

غربالگری سرطان مدولاری تیروئید با استفاده از نشانگر ژنتیکی پروتوآنکوژن RET

دکتر مهدی هدایتی^۱، مرجان ظریف یگانه^۱، سارا شیخ الاسلامی^۱، دکتر مریم دانشپور^۱، دکتر فریدون عزیزی^۲
مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، (۲)
مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، **نشانی**
مکتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تهران، ولنجک، خیابان یمن، خیابان پروانه، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز
و متابولیسم، دکتر مهدی هدایتی؛ e-mail: hedayati@endocrine.ac.ir

چکیده

مقدمه: سرطان تیروئید شایع‌ترین بدخیمی سیستم غدد درون‌ریز است که به چهار نوع پاپیلاری، فولیکولار، مدولاری و آناپلاستیک تقسیم می‌گردد. سرطان مدولاری تیروئید (MTC) از بدخیم‌ترین انواع سرطان تیروئید است و تا ۱۰ درصد کل انواع این بیماری را شامل می‌شود. الگوی توارث MTC به صورت اتوزوم غالب است و رخداد جهش‌های افزایش عملکرد پروتوآنکوژن RET در ایجاد آن به خوبی شناخته شده است. MTC به دو صورت ارثی (۲۵ درصد) و تک‌گیر (۷۵ درصد) دیده می‌شود. نوع ارثی بیماری نیز به دو نوع نشانگان (multiple endocrine neoplasia type 2A, B; MEN2A, MEN2B) و غیرنشانگانی (Familial MTC, FMTC) تقسیم می‌گردد. پیشرفت سریع در حیطه بیولوژی ملکولی و بهبود چشمگیر در روش‌های تشخیصی ژنومیک و پروتئومیک منجر به ایجاد و استفاده از راه‌کارهای خاص برای هر فرد (بیمار) شده است که این پدیده به طور فزاینده‌ای رو به گسترش است. در طی دو دهه گذشته، شناسایی اساس ژنتیکی ایجاد سرطان‌ها، ابزار غربالگری سودمندی را برای بیماران و اعضای خانواده آنان فراهم آورده است. پیشرفت در غربالگری ژنتیکی جهش‌های RET، شناسایی به موقع افراد در معرض خطری که هنوز علایمی از بیماری را نشان نداده‌اند و به دنبال آن انجام تیروئیدکتومی پیشگیرانه، سهم مهمی در افزایش سطح سلامت بیماران و خانواده آنان داشته است. در این مقاله، تلاش گردیده است که مروری کوتاه بر نوع نشانگان و غیرنشانگانی MTC، جهش‌های مهم RET در ایجاد این بیماری و اهمیت آزمایش ژنتیکی RET جهت غربالگری اعضای خانواده بیماران، تشخیص به موقع و مدیریت بهینه بیماران انجام گیرد.

واژگان کلیدی: آزمایش غربالگری ژنتیکی، سرطان مدولاری تیروئید، MEN2A، MEN2B، FMTC، پروتوآنکوژن RET

دریافت مقاله: ۹۳/۱۰/۳۰ - دریافت اصلاحیه: ۹۴/۲/۱ - پذیرش مقاله: ۹۴/۲/۱

مقدمه

چاقی و به دنبال آن افزایش میزان آدیپوکاین‌ها را نیز از جمله عوامل خطر برای ایجاد سرطان تیروئید مطرح نموده‌اند.^{۱-۱۳}

از لحاظ بافت‌شناسی، سرطان تیروئید بر اساس نوع سلول منشأ گرفته، تقسیم‌بندی می‌گردد. غده تیروئید از سلول‌های فولیکولار (مسئول تولید هورمون‌های تیروکسین و تری‌یدوتیرونین) و سلول‌های پارافولیکولار (مسئول ساخت هورمون کلسیتونین) تشکیل شده است. سرطان تیروئید از نوع پاپیلاری و فولیکولار از سلول‌های فولیکولار

سرطان تیروئید شایع‌ترین نئوپلاسم غدد درون‌ریز و مسئول تقریباً یک درصد کل انواع سرطان‌ها در انسان است. در ایالات متحده آمریکا، بروز آن بیش از سایر بدخیمی‌ها رو به افزایش است.^{۱-۳} عوامل گوناگونی مانند قرار گرفتن در معرض اشعه (به ویژه در دوران کودکی)، پیش زمینه ژنتیکی، جنسیت و همچنین کمبود ید جزو عوامل خطر در ایجاد سرطان تیروئید به شمار می‌روند.^{۴-۷} مطالعات اخیر،

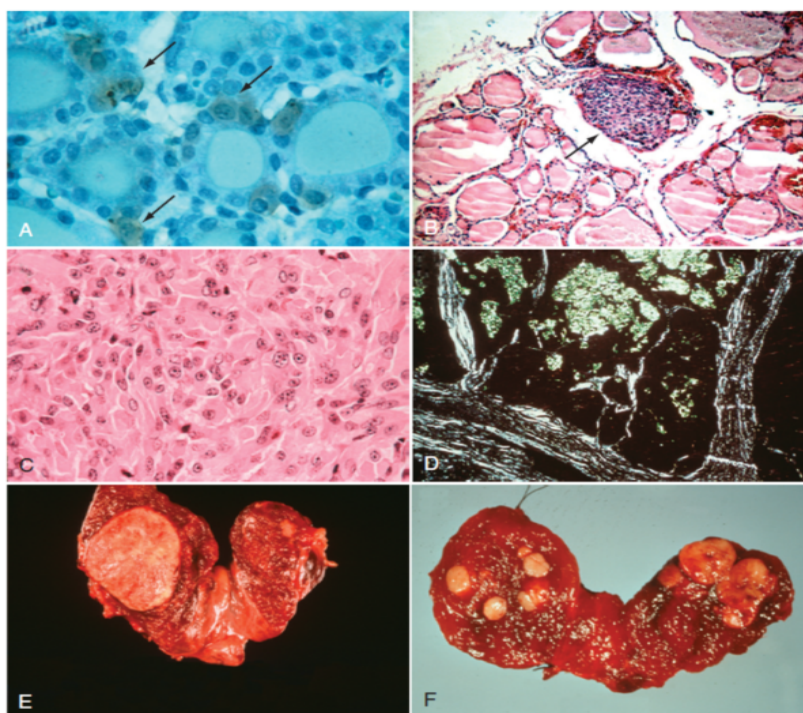
با عنوان گواتر بدخیم همراه با آمیلوئید^v توضیح داده شد.^{۱۵} در سال ۱۹۵۹، هازارد^{vi} و همکارانش توضیح بافت‌شناسی مشخصی را برای آن ارائه نمودند.^{۱۶} هم‌چنین، ویلیامز^{vii} منشأ سلول‌های سرطان مدولاری تیروئید را از سلول‌های C و یا پارافولیکولار مترشحه کلسیتونین گزارش نمود.^{۱۷} سلول‌های C پارافولیکولار از سنتیغ عصبی مشتق شده و منشأ اکتودرمی - عصبی مشترک با بخش مدولای غده آدرنال دارند.^{۱۴،۱۸،۱۹} هایپرپلازی سلول‌های C، ضایعه‌ای پیش بدخیم و نخستین ناهنجاری بافت‌شناسی در سرطان مدولاری تیروئید است. این ضایعه در بیماران که تحت عمل جراحی تیروئیدکتومی پیش‌گیرانه قرار می‌گیرند، در بسیاری از موارد تنها یافته پاتولوژی است (شکل ۱).^{۲۰}

و سرطان مدولاری تیروئید از سلول‌های پارافولیکولار (سلول‌های C) منشأ می‌گیرند.^{۱۴} درک سازوکارهای ملکولی این بدخیمی‌ها در سال‌های اخیر به میزان زیادی افزایش یافته است. امروزه تغییرات ژنتیکی مرتبط با چنین تومورها و نشانگان نئوپلاسمی، به عنوان ابزار بالینی بسیار کاربردی برای تشخیص و پیش‌آگهی بیماری مورد استفاده قرار می‌گیرند.

در این مقاله مروری، سرطان مدولاری تیروئید و نشانگان MEN2ⁱ، جهش در اگزون‌های اصلی پروتوآنکوژن RETⁱⁱ، و اهمیت غربالگری ژنتیکی این جهش‌ها در مدیریت بهینه بیماران مبتلا، به اختصار مورد بررسی قرار گرفته است.

• سرطان مدولاری تیروئیدⁱⁱⁱ

سرطان مدولاری تیروئید نوعی بدخیمی نورواندوکراین نادر است که نخستین بار توسط ژاکو^{iv} در یک مقاله آلمانی



شکل ۱. بافت‌شناسی اختلالات سلول‌های C. A: سلول‌های پارافولیکولار C با رنگ‌آمیزی anti-CEA (فلش‌ها); B: هایپرپلازی سلول‌های C; C: سرطان مدولاری تیروئید؛ D: سرطان مدولاری تیروئید، رنگ‌آمیزی نوای دارای آمیلوئید که فیبرهای کلسیتونین را نشان می‌دهد؛ E: سرطان مدولاری تیروئید دوطرفه که در لوب راست تیروئید تومور بزرگ‌تری مشاهده می‌شود؛ F: سرطان مدولاری تیروئید چند کانونی.^{۲۰}

تیروئید هستند، میزان بقای ۱۰ ساله دارند، در حالی‌که در بیماران که تهاجم تومور در اطراف تیروئید است، میزان بقای ۷۵ درصد مشاهده می‌شود و وجود متاستازهای دوردست در زمان تشخیص بیماری دارای پیش‌آگهی بد و

سرطان مدولاری تیروئید مسئول ۱۰-۵ درصد تمام انواع سرطان تیروئید است.^{۱۹} پیش‌آگهی بیماری به عواملی مانند سن، جنس، مرحله و درجه تومور بستگی دارد. به طور کلی، بیش از ۹۵ درصد بیماران که دارای تومور محدود به

v- Malignant Goiter With Amyloid
vi- Hazard
vii- Williams

i- Multiple Endocrine Neoplasia Type2
ii- REarranged during Transfection
iii-Medullary Thyroid Carcinoma; MTC, OMIM#171400
iv- Jaquet

جهش‌های نقطه‌ای افزایش عملکرد در پروتوآنکوژن RET تقریباً در تمامی موارد ارثی بیماری دیده می‌شوند.^{۲۱، ۲۲، ۲۳} مدت زمان تبدیل هایپرپلازی سلول‌های C به MTC نیز متفاوت است و به جهش‌های مختلف RET بستگی دارد.^{۲۴} پیشرفت در غربالگری ژنتیکی این ژن، شناسایی بیماران مبتلا به نوع ارثی بیماری و همچنین تیروئیدکتومی پیشگیرانه افراد حامل جهش‌های RET را فراهم نموده است.^{۱۸}

