



Genetica delle forme di iperplasia bilaterale del surrene secernenti cortisolo

Gianluca Occhi¹ · Daniele Puggina¹ · Aleksandra Zivanovic¹ · Filippo Ceccato²

Accettato: 18 maggio 2022
© The Author(s) 2022

Sommario

Le iperplasie surrenaliche bilaterali sono una delle cause di ipercortisolemia endogena cronica associate alla sindrome di Cushing e, in base alla dimensione della lesione, vengono suddivise in forme micro- (PPNAD e iMAD) e macronodulari (PBMAH). Negli ultimi anni sono stati compiuti numerosi passi in avanti nella comprensione delle cause genetiche e molecolari di queste diverse forme di iperplasia. Fra queste, di primaria importanza sono quelle che coinvolgono le mutazioni e la disregolazione di effettori/modulatori della via cAMP/protein chinasi A (PKA). Il *signalling* della PKA, infatti, rappresenta il *pathway* molecolare principale che controlla la secrezione di cortisolo nelle cellule corticosurrenali, mediato dall'ACTH. Sebbene le mutazioni della subunità regolatoria R1 α della PKA rappresentino la causa principale di PPNAD familiare e sporadica, l'inattivazione di due fosfodiesterasi, PDE11A e PDE8B, è stata associata a iMAD, ma anche ad alcuni casi di PPNAD e PBMAH. È interessante notare che la PBMAH osservata in sindromi familiari, quali FAP, MEN1 e HLRCC, è stata inizialmente associata all'espressione aberrante dei recettori accoppiati a proteine G con conseguente attivazione della via cAMP/PKA. La recente scoperta dell'associazione fra mutazioni germinali nel gene *KDM1A* e *ARMC5* ha dato un definitivo slancio all'importanza della componente ereditaria nella PBMAH.

Parole chiave Sindrome di Cushing · Iperplasia macro-/micronodulare bilaterale · Genetica · cAMP/PKA pathway · Tumori ereditari

Introduzione

Le iperplasie surrenaliche bilaterali sono una delle cause di ipercortisolemia endogena cronica associate alla sindrome di Cushing (Figura 1) e, in base alla dimensione della lesione, vengono suddivise in forme micro- (PPNAD e iMAD) e macronodulari (PBMAH).

Negli ultimi anni sono stati compiuti numerosi passi in avanti nella comprensione delle cause genetiche e molecolari di queste diverse forme di iperplasia (Figura 2). Fra queste, di primaria importanza sono quelle che coinvolgono le mutazioni e la disregolazione di effettori/modulatori della via cAMP/protein chinasi A (PKA). Il *signalling* della

PKA, infatti, rappresenta il *pathway* molecolare principale che controlla la secrezione di cortisolo nelle cellule corticosurrenali, mediato dall'ACTH. Sebbene le mutazioni della subunità regolatoria R1 α della PKA rappresentino la causa principale di PPNAD familiare e sporadica, l'inattivazione di due fosfodiesterasi, PDE11A e PDE8B, è stata associata a iMAD, ma anche ad alcuni casi di PPNAD e PBMAH. È interessante notare che la PBMAH osservata in sindromi familiari, quali FAP, MEN1 e HLRCC, è stata inizialmente associata all'espressione aberrante dei recettori accoppiati a proteine G con conseguente attivazione della via cAMP/PKA. La recente scoperta dell'associazione fra mutazioni germinali nel gene *KDM1A* e *ARMC5* ha dato un definitivo slancio all'importanza della componente ereditaria nella PBMAH.

Proposto da Carla Scaroni.

✉ G. Occhi
gianluca.occhi@unipd.it

¹ Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Padova, Padova, Italia

² U.O.C. Endocrinologia, Dipartimento di Medicina-DIMED, Azienda ospedaliera-Università di Padova, Padova, Italia

Iperplasia surrenalica micronodulare bilaterale (MiAH)

Le iperplasie surrenaliche micronodulari sono una forma rara di iperfunzionalità corticosurrenalica definite dalla presenza di noduli di diametro <10 mm. Le due forme prin-

