

Медуллярный рак щитовидной железы в составе синдрома МЭН 2Б. Клинический случай

Л.Н. Любченко¹, Ф.А. Амосенко¹, М.Г. Филиппова¹, В.З. Доброхотова², Е.Г. Матякин¹

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва;

²ГОУ ВПО «Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Контакты: Людмила Николаевна Любченко clingen@mail.ru

Синдром МЭН 2Б является одним из подтипов синдрома множественных эндокринных неоплазий 2-го типа и характеризуется развитием агрессивных форм медуллярного рака щитовидной железы в раннем возрасте, высоким риском развития феохромоцитомы и гиперпаратиреоидного синдрома. В статье приводится собственное клиническое наблюдение пациента с синдромом МЭН 2Б, ассоциированным с герминальной мутацией в протоонкогене *RET*.

Ключевые слова: синдром МЭН 2Б, протоонкоген *RET*, медуллярный рак щитовидной железы

Medullary thyroid cancer as part of MEN 2B syndrome. Case report

L.N. Lyubchenko¹, F.A. Amosenko¹, M.G. Filippova¹, V.Z. Dobrokhotova², E.G. Matyakin¹

¹N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia

MEN 2B syndrome is a subtype of the multiple endocrine neoplasia type 2. It is characterized by the development of aggressive forms of medullary thyroid cancer at an early age, pheochromocytoma and hyperparathyroid syndrome. This article provides an own clinical observation of the patient with MEN 2B syndrome associated with a mutation in the proto-oncogene RET.

Key words: MEN 2B syndrome, proto-oncogene *RET*, medullary thyroid cancer

Синдром МЭН 2, встречающийся в популяции с частотой 1:30 000, является аутосомно-доминантным синдромом с высоким риском развития нейроэндокринных опухолей, характеризующимся возникновением и накоплением в семьях медуллярного рака щитовидной железы (МРЩЖ), феохромоцитомы и гиперплазии паращитовидных желез [1]. Возраст манифестации, клинические характеристики и частота первично-множественных опухолей в большинстве случаев являются генотип-зависимыми.

С учетом клинических проявлений синдром МЭН 2 подразделяют на 3 подтипа, а герминальные мутации в протоонкогене *RET* ассоциированы с риском развития вариантов МЭН 2А, МЭН 2Б и наследственного МРЩЖ (нМРЩЖ) [2, 3].

Синдром МЭН 2А (ОМIM 171400) составляет 70–80 % от всех случаев МЭН 2. МРЩЖ является главным проявлением заболевания и встречается в 70–90 % случаев. Диагностируется обычно в возрасте до 35 лет, при этом у 70 % пациентов – уже на стадии регионального лимфогенного метастазирования [4]. Феохромоцитома диагностируется у пациентов с МЭН 2А в 50 % случаев, а в 13–27 % выступает как первое проявление синдрома МЭН 2А [5–7]. Гиперплазия паращитовидных желез при МЭН 2А, как правило, характеризуется

мягким течением с манифестацией гиперпаратиреоидного синдрома в возрасте 38 лет [3, 8].

Наследственный (семейный) МРЩЖ (СМРЩЖ (ОМIM 155240)) составляет 10–20 % всех случаев синдрома МЭН 2 и является, как правило, единственным проявлением заболевания с более поздним возрастом манифестации болезни [2, 3, 9, 10].

Синдром МЭН 2Б (ОМIM 162300) составляет примерно 5 % от всех случаев синдрома МЭН 2. Данный подтип характеризуется ранней манифестацией агрессивных форм МРЩЖ [11]. Феохромоцитома в составе синдрома МЭН 2Б встречается примерно у 50 % пациентов и примерно в половине случаев является билатеральной. Проявления гиперплазии паращитовидных желез при МЭН 2Б считаются клинически не значимыми.

