

10.1 SAMENVATTING EN CONCLUSIE

Samenvatting

Hoofdstuk 1 bestaat uit een overzicht van de huidige inzichten met betrekking tot de klinische kenmerken, genetica, diagnostiek en behandelingsstrategieën van patiënten met een paraganglioom en feochromocytoom.

In **hoofdstuk 2** worden de klinische kenmerken en behandelingsstrategieën van 147 hoofd-halsparaganglioom patiënten - met in totaal 289 tumoren – geëvalueerd. Verschillende klinische manifestaties zijn waargenomen, zoals multifocaliteit (54%), een synchroon sympathisch paraganglioom (1%) of feochromocytoom (3%), hypersecretie van catecholamines (30%) of gemetastaseerde ziekte (2%). Van de patiënten die een DNA-test hebben ondergaan is 65% drager van een mutatie in *SDHD*, 10% van een mutatie in *SDHB* en 1% van een mutatie in *SDHAF2*. Geen van de *SDHB*-mutatiedragers heeft een feochromocytoom, sympathisch paraganglioom of gemetastaseerde ziekte. In de afgelopen 60 jaar is het percentage hoofd-halsparagangliomen dat operatief werd verwijderd aanzienlijk gedaald. Steeds vaker werd gekozen voor een 'active surveillance' behandelingsstrategie. Meer kennis van (I) de genetische predispositie, (II) de geassocieerde klinische risicoprofielen (fenotype), en (III) het natuurlijke beloop van deze tumoren heeft geresulteerd in een meer conservatieve aanpak van patiënten met een hoofd-halsparaganglioom.

In **hoofdstuk 3** wordt een nieuwe *SDHB*-mutatie beschreven die samenhangt met de ontwikkeling van een hoofd-halsparaganglioom. In deze studie is het DNA van 18 leden van één familie getest. Gebleken is dat 10 leden drager zijn van een exon 1-3 deletie in het *SDHB*-gen. Eén familielid had een (presymptomatisch) paraganglioom ter plaatse van de carotisbifurcatie, een hoge bloeddruk en verhoogde catecholamine waarden, die beiden normaliseerden na operatieve verwijdering van de tumor. Een negatieve *SDHB*-immunokleuring op het tumorweefsel heeft bevestigd dat deze tumor wordt veroorzaakt door de *SDHB*-mutatie. Deze niet eerder beschreven deletie van exon 1-3 in het *SDHB*-gen is een nieuwe erfelijke variant, die geassocieerd wordt met de ontwikkeling van paragangliomen.

In **hoofdstuk 4** wordt een grote familie beschreven met een exon 3 deletie in het *SDHB*-gen. Zes van de 17 geïdentificeerde mutatiedragers hebben een paraganglioom. De geschatte penetrantie van deze mutatie op de leeftijd van 40, 50, 60 en 70 jaar is respectievelijk 4%, 9%, 15% en 21%. Deze lage penetrantie zou een klinisch kenmerk van deze exon 3 deletie kunnen zijn. Een andere mogelijkheid is

dat deze wordt veroorzaakt door een gedeelde genetische- of omgevingsfactor binnen deze familie, die van invloed is op de penetrantie. Eerdere studies beschrijven een hogere penetrantie van *SDHB*-mutaties, vermoedelijk ten gevolge van verschillende vormen van bias. Deze eerdere berekeningen van penetrantie zijn vatbaar voor overschatting vanwege (I) de beperkte inclusie van niet-aangedane mutatiedragers en (II) de identificatie van mutatiedragers via indexpatiënten. Dit resulteert in een verhoogde kans op de selectie van aangedane mutatiedragers (ascertainment bias). In de huidige studie hebben we een relatief groot aantal niet-aangedane mutatiedragers geïnccludeerd en is gecorrigeerd voor ascertainment bias. Voorgaande heeft geleid tot een gereduceerde schatting van *SDHB*-geassocieerde penetrantie, hetgeen belangrijk is voor een adequate (genetische) counseling van *SDHB*-mutatiedragers.

