

# ***Carcinoma Medular de Tireóide: da Definição às Bases Moleculares***

revisão

## RESUMO

O carcinoma medular de tireóide (CMT) é um tumor maligno raro com origem nas células parafoliculares da tireóide, tendo como principal produto secretório a calcitonina. Representa 3 a 10% de todos os tumores tireoidianos e é responsável por um grande número de mortes em portadores de câncer de tireóide. Em 75-90% dos pacientes, o CMT ocorre de forma esporádica e, nos demais casos, é uma doença hereditária autossômica dominante com alto grau de penetrância e variabilidade de expressão, podendo fazer parte de 3 síndromes distintas: neoplasia endócrina múltipla (NEM) 2A, NEM 2B ou CMT familiar. As diferentes formas clínicas do CMT, principalmente as hereditárias, estão relacionadas com mutações no proto-oncogene RET, as quais resultam em ativação constitutiva do receptor de membrana tirosina-quinase RET. A distinção entre estas formas é de extrema relevância clínica por causa das diferenças apresentadas entre elas em termos de prognóstico e pela necessidade de um rastreamento familiar, aconselhamento genético e seguimento das formas hereditárias. A eficiência do rastreamento genético, pela pesquisa de mutações no proto-oncogene RET, está bem estabelecida no diagnóstico e na identificação de portadores assintomáticos das formas hereditárias de CMT, permitindo uma intervenção cirúrgica precoce e efetiva, reduzindo a morbidade e a mortalidade associadas a esta doença. (Arq Bras Endocrinol Metab 2003;47/5:515-528)

**Descritores:** Carcinoma medular de tireóide; Calcitonina; Proto-oncogene RET; Rastreamento genético

## ABSTRACT

### **Medullary Thyroid Carcinoma: From Definition to Genetic Bases.**

Medullary thyroid carcinoma (MTC) is a rare malignant tumor arising from thyroid C cells. It represents 3-10% of all thyroid tumors and is responsible for a great number of deaths in patients with thyroid carcinoma. In 75-90% of patients, MTC is sporadic; in the remaining cases, it is an autosomal dominant disease with a high degree of penetrance and variability of expression which may be part of 3 distinct syndromes: multiple endocrine neoplasia (MEN) type 2A, MEN 2B, and familial MTC. Different clinical forms of MTC, mainly those hereditary forms, are related to mutations in the RET proto-oncogene, which result in a constitutive activation of the transmembrane tyrosine kinase receptor. The distinction between sporadic and familial forms is of extreme clinical relevance because of differences in prognosis and the need for family screening, genetic counseling and close clinical follow up in the inherited forms. Genetic study of the proto-oncogene RET allows the identification of asymptomatic carriers of RET mutations, leading to an early and effective surgical management reducing the morbidity and mortality associated with this disease. (Arq Bras Endocrinol Metab 2003;47/5:515-528)

**Keywords:** Medullary thyroid carcinoma; Calcitonin; RET proto-oncogene; Genetic screening

**Patrícia K.R. Magalhães  
Margaret de Castro  
Lucila L.K. Elias  
Léa M.Z. Maciel**

*Divisão de Endocrinologia,  
Departamento de Clínica Médica  
- Faculdade de Medicina de  
Ribeirão Preto – USP,  
Ribeirão Preto, SP.*

*Recebido em 16/01/03  
Revisado em 14/07/03  
Aceito em 28/07/03*

O CÂNCER DE TIREÓIDE, APESAR DE ser a neoplasia maligna mais comum das glândulas endócrinas, é considerado um tumor raro, representando cerca de 0,6 e 1,6% de todos os carcinomas que acometem os homens e as mulheres, respectivamente (1). Além dos carcinomas diferenciados da tireóide (foliculares e papilíferos), que têm origem nas células foliculares tireoidianas, há o carcinoma medular de tireóide (CMT), um tumor maligno raro com origem nas células C parafoliculares desta glândula, que representa 3 a 10% de todos os tumores tireoidianos e é responsável por um grande número de mortes em pacientes portadores de câncer de tireóide (2-6). O CMT foi reconhecido como uma entidade clínico-patológica distinta por Hazard e cols. em 1959 (7) e, posteriormente, formas hereditárias deste tumor foram descritas (8-12).

#### DIAGNÓSTICO CLÍNICO E LABORATORIAL DO CARCINOMA MEDULAR DE TIREÓIDE

O CMT ocorre de forma esporádica ou não-hereditária em 75 a 90% dos pacientes. Nos demais, é uma doença hereditária autossômica dominante com alto grau de penetrância e variabilidade de expressão podendo fazer parte de 3 síndromes clínicas distintas dependendo dos órgãos envolvidos: neoplasia endócrina múltipla (NEM) 2A, NEM 2B e CMT familiar (CMTF). Das formas hereditárias, a NEM 2A é a mais comum, representando mais de 90% dos casos de NEM do tipo 2. Nesta síndrome, o CMT ocorre em 90-95% dos pacientes e está associado com feocromocitoma em 30 a 50% dos casos e com hiperparatireoidismo em 10 a 30% dos pacientes. São descritas duas variantes da NEM 2A nas quais o paciente apresenta alterações típicas de NEM associadas seja com amiloidose lúqueno-cutânea, que é uma lesão cutânea do tipo *rash*, pruriginosa e localizada na região supra-escapular, seja com a doença de Hirschsprung, caracterizada pela aganglionose total ou parcial do cólon (2-4,13-16). Na NEM 2B, a qual corresponde a 5% dos casos de NEM do tipo 2, o CMT ocorre em 90% dos pacientes e está associado ao feocromocitoma em 45% dos casos, hábito marfanóide em 65% dos indivíduos e ganglioneuromatose múltipla envolvendo lábios, olhos, língua e trato gastrointestinal em 100% dos pacientes, sem que haja evidências de doença paratireoidiana. Já a síndrome CMTF é caracterizada pela ocorrência de CMT isolado, sem qualquer outra manifestação de NEM, em 4 ou mais indivíduos da mesma família (2,3,13).

As associações descritas na síndrome NEM do tipo 2 estão relacionadas à origem embriológica única

das células C da tireóide, da medula adrenal, da paratireóide e do plexo nervoso autonômico entérico, todos derivados da crista neural (17,18). A hiperplasia das células C é reconhecidamente o estadiário precursor do CMT hereditário, sendo que a transformação neoplásica é bastante variável, podendo levar anos para ocorrer (3,15,19). Os vários estágios - do padrão normal de distribuição de células C ao carcinoma, coexistem dentro do mesmo tumor (20). Por outro lado, CMT na forma esporádica origina-se de uma única célula C evoluindo para um tumor solitário (21,22).

A calcitonina, o principal produto secretório das células C, é considerado o marcador bioquímico para diagnóstico e seguimento pós-operatório dos pacientes com CMT (23-26). No entanto, a dosagem basal de calcitonina sérica não apresenta boa sensibilidade no rastreamento de indivíduos portadores de CMT que não apresentam tumor palpável, pois sua concentração pode ser normal na fase de hiperplasia de células C (19). Nestes casos, testes de estimulação da secreção de calcitonina podem mostrar a hiper-responsividade das células anômalas, possibilitando o diagnóstico (19, 26-30). Os testes provocativos da secreção de calcitonina pela infusão de pentagastrina ou cálcio e pentagastrina têm sido utilizados há mais de 30 anos. Mais recentemente, o uso de omeprazol, um bloqueador da bomba de prótons gástrica que, em última instância, estimula a secreção endógena de gastrina, foi utilizado na tentativa de se detectar precocemente portadores assintomáticos de NEM 2A (27-30). Erdogan e cols. (27), utilizando teste com omeprazol, observaram elevação de calcitonina em três membros de famílias com NEM 2A. Contudo, estes resultados não foram confirmados por estudos de Viegas e cols. (28) e de nosso grupo (29). Estes testes são indicados em parentes de primeiro grau dos pacientes com diagnóstico de NEM 2A e apresentam desvantagens adicionais, pois devem ser repetidos em intervalos regulares a partir dos 3-5 anos de idade até 35-40 anos de vida, apresentam alta incidência de efeitos colaterais e não têm seus resultados padronizados para os primeiros anos de vida (31,32). Adicionalmente, os testes bioquímicos apresentam resultados falso-negativos, às vezes não diagnosticando indivíduos assintomáticos portadores de hiperplasia de células C ou mesmo CMT (15,29). Além disso, devido ao fato de a hiperplasia de células C poder estar presente tanto em tireóide normal, em até 3,6% dos casos de CMT esporádico (33), como em outras condições clínicas que não o CMT, podem resultar em resultados falso-positivos entre 5 e 18% dos casos (15).

As células tumorais do CMT produzem ainda várias outras substâncias, entre elas: peptídeo rela-

cionado ao gene da calcitonina (CGRP), antígeno carcinoembrionário (CEA), amilóide, somatostatina, hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), hormônio liberador de corticotrofina (CRH), peptídeo intestinal vasoativo, peptídeo liberador de gastrina, prostaglandinas, serotonina, catecolaminas, substância P, histaminase, cromogranina A, b-endorfina, melanina, fator de crescimento nervoso, neurotensina, enolase neurônio específica, sinaptofisina, calcitreína e cininas (3,6,15). Assim como a calcitonina, o CEA plasmático basal pode estar elevado nos pacientes com CMT, sendo que uma concentração sérica de calcitonina maior do que 1.000pg/ml associada com uma elevação da concentração sérica de CEA confirma o diagnóstico de CMT (34,35).

