



**RESEAU TENGEN DES LABORATOIRES D'ONCOGENETIQUE, TUMEURS ENDOCRINES RARES
GTE-DHOS-INCA
PARAGANGLIOMES ET PHEOCHROMOCYTOMES**

Référence : **ANPGM_116**
Page 1/10

Numéro de version : **v2**

- Date de 1^{ère} mise en application : 20/03/2011
- Numéro de l'ancienne version du document : ANPGM_116
- Date de révision : 27/11/2015

	Nom	Hôpital	Date
Rédacteur(s)	<i>Pr Anne-Paule Gimenez-Roqueplo Dr Nelly Burnichon</i>	<i>HEGP (APHP)</i>	27/11/2015
Vérificateur(s)	Conseil scientifique du Groupe des Tumeurs Endocrines (GTE)		03/12/2015
Réseau	TENGEN		27/11/2015
Approbateur(s)	<u>Pour le CA de l'ANPGM :</u>		
	Benoît ARVEILER	CHU Bordeaux	08/11/2016
	Cécile ACQUAVIVA	CHU Lyon	
	Anne-Sophie LEBRE	CHU Reims	
	Pascale SAUGIER-VEBER	CHU Rouen	

**RESEAU TENGEN DES LABORATOIRES D'ONCOGENETIQUE, TUMEURS ENDOCRINES RARES
GTE-DHOS-INCA
PARAGANGLIOMES ET PHEOCHROMOCYTOMES**

Référence : **ANPGM_116**
Page 2/10

Numéro de version : **v2**

I. Rappels sur la pathologie

Les paragangliomes et les phéochromocytomes (PPGL) sont des tumeurs neuro-endocrines rares, le plus souvent bénignes, qui se développent aux dépens des paraganglions. En 2004, l'OMS a établi les définitions suivantes : on appelle 'paragangliome' (PGL) une tumeur qui se développe aux dépens du système nerveux parasymphatique ou sympathique extra-surrénalien. Les paragangliomes sont dits fonctionnels lorsqu'ils sécrètent des catécholamines (dopamine, adrénaline, noradrénaline). Le terme 'phéochromocytome' (PCC) est réservé aux tumeurs de la glande médullosurrénale.

Ces tumeurs se classent parmi les maladies orphelines (MIM 171300). Elles sont caractérisées par la diversité de leurs localisations, la possibilité de tumeurs multiples, malignes, et leur intégration dans le tableau clinique de différents syndromes de prédisposition familiale.

Le PPGL est la tumeur endocrine la plus impactée par la génétique. Environ un tiers des PPGL sont génétiquement déterminés, secondairement à la présence d'une mutation constitutionnelle délétère sur un gène de susceptibilité dont la transmission est de type autosomique dominante. Dix-sept gènes de susceptibilité sont actuellement reconnus : les gènes *SDHx* -*SDHA* (MIM 614165), *SDHB* (MIM 115310), *SDHC* (MIM 605373), *SDHD* (MIM 168000), *SDHAF2* (MIM 601650)-, *FH* (MIM 136850), *MDH2* (MIM 154100), *VHL* (MIM 193300), *EPAS1* (*HIF2A*, MIM 603349), *RET* (MIM 164761), *NF1* (MIM 162200), *TMEM127* (MIM 613403), *MAX* (MIM 154950), *KIF1Bβ* (MIM 605995), *EGLN2* (*PHD1*, MIM 606424), *EGLN1* (*PHD2*, MIM606425). De plus, des mutations somatiques sont fréquentes sur les gènes *NF1*, *RET*, *VHL*, *EPAS1*, *MAX*, *ATRX* (MIM 300032), *MET* (MIM 164360), *HRAS* (MIM 190020) et dans la région promotrice du gène *TERT* (MIM 187270). Dans les grandes études de cohorte, le taux global de mutations constitutionnelles sur les gènes *SDHB*, *SDHD*, *SDHC*, *SDHA*, *SDHAF2*, *VHL*, *RET*, *NF1*, *TMEM127* et *MAX* est de 33.8%. Les mutations sur les gènes *KIF1Bβ*, *PHD1*, *PHD2*, *PHD3* ont été décrites chez un petit nombre de patients¹.

