

Medullary thyroid carcinoma: from molecular studies to clinical decision

Jan Włoch¹, Małgorzata Oczko-Wojciechowska², Sylwia Szpak-Ulczok², Barbara Jarząb²

¹ Clinic of Oncologic Surgery, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch

² Department of Nuclear Medicine and Endocrine Oncology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch

Abstract

The paper is focused on guidelines of practice in inherited medullary thyroid cancer, diagnosed on the basis of DNA analysis. Identification of RET mutation implies further steps of diagnostic procedure, some of them – USG, FNAB and calcitonin level tests – are common for all types of mutation, other are related to ascertained type of mutation. In asymptomatic RET mutation carriers, prophylactic thyroidectomy is indicated.

In MEN2B inherited cancer reveals its symptoms quickly and shows dynamic progress. In MEN2A/FMTC the clinical picture is diversified – in some patients the course of disease is mild, however in some other cases the progression of disease and even death occur regardless of the proper treatment. Unfortunately, there are no molecular prognostic markers in medullary thyroid carcinoma.

Recent papers and also our own unpublished results show that gene expression profile, is similar in MEN2A and sporadic cancer. This group differs from MEN2B by its expression profile.

In conclusion it is to be emphasized that although inherited medullary thyroid carcinoma is a rare disease, the diagnostic algorithm is well established and maximizes the chance for early diagnosis. Moreover, it needs to be stressed that DNA analysis results inform us not only about the necessity of further therapy, but also suggest different ways of proceeding in particular type of mutation.

Key words: medullary thyroid carcinoma – protooncogene RET mutations – prophylactic thyroidectomy

Rak rdzeniasty tarczycy: od badań molekularnych do kliniki

Jan Włoch¹, Małgorzata Oczko-Wojciechowska², Sylwia Szpak-Ulczok², Barbara Jarząb²

¹ Klinika Chirurgii Onkologicznej, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

² Zakład Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Streszczenie

Praca omawia zasady postępowania w dziedzicznym raku rdzeniastym tarczycy, w którym rozpoznanie stawiane jest na podstawie badań DNA. Rozpoznanie nosicielstwa mutacji RET implikuje dalsze etapy postępowania, z których część – badania USG, BAC, oznaczanie kalcytoniny – są wspólne, część natomiast jest związana ze stwierdzonym typem mutacji. Jeżeli nosiciel mutacji nie wykazuje objawów raka, wskazana jest profilaktyczna operacja tarczycy.

Dziedziczny rak tarczycy ujawnia się szybko i wykazuje szybką progresję w zespole MEN 2B, w zespole MEN 2A/ FMTC jego obraz kliniczny jest zróżnicowany – część chorych charakteryzuje się stosunkowo łagodnym przebiegiem choroby, u części dochodzi jednak do progresji, a nawet zgonu pomimo prawidłowego leczenia. Niestety, nie ma jak dotąd żadnych pewnych markerów molekularnych choroby.

Badania profilu ekspresji genów w raku dziedzicznym i sporadycznym wskazują na dość podobny obraz guza w przebiegu MEN2A i guza sporadycznego, ta grupa łącznie odróżnia się natomiast od MEN2B.

W podsumowaniu warto uwypuklić, że jakkolwiek RRT jest rzadkim nowotworem, to dopracowano się w nim algorytmu dobrze skonstruowanego, który

maksymalizuje szansę trwałego wyleczenia. Należy jednak podkreślić, że wynik badania DNA informuje nas nie tylko o konieczności włączenia tego algorytmu, ale w zależności od typu mutacji kierunkuje nas na nieco odrębne tory postępowania.

Słowa kluczowe: rak rdzeniasty tarczycy, mutacje protoonkogenu RET, profilaktyczna tyroidektomia



Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
Oddział w Gliwicach
Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice

Projekt finansowany w ramach grantu KBN nr PBZ/KBN/040/P04/2001

Dziedziczny rak rdzeniasty tarczycy

Rak rdzeniasty tarczycy (RRT) jest neuroendokrynnym nowotworem złośliwym, wywodzącym się z okołopęcherzykowych komórek C. Zlokalizowany jest najczęściej w środkowo-górnej części bocznych płatów tarczycy, gdzie nagromadzenie komórek okołopęcherzykowych jest największe [1]. W ponad 90% przypadków obecność RRT wiąże się ze znacznym wzrostem stężenia kalcytoniny (Ct) w surowicy krwi.

Rak rdzeniasty tarczycy należy do tych nowotworów, w których udział predyspozycji dziedzicznej jest stosunkowo wysoki i wynosi 20-25% wszystkich przypadków, a w populacjach objętych intensywnymi badaniami przesiewowymi wśród członków rodzin nawet ponad 30% przypadków [1-3].

Dziedzicznemu RRT mogą nie towarzyszyć żadne inne objawy i mówimy wówczas o rodzinnym raku rdzeniastym tarczycy (ang. familial medullary thyroid carcinoma, FMTC). Częściej jednak dziedziczny RRT jest objawem zespołu gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej typu 2 (ang. multiple endocrine neoplasia type 2, MEN 2).