В отличие от двух других подтипов синдром МЭН 2Б характеризуется наличием фенотипических проявлений, отсутствующих при нМРЩЖ и МЭН 2А. Так, уже в младенческом и детском возрасте возможно выявление невринома на передней дорсальной поверхности языка, твердого неба или глотки, а также ряда отличительных черт внешности: выступающие губы, подслизистые узелки на пограничной линии губ, невриномы век, вызывающие утолщение и выворот края

верхнего века. Приблизительно 75 % пациентов имеют марфаноподобный фенотип, страдают кифосколиозом или лордозом, у части больных отмечают избыточную подвижность суставов и снижение накопления подкожного жира [12]. У 40 % пациентов, страдающих синдромом МЭН 2Б, при плановом обследовании диагностируется диффузный ганглионейроматоз желудочно-кишечного тракта, ассоциированный с развитием таких симптомов, как мегаколон и нарушенный стул (диарея) [13].

Драйверные мутации в протоонкогене *RET* были предложены в качестве этиологического фактора наследственного МРЩЖ в составе синдрома МЭН в 1993 г. двумя независимыми группами зарубежных ученых [14, 15].

Протоонкоген *RET* (rearranged during transfection) (OMIM 164761), впервые клонированный японским исследователем Takahashi в 1985 г., локализуется на длинном плече 10-й хромосомы (10q11.2) и содержит 21 экзон, кодирует трансмембранный рецептор с тирозинкиназной активностью [16]. Мутации внеклеточного домена протоонкогена *RET* локализируются в 10-м и 11-м экзонах и выявляются в большинстве случаев при синдромах МЭН 2А и СМРЩЖ. Мутации внутриклеточного домена (14–16-й экзоны) ассоциированы с развитием синдрома МЭН 2Б. Согласно последним данным, представленным ARUP Online Scientific Resource, зарегистрировано 155 герминальных мутаций [17].

Корреляции «*RET*-генотип – МЭН 2-фенотип» были первыми из описанных генотип-фенотип-ассоциаций при наследственных синдромах [18]. Так, на сегодняшний день представлены клинические проявления мутаций в 634-м кодоне, ответственных за развитие 85 % СМРЩЖ и синдрома МЭН 2А. Герминальная миссенс-мутация р. М918Т описана только для синдрома МЭН 2Б. Некоторые другие мутации (в кодонах 790/791) характеризуются низкой пенетрантностью. Серия крупных межцентровых исследований привела к созданию «классификации» для пациентов – носителей герминальных мутаций в гене *RET*, на 4 группы (А–D) относительно риска развития неблагоприятных форм МРЩЖ [17, 19–21]. В одном из таких исследований, EUROMEN, было показано, что возраст манифестации заболевания у носителей мутаций внеклеточного домена протоонкогена *RET* значительно моложе – составлял 10,2 года в сравнении с 16,6 года при локализации мутаций во внутриклеточном домене [22].

Согласно международной базе данных ARUP Online Scientific Resource и данным ATA (American Thyroid Association), пациенты, страдающие только СМРЩЖ, имеют относительно низкий риск развития агрессивных форм МРЩЖ, при этом задействованными в патогенезе чаще всего являются 13-й экзон

(кодоны 768, 790), 14-й экзон (кодон 804) и 15-й экзон (кодон 891) протоонкогена *RET*. У пациентов с синдромом МЭН 2А сохраняется промежуточный риск развития прогностически неблагоприятных форм МРЩЖ и мутации чаще всего локализируются в 10-м экзоне (кодоны 609, 611, 618, 620) и в 630-м кодоне 11-го экзона гена *RET*. К группе высокого риска С относятся пациенты с классическим синдромом МЭН 2А, мутации в данном случае обнаруживаются в 634-м кодоне 11-го экзона протоонкогена *RET*. К самой неблагоприятной группе прогноза D с ранним возрастом манифестации, ранним отдаленным метастазированием и агрессивным характером роста опухоли относятся пациенты с синдромом МЭН 2Б, при котором чаще всего мутации выявляются в 883-м кодоне 15-го экзона (3 %) и 918-м кодоне 16-го экзона (95 %) протоонкогена *RET* [12, 17, 23].

