

Genetika nádorů štítné žlázy a jejich molekulárně cílená léčba

Běla Bendlová, Šárka Dvořáková, Vlasta Sýkorová, Tereza Hálková, Eliška Václavíková
Endokrinologický ústav, Praha

Nádory štítné žlázy jsou nejčastějšími neoplazmiemi endokrinního systému. Nejvíce zastoupeným typem nádorů štítné žlázy je papilární karcinom, u kterého jsou nalézány bodové mutace genů *BRAF* a *RAS* a *RET/PTC* přeskupení. Nejčastějšími molekulárně-genetickými změnami u folikulárního karcinomu jsou mutace *RAS* a *PAX8-PPARγ* přeskupení. Bodové mutace v *RET* proto-onkogenu jsou klíčové pro vývoj medulárního karcinomu štítné žlázy, kde se u familiární formy vyskytují zárodečné mutace a u sporadické formy mutace somatické. U nejagresivnějšího anaplastického karcinomu štítné žlázy jsou detekovány mutace *BRAF* a *RAS* a dále mutace v genech *TP53* a *CTNNB1*. Díky zjištění genetických příčin vzniku nádorů štítné žlázy začaly být tyto geny a jejich mutace zkoumány jako nadějně terapeutické cíle. Mnoho látek ukázalo protinádorový efekt v preklinických studiích. Nejslibnějšími tyrozinkinázovými inhibitory jsou Vandetanib, Sunitinib a Sorafenib, které jsou zkoumány na tkáňových kulturách, zvířecích modelech a v klinických studiích u metastatických stadií karcinomů štítné žlázy.

Klíčová slova: *RET*, *BRAF*, nádory štítné žlázy, mutace, inhibitory.

Genetics of Thyroid Cancer and its Molecular Target Therapy

Thyroid cancer is the most frequent neoplasm of endocrine system. The major type of thyroid tumor is papillary thyroid carcinoma, in which point mutations in the *BRAF* and *RAS* genes and *RET/PTC* rearrangements are found. The most frequent molecular genetic changes in follicular thyroid carcinoma are mutations in the *RAS* genes and *PAX8-PPARγ* rearrangements. Point mutations in the *RET* proto-oncogene are crucial for development of medullary thyroid carcinoma, where germ-line and somatic mutations occur in familial and sporadic form, respectively. Mutations in the *BRAF* and *RAS* genes and moreover mutations in the *TP53* and *CTNNB1* genes are also detected in the most aggressive anaplastic thyroid carcinoma. Thanks to the finding of genetic causes of thyroid cancer, these genes and their mutations begin to be investigated as promising therapeutic targets. Many compounds show anti-tumor effect in preclinical studies. The most promising tyrosine kinase inhibitors are Vandetanib, Sunitinib and Sorafenib, which are investigated in thyroid tumor cell-lines, animal models and clinical studies on patients with metastatic stage of thyroid cancer.

Key words: *RET*, *BRAF*, thyroid cancer, mutation, inhibitors.

Onkologie 2011; 5(6): 325–328

Nádory štítné žlázy jsou nejčastějšími neoplazmiemi endokrinního systému. Nejvíce zastoupeny jsou epitelové nádory, které zahrnují benigní folikulární adenomy (FTA) a maligní karcinomy. Maligní karcinomy se rozlišují podle svého původu a stupně diferenciaci. Mezi karcinomy vznikající z folikulárního epitelu patří dobře diferencované karcinomy – DTC (papilární – PTC a folikulární – FTC), málo diferencované karcinomy (poorly differentiated thyroid carcinoma – PDTC) a velmi agresivní nediferencované karcinomy (anaplastické – ATC). Od parafolikulárních buněk (C-buněk produkujících kalcitonin) je odvozen medulární karcinom štítné žlázy (MTC).