Zespół gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej typu 2A (MEN 2A), zwany również zespołem Sipple'a, charakteryzuje się skojarzeniem raka rdzeniastego tarczycy z guzami chromochłonnymi nadnerczy (u około 50% chorych) i gruczolakami lub hiperplazją przytarczyc (u około 15-25% chorych). Rak rdzeniasty tarczycy jest zwykle pierwszym objawem zespołu i ujawnia się w pierwszych dwu dekadach życia. Guzy chromochłonne nadnerczy na ogół ujawniają się później i rzadko są pierwszym objawem choroby. Najpóźniej dochodzi do ujawnienia nadczynności przytarczyc, dlatego też ocena jej występowania różni się w zależności od wieku chorych w badanej populacji.

W nietypowych postaciach zespołu MEN 2A towarzyszą mu także liszaj amyloidowy (ang. cutaneous lichen amyloidosis, CLA) lub choroba Hirschsprunga, są to jednak zespoły stosunkowo rzadkie [2].

Ponieważ RRT ujawnia się najwcześniej, odróżnienie rodzinnego raka rdzeniastego tarczycy od klasycznego zespołu MEN 2A wymaga dłuższej obserwacji, gdyż guzy chromochłonne mogą się ujawnić po latach i nigdy nie wystąpią u wszystkich członków rodziny, u których rozwinął się RRT. W piśmiennictwie przyjmuje się na ogół, że rozpoznanie raka rodzinnego jest pewne dopiero, kiedy w rodzinie są już co najmniej 4 przypadki raka rdzeniastego tarczycy, którym nie towarzyszy ani guz chromochłonny tarczycy ani nadczynność przytarczyc. Jeżeli liczba chorych na RRT jest mniejsza od 4, mówimy o postaci niesklasyfikowanej, gdyż nawet test DNA nie pozwala na jednoznaczne różnicowanie w tym zakresie.

Rozpoznanie zespołu MEN 2B jest daleko bardziej jednoznaczne, tak ze względu na charak-

terystyczny obraz kliniczny jak i charakterystyczne mutacje. W tym zespole RRT rozwija się najszybciej, jeszcze u małych dzieci. Guzy chromochłonne nadnerczy występują później i ujawniają się u około połowy chorych, natomiast nadczynność przytarczyc nie występuje. Cechy fenotypowe zespołu MEN 2B pozwalają doświadczonemu klinicyście na rozpoznanie już przy pierwszym kontakcie z chorym.

Dziedziczny charakter części przypadków RRT był znany już od lat sześćdziesiątych XX wieku. Dla wczesnego wykrywania raka wśród członków rodziny chorego stosowano oznaczenie kalcytoniny po podaniu pentagastryny [4]. Badania takie przeprowadzano co roku wśród wszystkich członków rodziny do czasu osiągnięcia przez nich czterdziestego roku życia. Dla uniknięcia wyników fałszywie dodatnich (pentagastryna może stymulować wzrost wydzielania kalcytoniny także u zdrowych osób, szczególnie u młodych mężczyzn) jako patognomiczny dla dziedzicznego RRT traktowano wzrost kalcytoniny powyżej 100 pg/ml. Oznaczenie stężenia kalcytoniny umożliwiło dobrą charakterystykę predyspozycji genetycznej wśród członków rodzin, ułatwiło więc badanie sprzężenia między występowaniem RRT i markerami genetycznymi.

Protoonkogen RET i jego mutacje

W 1987 roku zlokalizowano gen odpowiedzialny za dziedziczne postaci RRT w centromerowym regionie chromosomu 10. W 1993 zidentyfikowano go jako protoonkogen *RET* oraz opisano mutacje odpowiedzialne za zespół MEN 2A, FMTC i zespół MEN 2B [5-7].

Mutacje protoonkogenu *RET*, prowadzące do rozwoju raka rdzeniastego tarczycy, mają charakter mutacji aktywujących funkcję produktu białkowego [1,2]. Protoonkogen *RET* składa się z 21 eksonów. Mutacje występują jednak zaledwie w kilku z nich i w przeważającej większości mają charakter mutacji punktowych. Najczęściej dotyczą one kodonów kodujących cysteiny w części zewnątrzłonowej receptora, blisko błony komórkowej. W przeważającej liczbie (w 75-80% wszystkich przypadków dziedzicznego RRT) mutacji ulega kodon 634, zlokalizowany w eksonie 11, wchodzącym już w skład części przezłonowej (Tab. I). Większość mutacji w tym kodonie (ponad 90%) stanowią mutacje, których następstwem jest zamiana cysteiny na argininę, tyrozynę lub tryptofan [8,9].

Klasyczny zespół MEN 2A jest najbardziej prawdopodobny, jeżeli mamy do czynienia z mutacją w kodonie 634, podczas gdy inne mutacje wiążą się ze znacznie mniejszym prawdopodobieństwem rozwoju guza chromochłonnego – częściej w ich wyniku rozwija się zespół rodzinnego RRT bez innych endokrynopatii (Tab.I).

