.
- 32 Burnichon N, Rohmer V, Amar L, Herman P, Leboulleux S, Darrouzet V, Niccoli P, Gaillard D, Chabrier G, Chabolle F, Coupier I, Thieblot P, Lecomte P, Bertherat J, Wion-Barbot N, Murat A, Venisse A, Plouin P-F, Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo A-P, PGL.NET network. The succinate dehydrogenase genetic testing in a large prospective series of patients with paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;**94**:2817–27.
- 33 Bayley J-P, Kunst HP, Cascon A, Sampietro ML, Gaal J, Korpershoek E, Hinojar-Gutierrez A, Timmers HJ, Hoefsloot LH, Hermsen MA, Suárez C, Hussain AK, Vriends AH, Hes FJ, Jansen JC, Tops CM, Corssmit EP, de Knijff P, Lenders JW, Cremers CW, Devilee P, Dinjens WN, de Krijger RR, Robledo M. SDHAF2 mutations in familial and sporadic paraganglioma and pheochromocytoma. *Lancet Oncol* 2010;**11**:366–72.
- 34 Hensen E, van Duinen N, Jansen J, Corssmit E, Tops C, Romijn J, Vriends A, van der Mey A, Cornelisse C, Devilee P, Bayley J. High prevalence of founder mutations of the succinate dehydrogenase genes in the Netherlands. *Clin Genet* 2012;**81**:284–8.

- 35 Bourdeau I, Grunenwald S, Burnichon N, Khalifa E, Dumas N, Binet M-C, Nolet S, Gimenez-Roqueplo A-P. A SDHC Founder Mutation Causes Paragangliomas (PGLs) in the French Canadians: New Insights on the SDHC-Related PGL. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;**101**:4710–8.
- 36 LOVD, SDHC gene homepage. <https://databases.lovd.nl/shared/genes/SDHC> (accessed 17 Sep2019).
- 37 Else T, Marvin ML, Everett JN, Gruber SB, Arts HA, Stoffel EM, Auchus RJ, Raymond VM. The clinical phenotype of SDHC-associated hereditary paraganglioma syndrome (PGL3). *J Clin Endocrinol Metab* 2014;**99**:E1482-6.
- 38 Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: recent advances in understanding of their biology. *Hum Pathol* 1999;**30**:1213–20.
- 39 Neumann HPH, 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;**292**:943.
- 40 Neumann HP, Young WF, Krauss T, Bayley J-P, Schiavi F, Opocher G, Boedeker CC, Tirosh A, Castinetti F, Ruf J, Beltsevich D, Walz M, Groeben H-T, von Dobschuetz E, Gimm O, Wohllk N, Pfeifer M, Lourenço DM, Peczkowska M, Patocs A, Ngeow J, Makay Ö, Shah NS, Tischler A, Leijon H, Pennelli G, Villar Gómez de las Heras K, Links TP, Bausch B, Eng C. 65 YEARS OF THE DOUBLE HELIX: Genetics informs precision practice in the diagnosis and management of pheochromocytoma. *Endocr Relat Cancer* 2018;**25**:T201–19.
- 41 Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: {600857}:{09/21/2018}. <https://www.omim.org/entry/600857?search=sdha&highlight=sdha>
- 42 Pereira BD, Luiz H3, Ferreira AG PJ. Genetics of Pheochromocytoma and Paraganglioma. In: Mariani-Costantini R, ed. *Paraganglioma: A Multidisciplinary Approach [Internet]*. Brisbane (AU): : Codon Publications