K základním diagnostickým prostředkům patří sonografie štítné žlázy, cytologické vyhodnocení z biopsie tenkou jehlou a histopatologické zhodnocení tkáně štítné žlázy po jejím chirurgickém odstranění. K určení prognózy slouží několik systémů kritérií, nejpoužívanější je UICC/TNM systém, který na základě věku pacienta, velikosti primárního nádoru, extratyroidálního rozšíření a přítomnosti lymfatických či distálních metastáz rozděluje pacienty do čtyř

stadií (1). Mezi negativní klinické prognostické faktory patří vyšší věk v době diagnózy (nad 45 let), některé histologické varianty (např. varianta z vysokých buněk, solidní varianta), mužské pohlaví, nádor větší než 4 cm, extratyroidální invaze, přítomnost metastáz v lymfatických uzlinách, vzdálených metastáz a netotální chirurgický výkon (2).

V současné době je věnována velká pozornost genetickým markerům, které mohou být využity nejen k diagnostice onemocnění, ale

také k přesnějšímu určení prognózy, predikci reakce na léčbu či cílené genové terapii. Mnohé látky ukázaly v preklinických studiích protinádorový efekt a nyní jsou testovány v klinických studiích.

Hlavní genetické změny u nádorů štítné žlázy

Hlavní genetické markery a jejich záchyt u karcinomů štítné žlázy přehledně shrnuje tabulka 1.

Tabulka 1. Genetické markery a jejich záchyt u karcinomů štítné žlázy

Typ nádoru	Hlavní geny	Prevalence (%)
PTC	<i>BRAF</i>	29–69
	<i>RET/PTC</i>	20 spojené s ozářením 50–80
	<i>RAS</i>	10
FTC	<i>RAS</i>	45
	<i>PAX8-PPARγ</i>	25–60
MTC	<i>RET</i> (zárodečné mutace)	95
	<i>RET</i> (somatické mutace)	50
ATC	<i>TP53</i>	60–70
	beta-katenin (<i>CTNNB1</i>)	65
	<i>RAS</i>	50–60
	<i>BRAF</i>	10–35

1. Papilární karcinom štítné žlázy (PTC)

Papilární karcinom je nejčastějším nádorovým onemocněním štítné žlázy, jehož incidence se neustále zvyšuje. Hlavními genetickými změnami jsou bodové mutace genů *BRAF* a *RAS* a *RET/PTC* přeskupení, jejichž výskyt se u stejného nádoru překrývá jen vzácně (3).

Mutace *BRAF*

Protein *BRAF* je součástí MAPK (mitogen-activated protein kinase) signální dráhy, která hraje významnou roli v buněčné proliferaci, diferenciaci a programované buněčné smrti. V 15. exonu *BRAF* genu se nachází nejčastější mutace papilárního karcinomu – substituce valinu za glutamát v kodónu 600 – V600E (4). Byla popsána souvislost této mutace s vyšší agresivitou nádoru (především s extratyroidální invazí), metastázami v lymfatických uzlinách či distálními metastázami, horší prognózou, vyšším TNM stadiem, častějšími recidivami a úmrtím asociovaným s nádorem (4). Projevuje se i u obecně nízkorizikových T1 pacientů, u kterých silně asociuje s extratyroidální invazí a metastázami do lymfatických uzlin (4). Vyšší agresivita *BRAF* pozitivních nádorů může být způsobena jejich tendencí dediferencovat, a to potvrzuje přítomnost *BRAF* mutace i u níže diferencovaných a anaplastických karcinomů (3). *BRAF* mutace je navíc spojena s nižší expresí genů pro *NIS* (natrium-iodide symporter), *TPO* (thyroid peroxidase) a tyreoglobulinu, což při terapii radiojodem způsobuje zhoršený příjem radiojodu (4). Expresní studie ukazují, že *BRAF* pozitivní a *BRAF* negativní tumory se vzájemně tak odlišují, že *BRAF* pozitivní PTC by mohly tvořit samostatnou molekulární variantu PTC (2).

