

**СИНДРОМ МНОЖЕСТВЕННЫХ ЭНДОКРИННЫХ НЕОПЛАЗИЙ ТИПА 2А:
ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ТИРЕОИДЭКТОМИЯ**

Клиническая статья

Т.П. Казубская¹, В.М. Козлова¹, Ф.А. Амосенко^{1,2}, Р.В. Шишков¹, В.Г. Поляков¹,
В.Ж. Бржезовский¹, В.А. Петеркова³, Р.Ф. Гарькавцева¹

1 - ГУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва, 2 - ГУ Медико-генетический научный центр
РАМН, Москва, 3 - ФГУ Научный эндокринологический центр РАМН, Москва

Адрес для корреспонденции: Казубская Татьяна Павловна, kazubskaya@yahoo.com

Ключевые слова: синдром множественных эндокринных метаплазий 2А, протоонкоген *RET*,
профилактическая тиреоидэктомия

Резюме

Выявление герминальных мутаций протоонкогена *RET*, являющихся причиной предрасположенности к множественным эндокринным неоплазиям типа 2А (МЭН 2А), лежит в основе ранней диагностики и профилактического хирургического лечения лиц-носителей этих мутаций. Среди членов 4-х семей больных МЭН 2А всего идентифицировано 16 родственников-носителей мутаций гена *RET*, локализованных в кодоне 634. С помощью прямого тестирования гена *RET* выявлены 8 бессимптомных носителей генотипа МЭН 2А. 6 членам семей была выполнена профилактическая тиреоидэктомия. У 2-х из них, в возрасте 3,5 и 9 лет, хирургическая операция носила профилактический характер, а у 4-х (14 лет и старше) операция была выполнена на ранней стадии развития опухоли. Сравнение клинических данных пациентов после тиреоидэктомии свидетельствует о более благоприятном исходе заболевания у самых юных из них. Послеоперационное наблюдение за пациентами без признаков заболевания в среднем 5 лет (от 2 до 8 лет). Представлен анализ взаимосвязи между специфической мутацией в гене *RET* и злокачественным потенциалом медулярного рака.

**MULTIPLE ENDOCRINE NEOPLASIA TYPE 2A SYNDROME: PROPHYLACTIC
THYROIDECTOMY**

*T.P.Kazubskaya¹, V.M.Koslova¹, F.A.Amosenko^{1,2}, R.V. Shishkov¹, V.G. Polaykov¹,
V.J. Brjezovsky¹, V.A. Peterkova³, R.F. Garkavtseva¹*

1 - N.N. Blokhin RCRC RAMS, Moscow, 2 - Research Center of Medical Genetics RAMS,
Moscow, 3 - Endocrinology Research Center RAMS, Moscow

Address for corresponding: Tatiana P. Kazubskaya, kazubskaya@yahoo.com

Key words MEN 2A syndrome, RET proto-oncogene, prophylactic thyroidectomy.

Abstract

The detection of germline mutations in the *RET* proto-oncogene predisposing to multiple endocrine neoplasia type 2A (MEN 2A) has allowed approach to early diagnosis and prophylactic surgery treatment of patient with these mutations. A total of 16 relatives persons, carriers of MEN 2A genotype were identified among relatives from 4 families with this syndrome. These individuals were found to harbor the germline *RET* mutation at codon 634. Direct DNA analysis for mutations in the *RET* proto-oncogene was identified 8 relatives as gene carriers of MEN 2A in whom thyroid carcinoma will develop. Of these 6 patients were undergo thyroidectomy. Two of them (3,5 and 9 years) presented prophylactic surgery, the other four (14 years and older) had thyroidectomy at the early stage of the disease. The youngest patients are available the best therapeutic results after surgery. A median follow-up of 5 years (ranged from 2 to 8 years), all patients were well and cancer free. On the base review of literature the correlation between specific *RET* mutation and effect the pace of malignant progression was analyzed.

