



# Clinical and genetic profile of patients with medullary thyroid cancer treated in the Cancer Centre — Institute of Oncology in Warsaw

Małgorzata Czetwertyńska<sup>1</sup>, Izabela Kozłowicz-Gudzińska<sup>1</sup>, Elżbieta Stachlewska-Nasfeter<sup>3</sup>, M. Sromek<sup>2</sup>, Elżbieta Skasko<sup>2</sup>, Zygmunt Paszko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Nuclear Medicine and Oncological Endocrinology,

<sup>2</sup>Department of Endocrinology,

<sup>3</sup>Head and Neck Cancer Department,

Cancer Centre, Maria Skłodowska-Curie Memorial Institute of Oncology, Warsaw

## Abstract

**Introduction:** The aim of this study was to analyse the distribution and frequency of mutations and their correlations with clinical phenotypes of patients with MTC, to reveal the differences between sporadic and familial type of MTC, and to describe the phenotypes of patients.

**Materials and methods:** 212 patients with medullary thyroid cancer (MTC) were treated in Cancer Centre in Warsaw between 1997 and 2005. In most patients, DNA isolated from peripheral blood leukocytes was tested for *RET* gene mutations by sequencing and accordingly MTC form was assessed. Genetic testing was performed in the relatives of patients with familial MTC in order to distinguish asymptomatic mutation carriers from noncarriers.

**Results:** *RET* gene mutations were identified in 46 patients (22%). The others were found noncarriers and sporadic MTC was diagnosed. MEN 2A/FMTC syndrome (*multiple endocrine neoplasia type 2A/ familial type of MTC*) was diagnosed in 44 patients, MEN 2B syndrome (*multiple endocrine neoplasia type 2B*) in 2 patients. In patients with sporadic and familial MTC, age at diagnosis and multifocal occurrence was analysed, and the results were found to be in accordance

with those of other research centres. However, the distribution and frequency of mutations, as well as some clinical data, such as the frequency of pheochromocytoma occurrence as the first manifestation of MEN syndrome, differed from the published data, and further studies are necessary to reveal the reasons of these differences.

**Conclusions:** DNA testing for *RET* gene mutations is reliable as a diagnostic tool and therefore it should be performed for screening of all patients with MTC or other diseases of MEN syndrome.

(*Pol J Endocrinol* 2006; 4 (57): 415–419)

**Key words:** medullary thyroid carcinoma, *RET* gene mutation, multiple endocrine neoplasia type 2 (MEN 2), pheochromocytoma



Małgorzata Czetwertyńska, M.D.  
Roentgena 5, 02-781 Warszawa  
e-mail: [zmnukl@coi.waw.pl](mailto:zmnukl@coi.waw.pl)



## Analiza kliniczna i genetyczna chorych na raka rdzeniastego tarczycy w Centrum Onkologii — Instytucie w Warszawie

Małgorzata Czetwertyńska<sup>1</sup>, Izabela Kozłowicz-Gudzińska<sup>1</sup>, Elżbieta Stachlewska-Nasfeter<sup>3</sup>, M. Sromek<sup>2</sup>, Elżbieta Skasko<sup>2</sup>, Zygmunt Paszko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej,

<sup>2</sup>Zakład Endokrynologii,

<sup>3</sup>Klinika Nowotworów Głowy i Szyi

Centrum Onkologii, Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

### Streszczenie

**Wstęp:** Celem pracy jest analiza wyników badań genetycznych: rozkładu lokalizacji i częstości mutacji oraz ujawnienie korelacji prezentowanych klinicznie fenotypów u chorych z rakiem rdzeniastym tarczycy (MTC, *medullary thyroid carcinoma*), wykazanie różnic między postacią sporadyczną i dziedziczną, a także określenie odrębności występujących w grupie chorych pozostających pod stałą obserwacją ośrodka autorów niniejszej pracy.