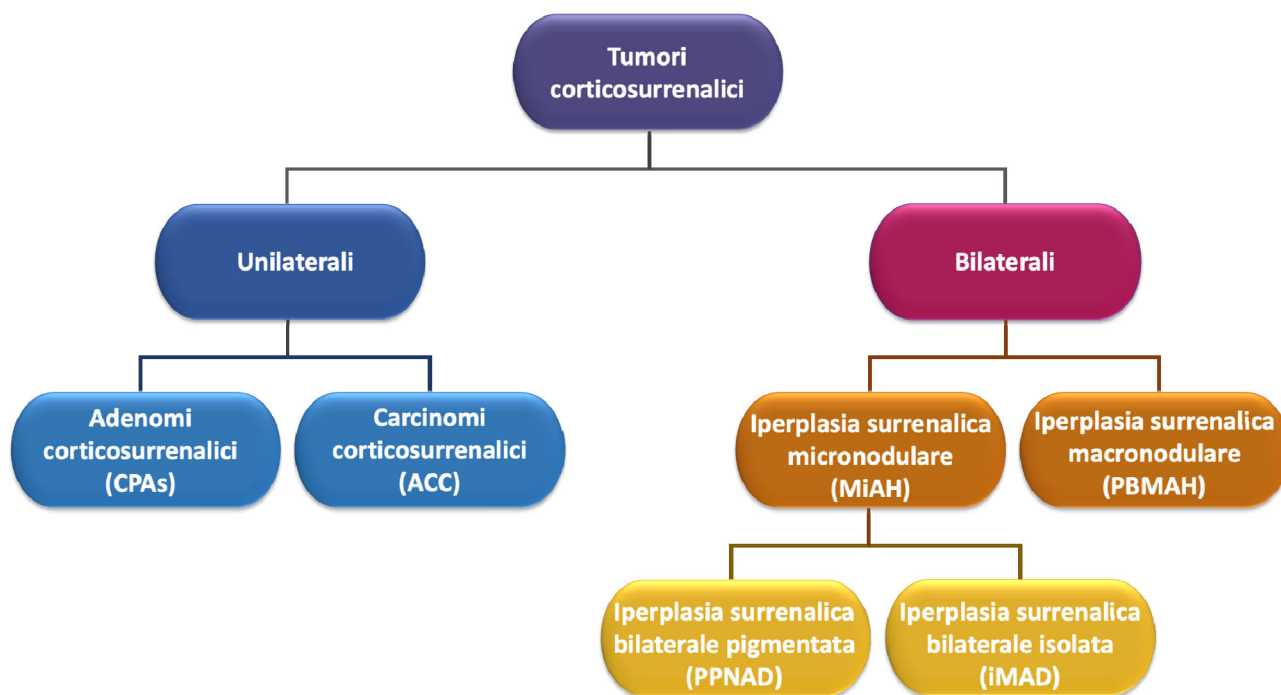


Fig. 1 Classificazione dei tumori corticosurrenali

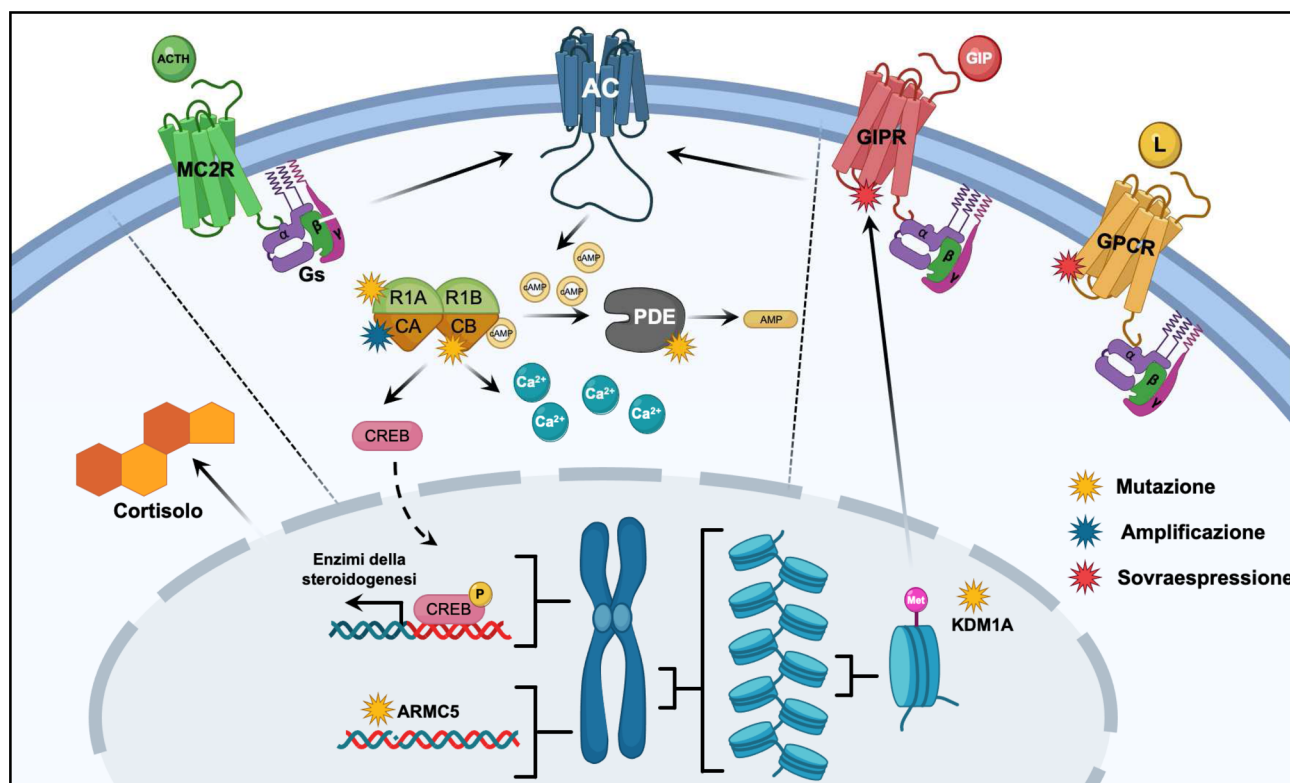


Fig. 2 Azione dell'ACTH nella sintesi del cortisolo e principali alterazioni genetiche coinvolte nell'insorgenza di iperplasie macro/micronodulari corticosurrenali. *Gs*, proteina G stimolatoria; *PDE*, fosfodiesterasi; *L*, ligando di GPCR; *AC*, adenilato ciclasi