Les avancées récentes de la génétique du PPGL, démontrant que la recherche d'une mutation constitutionnelle sur un gène de susceptibilité est importante pour la prise en charge des patients atteints et de leurs familles, ont positionné le test génétique dans la stratégie diagnostique du PPGL. Compte tenu du fort pourcentage de mutation identifiée chez les patients ayant une présentation apparemment sporadique de la maladie (12%), il est maintenant recommandé que tout patient chez qui le diagnostic a été posé, quel que soit son âge et son type de tumeur, doive se voir proposer un test génétique². En effet, la positivité du test génétique aura une grande importance pour la prise en charge et la surveillance ultérieure de ce patient, mais aussi pour les membres de sa famille qui pourront bénéficier d'un dépistage génétique familial présymptomatique puis, en cas de positivité du test, d'un dépistage préclinique d'éventuelle(s) tumeur(s)³. Un meilleur dépistage des formes familiales doit permettre une détection précoce des lésions asymptomatiques associées et des récurrences. Le diagnostic génétique du PPGL devrait permettre de réduire la morbidité de ces tumeurs notamment de celles liées au gène *SDHB* qui sont à haut risque de récurrence et de malignité.

Alors que le test diagnostique du PPGL était réalisé de façon ciblée et séquentielle en fonction de l'orientation clinique (cf Figure 1), le nombre de plus en plus important de gènes de prédisposition a conduit les laboratoires à transférer le diagnostic génétique du PPGL du séquençage Sanger vers le séquençage de nouvelle génération (NGS).

Références :

¹ Favier J, Amar L, Gimenez-Roqueplo AP. Paraganglioma and pheochromocytoma: from genetics to personalized medicine. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11:101-11.

² Lenders JW, Duh QY, Eisenhofer G, Gimenez-Roqueplo AP, Grebe SK, Murad MH, Naruse M, Pacak K, Young WF Jr; Endocrine Society. Pheochromocytoma and paraganglioma: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:1915-42.

³ Gimenez-Roqueplo AP, Caumont-Prim A, Houzard C, Hignette C, Hernigou A, Halimi P, Niccoli P, Leboulleux S, Amar L, Borson-Chazot F, Cardot-Bauters C, Delemer B, Chabolle F, Coupier I, Libé R, Peitzsch M, Peyrard S, Tenenbaum F, Plouin PF, Chatellier G, Rohmer V. Imaging work-up for screening of paraganglioma and pheochromocytoma in SDHx mutation carriers: a multicenter prospective study from the PGL.EVA Investigators. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98:E162-73.

**RESEAU TENGEN DES LABORATOIRES D'ONCOGENETIQUE, TUMEURS ENDOCRINES RARES
GTE-DHOS-INCA
PARAGANGLIOMES ET PHEOCHROMOCYTOMES**

Référence : **ANPGM_116**
Page 3/10

Numéro de version : **v2**

II. Contexte clinique pour l'analyse génétique

A. Proposant

Tout patient chez lequel un PPGL est diagnostiqué doit se voir offrir une consultation d'oncogénétique au cours de laquelle, après analyse clinico-biologique de son dossier, un test génétique lui sera proposé.

Les paramètres indispensables à l'interprétation du test sont :

- 1) le nombre et la localisation des paragangliomes
- 2) la présence ou l'absence de métastases
- 3) le profil sécrétoire (résultats des dosages de métanéphrines, normétanéphrines et 3-méthoxytyramine)
- 4) l'histoire personnelle et familiale du patient (arbre généalogique).

Les résultats des examens immunohistochimiques (SDHB par exemple) réalisés sur la pièce opératoire sont optionnels mais pourront s'avérer nécessaires en cas d'identification d'un variant de signification inconnue.

B. Apparenté non atteint

Le dépistage génétique familial est préconisé dans les formes héréditaires de paragangliomes et de phéochromocytomes à l'âge adulte. Un dépistage présymptomatique d'éventuelles tumeurs pourra être organisé en cas de positivité du test.

Dans l'enfance, il est conseillé à partir de l'âge de 6 ans, notamment pour le PPGL *SDHx*-dépendant, car des examens d'imagerie par IRM et des explorations biologiques ainsi qu'une surveillance adaptée pourront être immédiatement institués en cas de positivité du test. Ces tests présymptomatiques doivent être organisés dans le cadre d'une consultation multidisciplinaire d'oncogénétique déclarée auprès de l'Agence de la Biomédecine.