In **hoofdstuk 5** komen de klinische kenmerken van *SDHB*-mutatiedragers in een landelijk cohort aan de orde. In deze retrospectieve, beschrijvende studie zijn 194 *SDHB*-mutatiedragers geïnccludeerd vanuit zeven klinisch-genetische centra. Het cohort bestaat uit 83 (42.8%) aangedane mutatiedragers en 111 (57.2%) niet-aangedane mutatiedragers. Vierenvijftig mutatiedragers (27.8%) hebben één of meer hoofd-halsparagangliomen. Slechts 4 patiënten (2.1%) hebben een feochromocytoom en 26 (13.4%) één of meer sympathische paragangliomen; een aanzienlijk lager risico dan staat beschreven in eerdere studies over *SDHB*-mutatiedragers. Het aantal patiënten met ten minste één hoofd-halsparaganglioom is relatief hoog (27.8%) in vergelijking met andere studies (3-31%). Omdat in de onderhavige studie een groot aantal niet-aangedane mutatiedragers is geïnccludeerd, blijft de ascertainment bias beperkt. In Nederland wordt aan familieleden van *SDHB*-mutatiedragers structureel genetisch onderzoek aangeboden. Indien een familielid drager blijkt te zijn van de mutatie wordt er volgens een vast protocol vervolgonderzoek aangeboden. Hierdoor wordt een relatief groot aantal asymptomatische mutatiedragers - met of zonder geassocieerde tumoren - geïdentificeerd. Deze aanpak zorgt voor een nauwkeurige weergave van het fenotype van *SDHB*-mutatiedragers. Slechts 15 patiënten (7.7%) hebben gemetastaseerde ziekte en 17 patiënten (8.8%) een niet-paraganglion gerelateerde tumor, waaronder 5 niercelcarcinomen en 2 gastro-intestinale stromale tumoren. Statistische analyses tonen geen significante verschillen tussen de dragers van de twee meest voorkomende mutaties in *SDHB* (exon 3 deletie en c.423 + 1G> A) betreffende het aantal en de locatie van hoofd-halsparagangliomen, sympathische paragangliomen of feochromocytomen. Er zijn ook geen significante verschillen zichtbaar in het voorkomen van gemetastaseerde ziekte of de aanwezigheid van niet-paraganglion gerelateerde tumoren voor deze mutaties. In dit hoofdstuk wordt het belang onderstreept van het includeren van niet-aan-

gedane mutatiedragers in studies waar het fenotype van een pathogene mutatie wordt beoordeeld. De inclusie van asymptomatische mutatiedragers geeft een beter zicht op het ware spectrum van de ziekte. De beschreven resultaten zijn van belang voor de genetische counseling en behandeling van families, die zijn aangedaan door *SDHB*-geassocieerde ziekte.

Hoofdstuk 6 richt zich op de klinische kenmerken en behandelingsstrategieën van 54 dragers van een pathogene mutatie in *SDHB* met een hoofd-halsparaganglioom (geselecteerd uit het landelijke cohort beschreven in hoofdstuk 5). Slechts 8 patiënten (15%) hebben meerdere paragangliomen, in tegenstelling tot *SDHD* mutatiedragers, die vaak meerdere paragangliomen hebben (60-79%). Eén patiënt (2%) heeft tevens een feochromocytoom en 3 patiënten (6%) hebben gemetastaseerde ziekte. Zevenentwintig patiënten (50%) zijn geopereerd vanwege het hoofd-halsparaganglioom en 15 patiënten (28%) zijn radiotherapeutisch behandeld. Hoewel de leeftijd waarop de diagnose hoofd-halsparaganglioom in dit cohort gesteld werd relatief hoog is (45.9 jaar), had de jongste patiënt op 11-jarige leeftijd een hoofd-halsparaganglioom en een 18-jarige patiënt bleek reeds gemetastaseerde ziekte te hebben. Overeenkomstig deze onderzoeksresultaten start screening op paragangliomen in *SDHB*-geassocieerde families tegenwoordig op de leeftijd van 10 jaar in Nederland. Indien een patiënt met een hoofd-halsparaganglioom drager is van een *SHDB*-mutatie moet de behandelend arts op de hoogte zijn van de verschillende manifestaties die het *SDHB*-geassocieerde tumorsyndroom met zich mee kan brengen: hypersecretie van catecholamines, aanwezigheid van een sympathisch paraganglioom of feochromocytoom en de associatie met niet-paraganglion gerelateerde tumoren. Adequate surveillance van *SDHB*-mutatiedragers wordt sterk aanbevolen en omvat screening op catecholamines of hun metabolieten, in combinatie met periodiek radiologisch onderzoek van de buik, bekkenregio, thorax en het hoofd-halsgebied.