cipali di MiAH, l'iperplasia surrenalica primitiva nodulare pigmentata (PPNAD) e la malattia adrenocorticale micronodulare isolata (iMAD), si distinguono in base allo stato della corteccia surrenalica circostante la lesione, il cosiddetto tessuto internodulare, e alla presenza o meno di pigmentazione. Il tessuto corticosurrenale internodulare può, infatti, essere iperplastico oppure atrofico, per ragioni tuttavia ancora poco chiare. La pigmentazione macroscopica che può caratterizzare queste lesioni è dovuta a deposizioni subcellulari di granuli di lipofusina, composti da residui non degradabili dell'ossidazione di lipidi e proteine.

Sebbene entrambe possano presentarsi in forma isolata, sia sporadica che familiare, quella più comune è la PPNAD familiare, come parte del complesso di Carney (CNC).

PPNAD

La PPNAD è una forma rara di ipercortisolismo ACTH-indipendente caratterizzata da surreni di dimensioni normali o ingranditi con micronoduli bilaterali pigmentati e tessuto internodulare atrofico. Presente in forma sporadica, nella maggior parte dei casi (~60%) la PPNAD è la principale manifestazione endocrina di CNC, una sindrome caratterizzata da neoplasie multiple, un'anomala pigmentazione cutanea e mucosa e mixomi cutanei e cardiaci [1]. In ~70% dei casi il CNC è trasmesso come un carattere autosomico dominante a penetranza pressoché completa. Nel rimanente 30% CNC si manifesta in forma sporadica, spesso come conseguenza di mutazioni *de novo*. È presente un certo grado di eterogeneità genetica, con due loci genici associati alla malattia: il 2p16 e il 17q22-24. Quest'ultimo include il gene *PRKARIA* mutato in circa tre quarti dei pazienti CNC. L'aploinsufficienza che ne consegue, rimuovendo un modulatore dell'attività catalitica di PKA, attiva costitutivamente la via cAMP/PKA nei tessuti bersaglio.

Il ruolo essenziale di *PRKARIA* nella differenziazione e nell'omeostasi del corticosurrene, così come gli effetti della sua perdita nel riprodurre molte delle caratteristiche della PPNAD, è stato dimostrato grazie a un modello murino *knockout* condizionale surrenalico (AdKO) [2] – la deplezione completa di *Prkar1a* è infatti letale in utero. Come nei pazienti PPNAD, le femmine AdKO sviluppano un CS ACTH-indipendente, con alcune analogie fenotipiche. La perdita dell'effetto regolativo di *Prkar1a* su PKA nel surrene di questi animali stimola l'attività di PKA, la sovraregolazione degli enzimi steroidogenici e l'ipersecrezione di corticosterone – l'equivalente murino del cortisolo umano. Inoltre, mentre non si osservano effetti sulla massa surrenalica, l'inattivazione di *Prkar1a*, porta a un drastico cambiamento istologico e differenziativo [2].

La caratterizzazione degli animali AdKO ha inoltre fornito informazioni sul meccanismo tumorigenico associato all'inattivazione di *PRKARIA*. Nelle cellule corticosurrenali

umane e murine, l'aumentata attività di PKA si traduce in una maggiore resistenza all'apoptosi, contribuendo di fatto al processo tumorigenico. Negli animali AdKO questa resistenza è associata a una maggior attivazione della via mTOR con conseguente fosforilazione dei suoi bersagli, inclusa la proteina proapoptotica BAD che viene così inibita. In questi modelli, l'inibizione di mTORC1 mediante trattamento con rapamicina ripristina la sensibilità delle cellule corticosurrenali all'apoptosi, suggerendo che mTOR potrebbe rappresentare un possibile bersaglio terapeutico nella PPNAD.

iMAD

A differenza di PPNAD, l'iMAD è caratterizzata da surreni quasi completamente privi di pigmentazione e un'iperplasia del tessuto internodulare [3]. Nella patogenesi dell'iMAD il ruolo principale è svolto dalle fosfodiesterasi (PDE). La combinazione di *genome wide SNP genotyping* con il clonaggio funzionale ha permesso di identificare mutazioni inattivanti in *PDE11A* in tre famiglie [4]. Nonostante la doppia specificità di substrato (PDE11A può idrolizzare sia cAMP che cGMP) nel contesto delle cellule corticosurrenali, si può facilmente ipotizzare che il principale effetto patogeno legato all'inattivazione di PDE11A coinvolga il cAMP, con un'attivazione anomala della via cAMP/PKA. Questa ipotesi è supportata dall'osservazione che l'inibizione di PDE11 nella linea adrenocorticale umana H295R porta all'aumento dei livelli di cAMP e cortisolo. Ma l'associazione delle PDE all'iMAD è stata confermata dalle evidenze emerse a carico della PDE8B, una PDE cAMP specifica e fortemente espressa nel corticosurrene per la quale mutazioni germinali sono state descritte in almeno una paziente con CS e iMAD [4].