A apresentação clínica do CMT pode se dar de diversas formas. Usualmente, o paciente apresenta uma ou mais nodulações cervicais, porém podem ocorrer queixas relacionadas à invasão local pelo tumor (disfagia, estridor, rouquidão, dispnéia) e/ou à síndrome paraneoplásica devida à secreção hormonal pelas células tumorais (rubor facial, diarreia, dor óssea, síndrome de Cushing) (2,5,6,33). Muitas vezes, o CMT pode se apresentar apenas com metástases ganglionares cervicais, sem que ainda haja nódulo tireoidiano palpável (2). Manifestações específicas dos outros componentes da NEM 2, como feocromocitoma e hiperparatireoidismo, podem preceder, ocorrer simultaneamente ou, mais comumente, ocorrer posteriormente ao CMT (36). Em contraste com o CMT esporádico, que apresenta uma idade média de diagnóstico mais avançada (5ª e 6ª décadas de vida), com uma relação sexo feminino/masculino de aproximadamente 1,5:1,0, o CMT na sua forma familiar tem pico de incidência mais precoce, na 2ª ou 3ª década de vida, podendo ocorrer inclusive em crianças, e acomete igualmente ambos os sexos (14,15).

O diagnóstico do CMT pode ser realizado pela análise citológica das amostras de tecido tireoidiano obtidas por punção-biópsia aspirativa por agulha fina, a qual evidencia células parafoliculares agrupadas ou isoladas, amilóide, necrose, células inflamatórias e componentes papilares (34,37). A imunocitoquímica para calcitonina pode ser utilizada e tende a aumentar a acurácia diagnóstica (38).

A investigação inicial por imagem deve ser feita através da ultra-sonografia cervical, que, apesar de inespecífica para o diagnóstico etiológico do nódulo tireoidiano, pode auxiliar na detecção de metástases ganglionares não palpáveis. Nos pacientes com massas ou nódulos volumosos e naqueles com suspeita de metástases mediastinais, os estudos de imagem pela

tomografia computadorizada ou pela ressonância magnética são muito úteis para o planejamento terapêutico (35). Como o CMT capta metaiodobenzilguanidina (<sup>131</sup>I-MIBG), a cintilografia com esta substância pode ser usada não só para se obter mais um dado diagnóstico, mas também na procura de metástases em pesquisa de corpo inteiro (PCI). No entanto, deve ser salientado que, apesar da PCI com <sup>131</sup>I-MIBG apresentar alta especificidade, é um exame que apresenta uma sensibilidade baixa, em torno de 30-40% (39,40). A PCI também pode ser realizada com octreoscan (<sup>111</sup>In-pentetreotide), VDMSA (<sup>99m</sup>Tc-pentadimer-capto succínico), <sup>99m</sup>Tc-tetrosfosmin e <sup>201</sup>Tálio (35). A PCI com VDMSA parece mostrar a melhor sensibilidade diagnóstica (80-85%), sendo considerada por alguns autores como o exame nuclear de escolha para o manejo de pacientes com CMT (39,40).

A confirmação do diagnóstico de CMT é realizada pelo exame anátomo-patológico da peça cirúrgica, que, macroscopicamente, apresenta-se como uma massa firme de tamanho variável, podendo ser de difícil visualização até vários centímetros. Localiza-se preferencialmente na área de maior concentração de células C, ou seja, nos dois terços superiores da tireóide, principalmente nas suas porções mais laterais (33,41,42). No CMT esporádico, o tumor é caracteristicamente unicêntrico. Menos do que 20% dos pacientes com esta forma de CMT apresentam tumor acometendo a glândula bilateralmente, e acredita-se que quando isto ocorre é uma extensão do tumor primário. Já nas síndromes hereditárias, o CMT é usualmente multicêntrico, acometendo ambos os lobos tireoidianos em praticamente 100% dos casos (2,15). À microscopia óptica, a aparência típica do CMT é a de ninhos ou ilhas de células que podem ser fusiformes, poligonais, arredondadas ou ovais; o citoplasma apresenta uma granulação fina e os núcleos são uniformes e centrais, com uma relação núcleo-citoplasmática baixa. O tumor comumente invade vasos sanguíneos e linfáticos. O estroma tumoral caracteristicamente contém amilóide, porém em 15-20% dos casos ele está ausente. Este amilóide é formado a partir da calcitonina ou, mais possivelmente, da pré-calcitonina. O diagnóstico de CMT pode ser dificultado não só pela ausência de amilóide, mas também pela presença de variantes histológicas deste tipo tumoral, como variante papilífera, variante glandular/folicular, variante oxifílica, variante de células gigantes, variante de células pequenas, variante escamosa e outras (33,42). A imunohistoquímica para calcitonina confirma o diagnóstico de CMT (38). A marcação usualmente é intensa e atinge quase todas as células

tumorais, porém algumas lesões, na maioria das vezes do subtipo de células pequenas, podem não expressar imuno-reatividade para calcitonina. Outro marcador sensível, mas não específico para CMT, é o CEA, que é positivo em 88-100% dos casos (33,42).

A principal via de disseminação do CMT é linfática, sendo alta a frequência de metástases macro ou mesmo microscópicas para gânglios linfáticos regionais. A incidência de metástases cervicais correlaciona-se com o tamanho do tumor primário. Elas ocorrem em 9,5-30% dos tumores de até 1cm de diâmetro e chegam a 55-60% naqueles com mais de 2cm de diâmetro. Considerando-se todos os CMT, de uma maneira global, de 15 a 75% deles terão metástases cervicais, clinicamente detectáveis ou não, no momento do diagnóstico. Elas podem ocorrer precocemente e influenciam diretamente o prognóstico do paciente (20,22,43). Em fases mais avançadas da doença, outros sítios comuns de metástases são mediastino, gânglios do hilo pulmonar, pulmões, fígado e ossos (3,15).

O único tratamento eficaz do CMT, seja na forma esporádica ou na hereditária, é a cirurgia. Nos casos onde não existem metástases cervicais clinicamente detectáveis, considera-se como obrigatória a tireoidectomia total associada ao esvaziamento cervical central eletivo. Naqueles pacientes portadores de metástases cervicais, o esvaziamento cervical deve ser total e, se possível, funcional (43). As demais modalidades terapêuticas, como radioterapia, quimioterapia, terapia com radioisótopos, não têm mostrado benefícios significativos em termos de melhora da sobrevivência desses pacientes (6). Vale ressaltar a importância da pesquisa periódica de feocromocitoma e hiperparatireoidismo na NEM 2A (4). O tratamento cirúrgico do feocromocitoma deve anteceder a cirurgia do tumor de tireóide, a fim de que mortes inesperadas devido a complicações inerentes ao tumor adrenal sejam evitadas.

A evolução clínica do CMT é bastante variável, mas, em geral, apresenta agressividade de grau intermediário entre os carcinomas papilífero e folicular bem diferenciados e o câncer anaplásico da tireóide. A taxa de sobrevivência global em 10 anos varia de 47 a 78%, com uma média de 65% (15,44). Numerosos parâmetros têm sido descritos como fatores prognósticos para o CMT, entre eles o estadiamento tumoral, a idade do paciente no momento do diagnóstico da doença e a forma clínica da doença. Os pacientes portadores de NEM 2B apresentam CMT que se iniciam em idades mais precoces e que são mais agressivos, com desenvolvimento precoce de metástases e morte devido ao tumor. Esta

virulência tumoral diminui progressivamente nos casos de CMT esporádico, NEM 2A e CMTF (2).

### PROTO-ONCOGENE *RET*

Estudos genético-moleculares realizados nos últimos anos têm demonstrado o envolvimento do proto-oncogene *RET* na maioria das formas hereditárias de CMT e, em menor frequência, em sua forma esporádica. O proto-oncogene *RET*, um acrônimo para *REarranged during Transfection*, foi identificado em 1985 por Takahashi e cols. durante um experimento clássico de transfecção de células NIH 3T3 com DNA de alto peso molecular de células T de linfoma humano (45). Estudos posteriores determinaram a localização do proto-oncogene *RET* no cromossomo 10 e o relacionaram à gênese da NEM 2A, NEM 2B e CMTF (46-49). Em 1993, Mulligan e cols. (50) e Donis-Keller e cols. (51) observaram pela primeira vez mutações pontuais genômicas no proto-oncogene *RET* de pacientes com NEM 2A e CMTF e, em 1994, Hofstra e cols. (52) evidenciaram mutações no proto-oncogene *RET* associadas à NEM 2B e ao CMT na sua forma esporádica.

O protooncogene *RET* humano foi inteiramente clonado por Pasini e cols. em 1995 (53), o que facilitou os estudos genético-moleculares e a pesquisa de correlação genótipo-fenótipo. Este gene possui 21 exons, aproximadamente 60kb (16,54-56) e está localizado no cromossomo 10, banda 10q11.2 (53). Codifica um receptor de membrana do tipo tirosina-quinase de 150-170kd altamente expresso em alguns tecidos normais e tumores derivados da crista neural, tais como sistema nervoso entérico, porção medular da glândula adrenal e células parafoliculares da tireóide, mas também nas células precursoras do trato urogenital, cérebro, glândulas salivares, timo, baço e gânglios linfáticos (3,55,57-60). A proteína *RET* realiza a transdução de sinais extracelulares de proliferação, crescimento, diferenciação, sobrevivência das células e apoptose celular (16,47,59).