Tabela I. Lokalizacja mutacji protoonkogenu *RET* powodujących dziedzicznego raka rdzeniastego tarczycy [wg Gagel i Cote, 1998:22]

Table I. Localization of *RET* protooncogene mutation causing hereditary medullary thyroid cancer [Gagel i Cote, 1998:22]

Kodon /Ekson	Zespół	Częstość występowania (%)
609/10	MEN 2A/FMTC MEN 2A/ch. Hirschsprunga	0-1
611/10	MEN 2A/FMTC	2-3
618/10	FMTC/MEN 2A MEN 2A/ch. Hirschsprunga	3-5
620/10	FMTC/MEN 2A MEN 2A/ch. Hirschsprunga	6-8
630/11	MEN 2A/FMTC	0-1
634/11	MEN 2A MEN 2A/CLA	75-85
635/11	MEN 2A	rzadko
637/11	MEN 2A	rzadko
768/13	FMTC	0-1
790/13	FMTC/MEN 2A	0-1
791/13	FMTC	0-1
804/13	MEN 2A/FMTC	0-1
883/15	MEN 2B	rzadko
891/15	FMTC	rzadko
918/16	MEN 2B	3-5
922/16	MEN 2B	rzadko

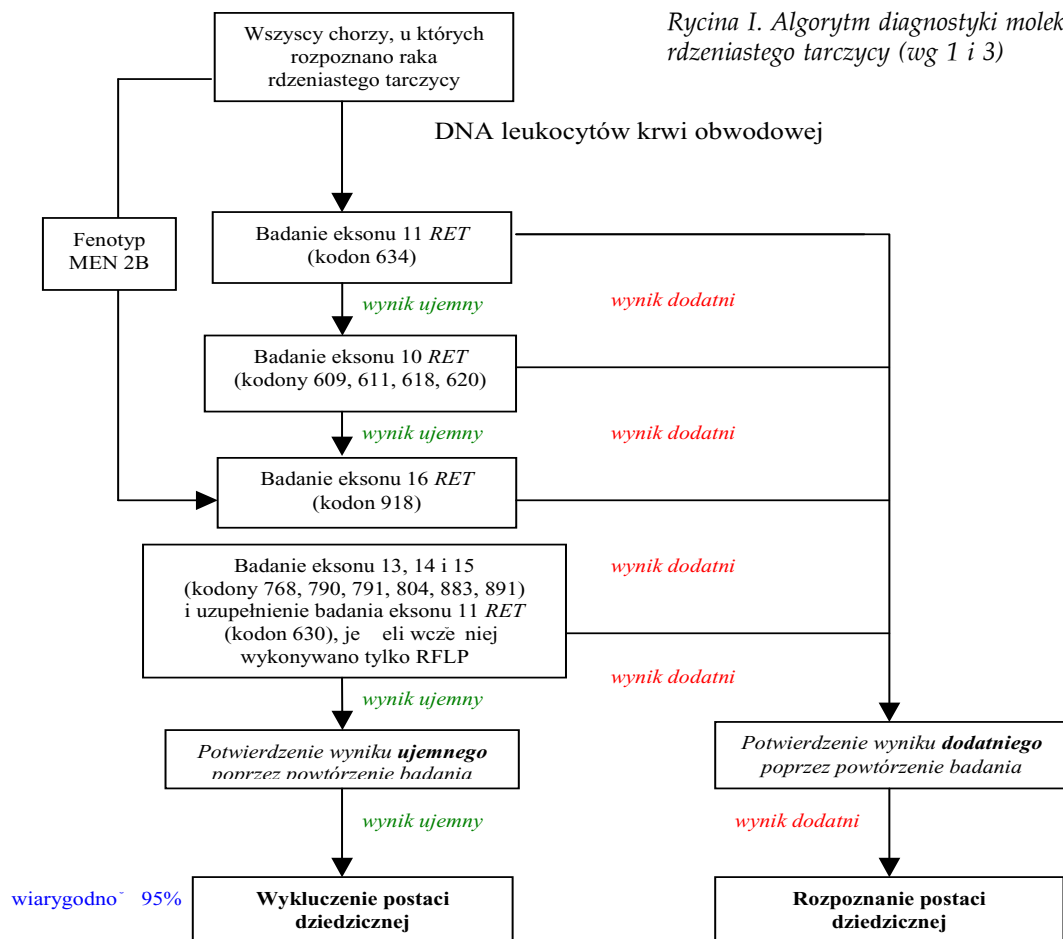
Testy DNA

Ponieważ rak dziedziczny stanowi znaczącą część wszystkich przypadków RRT i może klinicznie nie odróżniać się od raka nie-dziedzicznego, pełne badanie molekularne w kierunku obecności mutacji germinalnych musi być przeprowadzone u wszystkich chorych, u których postawiono takie rozpoznanie raka. Nawet, jeżeli u chorego nie występują inne cechy zespołu MEN 2 i wywiad rodzinny jest ujemny, ryzyko wykrycia mutacji germinalnej wynosi w naszej populacji około 10% [3]. Na rycinie I przedstawiono algorytm poszukiwania mutacji w protoonkogenie *RET* [1,10,11].

Leczenie dziedzicznego raka rdzeniastego tarczycy

Leczenie jawnego dziedzicznego RRT nie odbiega zasadniczo od leczenia postaci sporadycznej, trzeba jednak uwzględnić kilka elementów charakterystycznych dla postaci dziedzicznej. Najistotniejsze z nich obejmują konieczność wykluczenia obecności guza chromochłonnego przed podjęciem operacji tarczycy i szersze wskazania do elektywnej limfadenektomii (to znaczy wykonywanej planowo, niezależnie od tego czy obserwuje się cechy przerzutów do węzłów chłonnych czy też nie stwierdza się ich powiększenia).