Ma il coinvolgimento delle PDE nei disturbi surrenalici non si limita a questa forma di iperplasia bilaterale. Mutazioni inattivanti in *PDE11* e *PDE8B* sono state, infatti, riportate anche in PPNAD e PBMAH, in accordo con il fatto che alterazioni della via cAMP/PKA accomunano questi disturbi. È interessante notare che un numero significativamente maggiore di PPNAD è stato riportato in pazienti CNC con mutazioni *PRKARIA* in presenza di varianti in *PDE11A*. Questo suggerisce che in questo contesto alterazioni in PDE11A (ma potrebbe valere anche per PDE8B) possano rappresentare un evento secondario che contribuisce all'attivazione della via cAMP/PKA e, di conseguenza, all'ipercortisolismo [3].

Va infine sottolineato che le mutazioni nelle PDE spiegano solo una parte degli iMAD. Sebbene le cause genetiche associate agli altri casi rimangano da chiarire, l'ampia eterogeneità istologica che si rileva nelle iMAD suggerisce il coinvolgimento di mutazioni a carico di geni che interessano diversi regolatori della via cAMP/PKA.

Iperplasia surrenalica macro-nodulare bilaterale primaria (PBMAH)

La PBMAH – già definita come malattia adrenocorticale macronodulare massiccia (MMAD), iperplasia surrenalica macronodulare primaria (PMAH), iperplasia surrenalica macronodulare ACTH-indipendente (AIMAH) o iperplasia macronodulare bilaterale – è una rara causa di CS caratterizzata dalla presenza di macronoduli con un diametro >10 mm. Essa può presentarsi in maniera sporadica oppure in forma ereditaria con trasmissione autosomica dominante. Molto raramente la malattia si inserisce nel contesto di sindromi tumorali (vedi sotto).

Generalmente viene diagnosticata nella sesta decade di vita e, come per altre forme di CS, la PBMAH ha una maggior prevalenza nelle donne [5, 6]. Anche se sono state riportate forme gravi, la CS osservata nei pazienti con PBMAH è spesso più lieve rispetto a quella osservata in altri tumori o iperplasie del corticosurrene e viene spesso scoperta come incidentaloma surrenalico [5]. Questo rende, pertanto, complesso definirne accuratamente la prevalenza nella popolazione generale.

Sebbene alterazioni della via cAMP/PKA siano state riportate [7], l'alterazione molecolare più comune nelle lesioni dei pazienti PBMAH è l'espressione aberrante dei recettori accoppiati a proteine G (GPCR) [8]. L'espressione ectopica o eutopica di GPCR mima, in risposta a ormoni diversi dall'ACTH, la risposta cellulare solitamente innescata dall'attivazione di MC2R. Questo porta all'attivazione della via cAMP/PKA e conseguente stimolazione della steroidogenesi [8]. I GPCR espressi in maniera ectopica includono quelli per il peptide insulinotropico glucosio-dipendente (GIPR), i recettori b-adrenergici (ADRB), quelli per la vasopressina (AVPR2, AVPR3), la serotonina (HTR7), il glucagone (GCGR) e l'angiotensina II (AT1R). In altri casi, l'iperfunzionalità surrenalica è garantita dall'espressione aumentata di recettori quali quelli per la vasopressina (AVPR1), l'ormone luteinizzante/gonadotropina corionica umana (LHCGR) o la serotonina (HTR4) [8]. L'uso *in vivo* di test dinamici selettivi può consentire di chiarire se e quali recettori siano coinvolti nell'ipercortisolemia e indirizza, almeno in alcuni casi, la scelta terapeutica [9].

Sebbene l'espressione ectopica di GIPR sia stata associata alla microduplicazione del suo locus genico in un caso PBMAH, lavori recenti riconducono questo fenomeno a mutazioni germinali nel gene che codifica per la demetilasi istonica KDM1A [10, 11]. KDM1A è coinvolto nell'omeostasi genomica e nella regolazione dell'espressione genica e agisce a livello surrenalico come un oncosoppressore. La perdita di eterozigotità (LOH) nel locus 1p è stata, infatti, osservata nelle lesioni surrenaliche di pazienti PBMAH con mutazioni germinali in KDM1A. Studi funzionali basati su CRISPR-Cas9 hanno confermato un relazione diretta

fra l'inattivazione di KDM1A e l'espressione differenziale di GIPR [10].

Con approcci simili, basati sulla genomica integrata, nel 2013 Assie e collaboratori hanno evidenziato l'associazione fra mutazioni germinali nel gene *ARMC5* (*ARMC5^{MUT}*) e la predisposizione allo sviluppo della PBMAH [12]. A differenza di altre sindromi tumorali (vedi sotto), dove l'associazione fra mutazioni germinali e PBMAH è valida in piccoli *cluster* di pazienti, *ARMC5^{MUT}* sono state riportate nel 25–50% dei casi. Sebbene la sua funzione rimanga largamente sconosciuta, nel corticosurrene *ARMC5* si comporta come un oncosoppressore, come conferma il fatto che mutazioni *loss of function* (LOF) sono presenti sia a livello germinale che somatico nello stesso soggetto. È interessante notare come noduli diversi dello stesso soggetto portino mutazioni somatiche diverse suggerendo che la presenza una mutazione germinale di *ARMC5* possa aumentare l'instabilità del suo locus genico [3].