Клинический случай

Пациентка К. 23 лет впервые обратилась в ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН в сентябре 2010 г. Поводом для обращения послужило злокачественное новообразование щитовидной железы (ЩЖ), по поводу которого ранее по месту жительства было выполнено оперативное вмешательство нерадикального объема. Из анамнеза известно, что первые проявления болезни появились за год до постановки диагноза, когда стали беспокоить эпизоды «приливов», тахикардии, купирующиеся самостоятельно, которые по месту жительства были расценены как симптомы тиреотоксикоза. Пациентка была обследована у эндокринолога, выявлен узловой зоб. В связи с ростом узла в июне 2010 г. по месту жительства проведено оперативное вмешательство на ЩЖ в объеме частичной резекции правой доли ЩЖ. При гистологическом исследовании операционного материала по месту жительства установлен вероятно ошибочный морфологический диагноз: папиллярный рак ЩЖ. При дообследовании по месту жительства у пациентки выявлены множественные метастазы в легких и проведен 1 курс полихимиотерапии по схеме: циклофосфан 800 мг, винкристин 2 мг, доксорубин 80 мг, преднизолон 60 мг.

Для определения дальнейшей тактики лечения и наблюдения пациентка самостоятельно обратилась в ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН. Учитывая характер жалоб и марфаноподобный габитус пациентки, был предположен МРЩЖ с карциноидным синдромом. Уточнить морфологический вариант опухоли по готовым гистологическим препаратам на амбулаторном этапе обследования не удалось, поскольку препараты не были представлены. Однако по данным исследования сыворотки крови выявлен высокий уровень кальцитонина – 19.000 нг/л. По результатам обследования в ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН установлен диагноз: МРЩЖ с метастатическим поражением обоих легких, лимфатических узлов средостения; карциноидный синдром. Син-



Рис. 1. Диспропорция лицевого и мозгового отделов черепа



Рис. 2. Брахидактилия стоп



Рис. 3. Брахидактилия кистей

дром множественной эндокринной неоплазии II типа (?). По данным компьютерной томографии (КТ) брюшной полости выявлены узловые образования правого надпочечника, мегаколон, дэкстракардия. В октябре 2010 г. пациентке выполнена операция в объеме тиреоидэктомии и фасциально-фулярного иссечения клетчатки шеи справа. Симптомы опухолевой гиперсекреции после выполнения оперативного вмешательства не возобновлялись. При плановом гистологическом исследовании операционного материала выявлен С-клеточный (медуллярный) рак ЩЖ. По рекомендации лечащего врача больная была проконсультирована врачом-онкогенетиком. При сборе анамнестических данных выяснилось, что никто из родственников как с материнской, так и с отцовской стороны ранее не страдал онкологическими заболеваниями. При осмотре пациентки были отмечены множественные признаки дисморфогенеза: диспропорция лицевого и мозгового отделов черепа (рис. 1), глазной гипертелоризм, эпикантус, макростомия, макрогения, дефицит зубной формулы, диастема, тремы, вальгусная деформация коленных суставов, укорочение левой нижней конечности, брахидактилия кистей и стоп (рис. 2, 3), частичная кожная синдактилия II–III пальцев кистей, а также такие фенотипические признаки, как выступающие губы, подслизистые узелки (ганглионевриномы) на пограничной



Рис. 4. Выступающие губы, подслизистые узелки (ганглионевриномы) на пограничной линии губ

линии губ (рис. 4), долихоастеномелический тип телосложения (рис. 5).