• **نشانه‌های نئوپلازی چندگانه درون‌ریز نوع ۲A^{vii}**

واژه MEN در سال ۱۹۶۸ توسط اشتاینر^{viii} و همکارانش همکارانش جهت توضیح بیماری‌های ترکیبی تومورهای اندوکراین ارایه گردید.^{۲۵} در طی دو دهه گذشته، اساس ژنتیکی تومورزایی این نشانگان خانوادگی توضیح داده شده است. بدین ترتیب ابزار غربالگری مفیدی را برای تشخیص به هنگام اعضای خانواده فرد مبتلا و حتی پیشگیری قبل از بروز علائم بیماری فراهم نموده است.^{۲۶}

نشانه‌های نئوپلازی چندگانه درون‌ریز نوع ۲A (MEN2A) تحت عنوان نشانگان سیپل^{ix} نیز شناخته می‌شود، چرا که نخستین بار در سال ۱۹۶۱ توسط سیپل توضیح داده شد.^{۲۷} در سال ۱۹۶۲، کاشمن^x توانست بین تومورهای اندوکراین که توسط سیپل گزارش شده بود (سرطان مدولاری تیروئید، فئوکروموسایتوما و هایپرپلازی پاراتیروئید) ارتباط برقرار کند. این امر منجر به دسته‌بندی MEN2 به عنوان یک بیماری مجزا گردید.^{۲۸}

امروزه نشانگان MEN2A با حضور سرطان مدولاری تیروئید دوطرفه و چند کانونی، فئوکروموسایتوما دوطرفه و تومورهای غدد پاراتیروئید (آدنوما، هایپرپاراتیروئیدیسم اولیه) در یک فرد یا خانواده تشخیص داده می‌شود. فراوانی این تومورها ۱۰۰-۹۰ درصد برای سرطان مدولاری تیروئید، ۵۰-۴۰ درصد برای فئوکروموسایتوما و ۲۵-۱۰ درصد برای هایپرپلازی پاراتیروئید است.^{۲۶، ۲۹} در بیشتر موارد، سرطان مدولاری تیروئید نخستین تظاهر MEN2A است و معمولاً در محدوده سنی ۲۵-۵ سال رخ می‌دهد. اسهال رایج‌ترین تظاهر سیستماتیک در افرادی با غلظت بالای کلسیتونین پلاسمایی (بیش از ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) است و پیش‌آگهی بدی به دنبال خواهد داشت. در بیماران مبتلا به سرطان مدولاری تیروئید، عموماً توده و درد در ناحیه گردن پیش از ۳۵

بقای ۱۰ ساله به میزان ۴۰ درصد است.^{۲۱، ۲۲} به طور کلی، اگر این بیماری در مراحل اولیه تشخیص و درمان شود، پیش‌آگهی آن خوب است و میزان بقای ۱۰ ساله بیماران ۷۰-۸۰ درصد خواهد بود.^{۲۲} متأسفانه در زمان تشخیص، بیش از ۷۰ درصد بیماران متاستاز به غدد لنفاوی گردن، ۱۵ درصد علائم متاستاز موضعی مانند خشونت صدا یا بلع دشوار، و ۱۰ درصد نیز متاستازهای دوردست دارند.^{۲۳، ۲۴} انجام جراحی اساس درمان است و تیروئیدکتومی کامل به همراه برداشتن غدد لنفاوی دو طرف گردن تقریباً برای تمامی بیماران توصیه می‌شود.^{۲۵} متاستازهای دور دست به کبد، ریه، استخوان و یا تهاجم موضعی به حنجره یا مری باعث افزایش میزان مرگ و میر می‌شود.^{۲۱}

سرطان مدولاری تیروئید می‌تواند به صورت تک‌گیرⁱ یا ارثیⁱⁱ باشد. حدود ۷۰-۸۰ درصد موارد بیماری به صورت صورت تک‌گیر است.^{۲۶} نوع تک‌گیر معمولاً در هر سنی می‌تواند بروز نماید، اما بیشتر در دهه چهارم تا ششم زندگی دیده می‌شود. شیوع بیماری در زنان حدوداً سه برابر بیشتر از مردان است.^{۲۲} بیماران مبتلا به sMTC معمولاً یک گره تک و قابل لمس در تیروئید و یا غدد لنفاوی گردن دارند. تومورها عموماً در قسمت فوقانی و میانی تیروئید، محل تمرکز سلول‌های C دیده می‌شوند (شکل ۱). تشخیص معمولاً بر اساس یافته‌های FNAⁱⁱⁱ صورت می‌گیرد.^{۲۷}

نوع ارثی بیماری ۲۵ درصد موارد را شامل می‌شود و الگوی توارث آن به صورت اتوزوم غالب است.^{۲۸} شیوع آن حدود ۲/۵ در ۱۰۰،۰۰۰ (یک در ۳۰،۰۰۰) در جمعیت عمومی است.^{۲۹} در MTC ارثی، هایپرپلازی سلول‌های C به صورت چند کانونی مشاهده می‌شود که پیش‌زمینه ضایعات MTC است.^{۳۰} نوع ارثی MTC به سه دسته نشانگان نئوپلازی چندگانه درون‌ریز نوع ۲A (MEN2A)^{iv}، نئوپلازی چندگانه درون‌ریز نوع ۲B (MEN2B)^v، و MTC خانوادگی (FMTC)^{vi} تقسیم می‌شود که معمولاً MEN2A بیشترین و MEN2B کمترین شیوع را دارد؛ با این وجود برخی مطالعات شیوع بالاتر FMTC گزارش کرده‌اند. این سه نوع بیماری از لحاظ ژنتیکی، نفوذ وابسته به سن، ارتباط با سایر بیماری‌ها، میزان تهاجم MTC و پیش‌آگهی با هم متفاوت‌اند.^{۲۵، ۳۱}

i - Sporadic MTC; sMTC

ii - Hereditary MTC; hMTC

iii - Fine Needle Aspiration

iv - Multiple Endocrine Neoplasia; MEN2A

v - Multiple Endocrine Neoplasia; MEN2B

vi - Familial MTC; FMTC

vii - MEN2A; OMIM# 171400

viii - Steiner

ix - Sipple

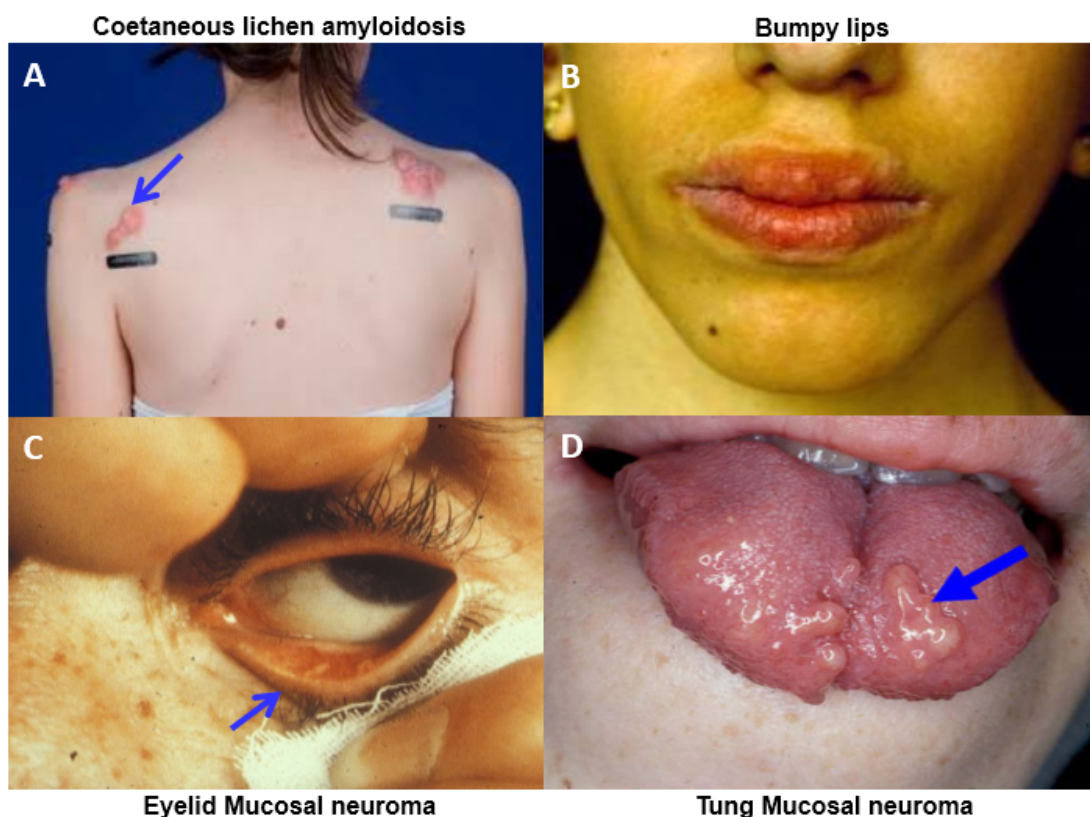
x - Cushman

طولانی وجود داشته باشد و بدون تشخیص بماند، علایم شدیدی بروز خواهد کرد. این بیماری معمولاً چندین سال پس از تشخیص سرطان مدولاری تیروئید رخ می‌دهد و متوسط سن شروع آن ۳۸ سالگی است.^{۴۱}

انواع نادری از MEN2A نیز گزارش شده است که شامل MEN2A به همراه آمیلیویدوز لیکن جلدی (CLA)^(۱) است؛ این ضایعات پوستی در ناحیه فوقانی پشت بدن ایجاد می‌شوند و ممکن است پیش از سرطان مدولاری تیروئید تظاهر یابند (شکل A-۲).^{۴۲-۴۴}

سالگی رخ می‌دهد. بیش از ۷۰ درصد این بیماران متاستاز به غدد لنفاوی گردن خواهند داشت.^{۴۰} فنوکروموسایتوما معمولاً پس از ایجاد سرطان مدولاری تیروئید و یا هم زمان با آن دیده می‌شود، با این وجود در ۲۷-۱۳ درصد موارد اولین علامت بیماری MEN2A، فنوکروموسایتوما است.^{۴۱}

هایپرپلازی پاراتیروئید عموماً خفیف است و نوع آن ممکن است از یک آدنوما تا یک هایپرپلازی واضح متغیر باشد. بیشتر افراد دارای هایپرپلازی پاراتیروئید علایمی ندارند، با این حال افزایش دفع ادراری کلسیم و سنگ کلیه ممکن است رخ دهد. اگر هایپرپلازی پاراتیروئید به مدت



شکل ۲. A، ضایعات پوستی coetaneous lichen amyloidosis در بیماران مبتلا به MEN2A؛ B، C و D: نوروماهای مخاطی در لب‌ها، پلک چشم و زبان در بیماران مبتلا به MEN2B.