A proteína de superfície celular *RET* conta com pelo menos 10 isoformas resultantes de *splicings* alternativos nas posições 5' e 3', podendo conter de 1072 a 1114 aminoácidos (16,54,56,61-63), e, semelhante a outros receptores tirosina-quinase, é composta por um domínio N-terminal extracelular, um pequeno domínio transmembrana e um domínio tirosina-quinase carboxi-terminal intracelular. O domínio extracelular inclui regiões homólogas à família caderina das moléculas de adesão celular e uma grande

região rica em resíduos de cisteína. Vinte e sete dos 28 resíduos de cisteína desta região são conservados entre as diferentes espécies, sugerindo que tenham uma função crítica na formação de pontes dissulfeto e, portanto, na determinação da estrutura terciária da proteína RET. O domínio intracelular tirosina-quinase é dividido em 2 subdomínios (TK<sub>1</sub> e TK<sub>2</sub>) separados por 28 aminoácidos onde estão localizados os resíduos de tirosina que são fosforilados durante a ativação do receptor, e que estão envolvidos nas vias intracelulares sinalizadoras (16,17,56,60).

Sob condições normais, o receptor RET é ativado por um complexo multicomponente envolvendo membros de 2 grupos distintos de proteínas: um ligante solúvel da família do fator neurotrófico derivado das células gliais (GDNF) e um co-receptor de superfície celular da família dos receptores protéicos  $\alpha$  (GFR $\alpha$ , também conhecida como GDNFR- $\alpha$ , RETL1 e TrnR1) (60,64). As proteínas GDNF formam um subgrupo da superfamília do fator de crescimento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) e atuam como potentes fatores de sobrevivência neuronal. Além do GDNF descrito em 1993 por Lin e cols. (65), mais 3 membros desta família já foram identificados, sendo eles a neurturina (NTN), a persefina (PSP) e a artemina (ART) (66). Embora estas proteínas atuem como ligantes do receptor RET, elas não se ligam diretamente, interagindo primeiramente com os co-receptores GFR $\alpha$ . Estes co-receptores não apresentam domínios intracelulares, ficando ancorados na superfície celular através de uma ligação glicosilfosfatidilinositol. Até o momento, foram identificados 4 membros desta família de co-receptores: GFR $\alpha$ -1, GFR $\alpha$ -2, GFR $\alpha$ -3 e GFR $\alpha$ -4 (60,64,66).

Em resposta à interação do complexo GDNF/GFR $\alpha$  com o RET, o receptor forma homo ou heterodímeros. Esta dimerização resulta na autofosforilação dos resíduos de tirosina presentes no domínio intracelular tirosina-quinase do receptor, seguida pela transdução do sinal através de efetores que reconhecem e interagem com a forma fosforilada do receptor tirosina-quinase. Nove dos 18 resíduos de tirosina podem ser fosforilados pela ativação do RET (56,60) e reconhecidos por proteínas adaptadoras e outras proteínas. As interações identificadas até o momento incluem GRB 7, 10 e 14 com a tirosina 905 (Y905), fosfolipase C- $\gamma$  (PLC- $\gamma$ ) com Y1015, Shc/Enigma com Y1062 e GRB2 com Y1096. Através destas interações, o RET ativa múltiplas e complexas vias de sinalização intracelulares, entre elas a via RAS/MAP quinase (RAS/MAPK), a via fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)/AKT e a via da c-jun

N-terminal quinase (JNK) (56,60,67). Estas vias são as responsáveis pela ação do receptor RET no controle da proliferação, sobrevivência, diferenciação, interação e motilidade celulares, ativação oncogênica e fenótipo neoplásico.

A maioria das famílias com NEM 2A (98%) apresenta mutações pontuais e genômicas do proto-oncogene *RET* (tipo *missense*), envolvendo um dos 5 códons codificadores de resíduos de cisteína localizados no domínio extracelular da região justa-membrana do receptor. Os códons envolvidos são: 609, 611, 618 e 620 no exon 10 ou 634 no exon 11 (4,13,15,60,67-69). A tabela 1 apresenta as diferentes mutações do proto-oncogene *RET* e seus fenótipos. Raramente, pode ocorrer nos pacientes com NEM 2A a duplicação/inserção de 3 ou 4 aminoácidos dentro do domínio rico em cisteínas, incluindo um novo resíduo de cisteína (70,71). Ainda em relação à NEM 2A, foi descrito o caso de um paciente portador desta síndrome e que apresentava 2 mutações do proto-oncogene *RET*, uma delas afetando o códon 634 e a outra o códon 640 (exon 11) (72). Recentemente, um estudo brasileiro demonstrou nova dupla mutação com substituição de uma valina por isoleucina no códon 648 e de cisteína por arginina no códon 634 em paciente apresentando NEM 2A associada a feocromocitoma produtor de ACTH (73).

Em 1996, o *International RET Mutation Consortium* realizou um estudo que contou com a participação de 18 centros de referência ao redor do mundo e 477 famílias independentes (13). Segundo este estudo, as mutações C634R e C634Y ocorrem em, respectivamente, 52 e 26% das famílias com NEM 2A; as mutações no exon 10 afetando o códon 620 ocorrem em 6-8% dos casos; menos de 5% dos pacientes apresentam mutações nos códons 609, 611 e 618 do exon 10 e em cerca de 1% dos casos a mutação acomete o códon 630 do exon 11. A frequência das mutações descritas no proto-oncogene *RET* estão apresentadas na tabela 2. Estudos moleculares recentes, avaliando indivíduos/famílias brasileiras, também encontraram uma íntima associação entre NEM 2A e mutações no exon 11 do proto-oncogene *RET*, acometendo principalmente o códon 634 deste exon (29,74-76). Portanto, os estudos destas famílias demonstraram que mutações do proto-oncogene *RET* mais frequentemente encontradas em diferentes populações também estão presentes em famílias com NEM 2A do Brasil.

Com o estudo realizado pelo *International RET Mutation Consortium* (13), foi ainda possível estabelecer correlação entre genótipo e fenótipo em indivíduos com NEM 2A. O códon envolvido na

**Tabela 1.** Mutações no proto-oncogene *RET* e seus fenótipos associados\*.

Exon	Códon	Mutação Missense	Troca de Aminoácido	Fenótipo
10	609	TGC → CGC	Cys → Arg	NEM 2A, CMTF NEM 2A
		TGC → TAC	Cys → Tyr	
	611	TGC → TAC	Cys → Tyr	NEM 2A NEM 2A, CMTF CMTF
		TGC → TGG	Cys → Trp	
		TGC → GGC	Cys → Gly	
618	TGC → TTC	Cys → Phe	NEM 2A NEM 2A, CMTF NEM 2A, CMTF NEM 2A NEM 2A, CMTF NEM 2A, CMTF NEM 2A	
	TGC → TCC	Cys → Ser		
	TGC → AGC	Cys → Ser		
	TGC → GGC	Cys → Gly		
	TGC → CGC	Cys → Arg		
	TGC → TAC	Cys → Tyr		
	TGC → TGA	Cys → 'Stop'		
620	TGC → CGC	Cys → Arg	NEM 2A, CMTF NEM 2A NEM 2A NEM 2A NEM 2A	
	TGC → TAC	Cys → Tyr		
	TGC → TTC	Cys → Phe		
	TGC → TCC	Cys → Ser		
	TGC → GGC	Cys → Gly		
11	630	TGC → TTC	Cys → Phe	CMTF
		TGC → TAC	Cys → Tyr	
	634	TGC → CGC	Cys → Arg	NEM 2A, CMTF NEM 2A, CMTF NEM 2A NEM 2A NEM 2A NEM 2A, CMTF
		TGC → TTC	Cys → Phe	
		TGC → GGC	Cys → Gly	
		TGC → TGG	Cys → Trp	
		TGC → AGC	Cys → Ser	
TGC → TCC	Cys → Ser			
634 & 640	634 - TGC → CGC 640 - GCC → GGC	Cys → Arg Ala → Gly	NEM 2A	
13	768	GAG → GAC	Glu → Asp	CMTF
	790	TTG → TTT	Leu → Phe	NEM 2A, CMTF NEM 2A, CMTF
		TTG → TTC	Leu → Phe	
791	TAT → TTT	Tyr → Phe	CMTF	
14	804	GTG → TTG	Val → Leu	CMTF CMTF
		GTG → ATG	Val → Met	
804 & 806	804 - GTG → ATG 806 - TAC → TGC	Val → Met Tyr → Cys	NEM 2B	
14 & 15	804 & 904	804 - GTG → ATG 904 - TCC → TGC	Val → Met Ser → Cys	NEM 2B
15	883	GCT → TTT	Ala → Phe	NEM 2B
	891	TCG → GCG	Ser → Ala	CMTF
16	918	ATG → ACG	Met → Thr	NEM 2B
Exon	Pares de bases nºs	Seqüência inserida	Aminoácidos inseridos	Fenótipo
8	1741 - 1742	ins AGG AGT GTG	Glu Glu Cys 531 - 532	CMTF
11	2056 - 2057	ins TCG CGC ACG	CRT 636 - 637	NEM 2A NEM 2A
	2049 - 2050	ins ACG AGC TGT GCC	CRT 634 - 635	

\* Incluídas somente as mutações descritas em múltiplas famílias independentes e/ou cujo significado funcional tenha sido confirmado.

mutação parece ser o fator mais importante na determinação do fenótipo apresentado pelo paciente. Uma associação estatisticamente significativa foi encontrada entre a presença de qualquer mutação no códon 634 e a presença de feocromocitoma e hiperparatireoidismo. Dentre as mutações do códon 634, a mutação C634R foi significativamente associada com a presença de hiperparatireoidismo. A mutação C634R descrita em duas outras famílias brasileiras apresentavam, além de todas as manifestações clínicas clássicas da NEM 2A, o raro líquen amilóide cutâneo (29,77). A amiloidose líquen-cutânea tem sido associada à NEM 2A apenas em pacientes portadores de mutações no códon 634 (13,78). A correlação genótipo-fenótipo também tem sido observada com mutações nos códons 618 e 620 do proto-oncogene *RET* e em raras famílias nas quais a NEM 2A ou o CMTF coexistem com a doença de Hirschsprung (79). Entretanto, ao contrário do que ocorre no CMT, as mutações relacionadas à doença de Hirschsprung, embora sejam dominantes, determinam a perda de expressão do *RET* no tecido nervoso (60,80).