2019. 1–22.
- 43 LOVD, SDHA gene homepage. <https://databases.lovd.nl/shared/genes/SDHA> (accessed 14 Sep2019).
- 44 Bausch B, Schiavi F, Ni Y, Welander J, Patocs A, Ngeow J, Wellner U, Malinoc A, Taschin E, Barbon G, Lanza V, Söderkvist P, Stenman A, Larsson C, Svahn F, Chen J-L, Marquard J, Fraenkel M, Walter MA, Peczkowska M, Prejbisz A, Jarzab B, Hasse-Lazar K, Petersenn S, Moeller LC, Meyer A, Reisch N, Trupka A, Brase C, Galiano M, Preuss SF, Kwok P, Lendvai N, Berisha G, Makay Ö, Boedeker CC, Weryha G, Racz K, Januszewicz A, Walz MK, Gimm O, Opocher G, Eng C, Neumann HPH, European-American-Asian Pheochromocytoma-Paraganglioma Registry Study Group. Clinical Characterization of the Pheochromocytoma and Paraganglioma Susceptibility Genes SDHA, TMEM127, MAX, and SDHAF2 for Gene-Informed Prevention. *JAMA Oncol* 2017;**3**:1204–12.
- 45 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;**7**:77–85.
- 46 Kaelin WG, Ratcliffe PJ. Oxygen Sensing by Metazoans: The Central Role of the HIF Hydroxylase Pathway. *Mol Cell* 2008;**30**:393–402.
- 47 Gimenez-Roqueplo AP, Favier J, Rustin P, Mourad JJ, Plouin PF, Corvol P, Rötig A, Jeunemaitre X. The R22X mutation of the SDHD gene in hereditary paraganglioma abolishes the enzymatic activity of complex II in the mitochondrial respiratory chain and activates the hypoxia pathway. *Am J Hum Genet* 2001;**69**:1186–97.
- 48 Ν Π. Οξειδωτικό στρες και ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα. Ι. Δραστικές ρίζες οξυγόνου. *Ελληνική Νεφρολογία* 2014;**26**:151–94.
- 49 Raha S, McEachern GE, Myint AT, Robinson BH. Superoxides from mitochondrial complex III: the role of manganese superoxide dismutase. *Free Radic Biol Med* 2000;**29**:170–80.
- 50 Yankovskaya V, Horsefield R, Törnroth S, Luna-Chavez C, Miyoshi H, Léger

- C, Byrne B, Cecchini G, Iwata S. Architecture of succinate dehydrogenase and reactive oxygen species generation. *Science* 2003;**299**:700–4.
- 51 Adachi H, Fujiwara Y, Ishii N. Effects of Oxygen on Protein Carbonyl and Aging in *Caenorhabditis elegans* Mutants With Long (age-1) and Short (mev-1) Life Spans. *Journals Gerontol Ser A Biol Sci Med Sci* 1998;**53A**:B240–4.
- 52 Ishii T, Yasuda K, Akatsuka A, Hino O, Hartman PS, Ishii N. A mutation in the SDHC gene of complex II increases oxidative stress, resulting in apoptosis and tumorigenesis. *Cancer Res* 2005;**65**:203–9.
- 53 Slane BG, Aykin-Burns N, Smith BJ, Kalen AL, Goswami PC, Domann FE, Spitz DR. Mutation of succinate dehydrogenase subunit C results in increased O<sub>2</sub>·, oxidative stress, and genomic instability. *Cancer Res* 2006;**66**:7615–20.
- 54 Smith EH, Janknecht R, Maher LJ. Succinate inhibition of alpha-ketoglutarate-dependent enzymes in a yeast model of paraganglioma. *Hum Mol Genet* 2007;**16**:3136–48.
- 55 Goffrini P, Ercolino T, Panizza E, Giachè V, Cavone L, Chiarugi A, Dima V, Ferrero I, Mannelli M. Functional study in a yeast model of a novel succinate dehydrogenase subunit B gene germline missense mutation (C191Y) diagnosed in a patient affected by a glomus tumor. *Hum Mol Genet* 2009;**18**:1860–8.
- 56 Szeto SSW, Reinke SN, Sykes BD, Lemire BD. Ubiquinone-binding site mutations in the *Saccharomyces cerevisiae* succinate dehydrogenase generate superoxide and lead to the accumulation of succinate. *J Biol Chem* 2007;**282**:27518–26.
- 57 Guzy RD, Sharma B, Bell E, Chandel NS, Schumacker PT. Loss of the SdhB, but Not the SdhA, Subunit of Complex II Triggers Reactive Oxygen Species-Dependent Hypoxia-Inducible Factor Activation and Tumorigenesis. *Mol Cell Biol* 2008;**28**:718–31.
- 58 Selak MA, Durán R V., Gottlieb E. Redox stress is not essential for the pseudo-hypoxic phenotype of succinate dehydrogenase deficient cells. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg* 2006;**1757**:567–72.
- 59 Cervera AM, Apostolova N, Crespo FL, Mata M, McCreath KJ. Cells Silenced for SDHB Expression Display Characteristic Features of the Tumor Phenotype.