RET/PTC přeskupení

RET/PTC přeskupení vzniká fúzí tyrozinkinázové domény *RET* proto-onkogenu s jiným běžně exprimovaným genem, který poskytuje promotor a dimerizační funkci. Tím dochází k expresi tyrozinkinázové domény *RET* genu, který za normálních okolností ve folikulárních buňkách štítné žlázy přepisován není. Fúzní forma proteinu konstitutivně aktivuje MAPK signální dráhu a dochází tak k abnormální proliferaci buněk. Nejčastější je u dětí a mladistvých (40–70 %) a u pacientů s radiační historií (50–80 %) (3). Velmi senzitivními metodami bylo nalezeno i u folikulárních adenomů a jiných benigních onemocnění, kde se ovšem jednalo o tzv. neklonální výskyt, tzn. přítomnost jen v malé populaci buněk (3). *RET/PTC* je častěji spojeno s klasickou papilární variantou. Korelace *RET/PTC* s prognózou je zatím nejasná, některé studie spojují tuto alteraci s příznivějším fenotypem PTC, s nižším TNM stadiem onemoc-

nění, ale s častými metastázami do lymfatických uzlin (5). *RET/PTC* pozitivní karcinomy mají malou pravděpodobnost dediferenciace, ovšem některé studie uvádějí asociaci *RET/PTC3* s dediferenciací a agresivnějším fenotypem (3). Detekce *RET/PTC* přeskupení je silným indikátorem PTC a může pomoci v molekulární diagnostice u biopsií tenkou jehlou (FNAB – fine-needle aspiration biopsy) i u nejistých cytologických nálezů.

Mutace *RAS* genů

V genech *H-RAS*, *K-RAS* a *N-RAS* se ve 12., 13. a 61. kodónu nacházejí bodové mutace. Mutace v GTP vazebné doméně (12. a 13. kodón) způsobují zvýšenou afinitu ke GTP, zatímco mutace v GTPázové doméně (61. kodón) brání hydrolyze GTP. Oba typy mutací způsobují stabilizaci aktivní formy proteinu a tím neustálou stimulaci signálních drah vedoucích k tumorigenezi. U PTC jsou *RAS* mutace detekovány především v opouzdřených folikulárních variantách PTC, tumorech s relativně příznivou prognózou, na druhou stranu některé studie spojují *RAS* mutace u PTC s častějším výskytem vzdálených metastáz, především do kostí a častějšími recidivami (6). Přítomnost *RAS* mutací se folikulární varianta PTC blíží spíše folikulárním nádorům, kromě mutací *RAS* s nimi sdílí ještě *PAX8/PPARγ* přeskupení (7). Také morfologicky se jim podobá svým typickým folikulárním růstem, ovšem pro své jaderné znaky je zařazována k papilárním karcinomům. Folikulární varianta PTC tak leží na pomezí mezi papilárním a folikulárním karcinomem jak po stránce morfologické, tak genetické (8). Mutace *RAS* jsou po mutaci *BRAF* nejčastějšími mutacemi detekovanými v biopsiích štítné žlázy s 74–88 % pravděpodobností malignity (3).

2. Folikulární nádory štítné žlázy (FTC)

Nejčastějšími genetickými změnami u folikulárního karcinomu, druhého nejhojnějšího maligního nádoru štítné žlázy, jsou mutace *RAS* genů a výskyt *PAX8/PPARγ* přeskupení.

Mutace *RAS* genů

Mutace v genech *H-RAS*, *K-RAS* a *N-RAS* se vyskytují u 20–40 % folikulárních adenomů (FTA) a 45 % folikulárních karcinomů (9). Přestože jsou mutace *RAS* přítomné i u FTA, předpokládá se, že *RAS* pozitivní FTA mohou být prekurzorem vzniku folikulárního karcinomu nebo folikulární varianty PTC a mohou dále predisponovat tyto karcinomy k dediferenciaci a transformaci na anaplastický karcinom (ATC) (3). Proto preoperační detekce mutací *RAS* a následné chirurgické odstranění *RAS* pozitivních adenomů může sloužit jako prevence předpokládané progresu (8).

PAX8/PPARγ přeskupení

PAX8/PPARγ vzniká fúzí *PAX8* genu s jednou ze 6 domén *PPARγ* genu. Vyskytuje se u FTC (25–60 %) a v menší míře také u FTA (2–10 %) (10). *PAX8/PPARγ* asociuje s nižším věkem pacientů, menší velikostí nádoru a rozsáhlejší invazí. Folikulární adenomy s *PAX8/PPARγ* mají obvykle silné pouzdro a ukazují imunohistochemický profil charakteristický pro karcinomy, takže by se mohlo jednat o neinvazivní FTC nebo karcinom, jehož invaze byla při histologickém vyšetření přehlédnuta. Samotný nález *PAX8/PPARγ* není dostatečným diagnostickým důkazem malignity, ale může sloužit k důkladnějšímu histologickému vyšetření z důvodu vaskulární či kapsulární invaze (3).