جهش‌های MEN2A در ناحیه غنی از سیستئین پروتئین RET در اگزون‌های ۱۰ و ۱۱ مشاهده می‌شود.^{۴۹، ۱۴}

نوع کمیاب دیگری از بیماری، همراهی MEN2A و یا FMTC با بیماری هیرشپرونکⁱⁱ با شیوعی حدود ۱۶ درصد است.^{۴۵، ۳۹}

مراحل بالینی سرطان مدولاری تیروئید در بیماران مبتلا به MEN2A متفاوت است و پیشرفت بیماری بستگی به نوع کدون‌های جهش یافته در پروتئین RET دارد.^{۴۸-۴۶} عمده

i- Cutaneous Lichen Amyloidosis

ii-Hirschsprung

MEN2B را ندارند و علت اصلی بیماری جهش‌های درون‌زاد بخش داخل سلولی پروتوآنکوژن RET، اغلب در اگزون ۱۶ و گاهی اگزون ۱۵ است.^{۳۹، ۵۵}

• **سرطان مدولاری تیروئید خانوادگی^{vii}**

در این بیماری سرطان مدولاری به صورت خانوادگی دیده می‌شود و بروز سایر مشکلات اندوکراین در آنان بسیار اندک است.^{۳۶، ۳۹} برخی نیز سرطان مدولاری تیروئید خانوادگی را نوعی MEN2A در نظر می‌گیرند که سرطان مدولاری تیروئید تنها تظاهر بالینی آن است.^{۴۴} ویژگی دیگر این بیماری، وجود بقایای آمیلوئیدی بین سلول‌های توموری است.^{۵۶، ۵۷} سرطان مدولاری تیروئید معمولاً دو طرفه و چند کانونی است و فوتوتایی کم تهاجم دارد و عموماً تا دهه دوم و سوم زندگی بروز نمی‌کند.^{۵۸} در سال‌های اخیر، این بیماری با فراوانی بیشتری تشخیص داده می‌شود و در حدود ۳۵-۶۰ درصد موارد سرطان مدولاری تیروئید را در برمی‌گیرد. علی‌رغم وجود سرطان مدولاری تیروئید، نفوذ بیماری کمتر است، پیش‌آگهی به نسبت بهتری دارد و دوره بالینی آن نسبت به نشانگان MEN2A و MEN2B خوش‌خیم‌تر است.^{۳۹}

تشخیص سرطان مدولاری تیروئید خانوادگی زمانی اثبات می‌شود که حداقل چهار نفر از اعضای یک خانواده در سنین مختلف مبتلا به سرطان مدولاری تیروئید باشند. غربالگری دقیق بیوشیمیایی و ژنتیکی، اغلب تاریخچه خانوادگی این بیماری را در خانواده نشان می‌دهد. این موارد در ابتدا ممکن است به عنوان سرطان مدولاری تیروئید تک-گیر در نظر گرفته شوند.^{۲۸، ۵۶} پیش از تایید تشخیص نهایی سرطان مدولاری تیروئید خانوادگی، باید عدم ابتلا به فنوکروموسایتوما اثبات شود. در حقیقت، تشخیص بیماری بر اساس عدم وجود هایپرپاراتیروئیدیسم اولیه در دو نسل یا بیشتر در یک خانواده و جهش‌های پروتوآنکوژن RET به ویژه در کدون‌های ۶۰۹، ۶۱۱، ۶۱۸، ۷۶۸، ۷۹۰، ۸۰۴ و ۸۹۱ است. در خانواده‌هایی که تنها یک فرد مبتلا وجود دارد و یا در خانواده‌های کوچک، تشخیص بیماری باید با احتیاط صورت گیرد. چرا که امکان دارد تشخیص فنوکروموسایتوما و MEN2A نادیده گرفته شوند.^{۲۵}

• **نشانگان نتوپلازی چندگانه درون‌ریز نوع ۲Bⁱ**

تعاریف اولیه از نشانگان MEN2B نخستین بار توسط وگمنⁱⁱ در سال ۱۹۲۲،^{۵۰} فروبورⁱⁱⁱ در سال ۱۹۲۳^{۵۱} و سپس سپس در سال ۱۹۶۶ ارایه شد. مجموعه یافته‌های مرتبط با MEN2B در یک فرد مبتلا و خانواده وی توسط ویلیامز^{iv} و پولاک^v در سال ۱۹۶۶ ارایه گردید. این یافته‌ها شامل ضخیم شدن لب‌ها، ضایعات زبان، سرطان مدولاری تیروئید و فنوکروموسایتوما بود.^{۵۲، ۵۳}

نشانگان MEN2B در حدود ۱۰-۵ درصد موارد نشانگان MEN2 را شامل می‌شود.^{۴۴} مشخصه‌های این بیماری عبارت از سرطان مدولاری تیروئید مهاجم و زودرس در همه افراد مبتلا (به ویژه در سال نخست زندگی)، فنوکروموسایتوما (در حدود ۴۰-۵۰ درصد موارد)، عدم وجود هایپرپاراتیروئیدیسم، برآمدگی‌هایی روی لب‌ها و زبان (ناشی از نوروماهای مخاطی و جلدی چندگانه) (شکل ۲)، گانگلیونوروماتوزیس‌های گوارشی، ظاهر شبه مارفان (بلند بودن اندام‌ها و عدم تناسب آن با تنه)، ناهنجاری‌های اسکلتی اغلب با کیفواسکولیوز یا لوردوز، سستی مفاصل، کاهش چربی زیرپوستی، و ضعف عضلات پروگزیمال است.^{۴۴} افراد مبتلا به MEN2B ممکن است به علت وجود نوروماهای مخاطی در سطح قدامی - پشتی زبان، کام و یا حلق و چهره مشخص، در دوران نوزادی یا اوایل کودکی تشخیص داده شوند.^{۵۴}

در حدود ۴۰ درصد افراد مبتلا دارای گانگلیونوروماهای منتشر دستگاه گوارش هستند که منجر به مگاکولون، یبوست، و حتی اسهال می‌گردد.^{۳۹، ۴۴} وجود نوروماها در ناحیه پلک‌ها می‌تواند منجر به ضخیم شدن و برگشتن لب‌های پلک فوقانی گردد (شکل ۲).^{۴۴} در مطالعه‌ای، براکهورف^{vi} و همکارانش گریه بدون اشک را جزو علائم نشانگان MEN2B گزارش نمودند که جزو نشانه‌های نادر است و تنها در ۱۰-۵ درصد بیماران مشاهده می‌شود.^{۳۹} اگر افراد مبتلا به نشانگان MEN2B در طی سال نخست زندگی تحت عمل جراحی تیروئیدکتومی پیش‌گیرانه قرار نگیرند، به احتمال زیاد سرطان مدولاری تیروئید مهاجم و زودرس گریبان‌گیر آن‌ها خواهد شد.^{۴۴} بیماران اغلب سابقه خانوادگی

i - MEN2B; OMIM#162300

ii - Wagenmann

iii - Froboese

iv - Williams

v - Pollock

vi - Brauckhoff

• پروتوآنکوژن RETⁱ

جایگاه کروموزومی ژن RET در سال ۱۹۸۵ توسط تاکاهاشیⁱⁱ در ناحیه کروموزومی 10q11.2 شناسایی گردید.^{۵۹،۶۰} این ژن توانایی تبدیل رده سلولی 3T3 به سلول‌های سرطانی از طریق بازآرایی کروموزومی را داشت.^{۶۱} دو سال پس از شناسایی جایگاه کروموزومی ژن RET، به دنبال انجام مطالعات پیوستگی ژنتیکی مشخص شد که ژن مسئول ایجاد فنوتایپ‌های MEN2 نیز در ناحیه کروموزومی 10q11.2 قرار دارد.^{۶۰،۶۲،۶۳} سپس در سال‌های ۱۹۹۳^{۶۴،۶۵} و ۱۹۹۴^{۶۶-۶۸} مشخص شد که جهش‌های افزایش عملکرد پروتوآنکوژن RET و در نتیجه فعالیت دایم این پروتئین منجر به نشانگان MEN2 می‌گردد. پروتوآنکوژن RET، گیرنده تیروزین کیناز غشایی را رمز می‌کند.^{۶۹} پروموتور غنی از GC (گوانین - سایتوزین) این ژن درون اگزون یک قرار گرفته است. علاوه بر اگزون شماره یک این ژن که دارای بخش‌های غیررمزگردان است، اگزون‌های چهار، ۱۹، ۲۰ و ۲۱ نیز دارای نواحی ترجمه‌نشده هستند. رونوشت mRNA اصلی آن ۵۶۵۹ نوکلئوتید است و ایزوفرم اصلی آن دارای ۱۱۱۴ اسیدآمینو است.^{۷۰،۷۱}

• ساختار گیرنده پروتئین کیناز RET

پروتئین RET در دوران جنینی در ناحیه لوله گوارش اولیه، سلول‌های عصب سمپاتیکی و حسی، سلول‌های عصبی دوپامینی و نورآدرنالینی و نورون‌های منتقل‌کننده پیام عصبی به سیستم اعصاب مرکزی بیان می‌شود. همچنین این پروتئین در جوانه دستگاه ادراری در دوران جنینی و نیز در حین تکامل کلیه و در حین تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی بیان می‌گردد.^{۷۲-۷۵} این گیرنده تیروزین کیناز در رشد، تمایز، و مهاجرت سلول‌های بافت‌های در حال تکامل، تکامل سیستم عصبی، بقای نرون‌ها و تمایز آن‌ها نقش دارد.^{۷۲،۷۶}

ژن رمز کننده RET دارای سه نسخه مختلف mRNA است که ایزوفرم‌های متنوعی را رمزدهی می‌نماید. اگزون شماره ۱۹ این ژن در هر سه نسخه mRNA وجود دارد، در حالی که پیرایش متفاوت در انتهای 3 اگزون ۱۹ منجر به پیرایش اگزون ۲۰ و یا ۲۱ می‌گردد.^{۷۷-۷۹} این نسخه‌ها ایزوفرم‌های RET9، RET51 و RET43 را رمزدهی می‌کنند که به ترتیب دارای ۹، ۵۱ و ۴۳ اسیدآمینو در انتهای

