

Paragangliomas, caracterização clínica e funcional de 40 casos

Extra Adrenal Paragangliomas, Clinical features in a Portuguese cohort of 40 cases

RJ Santos MD¹, R Domingues BSc², P Montalvão MD³, M Magalhães MD³, MJ Bugalho MD, PhD^{1,2,4}

¹ Serviço de Endocrinologia, Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil, Lisboa 1099-023, Portugal.

² Centro de Investigação de Patobiologia Molecular, Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil, Lisboa.

³ Serviço de ORL, Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil, Lisboa.

⁴ Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa, Campo Mártires da Pátria, Lisboa.

Correspondência: Rita J Santos › Serviço de Endocrinologia › Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil › Rua Professor Lima Basto › 1099-023 LISBOA, Portugal › rjsantos@ipolisboa.min-saude.pt

RESUMO

Introdução: Os paragangliomas (PGLs) são tumores raros que derivam do tecido simpático, quer da supra-renal quer extra supra-renal, ou do tecido parassimpático. Os PGLs que derivam do tecido cromafim das supra-renais são também designados por feocromocitomas. Desde que se conhece a relação entre os genes que codificam as subunidades da enzima Succinato Desidrogenase (SDH) e a etiologia dos PGLs que o diagnóstico genético assumiu relevância na avaliação dos doentes com estes tumores.

Métodos: Revisão e caracterização clínica dos casos de PGLs com topografia extra supra-renal, seguidos no Instituto Português de Oncologia de Lisboa, com caracterização molecular prévia dos genes *SDHB*, *SDHC*, *SDHD* e *VHL*.

Resultados: Foram identificados 40 doentes. Destes, 33 tinham PGLs de cabeça e pescoço e 7 PGLs abdominais e pélvicos. No último grupo todos eram funcionantes enquanto no primeiro apenas 12%. Foram encontradas mutações germinais em 32.5% dos doentes (n=13). A média de idades foi de 35.2 ± 14 anos no grupo com mutação e de 52.5 ± 17 anos no grupo sem mutação. No grupo com mutação, os tumores são mais frequentemente múltiplos (p=0.013) e ocorrem em idades mais jovens (P= 0.003). Só em 6/13 doentes com mutação havia história familiar. Todos os 4 doentes com doença maligna tinham mutação no gene da *SDHB*.

Conclusões: A ausência de história familiar não permite concluir que se trata de forma esporádica. A identificação de uma mutação germinal permitirá definir quais os doentes que devem manter um controlo mais apertado atendendo ao risco aumentado de desenvolverem PGLs múltiplos e ao maior potencial maligno. Adicionalmente, permite seleccionar as famílias com indicação para rastreio genético, com vista a um diagnóstico precoce de novos casos.

PALAVRAS-CHAVE

Paragangliomas; mutação germinal; SDH.

ABSTRACT

Introduction: *Paragangliomas (PGLs) are rare tumors that arise from extraadrenal chromaffin cells that can occur as sporadic or familial entities, the latter mostly in association with germline mutations in the Succinate Dehydrogenase genes (SDH).*

Materials and Methods: We examined the clinical characteristics of all PGLs evaluated at the Instituto Português de Oncologia de Lisboa to whom genetic screening for germinal mutations in the SDHB, SDHC, SDHD and VHL had been previously done.

Results: We retrieved 40 patients, 33 with Head and Neck PGLs and 7 with abdominal PGLs. In the last group all tumors were secreting contrasting with only 12% in the former group. Germinal mutations in the SDH genes were found in 32.5% of the patients (n=13). The mean age at diagnosis for patients with and without mutation was 35.2 ± 14 years versus 52.5 ± 17 years. Mutation carriers were younger ($p=0.003$) and had multiple PGLs more frequently ($p=0.013$). Only 6/13 patients had family history suggestive of hereditary PGLs. All 4 malignant PGLs were associated with mutation in the SDHB gene.

Conclusions: Absence of familial antecedents does not preclude the existence of a germline mutation. Genetic diagnosis improves follow-up, since the rate of new or recurrent tumours is higher in familial than sporadic cases. Screening of at risk families allows the identification of presymptomatic members.