U onkocytárních tumorů se *PAX8/PPARγ* přeskupení stejně jako mutace *RAS* vyskytují v mnohem menší míře než u folikulárních tumorů. Postavení onkocytárních, neboli Hürthleho tumorů je sporné. V současné době se přiřazují jako onkocytární varianta k FTA nebo FTC. Geneticky se ale značně liší. Jsou tu časté bodové mutace a delecce v genech účastnících se mitochondriálního metabolismu. Tyto mutace způsobují značnou proliferaci mitochondrií, která má za následek typický onkocytární vzhled buněk. Mutace v tumor-supresorovém genu *GRIM-19* (*NDUFA13*), který kóduje protein regulující apoptózu a účastní se mitochondriálního metabolismu, byly nalezeny u 10–20 % onkocytárních folikulárních karcinomů a onkocytárních varianty PTC, u jiných tyroidálních tumorů nalezeny nebyly. V mitochondriální DNA byly nalezeny delecce i bodové mutace ovlivňující mitochondriální komplexy. Ovšem jejich role v iniciaci tumoru je zatím nejistá (3).

3. Anaplastický karcinom štítné žlázy (ATC)

Často nalézané dobře diferencované buňky v málo diferencovaných (PDC) a anaplastických karcinomech štítné žlázy naznačují, že tyto tumory nevznikají pouze de novo, ale mohou vznikat také dediferenciací z diferencovaných karcinomů. Přispívá k tomu i skutečnost, že tyto karcinomy mají často genetické změny typické pro diferencované karcinomy – mutace *BRAF* a *RAS*. Vyskytují se ale u nich i další genetické změny, které se pravděpodobně podílejí na iniciaci dediferenciace. Jsou to mutace v genech *TP53*, *CTNNB1* a genech účastnících se PI3K-AKT signální dráhy. Mutace v tumor-supresorovém genu *TP53*, kódujícím protein p53, vedou ke ztrátě jeho funkce. Gen *CTNNB1* kóduje β-katenin, který hraje klíčovou roli ve Wnt signalizaci a je zapojen do buněčné adheze. Alterace v PI3K-AKT signální dráze zahrnují

Tabulka 2. Načasování operace podle zárodečné mutace v RET proto-onkogenu

Konsorcium	Skupina	Kodon	Věk pacienta při profylaktické TTE
Brandi 2001	3. úroveň	883, 918, 922	během 6 měsíců a nejlépe během 1. měsíce života
	2. úroveň	611, 618, 620, 634	do 5 let věku, u kodonu 634 nejlépe do 2 let věku
	1. úroveň	609, 768, 790, 791, 804, 891	nejednotně, do 5–10 let věku nebo až po abnormálním kalcitoninu
	D	918, 883	co nejdříve, do 1 roku věku
	C	634	do 5 let věku
Kloos 2009	B	609, 611, 618, 620, 630, 631	do 5 let věku, ale může být operace odložena při splnění přísných kritérií *
	A	768, 790, 791, 891	může být operace posunuta po 5. roce života při splnění přísných kritérií *

* přísná kritéria – normální bazální a stimulovaný kalcitonin, normální sonografie, méně agresivní MTC rodinná historie a rodinné důvody

mutace v genu *PIK3CA*, kódujícím PI3 kinázu, dále v genech *PTEN* a *AKT1* (2).

