

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

„CAROL DAVILA” BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL MEDICINĂ

***CORELAȚII GENOTIP-FENOTIP ÎN TUMORILE
SECRETANTE DE CATECOLAMINE***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Coordonator:

PROF. UNIV. DR. CORIN BADIU

Student doctorand:

LIDER-BURCIULESCU (TIMPURIU) SOFIA-MARIA

2024

Cuprins

I. Introducere	1
II. Premizele generale ale cercetării	3
III. Studiul I-Particularități ale corelațiilor genotip-fenotip la pacienții cu PPGLs din România	4
III.1. Ipoteza de lucru	4
III.2. Material și metodă	5
III.3. Rezultate	7
III.3.1. Caracteristici generale ale cohorței de pacienți cu PPGLs din România	7
III.3.2. Corelații genotip-fenotip în cadrul cohorței de PPGLs din România	8
III.3.3. PPGLs asociate complicațiilor amenințătoare de viață și PPGLs asimptomatice.....	11
III.3.4. PHEO bilaterale.....	12
IV. Studiul II-Comparație între cohorta Română versus cohorta Flamandă de PPGLs.....	13
IV.1. Ipoteza de lucru	13
IV.2. Material și metodă	13
IV.3. Rezultate	14
IV.3.1. Caracteristicile cohorței flamande și comparație între PHEO/PGL sporadice versus ereditare.....	14
IV.3.2. Comparație între cohorta Românească și cea Flamandă	16
V. Studiul III-PPGLs metastatice Particularități fenotipice și genotipice-studiu descriptive	17
V.1. Introducere	17
V.2. Material și metodă	18
V.3. Rezultate.....	18
VI. Discuții și concluzii.....	20
VII. Contribuții personale și direcții viitoare de cercetare	24
Bibliografie.....	26

I. Introducere

Tumorile secretante de catecolamine, reprezentate de feocromocitoame (PHEOs) și paraganglioame (PGLs), sunt neoplasme rare (0,8/100 000 de persoane/an), cu un impact major asupra calității vieții pacienților. [1] În ciuda rarității, feocromocitoamele și paraganglioamele (PPGLs) sunt caracterizate de comportament uimitor de heterogen, începând de la expresia genetică până la cea clinică.

PPGLs sunt tumorile solide cu cea mai mare variabilitate genetică. În prezent, mai mult de 21 gene sunt implicate în dezvoltarea acestor patologii. [2] Prin urmare, pe baza amprentei transcriptionale, variantele patogene implicate în PPGLs au fost clasificate în trei cluster, fiecare dintre ele incluzând o cale transcripțională proprie care generează un fenotip specific. [3]

Clusterul 1 cuprinde PPGLs generate de un dezechilibru molecular care produce pseudohipoxie (ca urmare a implicării genelor din ciclul Krebs). Aceste gene sunt complexul *SDHx*: (*SDHA*, *SDHAF2*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*) *VHL*, *FH*, *MDH2*, *GOT2*, *IDH1*, *SCLC25A11* și *EPAS1*. Prezența mutațiilor germinale sau somatice în aceste gene conduce direct sau indirect la alterarea răspunsului la hipoxie crescând cantitatea de HIF1 α și HIF2 α , în consecință, generând creșterea statusului pseudohipoxic și angiogenezei. [4], [5]

Clusterul 2 cuprinde gene implicate în semnalizarea tirozin-kinazică. Un procent de peste 50 % din PPGLs sunt asociate acestui cluster. Următoarele gene fac parte din acest cluster: proto-oncogenă *RET*, supresorul tumoral neurofibromina 1 (*NFI*), proteina transmembranară 127 (*TMEM127*), factorul X asociat Myc (*MAX*), mutația somatică în *HRAS* etc. [2], [6], [7]

Clusterul 3 (identificat de The Cancer Genome Atlas [TCGA]) cuprinde căile de semnalizare WnT și include mutații somatice în gena *CSDE1* sau în gena de fuziune *MAML3*. [8]

Tumorile din clusterul 1 au un pattern de secreție noradrenergic, astfel, simptomatologia este mai atenuată; acești pacienți dezvoltă mai frecvent hipertensiune arterială susținută decât paroxistică, și au un risc mai mic de a dezvolta crize adrenergice spre deosebire de cei din clusterul 2, unde patternul secretor este unul adrenergic iar acești

pacienți se prezintă mai degrabă cu simptome paroxistice ca urmare a eliberării episodice de epinefrină. [1]

Dintre cele mai frecvente mutații germinale întâlnite în PPGLs, sunt cele asociate unor sindroame: *RET* (Sindromul MEN2A), *VHL* (Sindromul von Hippel Lindau), *SDHx* (Sindromul Carney-Stratakis), *NFI* (Neurofibromatoza tip I). [9], [10]

Diagnosticul acestor tumori se suspicionează pe baza criteriilor clinice și imagistice și se confirmă la examenul histopatologic, după rezecția chirurgicală. Tumorile secretante de catecolamine nu se biopsiază, întrucât această procedură poate declanșa o criză catecolaminergică.

Din punct de vedere biochimic, valori ale metanefrinelor și normetanefrinelor plasmatice și/sau urinare (metaboliții adrenalinei și noradrenalinei) de 2-3 ori peste limita superioară a normalului ne indică prezența unui feocromocitom sau paragangliom funcțional. La examenul imagistic, investigația CT (computer-tomografia) este de elecție în aceste patologii, iar caracteristica sugestivă pentru PPGL este prezența unei formațiuni tumorale dense cu mai mult de 20 UH (Unitati Hounsfield).

Standardul de aur în diagnosticul acestor tumori este examenul histopatologic bazat pe aspectul macro/microscopic și imunohistochimic. Markerii imunohistochimici clasici de diagnostic ai PPGL sunt: Cromogranina A, Sinaptofizina, proteina S100, GATA2, CD10, vimentina. Mai mult, aspectul microscopic și câteva elemente de imunohistochimie sunt incluse în așa numitele scoruri de malignitate PASS și GAPP care ne pot orienta spre potențialul metastatic al acestor tumori,

Corelațiile genotip-fenotip în aceste patologii au început în același timp cu genomica. La început, din motive de cost-eficiență, Ghidurile Societății Europene au dezvoltat algoritmi pentru testarea genetică, bazați pe fenotipul clinic și biochimic specific fiecărui cluster. [11]

În prezent, diagnosticul genetic al PPGLs este bazat pe Secvențierea de Nouă Generație (NGS), recomandată tuturor pacienților cu PPGLs, independent de prezentarea lor clinică. [12]

În cazul prezenței unei mutații germinale, următorul pas este screeningul rudelor de gradul întâi ale pacienților cu PPGLs. În România, testarea NGS pentru toți pacienții cu PPGLs rămâne încă un obiectiv spre care ne îndreptăm cu pași mici, dar siguri.

II. Premizele generale ale cercetării

Pornind de la recomandarea testării genetice a tuturor pacienților cu PPGLs, ideea acestui proiect a fost în primul rând de a efectua testarea genetică la pacienții cu PPGLs diagnosticați în cadrul Institutului Național de Endocrinologie "CI Parhon", iar pe baza rezultatelor, să realizăm corelații genotip-fenotip în cadrul acestor patologii. Ulterior, raportându-ne la numeroase studii care descriu distribuții geografice specifice ale mutațiilor implicate în aceste patologii, proiectul a evoluat către analiza retrospectivă a unei cohorte de pacienți cu PPGLs din Belgia și compararea acestora cu, cohorta noastră. În finalul acestui proiect am acordat o atenție deosebită PPGLs maligne, a căror evoluție este particulară fiecărui pacient în parte. De asemenea, necesitatea de a ne alinia la standardele internaționale în privința cercetării acestor patologii a fost un alt trigger pentru derularea acestui proiect amplu.

Această lucrare cuprinde următoarele părți:

- I. Prima parte - Partea generală este dedicată înțelegerii și aprofundării mecanismelor fizio-patologice și moleculare a acestor tumori în contextul actual al cunoașterii, precum și distribuția istorică și geografică a genotipului lor.
- II. A doua parte - Partea specială cuprinde trei studii originale:

Primul studiu, intitulat "Particularități ale corelațiilor genotip-fenotip la pacienții cu PPGLs din România", este un studiu retrospectiv și prospectiv, în care am caracterizat genotipul pacienților cu PPGLs din România și am corelat datele genetice cu aspectele fenotipice.

Al doilea studiu intitulat "Comparație între cohorta Română versus Flamandă de pacienți cu PPGL" este un studiu retrospectiv, în care am evidențiat diferențele privind genotipul și fenotipul dintre cele două cohorte de pacienți cu PPGL din două regiuni geografice și istorice diferite.

Al treilea și ultimul studiu intitulat "PPGLs metastatice - particularități genotipice și fenotipice", este un studiu retrospectiv și prospectiv, descriptiv.

III. Studiul I-Particularități ale corelațiilor genotip-fenotip la pacienții cu PPGL din România

III.1. Ipoteza de lucru

Pornind de la heterogenitatea fenotipică și genotipică a acestor tumori și necesitatea testării genetice pentru toți pacienții cu PPGLs, recomandată de ghidurile internaționale, am dezvoltat acest proiect de cercetare, pentru pacienții diagnosticați cu PPGLs în cadrul Institutului Național de Endocrinologie “CI Parhon” din București (Departamentul IV).

Scopurile principale ale acestui studiu au fost acelea de a caracteriza genotipul pacienților români diagnosticați cu PPGLs și de a realiza corelații genotip-fenotip în cadrul acestei cohorte.

Pentru a ajunge la acest scop, a fost necesară parcurgerea următoarelor obiective:

- A. Sa preluăm retrospectiv și să obținem prospectiv datele genetice, clinice, biochimice, imagistice, histopatologice, conduita terapeutică și evoluția pacienților diagnosticați cu PPGLs.
- B. Izolarea ADN-ului din leucocitele sangelui periferic pentru pacienții diagnosticați cu PPGLs.
- C. Identificarea statusului genetic al acestor pacienți prin testarea mutațiilor germinale utilizând tehnica testării de nouă generație sau secvențierea directă, Sanger.
- D. Analiza statistică a datelor colectate.
- E. Follow-up periodic personalizat, cu evaluare clinică, biochimică și imagistică la pacienții cu istoric personal de PPGLs, conform recomandărilor ghidurilor Internaționale.
- F. Includerea datelor pacienților noștri în baza de date Internațională ENSAT (European Network for the Study of Adrenal Tumors), date care ulterior pot fi folosite în proiecte de cercetare, sub condiția confidențialității datelor, conform protocolului de cercetare.

Criteriile de includere în acest studiu au fost următoarele:

- Confirmarea histologică a PHEO/PGL, postoperator.
- Date complete clinice, biochimice, de imagistică, despre abordarea terapeutică și despre evoluție

Acest studiu cuprinde 3 părți:

Partea I: Descrierea profilului genetic al pacienților români cu PPGLs și corelații genotip-fenotip în cadrul acestei cohort;

Partea a-II-a: Descrierea caracteristicilor pacienților cu complicații amenințătoare de viață și a celor asimptomatici:

Partea a-III-a: Cuprinde o prezentare amănunțită a PHEO bilaterale din cohorta noastră.