L'associazione fra *ARMC5^{MUT}* e l'iperplasia surrenalica in pazienti PBMAH ha indotto a definire una forma familiare di PBMAH. In queste famiglie, lo screening molecolare può precedere la valutazione ormonale e l'imaging, limitandolo ai soli soggetti portatori di *ARMC5^{MUT}* [13]. Nell'ambito di queste, la severità della CS può variare considerevolmente. Inoltre, dal confronto fra casi PBMAH con e senza *ARMC5^{MUT}*, è emersa una maggior frequenza di CS conclamata e un'ipertensione più grave nel primo gruppo. Questo porta a concludere che il fenotipo più lieve osservato nell'ambito di famiglie PBMAH sia indice di una malattia ancora nelle sue fasi iniziali.

Studi in modelli nei quali *ARMC5* è stato inattivato, ne suggeriscono un ruolo nel controllo della steroidogenesi corticosurrenale. Sorprendentemente, però, l'inattivazione di *ARMC5* si associa a una diminuzione dell'espressione degli enzimi steroidogenici e dei livelli di glucocorticoidi. È stato inizialmente suggerito che l'inefficiente steroidogenesi che caratterizza ogni singola cellula potrebbe essere compensata dal considerevole aumento del loro numero nel macronodulo (dovuto anche allo stimolo pro-apoptotico normalmente esercitato da *ARMC5*) giustificando di fatto l'ipercortisolemia in questi soggetti. Nei modelli murini *knockout* per *Armc5* (*Armc5^{KO}*), tuttavia, un ipercorticosteronismo è presente in assenza di macronoduli. Rimane ancora da chiarire se questo sia riconducibile a differenze specie-specifiche, oppure a ulteriori meccanismi ancora sconosciuti che nel PBMAH potrebbero essere responsabili dello sviluppo dei macronoduli.

Infine, l'analisi di espressione in *Armc5^{KO}* e nei soggetti affetti di una famiglia PBMAH *ARMC5^{MUT}* ha evidenziato l'espressione aberrante di alcuni GPCR, inclusi il recettore alfa-2 adrenergico e il recettore 1a dell'argininavasopressina, suggerendo che l'inattivazione di *ARMC5* possa giocare un ruolo in questo fenomeno caratteristico di

PBMAH. Nessun caso di CS pasto-dipendente è stato tuttavia riportato in pazienti con *ARMC5*^{MUT}, confermando che si tratta di un'entità clinica distinta la cui eziopatogenesi è direttamente legata alla presenza di mutazioni *KDM1A*.

Le recenti scoperte di mutazioni in *KDM1A* e *ARMC5* associate al PBMAH ha palesato quello che per anni era stato ipotizzato sulla base della bilateralità delle lesioni e della presenza di rari casi familiari, cioè l'importanza della componente ereditaria. Questo è ulteriormente supportato dal fatto che la PBMAH può essere inclusa fra i segni clinici di alcune sindromi tumorali ereditarie, che saranno descritte nei prossimi paragrafi.

Poliposi adenomatosa familiare (FAP)

Mutazioni germinali in eterozigosi del gene *APC* provocano la FAP, una sindrome ereditaria caratterizzata dallo sviluppo di centinaia/migliaia di polipi adenomatosi colon-rettali che, se non trattati, presentano un rischio quasi certo di evoluzione in neoplasia maligna. I pazienti FAP, inoltre, presentano un rischio aumentato di adenoma, carcinoma del surrene e PBMAH. Questo è dovuto al ruolo che *APC* svolge nella regolazione della via *Wnt/β-catenina*. *APC*, che è coinvolto nel complesso di degradazione della *β-catenina*; una volta inattivato, induce l'accumulo nucleo-citoplasmatico di questo fattore co-trascrizionale, con conseguente attivazione del pathway *Wnt/β-catenina*. Il *rescue* genetico del fenotipo dovuto all'inattivazione casuale della *β-catenina* nelle lesioni corticosurrenali in topi *Apc*^{KO} conferma il ruolo di *β-catenina* nel mediare l'effetto dell'inattivazione di *Apc* nella tumorigenesi corticosurrenale [14]. *APC* agisce come oncosoppressore anche nel surrene e, analogamente ad *ARMC5*, lesioni diverse in un paziente PBMAH presentano mutazioni somatiche diverse.

Neoplasia endocrina multipla di tipo 1 (MEN1)

La MEN1 è caratterizzata dalla presenza di tumori endocrini e non è causata da mutazioni inattivanti dell'oncosoppressore *MEN1* che codifica per menina. La menina è una proteina *scaffold* che, interagendo con altre proteine, regola vari processi cellulari, fra cui l'espressione genica, la stabilità genomica e la trasduzione di segnali cellulari. L'aploinsufficienza di *Men1* in modelli murini si associa allo sviluppo di adenomi delle paratiroidi, tumori ipofisari e del corticosurrene, caratteristiche simili alla sindrome umana [3].

La frequenza dei tumori corticosurrenali nei pazienti MEN1 può variare a seconda degli studi e delle tecniche di screening utilizzate. In uno studio retrospettivo, le lesioni surrenaliche si manifestano più precocemente nei pazienti MEN1 rispetto agli incidentalomi sporadici, supportandone il vincolo causale. Dei 715 pazienti inclusi in questo studio 146 presentavano surreni ingrossati. Nel 58,1% dei casi la

lesione aveva dimensioni >10 mm e nel 12,5% dei casi era bilaterale [15], confermando il ruolo che l'inattivazione di *MEN1* gioca nella determinazione fenotipica di PBMAH.