Рис. 5. Долichoастеномелический тип телосложения

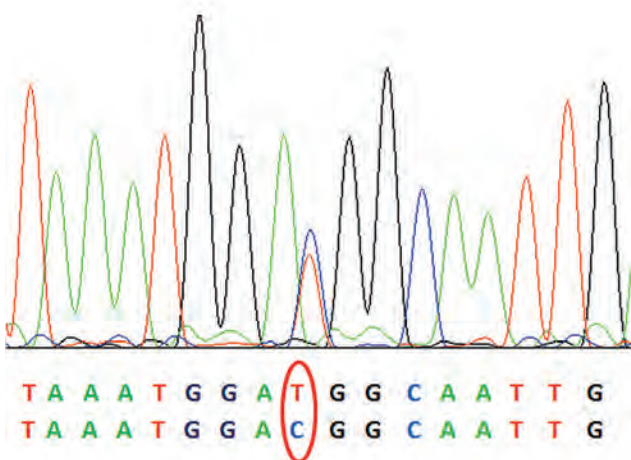


Рис. 6. Сиквенс 16-го экзона гена RET

Принимая во внимание молодой возраст пациентки, гистологическую принадлежность опухоли, фенотипические синдромологические признаки, пациентке было выполнено молекулярно-генетическое исследование в объеме

определения первичной структуры 16-го экзона протоонкогена RET с целью исключения/подтверждения наследственной этиологии заболевания с использованием методов рестрикционного анализа и секвенирования.

Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови с помощью набора QIAamp DNA Blood Mini Kit фирмы Qiagen (Германия).

Для проведения рестрикционного анализа 10 мкл продукта полимеразной цепной реакции (ПЦР) смешивали с 2 мкл 10x буфера и с 2–5 ед. эндонуклеазы Fok I (New England Biolabs, США), доводили объем водой до 20 мкл и инкубировали в течение 2–4 ч при 37 °С. Фрагменты ДНК анализировали методом электрофореза в 6 % полиакриламидном геле. Гели окрашивали бромистым этидием.

Определение нуклеотидной последовательности экзона 16-го гена RET проводили с помощью прямого автоматического секвенирования на аппарате 3130xl Genetic Analyzer фирмы Applied Biosystems, используя те же праймеры, что и при ПЦР-амплификации.

Секвенирование экзона 16-го гена RET по обеим цепям выявило в одной из хромосом больной замену А на С в положении 2753. Обнаруженная транзигция изменяет смысл кодона 918: Met (ATG) > Thr (ACG) (р. М918Т) (рис. 6). Рестрикционный анализ экзона 16 с помощью эндонуклеазы Fok I подтвердил результаты секвенирования. Диагностированная мутация зарегистрирована в международной базе данных MEN2 Database ARUP как клинически значимый вариант [17].

Клинико-генетический диагноз: МРЩЖ в составе синдрома МЭН 2Б.

Учитывая герминальный характер выявленной мутации, ДНК-диагностика протоонкогена RET была проведена матери пациентки. По результатам молекулярно-генетического исследования мутаций в гене RET выявлено не было. Нам не удалось провести аналогичное исследование у отца больной. Учитывая крайне высокую пенетрантность синдрома МЭН 2Б (по данным ARUP – возраст на момент манифестации МРЩЖ при синдроме МЭН 2Б составляет 5 лет, в литературе описаны и случаи выявления метастазов МРЩЖ у новорожденных [24]), отсутствие жалоб на состояние здоровья у 45-летнего отца на момент опроса, можно предположить de novo характер выявленной мутации, что не противоречит мировым литературным данным [25, 26].

Обсуждение

ДНК-диагностика при синдроме МЭН 2 является одним из важных примеров, когда выявленные миссенс-мутации в гене RET служат важными критериями для ранней диагностики, прогнозирования клинического течения болезни, профилактики и определения дальнейшей тактики ведения пациентов. К сожалению, ведущим методом профилактики наследственного МРЩЖ на сегодняшний день остаются своевремен-

ные профилактические хирургические подходы. Впервые превентивные тиреоидэктомии были описаны американским хирургом Уэллсом в 1994 г. В опубликованной им работе приводятся данные о 13 профилактических тиреоидэктомиях, выполненных у носителей герминальных мутаций в протоонкогене *RET*. При этом по данным гистологических исследований в каждом образце удаленной ЩЖ были выявлены либо С-клеточная гиперплазия, либо МРЩЖ [27].

На сегодняшний день разработаны и используются в практике рекомендации по выполнению профилактических тиреоидэктомий у носителей герминальных мутаций в протоонкогене *RET*, предложенные АТА и базирующиеся на более чем 400 исследованиях, посвященных МРЩЖ [12]. Лица, которым не были выполнены своевременные профилактические операции, должны наблюдаться в условиях онкодиспансера [28]. Биохимический скрининг следует начинать у всех детей с синдромом МЭН 2Б, с возраста 6 мес и с возраста 3–5 лет для синдрома МЭН 2А и СМРЩЖ [3].