III.2. Material și metodă

Acest studiu este unul analitic și are un caracter retrospectiv și prospectiv. Datele retrospective, incluzând pe cele antropometrice, clinice, biochimice, histologice, date de imagistică, abordare terapeutică, genetică și evoluție au fost colectate din înregistrările electronice ale pacienților diagnosticați cu PPGLs între 1976-2020, în cadrul Departamentului IV al Institutului Național de Endocrinologie "CI Parhon". Pacienții noi, diagnosticați cu PPGLs între 2020 - februarie 2024, au fost recrutați tot din cadrul Departamentului IV al Institutului Național de Endocrinologie CI Parhon. Aceștia au fost evaluați prospectiv, evaluarea cuprinzând aceleași date ca cele descrise anterior.

Examenle clinice, biochimice și de imagistică ale pacienților au fost efectuate în aceeași instituție. Intervenția chirurgicală a fost efectuată în mai multe spitale din București, după un tratament afla-blocant adecvat.

Datele clinice ale pacienților au inclus vârsta la momentul diagnosticului, sexul, antecedentele personale și istoricul familial de PHEO/PGL, precum și prezența altor componente sugestive pentru un sindrom genetic. Semnele și simptomele raportate la momentul diagnosticului au fost grupate astfel:

- simptome sugestive pentru un exces catecolaminergic: hipertensiune arterială secundară, paroxisme de hipertensiune, triada clasică (cefalee, palpitații, transpirații), tremor, greață, scădere ponderala, anxietate,

- simptome locale cauzate de compresia tumorii

- evenimente ameninătoare de viață (infarct miocardic, cardiomiopatie Takotsubo, edem pulmonar, crize epileptice, apoplexie fetoplacentară).

Metoda de diagnostic a fost clasificată astfel:

- Descoperire incidentală
- Screening genetic
- Diagnostic bazat pe simptome

Datele biochimice au inclus valorile metanefrinelor și normetanefrinelor fracționate din plasmă și urină, precum și ale cromograninei A. Prelevarea de sânge pentru dozarea metaboliților catecolaminergici a fost realizată în condiții de fasting și clinostatism timp de 30 de minute anterior recoltării.

Dozarea metanefrinelor au fost efectuată utilizând cromatografia lichidiană urmată de spectrometrie de masă în tandem. Valorile limită pentru diagnosticul PPGLs au fost stabilite conform ghidurilor internaționale la > 2-3 ori limita superioară a normalului (ULN). Patternul de secreție noradrenergică a fost considerat atunci când nivelurile de normetanefrine erau > 2-3 ori ULN, însoțite de o creștere a metanefrinelor < 1,5 ori ULN, în timp ce tipul de secreție adrenergică sau mixt a fost considerat atunci când ambii metaboliți erau crescuți > 2-3 ori ULN.

Localizarea și dimensiunea tumorii a fost confirmată în majoritatea cazurilor prin scanarea CT cu substanță de contrast și la unii pacienți prin scanarea IRM (rezonanță magnetică nucleară).

Diagnosticul de feocromocitom sau paragangliom a fost confirmat la toți pacienții prin diagnostic histologic, dar imunohistochimia a fost disponibilă doar în câteva cazuri.

Testarea genetică

La momentul începerii studiului, ADN-ul unora din pacienți era deja stocat în biobanca Institutului Național de Endocrinologie, în timp ce, pentru restul pacienților nou diagnosticați și a celor diagnosticați anterior, dar la care nu aveam disponibile probele de ADN, s-a realizat izolarea ADN-ului din leucocitele sângelui periferic folosind o metodă standard, manuală.[13]

Întrucât secvențierea directă a genei *RET* este disponibilă în cadrul Laboratorului de Genetică al Institutului Național de Endocrinologie, testele genetice pentru pacienții cu

suspiciune clinică de sindrom MEN2 au fost efectuate în acest laborator. Pentru restul pacienților, testarea a fost efectuată prin NGS la Institutul de Oncologie din Budapesta cu amabilitatea Prof. Dr Attila Patocs.

Screeningul pentru mutația RET a fost realizat prin secvențiere directă (pe aparatul Beckman CEQ-8000-Beckman Coulter) pentru exoni: 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 15, 16.

Secvențierea NGS a fost realizată folosind un panou comercial de cancer ereditar - Trusight Hereditary Cancer Panel - care vizează 113 gene de la Illumina®. Acest panel de gene a acoperit genele relevante pentru PPGLs ereditare *VHL*, *SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SDHAF2*, *NF1*, *MAX*, *TMEM127*, *HIF1A*, *FH*, *CDKN1B*, *MET*, *PPKARIA* dar și alte gene implicate în alte tipuri de neoplazii. Analiza a inclus identificarea variantelor patogene germinale și variația numărului de copii (CNV).

Rezultatele testelor genetice au fost clasificate în 3 categorii: **patogene (VP)**, **variante cu semnificație nedeterminată (VUS)** și **sporadice**, conform American College of Medical Genetics (ACMG).[14] Descoperirile benigne nu au fost raportate.

III.3. Rezultate

III.3.1. Caracteristici generale ale cohorței de pacienți români cu PPGLs

În acest studiu au fost incluși 140 de pacienți cu PPGLs; nouăzeci și șapte (69,2%) femei și 43 (30,7%) bărbați; 130 (92,8%) s-au prezentat cu PHEOs și 10 (7,2%) cu PGLs. Vârsta medie la diagnostic a fost de $47,9 \pm 15,6$ ani. În grupul de PHEO, 71 (54,6%) pacienți, s-au prezentat cu PHEO pe partea dreaptă, 44 (33,8%) cu PHEO pe partea stângă și 15 (11,6%) cu tumori bilaterale (60 % sincrone sau 40% metacrone). În grupul PGL, 4 pacienți au prezentat PGLs retroperitoneale (40%), 4 HNPG (paragangliom de cap și gât) (40%), 1 (10%) PGL Zuckerkandl, 1 (10%) PGL mediastinal. Patru dintre aceste tumori (respectiv PGL cervicale au fost non-funcționale). Unsprezece (8%) au prezentat boală metastatică.

Diametrul mediu al tumorii la diagnostic a fost de 51 ± 22 mm. Valorile mediane plasmatiche de MN au fost de 239 pg/ml (10-3365), de 2,6 ori limita superioară a normalului, în timp ce valorile mediane de NMN au fost de 1018 pg/ml (30-9808), de 3 ori limita superioară a normalului. Valorile mediane de Cromogranină au fost de 176 ng/l (0-4630) de 5 ori limita superioară a normalului. Am găsit o corelație directă între nivelurile NMN și diametrul tumorii ($R^2=0.125$).

III.3.2. Corelații genotip-fenotip în cadrul cohorței cu PPGLs din România

Din cei 140 de pacienți, incluși în studiu, 88 (62.8%) au fost supuși studiului genomic.

Mutații germinale au fost identificate în 36,3% (n=32) (22 *RET*, 3 *VHL*, 2 *NFI*, 2 *SDHD*, 1 *SDHB*, 1 *FANCA*, 1 *CASR*); VUS au fost identificate în 22,7% (n=20). Pacienții din grupul sporadic au reprezentat 41% (n=36) din pacienții testați. În 3 cazuri, interpretarea VUS a fost "probabil patogenă-likely pathogenic" conform bazelor de date ClinVar și Franklin.

Pacienții din grupul cu mutații germinale s-au prezentat cu tumori bilaterale (n=12; 37.5 %), PHEO pe partea dreapta (n=10; 31%) și PHEO stâng (n=9; 28.1%), și cu HNPGL (1; 4%).

Vârsta medie la diagnostic la pacienții cu mutații germinale a fost semnificativ mai mică comparativ cu cei cu VUS (37±15 vs. 53±12 ani, p=0.000) și cu cei din grupul sporadic (37±15 vs. 49.9±12.2 p=0.001).

Pacienții din grupul sporadic au reprezentat 41% (n=36) din pacienții testați. Vârsta medie de diagnostic pentru acești pacienți a fost de 49,9±12,2 ani, 26 de femei, 10 bărbați. În acest grup, 32 de pacienți s-au prezentat cu PHEOs (18 – 50% pe partea dreaptă, 11- 30% pe partea stânga) și 4 (20%) pacienți au prezentat PGLs (1 glomus caroticum, 1 pulmonar, 1 retroperitoneal, 1 Zuckerkandl). Doi dintre ei au avut boală metastatică și unii dintre ei au prezentat caracteristici clinic de boală aparent ereditară.

Restul de, 37% (n=52) dintre pacienți nu au fost testați din cauza lipsei de probe ADN. Vârsta medie a acestora a fost de 52±16 ani, 34 F, 12 M. Vârsta medie de diagnostic a fost de 52±16 ani, 37 de femei, 15 bărbați. Douăzeci și nouă (55,8%) dintre ei au prezentat PHEO drept, 15 (28,8%) PHEO stâng, 3 (5,8%) PHEO bilaterale, 3 (5,8%) au avut PGL abdominal, 2 (3,8%) HNPGL. Șapte (13.6%) dintre ei au dezvoltat boală metastatică.

Pacienții cu mutația RET

Pacienții cu varianta patogenă RET au reprezentat majoritatea (68,7%) pacienților din grupul cu mutație germinală și 25% din pacienții testați. Au fost analizați douăzeci și doi de pacienți din cincisprezece familii. Toți au prezentat sindromul MEN2A. Paisprezece pacienți (63,6%) au fost femei și 8 (36,4%) bărbați. Vârsta medie de diagnostic a fost de 36,6±2,8 ani. Nouă pacienți (40,9%) au dezvoltat tumori bilaterale (sincrone sau metacrone).

Diametrul maxim al tumorii a fost de $46,4 \pm 3,5$ mm. Cinci pacienți au fost diagnosticați ca urmare a screening-ului genetic. La 10 pacienți, PHEO a fost prima manifestare a bolii. Unul dintre ei a prezentat boală metastatică.

Durata mediană de urmărire a fost de 8 (IQR 11,5) ani. Acești pacienți, au avut următorul profil genetic: optsprezece pacienți (din 12 familii) au prezentat o mutație a exonului 11 [*p.Cys634Trp* (55,5%), *p.Cys634Arg/Tyr* 22,2%/16,6%; *p.Asp631Tyr* (5,5%)]; 4 (din 3 familii) au avut o mutație a exonului 10 [*p.Cys618Arg* (75%), și *p.Cys618Tyr* (25%)].

Vârsta medie în familiile cu mutație în exonul 11 a fost nesemnificativ mai mică ($35,6 \pm 2,9$ ani) compativ cu familiile cu mutație în exonul 10 ($41 \pm 9,2$ ani). Diametrul maxim al tumorii a fost mai mare la cei cu mutație în codonul 634 decât la cei cu 618 (48 ± 4 vs. $38 \pm 5,8$ mm). Pacientul cu mutație în codonul 631 a fost diagnosticat cu PHEO la vârsta de 51 de ani, cu un diametru maxim al tumorii de 30 mm.