In **hoofdstuk 7** wordt de penetrantie berekend in het landelijke cohort *SDHB*-mutatiedragers (zie hoofdstuk 5) middels een nieuwe maximum-likelihood-schatter. Deze schatter houdt rekening met ontbrekende gegevens over stamboomgrootte en –structuur en ascertainment bias. In totaal zijn 195 *SDHB*-mutatiedragers geïnccludeerd, die 27 verschillende *SDHB*-mutaties dragen. De twee meest voorkomende *SDHB*-mutaties zijn bekende Nederlandse foundermutaties: een exon 3 deletie (31% van de mutatiedragers) en een c.423 + 1G>A mutatie (24% van de mutatiedragers). Bij 112 dragers (57%) zijn er geen aanwijzingen voor de aanwezigheid van een paraganglioom of feochromocytoom bij lichamelijk, radiologisch of biochemisch onderzoek. Vierenvijftig patiënten hebben een hoofd-halspara-

ganglioniom (28%), 4 patiënten een feochromocytoom (2%) en 26 patiënten een sympathisch paraganglioniom (13%). Met behulp van de nieuwe schatter wordt de penetrantie van *SDHB*-mutatiedragers geschat op 21% op de leeftijd van 50 jaar en 42% op de leeftijd van 70 jaar. Deze schatting ligt lager dan eerder gerapporteerde penetrantieschattingen van *SDHB*-gerelateerde cohorten en bevestigt de schatting van penetrantie van *SDHB* in hoofdstuk 4. Soortgelijke ziekterisico's worden gevonden bij verschillende *SDHB*-mutaties en voor mannelijke en vrouwelijke *SDHB*-mutatiedragers.

De mortaliteit van een landelijk cohort *SDHB*-mutatiedragers en die van een groot cohort *SDHD*-mutatiedragers worden geschat in **hoofdstuk 8** en vergeleken met de mortaliteit van een gematcht cohort van de doorsnee Nederlandse bevolking. In totaal zijn 192 *SDHB*-mutatiedragers en 232 *SDHD*-mutatiedragers geïncludeerd in deze studie. De standaard mortaliteitsratio (SMR) van *SDHB*-mutatiedragers is 1.89, oplopend tot 2.88 van mutatiedragers met een paraganglioniom of feochromocytoom. De SMR van *SDHD*-mutatiedragers is 0.93 en van aangedane mutatiedragers 1.06. Vergeleken met de doorsnee bevolking lijkt de mortaliteit verhoogd te zijn van *SDHB*-mutatiedragers, met name van diegenen met een paraganglioniom of feochromocytoom. Van *SDHD*-mutatiedragers is de mortaliteit vergelijkbaar met die van de doorsnee Nederlandse bevolking, zelfs als de mutatiedrager een paraganglioniom of feochromocytoom heeft. Dit resultaat is een saillant voorbeeld van het verschil in klinisch risico dat wordt veroorzaakt door verschillende *SDHx*-genen. Hierdoor wordt het belang van DNA-onderzoek voor alle patiënten met een paraganglioniom of feochromocytoom onderschreven en deze bevindingen kunnen een gen-specifieke behandelingsstrategie rechtvaardigen.