Muitas das mutações responsáveis pela NEM 2A também têm sido descritas nos pacientes com CMTF (tabela 1). Substituições das cisteínas codificadas pelos códons 609, 611, 618, 620 e 634 dos exons 10 e 11 são encontradas em mais de 80% das famílias com CMTF. Entretanto, ao contrário da NEM 2A, as mutações no CMTF são distribuídas homogeneamente entre os códons 618, 620 e 634 (4,13,15,60,68,69,81) (tabela 2). Além disso, a

**Tabela 2.** Frequência das mutações do proto-oncogene *RET* na NEM 2A, NEM 2B e CMTF.

Códon	Fenótipo	Frequência (%)*
609	NEM 2A	<1
	CMTF	4
611	NEM 2A	2
	CMTF	<1
618	NEM 2A	3
	CMTF	30
620	NEM 2A	6
	CMTF	21
630	CMTF	<1
634	NEM 2A	87
	CMTF	26
768	CMTF	8
790	CMTF	<1
791	CMTF	<1
804	CMTF	3
883	NEM 2B	5
891	CMTF	<1
918	NEM 2B	94

\* Incluídas somente as mutações descritas em múltiplas famílias independentes.

mutação mais freqüente na NEM 2A (C634R) não foi descrita em famílias de CMTF (13,60,69). Menos freqüentemente, mutações do códon 630 (exon 11) (31,82) e inserções incluindo resíduos de cisteína na região justa-membranosa rica em cisteínas também têm sido identificadas no CMTF (83). O CMTF tem sido raramente associado a trocas de aminoácidos no domínio intracelular tirosina-quinase. As mutações descritas incluem os códons 768, 790 e 791 no exon 13 (83-87), códon 804 no exon 14 (84,88,89) e códon 891 no exon 15 (90) (tabelas 1 e 2). Mutações adicionais nos códons 631 (exon 11) e 844 (exon 14) também foram identificadas em famílias alemãs isoladas, mas a distribuição geral e a correlação genótipo-fenótipo destas mutações ainda não foram determinadas (87).

A NEM 2B é causada em aproximadamente 95% dos casos por uma mutação específica e genômica no códon 918 do exon 16, resultando na troca de um resíduo de metionina por um de treonina no domínio intracelular tirosina-quinase do proto-oncogene *RET* (4,13,52,67,69,91-93) (tabelas 1 e 2). Mutações do códon 883 no exon 15 também têm sido descritas em um pequeno número de pacientes com NEM 2B (94,95), sendo variantes exclusivas deste fenótipo. Recentemente, a NEM 2B também foi associada a mutações duplas, presentes no mesmo alelo, afetando os códons 804 e 806 do exon 14 (96), e outra, os códons 804 e 904, também no exon 14 (97).

Ao contrário dos genes supressores de tumores, o *RET* é um proto-oncogene, o que significa que uma mutação ativadora em um único alelo é suficiente para causar a transformação neoplásica (98). O resultado final de cada uma das mutações envolvendo o domínio extracelular rico em cisteínas é a ativação constitutiva do receptor *RET*, ou seja, independente do ligante. A substituição de um resíduo de cisteína resulta em “despareamento” do outro resíduo de cisteína, formação de pontes intra-moleculares ou mesmo intermoleculares com outras moléculas mutantes de *RET*, levando à dimerização do receptor e sua ativação. As mutações envolvendo códons codificadores das regiões intracelulares do receptor *RET* também induzem uma ativação tirosina-quinase independente do ligante, porém sem depender da dimerização do receptor. As mutações que ocorrem nos exons 13 e 14 levam a substituições de aminoácidos dos domínios intracelulares, em regiões implicadas na ligação com ATP. Já as mutações no códon 918 alteram diretamente o sítio de reconhecimento do substrato localizado no centro catalítico dentro do domínio tirosina-quinase, modificando sua afinidade pelo ligante (59,60,98-100).

Entretanto, o(s) mecanismo(s) molecular(es) pelo(s) qual(is) estas mutações levam à transformação neoplásica da célula não está(ão) bem definido(s) (60,101). A fosforilação de diferentes resíduos de tirosina pode estar envolvida na transformação neoplásica da célula na NEM 2A, no CMTF e na NEM 2B, inclusive com diferentes propriedades biológicas e potenciais oncogênicos (102-104). Entre os diferentes resíduos, a fosforilação do resíduo Tyr-1062 do domínio intra-celular do *RET*, levando à ativação das vias sinalizadoras PI3K/AKT e RAS/MAPK, parece ser fenômeno essencial a esta transformação neoplásica nas diferentes formas clínicas (101,105,106). Como as diferentes mutações do proto-oncogene *RET* ativam o receptor de maneiras distintas em nível subcelular, é de se esperar que também tenham impactos diferentes no fenótipo da doença (107), podendo explicar o motivo porque pacientes portadores de mutações nos exons 13, 14 e 15 exibem um atraso no aparecimento da hiperplasia de células C e quadros clínicos mais brandos do ponto de vista de agressividade tumoral e metástases à distância do que aqueles indivíduos com mutações acometendo códons codificadores de cisteína e o códon 918 (87,90,108-110).

Em adição ao seu papel nas formas hereditárias do CMT, o proto-oncogene *RET* também tem sido implicado na patogênese dos tumores esporádicos. Mutações somáticas, isto é, mutações identificadas apenas no tumor, têm sido descritas em uma frequência bastante variável (23-69%) nos casos de CMT esporádico, afetando especialmente o códon 918 do *RET* proto-oncogene (exon 16) e resultando na mesma substituição de aminoácidos da NEM 2B (metionina por treonina) (4,19,31,52,57,88,111-114). Esta mutação parece não ser uniforme entre as várias subpopulações de células dentro de um mesmo tumor e mesmo de suas metástases, o que pode explicar a grande variabilidade de dados da literatura quanto à incidência deste tipo de mutação. Para alguns autores, esta heterogeneidade entre as células tumorais de um mesmo paciente ainda sugere que o CMT possa ter uma origem policlonal, ou então que as mutações no proto-oncogene *RET* não sejam eventos iniciais na tumorigênese do CMT esporádico, mas sim de progressão (115,116). Apesar da vasta maioria dos casos de CMT esporádico estar associada com a mutação M918T, outras mutações, sejam pontuais ou do tipo deleção/inserção, acometendo os exons 10, 11, 13 e 15 também têm sido identificadas em alguns pacientes com esta forma de CMT, porém em uma frequência muito mais baixa (< 10%) (31,51,57,82,85,112-114,117-123) (tabela 1). Alguns estudos sugerem que

pacientes com CMT esporádico e mutações somáticas no códon 918 apresentam maior agressividade tumoral e maior probabilidade de recorrência clínica do tumor (111,113), porém esta associação ainda não foi confirmada. Estudos recentes têm demonstrado que aproximadamente 1,4-15% dos pacientes com CMT aparentemente esporádico, ou seja, sem história familiar com evidências de parentes de primeiro e segundo graus acometidos por CMT, feocromocitoma ou hiperparatireoidismo, apresentam mutações em seu DNA genômico, podendo corresponder a casos hereditários erroneamente diagnosticados como isolados, ou então a casos de mutações genômicas de novo do proto-oncogene *RET* (4,57,114).

Polimorfismos representam variações na seqüência de nucleotídeos de um gene, que estão presentes na população geral e que não conferem efeitos deletérios aos indivíduos que os apresentem. Entretanto, alguns estudos epidemiológicos moleculares e o Projeto Genoma Humano têm mostrado que algumas variações polimórficas não são totalmente inócuas (124). Variações polimórficas da seqüência do gene *RET*, com ou sem substituições de aminoácidos, tais como a L769L, S904S, A45A, V125V, A432A, G691S, S836S, foram descritas anteriormente em diferentes populações (78,79,124-127). Na maioria destes estudos, os polimorfismos estão distribuídos na população de indivíduos controles em uma frequência similar àquela observada nos pacientes com CMT, não sendo, portanto, implicados no processo de tumorigênese. Entretanto, trabalhos de Gimm e cols. (125) e de Ruiz e cols. (126) demonstraram uma super-representação da variante polimórfica S836S (exon 14) do proto-oncogene *RET*, em associação com o CMT esporádico. Ainda, recentemente, Wiench e cols. (127) observaram que pacientes com CMT diagnosticado antes dos 30 anos de idade apresentavam maior frequência do polimorfismo L769L que os pacientes com CMT diagnosticado mais tardiamente (36% versus 15%), sugerindo que esta variante polimórfica poderia modular a apresentação fenotípica em indivíduos com predisposição genética para CMT. Recentemente, em uma pequena série de pacientes com CMT, Magalhães e cols. (128) observaram pela análise molecular do proto-oncogene *RET* a ocorrência do polimorfismo CTT → CTG, em heterozigose, no exon 13 (L769L) em 4 pacientes. Um destes, uma mulher com CMT diagnosticado aos 32 anos de idade, apresentava a mutação V804M no exon 14 associado ao polimorfismo L769L no exon 13. A mutação V804M é rara e está associada ao CMTF de aparecimento mais tardio (87,90,108,109,129), como obser-



vado na mãe da paciente portadora apenas da mutação V804M, e cujo diagnóstico de CMT foi realizado aos 60 anos por rastreamento familiar. Ela apresentava um nódulo de 4mm visto somente ao ultra-som, cuja PBA confirmou o diagnóstico de CMT. Este achado reforça o trabalho de Wienchi e cols. (127), que sugere que o polimorfismo L769L pode modular a apresentação fenotípica do CMT em indivíduos com predisposição genética. Entretanto, estudos populacionais são necessários para que a frequência de diferentes polimorfismos no proto-oncogene *RET*, assim como sua importância na expressão fenotípica do CMT, sejam estabelecidas.