Введение

С открытием герминальных мутаций протоонкогена *RET*, лежащих в основе возникновения наследственных форм множественных эндокринных неоплазиях (МЭН) 2 типа, появилась реальная возможность профилактики медуллярного рака щитовидной железы (МРЩЖ). Медуллярный рак - это нейроэндокринная опухоль, образующаяся из парафолликулярных (С-клеток) щитовидной железы, ответственных за синтез кальцитонина. Он составляет около 7% всех карцином щитовидной железы и в большинстве случаев (70-80%) возникает спорадически, являясь главной составной частью МЭН 2 типа [2]. Особенностью клинического проявления МЭН 2 является фенотипический полиморфизм, в рамках которого различают 3 синдрома, наследующихся по аутосомно-доминантному типу: МЭН 2А, МЭН 2Б и семейный МРЩЖ. У больных с синдромом МЭН 2А, помимо мультифокального МРЩЖ, от 10 до 50% случаев, опухолью (чаще доброкачественной) поражается мозговое вещество надпочечников [2]. Гиперплазия паращитовидных желез, при этом синдроме, встречается в 20-30% случаев и развивается чаще всего в третьем десятилетии жизни. При синдроме МЭН 2Б у пациентов возникают те же неоплазии, что и для МЭН 2А, однако медуллярный РЩЖ возникает в более раннем возрасте (чаще до 5 лет), протекает более агрессивно и отсутствует гиперплазия паращитовидных желез. Этот синдром имеет четкие, легко распознаваемые фенотипические проявления, включающие: марфаноподобное телосложение, полные губы, прогнатию, невриномы слизистых губ, щек, языка, конъюнктивы, ганглионейроматоз урогенитального и пищеварительного тракта, мегаколон. Эти особенности позволяют заподозрить синдром в возрасте до одного года.

Для больных с семейным МРЦЖ характерно развитие медуллярного рака только в щитовидной железе, который часто бывает двусторонним и мультицентрическим в отличие от спорадического МРЦЖ, при котором опухоль поражает одну долю щитовидной железы. Гиперплазия С-клеток щитовидной железы в рамках этого синдрома расценивается как изменение, предшествующее развитию медуллярного рака [10].

В 1990 г. было установлено, что в механизме проявления практически всех случаев заболевания МЭН 2 вовлечены миссенс-мутации протоонкогена *RET*, локализованном в длинном плече хромосомы 10 (10q 11.2) [15]. Наиболее частые мутации, приводящие к развитию МЭН 2А, представляют собой замену цистеина на другую аминокислоту в одном из кодонов: 609, 611, 618, 620, 630 и 634 протоонкогена *RET*, которые идентифицированы более чем у 98% семей с этим синдромом [4]. Более редкие герминальные мутации встречаются в следующих кодонах: 768, 790, 791, 804 и 891 [3, 5]. Медуллярный РЦЖ при синдромах МЭН 2 у носителей мутации гена *RET* развивается с вероятностью до 100% и является основной причиной летальности. В этой связи, молекулярное тестирование герминальных мутаций гена *RET*, стало необходимым для идентификации лиц-носителей мутаций среди родственников больных МЭН 2 и по существу открыло возможность профилактики МРЦЖ. В последние несколько лет в литературе обсуждается определенная зависимость между специфическими мутациями гена *RET* и вариантами синдромов МЭН 2. Международный консорциум анализа *RET* мутаций на основе изучения 477 семей с МЭН 2 выявил статистически значимую ассоциацию между мутацией в кодоне 634 гена *RET* и наличием феохромоцитомы и гиперпаратиреоза [8, 16]. Кроме того, была установлена ассоциация семейного МРЦЖ с мутацией в кодоне 768 и 804, а мутация в кодоне 918 оказалась специфичной для синдрома МЭН 2Б [16].

Цель исследования - определить роль тестирования мутаций протоонкогена *RET* в семьях больных с МРЦЖ и оценить значимость профилактической тиреоидэктомии у больных с синдромом МЭН 2А и основываясь на существующих данных, провести анализ мутаций гена, ответственного за развитие этого синдрома.

Материалы и методы

В изучение включены пациенты с МРЦЖ, проходивших обследование и лечение в ГУ РОНЦ им. Блохина РАМН с 1998 по 2007 гг. Из 18 семей больных МРЦЖ клинико-генетическое изучение позволило идентифицировать синдром МЭН 2А в 4-х семьях. Во всех семьях собирались необходимые для настоящего исследования данные для каждого родственника 1 и 2-й степени родства. Из 29 родственников семей больных МЭН 2А, 17 человек подверглись молекулярной диагностике с целью выявления наличия мутаций гена *RET*, их возраст варьировал от 3,5 лет до 69 лет. С помощью прямого ДНК-тестирования, у 8

– из них выявлен синдром МЭН 2А. У 4 из них, заболевание установлено клиническим и лабораторным методами, подтверждено молекулярным анализом. У 4-х родственников - диагноз был установлен на основе анализа медицинской документации, подтверждающим синдром МЭН 2А. У 5 пациентов мутации гена *RET* не выявлено. В целом, в 4-х семьях было идентифицировано 16 родственников с генотипом МЭН 2А (табл. 1).