**Materiał i metody:** W Centrum Onkologii w Warszawie w latach 1997–2005, leczono 212 chorych z rakiem rdzeniastym tarczycy. U większości z nich wykonano badanie genetyczne DNA uzyskanego z leukocytów krwi obwodowej w celu zidentyfikowania mutacji genu *RET* i ustalenia postaci MTC. Badaniu DNA poddano także krewnych chorych z rodzinnym rakiem rdzeniastym tarczycy, aby wyodrębnić bezobjawowych nosicieli od osób nieobciążonych patogenną mutacją.

**Wyniki:** W grupie chorych, u których zakończono analizę genetyczną, mutacje w genie *RET* stwierdzono w 46 przypadkach (22%). U pozostałych chorych nie ujawniono patogennej mutacji i rozpoznano sporadycznego MTC. Zespół mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej typu 2A i rodzinnego typu MTC (MEN 2A/FMTC, *multiple endocrine neoplasia type 2A/familial type of MTC syndrome*) rozpoznano u 44 pacjentów, natomiast zespół mnogiej gruczol-

lakowatości wewnątrzwydzielniczej typu 2B (MEN 2B, *multiple endocrine neoplasia type 2B*) — u 2 osób.

W trakcie badania porównano wiek rozpoznania i wieloogniskowość raka u chorych ze sporadycznym i rodzinnym MTC. Uzyskane wyniki korelują z danymi z innych ośrodków. Natomiast, rozkład lokalizacji mutacji i ich częstość, a także niektóre dane kliniczne, takie jak częstość ujawnienia guza chromochłonnego nadnerczy jako pierwszej patologii z zespołu wielogruczolowego, różnią się od prezentowanych w literaturze i wymagają znalezienia przyczyn.

**Wnioski:** Badanie mutacji genu *RET* jest wiarygodnym narzędziem diagnostycznym i należy je traktować jako badanie przesiewowe u wszystkich chorych z MTC i innymi składowymi zespołu wielogruczolowego.

(*Endokrynol Pol* 2006; 4 (57): 415–419)

**Słowa kluczowe:** rak rdzeniasty tarczycy, mutacje genu *RET*, zespół mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej typu 2, pheochromocytoma



lek. med. Małgorzata Czetwertyńska  
ul. Roentgena 5, 02-781 Warszawa  
e-mail: zmnukl@coi.waw.pl

### Wstęp

Rak rdzeniasty tarczycy (MTC, *medullary thyroid carcinoma*) jest nowotworem wywodzącym się z okołopęcherzykowych komórek C produkujących kalcytoninę. W 20–25% przypadków jest uwarunkowany genetycznie i wiąże się z mutacją germinálną protoonkogenu *RET*, natomiast pozostałe 75–80% to rak rdzeniasty sporadyczny [1].

Postać dziedziczna raka rdzeniastego tarczycy może występować samodzielnie jako tak zwany rodzinny rak rdzeniasty tarczycy (FMTC, *familial medullary thyroid carcinoma*) albo w skojarzeniu z innymi endokrynopatia-

mi, tworząc zespoły mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej typu 2A (MEN 2A, *multiple endocrine neoplasia type 2A*) i typu 2B (MEN 2B, *multiple endocrine neoplasia type 2B*). W skład zespołu MEN 2A, obok MTC, wchodzi guz chromochłonny rdzenia nadnerczy i gruczolak przytarczyc. W zespole MEN 2B oprócz MTC stwierdzono również *pheochromocytoma*, nerwiaki błon śluzowych oraz dysfunkcję zwojów autonomicznych [2–7]. Zespołowi MEN 2A w rzadkich przypadkach towarzyszyć może choroba Hirschsprunga (brak splotów nerwowych i komórek zwojowych w warstwie podśluzówkowej i mięśniowej jelita) [8, 9].

Dominującą mutacją autosomalną genu *RET* zlokalizowanego w regionie okołocentromerowym chromosomu 10, występująca w dziedzicznym MTC warunkuje znacznie wcześniejsze rozpoznanie tej postaci niż w postaci sporadycznej [10]. Wieloogniskowość obserwuje się częściej w postaci dziedzicznej MTC.