Leiomiomatosi ereditaria e carcinoma a cellule renali (HLRCC)

Mutazioni germinali in eterozigosi del gene fumarato idratasi (*FH*), coinvolto nella conversione del fumarato in malato, causano HLRCC. L'inattivazione biallelica di *FH* porta a un accumulo di fumarato nei mitocondri e nel citoplasma che, a cascata, provoca l'attivazione del fattore 1 indotto dall'ipossia (HIF1) inducendo un aumento dell'attività glicolitica, neovascolarizzazione e, più in generale, tumorigenesi. HLRCC è caratterizzato da leiomiomatosi, leiomiomi cutanei e uterini e carcinomi renali papillari. In una coorte di 255 pazienti HLRCC, lesioni surrenaliche sono state riportate in 20 soggetti [16]. In quattro di questi le lesioni erano multifocali, in tre bilaterali. Questo dato suggerisce il possibile coinvolgimento di mutazioni LOF nella *FH* nello sviluppo della PBMAH. Ad oggi, mutazioni germinali di *FH* sono state descritte in pazienti HLRCC, ma mai a livello somatico.

Sindrome di McCune Albright (MAS)

La trasduzione del segnale extracellulare a livello dei GPCR (ad esempio MC2R nelle cellule corticosurrenali) si basa sulle proteine G eterotrimeriche, così definite perché costituite dalle tre subunità α , β , γ . La subunità α è una GTPasi, che alterna uno stato attivo a uno inattivato a seconda che leghi GTP o GDP. Mutazioni post-zigotiche nel gene *GNAS1* (il cosiddetto oncogene *gsp*), che codifica per la subunità α della proteina G, in una distribuzione a mosaico provocano la MAS. Queste mutazioni, rimuovendo l'attività GTPasica, ne inducono l'attivazione costitutiva che porta a uno stimolo persistente verso l'adenilato ciclasi a produrre cAMP. La MAS è caratterizzata da una displasia ossea fibrosa poliostotica congenita, dalla presenza di macchie cutanee caffè-latte, pubertà precoce e da altri disturbi endocrini [1]. La PBMAH e, più in generale, CS è stata riportata in ~7% dei casi di MAS [3], soprattutto in età pediatrica. Mutazioni somatiche sono state descritte anche nei noduli surrenalici di alcuni pazienti PBMAH, privi di altre manifestazioni associate a MAS [17, 18]. Gli effetti deleteri di queste rare mutazioni nella determinazione fenotipica di PBMAH sono naturalmente associati all'attivazione della via cAMP/PKA nelle cellule corticosurrenali, conseguente agli elevati livelli costitutivi di cAMP [19].

Tabella 1 Alterazioni genetiche nelle diverse forme di iperplasie surrenali bilaterali cortisolo-secermenti

Gene	Ruolo	Mutazione	Patologia	Fenotipo molecolare
<i>PRKARIA</i>	Inibizione della subunità catalitica della PKA e del suo pathway	Inattivante	PPNAD	La mutazione non consente di inibire la PKA, aumenta la fosforilazione di fattori di trascrizione che regolano la proliferazione cellulare e la steroidogenesi
<i>PRKACB</i>	Subunità catalitica della PKA, attivazione del pathway	Non-senso	PPNAD	Effetti sulla stabilità proteica e sull'attivazione del pathway della PKA
<i>PRKACA</i>	Subunità catalitica della PKA, attivazione del pathway	Amplificazione	PPNAD	Cresce la quantità relativa di PKA, aumenta la fosforilazione di fattori di trascrizione che regolano la proliferazione cellulare e la steroidogenesi
<i>PDE11A</i>	Idrolisi di cAMP e cGMP, inibizione del pathway della PKA	Inattivante	i-MAD	La mutazione impedisce l'idrolisi del cAMP che continua ad attivare la PKA, aumenta la fosforilazione di fattori di trascrizione che regolano la proliferazione cellulare e la steroidogenesi
<i>PDE8B</i>	Idrolisi del cAMP, inibizione del pathway della PKA	Inattivante	i-MAD	La mutazione impedisce l'idrolisi del cAMP che continua ad attivare la PKA, aumenta la fosforilazione di fattori di trascrizione che regolano la proliferazione cellulare e la steroidogenesi
GPCRs: <i>MC2R</i> , <i>GIPR</i> , <i>ADRB1</i> , <i>ADRB2</i> , <i>HTR4</i> , <i>HTR7</i> <i>AVPR1</i> , <i>AVPR3</i> , Glucagon receptor	Recettori accoppiati a proteina G, attivazione del pathway della PKA, regolazione della steroidogenesi	Attivante, amplificazione, sovraespressione	PBMAH	La mutazione aumenta l'espressione o l'efficienza dei recettori, conseguente attivazione dei pathway a valle di cAMP e PKA
<i>ARMC5</i>	Funzione incerta: probabile oncosoppressore o regolatore della steroidogenesi e della proliferazione cellulare	Inattivante, delezione	PBMAH	La mutazione si è vista aumentare la proliferazione cellulare e ridurre l'apoptosi in H295R e HeLa
<i>KDM1A</i>	Demetilazione della lisina 4 (istone 3), inibizione della trascrizione	Inattivante, delezione	PBMAH	La mutazione si è vista aumentare la proliferazione cellulare e ridurre l'apoptosi in H295R
<i>MEN1</i>	Regolazione della trascrizione e dell'espressione genica, controllo della proliferazione cellulare	Inattivante, delezione	MEN1	La mutazione riduce la quantità dell'oncosoppressore menina portando alla sindrome tumorale
<i>APC</i>	Inibizione del pathway Wnt/ β -catenina	Inattivante	FAP	La mutazione riduce la quantità della shuffle-protein APC, aumenta il livello di β -catenina citosolica e la trascrizione di geni per la proliferazione
<i>FH</i>	Conversione del fumarato in malato nel ciclo di Krebs	Inattivante	HLRCC	La mutazione genera una proteina trunca o assente, l'alterazione del ciclo di Krebs aumenta la proliferazione e la crescita cellulare
<i>GNAS1</i>	Attività GTPasica, promozione del pathway di adenilato ciclasi e PKA	Attivante	MAS	La mutazione attiva la subunità α delle proteine G, conseguente regolazione positiva dei pathway a valle di cAMP e PKA