Таблица 1

Клиническая характеристика родственников семей с МЭН 2А и результаты тестирования гена *RET* (выявленный генотип) каждой семьи

Пациенты: № семьи, (возраст/пол)	Наличие феохромоци- томы/медул- лярного рака у пациентов (Ф/М)	Мутация гена <i>RET</i> (генотип) замена аминокислоты/кодон	Бессимптомные носители мутации гена <i>RET</i> (+), тиреоидэктомия
Семья №1: 32 года/м 50 лет/м 3,5 года/ж 9 лет/м 38 лет/ж 9 лет/ж 7 месяцев/	Ф/М Ф - - - - -	<i>TGC</i> → <i>CGC</i> , кодон 634, экзон 11 Не тестировался <i>TGC</i> → <i>CGC</i> , кодон 634, экзон 11 (-) (-) (-) (-)	(+) тиреоидэктомия
Семья №2: 35 лет/ж 25 лет/ж 29 лет/ж 20 лет/м 9 лет/ж 2 года/м	Ф/М Ф Ф М - -	<i>TGC</i> → <i>CGC</i> , кодон 634, экзон 11 Не тестировалась Не тестировалась <i>TGC</i> → <i>CGC</i> , кодон 634, экзон 11 <i>TGC</i> → <i>CGC</i> , кодон 634, экзон 11 (-)	(+) тиреоидэктомия (+) тиреоидэктомия
Семья №3: 14 лет/ж 21 год/ж 42 года/ж 31 год/ж 69 лет/ж	М - М Не обследована Визуальное увеличение щитовидной железы	<i>TGC</i> → <i>CGC</i> , кодон 634, экзон 11 (-) <i>TGC</i> → <i>CGC</i> , кодон 634, экзон 11 <i>TGC</i> → <i>CGC</i> , кодон 634, экзон 11 <i>TGC</i> → <i>CGC</i> , кодон 634, экзон 11 От обследования и лечения отказалась	(+) тиреоидэктомия (+) (+)
Семья №4: 14 лет/ж 12 лет/м 38 лет/ж 74 года/ж	М М М в 45 лет удалена щитовидная железа	<i>TGC</i> → <i>GGC</i> , кодон 634, экзон 11 <i>TGC</i> → <i>GGC</i> , кодон 634, экзон 11 <i>TGC</i> → <i>GGC</i> , кодон 634, экзон 11 Не тестировалась, от обследова- ния и лечения отказалась	(+) тиреоидэктомия (+) тиреоидэктомия

Пациентам носителям патологической мутации гена *RET*, проводилось полное клиническое и лабораторное обследование, включавшее ультразвуковое исследование щитовидной железы, органов грудной и брюшной полости, биохимическое исследование в

сыворотке крови - кальцитонина (базального и комбинированного с пентагастрином) и в моче - продуцируемых надпочечниками катехоламинов. Из 8 выявленных бессимптомных носителей патологической мутации гена *RET*, 6 пациентов согласились на удаление щитовидной железы, и им было проведено хирургическое удаление щитовидной железы с последующим гистологическим исследованием. После оперативного вмешательства все пациенты получают заместительную терапию.

Молекулярная диагностика гена *RET* проводилась на базе лаборатории молекулярной генетики ГУ МГНЦ РАМН. Материалом для молекулярного анализа служили лейкоциты периферической крови. Сбор материала осуществлялся с согласия всех обследованных пациентов. Геномную ДНК для ПЦР – амплификации экзонов гена *RET* выделяли с помощью соответствующих протоколов. ПЦР и тотальное секвенирование нуклеотидной последовательности проводилось для экзонов 10,11,13,14,15 и 16 протоонкогена *RET* [1].

Результаты

Клинико-генетическое изучение семей с МЭН 2А позволило установить широкий спектр клинических проявлений этого синдрома и высокую вариабельность риска развития неоплазии у родственников. Наличие феохромоцитомы установлено в 50% из них (табл. 1). Возраст манифестации заболевания в этих семьях широко варьировал. Из 17 тестированных родственников мутация гена *RET* обнаружена в 71% случаев. Все выявленные мутации локализовались в 634 кодоне гена *RET*. Как видно из табл. 1 и 2, тиреоидэктомия была выполнена 6 бессимптомным носителям мутаций гена *RET*.