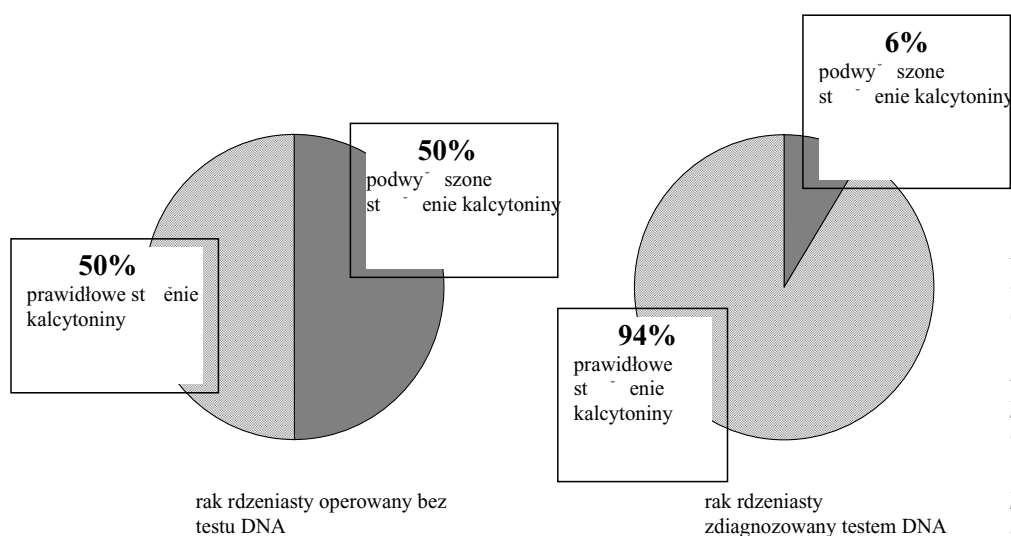
Rycina I. Algorytm diagnostyki molekularnej raka rdzeniastego tarczycy (wg 1 i 3)



Radykalna operacja jest leczeniem z wyboru w każdym raku rdzeniastym tarczycy, także raku dziedzicznym [12]. Minimalny zakres operacji powinno obejmować całkowite wycięcie gruczołu tarczowego wraz z usunięciem centralnych węzłów chłonnych szyi. Wielu autorów uważa, że rutynowo należy usuwać także węzły boczne szyi, a mniej rozległa operacja może być przeprowadzona tylko u młodych pacjentów [13]. Wieloogniskowy wzrost nowotworu w postaci dziedzicznej oraz wysokie ryzyko przerzutów do węzłów chłonnych szyi uzasadniają szerokie wskazania do elektywnej limfadenektomii, znacznie szersze, niż w raku zróżnicowanym. Przynajmniej u 50%

chorych w chwili rozpoznania choroby występują już przerzuty do węzłów chłonnych [14]. Usuwanie węzłów chłonnych śródpiersia górnego z dostępu szyjnego jest też zalecane u chorych, u których stwierdza się przerzuty w węzłach środkowych szyi.

Trzeba podkreślić, że wcześniejsze wdrożenie operacji, wynikłe z wcześniejszego rozpoznania, wiąże się w dziedzicznym raku rdzeniastym tarczycy wykrytym testem DNA z wyższym odsetkiem radykalnych biochemicznie operacji. Tę radykalność biochemiczną oceniamy przez oznaczenie stężenia kalcytoniny w surowicy pobranej około 10 dni po operacji (Ryc. II).



Rycina II. Pooperacyjne stężenie kalcytoniny w dwóch grupach chorych: u których nowotwór zdiagnozowano na podstawie badania DNA oraz u których rozpoznano raka rdzeniastego na podstawie objawów klinicznych.

Tabela II. Zasady postępowania u członków rodziny chorego na dziedzicznego raka rdzeniastego tarczycy (wg 1)

	FMTC	MEN 2A	MEN 2B
badanie DNA	jak najszybciej po wykryciu mutacji u chorego członka rodziny, optymalnie: do 6 roku życia		
badanie podstawowego stężenia kalcytoniny	u wszystkich członków rodziny równoległe do badania DNA		
próba pentagastrynowa	u tych nosicieli mutacji, u których podstawowe stężenie kalcytoniny jest prawidłowe; potem co rok u tych nosicieli, którzy nie zdecydowali się na operację profilaktyczną		
badanie USG tarczycy	pierwszy raz po wykryciu nosicielstwa mutacji, potem po stwierdzeniu dodatniej próby pentagastrynowej		
profilaktyczna tyreoidektomia	6 rok życia ^{*)}	6 rok życia	do 1 roku życia
badanie metoksykatecholamin w dobowej zbiorce moczu	niepotrzebne u nosicieli mutacji w kodonach 768 i 891, a przy innych mutacjach w tych rodzinach, w których jest co najmniej 4 członków rodziny z RRT i nie ma żadnego przypadku guza chromochłonnego nadnerczy	w 5 roku życia, potem od 10 roku życia co rok	w 2 roku życia, potem co rok
badanie TK nadnerczy	niepotrzebne u nosicieli mutacji w kodonach 768 i 891, a w innych mutacjach w tych rodzinach, w których jest co najmniej 4 członków rodziny z RRT i nie ma żadnego przypadku guza chromochłonnego nadnerczy	pierwszy raz w 10 roku życia, potem co 2-3 lata	pierwszy raz w 5 roku życia, od 10 r.ż. co rok
Badanie stężenia wapnia zjonizowanego i fosforu oraz PTH	Niepotrzebne	między 20-30 rokiem życia co 2 lata, potem co rok	niepotrzebne

^{*)} w mutacjach w kodonie 791 można rozważyć późniejsze wykonanie profilaktycznej tyreoidektomii

Postępowanie w razie wykrycia nosicielstwa mutacji protoonkogenu RET

Wraz z rozwojem diagnostyki molekularnej pojawia się pytanie – jakie konsekwencje terapeutyczne winny wiązać się z wykryciem nosicielstwa mutacji u zdrowych członków rodziny chorego na RRT. Obowiązujące obecnie zasady badania i wskazania do dalszego postępowania zawiera tabela II [1].