III. Arbre décisionnel pour l'analyse moléculaire

A. Etape pré analytique

Pour l'analyse de l'ADN, le clinicien adresse au laboratoire 15 mL de sang total prélevés sur tube EDTA ainsi qu'une copie du consentement éclairé signé par le médecin prescripteur et le patient et un courrier ou une fiche (fiche de renseignements cliniques du réseau TENGEN des laboratoires d'oncogénétique constitutionnelle des tumeurs endocrines et/ou courrier disponible sur le site internet de la Société Française d'Endocrinologie (www.s fendocrino.org) justifiant la demande.

**RESEAU TENGEN DES LABORATOIRES D'ONCOGENETIQUE, TUMEURS ENDOCRINES RARES
GTE-DHOS-INCA
PARAGANGLIOMES ET PHEOCHROMOCYTOMES**

Référence : **ANPGM_116**
Page 4/10

Numéro de version : **v2**

B. Analyse des gènes de prédisposition

1- Proposant

La stratégie diagnostique, utilisée précédemment, à l'ère pré-NGS, est présentée dans la Figure 1. La stratégie actuelle repose désormais sur le NGS (Figure 2). En présence de critères cliniques et/ou d'histoire familiale évoquant un seul diagnostic possible, le test ciblé (sur un ou quelques gènes) est recommandé. Dans les autres cas, l'analyse des gènes de prédisposition se fait par NGS ciblé (panel de gènes de prédisposition au PPGL). En cas de négativité l'analyse par NGS sera complétée par la recherche de grands réarrangements par MLPA/QMPSF.

Les gènes *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SDHA*, *SDHAF2*, *FH*, *MDH2*, *VHL*, *EPAS1* (HIF2A), *RET*, *NF1*, *TMEM127*, *MAX* sont recommandés pour le panel ciblé des gènes de prédisposition au PPGL par le groupe d'experts rassemblant des experts européens du réseau ENSAT (European Network for the Study of Adrenal Tumors) et internationaux du groupe PRESSOR (Paraganglioma and Pheochromocytoma Research Support Organization). Les gènes *KIF1B β* , *EGLN2* (PHD1) et *EGLN1* (PHD2), dont les mutations ont été identifiées chez de très rares patients, restent optionnels.

Le réseau TENGEN considère que les gènes *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *VHL*, *RET*, *MAX* et *TMEM127* (gènes majeurs de prédisposition) constituent le set de gènes obligatoires à tester devant un PPGL car ils sont porteurs d'environ 80% des mutations identifiées chez les patients.

L'identification d'une variation génétique pathogène, probablement pathogène ou de signification inconnue par NGS, conduira à sa confirmation par séquençage Sanger sur l'ADN extrait du même prélèvement.

La discussion du caractère pathogène d'une variation de signification inconnue reposera sur le phénotype hormonal et l'histoire clinique du patient, sur les logiciels de prédiction, sur l'analyse bibliographique et des bases de données génétiques, sur les résultats des analyses immunohistochimiques menées sur le tissu tumoral, sur les résultats des tests fonctionnels lorsqu'ils existent (exemple pour les gènes *SDHx* : mesure de l'activité enzymatique de la succinate déshydrogénase, mesure du ratio succinate/fumarate) et sur les études de ségrégation.

Cette discussion pourra aussi conduire à la demande de tissu tumoral par le laboratoire de génétique pour recherche de la variation génétique au niveau somatique, caractérisation d'une éventuelle perte d'hétérozygotie et caractérisation des ARNm dans le cas d'une suspicion d'un effet de la variation sur l'épissage.

L'identification d'une mutation pathogène conduira à la demande d'un second prélèvement à visée confirmatoire.

**RESEAU TENGEN DES LABORATOIRES D'ONCOGENETIQUE, TUMEURS ENDOCRINES RARES
GTE-DHOS-INCA
PARAGANGLIOMES ET PHEOCHROMOCYTOMES**