В семье №1 у пациентки 2,5 лет установлен генотип синдрома МЭН 2А (табл. 1). В 3,5 года у девочки уровень стимулированного кальцитонина повысился - до 76,8 пг/мл (норма до 20,0 пг/мл), содержание катехоламинов мочи было в пределах нормы. Ультразвуковое исследование (УЗИ) щитовидной железы обнаружило мелкозернистую структуру. УЗИ брюшной полости выявило дистопированную левую почку на уровне подвздошной кости с невыраженным слоем паренхимы и с нечетко визуализируемой собирательной системой. Правая почка, надпочечники, печень, селезенка, без очаговых образований. Ребенку была проведена тиреоидэктомия, при гистологическом исследовании признаков малигнизации не обнаружено. Послеоперационное наблюдение без признаков заболевания в течение 4-х лет.

В семье № 2, обнаружены два бессимптомных носителя герминальной мутации гена *RET*- пациент 20 лет и его 9 летняя сестра, которым было проведено предоперационное обследование. УЗИ щитовидной железы пациента 20 лет выявило диффузное увеличение (I-II ст.) и очаги диффузных уплотнений, однако уровень кальцитонина был в пределах нормы и составлял 20,3 пг/мл, катехоламины также были в пределах нормы. У его 9-летней сестры

клинических и биохимических признаков заболевания не было. Брату была проведена тиреоидэктомия с фасциально-футлярной лимфодиссекцией шейных лимфатических узлов. Гистологическое изучение обнаружило в обеих долях множественные узлы (до 0,7 см) медулярного рака и очаги С-клеточной гиперплазии. При гистологическом исследовании в лимфатических узлах метастазов не обнаружено. Его сестре проведена тиреоидэктомия без шейной лимфодиссекции, которая оказалась профилактической. После операции пациенты находятся под наблюдением, соответственно, 7 и 8 лет, показатели базального и стимулированного кальцитонина в пределах нормы.

В семье № 3 у 42-летней носительницы генотипа МЭН 2А при обследовании щитовидной железы обнаружены очаги диффузных уплотнений. Базальный уровень кальцитонина оказался повышенным (83,4 пг/мл), катехоламины в пределах нормы. Была выполнена тиреоидэктомия с фасциально-футлярной диссекцией шейных лимфатических узлов. Микроскопическое изучение удаленной железы выявило узлы (0,7 и 1,0 см) медулярного рака и очаги С-клеточной гиперплазии. Метастазов в лимфатических узлах не обнаружено. Послеоперационное наблюдение без признаков заболевания 2 года.

В семье № 4 у матери 38 лет и ее сына 12 лет выявлено носительство герминальной мутации гена *RET*. При обследовании матери в правой доле её щитовидной железы обнаружен узел до 0,8 см в диаметре и повышенный уровень базального кальцитонина (40 нг/л). Пациентке была проведена тиреоидэктомия. Гистологический анализ железы выявил в обеих долях множественные узлы (до 1,0 см) медулярного рака с амилоидозом. Метастазов в лимфатических узлах не обнаружено. Хирургическое лечение сына было проведено спустя 2 года (в 14 лет). К моменту оперативного вмешательства, уровень базального кальцитонина у него оказался повышенным до 97,0 пг/мл. Предоперационное обследование обнаружило в щитовидной железе очаги диффузных уплотнений. Выполнена тиреоидэктомия с фасциально-футлярной лимфодиссекцией. Гистологический анализ обнаружил очаги С-клеточной гиперплазии и узлы медулярного рака (0,7 и 1,0 см). Метастазов в лимфатических узлах не обнаружено. Послеоперационное наблюдение без признаков заболевания 3 года.

Обсуждение результатов

Известно, что самым эффективным методом лечения МРЦЖ является тиреоидэктомия, поэтому так важна ранняя и доклиническая диагностика этого заболевания. Однако вопрос о профилактической тиреоидэктомии остается предметом постоянной клинической дискуссии, поскольку все еще отсутствуют данные длительного наблюдения за пациентами, перенесшими в раннем детском возрасте тиреоидэктомию, основанную на прямом тестировании гена *RET*, и которые могли бы показать, что МРЦЖ радикально излечен. По данным молекулярных ис-