KEYWORDS

Paraganglioma; germline mutations; SDH.

INTRODUÇÃO

Os paragangliomas (PGLs) são tumores raros que derivam do tecido simpático, quer da supra-renal quer extra supra-renal, ou do tecido parassimpático. Os PGLs que derivam do tecido cromafim das supra-renais representam um subtipo específico de PGLs também designados por feocromocitomas. No presente trabalho, como na literatura anglo-saxónica em geral, a designação de PGLs refere-se aos tumores com localização extra supra-renal: cabeça e pescoço, toráx e região abdomino-pélvica. Os tumores da cabeça e pescoço correspondem à maioria dos tumores encontrados (cerca de 70%), seguidos da localização abdomino-pélvica (20%) e torácica (10%)¹. O potencial destes tumores secretarem catecolaminas permite, ainda, distingui-los entre funcionantes e não funcionantes. Os PGLs parassimpáticos geralmente localizam-se na cabeça e pescoço e não secretam catecolaminas manifestando-se inicialmente por efeito de massa, como tumefacção cervical, paralisia de pares craneanos ou acufenos nos PGLs jugulo-timpânicos. Os PGLs simpáticos encon-

tram-se na região abdomino-pélvica e são habitualmente secretores, podendo originar sintomatologia variada como hipertensão, cefaleias, palpitações e perda de peso. Cerca de 80-90% dos tumores abdominais são secretores, enquanto apenas 5-10% dos de cabeça e pescoço^{1,2}.

O diagnóstico dos PGLs é feito essencialmente por imagiologia convencional, como tomografia computadorizada (TC), em que se apresentam como massas homogéneas com hipercaptação de contraste, sendo também a TC essencial para avaliação do compromisso ósseo nos PGLs de cabeça e pescoço. Em Ressonância Magnética (RM) estes tumores aparecem também hiperintensos em T2. Os PGLs, como tumores neuro-endócrinos, exprimem receptores de somatostatina (tipo 2), pelo que podem também ser identificados por cintigrafia com octreótido, com uma sensibilidade até 90% nos PGLs de cabeça e pescoço. A cintigrafia com octreótido permite também detectar outros focos não esperados de doença (em caso de PGLs múltiplos). Os tumores simpáticos, como os PGLs abdominais, são também habitualmente visíveis em cintigrafia com MIBG

com uma sensibilidade de cerca de 80%^{3,4,5}.

Como a maioria dos tumores abdominais são secretores o diagnóstico passa pela demonstração de hiperfunção. Este diagnóstico pode ser feito pela medição das metanefrinas e catecolaminas urinárias nas 24 horas, com uma sensibilidade de cerca 90%. A medição de metanefrinas plasmáticas tem também uma alta sensibilidade, embora com maior número de falsos positivos^{6,7}.

Desde que é conhecida a relação entre os genes que codificam as subunidades da enzima Succinato Desidrogenase (SDH) e a etiologia dos PGLs que o diagnóstico genético nos doentes com estes tumores assumiu particular importância na abordagem e seguimento dos mesmos^{8,9,10}. A presença de formas familiares de PGLs é variável nas diversas séries (10-30%), podendo mesmo atingir prevalências superiores a 50%, mesmo na ausência de história familiar sugestiva de doença adquirida^{11,12,13,14}. No presente trabalho, correlacionam-se os dados do estudo genético, efectuado no nosso hospital sistematicamente desde 2007, com dados de apresentação clínica.