Pacienții cu mutația VHL

Trei (3,75%) din cei 88 de pacienți și 9.3 % din pacienții din grupul VP au avut mutații în gena *VHL*. Doi pacienți au prezentat sindromul VHL de tip 2A (mamă și fiică) - *c.245G>T*; *p.Arg82Leu*, iar o alta pacientă, VHL de tip 2C (*c.482G>A*; *p.Arg161Glu*). Pacientele din aceeași familie au prezentat feocromocitom și hemangiomatoză, în timp ce a treia pacientă a prezentat feocromocitom izolat și istoric familial de adenom hipofizar (mama sa). Toți pacienții au dezvoltat feocromocitom în copilărie (vârsta medie la diagnostic fiind de $12,3 \pm 2,3$ ani). Toate cele trei paciente au prezentat tumori bilaterale sincrone. Nimeni nu a dezvoltat boală metastatică. Durata medie de urmărire pentru acești pacienți a fost de 5 ani (3-38). O pacientă cu VHL2A (mama) a decedat din cauza complicațiilor legate de sindromul VHL (hemangiomatoză, tumori spinale). A treia pacientă cu VHL2C nu a dezvoltat recurență sau alte tumori asociate sindromului VHL după 10 ani de urmărire.

Alte mutații germinale

NF1 (*c.5513_5514del*; *p.Ser1838Tyrfs*23*), (*c.1308G>A*; *p.Ser436=*): Pacient de sex masculin cu semne clinice de neurofibromatoză a fost diagnosticat la 39 de ani cu un PHEO stâng cu pattern de secreție noradrenergic. După 10 ani de urmărire nu a dezvoltat recurență tumorală.

Al doilea caz, o femeie diagnosticată cu PHEO la 52 de ani, cu istoric familial de cancer colonic, dar fără alte tumori sau semne clinice de *NF1*.

SDHD (c.341A>G; p.Tyr114Cys): Prima pacientă, diagnosticată la 56 de ani cu PHEO stâng și pattern de secreție noradrenergic. Ea a prezentat, de asemenea, chisturi renale și splenice.

Al doilea pacient a prezentat HNPGL localizat latero-cervical pe partea stângă la 67 de ani. Acesta a dezvoltat și o tumoră pulmonară cu metastaze suprarenale.

SDHB (c.725G>A; p.Arg242His); MLH1 (c.902A>G; p.Gln301Arg, VUS): Acest pacient a fost diagnosticat cu PHEO drept la 36 de ani, nu a dezvoltat recurență/metastaze la 7 ani de la diagnostic. Nu avea istoric familial de PHEO, dar rudele pacientului nu au fost încă testate pentru mutația *SDHB*. Acest pacient a asociat un VUS al genei *MLH1*.

FANCA: Pacient în vârstă de 53 de ani, a fost diagnosticat cu PHEO drept cu model de secreție noradrenergic. El nu avea alte patologii asociate acestei mutații.

CASR (c.1856_1857delTT): Această pacientă a fost diagnosticată la 57 de ani, cu PHEO stâng și pattern de secreție noradrenergic. Nu avea modificări ale valorilor parathormonului sau calciului, dar prezenta chisturi hepatice și renale. Nu avea antecedente familiale de neoplazii.

Pacienții cu VUS

Pacienții cu VUS au reprezentat 22% (n=20) din pacienții testați. În acest grup, vârsta medie la diagnostic a fost de $51,9 \pm 12$ ani, patru dintre ei având mai puțin de 40 de ani la diagnostic. Femeile au avut o pondere mai mare n=13 (68%) față de bărbați n=7 (28%). Toți s-au prezentat cu PHEO, 12 (60%) pe partea dreaptă și 7 (40%) pe stânga. Unii dintre aceștia au prezentat fenotip clinic de PHEO ereditar: pacientă (*MSH 6 c.1474A>G*) a asociat PHEO cu adenocarcinom pulmonar; o altă pacientă (*BRIP 1 c.728T>C*) a dezvoltat PHEO malign și avea antecedente familiale de cancer colonic.

O pacientă cu fenotip clinic de neurofibromatoză, a fost diagnosticată cu PHEO la 35 de ani. Fiul pacientei, prezintă de asemenea, semne clinice de neurofibromatoză. În cazul ei, am identificat o mutație somatică a *NF1 (p.Val2656LeufsTer23)*, și un VUS (*MSH2+ATM c.1134_113*).

În cazul a doi pacienți, am identificat anomalii ale metabolismului calciului:

Un pacient (*MEN1 c.526G>T*) a asociat feocromocitom cu hipercalcemie hipocalciurică familială. Al doilea pacient a prezentat feocromocitom și hipercalcemie idiopatică (*RB2 c.644C>T*), respectiv hiperparatiroidism primar (*ATM c.5639C>T*).

Un alt pacient, cu VUS în *BARD1 (c.1333G>A)*, a prezentat feocromocitom, carcinom tiroidian papilar și polipi colici, având și un istoric familial de leucemie și moarte subită la vârstă tânără.

III.3.3. PPGLs asociate complicațiilor amenințătoare de viață și PPGLs asimptomatice

Saisprezece (11.4%) pacienți au prezentat complicații amenințătoare de viață. Majoritatea dintre ei au suferit complicații cardiovasculare. Doi dintre aceștia au dezvoltat complicații în timpul unei intervenții chirurgicale pentru PPGL. Vârsta mediană la momentul diagnosticului pentru acești pacienți a fost de 43,5 ani (9 - 72), majoritatea fiind femei (n=14, 77,2%). PHEO au fost cauza acestor evenimente la 15 pacienți (94,4%), iar al 16-lea pacient a prezentat un PGL abdominal (juxtarenal). Majoritatea dintre ei au prezentat o formă benignă, dar 2 (11,1%) au dezvoltat boală metastatică. Diametrul median al tumorii a fost de 48 mm (20-140 mm). Cel mai frecvent eveniment raportat a fost cardiomiopatia TakoTsubo (n=5, 27.7%), urmat de infarctul miocardic (n=3, 16.6 %). Aceste evenimente au avut loc mai frecvent în intervalul de vârstă 40-65 de ani. La pacienții mai tineri (18-40 de ani), complicațiile obstetricale au fost adesea raportate. În ceea ce privește statusul genetic al acestor pacienți, 2 aveau o boală ereditară, asociate mutațiilor *RET* și *VHL*, 5 erau sporadici, iar 3 dintre ei au prezentat un VUS. Restul nu au fost testați genetic. Toți pacienții au supraviețuit după trecerea evenimentului acut. Un pacient cu sindrom coronarian acut și edem pulmonar, dar cu antecedente de alte comorbidități cardiace, a menținut o fracție de ejeție scăzută (40%) după acest eveniment. Femeia cu apoplexie fetoplacentară a avut un parcurs mai puțin fericit: deces fetal in-utero și a fost supusă histerectomiei la vârsta de 34 de ani.

Comparând pacienții cu evenimente amenințătoare de viață, cu cei fără astfel de evenimente, am constatat că nu există o diferență semnificativă în privința diametrului tumorii sau nivelurile de MN plasmatică între cele două grupuri. Cu toate acestea, pacienții cu complicații erau mai tineri ($44 \pm 15,6$ ani) decât cei fără complicații ($48 \pm 15,6$ ani) și aveau valori ale MN urinare semnificativ mai mari în comparație cu cei fără complicații (MN urinare: 4395 vs. 1035 $\mu\text{g}/24$ h, $p=0,002$).

Douăzeci (14,3%) dintre pacienți au fost descoperiți incidental. Dintre aceștia, cincisprezece (10,7%) erau asimptomatici la momentul diagnosticului (nu au acuzat simptome asociate excesului de catecolaminergic sau simptome locale în cazul PGL cervicale). Nouă pacienți au fost descoperiți în urma screeningului genetic (6,4%).

Vârsta medie la momentul diagnosticului în cazul pacienților asimptomatici a fost de $53,6 \pm 15,9$ ani. Dintre aceștia, 10 au fost femei și 4 bărbați. Patru dintre ei au prezentat PGL cervicale non-funcționale, iar 11 PHEO. Majoritatea pacienților cu PHEO au fost diagnosticați după investigații imagistice pentru simptome asociate unei patologii digestive.

Între pacienții asimptomatici și cei descoperiți pe baza simptomelor/incidental, am identificat o diferență semnificativă privind vârsta la momentul diagnosticului ($55,5 \pm 15,6$ versus $47 \pm 15,4$ ani; $p=0,047$), dar nu au existat diferențe semnificative în privința valorilor MN sau NMN sau diametrului tumorii.

III.3.4. PHEO bilaterale

Cincisprezece pacienți (10,7%) au prezentat PHEOs bilaterale, 9 (60%) sincrone și 6 (40%) metacrone. Vârsta medie de diagnostic pentru acești pacienți a fost de 32 (9-76) ani (3 au avut vârsta pediatrică la diagnostic). Majoritatea au fost femei (10; 66,7%). Durata mediană de follow-up a fost de 5 ani (1-41). Doi dintre cei 15 pacienți au prezentat boală metastatică la diagnostic, în timp ce un alt pacient a dezvoltat metastaze după 11 ani de urmărire. Diametrul maxim al tumorii la primul diagnostic a fost de 49 mm (15-70). Patternul de secreție noradrenergică a fost raportat la 7 pacienți, în timp ce secreție adrenergică a fost raportată la 6 pacienți, pe când la 2 pacienți nu am avut informații despre tipul de secreție. În ceea ce privește statusul genetic, 11 (73,3%) dintre aceștia au avut boală ereditară (9 sindrom MEN2A și 3 sindrom VHL). La pacienții cu MEN2A, cea mai frecventă mutație a fost în codonul 634 (*p.Cys634Arg*) (8 din 9 pacienți), în timp ce 1 pacient a avut mutația codonului 618 (*p.Cys618Arg*). Doi dintre pacienții cu mutații VHL făceau parte din aceeași familie (mamă și fiică), exprimând sindromul VHL 2A iar al treilea pacient, fără istoric familial de PPGLs, a prezentat sindromul VHL tip 2C. Șase pacienți au fost operați cu adrenalectomie parțială: 5 bilateral; 1 adrenalectomie parțială pe o parte și adrenalectomie totală pe cealaltă parte. Trei (50%) dintre ei au dezvoltat insuficiență suprarenală. Un pacient cu sindrom VHL și PHEOs bilaterale benigne a dezvoltat recurență la 7 ani (recurență bilaterală după adrenalectomie parțială) și la 24 de ani după prima operație (recurență unilaterală după adrenalectomie totală).

La 7 pacienți s-a efectuat adrenalectomie totală. Toți pacienții au dezvoltat insuficiență suprarenală. Recurența a fost detectată după 11 ani de la adrenalectomia unilaterală la 1 pacient cu sindrom MEN2A. Acesta avea o tumoră contralaterală calcifiată, inoperabilă. Acest pacient a dezvoltat boală metastatică.