следований все 8 клинически бессимптомных носителя, из 4-х обследованных нами семей, имели мутацию в 634 кодоне протоонкогена RET. Тиреоидэктомия была проведена 6 из них, согласившихся на оперативное лечение (табл. 2). Как оказалось, только у двух из них, самых юных пациентов (3,5 и 9 лет), операция была профилактической. Послеоперационное наблюдение за ними, основанное на клиническом обследовании и биохимическом тестировании, было без признаков заболевания в течение 4 и 8 лет (соответственно). Возраст остальных пациентов на момент проведения операции был намного старше и варьировал от 14 до 42 лет. Сравнение результатов микроскопического исследования удаленной щитовидной железы этих больных показало, что у пациентов 3,5 и 9 лет никаких признаков малигнизации не было, тогда как в более старшем возрасте (в 14 лет и выше), выявляется и С-клеточная гиперплазия, и узлы медуллярного рака. Тем не менее, тиреоидэктомия, у этих пациентов, была терапевтической и проведена на ранней стадии развития рака (размер опухоли был от 0,7 до 1,0 см). Ни у одного из прооперированных пациентов метастазов не выявлено. Длительность наблюдения за этими пациентами была различной. Молодой человек 20 лет (семья №2), после операции без признаков заболевания наблюдался 7 лет. Двое других пациентов, перенесших тиреоидэктомию, без признаков заболевания наблюдаются -3 и 2 года (соответственно). И только у пациентки 38 лет (из семьи №4), через 6 мес. после операции обнаружен повышенный уровень кальцитонина (80,3 пг/мл) (табл. 2). Тем не менее, наблюдение за больной ведется в течение 4 лет, клиническое проявление заболевания отсутствует.

Следует отметить различия в клиническом проявлении синдрома МЭН 2А в наблюдаемых семьях. У пациентки 3,5 лет (семья №1) при обследовании обнаружена дистопированная с измененной структурой почка. И хотя клинические аномалии, которые постоянно ассоциировали с синдромом МЭН 2А, не известны, в некоторых наблюдениях есть указания на наличие кожного амилоидоза у носителей этого синдрома и, кроме того, на сочетанное проявление синдрома МЭН 2А с болезнью Гиршпрунга [7]. В данном случае мы имеем сочетание генотипа $TGC \rightarrow CGC$, кодон 634 и аномалии почки. Редкий синдром МЭН 2А, ассоциированный с аномалией почки, выявлен у самой юной пациентки. В литературных данных также имеется единичное сообщение об унилатеральной агенезии почки у матери и ее сына, носителей мутации гена *RET* с синдромом СМРЦЖ [12].

Интересным аспектом для обсуждения являются и данные, касающиеся родственников 69 лет (семья №3) и 74 лет (семья №4) (табл. 1). У пациентки 69 лет с наличием мутации гена *RET* были визуальные признаки резко увеличенной щитовидной железы. С ее слов, увеличение щитовидной железы наблюдается более 15 лет. У пациентки 74 лет в возрасте 43 лет была удалена щитовидная железа, молекулярное исследование ей не проводилось. Обе женщины от дальнейшего обследования и лечения отказались. Хотя мы не имеем гистологического

подтверждения наличия у них МРЦЖ, однако и возраст диагностики заболевания, и результаты хирургического лечения щитовидной железы их ближайших родственников, по видимому, могут свидетельствовать о низкой злокачественной прогрессии МРЦЖ у этих пациентов и о высокой клинической вариабельности заболевания в этих семьях.

Иммуногистохимическое исследование кальцитонина представляет собой ценный метод выявления малигнизации С-клеток у носителей мутаций и широко применяется при диагностике и наблюдении за больными с синдромами МЭН 2. В семьях с синдромом МЭН 2А и семейном МРЦЖ обычно рекомендуют биохимический скрининг проводить ежегодно с 4-5-лет вплоть до 20-летнего возраста и далее до 30 лет [9]. Следует отметить, что иногда данные тестирования кальцитонина сложно интерпретировать. В случае пациента 20-лет (семья №2) (табл. 2) предоперационный уровень кальцитонина оставался в пределах нормы, в то время как в его щитовидной железе уже имелись множественные узлы (до 0,7 см) медуллярного рака. У пациентки 3,5 лет (семья №1) наблюдаемый уровень кальцитонина был выше нормы почти в 2,5 раза (76,8 пг/мл), однако гистологическое исследование её щитовидной железы признаков медуллярного рака не выявило. Исходя из полученных данных, можно предположить, что уровень кальцитонина – как диагностический тест, не всегда является абсолютным критерием раннего проявления заболевания, тогда как при распространенных стадиях медуллярного рака уровень кальцитонина возрастает в сотни раз [2]. Клиническое использование ДНК-анализа помогает избегать процедуры биохимического исследования тем, кто не имеет этой мутации. Интересно продемонстрировать опыт применения ДНК-диагностики в семье того же пациента 20 лет (семья №2). Через 5 лет после тиреоидэктомии у него родился сын, которому в возрасте 2-х лет проведено ДНК-тестирование. Мутации гена *RET* обнаружено не было.