Po wprowadzeniu diagnostyki molekularnej protoonkogenu RET zaczęto zadawać sobie pytanie czy ważny jest również typ mutacji. Odpowiedź na to pytanie pojawiła się szybko: tak, ponieważ coraz wyraźniejsza staje się różnica w czasie ujawniania się RRT w zależności od typu mutacji. I tak, mutacje w kodonach 804 czy 791 wiążą się z późniejszym czasem ujawnienia RRT niż mutacje w kodonach cysteinowych [1,2]. Dlatego niektórzy autorzy uważają, że w tych przypadkach operacja mogłaby być przeprowadzona nieco później. Niemniej, nie wszyscy zgadzają się z taką opinią i wielu autorów podkreśla że nie ma jak dotąd przekonujących danych które pozwoliłyby jednoznacznie zmieniać istniejące rekomendacje [2]. Ponadto, typ mutacji decyduje w pewnych grupach klinicznych i wiekowych o zakresie wykonywanej limfadenektomii (Tab.III).

Oczywiście, typ mutacji wyznacza również różnice w ryzyku współistnienia czy późniejszego ujawnienia się guza chromochłonnego nadnerczy, które najwyższe jest w przypadku mutacji w kodonie 634 i w kodonie 918. W przypadku mutacji w innych kodonach cysteinowych ryzyko to jest wyraźnie mniejsze, w razie mutacji w tej części genu RET, która koduje wewnątrzcytoplazmatyczną część białka (poza kodonem 918) ryzyko to jest minimalne. Niemniej, różnice w częstości zachorowań na pełnoobjawowy zespół MEN 2A i na raka rodzinnego mają postać pewnego *continuum*, dlatego coraz częściej łączy się zespół MEN 2A i FMTC w jeden typ choroby, któremu można przeciwstawić zespół MEN 2B jako drugą postać dziedziczną o wyraźnej różnicy w fenotypie. Można też przyjąć że w mutacjach w kodonie 634 i 918 ryzyko guza chromochłonnego jest podobne.

Oczywiście, ryzyko nadczynności przytarczyc dotyczy wyłącznie zespołu MEN 2A, a badania przesiewowe w jej kierunku można praktycznie ograniczyć tylko do nosicieli mutacji w kodonie 634.

Czy dziedziczny i sporadyczny rak rdzeniasty tarczycy wykazują różnice w obrazie klinicznym?

Różnice w agresywności klinicznej RRT w zależności od typu mutacji są dobrze znane [1]. W MEN 2B rak rozwija się w pierwszych latach życia, a wykryty po 15 roku życia na ogół jest nieoperacyjny. Rodzinny rak rdzeniasty tarczycy rozwijający się na podłożu mutacji w kodonach nie-cysteinowych znajduje się z kolei na drugim biegunie i przebiega stosunkowo łagodnie. W klasycznym zespole MEN 2A, rozwijającym się na podłożu mutacji w kodonie 634, mamy do czynienia z pośrednią sytuacją, ale trzeba podkreślić, że w poszczególnych rodzinach obserwuje się tu duże zróżnicowanie. Są rodziny, w których RRT przebiega stosunkowo łagodnie. W innych obserwujemy zjawisko antycypacji genetycznej – to znaczy choroba u dzieci przebiega bardziej agresywnie niż w pokoleniu rodziców. To zjawisko trudno jest w chwili obecnej dobrze śledzić, ponieważ na naturalne różnice w przebiegu choroby z pokolenia na pokolenie nakładają się różnice wynikające z postępu diagnostyki. Od około 15 lat rutynowo oznaczamy u naszych chorych kalcytoninę i wykonujemy próby pentagastrynowe u rodzin chorych, co znacząco przyspieszyło wykrycie predyspozycji dziedzicznej i samego raka, a od około 7 lat wdrożyliśmy diagnostykę DNA, co przyniosło dalsze znaczące przyspieszenie. W wielu rodzinach nie da się wobec tego oddzielić wpływu czynników zależnych od diagnostyki od czynników biologicznych. Jeżeli jednak obserwujemy większą progresję choroby w drugim pokoleniu mimo wcześniejszego rozpoznania i wcześniejszego radykalnego leczenia, możemy założyć, że co najmniej w niektórych rodzinach z dziedzicznym rakiem rdzeniastym tarczycy antycypacja genetyczna odgrywa znaczącą rolę.

Wszystkie wymienione powyżej czynniki powodują, że nie jest łatwo porównać przebieg raka sporadycznego i dziedzicznego. Podczas kiedy skład grupy raka prawdziwie sporadycznego (czyli takiego, w którym predyspozycję dziedziczną wykluczono badaniem RET) nie podlega żadnej wątpliwości i tu dysponujemy bardzo liczną grupą chorych, to przy raku dziedzicznym nasuwają się pytania, czy wszystkie przypadki powinny być łączone razem czy też MEN 2B z jednej strony

Tabela III. Proponowany zakres limfadenektomii w czasie operacji wykonywanej u nosiciela mutacji RET, w zależności od typu mutacji, wieku pacjenta i wartości kalcytoniny (próba pentagastrynowa PG).