#### Cele pracy były następujące:

- analiza wyników badań DNA: rozkład lokalizacji i częstości mutacji oraz stwierdzonych korelacji prezentowanych klinicznie fenotypów u chorych na MTC;
- wykazanie różnic między postacią sporadyczną a dziedziczną MTC w leczonej grupie chorych;
- analiza odrębności stwierdzanych u chorych na MTC pozostających pod obserwacją Centrum Onkologii w Warszawie w porównaniu z danymi z piśmiennictwa.

#### Materiał i metody

W latach 1997–2005 w Centrum Onkologii w Warszawie leczono 212 chorych na raka rdzeniastego tarczycy, w tym 163 kobiety w wieku 16–82 lat (mediana wieku: 40,5 roku) oraz 49 mężczyzn w wieku 12–76 lat (mediana wieku: 39 lat) (tab. I).

**Tabela I**

*Porównanie postaci sporadycznej i dziedzicznej raka rdzeniastego tarczycy (MTC, medullary thyroid carcinoma)*

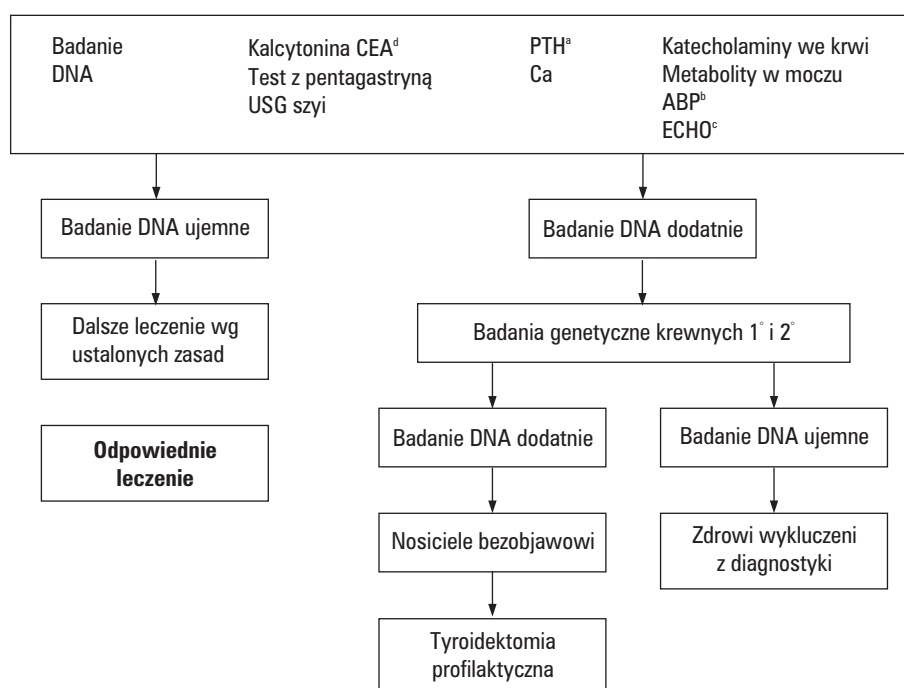
**Table I**

*Comparison of sporadic versus familial MTC (medullary thyroid carcinoma)*

Postać	Sporadyczna		Dziedziczna	
	K	M	K	M
Liczba przypadków	166 (3,7:1)		46 (2,8:1)	
	131	35	34	12
Mediana wieku zachorowania	53	49	39 (-14)	36 (-13)
Wieloogniskowość	23		66	

U wszystkich chorych przeprowadzono wstępną diagnostykę według schematu przyjętego w Centrum Onkologii w Warszawie (schemat przedstawiono na ryc. 1).