Таблица 2

Клиническая характеристика членов семей больных МЭН 2А, до и после тиреоидэктомии

Данные обследования пациентов до тиреоидэктомии						
Возраст	3,5 года	9 лет	14 лет	20 лет	38 лет	42 года
Кальцитонин (пг/мл)	76,8	42,3	97,0	20,3	40,0	83,4
Катехоламин	норма	норма	норма	норма	норма	норма
Мутация гена <i>RET</i>	+	+	+	+	+	+
Данные обследования пациентов после тиреоидэктомии						
Гистологическое исследование щитовидной	Без признаков С-клеточной гиперплазии	Без признаков С-клеточной гиперплазии	С-клеточная гиперплазия, узлы медуллярного рака (0,7-1,0 см)	Множественные узлы медуллярного рака (0,7-1,0 см), очаги С-	Множественные узлы медуллярного рака (до 1,0 см) с амилоидозом	Множественные узлы медуллярного рака (до 1,0 см) на фоне С-клеточной

железы	зии			клеточной гиперплазии в обеих долях	в обеих долях	гиперплазии
Кальцитонин (пг/мл)	норма	норма	норма	норма	80,3	норма
Катехоламин	норма	норма	норма	норма	норма	норма
Длительность наблюдения после операции (годы)	4	8	3	7	5	2

Обсуждение результатов и выводы

Таким образом, применение *RET*-анализа в отягощенных семьях дает возможность диагностировать или исключить наследственное заболевание. Кроме того, тестирование ДНК открывает возможность дородовой диагностики синдрома МЭН 2 в семьях с высоким риском рождения больного ребенка. Нами проведена пренатальная диагностика в семье №1 (табл. 1), где у пациента с синдромом МЭН 2А (носителя мутации в кодоне 634) ожидалось появление потомства. На сроке беременности 10 нед. по клеткам ворсин хориона выполнена прямая ДНК-диагностика гена *RET* у его будущего ребенка. Для исключения контаминации исследуемого материала материнскими тканями проведено контрольное исследование. Мутации, ответственной за синдром МЭН 2А, не обнаружено, выявлен мужской пол плода. Даны рекомендации по пролонгированию беременности – родился здоровый мальчик. В возрасте 7 мес. этому ребенку проведено повторное тестирование ДНК, подтверждено отсутствие мутации.

Следует отметить, что основной направляющей линией в клиническом наблюдении за носителями мутации МЭН 2А в последующем периоде после тиреоидэктомии и в течение жизни является постоянное обследование на предмет выявления феохромоцитомы.

Каждая описанная нами семья с МЭН 2А имела одну из специфических мутаций в экзоне 11. Из 12 обследованных пациентов у 9 наблюдалась наиболее известная мутация *TGC(Cys)→CGC (Arg)* (замена цистеина на аргинин), кодон 634, экзон 11 гена *RET*. У трех (мать, сын и дочь с МЭН 2А) (семья № 4) из них, мутация обнаружена в том же кодоне 634, но замена *TGC(Cys) → GGC(Gly)* (экзон 11). Выделить отличительные особенности фенотипа заболевания в этих семьях из-за небольшого количества пациентов не удалось и, возможно, вариабельность этих мутации особой значимости не несет. Однако интересные данные были получены при изучении 17 бразильских семей с МЭН 2 [17]. Они показали, что в семьях отягощенных МЭН 2А, несмотря на схожий возраст ко времени диагностики заболевания, у но-

сителей мутации $TGC \rightarrow CGC$, кодон 634 (C634R) отдаленных метастазов было значительно больше, чем у носителей мутации $TGC \rightarrow TAC$ (C634Y) или $TGC \rightarrow TGG$ (C634W). По этим наблюдениям авторы заключили, что изменения в нуклеотиде или аминокислоте кодона 634 может влиять на течение заболевания. В семьях с МЭН 2А, у которых заболевание наиболее часто сочеталось с гиперпаратиреозом, у больных обнаружена значимая ассоциация между мутацией TGC (Cys) \rightarrow CGC (Arg) в кодоне 634 по сравнению с другими мутациями в этом кодоне гена *RET* [14]. В других исследованиях семей с МЭН 2А с высокой частотой феохромоцитомы и гиперпаратиреоза было выявлено, что почти все мутации локализовывались в кодоне 634, а в случаях с МЭН 2А, где феохромоцитомы встречались не так часто, и при семейном МРЦЖ мутации обнаруживались в кодонах 609, 611, 618 и 620 [8, 20]. Кроме того, установлено, что МРЦЖ развивается у пациентов-носителей мутации в кодоне 634 в более молодом возрасте по сравнению с возрастом развития МРЦЖ у пациентов носителей мутации в кодонах 611 и 804 (13). Эти данные подтверждены в недавнем исследовании, в котором было показано, что у пациентов-носителей мутации в кодоне 634, МРЦЖ и метастазы возникают в более раннем возрасте, чем у носителей мутации в кодоне 618 и 620 [19].