Référence : **ANPGM_116**
Page 5/10

Numéro de version : **v2**

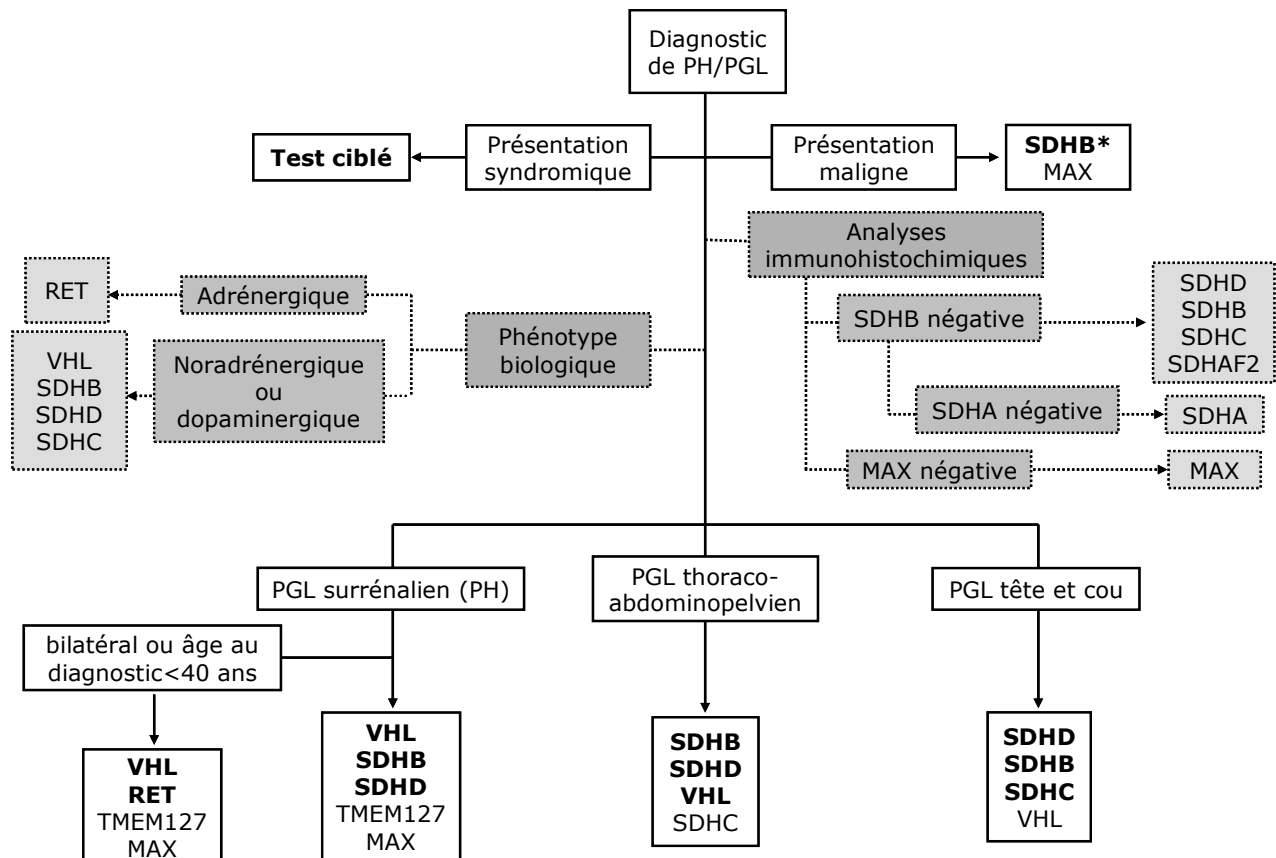


Figure 1 : Arbre diagnostique décisionnel à l'ère du pré-NGS

Lorsque le génotypage de plusieurs gènes est possible, les gènes à tester en priorité sont indiqués en gras et ordonnés selon une priorité descendante de haut en bas. Le phénotype biologique (profil de sécrétion catécholaminergique) et les résultats des analyses immunohistochimiques réalisées sur le tissu tumoral, lorsqu'ils sont disponibles, peuvent être utilisés en complément pour guider le génotypage.* Un test SDHB et MAX négatif chez un patient avec un PH/PGL malin doit conduire à la poursuite des analyses selon la localisation tumorale.