Mutacja	Ct do 10pg/ml Próba PG <30 ng/ml	Ct do 30pg/ml Próba PG do 100 ng/ml	Ct Próba PG >100 ng/ml
918	do 5 rż	zawsze	zawsze
	> 5 rż		
634	do 30 rż	do 15 rż	
	> 30 rż	> 15 rż	
609	do 30 rż	do 15 rż	
	620	> 30 rż	
804		do 40 rż	
	> 40 rż	> 40 rż	

na szaro zaznaczono, kiedy wybranie limfadenektomii jest bezwzględnie konieczne

i MEN 2A / FMTC z drugiej powinny być rozpatrywane oddzielnie. Naszym zdaniem jedynie to drugie rozwiązanie jest prawidłowe. Agresywność RRT w przebiegu zespołu MEN 2B nie podlega żadnej wątpliwości i łączenie tych chorych z chorymi na zespół MEN 2A prowadzi do powstania bardzo niejednorodnej grupy chorych. Niemniej, także w zespole MEN 2A pojawiają się poważne trudności w ocenie wyniku leczenia na poziomie klinicznym. W przeszłości część chorych nie była leczona optymalnie, gdyż zdarzało się, że onkolog, koncentrując się na rozpoznaniu raka rdzeniastego tarczycy, nie doceniał konieczności wcześniejszego leczenia guza chromochłonnego nadnerczy ze względu na jego łagodną biologię. Stąd też w dużej grupie chorych można znaleźć przypadki poważnych powikłań albo wręcz zgonu wynikających tak z przełomu nadciśnieniowego jak i z przełomu nadnerczowego, do którego dochodziło z kolei w wyniku niedostatecznie intensywnie leczonej niedoczynności nadnerczy po operacji usunięcia tych gruczołów. Przeżycie całkowite w grupie chorych na MEN 2A nie zawsze związane jest więc tylko z umieralnością z powodu raka rdzeniastego tarczycy. Wszystkie te przyczyny powodują, że chociaż często wyrażana jest opinia, że rak rdzeniasty tarczycy rozwijający się na podłożu mutacji RET typu MEN 2A / FMTC ma klinicznie łagodniejszy przebieg niż rak sporadyczny, to trudno jest napotkać w piśmiennictwie jednoznaczne dowody dokumentujące ten pogląd.

W naszym doświadczeniu rak dziedziczny w przebiegu MEN 2A nie jest homogeny i obok chorych z łagodnym, często dwudziestoletnim i dłuższym przebiegiem choroby obserwujemy chorych, u których mimo prawidłowego leczenia i starannego monitorowania dochodzi do nawrotu i szybkiej progresji, wiodącej do zgonu. Jak dotąd nie ma żadnych markerów molekularnych które mogłyby pozwolić na przewidywanie przebiegu RRT.

Czy badanie profilu ekspresji genów będzie pomocne w odróżnianiu dziedzicznego i sporadycznego RRT?

Od paru lat znaczący postęp w rozwiązywaniu pytań związanych z przebiegiem transformacji nowotworowej i progresji różnych typów raka, a także w poszukiwaniu markerów o dużym znaczeniu prognostycznym, wynika z badań prowadzonych z użyciem mikromacierzy DNA. W raku rdzeniastym tarczycy te badania są jeszcze nieliczne. Niedawno opublikowana praca [15] wskazuje, że nie ma znaczących różnic w profilu molekularnym raka rdzeniastego sporadycznego i raka na podłożu mutacji MEN 2A / FMTC i dlatego łączy te guzy w jedną grupę, przeciwstawiając je rakom rdzeniastym tarczycy w przebiegu MEN 2B.

W pracy tej wykazano, że MEN 2B charakteryzuje się odmiennym profilem ekspresji i wymieniono geny związane z tą różnicą największe znaczenie przypisując genowi chondromoduliny 1. Ekspresja tego genu, tak na poziomie RNA jak i białka, była silnie skorelowana z występowaniem charakterystycznych zmian w budowie szkieletu chorego.

Ustalenie podziału dla profilu ekspresji genów między MEN2B z jednej strony, a rakiem sporadycznym i MEN2A z drugiej jest trochę zaskakujące. Z jednej strony można oczekiwać, że w profilu ekspresji genów w raku dziedzicznym i sporadycznym nie będzie dużych różnic, skoro i w jednych i w drugich guzach wydarzeniem inicjującym transformację nowotworową jest mutacja proto-onkogenu RET - somatyczna w guzach sporadycznych, germinalna w guzach dziedzicznych. Z drugiej jednak strony wiadomo, że somatyczna mutacja genu RET w sporadycznych rakach rdzeniastych to najczęściej mutacja w kodonie 918, a więc identyczna mutacja jak ta, która leży u podłoża MEN 2B. W zespole MEN 2A, jak pamiętamy, mutacja zachodzi w kodonach cysteinowych, a w FMTC obok kodonów cysteinowych można obserwować przypadki raka rozwijającego się w wyniku mutacji kodonów kodujących także część wewnątrzcytoplazmatyczną białka RET, ale nigdy w kodonie 918. Można by się więc spodziewać, że rak sporadyczny i rak na podłożu MEN 2B będą podobne, a rak na podłożu MEN 2A będzie wykazywał pewne różnice w profilu ekspresji genów, a tymczasem tak nie jest. Najprawdopodobniejsze wyjaśnienie leży więc nie tyle w samej lokalizacji mutacji, co w czasie oddziaływania zmutowanego genu i jego aktywnego produktu białkowego. W MEN 2B mutacja germinalna oddziałuje także na etapie embriogenezy komórek C. Już wówczas odpowiedź komórek zawierających zmutowany gen w stosunku do obecnych wówczas czynników wzrostowych jest nadmierna i to decyduje najpewniej o trwałej zmianie profilu ekspresji genów.