کربوکسیل خود می‌باشند. ایزوفرم‌های RET9 و RET51 اصلی تلقی شده و به ترتیب دارای ۱۰۷۲ و ۱۱۱۴ اسیدآمینو هستند. این دو ایزوفرم در بیشتر بافت‌ها با عملکردی متفاوت به صورت هم‌زمان بیان می‌شوند.^{۷۹-۷۷، ۷۱، ۷۰} آخرین اسیدآمینو مشترک هر سه ایزوفرم، تیروزین ۱۰۶۲ است که طی فعال شدن RET فسفوریله می‌گردد. بنابراین پیرایش متفاوت منجر به قرارگیری اسیدآمینوهای متفاوتی در سه ایزوفرم RET و در نتیجه تفاوت توانایی اتصال آن‌ها می‌گردد.^{۸۰،۸۱}

گیرنده پروتئین تیروزین کیناز RET دارای سه بخش، شامل قطعات خارج سلولی، داخل غشایی (هیدروفوب) و داخل سلولی (تیروزین کیناز)، است. قطعه خارج سلولی شامل نواحی متصل شونده به لیگاند (N-terminal)، چهار ناحیه شبه کادهرین برای پایدار دایمرهای RET (Ca²⁺ dependent cell adhesion) و ناحیه غنی از سیستئین برای اتصال لیگاند (نزدیک به غشای سلول) است (شکل ۳).^{۸۱،۸۲}

ناحیه داخل غشایی، هم‌نشینی مونومرهای RET را از طریق پیوندهای غیر کووالان گیرنده-گیرنده تضمین می‌کند. ناحیه داخل سلولی دارای دو بخش تیروزین کینازی است که در طی فعال شدن گیرنده RET فسفوریله می‌شوند. بخش تیروزین کینازی به ترتیب دارای ۱۶ و ۱۸ اسیدآمینو تیروزین در RET9 و RET51 است. توالی‌های تیروزین ۱۰۱۹ و ۱۰۵۱ تنها در RET51 وجود دارند.^{۸۳-۸۵}

• عملکرد گیرنده پروتئین کیناز RET

لیگاندهای گیرنده پروتئین کیناز RET شامل عوامل رشد مانند لیگاندهای خانواده عامل نوروتروفیک مشتق از سلول گلیال (GFLs): GDNF Family Ligands: Glial cell Derived Neurotrophic Factor (GDNF)، persephin (PSPN)، artemin (ARTN) و neurturin (NRTN) است.^{۸۶}

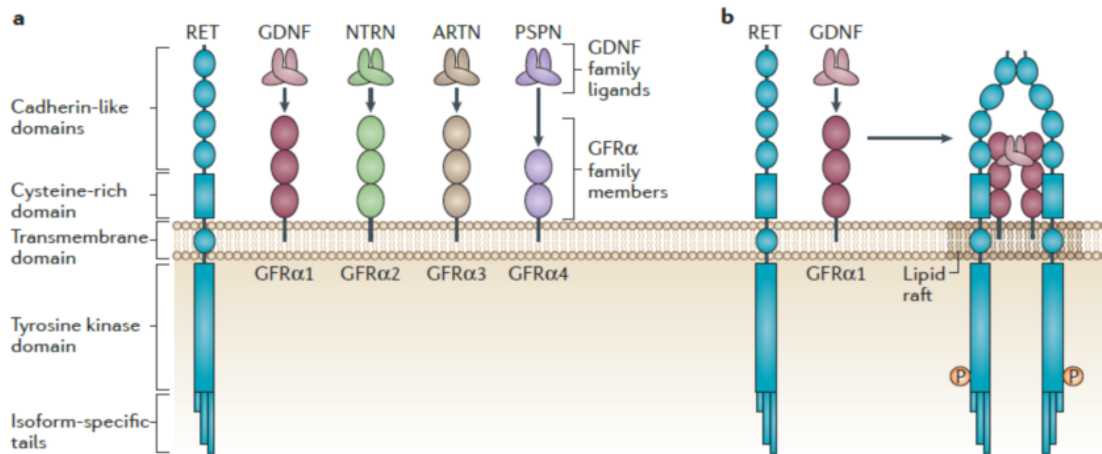
بدون حضور لیگاند، گیرنده RET به صورت مونومر، غیرفسفوریله و غیرفعال است. اتصال لیگاند با واسطه گیرنده‌های GFR α به بخش خارج سلولی گیرنده، منجر به القای دایمر شدن و اتوفسفریلاسیون گیرنده می‌شود. در نتیجه، مکان‌های اتصال داخل سلولی برای پروتئین‌های انتقال پیام و فعال شدن مسیرهای پایین دست آن ایجاد می‌گردد.^{۸۲،۸۵،۸۶} به عبارت دیگر، با اتصال GFLs به گیرنده RET، بخش داخل سیتوپلاسمی آن اتوفسفریله می‌شود که برای فعال شدن مسیرهای پایین دست ضروری است (شکل ۳). در حقیقت، فسفوریله شدن توالی‌های تیروزین ۹۸۱،

i - OMIM#164761

ii - Takahashi

۱۰۱۵، ۱۰۶۲ و ۱۰۹۶ برای آغاز فرایندهای انتقال پیام داخل سلولی مهم است. مسیرهای پایین دست RET شامل RAF-

MEK-ERK و PI3K-AKT و mTOR هستند.^{۸۷،۸۸}



شکل ۳- A: گیرنده تیروزین کیناز RET. این گیرنده دارای یک ناحیه خارج سلولی بزرگ با نواحی شبه کادهرین و ناحیه غنی از سیستئین، بخش داخل غشایی و بخش تیروزین کینازی درون سلول است. گیرنده‌های RET دارای چهار لیگاند GDNF، NTRN، ARTN، PSPN و هستند که از طریق کمک گیرنده خانواده GFRα به گیرنده متصل می‌شوند؛ B: با اتصال لیگاند و کمک گیرنده GFRα به گیرنده RET، کمپلکس هتروداایمر شکل می‌گیرد و سپس اتوفسفوریله شدن زیرواحدهای تیروزین در ناحیه درون سلولی و به دنبال آن فعال شدن مسیرهای پایین دست انتقال پیام رخ می‌دهد.^{۸۵}

• جهش‌های پروتوآنکوژن RET

جهش در کدون‌های غنی از سیستئین بخش خارج سلولی (کدون‌های ۶۰۹، ۶۱۱ و ۶۱۸ و ۶۲۰ اگزون ۱۰؛ کدون ۶۳۰ و ۶۳۴ اگزون ۱۱) منجر به اتوفسفوریلاسیون توالی‌های تیروزین در گیرنده RET در غیاب لیگاند می‌شود. جهش در ناحیه تیروزین کینازی داخل سلول (مانند کدون ۹۱۸ اگزون ۱۶) بر دایمر شدن گیرنده اثری ندارد، بلکه باعث فعال شدن پایدار مسیرهای انتقال پیام داخل سلولی و تبدیل سلول به حالت سرطانی می‌گردد (شکل ۴).^{۲۸،۹۸}

بررسی‌های پروتوآنکوژن RET در بیماران و خانواده‌های مبتلا به MEN2 و FMTC نشان داده است که بسیاری از آنها دارای جهش‌های ژرم لاین در این ژن هستند.^{۹۹} در حقیقت این جهش‌ها در ۹۸ درصد موارد MEN2A، ۹۵ درصد موارد MEN2B، و ۸۸ درصد موارد FMTC مشاهده شده است.^{۲۸} در حدود ۳۰-۵۰ درصد تومورهای sMTC نیز دارای جهش‌های سوماتیک پروتوآنکوژن RET هستند.^{۲۱،۱۰۰} جهش‌های این ژن در بیماران sMTC با افزایش خطر متاستاز به غدد لنفاوی، متاستازهای دوردست و کاهش بقای بیماران همراه است.^{۱۸،۲۳}

جهش‌های منجر به افزایش فعالیت پروتوآنکوژن RET که در نشانگان MEN2A دیده می‌شود، به طور عمده در اگزون‌های ۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱۴ و ۱۵ رخ می‌دهد. شایع‌ترین این

پروتوآنکوژن RET جزو نخستین گیرنده‌های تیروزین کینازی بود که نقش آن در نئوپلاسم‌ها مشخص گردید.^{۲۸،۶۵،۸۹} فعالیت انکوژنی این گیرنده سلولی، دو مسیر PI3K-AKT-mTOR و RAS/RAF/MAPK را فعال می‌کند.^{۸۸،۹۰،۹۱} جهش‌های نقطه‌ای، با افزایش و یا از دست دادن عملکرد در این ژن، با پیامدهای بیماری‌زایی مرتبط بوده است.^{۹۰، ۹۲-۹۵} جهش‌های بسیاری با توارث اتوزوم غالب منجر به فعالیت دائم این ملکول می‌شوند.^{۲۸} جهش‌های افزایش عملکرد RET در پاتوژنز چندین نوع سرطان تیروئید دخیل است.^{۹۲} جهش‌های نقطه‌ای به صورت سوماتیک و یا ژرم لاین می‌توانند رخ دهد.^{۹۵،۹۶} همان‌گونه که پیش‌تر اشاره شد، جهش‌های ژرم لاین RET با فنوتایپ‌های FMTC، MEN2A و MEN2B مرتبط هستند،^{۸۹،۹۷} در حالی‌که MTC تک گیر با جهش‌های سوماتیک این ژن در ارتباط است.^{۹۶} ارتباط قوی ژنوتایپ - فنوتایپ بین جهش‌های خاص در کدون‌های مختلف این ژن و تظاهرات بالینی متفاوت وجود دارد.^{۲۹،۳۸،۵۶} (جدول ۱).