#### DIFERENCIAÇÃO ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DE CARCINOMA MEDULAR DE TIREÓIDE

A distinção entre a forma esporádica do CMT e as formas hereditárias associadas com NEM 2A ou 2B e CMTF é de extrema relevância clínica, devido às diferenças apresentadas entre elas em termos de prognóstico e pela necessidade de um rastreamento familiar, aconselhamento genético e seguimento das formas hereditárias.

Esta diferenciação clínica apresenta conseqüências não apenas para o paciente, mas também para seus familiares. Sendo o padrão de herança autossômico dominante, metade dos filhos de um paciente portador de CMT hereditário apresenta risco de CMT. No entanto, o diagnóstico de CMT hereditário pode apresentar dificuldades. Quando o paciente apresenta feocromocitoma e/ou de hiperparatireoidismo associado ao CMT, ou quando há história familiar de CMT ou NEM, o diagnóstico de NEM do tipo 2 é evidente. Entretanto, uma história negativa não afasta a possibilidade de carcinoma hereditário. Um paciente pode representar a primeira pessoa da família a ser portador de uma mutação causadora de CMT familiar (mutação de novo) e, neste caso, não apresenta outros familiares afetados. Se a história familiar é negativa, evidências de uma natureza hereditária podem ser obtidas pela presença do tumor em ambos os lobos da tireóide, ou então, pela identificação de áreas de hiperplasia de células C parafoliculares em tecido tireoidiano livre de tumor durante o exame anatomopatológico da peça cirúrgica.

A demonstração de que a grande maioria dos pacientes com as formas hereditárias de CMT apresenta mutações no proto-oncogene *RET* tornou possível a utilização do rastreamento deste gene como teste diagnóstico. O rastreamento genético na procura de mutações no proto-oncogene *RET* causa um mínimo

desconforto para o indivíduo, pois requer apenas a coleta de amostra de sangue, é relativamente simples de ser realizado, de boa aceitação familiar e com relação custo-benefício menor que os rastreamentos bioquímicos, podendo ser realizado independentemente da idade, até mesmo logo após o nascimento (4,31,130,131). Além disso, quando as técnicas laboratoriais são realizadas de forma adequada, a acurácia deste tipo de teste diagnóstico é próxima de 98-100%. Vale, aqui, ressaltar que o rastreamento genético na procura de mutações no proto-oncogene *RET*, na medida em que permite a detecção e tratamento de portadores assintomáticos das formas familiares do CMT, provavelmente resultará em um aumento da porcentagem de formas hereditárias da doença.

Atualmente, já existe um consenso mundial de que a decisão de se submeter um indivíduo à tireoidectomia profilática deve ser baseada, predominantemente, no resultado positivo do teste genético, em detrimento aos testes bioquímicos (29,108,132). Baseando-se na relação genótipo-fenótipo, Brandi e cols. (108) propõem que, para que seja planejado o manejo terapêutico do paciente, ele seja classificado quanto à agressividade tumoral de acordo com o tipo de mutação no proto-oncogene *RET*. Crianças com NEM 2B e/ou portadoras de mutações nos códons 883 ou 918 devem ser classificadas dentro do nível 3. Apresentam alto risco de CMT agressivo, devendo ser submetidas à tireoidectomia antes dos 6 meses de idade e, de preferência, no primeiro mês de vida, já que existem relatos de metástases no primeiro ano de vida. A cirurgia indicada nestas crianças é a tireoidectomia total com esvaziamento ganglionar central. Indivíduos portadores de mutações nos códons 611, 618, 620 ou 634 devem ser classificados dentro do nível 2 ou com risco intermediário de CMT agressivo, devendo ser submetidos à tireoidectomia total antes dos 5 anos de idade (107,108), ou até mesmo antes dos 2 anos de idade (133). Nestes casos, não existe consenso quanto à necessidade ou não da realização de dissecação ganglionar. Os portadores de mutações nos códons 609, 768, 790, 791, 804 ou 891 devem ser classificados dentro do nível 1 ou com baixo risco de CMT agressivo. O comportamento biológico do CMT nestes indivíduos é variável, mas, em geral, o tumor cresce mais lentamente e aparece em idades mais tardias. Entretanto, metástases ganglionares e mortes causadas por CMT em indivíduos portadores de algumas destas mutações têm sido descritas (108). Diante disso, não existe um consenso quanto ao manuseio de pacientes com mutações nos exons 13, 14 e 15. Alguns recomendam uma estratégia similar à

proposta para pacientes estadiados no grupo de risco intermediário, com tireoidectomia aos 5 anos de idade. Outros sugerem que a cirurgia seja realizada aos 10 anos de idade, enquanto outros recomendam a realização de testes periódicos de estímulo da secreção de calcitonina, procedendo-se a tireoidectomia na primeira anormalidade detectada (108,134).

## REFERÊNCIAS

1. Busnardo B, De Vido D. The epidemiology and etiology of differentiated thyroid carcinoma. **Biomed Pharmacother** 2000;54:322-6.
2. Raue F, Frank-Raue K, Grauer A. Multiple endocrine neoplasia type 2. Clinical features and screening. **Endocrinol Metab Clin North Am** 1994;3:37-56.
3. Ball DW, Baylin SB, Bustros AC. Medullary thyroid carcinoma. In: Braverman LE, Utiger RD. **Werner and Ingbar's - The thyroid. A fundamental and clinical text**. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996. p.946-60.
4. Wohllk N, Cote GJ, Evans DB, Goepfert H, Ordonez NG, Gagel RF. Application of genetic screening information to the management of medullary thyroid carcinoma and multiple endocrine neoplasia type 2. **Endocrinol Metab Clin North Am** 1996;25:1-25.
5. Kebebew E, Ituarte PHG, Siperstein AE, Duh Q, Clark OH. Medullary thyroid carcinoma. Clinical characteristics, treatment, prognostic factors, and a comparison of staging systems. **Cancer** 2000;88:1139-48.
6. Vitale G, Caraglia M, Ciccarelli A, Lupoli G, Abbruzzese A, Tagliaferri P, et al. Current approaches and perspectives in the therapy of medullary thyroid carcinoma. **Cancer** 2001;91:1797-808.
7. Hazard JB, Hawk WA, Crile G Jr. Medullary (solid) carcinoma of the thyroid - a clinicopathologic entity. **J Clin Endocrinol Metab** 1959;19:152-61.
8. Williams ED, Pollock DJ. Multiple mucosal neuromata with endocrine tumours: a syndrome allied to von Recklinghausen's disease. **J Pathol Bacteriol** 1966;91:71-80.
9. Steiner AL, Goodman AD, Powers SR. Study of a kindred with pheochromocytoma, medullary thyroid carcinoma, hyperparathyroidism and Cushing's disease: multiple endocrine neoplasia type 2. **Medicine (Baltimore)** 1968;47:371-409.
10. Schimke RN, Hartmann WH, Prout TE, Rimoin DL. Syndrome of bilateral pheochromocytoma, medullary thyroid carcinoma and multiple neuromas. A possible regulatory defect in the differentiation of chromaffin tissue. **N Engl J Med** 1968;279:1-7.
11. Gorlin RJ, Sedano HO, Vickers RA, Cervenka J. Multiple mucosal neuromas, pheochromocytoma and medullary carcinoma of the thyroid: a syndrome. **Cancer** 1968;22:293-9.
12. Hazard JB. The C cells (parafollicular cells) of the thyroid gland and medullary thyroid carcinoma - A review. **Am J Pathol** 1977;88:214-50.
13. Eng C, Clayton D, Schuffenecker I, Lenoir G, Cote G, Gagel RF, 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;276:1575-9.
14. Ezabella MCL, Hayashida CY, Abelin NMA, Toledo SPA. Carcinoma medular da tireóide hereditário. In: Medeiros-Neto G. **Moléstias hereditárias do sistema tireóideo**. São Paulo: Roca, 1996. p.225-42.
15. Heshmati HM, Gharib H, Van Heerden JA, Sizemore GW. Advances and controversies in the diagnosis and management of medullary thyroid carcinoma. **Am J Med** 1997;103:60-9.
16. Eng C. RET proto-oncogene in the development of human cancer. **J Clin Oncol** 1999;17:380-93.
17. Ponder BAJ. The phenotypes associated with ret mutations in the multiple endocrine neoplasia type 2 syndrome. **Cancer Res** 1999;59(suppl.):1736-42.
18. Moore KI, Persaud TVN. O aparelho faringeo. In: Moore DLM, Persaud TVN. **Embriologia básica**. 5<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2000. p.171-89.
19. Eng C, Mulligan LM. Mutations of the RET proto-oncogene in the multiple endocrine neoplasia type 2 syndromes, related sporadic tumours and Hirschsprung disease. **Hum Mutat** 1997;9:97-109.
20. Conte-Devolx B, Schuffenecker I, Niccoli P, Maes B, Boneu A, Barbot N, et al, and the French Study Group on Calcitonin-secreting Tumors (GETC). Multiple endocrine neoplasia type 2: management of patients and subjects at risk. **Horm Res** 1997;47:221-6.
21. Jackson CE, Block MA, Tashjian AH Jr. The two-mutational-event theory in medullary thyroid carcinoma. **Am J Hum Genet** 1979;31:704-10.
22. Miyauchi A, Matsuzuka F, Hirai K, Yokozawa T, Kobayashi K, Kuma S, et al. Unilateral surgery supported by germline RET oncogene mutation analysis in patients with sporadic medullary thyroid carcinoma. **World J Surg** 2000;24:1367-72.
23. Melvin KEW, Miller HH, Tashjian AHJ. Early diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland by means of calcitonin assay. **N Eng J Med** 1971;285:1115-20.
24. Abelin NMA, Gomes S, Ivanoff MT, Ezabella MCL, Hayashida CY, Toledo SPA. Abordagem clínica e laboratorial do bócio uninodular sólido: vantagens da determinação da calcitonina sérica por métodos distintos no rastreamento do carcinoma medular de tireóide, forma esporádica. **Arq Bras Endocrinol Metab** 1999;43:104-13.
25. Mayr B, Brabant G, Von Zur Muhlen A. Incidental detection of familial medullary thyroid carcinoma by calcitonin screening for nodular thyroid disease. **Eur J Endocrinol** 1999;141:286-9.
26. Cohen R, Campos J, Salaün C, Heshmati HM, Kraimps J, Proye C, et al and Groupe D'Étude Des Tumeurs à Calcitonine (GETC). Preoperative calcitonin levels are predictive of tumor size and postoperative calcitonin normalization in medullary thyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85:919-22.
27. Erdogan MF, Gullu S, Baskal N, Uysal AR, Kamel N, Erdogan G. Omeprazole: calcitonin stimulation test for the diagnosis follow-up and family screening in medullary thyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:897-9.