4. Medulární karcinom štítné žlázy (MTC)

MTC je vzácný kalcitonin-produkující nádor vycházející z parafolikulárních C-buněk, které pocházejí z neuroektodermu. Zatímco většina pacientů s MTC má sporadickou formu, u 25 % pacientů se vyskytuje forma dědičná, která je klasifikována do tří klinických subtypů – MEN2A a MEN2B (syndrom mnohočetné endokrinní neoplazie) a FMTC (familiární MTC). Genetickou příčinou dědičných forem a poloviny sporadických MTC jsou mutace v RET (REarranged during Transfection) proto-onkogenu (11), který je lokalizován na 10. chromozomu (10q11.2) a má 21 exonů. Kóduje transmembránový tyrozinkinázový receptor s klíčovou úlohou v buněčném růstu, diferenciaci a přežití buněk. Aktivace RETu je velmi přísně regulovaný, tkáňově specifický proces. RET předává signál několika signálními drahám, např. MAPK signální dráze zahajující buněčný cyklus, PI3K/AKT dráze, vedoucí ke zvýšení buněčné motility a přežívání buněk (12).

Nalezení mutace v *RET* genu u pacienta pomůže identifikovat i příbuzné pacienta, kteří mutovanou alelu zdědili a u kterých se s velkou pravděpodobností vyvine MTC. V takovém případě je doporučena profylaktická totální tyroidektomie (TTE). Na základě popsanych genotypově-fenotypických korelací byly mutace rozděleny dle své agresivity do skupin s doporučením, v jakém věku pacienta by měla být provedena profylaktická operace, aby zabránila vzniku onemocnění (tabulka 2) (13, 14). Téměř 90 % mutací v rodinách s MEN2A postihuje kodon 634 (11. exon), zatímco u FMTC jsou mutace více rozmístěné v cysteinově bohaté oblasti (10., 11., 13., 14. exon). Tyto mutace způsobí dimerizaci dvou mutovaných proteinů, a tím dochází ke konstitutivní aktivaci RET protei-

nu bez ohledu na stimulaci ligandem. U MEN2B se většina zárodečných mutací nalézá v kodonu 918 (16. exon), méně pak v 15. exonu v intracelulární tyrozinkinázové doméně RET genu. Tato mutace pravděpodobně mění substrátovou specifitu RET kinázy, způsobující fosforylaci neobvyklých intracelulárních proteinů. U sporadických MTC jsou somatické mutace v RET genu nalézány u 50 % pacientů. Většina z nich postihuje kodon 918 (16. exon) (10).

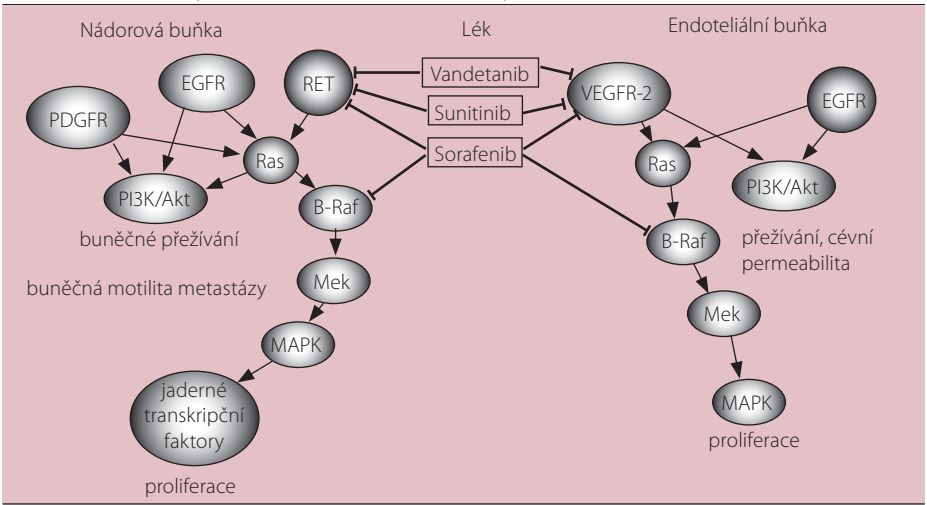
Molekulárně cílená terapie

Tyrozinkinázové geny jsou velmi slibnými terapeutickými cíli. Genová terapie je pro léčbu nádorů štítné žlázy zvláště atraktivní, protože je zde možnost selektivního zacílení terapeutických genů do nádorových buněk aplikací tkáňově specifických promotorů, jako je kalcitoninový promotor nebo tyreoglobulin, čímž dochází ke snížení mimonádorové toxicity. Pro blokaci tyrozinkinázové funkce je k dispozici několik strategií, zahrnujících korektivní genovou terapii (obnovení normální funkce mutovaného genu, nebo alespoň zamezení jeho účinku expresí dominantně-negativní *RET* mutanty), cyto reduk-