W naszych własnych badaniach, których wyniki przedstawiliśmy w czasie Konferencji Sekcji Endokrynologii Molekularnej PTE w Poznaniu [16] oraz w czasie Kongresu ETA w Stambule [17] i które aktualnie przygotowujemy do publikacji, także nie obserwowaliśmy bardzo dużych różnic w profilu raka rdzeniastego sporadycznego i dziedzicznego. Badania te wykonane zostały techniką mikromacierzy oligonukleotydowych wysokiej gęstości i pozwoliły na ocenę profilu ponad 20 000 genów. Niemniej, należy podkreślić, że zarówno w naszych badaniach jak i w badaniach cytowanych powyżej, odnosiliśmy profil ekspresji raka rdzeniastego tarczycy do profilu otaczającej niezmięnionej tkanki. Może to być źródłem uproszczeń, gdyż preferuje podobne geny we wszystkich guzach, zamiast kłaść nacisk na istniejące między nimi różnice.

Profilaktyczne tyroidektomie w raku rdzeniastym tarczycy

Zapobiegawcze usunięcie tarczycy było rozważane w raku rdzeniastym tarczycy jeszcze zanim wdrożono zasady diagnostyki protoonkogenu RET, a z chwilą jednoznacznej identyfikacji nosicieli mutacji stało się standardem postępowania, tym bardziej, że penetracja mutacji RET jest wysoka i w odniesieniu do RRT sięga 100%. Jest to równoznaczne z bardzo wysokim prawdopodobieństwem zachorowania w ciągu życia. Dlatego przeprowadzenie profilaktycznej operacji jest uzasadnione. Uważa się, że w MEN 2B powinna ona być przeprowadzona w 1 roku życia, a w MEN 2A w 6 roku życia [1,2].

Przeciwnicy profilaktycznej tyroidektomii argumentują, że możliwość wcześniejszego wykrycia raka rdzeniastego poprzez powtarzanie oznaczeń poziomu kalcytoniny w próbie pentagastrynowej pozwala na dokonanie operacji we wczesnej fazie choroby, a więc obniża ryzyko operacji niepotrzebnej w świetle własnego doświadczenia – hiperplazja komórek C tarczycy była obecna u wszystkich naszych chorych, nawet przy prawidłowych wartościach próby pentagastrynowej – i w świetle danych z piśmiennictwa, takie postępowanie wydaje się niepotrzebnym zwiększeniem ryzyka rozwoju raka, tym bardziej, że ewentualny zysk wynikający z opóźnienia operacji jest nieduży przy znaczącym ryzyku przeoczenia progresji choroby nowotworowej [2,3].

Dralle i wsp. [18] podkreślają, że profilaktyczna tyroidektomia powinna obejmować również wycięcie centralnego układu chłonnego szyi, jeżeli stężenie kalcytoniny jest nieprawidłowe lub jeżeli pacjent jest starszy niż 10 lat. Obustronna limfadenektomia szyjna powinna być przeprowadzona w przypadku podejrzenia przerzutów do węzłów chłonnych lub wykazania podwyższonego stężenia kalcytoniny u chorych starszych niż 15 lat (Tab.III). W naszym materiale [19,20], najmłodsza operowana chora miała 3 lata (była nosicielką mutacji RET 634). U tej chorej decyzja o wcześniejszej operacji wynikała ze stwierdzenia wzrostu stężenia kalcytoniny. Badanie pooperacyjne wykazało obecność mikroraka. Przypadek ten potwierdza regułę, że test DNA trzeba wykonywać wcześniej i monitorować starannie zdiagnozowanych nosicieli.

Odrębna kwestia to zagadnienie trwałych powikłań po operacji profilaktycznego całkowitego wycięcia tarczycy. Większość autorów widzi je rzadko, podobnie jest w naszym materiale. Duża analiza Dralle'a oceniła ryzyko wywołania niedoczynności przytarczyc na 6,7%, a ryzyko jednostronnego uszkodzenia nerwu krtaniowego wstecznego na 1,3%, przy czym nie zależało ono od wieku operowanych dzieci [18].

Ostatecznym kryterium, które powinno przemawiać za profilaktyczną tyroidektomią jest zwiększenie

zysku terapeutycznego – wzrost odsetka wyleczeń bez zwiększenia ryzyka powikłań. Ze względu na fakt, że operacje profilaktyczne wynikające ze wskazań uzyskanych z analizy DNA są przeprowadzane dopiero od 1994 roku, w piśmiennictwie nie ma jeszcze pełnej oceny tego zagadnienia, niemniej w ogromnej większości przypadków, w tym także w naszym doświadczeniu, uzyskano trwałą normalizację pooperacyjnego stężenia kalcytoniny. Nie opisano dotąd w piśmiennictwie ani jednego przypadku nawrotu hiperkalcytoninemii po profilaktycznej tyroidektomii, chociaż teoretycznie jest to oczywiście możliwe, choćby ze względu na obecność komórek C w grasicy. Ze względu na krótki czas obserwacji nie wiadomo, jak będzie przebiegał rozwój guzów chromochłonnych u chorych operowanych profilaktycznie.