جهش‌های RET بیشتر از نوع جهش بدمعنی و در اگزون‌های ۱۰ و ۱۱ (کد کننده بخشی از ناحیه خارج سلولی گیرنده RET)، و اگزون‌های ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶ (کد کننده بخشی از ناحیه داخل سلولی گیرنده RET) هستند.^{۹۳}

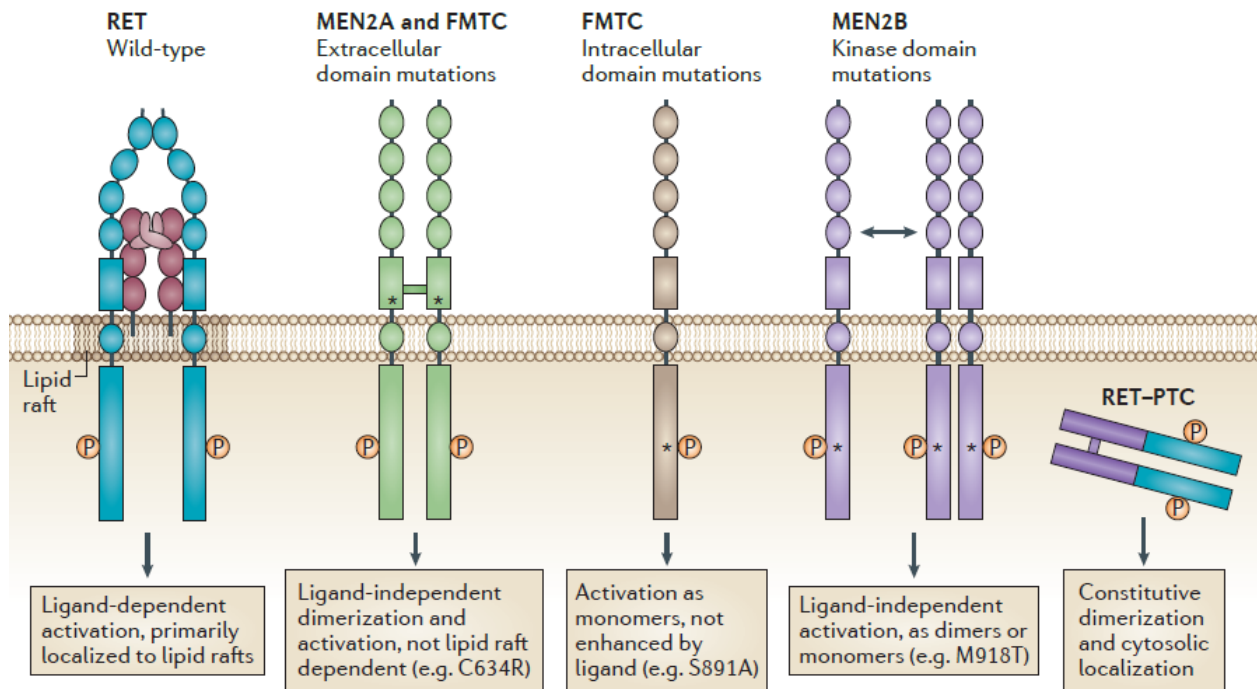
جهش‌ها در کدون‌های سیستئینی بسیار حفاظت شده ۶۰۹، درصد، و کدون ۶۳۰ و ۶۳۴ (اگزون ۱۱) با میزان تقریبی ۶۱۱ و ۶۱۸ و ۶۲۰ (اگزون ۱۰) با میزان تقریبی ۱۰-۱۵
 ۸۵-۸۰ درصد هستند. ۴۷،۶۵،۸۵۱،۰۱۰،۰۲

جدول ۱- ارتباط ژنوتایپ- فنوتایپ سطوح مختلف خطر جهش‌های پروتئین‌کودن RET بر اساس ATA. ۲۵

ناحیه پروتئین	اگزون	ژنوتایپ	فنوتایپ	طبقه بندی بر اساس ATA
ناحیه شبه کادهرین خارج سلولی	۵	G321R	FMTC/MEN2A	A
ناحیه غنی از سیستئین خارج سلولی	۸	C515S	FMTC/MEN2A	A
		532duplication	FMTC	A
		529/531	FMTC	A
		G533C	FMTC/MEN2A	A
		532duplication	FMTC	A
		531/9bp duplication	FMTC/MEN2A	A
		R600Q	FMTC/MEN2A	A
	۱۰	K603E	FMTC/MEN2A	A
		K603Q	FMTC	A
		Y606C	FMTC	A
		C609F/R/G/S/Y	FMTC/MEN2A/HSCR	B
		C611R/G/F/S/W/Y	FMTC/MEN2A/HSCR	B
		C618R/G/F/S/Y	FMTC/MEN2A/HSCR	B
		C620R/G/F/S/W/Y	FMTC/MEN2A/ HSCR	B
	۱۱	C630R/F/S/Y	FMTC/MEN2A	B
		D631Y	FMTC	B
		633	MEN2A	B
		633/9bpduplication	FMTC/MEN2A	B
		634/12bp duplication	FMTC/MEN2A	B
		C634R	MEN2A/CLA	C
		C634G/F/S/W/Y	FMTC/MEN2A/CLA	C
		634/12bp duplication	MEN2A	B
		635/insertion ELCTR/T636P	FMTC/MEN2A	A
		637	MEN2A	?
		S649L	FMTC/MEN2A	A
		K666E	FMTC/MEN2A	A
ناحیه تیروزین کیناز داخل سلولی	۱۳	E768D	FMTC/MEN2A/ sMTC	A
		N777S	FMTC	A
		778	FMTC	A
		N776S	FMTC/MEN2A	A
		781	FMTC	?
		L790F	FMTC/MEN2A	A
		Y791F	FMTC/MEN2A	A
		V804L	FMTC/MEN2A	A
	۱۴	V804M	FMTC/MEN2A/sMTC	A
		V804M+E805K	MEN2B	D
		V804M+Y806C	MEN2B	D
		G819K	FMTC	A
		R833C	FMTC/ MEN2B	A
		R844Q	FMTC/ MEN2B	A
		V804M/E805K	MEN 2B	D
		V804M/Y806C	MEN 2B	D
		804/844	FMTC	?
		852	FMTC	?
	۱۵	R866W	FMTC/MEN2A	A
		876	FMTC	?
		A883F	MEN2B/ sMTC	D
		S891A	FMTC/MEN2A/	A
		R912P	FMTC/MEN2A/ MEN2B	A
	۱۶	M918T	sMTC/MEN2B	D
		920	sMTC/MEN2B	D
		922	sMTC/MEN2B	D
	۱۳/۱۴	V804M+V778I	FMTC/MEN2A	B
	۱۴/۱۵	V804M+S904C	MEN2B/ MEN2A	D
	۱۳/۱۶	768/919	FMTC	?
	۱۴/۱۵	V804M/S904C	MEN 2B	D

فئوکروموسایتوما نیز با جهش در کدون‌های ۶۳۴ و ۹۱۸ در تقریباً ۵۰ درصد بیماران، در کدون‌های ۶۰۹، ۶۱۱ و ۶۱۸ و ۶۲۰ در حدود ۱۷ درصد بیماران، و همچنین در کدون‌های ۷۹۱ اگزون ۱۳ و ۸۰۴ اگزون ۱۴، و کدون ۵۳۳ اگزون ۸ همراه است. ۴۷،۶۵،۸۹۱،۰۵۱،۰۶

هایپرپاراتیروئیدیسم در نشانگان MEN2A ارتباط قوی با جهش در کدون ۶۳۴ و به ویژه جهش C634R دارد. ۴۷،۹۴،۹۷۱،۰۳ جهش‌های ناشایع دیگری نیز در بخش تیروزین کینازی گیرنده RET در نشانگان MEN2A گزارش شده است. ۱۰،۱۱،۰۳،۱۰،۴



شکل ۴- سازوکارهای ملکولی جهش‌های RET. فعال شدن گیرنده طبیعی RET به اتصال کمپلکس لیگاند و کمک گیرنده نیاز دارد (چپ). در اشکال جهش یافته این گیرنده (با ستاره مشخص شده‌اند)، اگر جهش در ناحیه خارج سلولی گیرنده رخ داده باشد، منجر به دایمر شدن پایدار آن بدون نیاز به لیگاند و کمک گیرنده می‌گردد. اگر جهش در ناحیه داخل سلولی گیرنده ایجاد شود، بدون نیاز به لیگاند و دایمر شدن، گیرنده فسفوریله می‌گردد. در جهش‌هایی که در MEN2B رخ می‌دهد، ساختار گیرنده تغییر یافته، اتصال ATP به آن افزایش می‌یابد و منجر به پایداری پیوسته بخش کینازی گیرنده می‌شود. بازآرایی RET/PTC نیز باعث فعال شدن مداوم پروتئین‌های سیتوزولی می‌شود. این پروتئین‌ها قادر به فعال نمودن بخش کینازی گیرنده RET هستند.^{۸۵}

کودکان و تومورهای ناشی از اثر اشعه، مشاهده می‌گردند.^{۱۱۱} از دست رفتن عملکرد پروتوآنکوژن RET نیز با نوعی بیماری ژنتیکی مرتبط با تکامل ستیغ عصبی به نام بیماری هیرشپرونک (Hirschprung) در ارتباط است. این بیماری ناشی از عدم حضور سیستم عصبی گوارشی در ناحیه hindgut و گانگلیون‌های عصبی در کولون است.^{۱۱۲} جهش‌هایی که منجر به از بین رفتن عملکرد RET می‌شوند، در بیماران مبتلا به ناهنجاری‌های مادرزادی کلیه و دستگاه ادراری نیز مشاهده شده‌اند (CAKUT).^{۸۵}

• آزمایش ژنتیکی غربالگری RET

مدیریت بهینه به منظور درمان بیماران مبتلا به نوع ارثی سرطان مدولاری تیروئید، برداشتن کامل غده تیروئید پیش از بدخیم شدن و گسترش بدخیمی به خارج از غده تیروئید است. اندازه‌گیری سطح کلسیتونین همیشه پیشگویی‌کننده این مسئله نیست. اگر مقدور باشد، انجام تیروئیدکتومی باید پیش

در سرطان مدولاری تیروئید خانوادگی جهش‌ها به طور عمده در کدون‌های سیستئینی اگزون‌های ۱۰ و ۱۱ پروتوآنکوژن RET رخ می‌دهند. به عنوان مثال، جهش C634Y تقریباً همیشه با سرطان مدولاری تیروئید خانوادگی همراه است. با این وجود، جهش‌های غیرسیستئینی نیز در کدون‌های ۵۳۲، ۵۳۳ (اگزون ۸)، ۷۶۸، ۷۹۰، ۷۹۱ (اگزون ۱۳)، ۸۰۴، ۸۴۴ (اگزون ۱۴)، ۸۹۱ (اگزون ۱۵)، و ۹۱۲ (اگزون ۱۶) در این بیماری شناسایی شده‌اند.^{۴۷،۶۴،۱۰۷}