tivní genovou terapii (vpravení exogenního „sebevražedného“ genu), imunomodulační genovou terapii (indukce genové exprese, která zvyšuje imunitní odpověď proti nádorové tkáni), monoklonální protilátky (např. proti RET proteinu) nebo využití malých organických molekul inhibitorů tyrozinkináz (TKI) (15). TKI jsou skupinou nadějných protinádorových léčiv, které ovlivňují kinázovou aktivitu vazbou na ATP kapsu kinázy v soutěži s buněčným adenosintrifosfátem (ATP), a tím brání autofosforylaci receptoru, blokují kinázovou aktivitu a signální transdukcí. ATP vazebné místo je velmi konzervativní u všech tyrozinkináz, proto mohou TKI působit i na více než jeden tyrozinkinázový receptor. Vhodná a klinicky více efektivní by mohla být především kombinace TKI, blokující více kináz v různých signálních drahách (obrázek 1). Několik malých molekul tyrozinkinázových inhibitorů bylo úspěšně testováno v preklinických a klinických studiích.

Nejslibnějším kandidátem pro dědičný i sporadický MTC je **Vandetanib** (ZD6474 – anilquinazolin). In vivo studie ukázaly jeho efektivní blokaci fosforylace a signalizace RET proteinu, inhibici nádorového růstu, angiogeneze a zároveň nízkou toxicitu pro okolní tkáň. V in vitro studiích je inhibitorem VEGFR-2 (vascular endothelial growth factor receptor), efektivně blokuje fosforylaci a signalizaci z fúzních proteinů RET/PTC1 a RET/PTC3 a také RET proteinu nesoucího nejčastější mutace typické pro MEN2A a MEN2B. Inhibuje proliferaci nádorových buněk nesoucích většinu známých mutovaných variant RET proteinu, ale není schopen inhibovat aktivaci způsobenou mutací v kodonu 804 ve 14. exonu. Antiangiogenní aktivita je zprostředkována blokováním VEGFR. Výhodou je poměrně malá dávka léku, perorální podávání, mírné vedlejší účinky (vyrážka, zvracení, průjem, hypertenze). U klinických studiích došlo u metastatického MTC po podání Vandetanibu

Obrázek 1. Inhibitory kináz v léčbě nádorů štítné žlázy



ke snížení plazmatického kalcitoninu a zastavení růstu primárního nádoru i metastáz (16).

Sorafenib (BAY43–9006) je multikinázový inhibitor s aktivitou proti BRAF, VEGFR-2, VEGFR-3 a PDGFR (platelet-derived growth factor receptor). Efektivně blokuje normální i mutovanou BRAF kinázovou aktivitu, a tím inhibuje MAPK signální dráhu. Inhibicí receptorů VEGFR-2 a VEGFR-3 blokuje angiogenezi (17). Působí i na RET/PTC proteiny a inhibuje RET fosforylaci dokonce i u MTC s mutací v kodonu 804. Lék byl úspěšný u pacientů s metastatickým PTC, FTC, ATC a MTC. Vzhledem k tomu, že BRAF mutace je nejčastější genetickou změnou u PTC a je spojena s dediferenciací nádoru a rezistencí na terapii radiojodem, je Sorafenib slibným kandidátem. Navíc, v signální kaskádě je BRAF až za RET a RAS proteiny, proto mohou být BRAF inhibitory efektivní i v nádorech s ostatními mutacemi této signální dráhy.

Sunitinib (SU12248) je multikinázový inhibitor působící u experimentálních modelů proti signalizaci z RET/PTC kinázy, nikoliv však jako inhibitor mutace BRAF (18). Působí proti RET, PDGFR, VEGFR a blokuje růst PTC in vitro.