IV. Studiul II-Comparație între cohorta Română versus cohorta Flamandă de pacienți cu PPGLs

IV.1. Ipoteza de lucru

Al doilea studiu intitulat “Comparații între cohorta românească și cea flamandă de pacienți cu PPGLs” a luat naștere în contextul pandemiei, când, fiind în primul an de doctorat, am aplicat și am obținut o bursă de mobilități (Bioscientifica Trust grant) la Spitalul Universitar Ghent, Belgia. Acolo, am avut oportunitatea să fac un studiu retrospectiv despre corelațiile genotip-fenotip într-o cohortă flamandă de pacienți cu PPGLs, în timpul unei șederi de 2 luni. Pornind de la mai multe studii care descriu așa numitul ”founder effect” care reprezintă expresia preponderenței unei anumite mutații într-o anumită zonă geografică și raportându-ne la faptul că România și Belgia sunt două țări din regiuni geografice diferite cu origini genetice diferite, am dezvoltat ipoteza că între cele 2 cohorte ar putea exista unele diferențe privind genotipul și fenotipul acestora.

Înainte de a analiza cohorta noastră, am avut rezultatele din cohorta flamandă, prin urmare, a fost ușor de observat că între cohorta flamandă și cea românească, există unele diferențe; diferențe care ulterior au fost confirmate statistic.

Scopul acestui studiu a fost să compare caracteristicile genotipice și fenotipice între două cohorte de pacienți cu PPGLs din două zone geografice și istorice diferite ale Europei. Acesta este un studiu de cohortă analitic, retrospectiv.

IV.2. Material și metodă

Pentru studiul numărul II, au fost culese retrospectiv datele din înregistrările electronice ale 67 de pacienți cu PPGL înregistrați consecutiv între 2002 și 2020, în Spitalului Universitar Ghent (Belgia). În funcție de localizarea anatomică, pacienții au fost împărțiți în două grupuri: PHEO vs. PGL; ulterior, fiecare grup a fost împărțit în funcție de statutul genetic în sporadic versus ereditar. Șapte pacienți din cei 67 nu au efectuat

testarea genetică, prin urmare, nu au fost incluși în niciunul dintre grupuri, dar au fost discutați separat.

Datele antropometrice, vârsta la diagnostic, sexul, fenotipul clinic (simptome, localizare, tumori multiple la diagnostic, comportament metastatic, fenotip biochimic, diametrul tumorii și imunohistochimia pentru SDHB) au fost comparate între cele două grupuri: ereditar versus sporadic PHEO/PGL.

Testarea genetică a fost efectuată în cadrul Centrului de Genetică Medicală, Spitalul Universitar Ghent, Belgia, folosind NGS „secvențiere prin sinteză” - KAPA HyperCap (Roche Sequencing) și secvențiere directă pentru pacienții cu caracteristici clinice sugestive pentru un sindrom asociat cu PPGLs. Panelul de gene a acoperit cele mai frecvente gene implicate în patogeneză PPGL: *RET*, *VHL*, *SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SDHAF2*, *NF1*, *MAX* și *TMEM 127*. Acest studiu a fost aprobat de Comitetul de Etică al Spitalului Universitar Ghent (BC-10125) și a fost realizat în conformitate cu Declarația de la Helsinki.

Prima fază a acestui studiu a fost de a analiza și de a descrie caracteristicile menționate mai sus ale cohorții flamande și de a observa analitic diferențele dintre grupurile sporadice/ereditare de PHEO versus PGL ale cohorții flamande. În a doua fază a acestui studiu am comparat caracteristicile genotipice și fenotipice între cele două cohorte.

IV.3. Rezultate

IV.3.1. Caracteristicile cohorții flamande și comparație între PHEO/PGL sporadice vs. ereditare

În studiu au fost incluși 67 de pacienți, 38 (56,7%) femei, 29 (43,3%) bărbați, majoritatea prezentând PHEO 42 (63%) și 25 (37%) PGL (6 au avut tumori multiple la diagnostic). Vârsta medie la diagnostic a fost de 50 ± 19 ani (13-85 ani). Din cei 60 de pacienți testați genetic, 24 (40%) au avut mutație germinală și au fost incluși în grupul ereditar, în timp ce 36 (60%) nu au prezentat nicio mutație în genele testate. Printre pacienții cu boală ereditară, variantele patogene, în ordinea frecvenței, au fost următoarele: SDHD (n = 10; 41,7%), SDHB (n = 8; 33,3%), VHL (n = 2; 8,3%), RET (n = 2; 8,3%), MAX (n = 1; 4,2%) și NF1 (n = 1; 4,2%). Cazurile de PHEO au fost mai frecvent sporadice decât ereditare, în timp ce PGL au fost în majoritatea cazurilor ereditare (27 vs.8), respectiv (9 vs.16). Pacienții cu PHEO s-au prezentat cu o vârstă mai mare la diagnostic decât cei cu PGL (55 vs. 40, p = 0,001). Șase pacienți au prezentat boală metastatică [4 (9,5%) PHEO și 2 (8%) PGL] fie sincronă (4) fie metacronă (2). În ceea ce privește modul de diagnostic, jumătate dintre pacienți au fost descoperiți ca urmare a simptomelor specifice PPGL [PHEO: 21

(50%); PGL: 13 (52%)], iar cealaltă jumătate au fost descoperiți întâmplător sau datorită screening-ului genetic [PHEO: 21 (50%); PGL: 12 (48%)]. Pacienții cu PGL au acuzat mai frecvent simptome locale decât cei cu PHEO [PHEO: 1 (2,3%) vs. PGL: 7 (28%); $p = 0,009$]. Evenimentele amenințătoare de viață au fost mai frecvent raportate la pacienții cu PHEO decât la cei cu PGL [PHEO: 14 (33,3%); PGL: 3 (12%); $p = 0,022$]. Am găsit o legătură directă între nivelurile de normetanefrine, diametrul tumorii și apariția unui eveniment amenințător de viață. Valorile normetanefrinelor urinare și diametrul tumorii au fost mai mari la pacienții cu evenimente care pun în pericol viața decât la cei fără aceste complicații (5885 vs. 3089 $\mu\text{g} / 24\text{h}$, $p = 0,001$) respectiv (51,4 vs. 28,6 mm, $p = 0,02$). Toate PHEOs și 2/3 din PGLs au fost funcționale.

Pacienții cu PHEO au fost tratați prin intervenție chirurgicală, cu excepția unui pacient care avea o transpoziție a vaselor mari; prin urmare, intervenția chirurgicală a fost imposibil de efectuat. Trei pacienți cu boală metastatică din grupul PHEO au urmat terapie cu metaiodobenzilguanidina (MIBG) iar 1 pacient a efectuat radioterapie locală după intervenția chirurgicală. Din grupul PGL, 5 pacienți cu HNPGL au fost tratați doar cu radioterapie, din cauza inaccesibilității chirurgicale.

PHEO sporadic versus ereditar

În acest grup, nu am găsit diferențe importante între PHEO sporadic și PHEO ereditar, cu excepția faptului că PHEO sporadice au fost mai frecvent localizate pe partea dreaptă, în timp ce PHEO ereditare au fost mai frecvent localizate pe partea stângă ($p = 0,001$). De asemenea, pacienții cu PHEO ereditar au avut o durată de urmărire mai lungă decât cei cu PHEO sporadic [3 (0,6-17) vs. 8,5 (2-26) ani; $p = 0,03$].

Recurența a apărut la 1 (3,7%) pacient cu boală sporadică după 13 ani de la diagnosticul inițial și la 3 (37,5%) pacienți cu PHEO ereditar după 4, 7, respectiv 12 ani de la diagnostic; 2 (6,25%). Trei pacienți din grupul sporadic au prezentat boală metastatică, în timp ce doar 1 pacient din grupul ereditar a prezentat PHEO sporadic.

PGL sporadic versus ereditar

Vârsta la diagnostic a fost mai mică la pacienții cu boală ereditară decât la cei cu PGL sporadic ($55 \pm 16,5$ vs. 32 ± 13 ; valoare $p = 0,001$). Lateralizarea dreaptă a fost de asemenea observată la grupul PGL sporadic în comparație cu grupul PGL ereditar, dar fără o diferență semnificativă ($p = 0,071$). Durata mediană de urmărire a fost egală [4 (1-12) vs. 4 (1-34) ani] între cele două grupuri.

Un pacient cu PGL sporadic a avut o recurență după 10 ani, în timp ce la 10 pacienți cu PGL ereditar am observat 1 pacient cu o nouă localizare a tumorii, 3 cu o nouă localizare plus recurență și 1 cu recurență după o perioadă mediană de 10 (2-18) ani de la diagnosticul inițial. Mai mult, boala activă a fost documentată la un pacient cu boală sporadică și la unul cu boala ereditară.

Dintre pacienții cu mutații în gena *SDHD*, majoritatea dintre ei (6/10) au prezentat HNPGL izolat, 2 HNPGL + PGL toracic și 1 cu HNPGL + 1 PGL abdominal, iar un pacient a dezvoltat PHEO. O mare parte din pacienții cu tumori asociate mutației *SDHB*, au prezentat PGL pelvine sau abdominale (6/8), 1 PHEO și 1 HNPGL. Celelalte mutații au fost asociate cu PHEO (2 *VHL*, 2 *RET*, 1 *MAX*, 1 *NFI*). Trei pacienți au prezentat PPGLs aparent ereditare PPGL (doi cu vârsta sub 45 de ani și unul cu 2 PGL sincrone la diagnostic), dar cu teste genetice negative.

IV.3.2. Comparație între cohorta Românească și cea Flamandă

Prima diferență majoră între cohorta românească și cea flamandă este numărul mare de pacienți din cohorta românească (140 vs. 67), raportat la raritatea acestor patologii. Pacienții flamanzi au prezentat un procent semnificativ mai mare de PGLs comparativ cu populația românească (37% vs. 7,2%, $p=0,001$). Nu s-a observat nicio diferență privind vârsta la diagnostic în cele două cohorte. În cohorta românească, procentul de femei, a fost mai mare, dar fără o diferență semnificativă între cohorte.

Pacienții din cohorta românească au prezentat mai frecvent PHEO bilaterale, comparativ cu cohorta flamandă (19% vs. 17%; $p=0,002$). Majoritatea PHEO bilaterale au fost cauzate de o mutație germlinală (73,3%) în cohorta românească (*RET* și *VHL*) și 100% în cohorta flamandă (*VHL* și *MAX*). PGLs multiple au fost raportate în cohorta flamandă în proporție de 24% în timp ce în cohorta românească, niciunul dintre pacienții cu PGLs nu a prezentat tumori multiple la diagnostic. Interesant, în cohorta flamandă, un număr mai mare de pacienți au fost diagnosticați incidental comparativ cu cohorta românească.

Pacienții din cohorta flamandă au avut un acces mai facil la testarea genetică, prin urmare, un procent mai mare de cazuri ereditare au fost identificate în cohorta flamandă comparativ cu cohorta românească (40 vs. 36%).