We wszystkich przypadkach 2-krotnie wykonano badanie DNA uzyskanego z leukocytów krwi obwodowej. Izolowano DNA metodą fenolowo-chloroformową przy użyciu proteiny K, a w ostatnim okresie przy użyciu gotowych zestawów do izolacji genomowego DNA (*Genomic Midi AX A&A Biotechnology*). Obie te



<sup>a</sup>PTH (*parathormone*) — parathormon; <sup>b</sup>ABP (*ambulatory blood pressure monitoring*) — całodobowy zapis ciśnienia tętniczego krwi; <sup>c</sup>ECHO (*echocardiography*) — badanie echokardiograficzne;

<sup>d</sup>CEA (*carcinoembryonic antigen*) — antygen karcinoembrionalny

**Rycina 1.** Schemat diagnostyki u chorych z rakiem rdzeniastym tarczycy

**Figure 1.** Diagnostic algorithm in patients with MTC

metody pozwalają na uzyskanie wielkocząsteczkowego DNA o stężeniu wystarczającym do badań molekularnych. Następnie DNA poddawano amplifikacji metodą PCR w zakresie eksonów: 10, 11, 13, 14, 15 i 16. Zamplifikowane fragmenty genu *RET* sekwencjonowano przy użyciu fluorescencyjnie znakowanych nukleotydów (BIG DYE v.3.1 Applied Biosystems) i poddawano elektroforezie za pomocą aparatu ABI PRISM 377.

Po stwierdzeniu patogenicznej mutacji protoonkogeny *RET* w dwóch niezależnych badaniach u chorego, badanie DNA wykonywano u jego krewnych.

## Wyniki

Badana grupa 212 chorych na raka rdzeniastego tarczycy składała się ze 163 kobiet i 49 mężczyzn. Na podstawie wyników badań genetycznych, postać sporadyczną MTC rozpoznano w 166 przypadkach (78%), w tym u 131 kobiet i 35 mężczyzn, a postać dziedziczną w 46 przypadkach (22%), w tym u 34 kobiet i 12 mężczyzn (tab. I).

W analizowanej grupie 46 chorych z dziedzicznym MTC, u 19 rozpoznawano także guza chromochłonnego nadnerczy, a u 3 patologię przytarczyc (gruczolaka lub hiperplazję). U 13 z 19 pacjentów (68%) pierwszą ujawnioną patologią był guz chromochłonny. U 12 z nich rak rdzeniasty tarczycy miał średnicę poniżej 6 mm. Według danych z piśmiennictwa pochodzących z innych ośrodków, rozpoznanie MTC występuje znacznie wcześniej niż ujawnienie guza chromochłonnego nadnerczy.

Na podstawie danych klinicznych i genetycznych 46 chorych z rodzinnym MTC, u 8 osób rozpoznano FMTC, u 20 — zespół MEN 2A, a u 2 — zespół MEN 2B (tab. II). Natomiast w 16 przypadkach, ze względu na liczbę chorych w rodzinie mniejszą niż 4 i brak innych endokrynopatii, rozpoznano FMTC/MEN 2A.

U 3 rodzin, u których dodatkowo rozpoznano chorobę Hirschsprunga, stwierdzono mutację w kodonie 620 eksonu 10.

## Dyskusja

W niniejszej pracy średnia wieku zachorowania na MTC była niższa o 14 lat u kobiet i 13 lat u mężczyzn w postaci dziedzicznej w porównaniu z postacią sporadyczną. Dane te są podobne do danych publikowanych przez Kouvaraki, Eastona i wsp. [7, 10]. Należy zaznaczyć, że w dalszym ciągu u wielu dorosłych chorych rozpoznano dziedzicznego raka tarczycy.

Wielooogniskowość stwierdzono blisko 3-krotnie częściej w postaci dziedzicznej niż sporadycznej (odpowiednio: 66% i 23%) (tab. I).