28. Viégas TMRF, Gomes S, Ezabella M, Toledo SPA, Abelin NMA. Comparação dos testes de estímulo da secreção de calcitonina (omeprazol versus cálcio) no diagnóstico e seguimento dos pacientes com carcinoma medular de tireóide (CMT). **Arq Bras Endocrinol Metab** 2000;44:173.
29. Vieira AEF, Mello MP, Elias LLK, Lau IF, Maciel LMZ, Moreira AC, et al. Molecular and biochemical screening for the diagnosis and management of medullary thyroid carcinoma in multiple endocrine neoplasia type 2A. **Horm Metab Res** 2002;34:1-5.
30. Vitale G, Ciccarelli A, Caraglia M, Galderisi M, Rossi R, Del Prete S, et al. Comparison of two provocative tests for calcitonin in medullary thyroid carcinoma: omeprazole vs. pentagastrin. **Clin Chem** 2002;48:1505-10.
31. Komminoth P, Kunz EK, Matias-Guiu X, Hiort O, Christiansen G, Colomer A, et al. Analysis of RET protooncogene point mutations distinguishes heritable from non-heritable medullary thyroid carcinomas. **Cancer** 1995;76:479-89.
32. Ponder BAJ, Coffey R, Gagel RF, Semple P, Ponder MA, Pembrey ME, et al. Risk estimation and screening in families of patients with medullary thyroid carcinoma. **Lancet** 1988;1:397-400.
33. Livolsi VA, Montone K, Sack M. Pathology of the thyroid disease. In: Sternberg SS. **Diagnostic surgical pathology**. 3<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1999. p.529-87.
34. Eng C. The RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2 and Hirschsprung disease. **N Engl J Med** 1996;336:943-51.
35. Almeida, AAL. Carcinoma medular de tireóide. In: Coronho V, Petroianu A, Santana EM, Pimenta LG, eds. **Tratado de endocrinologia e cirurgia endócrina**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. p.542-5.
36. Robinson MF, Furst EJ, Nunziata V, Brandi ML, Ferrer JP, Martins Bugalho MJ, et al. Characterization of the clinical features of five families with hereditary primary cutaneous lichen amyloidosis and multiple endocrine neoplasia type 2. **Henry Ford Hosp Med J** 1992;40:249-52.
37. Maciel RMB. Câncer da tireóide. In: Wajchenberg BL, editor. **Tratado de endocrinologia clínica**. 1<sup>a</sup> ed. São Paulo: Roca, 1992. p.404-27.
38. Hayashida CY, Alves VA, Kanamura CT, Ezabella MC, Abelin NM, Nicolau W, et al. Immunohistochemistry of medullary thyroid carcinoma and C-cell hyperplasia by an affinity-purified anti-human calcitonin antiserum. **Cancer** 1993;72:1356-63.
39. Rufini V, Salvatori M, Garganese MC, Di Giuda D, Lodovica Maussier M, Troncone L. Role of nuclear medicine in the diagnosis and therapy of medullary thyroid carcinoma. **Rays** 2000;25:273-82.
40. Guerra UP, Pizzocaro C, Terzi A, Giubbini R, Maira G, Pagliaini R, et al. New tracers for the imaging of the medullary thyroid carcinoma. **Nucl Med Commun** 1989;10:285-95.
41. DeLellis RA. C-cell hyperplasia: a current perspective. **Adv Anat Pathol** 1997;4:17-22.
42. Chan, JKC. Tumors of the thyroid and parathyroid glands. In: Fletcher CDM, editor. **Diagnostic histopathology of tumors**. 2<sup>th</sup> ed. London: Churchill Livingstone, 2000. p.959-1056.
43. Salles JMP, Soares JMA. Linfadenectomia cervical em câncer de tireóide. In: Coronho V, Petroianu A, Santana EM, Pimenta LG, eds. **Tratado de endocrinologia e cirurgia endócrina**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. p.575-9.
44. Modigliani E, Cohen R, Campos J, Conte-Devolx B, Maes B, Boneu A, et al, and the GETC Study Group. Prognostic factors for survival and for biochemical cure in medullary thyroid carcinoma: results in 899 patients. **Clin Endocrinol (Oxf)** 1998;48:265-73.
45. Takahashi M, Ritz J, Cooper GM. Activation of a novel human transforming gene, RET, by DNA rearrangement. **Cell** 1985;42:581-8.
46. Mathew CGP, Chin KS, Easton DF, Thorpe K, Carter C, Liou GI. A linked genetic marker for multiple endocrine neoplasia type 2A on chromosome 10. **Nature** 1987;328:527-8.
47. Simpson NE, Kidd KK, Goodfellow PJ, McDermid H, Myers S, Kidd JR, et al. Assignment of multiple endocrine neoplasia type 2A to chromosome 10 by linkage. **Nature** 1987;328:528-30.
48. Ishizaka Y, Itoh F, Tahira T, Ikeda I, Sugimura T, Tucker J, et al. Human ret proto-oncogene mapped to chromosome 10q11.2. **Oncogene** 1989;4:1519-21.
49. Lairmore TC, Howe JR, Korte JA, Dilley WG, Aine L, Aine E, et al. Familial medullary thyroid carcinoma and multiple endocrine neoplasia type 2B map to the same region of chromosome 10 as multiple endocrine neoplasia type 2A. **Genomics** 1991;9:181-92.
50. Mulligan LM, Kwok JBJ, Healey CS, Elsdon MJ, Eng C, Gardner E, et al. Germ-line mutations of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2A. **Nature** 1993;363:458-60.
51. Donis-Keller H, Dou S, Chi D, Carlson KM, Tushima K, Lairmore TC, et al. Mutations in the RET proto-oncogene are associated with MEN 2A and FMTC. **Hum Mol Genet** 1993;2:851-6.
52. Hofstra RMW, Landsvater RM, Ceccherini I, Stulp RP, Stelwagen T, Luo Y, et al. A mutation in the RET protooncogene associated with multiple endocrine neoplasia type 2B and sporadic medullary thyroid carcinoma. **Nature** 1994;367:375-6.
53. Pasini B, Hofstra RMW, Yin L, Bocciardi R, Santamaria G, Grootsholten PM, et al. The physical map of the human RET proto-oncogene. **Oncogene** 1995;11:1737-43.
54. Myers SM, Eng C, Ponder BAJ, Mulligan LM. Characterization of RET proto-oncogene 3' splicing variants and polyadenylation sites: a novel C-terminus for RET. **Oncogene** 1995;11:2039-45.
55. Matias-Guiu X. RET protooncogene analysis in the diagnosis of medullary thyroid carcinoma and multiple endocrine neoplasia type II. **Adv Anat Pathol** 1998;5:196-201.
56. Avruch J. Receptor tyrosine kinases. In: Degroot LJ, Jameson JL. **Endocrinology**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001. p.25-47.
57. Eng C, Mulligan LM, Smith DP, Healey CS, Frilling A, Raue F, et al. Mutation of the RET proto-oncogene in sporadic medullary thyroid carcinoma. **Genes Chromosomes Cancer** 1995a;12:209-12.