Din grupul pacienților cu PPGL ereditare, pacienții români au prezentat cel mai frecvent mutația *RET* (68,7%), în timp ce în cohorta flamandă, mutația cea mai prevalentă a fost *SDHD* (41,7%). Mai specific, pacienții români au prezentat mai frecvent varianta *RET p.Cys634Trp*, în timp ce flamanzii au prezentat *SDHD c.170-1 G>T*. Pacienții cu mutația *RET* din cohorta românească, s-au prezentat în 100% din cazuri cu PHEOs, în timp ce în cohorta flamandă, 90% dintre purtătorii de *SDHD* au dezvoltat HNPGL și 10% PHEO

V. Studiul III-PPGLs metastatice - particularități fenotipice și genotipice-studiu descriptiv

V.1. Introducere

Începând cu 2018, clasificarea OMS a feocromocitoamelor și paragangliomelor s-a facut recomandarea de a ne referi la PPGLs ca fiind metastatice mai degrabă decât maligne și non-metastatice, mai degrabă decât benigne. [15]PHEO/PGL metastatice sunt acele tumori cu leziuni secundare în țesuturi non-cromafine. Locurile frecvente de metastazare sunt osul, ganglionii limfatici, ficatul sau plămâni. Aproximativ 10% din PHEOs și ~40% din paragangliomele simpatice au comportament metastatic.[16], [17] Majoritatea HNPGLs sunt benigne.

Din cazurile metastatice, mai mult de 40% din cazuri sunt cauzate de o mutație germinală (chiar și în contextul unui istoric familial negativ). Metastazele sincrone sunt raportate în 35-50% din cazuri, în timp ce metastazele metacrone se pot dezvolta în luni sau decenii.[18] Rata mediană de supraviețuire a pacienților cu PPGL metastatic este de ~ 6 ani, dar rata de progresie este variabilă. Unele metastaze pot apărea chiar și la 50 de ani de la primul diagnostic. Factorii de risc pentru PPGLs metastatice includ aspecte clinice, patologice și genetice. Factorii clinici care cresc riscul de metastază sunt dimensiunea tumorii și PGL simpatice toraco-abdominale. Ultimul sistem de clasificare al tumorilor este detaliat în Manualul de Stadializare a Cancerului din 2017[19]

-Tumorile T1 < 5cm în dimensiune maximă

-Tumorile T2 ≥ 5 cm sau PGLs simpatice de orice dimensiune

-Tumorile T3 - orice dimensiune cu invazie locală

Feocromocitoamele mai mici de 4 cm, sunt rareori metastatice, în timp ce PGLs pot exprima comportament metastatic deoarece au dimensiuni mici.[20] Alți factori asociați cu progresia rapidă (deces în termen de 5 ani de la prezentarea inițială) au fost descriși de Hamid et al într-un studiu retrospectiv cu o cohortă mare de pacienți cu PPGLs metastatice. [21]Aceștia au constatat că cei mai puternici predictorii pentru o progresie rapidă sunt: vârsta mai mare la diagnostic ($P = 0.0011$), sexul masculin ($P = 0.014$), metastaze sincrone ($P < 0.001$), dimensiunea tumorii primare mai mare > 6 cm ($P = 0.003$), niveluri ridicate de dopamină ($P = 0.019$). [22]Într-un alt studiu retrospectiv, s-a arătat că locul de răspândire metastatică este un predictor pentru rata de progresie: pacienții cu metastaze scheletale au avut o rată de supraviețuire mai mare (supraviețuire mediană 12 ani), comparativ cu pacienții cu metastaze în alte țesuturi decât osul (supraviețuire mediană 7,5 ani).[18], [23]

V.2. Material și metodă

Aceasta este un studiu retrospectiv și prospectiv. Din datele electronice ale pacienților diagnosticați cu PPGL între 1986 și 2024, în Institutul Național de Endocrinologie "CI Parhon", am recrutat pacienții cu PPGL metastatice, pe baza confirmării imagistice funcționale a leziunilor secundare în țesuturile non-cromafine. Datele clinice, biochimice, imagistice, histopatologice și genetice au fost extrase de la acești pacienți. Aceleași date au fost înregistrate și pentru pacienții nou diagnosticați.

Pacienții au fost testați pentru mutații germinale folosind tehnica bazată pe secvențierea NGS. Majoritatea probelor de ADN din celulele sanguine periferice au fost stocate în biobanca noastră înainte de începerea studiului. La unii pacienți, ADN-ul a fost extras după semnarea consimțământului informat. Restul pacienților fie au fost pierduți în urmărire, fie au fost diagnosticați înainte de era testării genetice.

Criterii de includere: pacienții cu confirmarea imagistică/histologică a metastazelor sincrone sau metacronice ale PHEO/PGL.

V.3. Rezultate

Unsprezece pacienți (7,9%) s-au prezentat cu PPGLs metastatice, 8 femei (72,7%) și 3 bărbați (27,3%), majoritatea dintre ei s-au prezentat cu PHEOs 9/11 (81,8%) și doi pacienți (18,1%) cu PGLs (1 retroperitoneal și 1 mediastinal). Majoritatea PHEOs au fost pe partea dreaptă, iar un pacient s-a prezentat cu PHEO bilateral sincron. Vârsta medie la diagnostic a fost de 52 de ani (interval 31-62). Vârsta la diagnostic nu a fost diferită față de cazurile non-

metastatice. Durata mediană de urmărire a fost de 8,5 ani (interval 8-21). Pacienții cu boală metastatică s-au prezentat cu dimensiuni ale tumorii mai mari la diagnostic în comparație cu pacienții non-metastatici (50 ± 20 vs. 74 ± 35 , $p=0,003$). Șapte dintre ei s-au prezentat cu un pattern de secreție noradrenergică, în timp ce 4 dintre aceștia au avut secreție mixtă (adrenergică și noradrenergică). Șapte pacienți au fost testați pentru mutații germinale. Printre aceștia, 1 a avut mutație în gena *RET* (sindrom MEN2A) și altul a avut un VUS al genei *BRIP 1*. Patru (36.3%) pacienți s-au prezentat cu metastaze sincrone, în timp ce 7 (63%) au avut metastaze metacrone. Metastazele au apărut până la 10 ani de la primul diagnostic. Majoritatea dintre ele au fost localizate la nivelul plămânilor, ficatului și ganglionilor limfatici abdominali. Unii dintre pacienți au dezvoltat metastaze în locuri neobișnuite, cum ar fi: ochi sau vezica urinară. Patru pacienți au urmat terapie radionuclidică (3 MIBG și 1 MIBG + PPRT- Peptide Radionuclide Receptors Radiotherapy). Rezultatul lor a fost următorul:

-1 a avut un răspuns bun pe secreția de catecolamine, simptomatologie și leziuni staționare la 6 ani de urmărire;

-1 a fost complet non-responsiv la terapia MIBG;

-1 a avut un control parțial: controlul simptomatologiei și leziuni staționare, dar niveluri ridicate de metanefrine (MN);

-1 a fost non-responsiv la MIBG, dar parțial responsiv la PPRT (controlul simptomatologiei, dar valori ridicate de MN și leziuni progressive;

La pacientul cu PPRT, leziunile au fost stabile la 2 ani după PPRT, dar valorile de metanefrinelor au continuat să crească. Recurența a apărut la șase pacienți (54,5%), înainte de apariția bolii metastatice.

VI. Discuții și concluzii

Studiul I

Acest proiect este primul raport despre genotipurile pacienților cu PPGLs din România. În plus, primul studiu al acestei lucrări descrie în amănunt corelațiile genotip-fenotip la pacienții cu PPGLs din România.

Raportul PHEOs/PGL a fost mai mare în cohorta noastră comparativ cu datele deja existente în literatură. [14], [24] Femeile au dezvoltat PPGLs mai frecvent decât bărbații.

Deși testarea genetică s-a realizat la doar 62% dintre pacienții cohorței noastre, procentul pacienților cu mutații germinale a fost similar cu procentajul cunoscut din literatură. [25], [26] Așa cum era de așteptat, pacienții cu PPGLs ereditare au dezvoltat boala la o vârstă mai tânără în comparație cu cei din grupul sporadic sau VUS.

În cadrul pacienților cu PPGLs ereditare, am identificat o predominanță a mutației *RET* (codonul 634 urmat de codonul 618) asociată cu MEN2A. În schimb, am găsit o proporție mai mică de PPGLs asociate complexului de gene *SDHx* în comparație cu alte studii. [27], [28], [29] În toate studiile, PHEOs din cadrul sindromului MEN2A au o penetranță mai mare la pacienții cu mutație la codonul 634; de obicei, expresia PHEO este de 50% pentru purtătorii de mutație în codonul 634 și de 33% pentru codonul 618. [30]

Predominanța acestui codon în rândul pacienților cu MEN2A a fost descrisă și într-o cohortă din Brazilia și într-o altă cohortă restrânsă de pacienți din Slovacia și Spania. [31], [32], [33] Un alt studiu amplu, care a inclus 812 pacienți cu PHEO în cadrul sindromului MEN2A din 4 regiuni diferite ale globului (America de Sud, Europa de Sud, Europa de Vest și Europa Centrală), a arătat, de asemenea, că în toate cele 4 regiuni geografice, mutația cea mai frecvent raportată a fost cea în codonul 634, urmată de cea în codonul 618. [34] În plus, cisteina codonului 634 este un "hot spot" pentru sindromul MEN2A, *p.Cys634Arg* fiind cea mai reprezentativă variantă patogenă a codonului 634. [30]

Pe de altă parte, în grupul nostru de pacienți cu mutații în gena *RET*, varianta *p.Cys634Trp* a fost cel mai frecvent raportată. Predominanța acestei variante (*p.Cys634Trp*) în cohorta noastră ar putea fi considerată un "founder effect", deoarece această variantă este specifică țării noastre și nu mai fost raportată în nicio altă țară din Europa.

Alte studii, cu populații de origine Latină, care au raportat contextul genetic al PHEOs asociate sindromului MEN2A au constatat că varianta cea mai frecventă în cadrul MEN2A a fost *p.Cys634Gly* (într-o cohortă mare din Brazilia); respectiv *p.Cys634Tyr* într-o cohortă din Spania. În cohorta din Spania, *p.Cys634Trp* a fost asociată cu o penetranță mai mică a PHEO. Pe de altă parte, în restul bazinului Mediteranean, în Italia, Grecia, Slovenia, Israel, Cipru și Maroc cea mai frecventă variantă patogenă a genei RET a fost *p.Cys634Arg*. [35]

De asemenea, am identificat mutații care nu au fost descrise anterior la pacienții cu PPGLs, cum ar fi *CASR* sau *FANCA*. Printre pacienții cu VUS din cohortă există unele aspecte clinice sugestive pentru o formă ereditară a bolii, deci cu posibilitatea ca varianta să fie patogenă. Pentru această categorie de pacienți, ar trebui urmărite raportări ulterioare, chiar și teste funcționale ale genelor, pentru a categorisi aceste variante ca fiind patogene.

În grupul sporadic, au existat pacienți cu trăsături de boală ereditară. În cazurile lor, ar putea fi implicate alte gene care nu au fost incluse în panelul de gene.

Pacienții cu PPGLs funcționale pot dezvolta complicații care pun în pericol viața pacienților chiar și în cazul PHEO/PGL descoperite incidental. Printre evenimentele amenințătoare de viață descrise în cohorta noastră, cel mai frecvent raportată a fost cardiomiopatia Tako-Tsubo, urmată de infarctul miocardic. Pacienții cu evenimente amenințătoare de viață au prezentat valori mai mari de MN urinare comparativ cu pacienții fără aceste complicații. Pacienții cu evenimente amenințătoare de viață sunt diagnosticați la o vârstă mai tânără comparativ cu pacienții asimptomatici.