همان‌گونه که پیش‌تر اشاره شد، بدخیم‌ترین نوع بیماری در ارتباط با جهش‌های پروتوآنکوژن RET در نشانگان MEN2B مشاهده شده است. حدود ۹۵ درصد جهش‌های مرتبط با آن در کدون ۹۱۸ (Met918Thr) (اگزون ۱۶) و ۵ درصد نیز در کدون ۸۸۳ (A883F) (اگزون ۱۵) این ژن رخ می‌دهند.^{۲۱،۲۹،۶۸،۱۰۰،۱۰۸} در موارد نادری هتروزیگوت‌های مرکب مانند V804M/Y806C برای این بیماری مشاهده شده‌اند.^{۱۰۹،۱۱۰}

علاوه بر این، بازآرایی‌های RET/PTC نیز با سرطان پاپیلاری تیروئید در ارتباط هستند و به طور عمده در

آنان توصیه می‌نماید.^{۲۵} همچنین، این آزمایش برای بیماران مبتلا به هیرشپرونک، و آمیلییدوز لیکن جلدی (مرتبط با MEN2A) و گانگلیونوروماتوزیس روده (مرتبط با MEN2B) توصیه می‌گردد. هرچند انجام آزمایش RET در موارد sMTC به طور معمول درخواست نمی‌شود، اما ممکن است ارزشمند باشد.^{۲۵} توصیه برای زمان‌بندی انجام تیروئیدکتومی پیش‌گیرانه و یا انجام جراحی گسترده‌تر بر اساس الگوی ارتباط ژنوتایپ-فنوتایپ و طبقه‌بندی نمودن جهش‌ها به سطوح مختلف C، B، A، D است (جدول ۱ و ۲).^{۲۵}

جدول ۲- زمان انجام آزمایش RET، سونوگرافی، اندازه‌گیری کلسیتونین و تیروئیدکتومی بر اساس معیار خطر ATA.^{۲۵}

سطح خطر ATA	زمان انجام آزمایش RET	زمان درخواست سونوگرافی	زمان انجام آزمایش کلسیتونین	زمان انجام تیروئیدکتومی پیش‌گیرانه
D	هرچه سریع‌تر در نخستین سال زندگی	هرچه در نخستین سال زندگی	شش ماهگی (اگر هنوز جراحی انجام نشده است)	هرچه سریع‌تر در نخستین سال زندگی
C	>۳ سالگی	<۳ سالگی	<۳ سالگی	پیش از پنج سالگی
B	>۳ سالگی	<۳ سالگی	<۳ سالگی	پیش از پنج سالگی، اما اگر سطح کلسیتونین پایه و القا شده و سونوگرافی سالیانه ناحیه گردن طبیعی و سابقه خانوادگی سرطان مدولاری تیروئید کم تهاجم وجود داشته باشد، جراحی می‌تواند به پس از پنج سالگی موکول شود.
A	>۳ سالگی	<۳ سالگی	<۳ سالگی	اگر سطح کلسیتونین پایه و القا شده و سونوگرافی سالیانه ناحیه گردن طبیعی و سابقه خانوادگی سرطان مدولاری تیروئید کم تهاجم وجود داشته باشد، جراحی می‌تواند به پس از پنج سالگی موکول شود.

برای آن دسته از اعضای خانواده بیماران که آزمایش RET مثبت دارند، اما علائم بالینی بیماری را نشان نمی‌دهند، انجام تیروئیدکتومی پیش‌گیرانه دارای بهترین شانس درمان است.

بر اساس طبقه‌بندی انجمن تیروئید آمریکا، آن دسته از جهش‌هایی که در گروه D قرار می‌گیرند، دارای بیشترین خطر ایجاد سرطان مدولاری تیروئید مهاجم هستند. این جهش‌ها شامل کدون ۹۱۸ (اگزون ۱۶) و کدون ۸۸۳ (اگزون ۱۵) هستند که با پایین‌ترین سن شروع بیماری و بیشترین خطر متاستاز و مرگ و میر همراه هستند. در این افراد، تیروئیدکتومی باید پیش از یک سالگی و یا شش ماهگی (حتی در دوران نوزادی) انجام گیرد، چرا که سرطان مدولاری تیروئید اغلب در زمان تولد نیز وجود دارد. در زمان انجام

از ایجاد تظاهرات بیوشیمیایی بیماری و در جهت کاهش خطر گسترش تومور به خارج از تیروئید صورت گیرد. در غیر این صورت، احتمال باقی ماندن تومور و عود بیماری وجود خواهد داشت.

آزمایش ژنتیکی برای غربالگری جهش‌های ژرم لاین RET دارای حساسیت و ویژگی بسیار بالایی به منظور شناسایی افراد در معرض خطر ابتلا به MTC، کمک‌کننده برای تشخیص وراثتی یا تک‌گیر بودن بیماری، و همچنین تعیین پیش‌آگهی بیماری است. استفاده از این آزمایش ژنتیکی، در کنار سایر بررسی‌های بالینی و آزمایشگاهی، به شناسایی سریع و قطعی افراد ناقل و همچنین مدیریت بالینی بیماران مبتلا کمک به سزایی کرده است. هنگامی که فردی واجد جهش در اگزون‌های اصلی RET و فاقد علائم بیماری است، باید به دقت مورد مشاوره قرار گیرد.^{۱۱۳} تشخیص قطعی MEN2 در موارد sMTC و یا فنوکروموسایتوما در بیمارانی که سابقه خانوادگی روشنی از ابتلا به بیماری ندارند، به شناسایی جهش‌های ژرم لاین RET بستگی دارد. مشاوره ژنتیکی مناسب باید قبل و پس از انجام این آزمایش انجام گیرد که شامل ارزیابی اطلاعات درباره عواقب نتیجه مثبت آزمایش برای بیمار و خانواده وی، مفهوم نتیجه "منفی" آزمایش، احتمال منفی کاذب بودن و وجود خطا در آزمایش، در دسترس بودن تشخیص پیش از تولد و پیامدهای روحی - روانی آگاهی از نتیجه آزمایش برای بیمار و سایر اعضای خانواده وی است.^{۱۱۴}

امروزه، آزمایش ژنتیکی غربالگری جهش‌های ژرم لاین RET از طریق تعیین توالی مستقیم DNA ژنومی انجام می‌گیرد. بیشتر آزمایشگاه‌ها شش کدون سیستئینی ۶۰۹، ۶۱۱، ۶۱۸، ۶۲۰، ۶۳۰ و ۶۳۴ را بررسی می‌نمایند. برخی آزمایشگاه‌ها نیز علاوه بر این، اگزون‌های ۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۱۶ و گاه اگزون ۸ را نیز مورد بررسی قرار می‌دهند.^۱ هرچند که امروزه تعیین توالی DNA برای کل ناحیه رمزکننده ژن RET نیز قابل انجام است.^{۲۸}

از آنجایی که نوع ارثی سرطان مدولاری تیروئید در آن دسته از خویشاوندانی که دارای آزمایش غربالگری RET مثبت هستند، از طریق تیروئیدکتومی قابل پیش‌گیری است، انجمن تیروئید آمریکا (ATA) انجام این آزمایش ژنتیکی را برای تمامی بیماران مبتلا و حداقل اعضای درجه یک خانواده

تیروئید مرتبط با این دسته از جهش‌ها معمولاً در سن بالاتری بروز می‌کند و میزان تهاجم و مرگ و میر کمتری خواهند داشت. میزان نفوذ این جهش‌ها نیز کمتر است. انجام آزمایش RET و غربالگری سرطان مدولاری تیروئید در این افراد در محدوده سنی ۳-۵ سال توصیه می‌شود و انجام تیروئیدکتومی بر اساس عدم وجود شواهد سونوگرافی تیروئید به نفع سرطان مدولاری تیروئید، سطح سرمی کلسیتونین، و عدم وجود سرطان مدولاری تیروئید مهاجم در سایر اعضای خانواده، می‌تواند به تعویق افتد.^{۱۱۴}

به طور کلی، در ارزیابی هر بیمار مبتلا به سرطان تیروئید ارثی ملاحظات مهم تشخیصی وجود دارد. در مورد سرطان مدولاری تیروئید، جهش‌های ژرم لاین پرتوآنکوژن RET مرتبط با اختلالات ویژه غدد درون‌ریز است که وجود هر یک از این جهش‌ها در فرد بیمار و یا خانواده وی، با توجه به ارتباط ژنوتایپ - فنوتایپ آن، راهکارهای درمانی خاص خود را دارا خواهد بود. به محض تشخیص بیماری در یک خانواده، موارد ارثی نیز باید شناسایی شوند و بر اساس تشخیص ژنتیکی و بالینی، درمان بیماران هرچه سریع‌تر انجام شود. طبقه‌بندی نوع کدون‌های جهش یافته پرتوآنکوژن RET زمان‌بندی انجام تیروئیدکتومی پیش‌گیرانه را مشخص می‌نماید. با توجه به آنکه دانش اساس ژنتیکی این بیماری رو به افزایش است، رویکردهای بهینه تشخیصی و درمانی آن نیز رو به بهبود خواهد بود.

تیروئیدکتومی، غدد پاراتیروئید باید حفظ شوند، چرا که نبود آن‌ها برای نوزاد بسیار خطرناک است.^{۱۲۵}

جهش‌های گروه C نسبت به جهش‌های گروه D اندکی خطر کمتری دارند، اما افراد هم‌چنان در معرض خطر بالایی از ابتلا به سرطان مدولاری تیروئید مهاجم هستند که شامل جهش‌های مختلف کدون ۶۳۴ (اگزون ۱۱) است. تیروئیدکتومی در این افراد قبل از پنج سالگی باید انجام گیرد.^{۲۵}

آن دسته از جهش‌هایی که در گروه B قرار دارند، دارای خطر کمتری برای ایجاد سرطان مدولاری تیروئید مهاجم هستند و شامل جهش در کدون‌های ۶۰۹، ۶۱۱، ۶۱۸ و ۶۲۰ (اگزون ۱۰) و کدون ۶۳۰ (اگزون ۱۱) می‌باشند. در این گروه از بیماران نیز بهتر است تیروئیدکتومی پیش از پنج سالگی انجام گیرد، اما ممکن است تصمیم برای انجام جراحی با تاخیر نیز باشد.^{۲۵} این دسته از جهش‌ها، خطر تهاجمی بودن سرطان مدولاری تیروئید را اندکی افزایش می‌دهند.^{۱۱۴}