58. Musholt PB, Musholt TJ, Goodfellow PJ, Zehnbauser BA, Wells SA, Moley JF. "Cold" single-strand conformational variants for mutation analysis of the RET protooncogene. **Surgery** 1997;122:363-71.
59. Mak YF, Ponder BAJ. RET proto-oncogene. **Curr Opin Genet Dev** 1996;6:82-6.
60. Hansford, JR, Mulligan LM. Multiple endocrine neoplasia type 2 and RET: from neoplasia to neurogenesis. **J Med Genet** 2000;37:817-27.
61. Bongarzone I, Monzini N, Borrello MG, Carcano C, Ferraresi G, Arighi E, et al. Molecular characterization of a thyroid tumor-specific transforming sequence formed by the fusion of ret tyrosine kinase and the regulatory subunit R $\alpha$  of cyclic AMP-dependent protein kinase A. **Mol Cell Biol** 1993;13:358-66.
62. Kwok JBJ, Gardner E, Warner JP, Ponder BAJ, Mulligan LM. Structural analysis of the human Ret proto-oncogene using exon trapping. **Oncogene** 1993;8:2575-82.
63. Lorenzo MJ, Eng C, Mulligan LM, Stonehouse TJ, Healey CS, Ponder BAJ, et al. Multiple mRNA isoforms of the human RET proto-oncogene generated by alternative splicing. **Oncogene** 1995;10:1377-83.
64. Airaksinen MS, Titievsky A, Saarma M. GDNF family neurotrophic factor signaling: four masters, one servant? **Mol Cell Neurosci** 1999;13:313-25.
65. Lin LF, Doherty DH, Lile JD, Bektesh S, Collins F. GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons. **Science** 1993;260:1130-2.
66. Baloh RH, Enomoto H, Johnson EM Jr, Milbrandt J. The GDNF family ligands and receptors – implications for neural development. **Curr Opin Neurobiol** 2000;10:103-10.
67. Gagel RF, Cote GJ. Decision making in multiple endocrine neoplasia type 2. **Adv Endocrinol Metab** 1994;5:1-23.
68. Mulligan LM, Eng C, Healey CS. Specific mutations of the RET proto-oncogene are related to disease phenotype in MEN 2A and FMTC. **Nat Genet** 1994;6:70-4.
69. Mulligan LM, Marsh DJ, Eng C, Robinson BG, Schuffenecker I, Zedenius J, et al. International RET mutation consortium. Genotype-phenotype correlation in multiple endocrine neoplasia type 2: report of the International RET mutation consortium. **J Intern Med** 1995;238:343-6.
70. Höppner W, Dralle H, Brabant G. Duplication of 9 base pairs in the critical cysteine-rich domain of the RET proto-oncogene causes multiple endocrine neoplasia type 2A. **Hum Mutat** 1998;S1:128-30.
71. Höppner W, Ritter MM. A duplication of the 12bp in the critical cysteine rich domain of the RET proto-oncogene results in a distinct phenotype of multiple endocrine neoplasia type 2A. **Hum Mol Genet** 1997;6:587-90.
72. Tessitore A, Sinisi AA, Pasquali D, Cardone M, Vitale D, Bellastella A, et al. A novel case of multiple endocrine neoplasia type 2A associated with two de novo mutations of the RET protooncogene. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:3522-7.
73. Nunes AB, Ezabella MC, Pereira AC, Krieger JE, Toledo SPA. A novel val(648)ile substitution in RET protooncogene observed in a cys(634)arg multiple endocrine neoplasia type 2A kindred presenting with and adrenocorticotropin-producing pheochromocytoma. **J Clin Endocrinol Metab** 2002;87:5658-61.
74. Puñales MK, Graf H, Gross JL, Maia AL. Rastreamento genético do carcinoma medular de tireóide: identificação de mutações no proto-oncogene RET. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2002;46:632-9.
75. Nunes AB, Ezabella MC, Abelin N, Frediani D, Pereira AC, Krieger JE, et al. Genetic screening in Brazilian MEN2 kindreds using DGGE. **The endocrine society's 83rd annual meeting 2001**, Denver, USA. p.568.
76. Puñales MK, Graf H, Gross JL, Maia AL. RET codon 634 mutations in multiple endocrine neoplasia type 2: variable clinical features and clinical outcome. **J Clin Endocrinol Metab** 2003;88:2644-9.
77. Abrão CR, Gross JL, Maia AL. Mutação no RET proto-oncogene (Cis634Arg) associada a neoplasia endócrina múltipla 2A e líquen amilóide cutâneo. **Arq Bras Endocrinol Metab** 1998;42:S259.
78. Ceccherini I, Romei C, Barone V, Pacini F, Martino E, Loviselli A, et al. Identification of a the Cys634 $\rightarrow$ Tyr mutation of the RET proto-oncogene in a pedigree with multiple endocrine neoplasia type 2A and localized cutaneous lichen amyloidosis. **J Endocrinol Invest** 1994;17:201-4.
79. Sancandi M, Ceccherini I, Costa M, Fava M, Chen B, Wu Y, et al. Incidence of RET mutations in patients with Hirschsprung's disease. **J Pediatr Surg** 2000;35:139-43.
80. Ito S, Iwashita T, Asai N, Murakami H, Iwata Y, Sobue G, et al. Biological properties of RET with cysteine mutations correlate with multiple endocrine neoplasia type 2A, familial medullary thyroid carcinoma and Hirschsprung's disease phenotype. **Cancer Res** 1997;57:2870-2.
81. Oriola J, Páramo C, Halperin I, García-Mayor RV, Rivera-Fillat F. Novel point mutation in exon 10 of the RET proto-oncogene in a family with medullary thyroid carcinoma. **Am J Med Genet** 1998;78:271-3.
82. Kitamura Y, Goodfellow PJ, Shimizu K, Nagahama M, Ito K, Kitagawa W, et al. Novel germline RET proto-oncogene mutations associated with medullary thyroid carcinoma (MTC): mutation analysis in Japanese patients with MTC. **Oncogene** 1997;14:3103-6.
83. Pigny P, Bauters C, Wemeau J, Houcke ML, Crepin M, Caron P, et al. A novel 9-pair duplication in RET exon 8 in familial medullary thyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:1700-4.
84. Bolino A, Scuffenecker I, Luo Y, Seri M, Silengo M, Tocco T, et al. RET mutations in exons 13 and 14 of FMTC patients. **Oncogene** 1995;10:2415-9.
85. Eng C, Smith DP, Mulligan LM, Healey CS, Zvelebil MJ, Stonehouse TJ, et al. A novel point mutation in the tyrosine kinase domain of the RET proto-oncogene in sporadic medullary thyroid carcinoma and in a family with FMTC. **Oncogene** 1995;10:509-13.
86. Boccia LM, Green JS, Joyce C, Eng C, Taylor SAM, Mulligan LM. Mutation of RET codon 768 is associated with the FMTC phenotype. **Clin Genet** 1997;51:81-5.
87. Berndt I, Reuter M, Saller B, Frank-Raue K, Groth P, Grussendorf F, et al. A new hot spot for mutations in the ret protooncogene causing familial medullary thyroid carcinoma and multiple endocrine neoplasia type 2A. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:770-4.