PHEOs bilaterale sunt cel mai frecvent asociate cu mutația *RET* (9/15) varianta *p.Cys634Arg* sau *VHL* (3/15). În această situație, înainte de operație, balanța de risc între insuficiența suprarenală și recurență ar trebui evaluat cu atenție de o echipă multidisciplinară.

În concluzie, PPGLs au un determinism genetic ridicat, iar corelațiile genotip-fenotip sunt într-o continuă dinamică. Deși diagnosticul genetic este realizat la aproximativ 75-80% dintre acești pacienți, etiologia genetică rămâne neexplicată într-un procent semnificativ de cazuri.

Studiul II

Putem concluziona că în România, pacienții au un raport PHEO/PGL mai mare comparativ cu pacienții flamanzi.

În ambele cohorte, procentul de cazuri ereditare a fost similar cu cel descris în literatură.[14] Pacienții români au prezentat mai frecvent mutația *RET p.Cys634Trp*, în timp ce pacienții flamanzi au prezentat varianta patogenă *SDHD c.170-1 G>T*. Contextul genetic al cohortei flamande este o situație așteptată, întrucât multe studii raportează o predominanță a HNPGL asociate mutației *SDHD*, urmate de mutațiile *SDHB* în Țările de Jos.[28], [36] Acestea stipulează prezența unui efect fondator al *SDHD, c.274G>T; p.Asp92Tyr*. [28]Cu toate acestea, în cohorta Flamandă varianta de mutație *SDHD* cel mai frecvent întâlnită a fost *SDHD c.170-1 G>T*, un fapt care poate fi, de asemenea, considerat un efect fondator pentru populația flamandă. După o căutare în literatură, nu am găsit studii despre profilul mutațional al pacienților cu PPGL din Europa de Est. Doar un mic raport slovac a arătat o predominanță a mutației *RET* în cohorta lor. Cu toate acestea, acest rezultat ar putea fi influențat de faptul că în centrul nostru, secvențierea direct a genei *RET* este singurul test genetic care poate fi efectuat. Mai mult, fiind un centru de referință în endocrinologie din România, majoritatea pacienților diagnosticați cu noduli tiroidieni suspecti pentru carcinoma medular tiroidian (CMT), sunt redirecționați către centrul nostrum.

Pe baza acestui fond genetic, pacienții români dezvoltă mai frecvent PHEO bilaterale, în timp ce pacienții flamanzi dezvoltă mai frecvent PGL multiple. În cadrul grupului de PGL, HNPGL a avut proporții similare în ambele cohorte.

Pacienții din Belgia sunt diagnosticați incidental mai frecvent decât românii, sugerând o adresabilitate mai mare a acestora la serviciile medicale. PGL sunt cauzate mai frecvent de o mutație germinală decât PHEO, prin urmare, PGL sunt descoperite la o vârstă mai tânără.

Pacienții din grupul PHEO au prezentat mai des complicații cardiovasculare, datorită ratei de 100% a funcționalității, comparativ cu PGL.

Mutațiile somatice pot duce la forme agresive ale bolii, prin urmare, pacienții cu PPGL aparent sporadic, dar cu un comportament agresiv, ar trebui testați pentru mutații somatice. În plus, laboratoarele de diagnostic genetic ar trebui să creeze un panou de gene personalizat în care să poată include gene noi descoperite, cum ar fi *FH, SLC25A11, GOT2* și altele, cel puțin până când secvențierea exomului/genomului este disponibilă în mod uzual.

Această variabilitate clinică și genetică dependentă de zona geografică ar putea duce la concluzia că PPGL au un determinism geografic și mai ales istoric în manifestarea genetică.

Studiul III

Acest studiu a subliniat comportamentul heterogen al pacienților cu PPGL metastatic. Procentul de pacienți cu PPGL metastatic este același ca și din literatură.[17] În ciuda faptului că în literatură PGL sunt adesea asociate cu boala metastatică, în cohorta noastră, majoritatea pacienților aveau PHEO. Am observat o predominanță a femeilor diagnosticate cu PPGL metastatic. Vârsta medie la diagnosticul PPGL metastatic, nu diferă față de vârsta medie a pacienților cu PPGL non-metastatic. Pacienții cu PPGL metastatic au dimensiuni mai mari ale tumorii primare în comparație cu cazurile non-metastatic. Metastazele pot apărea chiar și la 10 ani de la primul diagnostic, prin urmare, se recomandă o monitorizare atentă pentru pacienții cu risc de a dezvolta un PPGL metastatic: vârstă mai înaintată la diagnostic, sex masculin, metastaze sincrone, valori crescute de dopamină, dimensiuni tumorale mai mari de 6 cm și/sau scor PASS >4. [23]

Cele mai comune locuri de metastaze sunt ficatul, plămânii și oasele, dar ele pot apărea și în locuri neobișnuite, cum ar fi ochii sau vezica urinară. În cohorta noastră, majoritatea PPGL metastatic nu au fost cazuri ereditare. De asemenea, am observat că mutațiile RET pot fi asociate cu forme agresive de PPGL, un aspect neașteptat.

VII. Contribuții personale și direcții viitoare de cercetare

Această lucrare este primul studiu care cuprinde un număr mare de pacienți și care descrie în amănunt genotipul pacienților cu feocromocitom și paragangliom din România și din Europa de Est. Prin această lucrare, am obținut o imagine obiectivă asupra corelațiilor genotip-fenotip la pacienții cu PPGL din România.

Unul din rezultatele importante ale acestui studiu este identificarea unui "founder effect" specific țării noastre, care nu a fost observat în alte țări europene.

Prin comparația realizată între cohorta Românească și cea Flamandă, am evidențiat variabilitatea genetică și implicit clinică a pacienților cu PPGL din două regiuni geografice și istorice diferite.

Următoarele aspecte reprezintă concretizarea practică a acestei lucrări:

- A. Monitorizarea periodică cu evaluări clinice, biochimice și imagistice conform ghidurilor internaționale a pacienților cu antecedente personale de PPGL.
- B. Creșterea conștientizării importanței screeningului genetic pentru detectarea timpurie (încă din copilărie) a genelor mutante la rudele de gradul întâi ale pacienților purtători de mutații germinale asociate PPGLs.
- C. Înregistrarea pacienților români cu PPGL în baza de date a ENSAT (European Network for the Study of Adrenal Tumors), aspect care ne-a permis să participăm la diverse proiecte de cercetare și grupuri de lucru în cadrul rețelei ENSAT.
- D. Implementarea testului NGS (Next-Generation Sequencing) pentru toți pacienții diagnosticați cu PPGL în România. În prezent, testul NGS este disponibil la Institutul Național de Endocrinologie 'CI Parhon', dar doar pentru cazurile selectate.

Direcții viitoare: Următorul pas al acestui proiect este să efectuăm screeningul genetic la toate rudele de gradul întâi ai pacienților cu PPGL și mutație germinala confirmată.

Pentru purtătorii de mutații, vom continua monitorizarea clinică, biochimică și imagistică diagnosticul mai precoce al bolii și prevenirea evoluției bolii către un stadiu avansat. Consilierea genetică joacă un rol crucial în această fază; managementul PPGLs urilor necesitând o abordare translatională.

O atenție specială în viitor va fi acordată pacienților cu NF1 diagnosticați în maim multe centre din București dar și din alte centre din țară. Ne dorim sa abordăm în mod practice aspectele clinice ale acestui sindrom și să realizăm screeningul pentru PHEO la acești pacienți.

O altă direcție de cercetare este să investigăm aspectele clinice și imunohistochimice ale PPGL metastatice pentru a dezvolta un scor mai bun de predictibilitate a potențialului metastatic și pentru a explora mai amănunțit opțiunile terapeutice pentru acești pacienți.

Presupunând că această lucrare și-a atins obiectivele și a adus o nouă perspectivă asupra importanței testării genetic la pacienții cu PPGL din România, sperăm că această lucrare va fi o piatră de temelie pentru utilizarea ulterioară a NGS ca practică curentă pentru pacienții cu boli rare, cum ar fi PPGL.

Bibliografie

- [1] “Pheochromocytoma and Paraganglioma: From Epidemiology to Clinical Findings,” 2020, doi: 10.14744/SEMB.2020.18794.
- [2] A. Cascón *et al.*, “Genetic bases of pheochromocytoma and paraganglioma,” *J Mol Endocrinol*, vol. 70, no. 3, Apr. 2023, doi: 10.1530/JME-22-0167.
- [3] A. Cascón *et al.*, “Genetics of Pheochromocytoma and Paraganglioma in Spanish Patients,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 94, no. 5, pp. 1701–1705, May 2009, doi: 10.1210/JC.2008-2756.
- [4] S. Nölting *et al.*, “Current Management of Pheochromocytoma/Paraganglioma: A Guide for the Practicing Clinician in the Era of Precision Medicine,” *Cancers 2019, Vol. 11, Page 1505*, vol. 11, no. 10, p. 1505, Oct. 2019, doi: 10.3390/CANCERS11101505.
- [5] S. Nölting *et al.*, “Personalized Management of Pheochromocytoma and Paraganglioma,” *Endocrine Reviews*, vol. 43, no. 2. Endocrine Society, pp. 199–239, Apr. 01, 2022. doi: 10.1210/edrev/bnab019.
- [6] K. Antonio, M. M. N. Valdez, L. Mercado-Asis, D. Taïeb, and K. Pacak, “Pheochromocytoma/paraganglioma: recent updates in genetics, biochemistry, immunohistochemistry, metabolomics, imaging and therapeutic options,” *Gland Surg*, vol. 9, no. 1, pp. 10523–10123, Feb. 2020, doi: 10.21037/GS.2019.10.25.
- [7] L. Fishbein and K. L. Nathanson, “Pheochromocytoma and paraganglioma: understanding the complexities of the genetic background,” *Cancer Genet*, vol. 205, no. 1–2, pp. 1–11, Jan. 2012, doi: 10.1016/J.CANCERGEN.2012.01.009.
- [8] S. M. L. Burciulescu, M. L. Gheorghiu, S. M. L. Burciulescu, and M. L. Gheorghiu, “Advances in the Diagnosis and Treatment of Pheochromocytomas and Paragangliomas in the Era of Personalized Genetic Diagnostic,” *Adrenal Glands - The Current Stage and New Perspectives of Diseases and Treatment*, Oct. 2022, doi: 10.5772/INTECHOPEN.108298.
- [9] A. Ebbelohj *et al.*, “Incidence and Clinical Presentation of Pheochromocytoma and Sympathetic Paraganglioma: A Population-based Study,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 106, no. 5, pp. E2251–E2261, May 2021, doi: 10.1210/CLINEM/DGAA965.
- [10] X. Ma *et al.*, “Genetic and Clinical Profiles of Pheochromocytoma and Paraganglioma: A Single Center Study,” *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 11, p. 574662, Dec. 2020, doi: 10.3389/FENDO.2020.574662/BIBTEX.
- [11] J. W. M. Lenders *et al.*, “Pheochromocytoma and Paraganglioma: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 99, no. 6, pp. 1915–1942, Jun. 2014, doi: 10.1210/JC.2014-1498.
- [12] R. A. Toledo *et al.*, “Consensus Statement on next-generation-sequencing-based diagnostic testing of hereditary pheochromocytomas and paragangliomas,” *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 13, no. 4. Nature Publishing Group, pp. 233–247, Apr. 01, 2017. doi: 10.1038/nrendo.2016.185.
- [13] D. N. Lázaro-Silva, J. C. P. De Mattos, H. C. Castro, G. G. Alves, and L. M. F. Amorim, “The Use of DNA Extraction for Molecular Biology and Biotechnology Training: A Practical and Alternative Approach,” *Molecular Biology and Biotechnology Training: A*