**RESEAU TENGEN DES LABORATOIRES D'ONCOGENETIQUE, TUMEURS ENDOCRINES RARES
GTE-DHOS-INCA
PARAGANGLIOMES ET PHEOCHROMOCYTOMES**

Référence : **ANPGM_116** Numéro de version : **v2**
Page 6/10

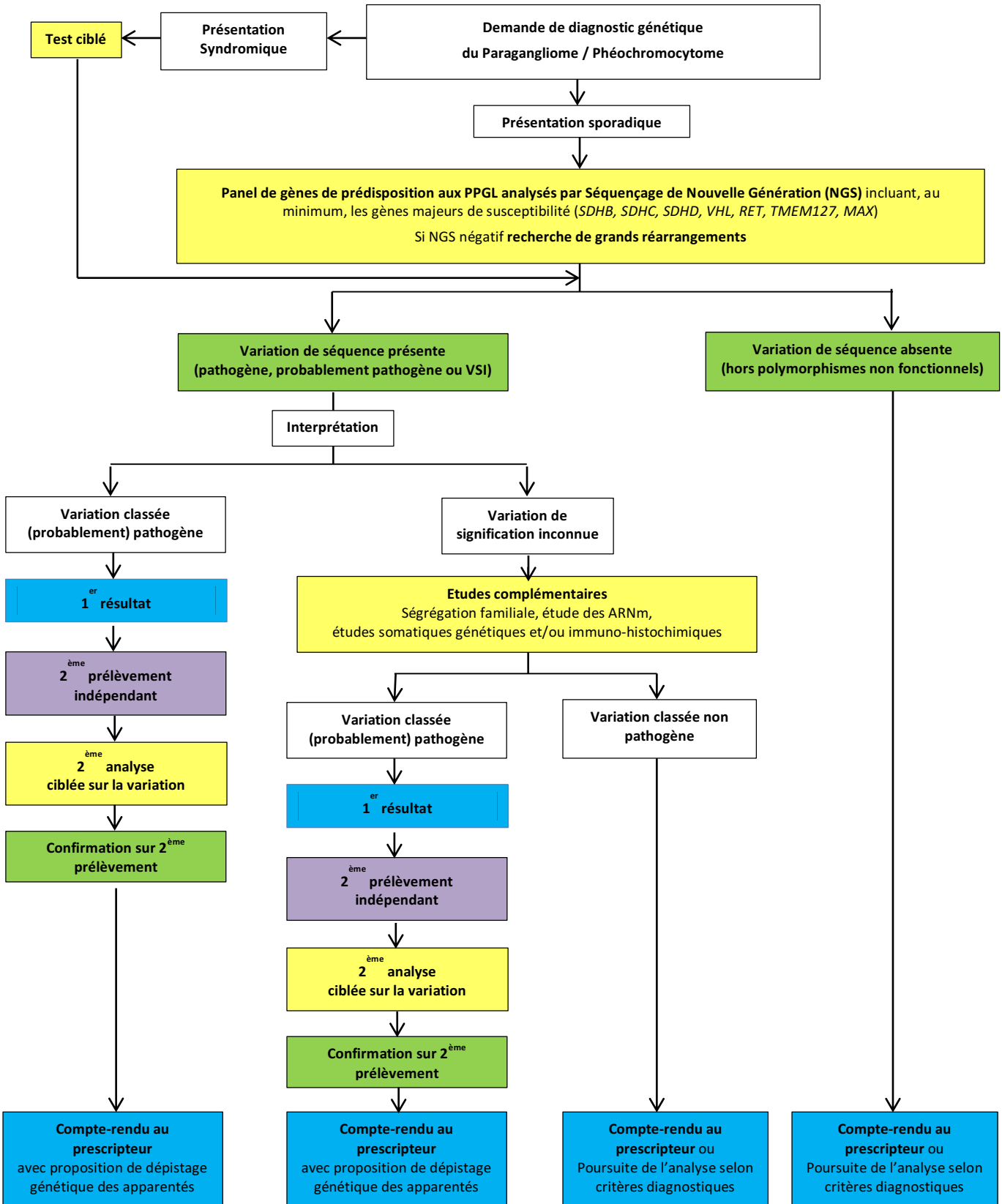


Figure 2 : Arbre diagnostique décisionnel à l'ère NGS

**RESEAU TENGEN DES LABORATOIRES D'ONCOGENETIQUE, TUMEURS ENDOCRINES RARES
GTE-DHOS-INCA
PARAGANGLIOMES ET PHEOCHROMOCYTOMES**

Référence : **ANPGM_116**
Page 7/10

Numéro de version : **v2**

2- Apparenté

Dans le cas où une mutation a été préalablement identifiée chez le cas index de la famille du sujet à tester, l'étude moléculaire du gène, où se trouve la mutation, est restreinte au séquençage Sanger ou à l'analyse par MLPA ou QMPSF de l'exon correspondant.