Conclusie

De zorg voor patiënten met een paraganglioniom of feochromocytoom heeft sinds het jaar 2000 een grote ontwikkeling doorgemaakt. Tegenwoordig is een groeiend aantal genmutaties geassocieerd met de ontwikkeling van deze tumoren en deze genetische heterogeniteit is ongeëvenaard door enig ander menselijk neoplasma. Mutaties in verschillende genen veroorzaken identieke paragangliomen, echter deze brengen een verschillend klinische risico (fenotype) met zich mee. Meer kennis van de genotype-fenotype-relatie verbetert de nauwkeurigheid van klinische voorspellingen, vergemakkelijkt het maken van optimale surveillance programma's voor asymptomatische mutatiedragers en is behulpzaam bij het maken van op maat gemaakte klinische beslissingen. Het onderhavige proefschrift beschrijft de klinische kenmerken van *SDHB*-geassocieerde ziekte in twee *SDHB*-geassocieerde families en in een landelijk Nederlands cohort van *SDHB*-mutatiedragers.

In het onderzoek van een familie van vier generaties is een nieuwe *SDHB*-mutatie (een exon 1-3 deletie in het *SDHB*-gen) geassocieerd met de ontwikkeling van een hoofd-halsparaganglioom. In een andere, grote familie met dragers van een bekende Nederlandse foundermutatie (een exon 3 deletie in het *SDHB*-gen) is de penetrantie berekend. Op de leeftijd van respectievelijk 40, 50, 60 en 70 jaar is de penetrantie 4%, 9%, 15% en 21% van deze specifieke mutatie. Deze schatting ligt aanzienlijk lager dan eerdere schattingen van *SDHB*-geassocieerde penetrantie. De bijgestelde schatting van penetrantie is het gevolg van de inclusie van een relatief groot aantal niet-aangedane mutatiedragers in de berekening. In een landelijke studie wordt gesteld dat *SDHB*-mutatiedragers een gemiddeld risico hebben op de ontwikkeling van een hoofd-halsparaganglioom (28%), een laag risico op de ontwikkeling van een feochromocytoom (2%), een gemiddeld risico op de ontwikkeling van een sympathische paraganglioom (13%) en een relatief laag risico op het ontwikkelen van gemetastaseerde ziekte (8%). Door een nieuwe maximum-likelihood-schatter te gebruiken voor de berekening van penetrantie wordt de penetrantie van *SDHB*-mutaties geschat op 21% op 50-jarige leeftijd en 42% op 70-jarige leeftijd, hetgeen bevestigt dat de *SDHB*-geassocieerde penetrantie lager ligt dan eerder is beschreven. Soortgelijke ziekterisico's zijn gevonden voor verschillende typen *SDHB*-mutaties evenals voor mannelijke of vrouwelijke *SDHB*-mutatiedragers.

Vergeleken met een gematcht cohort van de doorsnee bevolking is de mortaliteit van *SDHB*-mutatiedragers verhoogd, maar dit is niet het geval bij *SDHD*-mutatiedragers. Er schuilt een interessante paradox achter dit onderzoeksresultaat, die het verschil in klinisch risico tussen dragers van pathogene *SDHB*- en *SDHD*-mutaties illustreert. Terwijl *SDHD*-mutatiedragers in de meeste gevallen (88-100%) één of meer (hoofd-hals)paragangliomen ontwikkelen, neemt de mortaliteit van de groep als geheel niet toe. Daarentegen zal slechts een minderheid van *SDHB*-mutatiedragers een paraganglioom of feochromocytoom ontwikkelen (43%), maar is de mortaliteit verhoogd - een effect dat toegeschreven lijkt te kunnen worden aan de klinisch aangedane *SDHB*-mutatiedragers.

Samenvattend vergroot dit proefschrift onze kennis van *SDHB*-mutaties en het geassocieerde klinische beeld in Nederland. Ook worden nieuwe inzichten onthuld, met name in de penetrantie en mortaliteit van *SDHB*-geassocieerde ziekte.