- Cancer Res* 2008;**68**:4058–67.
- 60 Gerald D, Berra E, Frapart YM, Chan DA, Giaccia AJ, Mansuy D, Pouyssegur J, Yaniv M, Mechta-Grigoriou F. JunD reduces tumor angiogenesis by protecting cells from oxidative stress. *Cell* 2004;**118**:781–94.
- 61 MacKenzie ED, Selak MA, Tennant DA, Payne LJ, Crosby S, Frederiksen CM, Watson DG, Gottlieb E. Cell-Permeating  $\alpha$ -Ketoglutarate Derivatives Alleviate Pseudohypoxia in Succinate Dehydrogenase-Deficient Cells. *Mol Cell Biol* 2007;**27**:3282–9.
- 62 Lee S, Nakamura E, Yang H, Wei W, Linggi MS, Sajan MP, Farese R V., Freeman RS, Carter BD, Kaelin WG, Schlisio S. Neuronal apoptosis linked to EglN3 prolyl hydroxylase and familial pheochromocytoma genes: Developmental culling and cancer. *Cancer Cell* 2005;**8**:155–67.
- 63 Bishop T, Gallagher D, Pascual A, Lygate CA, de Bono JP, Nicholls LG, Ortega-Saenz P, Oster H, Wijeyekoon B, Sutherland AI, Grosfeld A, Aragonés J, Schneider M, van Geyte K, Teixeira D, Diez-Juan A, Lopez-Barneo J, Channon KM, Maxwell PH, Pugh CW, Davies AM, Carmeliet P, Ratcliffe PJ. Abnormal sympathoadrenal development and systemic hypotension in PHD3<sup>-/-</sup> mice. *Mol Cell Biol* 2008;**28**:3386–400.
- 64 Loenarz C, Schofield CJ. Expanding chemical biology of 2-oxoglutarate oxygenases. *Nat Chem Biol* 2008;**4**:152–6.
- 65 Cervera AM, Bayley J-P, Devilee P, McCreath KJ. Inhibition of succinate dehydrogenase dysregulates histone modification in mammalian cells. *Mol Cancer* 2009;**8**:89.
- 66 Xiao M, Yang H, Xu W, Ma S, Lin H, Zhu H, Liu L, Liu Y, Yang C, Xu Y, Zhao S, Ye D, Xiong Y, Guan K-L. Inhibition of  $\alpha$ -KG-dependent histone and DNA demethylases by fumarate and succinate that are accumulated in mutations of FH and SDH tumor suppressors. *Genes Dev* 2012;**26**:1326–38.
- 67 He W, Miao FJ-P, Lin DC-H, Schwandner RT, Wang Z, Gao J, Chen J-L, Tian H, Ling L. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors. *Nature* 2004;**429**:188–93.
- 68 Mu X, Zhao T, Xu C, Shi W, Geng B, Shen J, Zhang C, Pan J, Yang J, Hu S,