W podsumowaniu warto uwypuklić, że jakkolwiek RRT jest rzadkim nowotworem, to dopracowano się w nim algorytmu dobrze skonstruowanego, który maksymalizuje szansę trwałego wyleczenia. Należy jednak podkreślić, że wynik badania DNA informuje nas nie tylko o konieczności włączenia tego algorytmu, ale w zależności od typu mutacji kierunkuje nas na nieco odrębne tory postępowania.

Piśmiennictwo

1. Jarzab B. Dziedziczne uwarunkowania guzów chromochłonnych. In: Nadciśnienie tętnicze. (Januszewicz A, Januszewicz W, Szczepańska-Sadowska E, Szejderman M, eds.). Med Prakt 2004; 689-702
2. Eng C. *RET* proto-oncogene in the development of human cancer. J Clin Oncol 1999; 17(1): 380-93
3. Jarzab B, Włoch J, Wygoda Z. Dziedziczny rak rdzeniasty tarczycy. In: Nowotwory dziedziczne 2002. Profilaktyka, diagnostyka, leczenie (Lubiński J, ed.) Termedia 2002: 91-105
4. Barbot N, Calmettes C, Schuffenecker I et al. Pentagastrin stimulation test and early diagnosis of medullary thyroid carcinoma using immunoradiometric assay of calcitonin: comparison with genetic screening in hereditary medullary thyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab 1994; 78: 114-120
5. Donis-Keller H, Dou S, Chi D et al. Mutations of the *RET* proto-oncogene are associated with MEN 2A and FMTC. Hum Mol Genet 1993; 2: 851-856
6. Mulligan LM, Kwok JB, Healey CS et al. Germ-line mutations of the *RET* proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2A. Nature 1993; 363: 458-460
7. Wiench M, Włoch J, Wygoda Z et al. Genetic diagnosis of multiple endocrine neoplasia type 2B. Endokrynol Pol 2000; 51: 67-76
8. Eng C, Clayton D, Schuffenecker I et al. The relationship between specific *RET* proto-oncogene mutations and disease phenotype in multiple endocrine neoplasia type 2. International *RET* Mutation Consortium analysis. JAMA 1996; 276: 1575-1579
9. Eng C, Mulligan LM. Mutations of the *RET* proto-oncogene in the multiple endocrine neoplasia type 2 syndromes, related sporadic tumors, and Hirschsprung disease. Hum Mut 1997; 9: 97-109
10. Lips CJ, Landsvater RM, Hoppener JW et al. Clinical screening as compared with DNA analysis in families with multiple endocrine neoplasia type 2A. N Eng J Med 1994; 331: 828-835

11. Jarząb B, Włoch J, Wiench M et al. Wczesna diagnostyka zespołu mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej typu 2 poprzez analizę genetyczną germinalnych mutacji protoonkogenu *RET*. *Endokrynol Pol* 1999; 50: 127-134
12. Fleming JB, Lee JE, Bouvet M et al. Surgical strategy for the treatment of medullary thyroid carcinoma. *Ann Surg* 1999; 230: 697-707.
13. Gimm O, Sutter T, Dralle H. Diagnosis and therapy of sporadic and familial medullary thyroid carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127: 156-65
14. Podwiński A, Skrzypek J. Rak rdzeniasty tarczycy – spostrzeżenia własne. *Endokrynol Pol* 1995; Suppl 2 No 3: 233-241
15. Jain S, Watson MA, DeBenedetti MK et al. Expression profiles provide insights into early malignant potential and skeletal abnormalities in multiple endocrine neoplasia type 2B syndrome tumors. *Cancer Res* 2004; 64(11):3907-13
16. Włoch J. Rak rdzeniasty tarczycy: od badań molekularnych do kliniki. Materiał Zjazdowe IV Konferencji Sekcji Endokrynologii Molekularnej PTE 2004: 46-47 (abst.)
17. Oczko M, Włoch J, Fajarewicz K et al. Gene expression profile of medullary thyroid carcinoma: comparison of sporadic and inherited cancer. *Turk J Endocr Metab* 2004; 8(1): 121 (abstr.)
18. Dralle H, Gimm O, Simon D et al. In: Prophylactic thyroidectomy in 75 children an adolescent with hereditary medullary thyroid carcinoma: German and Austrian experience. *World J Surg* 1998; 22: 744-750
19. Włoch J, Wygoda Z, Wiench M et al. Profilaktyczne całkowite wycięcie tarczycy u nosicieli mutacji w protoonkogenie *RET* powodujących dziedzicznego raka rdzeniastego tarczycy. *Pol Przegl Chir* 2001; 73(7): 569-585
20. Włoch J, Wygoda Z, Szpak-Ulczok S et al. Wyniki leczenia raka rdzeniastego tarczycy rozpoznanego testem DNA (publikacja wysłana do druku)
21. Gagel RF, Cote GJ. Pathogenesis of medullary thyroid carcinoma. *Thyroid Cancer*. Kluwer Academic Publisher. Boston/Dordrecht/London. 1998