Полученные сведения о специфических мутациях и их потенциальной возможности к злокачественной прогрессии заболевания могут найти применение в клинической практике при классификации семей по отношению к риску развития опухолей при наследственных формах МРЦЖ. Исходя из возрастных проявлений заболевания и его генотипе было предложено наследственный МРЦЖ распределить на три группы риска [13]. Высокая группа риска – это носители мутации в кодоне 634 и 818, мутация в кодонах 790, 620 и 611 - группа с умеренным риском, и мутация в кодоне 768 и 804 - группа с низким риском. Возможно, что эти ассоциации не абсолютны, однако в достаточной мере специфичны, чтобы рассматривать их в качестве маркера при прогнозировании риска развития заболевания у бессимптомных носителей этих мутаций.

По литературным данным носителям мутации МЭН 2 наиболее надежным методом профилактики раннего метастазирования является хирургическое удаление щитовидной железы, а тиреоидэктомия, выполненная в раннем детском возрасте, уменьшает смертность от МРЦЖ не менее чем на 5% [6]. Хотя универсальных рекомендаций и оптимального возраста проведения операции не существует, выявленная взаимосвязь генотипа и фенотипа может способствовать планированию тиреоидэктомии у носителей этих мутаций. Большинство зарубежных специалистов, имеющих достаточный клинический опыт ведения пациентов из семей с МЭН 2А, предлагают проводить операцию до 5 летнего возраста [6]. Основываясь на результатах тиреоидэктомии, выполненной у 50 пациентов-бессимптомных носителей

мутаций гена *RET*, Skinner M. et al. предлагают проводить тиреоидэктомии у детей максимально в ранние сроки [18]. Kahraman T. et al. считают, что поскольку МРЦЖ обнаруживается у детей уже в 4-х летнем возрасте, тестирование гена *RET* должно выполняться до этого периода [11]. Конечно, чтобы оценить значимость профилактической тиреоидэктомии у наблюдаемых нами детей, необходим более длительный период времени послеоперационного наблюдения. Тем не менее, сравнительный анализ гистологических данных этих пациентов показал значительные различия между рано проведенными тиреоидэктомиями с таковыми, выполненными в более позднем возрасте. Мы полагаем, что тиреоидэктомия, проведенная на доклиническом уровне заболевания, позволяет избежать метастазирования. Исходя из нашего опыта, мы рекомендуем пациентам с мутацией в кодоне 634 проводить тиреоидэктомию независимо от уровня кальцитонина. Следует подчеркнуть, что комбинированный с молекулярными технологиями подход к клинической, биохимической диагностике и ведению пациентов из семей с МЭН 2А может стать основным в уменьшение летальности от МРЦЖ.

Таким образом, с применением ДНК-анализа мутаций протоонкогена *RET* появилась возможность не только уточнить этиологию МРЦЖ, хорошо обосновать синдромы, основным компонентом которых он является, но и выявлять бессимптомных носителей этих мутаций. Интеграция знаний генетической основы клинического полиморфизма этого заболевания в онкологию расширит диагностические, профилактические и терапевтические возможности при наследственных синдромах множественных эндокринных неоплазий.

Литература

1. Ф.А. Амосенко, В.Ж. Бржезовский, Л.Н. Любченко, М.А.Шабанов, В.М.Козлова, В.Э.Ванушко, Т.П.Казубская, Р.Ф.Гарькавцева, В.Н.Калинин. Анализ мутаций в протоонкогене *RET* у российских больных с медуллярным раком щитовидной железы // Генетика.- 2003.- Т.39.- №6.- С.1-7.
2. Эндокринология / Под ред. Н. Лавина./ М.: «Практика», 1999.
3. Dang G.T., Cote G.J., Schultz P.N., Khorana S., Decker R.A., Gagel R.F. A codon 891 exon 15 *RET* proto-oncogene mutation in familial medullary thyroid carcinoma: a detection strategy. // Mol. Cell. Probes.- 1999.- Vol. 13.- P.77-79.
4. Donis-Keller H., Dou S., et al. Mutations in the *RET* protooncogene are associated with MEN-2A and FMTC. //Hum.Mol.Genet.-1993.- Vol. 2.- P.851-856.
5. Bolino A, Schuffenecker I, Luo Y., Seri M., Silengo M., Tocco T., Charbrier et al. *RET* mutations in exon 13 and 14 of FMTC patients. //Oncogene.- 1995.- Vol. 10. - P.2415-2419.