- Practical and Alternative Approach. Creative Educa-tion*, vol. 6, pp. 762–772, 2015, doi: 10.4236/ce.2015.68079.
- [14] G. Gupta and K. Pacak, “PRECISION MEDICINE: AN UPDATE ON GENOTYPE/BIOCHEMICAL PHENOTYPE RELATIONSHIPS IN PHEOCHROMOCYTOMA/PARAGANGLIOMA PATIENTS,” *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*, vol. 23, no. 6. pp. 690–704, Jun. 01, 2017. doi: 10.4158/EP161718.RA.
- [15] O. Mete, S. L. Asa, A. J. Gill, N. Kimura, R. R. de Krijger, and A. Tischler, “Overview of the 2022 WHO Classification of Paragangliomas and Pheochromocytomas,” *Endocrine Pathology 2022 33:1*, vol. 33, no. 1, pp. 90–114, Mar. 2022, doi: 10.1007/S12022-022-09704-6.
- [16] M. Ayala-Ramirez *et al.*, “Bone metastases and skeletal-related events in patients with malignant pheochromocytoma and sympathetic paraganglioma,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 98, no. 4, pp. 1492–1497, Apr. 2013, doi: 10.1210/JC.2012-4231.
- [17] Y. Yamazaki *et al.*, “Recent Advances in Histopathological and Molecular Diagnosis in Pheochromocytoma and Paraganglioma: Challenges for Predicting Metastasis in Individual Patients,” *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 11, Oct. 2020, doi: 10.3389/FENDO.2020.587769.
- [18] Y. Yamazaki *et al.*, “Recent Advances in Histopathological and Molecular Diagnosis in Pheochromocytoma and Paraganglioma: Challenges for Predicting Metastasis in Individual Patients,” 2017, doi: 10.3389/fendo.2020.587769.
- [19] A. K. Yin Lam, “Update on Adrenal Tumours in 2017 World Health Organization (WHO) of Endocrine Tumours,” *Endocrine Pathology*, vol. 28, no. 3. Humana Press Inc., pp. 213–227, Sep. 01, 2017. doi: 10.1007/s12022-017-9484-5.
- [20] N. Prinzi *et al.*, “Metastatic pheochromocytomas and paragangliomas: where are we?,” <https://doi.org/10.1177/03008916221078621>, vol. 108, no. 6, pp. 526–540, May 2022, doi: 10.1177/03008916221078621.
- [21] P. L. M. Dahia, R. Clifton-Bligh, A. P. Gimenez-Roqueplo, M. Robledo, and C. Jimenez, “Metastatic Pheochromocytomas and Paragangliomas- Proceedings of the MEN2019 Symposium,” *Endocr Relat Cancer*, vol. 27, no. 8, p. T41, Aug. 2020, doi: 10.1530/ERC-19-0435.
- [22] O. Hamidi *et al.*, “Malignant Pheochromocytoma and Paraganglioma: 272 Patients Over 55 Years,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 102, no. 9, pp. 3296–3305, Sep. 2017, doi: 10.1210/JC.2017-00992.
- [23] D. Granberg, C. C. Juhlin, and H. Falhammar, “Metastatic Pheochromocytomas and Abdominal Paragangliomas,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 106, no. 5, pp. e1937–e1952, Apr. 2021, doi: 10.1210/CLINEM/DGAA982.
- [24] S. Lider and M. Gheorghiu, “Pheochromocytoma-paraganglioma: Translational approach from genetics to clinical neuroendocrinology,” *Acta Endocrinol (Copenh)*, vol. 14, no. 4, pp. 570–572, 2018, doi: 10.4183/AEB.2018.570.
- [25] J. Crona, A. Lamarca, S. Ghosal, S. Welin, B. Skogseid, and K. Pacak, “Genotype-phenotype correlations in pheochromocytoma and paraganglioma: A systematic review and

- individual patient meta-analysis,” *Endocr Relat Cancer*, vol. 26, no. 5, pp. 539–550, 2019, doi: 10.1530/ERC-19-0024.
- [26] B. Calsina *et al.*, “Genomic and immune landscape Of metastatic pheochromocytoma and paraganglioma,” *Nature Communications* 2023 14:1, vol. 14, no. 1, pp. 1–20, Feb. 2023, doi: 10.1038/s41467-023-36769-6.
- [27] A. M. Main, M. Rossing, L. Borgwardt, B. G. Toft, Å. K. Rasmussen, and U. Feldt-Rasmussen, “Genotype–phenotype associations in PPGLs in 59 patients with variants in SDHX genes,” *Endocr Connect*, vol. 9, no. 8, pp. 793–803, Aug. 2020, doi: 10.1530/EC-20-0279.
- [28] E. F. Hensen *et al.*, “Mutations in SDHD are the major determinants of the clinical characteristics of Dutch head and neck paraganglioma patients,” *Clin Endocrinol (Oxf)*, vol. 75, no. 5, pp. 650–655, Nov. 2011, doi: 10.1111/J.1365-2265.2011.04097.X.
- [29] R. G. Martins *et al.*, “A founder SDHB mutation in Portuguese paraganglioma patients,” *Endocr Relat Cancer*, vol. 20, no. 6, pp. L23–L26, Dec. 2013, doi: 10.1530/ERC-12-0399.
- [30] M. K. Pun, H. Graf, J. L. Gross, and A. Luiza Maia, “RET Codon 634 Mutations in Multiple Endocrine Neoplasia Type 2: Variable Clinical Features and Clinical Outcome,” 2003, doi: 10.1210/jc.2002-021422.
- [31] J. V Lima *et al.*, “Germline genetic variants in pheochromocytoma/paraganglioma: single-center experience,” *Endocrine oncology (Bristol, England)*, vol. 3, no. 1, May 2023, doi: 10.1530/EO-22-0091.
- [32] M. Felsoci, I. Lazurova, H. Wagnerova, and M. Svajdler, “Analysis of pheochromocytomas / paragangliomas from Eastern Slovakia,” *452 Neoplasma*, vol. 60, 2013, doi: 10.4149/neo_2013_059.
- [33] F. Castinetti *et al.*, “Outcomes of adrenal-sparing surgery or total adrenalectomy in phaeochromocytoma associated with multiple endocrine neoplasia type 2: an international retrospective population-based study,” *Lancet Oncol*, vol. 15, no. 6, pp. 648–655, 2014, doi: 10.1016/S1470-2045(14)70154-8.
- [34] F. Castinetti *et al.*, “The penetrance of MEN2 pheochromocytoma is not only determined by RET mutations,” *Endocr Relat Cancer*, vol. 24, no. 8, pp. L63–L67, Aug. 2017, doi: 10.1530/ERC-17-0189.
- [35] V. Neocleous, P. Fanis, S. Frangos, N. Skordis, and L. A. Phylactou, “RET Proto-Oncogene Variants in Patients with Medullary Thyroid Carcinoma from the Mediterranean Basin: A Brief Report,” *Life* 2023, Vol. 13, Page 1332, vol. 13, no. 6, p. 1332, Jun. 2023, doi: 10.3390/LIFE13061332.
- [36] J. P. Bayley *et al.*, “The first Dutch SDHB founder deletion in paraganglioma - Pheochromocytoma patients,” *BMC Med Genet*, vol. 10, Apr. 2009, doi: 10.1186/1471-2350-10-34.

Lista publicațiilor

Articole:

1. **Lider Burciulescu, S. M.**, Gheorghiu, M. L., Muresan, A., Gherlan, I., Patocs, A., & Badiu, C. (2024). Bilateral pheochromocytomas: clinical presentation and morbidity rate related to surgery technique and genetic status. *Endocrine Connections*, 13(4), 2024, e230466. Retrieved Mar 15, 2024, from <https://doi.org/10.1530/EC-23-0466>.
2. **Lider Burciulescu, S. M.**, Randon, C., Duprez, F., Huvenne, W., Creytens, D., Claes, K. B. M., de Putter, R., T'Sjoen, G., Badiu, C., & Lapauw, B. Clinical presentation of sporadic and hereditary pheochromocytoma/paraganglioma. *Endocrine Oncology*, 2023, 3(1), e220040. Retrieved Mar 15, 2024 <https://doi.org/10.1530/EO-22-0040>.
3. **Lider Burciulescu S.M.** Gheorghiu M, Milos I, Badiu C, Malignant Paraganglioma Non-Responsive to MIBG in MEN2A Syndrome *Acta Endo (Buc)*, 2022, 18:536-537
[doi: 10.4183/aeb.2022.536](https://doi.org/10.4183/aeb.2022.536).
4. **Lider Burciulescu S. M.**, Gheorghiu M, Pheochromocytoma-Paraganglioma: Translational Approach from Genetics to Clinical Neuroendocrinology *Acta Endo (Buc)*, 2018, 14:570-572
[doi: 10.4183/aeb.2018.570](https://doi.org/10.4183/aeb.2018.570).
5. Mellid S, Gil E, Letón R, Caleiras E, Honrado E, Richter S, Palacios N, Lahera M, Galofré JC, López-Fernández A, Calatayud M, Herrera-Martínez AD, Galvez MA, Matias-Guiu X, Balbín M, Korpershoek E, Lim ES, Maletta F, **Lider S**, Fliedner SMJ, Bechmann N, Eisenhofer G, Canu L, Rapizzi E, Bancos I, Robledo M, Cascón A. Co-occurrence of mutations in NF1 and other susceptibility genes in pheochromocytoma and paraganglioma. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023 Jan 25;13:1070074. [doi: 10.3389/fendo.2022.1070074](https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1070074).
6. **Lider Sofia** and Corin Badiu. "The role of ambulatory blood pressure monitoring in the diagnosis of pheochromocytoma." *Journal of Hypertension Research*, vol. 7, no. 4, Oct.-Dec. 2020, 131 *Gale Academic OneFile*, link [gale.com/apps/doc/A691005224/AONE?u=anon~92bc6f4a&sid=googleScholar&xid=618cb17b](https://www.gale.com/apps/doc/A691005224/AONE?u=anon~92bc6f4a&sid=googleScholar&xid=618cb17b). Accessed 7 May 2024.