Inhibitory PP1 a PP2 (pyrazolopyrimidine) jsou v preklinických studiích efektivní v blokování RET/PTC signalizace a v zastavení nádorového růstu u experimentálních modelů. Další studované inhibitory jsou **AAL-881**, **LBT-613** (inhibitory RAF dráhy blokující růst PTC s RET/PTC1 a BRAF mutací), **CI-1040** (non-ATP kompetitivní MEK inhibitor přerušující růst v BRAF pozitivních nádorech), **Motesanib** (multikinázový inhibitor působící proti VEGF, PDGFR, RET s antiangiogenní a protinádorovou aktivitou), **CEP-701** a **751** (indolocarbazole – aktivní proti RET a NTRK s cytostatickým vlivem na MTC buňky), **RPI-1** (derivát 2-indolinu), **Axitinib** (selektivní inhibitor VEGFR a PDGFR), XL184 (selektivní inhibitor MET, VEGFR1, VEGFR2, RET, pacienti odpovídají nezávisle na mutaci v RET proteinu), **E7080** (působí na široké spektrum kináz RET, FGFR, EGFR, PDGFR a VEGFR) a **bortezomib** (proteazomový inhibitor, in vitro způsobuje buněčnou smrt u MTC) (19).

Závěr

Zatímco ještě před několika lety byl genetický výzkum diferencovaných karcinomů štítné žlázy čistě vědecký, nyní se získané poznatky začínají aplikovat do klinické praxe. Ovšem přesný algoritmus na využití těchto vědomostí a jejich vliv na další chirurgickou léčbu je stále předmětem mnoha diskuzí. Znalost genetických změn u pacienta není důležitá pouze z diagnostického a prognostického hlediska, ale může být využita i v cílené genové terapii a v individuálním přístupu k pacientovi.

Detekce mutací **BRAF** a **RAS**, **RET/PTC** a **PAX8/PPARγ** přeskupení u nádorů a jejich korelace s agresivitou nádorů by se mohla využít v preoperační molekulární diagnostice z FNAB. Nejvíce prozkoumaná je mutace BRAF, která je 100% specifická pro malignitu, ale jsou zkoumány i další genetické markery. Pravděpodobně se v budoucnosti budou využívat kombinace několika genetických markerů a expresních profilů. Využití těchto genetických markerů tak povede nejenom ke zpřesnění diagnózy, ale také k individuálnějšímu chirurgickému zákroku i postchirurgické léčbě u pacientů s karcinomy štítné žlázy (20).

Oproti tomu analýza **RET** proto-onkogenu se již v diagnostice medulárního karcinomu běžně využívá a slouží nejen pacientům, ale také k indikaci profylaktické operace u pozitivních příbuzných pacienta. Identifikace jednotlivých genetických změn v **RET** proto-onkogenu může u pacientů pomoci odhadnout prognózu onemocnění, popř. zpřesnit diagnózu, ale hlavně indikuje včasný terapeutický zásah u rizikových osob ještě v presymptomatickém stadiu onemocnění. Optimálním přístupem je spojit cílenou léčbu s genotypizací pacientů (identifikace mutací v cílových kinázách) a měření markerů cílené inhibice (fosforylace kináz před a po léčbě v nádorové biopsii). V preklinických studiích je důležité vybrat správný buněčný modelový systém a zvířecí model pro charakterizaci aktivity tyrozinkinázových inhibitorů. Pacienti zahrnutí v klinických studiích musí být genotypizováni pro cílovou složku (např. **RET**, **BRAF**, **RAS** mutace). Cílem do budoucna by bylo vyvinout TKI působící cíleně na několik signálních drah zapojených v karcinogenezi štítné žlázy (21, 22).

Na našem pracovišti provádíme rutinně u pacientů s MTC molekulárně genetický screening 6 rizikových exonů (10., 11., 13., 14., 15. a 16. exon) **RET** proto-onkogenu a u nevyřešených rodin s familiárním MTC všech 21 exonů **RETu**. Při pozitivním záchytu mutace vyšetřujeme cíleně i příbuzné v riziku. Dále u pacientů s nádory štítné žlázy zjišťujeme v nádorové tkáni somatické **BRAF**, **RAS**, **RET** mutace a **RET/PTC** přeskupení. Kromě těchto hlavních genetických změn studujeme i další modifikující genetické faktory.