MÉTODOS

Foram revistos os processos clínicos de todos os doentes com PGLs de localização extra supra-renal, acompanhados no Instituto Português de Oncologia de Lisboa, a quem previamente tinha sido efectuado pesquisa de mutações germinais nos genes da *SDHB*, *SDHC*, *SDHD* e *VHL*. Só foram considerados os casos com diagnóstico histológico de PGLs. Para todos os doentes foram consideradas as variáveis: localização do tumor; presença de tumores únicos ou múltiplos; hipersecreção de catecolaminas; história familiar sugestiva de PGLs/feocromocitomas hereditários ou de *VHL*; e idade aquando do diagnóstico. Foram considerados secretores os tumores com doseamento de metanefrinas totais e ácido vanil-mandélico (AVM), em

urina de 24h superior a 1 mg (valor de referência < 1 mg/24 horas) e 14 mg (valor de referência < 14 mg/24 horas) respectivamente, no mínimo em duas ocasiões, com ou sem sinais ou sintomas sugestivos de hipersecreção adrenérgica. Na avaliação de todos os Paragangliomas, independentemente da localização, foi realizada uma cintigrafia com MIBG (Metaiodobenzilguanidina, utilizando Iodo¹³¹) para excluir presença de feocromocitoma concomitante ou tumores múltiplos. No entanto, uma vez que a sensibilidade da cintigrafia com MIBG não é de 100%, alguns tumores poderão não ter sido detectados.

Para os PGLs de cabeça e pescoço a sequência do diagnóstico genético foi de *SDHD-SDHB-SDHC-VHL*; para os abdomino-pélvicos *SDHB-SDHD-SDHC-VHL*; para os tumores malignos (independente da localização) foi efectuada pesquisa de mutação no gene da *SDHB* primariamente.

Para a análise estatística foi utilizado o software SPSS 13.0. Para efeitos de comparação de médias foi utilizado o teste T de Student para amostras independentes. Para comparação de frequências foi utilizado o teste exacto de Fisher. Um valor de $p < 0.05$ com considerado estatisticamente significativo. Para o doseamento de catecolaminas e AVM urinário foi utilizado o método cromatográfico – espectrofotométrico (espectrofotómetro de UV – Vis: ATI Unicam UV2).

RESULTADOS

Foram identificados 40 doentes (16 sexo masculino; 24 sexo feminino) com uma média de idades de 47 ± 18 anos. A maioria dos tumores encontrados foram de cabeça e pescoço 82.5% (n=33) vs. 17.5% de abdomino-pélvicos (n=7). Todos os tumores abdomino-pélvicos se associaram a hipersecreção de catecolaminas versus 12% (n=4) no grupo de PGLs de cabeça e pescoço.

Nos tumores de cabeça e pescoço as prin-

cipais manifestações clínicas foram pelo efeito de massa da localização do tumor, tais como: massa cervical (29%); acufenos (23%), hipoacusia (21%) e disfonia (15%). Nos tumores funcionantes de cabeça e pescoço, em nenhum paciente o diagnóstico foi efectuado primariamente por síndrome de hipersecreção de catecolaminas.

Nos tumores abdomino-pélvicos o diagnóstico foi primariamente feito na sequência de investigação de uma Hipertensão Arterial, presente em 71% dos doentes (n=5). Nos restantes 2 doentes o diagnóstico foi efectuado por hematúria (PGL vesical) em um doente e presença de metastização óssea em outro doente.

O rastreio de mutações germinais foi positivo em 32.5% dos doentes (n=13): 6 com mutação germinal no gene da *SDHB*, 6 no gene da *SDHD* e 1 doente no gene da *SDHC*. Não foram encontradas mutações germinais no gene *VHL*.

Para efeitos de análise comparativa, os doentes foram subdivididos em 2 grupos (com e sem mutação germinal) e os dados apresentam-se, de forma sumária, nas Tabela I e II.

Nos doentes com mutação germinal, comparativamente com os doentes sem mutação germinal, a doença manifestou-se em idades mais jovens e a multiplicidade dos tumores foi mais frequente (Tabela II).