Mutazioni germinali nelle subunità catalitiche della PKA nelle iperplasie bilaterali cortisolo secermenti

Anche alterazioni nelle due subunità catalitiche di PKA sono state associate a processi di trasformazione neoplastica nella corticale del surrene. Mentre mutazioni somatiche inattivanti sono state riportate negli adenomi surrenali monolaterali

in pazienti CS, l'analisi array-CGH in 35 soggetti con BAH e CS florido ha rivelato in 5 di essi, appartenenti a 4 famiglie, l'amplificazione di una porzione del braccio corto del cromosoma 19, che comprende il gene *PRKACA* che codifica per la subunità catalitica A della PKA [3, 20]. Questa amplificazione germinale presente sempre in assenza di mutazioni nella sequenza codificante di *PRKACA*, negli unici due soggetti imparentati segregava con la malattia [16]. In

tre di questi 5 soggetti il fenotipo istologico era paragonabile a quello del PPNAD, mentre negli altri due casi si trattava di un'iperplasia surrenalica diffusa con noduli. Questo, oltre a confermare che la stessa alterazione genetica può portare a fenotipi istologici diversi, suggerisce che differenze nel "dosaggio" funzionale di *PRKACA*, dovute all'amplificazione genica, possono avere effetti diversi sull'istologia della corteccia surrenale [21].

Discorso diverso vale per il gene che codifica per la subunità B della PKA (*PRKACB*). Aumenti del numero di copie del locus genico di *PRKACB* sono stati descritti in pazienti CNC, privi tuttavia di PPNAD [22]. Possibili varianti germinali di *PRKACB* sono state riportate in 2 soggetti con PPNAD e disturbi correlati privi di altri difetti connessi alla PKA. Il primo soggetto, caratterizzato da un fenotipo clinico piuttosto severo in particolare nello sviluppo scheletrico, presentava una mutazione LOF con evidenti effetti sulla stabilità proteica e con un'impropria attivazione del pathway della PKA. Il secondo, un paziente con PPNAD come unica manifestazione di CNC, presentava una variante missenso. Questa variante non alterava né la stabilità né la capacità della proteina di condurre il segnale lungo il pathway PKA/cAMP rimanendo, pertanto, una variante di significato incerto [23].

Conclusioni

Come riassunto in Tabella 1, negli ultimi anni numerosi progressi sono stati compiuti nella comprensione delle basi genetiche delle iperplasie surrenaliche bilaterali. Il ruolo di *PRKARIA* e delle sue mutazioni nella PPNAD è ormai ben delineato, così come lo è quello delle *PDE* nella determinazione fenotipica dell'iMAD. Approcci di tipo pangenomico hanno consentito di chiarire vari aspetti dell'eziopatogenesi dell'iperplasia macronodulare e, grazie all'identificazione di mutazioni di *ARMC5* e *KDM1A*, è oggi possibile eseguire screening familiari precoci per la diagnosi di CS, quando i rischi associati a una persistente ipercortisolemia possono ancora essere ridotti.

Rimangono, tuttavia, ancora alcuni aspetti da chiarire, comprese le cause dell'iMAD in assenza di mutazioni *PDE* e dell'iperplasia macronodulare bilaterale, dove, per una rilevante frazione di pazienti, manca ancora un chiaro meccanismo alla base della trasformazione neoplastica. Il recente coinvolgimento di *KDM1A* suggerisce che la componente epigenetica potrebbe avere un ruolo maggiore di quanto fino ad oggi considerato e un approfondimento di questo aspetto potrebbe fornire un importante contributo nella comprensione della sua eziopatogenesi.

Informazioni Supplementari La versione online contiene materiale supplementare disponibile su <https://doi.org/10.1007/s40619-022-01154-w>.

Funding Note Open access funding provided by Università degli Studi di Padova within the CRUI-CARE Agreement.