Toekomstperspectieven

Het is intrigerend dat het oorzakelijke gen bepalend is voor een variatie in fenotype en prognose van patiënten met een paraganglioom of feochromocytoom,

ondanks het feit dat mutaties in verschillende *SDH*-genen een paraganglioomsyndroom kunnen veroorzaken door defecten in hetzelfde eiwitcomplex (*SDH*). Bovendien lijkt er bewijs te zijn dat deze divergentie in fenotype niet alleen afhankelijk is van het gen, maar ook van het type mutatie (oftewel missense/nonsense). De verdere ontleding en verfijning van mutatie-specifieke fenotypes zal mogelijk meer duidelijkheid gaan geven over de manier waarop de verstoring van het gen een paraganglioom veroorzaakt. Deze aanpak zal ons begrip over genotype-fenotype-correlaties aannemelijk bevorderen, hetgeen tot een meer gepersonaliseerde risicoschatting, counseling en therapie zal leiden.

Een beter inzicht in de tumorbiologie kan ook de beschikbare behandelingsstrategieën voor patiënten met paragangliomen en feochromocytomen doen toenemen, met name voor patiënten met meervoudige of gemetastaseerde paragangliomen. Tot nu toe zijn er geen curatieve behandelopties voor patiënten met gemetastaseerde ziekte. Verder onderzoek is nodig om therapieën met nieuwe werkingsmechanismen te evalueren. Het gebruik van tyrosinekinaseremmers, radionucliden en gerichte immunotherapie zou het behandelresultaat van patiënten met meervoudige of gemetastaseerde paragangliomen in de toekomst kunnen verbeteren.

Pathogene *SDHB*-mutaties lijken grotere risico's voor patiënten met zich mee te brengen, in tegenstelling tot bijvoorbeeld *SDHD*-mutaties. Dit wordt weerspiegeld in de verhoogde mortaliteit van *SDHB*-mutatiedragers zoals wordt beschreven in dit proefschrift. Deze bevinding zou een meer agressieve behandelingsstrategie voor patiënten met een *SDHB*-mutatie rechtvaardigen. Het effect van een vroege of agressievere interventie op kwaadaardige transformatie of mortaliteit is echter nog onbekend voor *SDHB*-geassocieerde patiënten. De huidige behandelingsstrategieën, zoals chirurgie en radiotherapie, brengen inherente risico's met zich mee. Bovendien varieert het klinische beloop sterk binnen de groep patiënten met een *SDHB*-mutatie, waardoor mogelijk niet alle patiënten zullen profiteren van een dergelijke verschuiving van de behandelingsstrategie. Hopelijk zal verder onderzoek behulpzaam zijn in het differentiëren van patiënten met of zonder baat bij specifieke interventies. Op deze manier kan het resultaat van de behandeling bij patiënten met een paraganglioom worden verbeterd, zonder ze onnodig bloot te stellen aan therapie-gerelateerde risico's.

In het verleden is het paragangliomen onderzoek een prachtig voorbeeld gebleken van hoe het bestuderen van een zeldzame conditie opheldering kan verschaffen in basale, algemeen geldende biologische en pathogene mechanismen. Op deze manier zijn ontdekkingen gedaan die in een bredere context toegepast kun-

nen worden. Het onderzoek draagt bij aan een beter begrip en herkenning van het metabolisme in tumorgenese. Ook worden hierin de eigenaardige wijzen van overerving en de genetische heterogeniteit aangetoond, die aan een specifieke ziekte ten grondslag kunnen liggen. Uitgedaagd door de vragen bij het *SDHB*-geassocieerde paraganglioomsyndroom is in dit proefschrift een nieuwe methode ontwikkeld voor het berekenen van penetrantie. Hierdoor is een duidelijke methodologie beschikbaar voor penetrantieberekeningen, die niet alleen geschikt is voor berekeningen van paragangliomen, maar ook voor penetrantieberekeningen in het algemeen. Dat is vooral nuttig bij zeldzame en laag-penetrante erfelijke ziektes wanneer gegevens over stamboomgrootte en -structuur ontbreken. Hopelijk zal toekomstig paragangliomen onderzoek niet alleen nieuwe inzichten geven in de pathogenese, klinische kenmerken en behandeling van paragangliomen, maar ook de geneeskunde in de volle breedte blijven verrijken.