Capitole de carte:

1. **Sofia-Maria Lider Burciulescu**, Monica-Livia Gheorghiu, Corin Badiu ‘Evaluarea tumorilor secretante de catecolamine din perspectivă translațională’, *Antropologia mileniului III* Autori: Andrei Kozma, Cristina Glavce, Constantin Balaceanu Stolnici, Editura Academiei Romane, Bucuresti 2019, 210-226.
2. **Lider Burciulescu S.M. & Gheorghiu, M. L.** (2022). Advances in the Diagnosis and Treatment of Pheochromocytomas and Paragangliomas in the Era of Personalized Genetic Diagnostic. In (Ed.), *Adrenal Glands - The Current Stage and New Perspectives of Diseases and Treatment*, IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.108298>

Prezentări orale:

1. **Sofia-Maria Lider-Burciulescu**, Monica Livia Gheorghiu , Andrei Muresan , Stanescu Laura-Semonia , Anda Dumitrascu, Corin Badiu Factors that influence pheochromocytoma penetrance in MEN2A Syndrome, *Endocrine Abstracts* (2024), European Congress of Endocrinology **99** RC3.7 | DOI: 10.1530/endoabs.99.RC3.7
2. **Sofia Lider**, Andrei Muresan, Attila Patocs, Corin Badiu, Differences in clinical presentation of PPGLs according to diagnosis age and genetic status, Al 7-lea Congres National de Psihoneuroendocrinologie, 2023, Timisoara, Romania
3. **Sofia Lider**, Monica Gheorghiu, Corin Badiu, Difficulties in the management of oligosymptomatic pheochromocytomas and their complications, Forumul tinerilor endocrinologi 2022, Bucuresti, Romania
4. **Sofia Maria Lider Burciulescu**, Monica Livia Gheorghiu, Tratatamentul personalizat al acromegaliei – opțiuni și perspective, Ziua Acromegaliei, 2022, Bucuresti, Romania.
5. **Sofia Lider**, Monica Gheorghiu, Elena Emanuela Braha, Laura Semonia Stanescu, Corin Badiu, Particularitati fenotipice ale sindromului familial MEN2A, Conferinta zilele F. Rainer, 2022, Bucuresti, Romania.
6. **Sofia Lider**, Sorina Schipor, Monica Gheorghiu, Corin Badiu, Abordarea personalizata a pacientilor cu paraganglioame, Ziua bolilor rare 2022, on-line.
7. **Sofia Maria Lider Burciulescu**, Monica Livia Gheorghiu - Oral presentation ‘Hipertiroidismul in primul trimestru de sarcina. Optiuni terapeutice’. Romanian National Congress of Endocrinology, 2022, Bucuresti, Romania.
8. **Sofia Lider**, Corin Badiu, Recurrence risk in bilateral pheochromocytomas reported to surgical technique and genetic status, Congresul National de Psihoneuroendocrinologie, 2022, Bucuresti, Romania.
9. **Sofia Maria Lider Burciulescu**, Monica Livia Gheorghiu, Corin Badiu’- Oral presentation: Managementul feocromocitoamelor si paraganglioamelor maligne’ Forumul tinerilor endocrinologi 2021, on-line, Bucuresti, Romania.

10. **Sofia Lider**, Monica Gheorghiu, Corin Badiu- Oral presentation: 'Durata follow-up si riscul de recurenta in feocromocitoame si paraganglioame'- Forumul tinerilor endocrinologi 2020, on-line.
11. **Sofia Lider**, Monica Livia Gheorghiu, Corin Badiu-Oral presentation: 'Frecventa insuficientei adrenale la pacientii cu feocromocitom dupa adrenalectomie-Congresul National de Psihoneuroendocrinologie, 2019, Timișoara, România.
12. **Sofia Maria Lider Burciulescu**, Monica Livia Gheorghiu, Anda Dumitrascu, - Oral presentation: Isolated central cortico-adrenal insufficiency-Iatrogenic or organic? 2019 Postgraduate Clinical course in Endocrinology – Rotterdam, Netherland.
13. **Sofia-Maria Lider-Burciulescu**, Monica Livia Gheorghiu - Oral presentation: "Twin pregnancy after surgery for dopamine-agonist resistant macroprolactinoma with gonadotroph deficiency" 2019 Postgraduate course in endocrinology – Zagreb, Croatia.
14. **Sofia-Maria Lider Burciulescu**, Monica Livia Gheorghiu, Elena Emanuela Braha Andrei Muresan, Șerban Radian, Corin Badiu - Familial MEN 2A management and genetic counselling importance- Genetics National Congress 2018, Romanian Journal of Rare Disease, Supplement 1, 2018, 80.

Postere:

1. **Sofia-Maria Lider-Burciulescu** , Cristina Stancu , Maria Anghel, Vlad Radulescu, Corin Badiu, A case of silent giant pheochromocytoma, *Endocrine Abstracts* (2024) **99** EP1059 | DOI: 10.1530/endoabs.99.EP1059
2. **Sofia Maria Lider Burciulescu**, Monica Livia Gheorghiu, Attila Patocz, Corin Badiu, "Genotype characterization of Romanian patients with PPGLs", 2023, ENSAT-COST Harmonisation Meeting, Dubrovnik P4.
3. **Sofia Maria Lider Burciulescu**, Monica Livia Gheorghiu, Attila Patocs, Corin Badiu, "New possible pathogenic variants involved in pheochromocytomas and paragangliomas", 2023, EYES Congress, Wurzburg, P6.
4. **Sofia Maria Lider Burciulescu**, Elena Emanuela Braha, Corin Badiu, "Strategies in the management of MEN2A syndrome as a potentially aggressive disease", 2022, *ESE Summer School Innsbruck*.
5. **Sofia Maria Lider Burciulescu**, Corin Badiu, "Clinical efficacy of PRRT treatment in a malignant paraganglioma related to RET mutation", 2022, 10th Baltic Congress.
6. **Sofia, M. L. B.**, Costache, O. M., Bunea, I., & Livia, G. M. (2021, May). Transient thyrotoxicosis after laryngeal carcinoma surgery, 2021, European Congress of Endocrinology, In *Endocrine Abstracts* (Vol. 73). Bioscientifica, *Endocrine Abstracts* () **73** EP197.
7. Livia, G. M., Irina, A. B., **Sofia, M. L. B.**, Anda, D., & Ramona, A. (2021, May). Rapid decrease of a pituitary mass with gonadotrophic and thyrotrophic insufficiency—the case for lymphocytic hypophysitis?. In *Endocrine Abstracts* (Vol. 73). Bioscientifica. DOI: 10.1530/endoabs.73, EP158
8. **Sofia Maria Lider Burciulescu**, Guy T'Sjoen, Corin Badiu, Lapauw Bruno, Characteristics of pheochromocytomas/paragangliomas in Flemish population, European Congress of Endocrinology, *Endocrine Abstracts* (2021) **73** AEP2 | DOI: 10.1530/endoabs.73.AEP2
9. **Lider Burciulescu Sofia**, et al. "Clinical presentation variations of pheochromocytomas." 22nd European Congress of Endocrinology. Vol. 70. BioScientifica,*EndocrineAbstracts* (2020) **70** AEP1010 | DOI: 10.1530/endoabs.70.AEP1010

10. **Sofia-Maria Lider Burciulescu**, Monica Livia Gheorghiu, Anda Dumitrascu, Dan Hortopan, Schipor Sorina, Corin Badiu 'Asymptomatic pheochromocytomas-an unelucidated physiopathology pattern." European Congress of Endocrinology, Endocrine Abstracts. Vol. 63. Bioscientifica, 2019. DOI: 10.1530/endoabs.63.P862
11. **Sofia Maria Lider Burciulescu**, Monica Livia Gheorghiu, Anda Dumitrascu, Dan Hortopan, Andra Caragheorgheopol, Carmen Iordachescu "Recurrent Cushing disease after bilateral adrenalectomy" National Congress of neuroendocrinology 2018- Vol XIV, Supplement 1, June 2018, 154-155.
12. Monica Livia Gheorghiu, **Burciulescu, S. M. L**, Dumitrascu, A., Hortopan, D., & Ionescu, V. (2019). Long-term follow-up in a series of pituitary stalk lesions. *Endocrine Practice*, 25, 246-246.
13. Gheorghiu, Monica-Livia, **Sofia-Maria Lider Burciulescu** and Luminita Nicoleta Ionescu. Atypical manifestation of pheochromocytoma. 7th ESE Young Endocrinologists and Scientists (EYES) Meeting. Vol. 67. BioScientifica, 2019. DOI: 10.1530/endoabs.67.GP22
14. **Sofia Maria Lider Burciulescu**, Anda Dumitrascu, Sorina Schipor, Monica Gheorghiu. Recurrent Thoracic paraganglioma- ENEA Cushing's Workshop 2021.
15. **Sofia Lider**, Cristina Stancu, Corin Badiu 'Aggressive Cushing's Disease in pandemic times' ENEA Cushing's Workshop 2021.
16. **Sofia-Maria Lider-Burciulescu**, Monica-Livia Gheorghiu, Andrei Muresan, Corin Badiu, Factors involved in response to antihypertensive drugs in Pheochromocytoma/Paraganglioma, ENEA 2020. E70
17. Monica-Livia Gheorghiu, **Sofia-Maria Lider Burciulescu**, Corin Badiu, Difficulties in diagnosing hypothalamus - pituitary germinoma, ENEA 2019 EP 63.
18. **Sofia-Maria Lider-Burciulescu**, Monica-Livia Gheorghiu, Corin Badiu "The response in patients with pheochromocytoma to the antihypertensive drugs correlated with the values of the catecholamines and with mutation"- Congresul National de Neuroendocrinologie, 2018, București, Romania
19. Gheorghiu, M. L., **Burciulescu, S. M. L**, Purice, M., & Alexiu, F. (2018, May). Conversion from thyroxine-treated autoimmune hypothyroidism to Graves. In 20th European Congress of Endocrinology, *Endocrine Abstracts* (2018) **56** P1102 | DOI: 10.1530/endoabs.56.P1102
20. Monica Livia Gheorghiu, **Sofia-Maria Lider-Burciulescu**, Andra Caragheorgheopol, Ionela Pascanu "Central corticosuprarenal deficiency in isolated inappropriate ACTH" Congresul National de Endocrinologie-2018, Acta Endocrinologica, Vol XIV, Supplement 1, June 2018, 153-154.

Cursuri:

1. Postgraduate Clinical course in Endocrinology Rotterdam, 2019
2. Postgraduate course in endocrinology-Zagreb, 2019
3. Neuroendocrine Tumors Masterclass-Budapest (27-28 November 2019).
4. COST Harmonisation Adrenal Tumor Master Class, 2022
5. ESE Summer School Innsbruck July 2022
6. Osteoporosis Essentials of Densitometry Diagnosis and Management Course, 2022

Premii și burse:

2020 - **BioscientificaTrust Grant**- Mobilities Grant Research stay at Ghent University Hospital, Belgium

2022 - ‘**Mihail Coculescu**’ **Romanian PsychoNeuroEndocrine Society Award** for research in pheochromocytoma / paraganglioma field.

2023 - COST Harmonisation, **Short Term Scientific Missions (STSM)** – Observership at Instituto Nacional de Investigaciones Oncologicas, Madrid, Spain.

2024 - **Agentia de Credite si Burse de studii - Bursa ”H.G. nr. 118/2023”**, **Ph.D.** Research stay at University Hospital, Basel, Suisse.

Affiliations

Member of Romanian PsychoNeuroEndocrine Society

Member of European Society of Endocrinology

Member of ENSAT and COST Harmonization Group