6. *Brandi M.L., Gagel R.F., Angeli A., Bilezikian J.P. et al.* Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2. // *J Clin. Endocrinol Metab.* - 2001.- Vol. 86.- P. 5658 -5671.
7. *Butter A., Gagne J., Al-Jazaeri A., Emran M.A., Deal C., et al.* Prophylactic thyroidectomy in pediatric carriers of multiple endocrine neoplasia type 2A or familial medullary thyroid carcinoma: mutation in C620 is associated with Hirschsprungs disease. // *J. Pediatr. Surg.* 2007.- Vol. 42.- № 1.- P. 203-206.
8. *Eng C., Clayton D., Schuffenecker I., Lenoir G., et al.* The relationship between specific *RET* proto-oncogene mutations and disease phenotype in multiple endocrine neoplasia type 2: International RET Mutation Consortium. // *JAMA.* 1996.- Vol. 276.- P. 1575 -1579.
9. *Gagel R.F., Tashjian A.H., Cummings T., Papathanasopoulos N., et al.* The clinical outcome of prospective screening for multiple endocrine neoplasia type 2 A. // *N Engl. J of Med.*- 1988.- Vol. 318.- P. 478-480.
10. *Gorlin R.J., Sedano H.O., Vickers R.A., et al.* Multiple mucosal neuromas, pheochromocytoma and medullary carcinoma of the thyroid – a syndrome. // *Cancer.*- 1968.-Vol. 22.- № 2.- P. 293-299.
11. *Kahraman T., de Groot J W, Rouwe C, Hofstra RM, Links T.P., et al.* Acceptable age for prophylactic surgery in children with multiple endocrine neoplasia type 2a. // *Eur J Surg. Oncol.*- 2003.- Vol. 29.- № 4.- P. 331-335.
12. *Lore f., Talidis F., Cairano G.Di., Ranieri A.* Multiple endocrine neoplasia type 2 syndromes may be associated with renal malformations. // *J Int.Med.*- 2001.-Vol. 250.- P. 37-42.
13. *Machens A., Gimm O., Hinze R., Hoppner W., Boehm B.O., Dralle H.* Genotype –Phenotype correlation in hereditary medullary thyroid carcinoma: oncological features and biochemical properties. // *J Clin. Endocrinol. Metab.*- 2001.- Vol. 86.- P. 1104-1109.
14. *Mulligan L.M., Eng C., Healey C.S., Clayton D., Kwok J.B., Gardner E., Ponder M.A.* Specific mutations of the *RET* proto-oncogene are related to disease phenotype in MEN2A and FMTC. // *Nature Genet.*- 1994.- Vol.7- P. 70-74.
15. *Mulligan L.M., Kwok J B., Healey C.S., Elsdon M.J., Eng C., Gardner E., Love D.R., Mole S.E., et al.* //Germ-line mutation of the *RET* proto- oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2A. *Nature.*1993, Vol. 363, P.458-460.
16. *Mulligan L.M., Marsh D.J., Robinson B.C., Schuffenecker I, Zedenius J., Lips C.J., Gagel R.F., et al.* 1995 *RET* mutation consortium. Genotype-phenotype correlation in multiple endocrine type 2: report of international *RET* mutation consortium. // *J Intern Med.* 1995.- Vol. 238- P. 343-346.

17. *Punales M.K., Graf H., Gross J.L., Maia A.L.* RET Codon 634 Mutations in Multiple Endocrine Neoplasia Type 2: Variable Clinical Features and Clinical Outcome. // *J Clin. Endocrinology.*- 2002.- Vol. 88.-P. 2644-2649.
18. *Skinner M.A., Jeffrey A., Moley M.D., William G., Dilley Ph.D., et al.* Prophylactic Thyroidectomy in Multiple Endocrine Neoplasia Type 2A. // *N Engl. J of Med.* -2005.- Vol. 353.- № 11.- P. 1105-1113.
19. *Szinnai G., Meier C., Komminoth P., Zumsteg U.* Review of Multiple Endocrine Neoplasia Type 2A in Children: Therapeutic Result of Early Thyroidectomy and Prognostic Value of Codon Analysis. // *Pediatrics.* 2003.- Vol.111.- № 2.- P. 132-139.
20. *Schuffenecker I., Virally Monod M., Brohet R, Goldgar D., et al.* Risk and penetrance of primary hyperparathyroidism in multiple endocrine neoplasia type 2A families with mutations at codon 634 of the *ret* protooncogene. // *J Clin. Endocrinol. Metab.* - 1998. - Vol.83.- P. 487-493.