Перед проведением оперативных вмешательств на ЩЖ всем пациентам с подтвержденным носительством герминальных мутаций в протоонкогене *RET* необходимо исключать гормонально-активные формы феохромоцитомы для избежания интраоперационных катехоламиновых кризов [29]. Так, в одном из проспек-

тивных исследований было показано, что у 8 % больных с МРЩЖ синхронно диагностируются феохромоцитомы, что предполагает выполнение адреналэктомий на первом этапе оказания хирургической помощи пациентам [30]. Кроме того, согласно рекомендациям NCCN «даже у пациентов с очевидными спорадическими формами МРЩЖ должен быть исключен синдром МЭН 2, гиперпаратиреоидный синдром и феохромоцитома, ассоциированные с *RET*-мутациями, до момента оперативного вмешательства на ЩЖ» [31].

Все пациенты – носители герминальных мутаций в гене *RET* должны подвергаться скрининговым исследованиям, включающим оценку биохимических показателей крови, с последующим проведением магнитно-резонансной томографии или КТ брюшной полости на предмет исключения феохромоцитомы [3, 32]. Средний возраст для начала проведения скрининговых биохимических исследований крови для носителей мутаций в 630-м и 634-м кодонах составляет 8 лет, в остальных кодонах – 20 лет [3]. Пациенты с синдромом МЭН 2Б должны быть включены в профилактические программы по снижению риска развития и профилактике феохромоцитомы с 8 лет [3].

Работа частично поддержана грантом Министерства образования и науки Российской Федерации 16.512.11.2048.

ЛИТЕРАТУРА

- Allgayer H., Render H., Fulda S. Hereditary Tumors: From genes to clinical consequences. Wiley-VCH, 2009. 530 p.
- Zbuk K.M., Eng C. Cancer phenomics: RET and PTEN as illustrative models. *Nat Rev Cancer* 2007 Jan;7(1):35–45.
- American Thyroid Association Guidelines Task Force, Kloos R.T., Eng C. et al. Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association. *Thyroid* 2009 Jun;19(6):565–612.
- Cohen M.S., Moley J.F. Surgical treatment of medullary thyroid carcinoma. *J Intern Med* 2003 Jun;253(6):616–26.
- Inabnet W.B., Caragliano P., Pertsemelidis D. Pheochromocytoma: inherited associations, bilaterality, and cortex preservation. *Surgery* 2000 Dec;128(6):1007–11; discussion 1011–2.
- Rodriguez J.M., Balsalobre M., Ponce J.L. et al. Pheochromocytoma in MEN 2A syndrome. Study of 54 patients. *World J Surg* 2008 Nov;32(11):2520–6.
- Neumann H.P., Bausch B., McWhinney S.R. et al. Germ-line mutations in nonsyndromic pheochromocytoma. *N Engl J Med* 2002 May 9;346(19):1459–66.
- Schuffenecker I., Virally-Monod M., Brohet R. et al. Risk and penetrance of primary hyperparathyroidism in multiple endocrine neoplasia type 2A families with mutations at codon 634 of the RET proto-oncogene. *Groupe D'etude des Tumeurs à Calcitonine. J Clin Endocrinol Metab* 1998 Feb;83(2):487–91.
- Machens A., Dralle H. Multiple endocrine neoplasia type 2 and the RET protooncogene: from bedside to bench to bedside. *Mol Cell Endocrinol* 2006 Mar 9;247(1–2):34–40.
- Machens A., Gimm O., Hinze R. Genotype-phenotype correlations in hereditary medullary thyroid carcinoma: oncological features and biochemical properties. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 Mar;86(3):1104–9.
- Skinner M.A., DeBenedetti M.K., Moley J.F. et al. Medullary thyroid carcinoma in children with multiple endocrine neoplasia types 2A and 2B. *J Pediatr Surg* 1996 Jan;31(1):177–81; discussion 181–2.
- Moline J., Eng C. Multiple endocrine neoplasia type 2: an overview. *Genet Med* 2011 Sep;13(9):755–64.
- Wray C.J., Rich T.A., Waguespack S.G. et al. Failure to recognize multiple endocrine neoplasia 2B: more common than we think? *Ann Surg Oncol* 2008 Jan;15(1):293–301.
- Mulligan L.M., Kwok J.B., Healey C.S. et al. Germ-line mutations of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2A. *Nature* 1993 Jun 3;363(6428):458–60.
- Donis-Keller H., Dou S., Chi D. et al. Mutations in the RET proto-oncogene are associated with MEN 2A and FMTC. *Hum Mol Genet* 1993 Jul;2(7):851–6.
- Takahashi M., Ritz J., Cooper G.M. Activation of a novel human transforming gene, *ret*, by DNA rearrangement. *Cell* 1985 Sep;42(2):581–8.
- ARUP Online Scientific Resource. www.arup.utah.edu.
- 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 Nov 20;276(19):1575–9.
- Machens A., Gimm O., Hinze R. et al. Genotype-phenotype correlations in hereditary medullary thyroid carcinoma: oncological features and biochemical properties. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 Mar;86(3):1104–9.
- Yip L., Cote G.J., Shapiro S.E. et al. Multiple endocrine neoplasia type 2: evaluation of the genotype-phenotype relationship. *Arch Surg* 2003 Apr;138(4):409–16; discussion 416.
- Gimm O., Ukkat J., Niederle B.E. et al. Timing and extent of surgery in patients with