- Lv Y, Wen H, You Q. Oncometabolite succinate promotes angiogenesis by upregulating VEGF expression through GPR91-mediated STAT3 and ERK activation. *Oncotarget* 2017;**8**:13174–85.
- 69 Sapieha P, Sirinyan M, Hamel D, Zaniolo K, Joyal J-S, Cho J-H, Honoré J-C, Kermorvant-Duchemin E, Varma DR, Tremblay S, Leduc M, Rihakova L, Hardy P, Klein WH, Mu X, Mamer O, Lachapelle P, Di Polo A, Beauséjour C, Andelfinger G, Mitchell G, Sennlaub F, Chemtob S. The succinate receptor GPR91 in neurons has a major role in retinal angiogenesis. *Nat Med* 2008;**14**:1067–76.
- 70 The Cancer Genome Atlas Program - National Cancer Institute. <https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga> (accessed 1 Oct2019).
- 71 Fishbein L, Leshchiner I, Walter V, Danilova L, Robertson AG, Johnson AR, Lichtenberg TM, Murray BA, Ghayee HK, Else T, Ling S, Jefferys SR, de Cubas AA, Wenz B, Korpershoek E, Amelio AL, Makowski L, Rathmell WK, Gimenez-Roqueplo A-P, Giordano TJ, Asa SL, Tischler AS, Pacak K, Nathanson KL, Wilkerson MD, Akbani R, Ally A, Amar L, Amelio AL, Arachchi H, Asa SL, Auchus RJ, Auman JT, Baertsch R, Balasundaram M, Balu S, Bartsch DK, Baudin E, Bauer T, Beaver A, Benz C, Beroukhim R, Beuschlein F, Bodenheimer T, Boice L, Bowen J, Bowlby R, Brooks D, Carlsen R, Carter S, Cassol CA, Cherniack AD, Chin L, Cho J, Chuah E, Chudamani S, Cope L, Crain D, Curley E, Danilova L, de Cubas AA, de Krijger RR, Demchok JA, Deutschbein T, Dhalla N, Dimmock D, Dinjens WNM, Else T, Eng C, Eschbacher J, Fassnacht M, Felau I, Feldman M, Ferguson ML, Fiddes I, Fishbein L, Frazer S, Gabriel SB, Gardner J, Gastier-Foster JM, Gehlenborg N, Gerken M, Getz G, Geurts J, Ghayee HK, Gimenez-Roqueplo A-P, Giordano TJ, Goldman M, Graim K, Gupta M, Haan D, Hahner S, Hantel C, Haussler D, Hayes DN, Heiman DI, Hoadley KA, Holt RA, Hoyle AP, Huang M, Hunt B, Hutter CM, Jefferys SR, Johnson AR, Jones SJM, Jones CD, Kasaian K, Kebebew E, Kim J, Kimes P, Knijnenburg T, Korpershoek E, Lander E, Lawrence MS, Lechan R, Lee D, Leraas KM, Lerario A, Leshchiner I, Lichtenberg TM, Lin P, Ling S, Liu J, LiVolsi VA, Lolla L, Lotan Y, Lu Y, Ma Y, Maison N, Makowski L, Mallery D, Mannelli

M, Marquard J, Marra MA, Matthew T, Mayo M, Méatchi T, Meng S, Merino MJ, Mete O, Meyerson M, Mieczkowski PA, Mills GB, Moore RA, Morozova O, Morris S, Mose LE, Mungall AJ, Murray BA, Naresh R, Nathanson KL, Newton Y, Ng S, Ni Y, Noble MS, Nwariaku F, Pacak K, Parker JS, Paul E, Penny R, Perou CM, Perou AH, Pihl T, Powers J, Rabaglia J, Radenbaugh A, Ramirez NC, Rao A, Rathmell WK, Riester A, Roach J, Robertson AG, Sadeghi S, Saksena G, Salama S, Saller C, Sandusky G, Sbiera S, Schein JE, Schumacher SE, Shelton C, Shelton T, Sheth M, Shi Y, Shih J, Shmulevich I, Simons J V., Sipahimalani P, Skelly T, Sofia HJ, Sokolov A, Soloway MG, Sougnez C, Stuart J, Sun C, Swatloski T, Tam A, Tan D, Tarnuzzer R, Tarvin K, Thiessen N, Thorne LB, Timmers HJ, Tischler AS, Tse K, Uzunangelov V, van Berkel A, Veluvolu U, Vicha A, Voet D, Waldmann J, Walter V, Wan Y, Wang Z, Wang TS, Weaver J, Weinstein JN, Weismann D, Wenz B, Wilkerson MD, Wise L, Wong T, Wong C, Wu Y, Yang L, Zelinka T, Zenklusen JC, Zhang J (Julia), Zhang W, Zhu J, Zinzindohoué F, Zmuda E. Comprehensive Molecular Characterization of Pheochromocytoma and Paraganglioma. *Cancer Cell* 2017;**31**:181–93.

- 72 Crona J, Taïeb D, Pacak K. New Perspectives on Pheochromocytoma and Paraganglioma: Toward a Molecular Classification. *Endocr Rev* 2017;**38**:489–515.