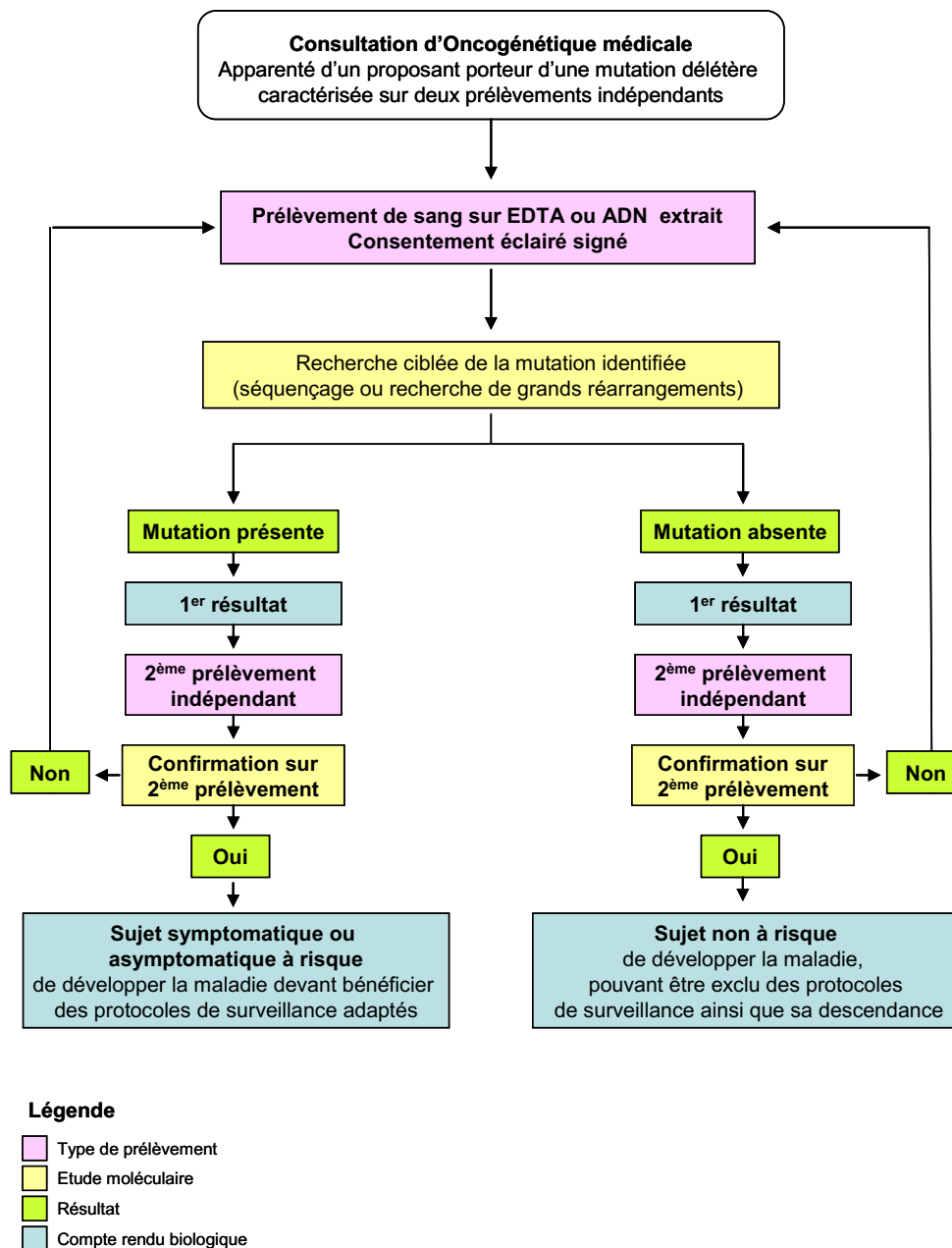


Figure 3 : Stratégie diagnostique pour un apparenté

**RESEAU TENGEN DES LABORATOIRES D'ONCOGENETIQUE, TUMEURS ENDOCRINES RARES
GTE-DHOS-INCA
PARAGANGLIOMES ET PHEOCHROMOCYTOMES**

Référence : **ANPGM_116**
Page 8/10

Numéro de version : **v2**

IV. Nombre de patients analysés par an et cotation de l'analyse

Le nombre de patients analysés en 2015 et les prévisions d'activité 2016 avec la cotation RIHN correspondante figurent sur le tableau ci-dessous.