- familial medullary thyroid carcinoma multiple endocrine neoplasia 2A-related RET mutations not affecting codon 634. *World J Surg* 2004 Dec;28(12):1312–6.
22. Machens A., Niccoli-Sire P., Hoegel J. et al. Early malignant progression of hereditary medullary thyroid carcinoma. *N Engl J Med* 2003 Oct 16;349(16):1517–25.
23. ATA (American Thyroid Association). www.thyroid.org.
24. Satge D., Philippe E., Ruppe M. et al. Neonatal carcinoma. Review of the literature apropos of a case. *Bull Cancer* 1988;75(4):373–84.
25. Castellone M.D., Verrienti A., Magendra Rao D. et al. A novel de novo germline V292M mutation in the extracellular region of RET in a patient with pheochromocytoma and medullary thyroid carcinoma: functional characterization. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010 Oct;73(4):529–34.
26. Chang T.J., Wu S.L., Chang T.C. et al. De novo RET proto-oncogene mutation in a patient with multiple endocrine neoplasia type 2B. *J Formos Med Assoc* 1999 Oct;98(10):692–7.
27. Wells S.A. Jr, Chi D.D., Toshima K. et al. Predictive DNA testing and prophylactic thyroidectomy in patients at risk for multiple endocrine neoplasia type 2A. *Ann Surgery* 1994;220(3):237–47.
28. Szinnai G., Meier C., Komminoth P., Zumsteg U.W. Review of multiple endocrine neoplasia type 2A in children: therapeutic results of early thyroidectomy and prognostic value of codon analysis. *Pediatrics* 2003 Feb;111(2):E132–9.
29. Lee N.C., Norton J.A. Multiple endocrine neoplasia type 2B—genetic basis and clinical expression. *Surg Oncol* 2000 Nov;9(3):111–8.
30. Nguyen L., Niccoli-Sire P., Caron P. et al. Pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2: a prospective study. *Eur J Endocrinol* 2001 Jan;144(1):37–44.
31. NCCN Clinical Practical Guidelines 2011. Thyroid carcinoma (www.nccn.org).
32. Pacak K., Ilias I., Adams K.T., Eisenhofer G. Biochemical diagnosis, localization and management of pheochromocytoma: focus on multiple endocrine neoplasia type 2 in relation to other hereditary syndromes and sporadic forms of the tumour. *J Intern Med* 2005 Jan;257(1):60–8.