جهش‌های گروه A دارای کمترین میزان خطر هستند و بیمارانی که در این گروه قرار می‌گیرند در مقایسه با گروه B و در محدوده سنی یکسان، سطح کلسیتونین کمتر، مرحله پایین‌تر تومور، و احتمال بهبودی بیشتری با تیروئیدکتومی پیش‌گیرانه را خواهند داشت. این جهش‌ها به طور عمده مربوط به کدون‌های ۷۶۸، ۷۹۰ و ۷۹۱ (اگزون ۱۳)، ۸۰۴ (اگزون ۱۴) و ۸۹۱ (اگزون ۱۵) هستند. اگر معیارهای سخت‌گیرانه‌ای در نظر گرفته شود، جراحی معمولاً پس از پنج سالگی انجام خواهد گرفت.^{۲۵، ۱۱۵} سرطان مدولاری

References

- Rowland KJ, Moley JF. Hereditary thyroid cancer syndromes and genetic testing. *J Surg Oncol* 2015; 111: 51-60.
- Davidson HC, Park BJ, Johnson JT. Papillary thyroid cancer: controversies in the management of neck metastasis. *Laryngoscope* 2008; 118: 2161-5.
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29.
- Smyth P, Cloughley G, Clarke C, Smith D, Burbridge E. Iodine and differentiated thyroid cancer: pathogenetic and therapeutic implications. *Hormones (Athens, Greece)* 2009; 8: 192-8.
- Dal Maso L, Bosetti C, La Vecchia C, Franceschi S. Risk factors for thyroid cancer: an epidemiological review focused on nutritional factors. *Cancer Causes Control* 2009; 20: 75-86.
- Azizi F, Hedayati M, Rahmani M, Sheikholeslam R, Allahverdian S, Salarkia N. Reappraisal of the risk of iodine-induced hyperthyroidism: an epidemiological population survey. *J Endocrinol Invest* 2005; 28: 23-9.
- Choi WJ, Kim J. Dietary factors and the risk of thyroid cancer: a review. *Clin Nutr Res* 2014; 3: 75-88.
- Cheng SP, Yin PH, Hsu YC, Chang YC, Huang SY, Lee JJ, et al. Leptin enhances migration of human papillary thyroid cancer cells through the PI3K/AKT and MEK/ERK signaling pathways. *Oncol Rep* 2011; 26: 1265-71.
- Mitsiades N, Pazaitou-Panayiotou K, Aronis KN, Moon HS, Chamberland JP, Liu X, et al. Circulating adiponectin is inversely associated with risk of thyroid cancer: in vivo and in vitro studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: E2023-8.
- De Pergola G, Silvestris F. Obesity as a major risk factor for cancer. *J Obes* 2013; 2013: 291546.
- Pazaitou-Panayiotou K, Polyzos SA, Mantzoros CS. Obesity and thyroid cancer: epidemiologic associations and underlying mechanisms. *Obes Rev* 2013; 14: 1006-22.
- Marcello MA, Cunha LL, Batista FA, Ward LS. Obesity and thyroid cancer. *Endocr Related Cancer* 2014; 21: T255-71.
- Hedayati M, Yaghmaei P, Pooyamanesh Z, Zarif Yeganeh M, Hoghoghi Rad L. Leptin: a correlated Peptide

- to papillary thyroid carcinoma? *J Thyroid Res* 2011; 2011: 832163.
14. Randolph GW, Maniar D. Medullary carcinoma of the thyroid. *Cancer Control* 2000; 7: 253-61.
 15. AJ J. Ein fall von metastasierenden amyloidtumoren (lymphosarcoma). *Virchows Arch* 1906; 185: 251-67.
 16. Hazard JB, Hawk WA, Crile G, Jr. Medullary (solid) carcinoma of the thyroid; a clinicopathologic entity. *J Clin Endocrinol Metab* 1959; 19: 152-61.
 17. 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.
 18. Strosberg JR. Update on the management of unusual neuroendocrine tumors: pheochromocytoma and paraganglioma, medullary thyroid cancer and adrenocortical carcinoma. *Seminars in Oncology* 2013; 40: 120-33.
 19. Leboulleux S, Baudin E, Travagli JP, Schlumberger M. Medullary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 61: 299-310.
 20. Shlomo Melmed KSP, P. Reed Larsen, Henry M. Kronenberg. WILLIAMS Textbook of Endocrinology 2011; chapter 41, Multiple Endocrine Neoplasia: 1728-67.
 21. Agrawal N, Jiao Y, Sausen M, Leary R, Bettegowda C, Roberts NJ, et al. Exomic sequencing of medullary thyroid cancer reveals dominant and mutually exclusive oncogenic mutations in RET and RAS. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: E364-9.
 22. Roman S, Lin R, Sosa JA. Prognosis of medullary thyroid carcinoma: demographic, clinical, and pathologic predictors of survival in 1252 cases. *Cancer* 2006; 107: 2134-42.
 23. Quayle FJ, Moley JF. Medullary thyroid carcinoma: management of lymph node metastases. *Curr Treat Options Oncol* 2005; 6: 347-54.
 24. Scollo C, Baudin E, Travagli JP, Caillou B, Bellon N, Leboulleux S, et al. Rationale for central and bilateral lymph node dissection in sporadic and hereditary medullary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2070-5.
 25. Kloos RT, Eng C, Evans DB, Francis GL, Gagel RF, Gharib H, et al. Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association. *Thyroid* 2009; 19: 565-612.
 26. Campbell MJ, Seib CD, Gosnell J. Vandetanib and the management of advanced medullary thyroid cancer. *Curr Opin Oncol* 2013; 25: 39-43.
 27. Moley JF, DeBenedetti MK. Patterns of nodal metastases in palpable medullary thyroid carcinoma: recommendations for extent of node dissection. *Ann Surg* 1999; 229: 880-7; discussion 7-8.
 28. Figlioli G, Landi S, Romei C, Elisei R, Gemignani F. Medullary thyroid carcinoma (MTC) and RET proto-oncogene: mutation spectrum in the familial cases and a meta-analysis of studies on the sporadic form. *Mutat Res* 2013; 752: 36-44.
 29. Brauckhoff M, Machens A, Hess S, Lorenz K, Gimm O, Brauckhoff K, et al. Premonitory symptoms preceding metastatic medullary thyroid cancer in MEN 2B: An exploratory analysis. *Surgery* 2008; 144: 1044-51.
 30. LiVolsi VA. C cell hyperplasia/neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 39-41.
 31. Brandi ML, Gagel RF, Angeli A, Bilezikian JP, Beck-Peccoz P, Bordi C, et al. Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5658-71.
 32. Hedayati M, Daneshpour M, Delbarpour Ahmadi A, Azizi F. Frequent germline mutations in RET proto-oncogene exon 10 and 11 in hereditary medullary thyroid carcinom of Iranian population. *Kowsar Medical Journal* 2010; 1: 17-21.
 33. Sheikholeslami S, Hoghooghi Rad L, Ghadaksaz Golab H, Hedayati M. Haplotype Frequency of G691S/S904S in the RET proto-oncogene in Patients with Medullary Thyroid Carcinoma. *Iranian Journal of public health* 2014; 43: 235-40.
 34. Costante G, Meringolo D, Durante C, Bianchi D, Nocera M, Tumino S, et al. Predictive value of serum calcitonin levels for preoperative diagnosis of medullary thyroid carcinoma in a cohort of 5817 consecutive patients with thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 450-5.
 35. 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.
 36. Öberg K. The genetics of neuroendocrine tumors. *Semin Oncol* 2013; 40: 37-44.
 37. Sipple JH. The association of pheochromocytoma with carcinoma of the thyroid gland. *The American Journal of Medicine* 1961; 31: 163-6.
 38. Cushma Jr P. Familial endocrine tumors: Report of two unrelated kindred affected with pheochromocytomas, one also with multiple thyroid carcinomas. *The American Journal of Medicine* 1962; 32: 352-60.
 39. Raue F, Frank-Raue K. Genotype-phenotype correlation in multiple endocrine neoplasia type 2. *Clinics (Sao Paulo)* 2012; 67 Suppl 1: S69-75.
 40. Cohen MS, Moley JF. Surgical treatment of medullary thyroid carcinoma. *J Intern Med* 2003; 253: 616-26.
 41. Pacak K, Ilias I, Adams KT, Eisenhofer G. Biochemical diagnosis, localization and management of pheochromocytoma: focus on multiple endocrine neoplasia type 2 in relation to other hereditary syndromes and sporadic forms of the tumour. *J Intern Med* 2005; 257: 60-8.
 42. Donovan DT, Levy ML, Furst EJ, Alford BR, Wheeler T, Tschen JA, et al. Familial cutaneous lichen amyloidosis in association with multiple endocrine neoplasia type 2A: a new variant. *Henry Ford Hosp Med J* 1989; 37: 147-50.
 43. Gagel RF, Levy ML, Donovan DT, Alford BR, Wheeler T, Tschen JA. Multiple endocrine neoplasia type 2a associated with cutaneous lichen amyloidosis. *Ann Intern Med* 1989; 111: 802-6.
 44. Moline J, Eng C. Multiple endocrine neoplasia type 2: an overview. *Genet Med* 2011; 13: 755-64.
 45. Panza E, Knowles CH, Graziano C, Thapar N, Burns AJ, Seri M, et al. Genetics of human enteric neuropathies. *Prog Neurobiol* 2012; 96: 176-89.
 46. Ghazi AA, Tabibi A, Sarvghadi F, Abdi H, Hedayati M, Pourafkari M, et al. Run Yu Multiple Endocrine Neoplasia Type 2A in an Iranian Family: Clinical and Genetic Studies. *Archives of Iranian Medicine. Archives of Iranian Medicine* 2014; 17: 378-82.
 47. 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.
 48. Machens A, Gimm O, Hinze R, Hoppner 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.