TABELA I: Características clínicas dos doentes com mutação germinal nos genes da SHD

Doente	Sexo/Idade (anos)	Diagnóstico	Múltiplos	Malignidade	Secretor	História Familiar	<i>SDHD</i>	<i>SDHC</i>	<i>SDHB</i>	Tipo de alteração
1	M/38	PGL timpânico direito + PGL carotídeo bilateral	sim	-	-	sim	c. 341_342delAT p.Tyr114CysfsX76			Frameshift
2	F/37	PGL jugulo-timpânico e vagal bilateral	sim	-	-	sim	c.315-2A>C p.?			Splicesite
3	F/32	PGL jugulo-timpânico esquerdo	-	-	-	-	c.411delT p.Leu139PhefsX29			Frameshift
4	M/46	PGLs carotídeos bilaterais	sim	-	-	sim	c.411delT p.Leu139PhefsX29			Frameshift
5	F/25	PGL jugulo-timpânico direito + carotídeo esquerdo	sim	-	-	sim	c.371_390del20in sGG p.Ala124_Ala130d elinsGly			Del/Insert
6	M/37	PGL vagal esquerdo	-	-	-	-	c.411delT p.Leu139PhefsX29			Frameshift
7	M/62	PGL vagal direito	-	-	sim	-		c.2T>A p.Met1?		Nonsense
8	M/35	Feocromocitoma esquerdo + PGL retroperitoneal	sim	sim	sim	sim			c.725G>A p.Arg242His	Missense
9	F/27	PGL carotídeo	-	sim	-	-			c.49A>G p.Thr17Ala	Missense
10	F/46	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-			Delecção exão 1	Large deletion
11	M/49	PGL timpânico direito	-	sim	sim	-			Delecção exão 1	Large deletion
12	M/15	PGL latero-aórtico direito	-	-	sim	-			Delecção exão 1	Large deletion
13	M/9	Feocromocitoma e PGL renal esquerdo	sim	sim	sim	sim			c.127G>C p.Ala43Pro	Missense

A designação das mutações foi baseada nas guidelines da Human Genome Variation Society (<http://www.hgvs.org/mutnomen/>).

? Nos casos assinalados o efeito da alteração a nível da proteína não é conhecido.

TABELA II: Características clínicas dos doentes sem mutação germinal nos genes SDH

Doente	Sexo/ Idade (anos)	Diagnóstico	Múltiplos	Malignidade	Secretor	História Familiar
14	F/53	PGL laríngeo	-	-	-	-
15	F/69	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
16	F/57	PGL jugulo-timpânico esquerdo	-	-	-	-
17	F/61	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
18	F/64	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
19	F/73	Glomus jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
20	F/73	PGL timpânico direito	-	-	-	-
21	M/56	PGL corpo carotídeo direito	-	-	-	-
22	M/35	PGL jugulo timpânico esquerdo	-	-	-	-
23	F/58	PGL jugulo-timpânico esquerdo	-	-	-	-
24	F/48	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
25	F/70	PGL jugulo-timpânico esquerdo	-	-	-	-
26	F/76	PGL carotídeo direito.	-	-	-	-
27	F/70	PGL jugulo-timpânico esquerdo	-	-	-	-
28	M/28	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
29	F/47	PGL jugulo-timpânico direito	-	-	-	-
30	M/41	PGL vagal esquerdo	-	-	-	-
31	F/41	PGL jugulo-timpânico esquerdo	-	-	-	-
32	F/51	PGL tireoideia	-	-	-	-
33	M/74	PGL timpânico direito	-	-	-	-
34	F/61	PGL timpânico direito	-	-	-	-
35	F/47	PGL timpânico esquerdo	-	-	-	-
36	F/35	PGL carotídeo bilateral+PGL jugulo-timpânico direito	sim	-	sim	-
37	F/65	PGL jugulo timpânico esquerdo	sim	-	sim	-
38	M/28	PGL vesical	-	-	sim	-
39	F/20	PGL abdominal	sim	-	sim	sim
40	M/17	PGL abdominal	-	sim	sim	-

TABELA III: Diferenças entre doentes com e sem mutação SDH

	Com Mutação SDH	Sem Mutação SDH	
Idade (anos)	35.2 ± 14 (9-62)	52.5 ± 17 (17-76)	P=0.003
Ocorrência tumores múltiplos	6/13	3/27	p=0.013
Presença de história familiar	6/13	1/27	p=0.003