La cotation en RIHN (ère du NGS) du panel de gènes de prédisposition au PPGL est le forfait N351 (BHN 5570).

Nombre de patients analysés par an et cotation de l'analyse		
Laboratoire	2015	Prévisions 2016
Paris-HEGP	<ul style="list-style-type: none"> - 321 cas index testés par NGS - 356 apparentés testés en Sanger - 10 tests fonctionnels sur ARN extraits de tubes Paxgene 	<ul style="list-style-type: none"> - 350 cas index testés par NGS (N351) - 400 apparentés testés (80% cas index identifiés en Sanger et 20% identifiés en NGS) dont 320 cotés N906 et 80 cotés N353 - 12 tests fonctionnels (N315)
Lyon	<ul style="list-style-type: none"> - 80 cas index testés en Sanger - 55 apparentés testés en Sanger 	<ul style="list-style-type: none"> - 90 cas index testés par NGS (N351) - 60 apparentés testés en Sanger (N906)
Marseille	<ul style="list-style-type: none"> - 130 cas index testés en Sanger - 40 cas apparentés testés en Sanger 	<ul style="list-style-type: none"> - 140 cas index, 50% en Sanger (N350) 50% en NGS (N351) - 40 cas apparentés testés en Sanger (N906)
Angers	<ul style="list-style-type: none"> - 30 cas index testés en Sanger - 10 apparentés testés en Sanger - 1 cas avec VSI envoyé à HEGP pour IHC 	<ul style="list-style-type: none"> - 33 cas index testés par NGS (N351) - 12 apparentés testés en Sanger (N906)
Lille	<ul style="list-style-type: none"> - 39 cas index testés en Sanger - 11 cas index analysés en NGS panel réduit - 10 cas index en cours, NGS panel large - 37 apparentés testés en Sanger 	<ul style="list-style-type: none"> - 70 cas index testés par NGS (N351) - 40 apparentés testés en Sanger (N906)
Toulouse	<ul style="list-style-type: none"> - 8 cas index testés en Sanger - 12 cas index testés en NGS - 5 cas apparentés testés en Sanger 	<ul style="list-style-type: none"> - 35 cas index testés en NGS (N351) - 10 apparentés testés en NGS (N906)



**RESEAU TENGAN DES LABORATOIRES D'ONCOGENETIQUE, TUMEURS ENDOCRINES RARES
GTE-DHOS-INCA
PARAGANGLIOMES ET PHEOCHROMOCYTOMES**

Référence : **ANPGM_116**
Page 9/10

Numéro de version : **v2**

IV. Liste des laboratoires effectuant le diagnostic moléculaire

(les gènes de prédisposition au PPGL testés par les laboratoires et les méthodologies d'analyse sont décrits dans l'annexe 1)

Pr GIMENEZ-ROQUEPLO / Dr BURNICHON
Assistance Publique-Hôpitaux de Paris
Hôpital Européen Georges Pompidou
Laboratoire de Génétique
20-40 rue Leblanc, 75908 Paris Cedex 15
anne-paule.gimenez-roqueplo@aphp.fr ou nelly.burnichon@aphp.fr

Dr GIRAUD
CHU de Lyon
Hôpital Edouard Herriot
Service de Génétique Moléculaire et Clinique, Bat 7
5 Place d'Arsonval, 69437 Lyon Cedex 03
sophie.giraud@chu-lyon.fr

Pr BARLIER
Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille
Hôpital de la Conception
Laboratoire de Biologie Moléculaire
147 boulevard Baille, 13385 Marseille Cedex 15
anne.barlier@ap-hm.fr

Dr PRUNIER
CHU d'Angers
Plateau de Biologie et Médecine Moléculaire
Institut de Biologie et Santé
4 rue Larrey, 49033 Angers Cedex 9
deprunier@chu-angers.fr

Pr PIGNY
CHRU de Lille
Laboratoire de Biochimie et Oncologie Moléculaire
Centre de Biologie et Pathologie
Boulevard du Pr J Leclercq, 59037 Lille Cedex
pascal.pigny@chru-lille.fr