49. Fishbein L, Nathanson KL. Pheochromocytoma and paraganglioma: understanding the complexities of the genetic background. *Cancer Genet* 2012; 205: 1-11.
50. A W. Multiple neurome des Auges und der Zunge. *Ber Dtsch Ophthal* 1922; 43: 282-5.
51. C F. Das aus markhaltigen nervenfascern bestehende gangliezellenlose echte neurom in rankenformzugleich ein beitrag zu den nervosen Geschwulsten der zunge und des augenlides. *Virchows Arch Pathol Anat* 1923; 240: 312-27.
52. Williams ED. Histogenesis of medullary carcinoma of the thyroid. *J Clin Pathol* 1966; 19: 114-8.
53. 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.
54. Wray CJ, Rich TA, Waguespack SG, Lee JE, Perrier ND, Evans DB. Failure to recognize multiple endocrine neoplasia 2B: more common than we think? *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 293-301.
55. Majidi M, Haghpanah V, Hedayati M, Khashayar P, Mohajeri-Tehrani MR, Larijani B. A family presenting with multiple endocrine neoplasia type 2B: A case report. *J Med Case Rep* 2011; 5: 587.
56. Raue F, Frank-Raue K. Genotype-phenotype relationship in multiple endocrine neoplasia type 2. Implications for clinical management. *Hormones (Athens, Greece)* 2009; 8: 23-8.
57. Moley JF, Debenedetti MK, Dilley WG, Tisell LE, Wells SA. Surgical management of patients with persistent or recurrent medullary thyroid cancer. *J Intern Med* 1998; 243: 521-6.
58. Lin CC. RET mutations and medullary thyroid cancer. *J Formos Med Assoc* 2011; 110: 731; author reply 2.
59. Takahashi M, Ritz J, Cooper GM. Activation of a novel human transforming gene, ret, by DNA rearrangement. *Cell* 1985; 42: 581-8.
60. 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.
61. Fusco A, Grieco M, Santoro M, Berlingieri MT, Pilotti S, Pierotti MA, et al. A new oncogene in human thyroid papillary carcinomas and their lymph-nodal metastases. *Nature* 1987; 328: 170-2.
62. Gardner E, Papi L, Easton DF, Cummings T, Jackson CE, Kaplan M, et al. Genetic linkage studies map the multiple endocrine neoplasia type 2 loci to a small interval on chromosome 10q11.2. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 241-6.
63. Mole SE, Mulligan LM, Healey CS, Ponder BA, Tunnacliffe A. Localisation of the gene for multiple endocrine neoplasia type 2A to a 480 kb region in chromosome band 10q11.2. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 247-52.
64. Mulligan LM, Eng C, Healey CS, Clayton D, Kwok JB, Gardner E, et al. Specific mutations of the RET proto-oncogene are related to disease phenotype in MEN 2A and FMTC. *Nat Genet* 1994; 6: 70-4.
65. Donis-Keller H, Dou S, Chi D, Carlson KM, Toshima 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.
66. Eng C, Smith DP, Mulligan LM, Nagai MA, Healey CS, Ponder MA, et al. Point mutation within the tyrosine kinase domain of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2B and related sporadic tumours. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 237-41.
67. 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 protooncogene is associated with multiple endocrine neoplasia type 2B. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 1579-83.
68. Hofstra RM, 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.
69. Ceccherini I, Bocciardi R, Luo Y, Pasini B, Hofstra R, Takahashi M, et al. Exon structure and flanking intronic sequences of the human RET proto-oncogene. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 196: 1288-95.
70. Available from: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>.
71. Available from: URL: http://asia.ensembl.org/Homo_sapiens.
72. Pachnis V, Mankoo B, Costantini F. Expression of the c-ret proto-oncogene during mouse embryogenesis. *Development* 1993; 119: 1005-17.
73. Avantaggiato V, Dathan NA, Grieco M, Fabien N, Lazzaro D, Fusco A, et al. Developmental expression of the RET protooncogene. *Cell Growth Differ* 1994; 5: 305-11.
74. Meng X, Lindahl M, Hyvonen ME, Parvinen M, de Rooij DG, Hess MW, et al. Regulation of cell fate decision of undifferentiated spermatogonia by GDNF. *Science* 2000; 287: 1489-93.
75. Ivanchuk SM, Myers SM, Mulligan LM. Expression of RET 3' splicing variants during human kidney development. *Oncogene* 1998; 16: 991-6.
76. Edery P, Eng C, Munnich A, Lyonnet S. RET in human development and oncogenesis. *Bioessays* 1997; 19: 389-95.
77. Takahashi M, Asai N, Iwashita T, Isomura T, Miyazaki K, Matsuyama M. Characterization of the ret proto-oncogene products expressed in mouse L cells. *Oncogene* 1993; 8: 2925-9.
78. Myers SM, Eng C, Ponder BA, Mulligan LM. Characterization of RET proto-oncogene 3' splicing variants and polyadenylation sites: a novel C-terminus for RET. *Oncogene* 1995; 11: 2039-45.
79. Hickey JG, Myers SM, Tian X, Zhu SJ, JL VS, Andrew SD, et al. RET-mediated gene expression pattern is affected by isoform but not oncogenic mutation. *Genes Chromosomes Cancer* 2009; 48: 429-40.
80. Lorenz MJ, Gish GD, Houghton C, Stonehouse TJ, Pawson T, Ponder BA, et al. RET alternate splicing influences the interaction of activated RET with the SH2 and PTB domains of Shc, and the SH2 domain of Grb2. *Oncogene* 1997; 14: 763-71.
81. Arighi E, Borrello MG, Sariola H. RET tyrosine kinase signaling in development and cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16: 441-67.
82. Arighi E, Alberti L, Torriti F, Ghizzoni S, Rizzetti MG, Pelicci G, et al. Identification of Shc docking site on Ret tyrosine kinase. *Oncogene* 1997; 14: 773-82.
83. Ibanez CF. Structure and physiology of the RET receptor tyrosine kinase. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013; 5: pii: a009134.
84. 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.
85. Mulligan LM. RET revisited: expanding the oncogenic portfolio. *Nature Rev Cancer* 2014; 14: 173-86.

86. Wang X. Structural studies of GDNF family ligands with their receptors-Insights into ligand recognition and activation of receptor tyrosine kinase RET. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1834: 2205-12.
87. Airaksinen MS, Saarma M. The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3: 383-94.
88. Takahashi M. The GDNF/RET signaling pathway and human diseases. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001; 12: 361-73.
89. Mulligan LM, Kwok JB, 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.
90. Santoro M, Melillo RM, Carlomagno F, Vecchio G, Fusco A. Minireview: RET: normal and abnormal functions. *Endocrinology* 2004; 145: 5448-51.
91. 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.
92. Salehian B, Samoa R. RET Gene Abnormalities and Thyroid Disease: Who Should be Screened and When. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2013; 5 Suppl 1: S70-8.
93. Hedayati M, Zarif Yeganeh M, Sheikhol Eslami S, Rezghi Barez S, Hoghooghi Rad L, Azizi F. Predominant RET Germline Mutations in Exons 10, 11, and 16 in Iranian Patients with Hereditary Medullary Thyroid Carcinoma. *J Thyroid Res* 2011; 2011: 264248.
94. Alvandi E, Akrami SM, Chiani M, Hedayati M, Nayer BN, Tehrani MR, et al. Molecular analysis of the RET proto-oncogene key exons in patients with medullary thyroid carcinoma: a comprehensive study of the Iranian population. *Thyroid* 2011; 21: 373-82.
95. Boikos SA, Stratakis CA. Molecular mechanisms of medullary thyroid carcinoma: current approaches in diagnosis and treatment. *Histol Histopathol* 2008; 23: 109-16.
96. Romei C, Elisei R, Pinchera A, Ceccherini I, Molinaro E, Mancusi F, et al. Somatic mutations of the ret proto-oncogene 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.
97. Hedayati M, Nabipour I, Rezaei-Ghaleh N, Azizi F. Germline RET mutations in exons 10 and 11: an Iranian survey of 57 medullary thyroid carcinoma cases. *Med J Malaysia* 2006; 61: 564-9.
98. Machens A, Niccoli-Sire P, Hoegel J, Frank-Raue K, van Vroonhoven TJ, Roehner HD, et al. Early malignant progression of hereditary medullary thyroid cancer. *N Engl J Med* 2003; 349: 1517-25.
99. Frank-Raue K, Rondot S, Schulze E, Raue F. Change in the spectrum of RET mutations diagnosed between 1994 and 2006. *Clin Lab* 2007; 53: 273-82.
100. Elisei R, Cosci B, Romei C, Bottici V, Renzini G, Molinaro E, et al. Prognostic significance of somatic RET oncogene mutations in sporadic medullary thyroid cancer: a 10-year follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 682-7.
101. Marx SJ, Stratakis CA. Multiple endocrine neoplasia-introduction. *J Intern Med* 2005; 257: 2-5.
102. Colombo-Benkmann M, Li Z, Riemann B, Hengst K, Herbst H, Keuser R, et al. Characterization of the RET protooncogene transmembrane domain mutation S649L associated with nonaggressive medullary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol* 2008; 158: 811-6.
103. Masbi MH, Mohammadiasl J, Galehdari H, Ahmadzadeh A, Tabatabaiefar MA, Golchin N, et al. Characterization of wild-type and mutated RET proto-oncogene associated with familial medullary thyroid cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 2027-33.
104. Hoff AO, Hoff PM. Medullary Thyroid Carcinoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2007; 21: 475-88.
105. Machens A, Brauckhoff M, Holzhausen HJ, Thanh PN, Lehnert H, Dralle H. Codon-specific development of pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 3999-4003.
106. Quayle FJ, Fialkowski EA, Benveniste R, Moley JF. Pheochromocytoma penetrance varies by RET mutation in MEN 2A. *Surgery* 2007; 142: 800-5.e1.
107. Kouvaraki MA, Shapiro SE, Perrier ND, Cote GJ, Gagel RF, Hoff AO, et al. RET proto-oncogene: a review and update of genotype-phenotype correlations in hereditary medullary thyroid cancer and associated endocrine tumors. *Thyroid* 2005; 15: 531-44.
108. 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 MEN2B mutation. *Oncogene* 1996; 12: 481-7.
109. Gimm O, Marsh DJ, Andrew SD, Frilling A, Dahia PL, 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.
110. 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.
111. Tallini G, Asa SL. RET oncogene activation in papillary thyroid carcinoma. *Adv Anat Pathol* 2001; 8: 345-54.
112. Edery P, Lyonnet S, Mulligan LM, Pelet A, Dow E, Abel L, et al. Mutations of the RET proto-oncogene in Hirschsprung's disease. *Nature* 1994; 367: 378-80.
113. Sippel RS, Kunnimalaiyaan M, Chen H. Current management of medullary thyroid cancer. *Oncologist* 2008; 13: 539-47.
114. Roy E, Weiss SR. Molecular Genetics of Thyroid Cancer: Pathogenetic Significance and Clinical Applications (chapter11). *GENETIC DIAGNOSIS OF ENDOCRINE DISORDERS* 2010; 1: 117-38.
115. Frank-Raue K, Buhr H, Dralle H, Klar E, Senninger N, Weber T, et al. Long-term outcome in 46 gene carriers of hereditary medullary thyroid carcinoma after prophylactic thyroidectomy: impact of individual RET genotype. *Eur J Endocrinol* 2006; 155: 229-36.