88. Fink M, Weinhusel A, Nierdele B, Haas OA. Distinction between sporadic and hereditary medullary thyroid carcinoma (MTC) by mutation analysis of the RET proto-oncogene. "Study Group Multiple Endocrine Neoplasia Austria (SMENA)". **Int J Cancer** 1996;69:312-6.
89. Fattoruso O, Quadro L, Libroia A, Verga U, Lupoli G, Cascone E, et al. A GTG to ATG novel point mutation at codon 804 in exon 14 of the RET proto-oncogene in two families affected by familial medullary thyroid carcinoma. **Hum Mutat** 1998;Suppl 1:S167-71.
90. Hofstra RMW, Fattoruso O, Quadro L, Wu Y, Libroia A, Verga U, et al. A novel point mutation in the intracellular domain of the RET protooncogene in a family with medullary thyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:4176-8.
91. Carlson KM, Dou S, Chi D, Scavarda N, Toshima K, Jackson CE, et al. Single missense mutation in the tyrosine kinase catalytic domain of the ret proto-oncogene is associated with multiple endocrine neoplasia type 2B. **Proc Natl Acad Sci USA** 1994;91:1579-83.
92. Eng C, Smith DP, Healey CS, Mulligan LM, Clayton D, Kwok JBJ, et al. Point mutation within the tyrosine kinase domain of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia 2B and related sporadic tumours. **Hum Mol Genet** 1994;3:237-41.
93. Toledo SPA, Ezabella MCL, Abelin N, Hayashida CY, Dahia PLM. Perda do sítio de restrição fok-I no códon 918 do proto-oncogene RET na neoplasia endócrina múltipla tipo 2B. **Arq Bras Endocrinol Metab** 1997;41:14-7.
94. Gimm O, Marsh DJ, Andrew SD, Frilling A, Dahia PLM, Mulligan LM, et al. Germline dinucleotide mutation in codon 883 of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2B without codon 918 mutation. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:3902-4.
95. Smith DP, Houghton C, Ponder BAJ. Germline mutation of RET codon 883 in two cases of de novo MEN 2B. **Oncogene** 1997;15:1213-7.
96. Miyauchi A, Futami H, Hai N, Yokozawa T, Kuma K, Aoki N, et al. Two germline missense mutations at codons 804 and 806 of the RET proto-oncogene in the same allele in a patient with multiple endocrine neoplasia type 2B without codon 918 mutation. **Jpn J Cancer Res** 1999;90:1-5.
97. Menko FH, Van der Lijst RB, de Valk IA, Toorians AW, Sepers JM, van Diest PJ, et al. Atypical MEN type 2B associated with two germline RET mutations on the same allele not involving codon 918. **J Clin Endocrinol Metab** 2002;87:393-7.
98. Santoro M, Carlomagno F, Romano A, Bottaro DP, Dathan NA, Grieco M, et al. Activation of RET as a dominant transforming gene by germline mutations of MEN2A and MEN2B. **Science** 1995;267:381-3.
99. Asai N, Iwashita T, Matsuyama M, Takahashi M. Mechanism of activation of the ret proto-oncogene by multiple endocrine neoplasia 2A mutations. **Mol Cell Biol** 1995;15:1613-9.
100. Borrello MG, Smith DP, Pasini B, Bongarzone I, Greco A, Lorenzo MJ, et al. RET activation by germline MEN2A and MEN2B mutations. **Oncogene** 1995;11:2419-27.
101. Segouffin-Cariou C, Billaud M. Transforming ability of MEN2A-RET requires activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling pathway. **J Biol Chem** 2000;275:3568-76.
102. Iwashita T, Asai N, Murakami H, Matsuyama M, Takahashi M. Identification of tyrosine residues that are essential for transforming activity of the ret proto-oncogene with MEN2A or MEN 2B mutation. **Oncogene** 1996;12:481-7.
103. Iwashita T, Kato M, Murakami H, Asai N, Ishiguro Y, Ito S, et al. Biological and biochemical properties of Ret with kinase domain mutations identified in multiple endocrine neoplasia type 2B and familial medullary thyroid carcinoma. **Oncogene** 1999;18:3919-22.
104. Iwashita T, Murakami H, Kurokawa K, Kawai K, Miyauchi A, Futami H, et al. A two-hit model for development of multiple endocrine neoplasia type 2B by RET mutations. **Biochem Biophys Res Commun** 2000;268:804-8.
105. De Vita G, Melillo MM, Carlomagno F, Visconti R, Castellone MD, Bellacosa A, et al. Tyrosine 1062 of RET-MEN2A mediates activation of Akt (protein kinase B) and mitogen-activated protein kinase pathways leading to PC12 cell survival. **Cancer Res** 2000;60:3727-31.
106. Salvatore D, Melillo RM, Monaco C, Visconti R, Fenzi G, Vecchio G, et al. Increased *in vivo* phosphorylation of Ret tyrosine 1062 is a potential pathogenetic mechanism of multiple endocrine neoplasia type 2B. **Cancer Res** 2001;61:1426-31.
107. Machens A, Gimm O, Hinze R, Höppner W, Boehm BO, Dralle H. Genotype-phenotype correlations in hereditary medullary thyroid carcinoma: oncological features and biochemical properties. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:1104-9.
108. Brandi ML, Gagel RF, Angeli A, Bilezikian JP, Beck-Pecoz P, Bordi C, et al. Consensus: guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:5658-71.
109. Niccoli-Sire P, Murat A, Rohmer V, Frank S, Chabrier G, Baldet L, et al, and The French Calcitonin Tumors study Group (GETC). Familial medullary thyroid carcinoma with noncysteine RET mutations: phenotype-genotype relationship in a large series of patients. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:3746-53.
110. Lombardo F, Baudin E, Chiefari E, Arturi F, Bardet S, Cailou B, et al. Familial medullary thyroid carcinoma: clinical variability and low aggressiveness associated with RET mutation at codon 804. **J Clin Endocrinol Metab** 2002;87:1674-80.
111. Zedenius J, Larsson C, Bergholm U, Bovée J, Svensson A, Hallengren B, et al. Mutations of codon 918 in the RET proto-oncogene correlate to poor prognosis in sporadic medullary thyroid carcinomas. **J Clin Endocrinol Metab** 1995;80:3088-90.
112. Marsh DJ, Learoyd DL, Andrew SD, Krishnan L, Pojer R, Richardson A, et al. Somatic mutations in the RET proto-oncogene in sporadic medullary thyroid carcinoma. **Clin Endocrinol (Oxf)** 1996;44:249-57.
113. Romei C, Elisei R, Pinchera A, Ceccherini I, Molinaro E, Mancusi F, et al. Somatic mutations of the RET protooncogene in sporadic medullary thyroid carcinoma are not restricted to exon 16 and are associated with tumor recurrence. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:1619-22.
114. Scurini C, Quadro L, Fattoruso O, Verga U, Libroia A, Lupoli G, et al. Germline and somatic mutations of the RET proto-oncogene in apparently sporadic medullary thyroid carcinomas. **Mol Cell Endocrinol** 1998;137:51-7.

115. Eng C, Thomas GA, Neuberg DS, Mulligan LM, Healey CS, Houghton C, et al. Mutation of the RET proto-oncogene is correlated with RET immunostaining in subpopulations of the cells in sporadic medullary thyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:4310-3.
116. Eng C, Mulligan LM, Healey CS, Houghton C, Frilling A, Raue F, et al. Heterogeneous mutation of the RET proto-oncogene in subpopulations of medullary thyroid carcinoma. **Cancer Res** 1996;56:2167-70.
117. Alemi M, Lucas SD, Sällström JF, Akerström G, Wilander E. A novel deletion in the RET proto-oncogene found in sporadic medullary thyroid carcinoma. **Anticancer Res** 1996;16:2619-22.
118. Alemi M, Lucas SD, Sällström JF, Bergholm U, Akerström G, Wilander E. A complex nine base pair deletion in RET exon 11 common in sporadic medullary thyroid carcinoma. **Oncogene** 1997;14:2041-5.
119. Bugalho JM, Frade JP, Santos JR, Limbert E, Sobrinho L. Molecular analysis of the RET proto-oncogene in patients with medullary thyroid carcinoma: a novel point mutation in the extracellular cysteine-rich domain. **Eur J Endocrinol** 1997;136:423-6.
120. Kalinin V, Frilling A. 27-bp deletion in the ret proto-oncogene as a somatic mutation associated with medullary thyroid carcinoma. **J Mol Med** 1998;76:365-7.
121. Marsh DJ, Andrew SD, Learoyd DL, Pojer R, Eng C, Robinson BG. Deletion-insertion mutation encompassing RET codon 634 is associated with medullary thyroid carcinoma. **Hum Mutat** 1998;S1:S3-4.
122. Bugalho JM, Coelho I, Sobrinho L. Somatic trinucleotide change encompassing codons 882 and 883 of the RET proto-oncogene in a patient with sporadic medullary thyroid carcinoma. **Eur J Endocrinol** 2000;142:573-5.
123. Kalinin VN, Amosenko FA, Shabanov MA, Lubehenko LN, Hosch SB, Garkavtseva RF, et al. Three novel mutations in the RET proto-oncogene. **J Mol Med** 2001;79:609-12.
124. Borrego S, Sáez ME, Ruiz A, Gimm O, López-Alonso M, Antiñolo G, et al. Specific polymorphisms in the RET proto-oncogene are over-represented in patients with Hirschsprung disease and may represent loci modifying phenotypic expression. **J Med Genet** 1999;36:771-4.
125. Gimm O, Neuberg DS, Marsh DJ, Dahia PLM, Hoang-Vu C, Raue F, et al. Over-representation of a germline RET sequence variant in patients with sporadic medullary thyroid carcinoma and somatic RET codon 918 mutation. **Oncogene** 1999;18:1369-73.
126. Ruiz A, Antiñolo G, Fernández RM, Eng C, Marcos I, Borrego S. Germline sequence variant S836S in the RET proto-oncogene is associated with low level predisposition to sporadic medullary thyroid carcinoma in the Spanish population. **Clin Endocrinol (Oxf)** 2001;55:399-402.
127. Wiench M, Gubala E, Wloch J, Lisowska K, Krassowski J, Scieglinska D, et al. Estimation of risk of inherited medullary thyroid carcinoma in apparent sporadic patients. **J Clin Oncol** 2001;19:1374-80.
128. Magalhães PKR, Castro M, Elias LLK, Santos SSR, Torres N, Soares EG, et al. Rastreamento genético e imunohistoquímica para o proto-oncogene RET: papel no diagnóstico e manejo das formas hereditárias do carcinoma medular de tireóide. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2002;46:S95.
129. Nilsson O, Tisell LE, Jansson S, Ahlman H, Gimm O, Eng C. Adrenal and extra-adrenal pheochromocytomas in a family with germline RET V804L mutation. **JAMA** 1999;281:1587-8.
130. Goretzki PE, Höppner W, Dotzenrath C, Clark OH, Simon D, Cupisti K, et al. Genetic and biochemical screening for endocrine disease. **World J Surg** 1998;22:1202-7.
131. Lips CJM. Clinical management of the multiple endocrine neoplasia syndromes: results of a computerized opinion poll at the Sixth International Workshop on Multiple Endocrine Neoplasia and von Hippel-Lindau disease. **J Intern Med** 1998;243:589-94.
132. Van Heurn LWE, Schaap C, Sie G, Haagen AAM, Gerver WJ, Freling G, et al. Predictive DNA testing for multiple endocrine neoplasia 2: a therapeutic challenge of prophylactic thyroidectomy in very young children. **J Pediatr Surg** 1999;34:568-71.
133. Van Heurn LWE, Schaap C, Sie G, Haagen AAM, Gerver WJ, Freling G, et al. Predictive DNA testing for multiple endocrine neoplasia 2: a therapeutic challenge of prophylactic thyroidectomy in very young children. **J Pediatr Surg** 1999;34:568-71.
134. Feldman GL, Edmonds MW, Ainsworth PJ, Schuffenecker I, Lenoir GM, Saxe AW, et al. Variable expressivity of familial medullary thyroid carcinoma (FMTC) due to a RET V804M (GTG→ATG) mutation. **Surgery** 2000;128:93-8.

**Endereço para correspondência:**

Léa Maria Zanini Maciel  
Divisão de Endocrinologia -  
Departamento de Clínica Médica  
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP  
Av. Bandeirantes 3900  
14049-900 Ribeirão Preto, SP  
Fax: (016) 633-1144  
e.mail: lmzmacie@fmrp.usp.br