Dichiarazioni etiche

Conflitto d'interesse Gli autori Gianluca Occhi, Daniele Puggina, Aleksandra Zivanovic e Filippo Ceccato dichiarano di non avere conflitti d'interesse.

Consenso informato Lo studio presentato in questo articolo non ha previsto sperimentazione umana.

Studi sugli animali Gli autori di questo articolo non hanno eseguito studi sugli animali.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Bibliografia

- Salpea P, Stratakis CA (2014) Carney complex and McCune Albright syndrome: an overview of clinical manifestations and human molecular genetics. *Mol Cell Endocrinol* 386:85–91
- Sahut-Barnola I, de Jossineau C, Val P et al (2010) Cushing's syndrome and fetal features resurgence in adrenal cortex-specific Prkar1a knockout mice. *PLoS Genet* 6:1–16
- Berthon A, Bertherat J (2020) Update of genetic and molecular causes of adrenocortical hyperplasias causing Cushing syndrome. *Horm Metab Res* 52:598–606
- Horvath A, Boikos S, Giatzakis C, Robinson-White A, Grousin L, Griffin KJ et al (2006) A genome-wide scan identifies mutations in the gene encoding phosphodiesterase 11A4 (*PDE11A*) in individuals with adrenocortical hyperplasia. *Nat Genet* 38:794–800
- Lacroix A, Feelders RA, Stratakis CA, Nieman LK (2015) Cushing's syndrome, vol 386. *Lancet*, London, pp 913–927
- Stratakis CA (2018) An update on Cushing syndrome in pediatrics. *Ann Endocrinol* 79:125–131
- Espiard S, Ragazzon B, Bertherat J (2014) Protein kinase A alterations in adrenocortical tumors. *Horm Metab Res* 46:869–875
- St-Jean M, El GN, Bourdeau I, Lacroix A (2018) Aberrant G-protein coupled hormone receptor in adrenal diseases. *Best Pract Res, Clin Endocrinol Metab* 32:165–187
- Albiger NM, Occhi G, Mariniello B et al (2007) Food-dependent Cushing's syndrome: from molecular characterization to therapeutic results. *Eur J Endocrinol* 157:771–778
- Chasseloup F, Bourdeau I, Tabarin A et al (2021) Loss of *KDM1A* in GIP-dependent primary bilateral macronodular adrenal hyperplasia with Cushing's syndrome: a multicentre, retrospective, cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 9:813–824

11. Vaczlavik A, Bouys L, Violon F et al (2022) KDM1A inactivation causes hereditary food-dependent Cushing syndrome. *Genet Med* 24:374–383
12. Assié G, Libé R, Espiard S et al (2013) ARMC5 mutations in macronodular adrenal hyperplasia with Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 369:2105–2114
13. Albiger NM, Regazzo D, Rubin B et al (2017) A multicenter experience on the prevalence of ARMC5 mutations in patients with primary bilateral macronodular adrenal hyperplasia: from genetic characterization to clinical phenotype. *Endocrine* 55:959–968
14. Heaton JH, Wood MA, Kim AC et al (2012) Progression to adrenocortical tumorigenesis in mice and humans through insulin-like growth factor 2 and β -catenin. *Am J Pathol* 181:1017–1033
15. Gatta-Cherifi B, Chabre O, Murat A et al (2012) Adrenal involvement in MEN1. Analysis of 715 cases from the Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines database. *Eur J Endocrinol* 166:269–279
16. Shuch B, Ricketts CJ, Vocke CD et al (2013) Adrenal nodular hyperplasia in hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer. *J Urol* 189:430–435
17. Fragoso MC, Domenice S, Latronico AC et al (2003) Cushing's syndrome secondary to adrenocorticotropin-independent macronodular adrenocortical hyperplasia due to activating mutations of GNAS1 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2147–2151
18. Almeida MQ, Azevedo MF, Xekouki P et al (2012) Activation of cyclic AMP signaling leads to different pathway alterations in lesions of the adrenal cortex caused by germline PRKAR1A defects versus those due to somatic GNAS mutations. *J Clin Endocrinol Metab* 97:687–693
19. Fragoso MC, Wanichi IQ, Cavalcante IP, De Paula Mariani BM (2016) The role of gsp mutations on the development of adrenocortical tumors and adrenal hyperplasia. *Front Endocrinol (Lausanne)* 7:104
20. Berthon AS, Szarek E, Stratakis CA (2015) PRKACA: the catalytic subunit of protein kinase A and adrenocortical tumors. *Front Cell Dev Biol* 3:26
21. Stratakis CA (2014) E pluribus unum? The main protein kinase A catalytic subunit (PRKACA), a likely oncogene, and cortisol-producing tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 99:3629–3633
22. Kamilaris CD, Stratakis CA, Hannah-Shmouni F (2021) Molecular genetic and genomic alterations in Cushing's syndrome and primary aldosteronism. *Front Endocrinol* 12:142
23. Espiard S, Drougat L, Settas N et al (2020) PRKACB variants in skeletal disease or adrenocortical hyperplasia: effects on protein kinase A. *Endocr-Relat Cancer* 27:647–656

Nota della casa editrice Springer Nature rimane neutrale in riguardo alle rivendicazioni giurisdizionali nelle mappe pubblicate e nelle affiliazioni istituzionali.