DISCUSSÃO

Apresentam-se os dados relativos a uma série de 40 PGLs seguidos no Centro de Oncologia de Lisboa. A prevalência de mutações germinais encontrada foi alta (32.5%) e semelhante à já encontrada noutros estudos^{13,14,15}. Na maioria dos casos em que foram identificadas mutações, os doentes eram jovens (<35 anos), apresentavam tumores

múltiplos e/ou história familiar. No entanto, em três casos os doentes tinham mais de 45 anos, PGL único e ausência de história familiar. A propósito da história familiar, destaca-se que nos casos com mutação germinal, só era conhecida em menos de 50% dos doentes (6/13). Por um outro lado, salienta-se a não identificação de mutação germinal em três doentes com tumores múltiplos, dois deles em idades muito jovens (20 e 35 anos de idade). Nestes casos não se pode excluir o envolvimento de outros genes devendo estes doentes, do ponto de vista prático, ser sujeitos à orientação proposta para as formas familiares.

Na correlação genótipo-fenótipo constata-se que todas as mutações encontradas no gene *SDHD* foram em tumores aparentemente benignos da cabeça e pescoço. Constata-se também que no grupo de doentes com mutação SDH os quatro casos com

doença maligna tinham mutação no gene *SDHB* (2 com doença abdominal e 2 com doença de cabeça e pescoço) corroborando o conhecimento prévio de que a presença de mutação *SDHB* pode associar-se a malignidade em cerca de 30% dos casos^{12,13,16,17,18}. Não obstante, a mutação *SDHD*, embora raramente, já foi também associada a PGLs malignos pelo que a sua presença não permite excluir definitivamente malignidade^{12,19}.

Na nossa série foi encontrada uma mutação no gene *SDHC* num doente de 62 anos com um PGL vagal direito sugestivo de penetração clínica baixa. O espectro de localização de PGLs para as mutações de *SDHC* parece ser semelhante às de *SDHD* e *SDHB*^{15,16}.

Não se identificou nenhuma mutação no gene *VHL*. A presença de PGLs (nomeadamente de cabeça e pescoço) na doença de Von Hippel Lindau (*VHL*) já foi descrita, sendo a sua prevalência superior à da população em geral^{22,23}. O rastreio de mutações *VHL* em doentes sem clínica sugestiva de doença *VHL* pode ser controverso. No entanto, em 2 de 11 casos recentemente descritos com mutação *VHL*, a única manifestação inicial da doença foram PGLs da cabeça e pescoço²³. Sabe-se também que entre as formas familiares de PGLs *SDH* negativas, as mutações do gene *VHL* são as mais frequentes^{22,23,24}.