Pr SAVAGNIER/ Dr GENNERO
Secteur de Biologie Moléculaire
Institut Fédératif de Biologie
330 avenue de Grande Bretagne, TSA 40031, 31059 Toulouse cedex 9
savagner.f@chu-toulouse.fr ou gennero.i@chu-toulouse.fr

Annexe: Tests réalisés par les laboratoires réalisant le diagnostic moléculaire du phéochromocytome paragangliome (PPGL) héréditaire

Test génétique du PPGL par séquençage Sanger													
Ville	Responsable	<i>SDH B</i>	<i>VHL</i>	<i>SDHD</i>	<i>SDHC</i>	<i>RET</i>	<i>SDHA</i>	<i>TMEM127</i>	<i>MAX</i>	<i>SDHAF2</i>	<i>EPAS1</i>	<i>FH</i>	<i>MDH2</i>
Paris HEGP	Pr Anne-Paule Gimenez-Roqueplo Dr Nelly Burnichon	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq	Seq	Seq
Lyon	Dr Sophie Giraud	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq		Seq	Seq				
Marseille	Pr Anne Barlier	Seq+ RGT	Seq + RGT	Seq+ RGT	Seq+ RGT	Seq	Seq+ RGT	Seq	Seq+ RGT	Seq+ RGT	Seq	Seq	
Angers	Dr Delphine Prunier	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq	Seq	Seq	Seq	Seq	Seq	Seq	
Lille	Pr Pascal Pigny	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq		Seq	Seq				
Toulouse	Pr Férédrique Savagner Dr Isabelle Gennero	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq + RGT	Seq	Seq	Seq	Seq	Seq	Seq	Seq	

Test génétique du PPGL par séquençage nouvelle génération (NGS)		
Ville	Responsable	Panel NGS
Paris HEGP	Pr Anne-Paule Gimenez-Roqueplo Dr Nelly Burnichon	<i>SDHB, SDHC, SDHD, VHL, RET</i> (exons 5, 8, 10, 11, 13 à 16), <i>TMEM127, MAX, EPAS1</i> (exons 9 et 12), <i>NF1, SDHA, FH, MDH2, SDHAF2, ATRX, HRAS</i> (exons 2 à 6), <i>EGLN1, EGLN2</i> (Multiplicom MASTR SDH V2, ADN constitutionnel et somatique)
Lyon	Dr Sophie Giraud	<i>SDHB, SDHC, SDHD, VHL, RET, TMEM127, MAX, FH</i> (capture), <i>NF1</i> (multiplex life), <i>SDHA, SDHAF2, MDH2, EPAS1</i> en cours d'évaluation
Marseille	Pr Anne Barlier	<i>SDHB, SDHC, SDHD, VHL, RET</i> (exons 5, 8, 10, 11, 13 à 16), <i>TMEM127, MAX, EPAS1</i> (exons 9 et 12), <i>NF1, SDHA, FH, MDH2, SDHAF2</i> (Illumina))
Angers	Dr Delphine Prunier	<i>SDHB, SDHC, SDHD, VHL, RET</i> (exons 1 à 21), <i>TMEM127, MAX, EPAS1</i> (exons 9 et 12), <i>SDHA, FH, SDHAF2</i> (Ion proton, AmpliSeq Life technologie, ADN constitutionnel)
Lille	Pr Pascal Pigny	Panel mosaïque <i>VHL</i> (Roche Junior et PGM Life Tech) et <i>MEN1</i> (Roche Junior et PGM Life Tech) Panel réduit <i>SDHB, SDHC, SDHD, VHL</i> (PGM Life Tech, AmpliSeq avec enrichissement) Panel large tumeurs endocrines : <i>VHL, SDHB, SDHD, SDHC, MAX, TMEM127, SDHAF2, SDHA, PHD2, KIF1Bb, MEN1, CASR, HPRT2, AIP, CDKN1B, CYP24A1, PTH, GCM2, AP2S1, GNA11, RET</i> (Illumina, Haloplex)
Toulouse	Pr Férédrique Savagner Dr Isabelle Gennero	<i>SDHB, SDHC, SDHD, VHL, RET</i> (21 exons), <i>TMEM127, MAX, EPAS1, NF1, SDHA, FH, MDH2, IDH2, SDHAF2, ATRX, DAXX, EGLN1, KIF1Bb, MEN1, PHLDA3</i> (Ampliseq, Life)