*Naše práce byla podpořena projektem
IGA MZ ČR NR/9165–3.*

Literatura

1. Patel SG, Shah JP. TNM Staging of Cancers of the Head and Neck: Striving for Uniformity Among Diversity. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 242–258.
2. Handkiewicz-Junak D, Czarniecka A, Jarzab B. Molecular prognostic markers in papillary and follicular thyroid can-

cer: Current status and future directions. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 322: 8–28.

3. Nikiforov YE. Molecular diagnostics of thyroid tumors. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135(5): 569–577.

4. Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications. *Endocr Rev* 2007; 28: 742–762.

5. Zitzelsberger H, Bauer V, Thomas G, Unger K. Molecular rearrangements in papillary thyroid carcinomas. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 301–308.

6. Hara H, Fulton N, Yashiro T, Ito K, DeGroot LJ, Kaplan EL. N-ras mutation: an independent prognostic factor for aggressiveness of papillary thyroid carcinoma. *Surgery* 1994; 116: 1010–1016.

7. Castro P, Rebocho AP, Soares RJ, et al. PAX8-PPARGamma rearrangement is frequently detected in the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 213–220.

8. Giffillan CP. Review of the genetics of thyroid tumours: diagnostic and prognostic implications. *ANZ J Surg* 2010; 80: 33–40.

9. Suarez HG, du Villard JA, Severino M, et al. Presence of mutations in all three ras genes in human thyroid tumors. *Oncogene* 1990; 5: 565–570.

10. Mitsiades N, Fagin JA. Molecular Genetics of Thyroid Cancer: pathogenetic significance and clinical applications. Chapter 11: 117–138. In: Weiss RE, Refetoff S. Genetic diagnosis of endocrine disorders. 1st Ed. London, Elsevier, 2010: 323.

11. Hansford JR, Mulligan LM. Multiple endocrine neoplasia type 2 and RET: from neoplasia to neurogenesis. *J Med Genet* 2000; 37: 817–827.

12. Cakir M, Grossman AB. Medullary thyroid cancer: molecular biology and novel molecular therapies. *Neuroendocrinology* 2009; 90: 323–348.

13. Brandi ML, Gagel RF, Angeli A, et al. Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5658–5671.

14. Kloos RT, Eng C, Evans DB, et al. Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association. *Thyroid* 2009; 19: 565–612.

15. Cerrato A, De Falco V, Santoro M. Molecular genetics of medullary thyroid carcinoma: the quest for novel therapeutic targets. *J Mol Endocrinol* 2009; 43: 143–155.

16. Morabito A, Piccirillo MC, Falasconi F, et al. Vandetanib (ZD6474), a dual inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) and epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinases: current status and future directions. *Oncologist* 2009; 14: 378–390.

17. Duntas LH, Bernardini R. Sorafenib: rays of hope in thyroid cancer. *Thyroid* 2010; 20: 1351–1358.

18. Jeong WJ, MO JH, Park MW, et al. Sunitinib inhibits papillary thyroid carcinoma with RET/PTC rearrangement but not BRAF mutation. *Cancer Biol Ther* 2011; 12: 458–465.

19. Pinchot SN, Kunnimalaiyaan M, Sippel RS, Chen H. Medullary thyroid carcinoma: targeted therapies and future directions. *J Oncol* 2009; 2009: 183031.

20. Wells SA Jr, Santoro M. Targeting the RET pathway in thyroid cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 7119–7123.

21. Santarpia L, Ye L, Gagel RF. Beyond RET: potential therapeutic approaches for advanced and metastatic medullary thyroid carcinoma. *J Intern Med* 2009; 266: 99–113.

22. Verbeek HH, Alves MM, de Groot JW, et al. The effects of four different tyrosine kinase inhibitors on medullary and papillary thyroid cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 991–995.

RNDr. Běla Bendlová, CSc.

Endokrinologický ústav
Národní 8, 116 94 Praha 1
bbendlova@endo.cz