É actualmente aceite que o rastreio genético selecionado, orientado pela história familiar e fenótipo, deve ser efectuado a todos os casos de PGLs e feocromocitoma^{25,26}. Esta nova orientação corrigiu a ideia antiga de que só 10% dos doentes afectados teria uma forma familiar²⁷. Embora a relação custo-benefício, associada a este procedimento, deva ser ponderada, as principais vantagens prendem-se com a identificação dos doentes com potencial de desenvolverem tumores múltiplos e ou PGLs malignos. Adicionalmente, o rastreio genético cria condições para estudar familiares assintomáticos e identificar a doença em fase mais precoce e potencialmente curável.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Erickson D, Kudva YC, Ebersold MJ, Thompson GB, Grant CS, van Heerden JA, Young WF Jr. Benign paragangliomas: clinical presentation and treatment outcomes in 236 patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Nov;86(11):5210-6.
2. Baysal BE, Myers EN 2002 Etiopathogenesis and clinical presentation of carotid body tumors. *Microsc Res Tech* 59:256–261
3. Telischi FF, Bustillo A, Whiteman ML, Serafini AN, Reisberg MJ, Gomez-Marin O, Civantos FJ, Balkany TJ. Octreotide scintigraphy for the detection of paragangliomas. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2000;122(3):358
4. Bustillo A, Telischi F, Weed D, Civantos F, Angeli S, Serafini A, Whiteman M Octreotide scintigraphy in the head and neck. *Laryngoscope.* 2004;114(3):434.
5. Taïeb D, Sebag F, Hubbard JG, Mundler O, Henry JF, Conte-Devolx B. Does iodine-131 meta-iodobenzylguanidine (MIBG) scintigraphy have an impact on the management of sporadic and familial pheochromocytoma. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2004;61(1):102
6. Perry CG, Sawka AM, Singh R, Thabane L, Bajnarek J, Young WF Jr. The diagnostic efficacy of urinary fractionated metanephrines measured by tandem mass spectrometry in detection of pheochromocytoma. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007;66(5):703.
7. Sawka AM, Jaeschke R, Singh RJ, Young WF Jr. A comparison of biochemical tests for pheochromocytoma: measurement of fractionated plasma metanephrines compared with the combination of 24-hour urinary metanephrines and catecholamines. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(2):553.
8. Astuti D, Latif F, Dallol A, Dahia PL, Douglas F, George E, Skoldberg F, Husebye ES, Eng C, Maher ER 2001 Gene mutations in the succinate dehydrogenase subunit *SDHB* cause susceptibility to familial pheochromocytoma and to familial paraganglioma. *Am J Hum Genet* 69:49–54
9. Baysal BE, Ferrell RE, Willett-Brozick JE, Lawrence EC, Myssiorek D, Bosch A, van der Mey A, Taschner PE, Rubinstein WS, Myers EN, Richard 3rd CW, Cornilisse CJ, Devilee P, Devlin B 2000 Mutations in *SDHD*, a mitochondrial complex II gene, in hereditary para-