**Tabela II**

*Częstość mutacji genu RET i prezentowany klinicznie fenotyp u chorych z rakiem rdzeniastym tarczycy (MTC, medullary thyroid carcinoma)*

**Table II**

*Frequency of RET gene mutation and correlation with phenotypes of patients with MTC*

Liczba przypadków	%	Lokalizacja mutacji exon/kodon	Fenotyp
3	7,0	10/609	FMTC/MEN 2A
5	11,0	10/618	FMTC/MEN 2A
8	17,0	10/620	FMTC/MEN 2A
20	44,0	11/634	MEN 2A
<b>4</b>	<b>9,0</b>	<b>13/791</b>	<b>FMTC</b>
2	4,0	14/804	FMTC
2	4,0	14/891	FMTC
2	4,0	16/918	MEN 2B

MEN 2A (*multiple endocrine neoplasia type 2A*) — zespół mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej typu 2A; FMTC (*familial type of MTC*) — rodzinny typ MTC; MEN 2B (*multiple endocrine neoplasia type 2B*) — zespół mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej typu 2B

Według autorów niniejszej pracy, jak i innych danych z piśmiennictwa najczęstszą w grupie chorych poddanych badaniu jest mutacja w kodonie 634 eksonu 11 korelująca z zespołem MEN 2A (tab. II), która stanowiła 44% wszystkich przypadków i 55% zdarzeń zespołu MEN 2A. Większą częstość mutacji obserwowano natomiast w eksonie 13, kodonie 791, którą ujawniono i opisano po raz pierwszy w 1998 roku [11]. Warto dodać, że autorzy niniejszej pracy równocześnie wykryli tę mutację po raz pierwszy w Polsce. Występowała u 4 chorych i wiązała się z obrazem klinicznym FMTC, podobnie jak w badaniu niemieckim. Wśród krewnych chorych na MTC z patogeniczną mutacją w kodonie 791 eksonu 13, w 13 przypadkach stwierdzono nosicielstwo bezobjawowe. U 4 osób wykonano tyroidektomię profilaktyczną w wieku 15, 16, 18 i 35 lat. W badaniu histopatologicznym nie znaleziono ognisk raka.

## Piśmiennictwo

- Hoermann R, Quadebeck B, Mann K. Medullary thyroid carcinoma. *Oncology in Practice* 1999; (1): 8–10.
- Kitamura Y, Goodfellow PJ, Shimizu K i wsp. Novel germline RET proto-oncogene mutation analysis in Japanese patients with MTC. *Oncogene* 1997; 14: 3103–3106.
- Frank-Raue K, Hopper W, Frilling A i wsp. Mutation of the RET proto-oncogene in German Multiple Endocrine Neoplasia familie: relation between genotype and phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81 (5): 1780–1783.

4. Hofstra RMW, Fattoruso O, Quadro L i wsp. A novel point mutation in the intracellular domain of the RET protooncogene in family with medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82 (12): 4176–4178.
5. Mulligan LM, Kwok LBJ, Healer CS i wsp. Germ-line mutation of proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2 A. *Nature* 1993; 363: 458–460.
6. Donis-Keller H, Dou S, Chi D i wsp. Mutations in the RET proto-oncogene are associated with MEN 2a and FMTC. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 851–856.
7. Kouvaraki MA, Shapiro SE, Terrier ND i wsp. Ret Proto-oncogene: a review and update of genotype — phenotype correlations in hereditary medullary thyroid cancer and associated endocrine tumors. *Thyroid* 2005; 15 (6): 531–544.
8. Pasini B, Ceccherini I, Romeo G. RET mutations in human disease. *Trends in Genet* 1996; 12: 138–144.
9. Pelet A, Geneste O, Edery P i wsp. Various mechanisms cause RET mediated signaling defects in Hirschsprung's disease. *J Clin Invest* 1998; 101 (6): 1415–1423.
10. Easton DF, Ponder MA, Cummings T i wsp. The clinical and screening age at onset distribution for the MEN2 syndrome. *Am Hum Genet* 1989; 44: 208.
11. Berndt I, Reuter M, Saller B i wsp. A new hot spot for mutations in the RET protooncogene causing familial medullary and multiple endocrine neoplasia type 2a. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83 (3): 770–774.