- ganglioma. *Science* 287:848–851
10. Niemann S, Muller U 2000 Mutations in SDHC cause autosomal dominant paraganglioma, type 3. *Nat Genet* 26:268–270
 11. 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 PF, Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo AP; PGL.NET network The succinate dehydrogenase genetic testing in a large prospective series of patients with paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Aug;94(8):2817–27
 12. Benn DE, Gimenez-Roqueplo AP, Reilly JR, Bertherat J, Burgess J, Byth K, Croxson M, Dahia PL, Elston M, Gimm O, Henley D, Herman P, Murday V, Niccoli-Sire P, Pasieka JL, Rohmer V, Tucker K, Jeunemaitre X, Marsh DJ, Plouin PF, Robinson BG 2006 Clinical presentation and penetrance of pheochromocytoma/paraganglioma syndromes. *J Clin Endocrinol Metab* 91:827–836
 13. Neumann HP, Pawlu C, Peczkowska M, Bausch B, McWhinney SR, Muresan M, Buchta M, Franke G, Klisch J, Bley TA, Hoegerle S, Boedeker CC, Opocher G, Schipper J, Januszewicz A, Eng C 2004 Distinct clinical features of paraganglioma syndromes associated with SDHB and SDHD gene mutations. *JAMA* 292:943–951
 14. Amar L, Bertherat J, Baudin E, Ajzenberg C, Bressac-de Paillerets B, Chabre O, Chamontin B, Delemer B, Giraud S, Murat A, Niccoli-Sire P, Richard S, Rohmer V, Sadoul JL, Stropf L, Schlumberger M, Bertagna X, Plouin PF, Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo AP 2005 Genetic testing in pheochromocytoma or functional paraganglioma. *J Clin Oncol* 23:8812–8818
 15. Lima J, Feijão T, Ferreira da Silva A, Pereira-Castro I, Fernandez-Ballester G, Máximo V, Herrero A, Serrano L, Sobrinho-Simões M, Garcia-Rostan G High frequency of germline succinate dehydrogenase mutations in sporadic cervical paragangliomas in northern Spain: mitochondrial succinate dehydrogenase structure-function relationships and clinical-pathological correlations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Dec;92(12):4853–64.
 16. Amar L, Baudin E, Burnichon N, Peyrard S, Silvera S, Bertherat J, Bertagna X, Schlumberger M, Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo AP, Plouin PF 2007 Succinate dehydrogenase B gene mutations predict survival in patients with malignant pheochromocytomas or paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab* 92:3822–3828
 17. Gimenez-Roqueplo AP, Favier J, Rustin P, Rieubland C, Crespin M, Nau V, Khau Van Kien P, Corvol P, Plouin PF, Jeunemaitre X 2003 Mutations in the SDHB gene are associated with extra-adrenal and/or malignant pheochromocytomas. *Cancer Res* 63:5615–5621
 18. Timmers HJ, Kozupa A, Eisenhofer G, Raygada M, Adams KT, Solis D, Lenders JW, Pacak K 2007 Clinical presentations, biochemical phenotypes, and genotype-phenotype correlations in patients with succinate dehydrogenase subunit B-associated pheochromocytomas and paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab* 92:779–786
 19. Havekes B, Corssmit EP, Jansen JC, van der Mey AG, Vriends AH, Romijn JA. Malignant paragangliomas associated with mutations in the succinate dehydrogenase D gene. *Clin Endocrinol Metab.* 2007 Apr;92(4):1245–8
 20. Schiavi F, Boedeker CC, Bausch B, Peczkowska M, Gomez CF, Strassburg T, Pawlu C, Buchta M, Salzmann M, Hoffmann MM, Berlis A, Brink I, Cybulla M, Muresan M, Walter MA, Forrer F, Vañlima ki M, Kawecki A, Szutkowski Z, Schipper J, Walz MK, Pigny P, Bauters C, Willet-Brozick JE, Baysal BE, Januszewicz A, Eng C, Opocher G, Neumann HP 2005 Predictors and prevalence of paraganglioma syndrome associated with mutations of the SDHC gene. *JAMA* 294:2057–2063
 21. Mannelli M, Ercolino T, Giache` V, Simi L, Cirami C, Parenti G 2007 Genetic screening for pheochromocytoma: should SDHC gene analysis be included? *J Med Genet* 44:586–587
 22. Boedeker CC, Erlic Z, Richard S, Kontny U, Gimenez-Roqueplo AP, Cascon A, Robledo M, de Campos JM, van Nederveen FH, de Krijger RR, Burnichon N, Gaal J, Walter MA, Reschke K, Wiech T, Weber J, Rückauer K, Plouin PF, Darrouzet V, Giraud S, Eng C, Neumann HP. Head and neck paragangliomas in von Hippel-Lindau disease and multiple endocrine neoplasia type 2. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Jun;94(6):1938–44
 23. Gaal J, van Nederveen FH, Erlic Z, Korpershoek E, Oldenburg R, Boedeker CC, Kontny U,

- Neumann HP, Dinjens WN, de Krijger RR. Parasympathetic paragangliomas are part of the Von Hippel-Lindau syndrome. *Clin Endocrinol Metab.* 2009 Nov;94(11):4367-71.
24. Ercolino T, Becherini L, Valeri A, Maiello M, Gagliano MS, Parenti G, Ramazzotti M, Piscitelli E, Simi L, Pinzani P, Nesi G, Degl'Innocenti D, Console N, Bergamini C, Mannelli M 2008 Uncommon clinical presentations of pheochromocytoma and paraganglioma in two different patients affected by two distinct novel VHL germline mutations. *Clin Endocrinol (Oxf)* 68:762–768
25. Gimenez-Roqueplo AP, Lehnert H, Mannelli M, Neumann H, Opocher G, Maher ER, Plouin PF 2006 Pheochromocytoma, new genes and screening strategies. *Clin Endocrinol (Oxf)* 65:699–705
26. Pacak K, Eisenhofer G, Ahlman H, Bornstein SR, Gimenez-Roqueplo AP, Grossman AB, Kimura N, Mannelli M, McNicol AM, Tischler AS 2007 Pheochromocytoma: recommendations for clinical practice from the First International Symposium. October 2005. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 3:92–102
27. Bravo, E.L. (1994) Evolving concepts in the pathophysiology, diagnosis, and treatment of pheochromocytoma. *Endocrine Review*, 3, 356–368.