

PLACE DE LA CALCITONINE DANS LE DÉPISTAGE, LE SUIVI ET LE PRONOSTIC DU CANCER MÉDULLAIRE DE LA THYROÏDE.

SIFI K.^(1,2), ABADI N.^(1,2), LEZZAR K.⁽³⁾, HANACHI S.^(1,2), BOUDAUD K.^(2,3), NOURI N.⁽³⁾, BENMOHAMED K.⁽³⁾, BENMEBAREK K.^(1,2), BENLATRECHE C.^(1,2).

1) Laboratoire de Biochimie du CHU Benbadis Constantine.

2) Laboratoire de Recherche de Biologie et de Génétique Moléculaire Faculté de Médecine Université, Constantine 3.

3) Service d'Endocrinologie du CHU Benbadis Constantine

RÉSUMÉ:

La calcitonine sérique (CT) est le marqueur sensible et spécifique des cancers médullaires de la thyroïde CMT sporadiques et héréditaires. C'est un marqueur de diagnostic, de pronostic et de suivi. L'utilisation de normes adultes spécifiques par sexe permet une meilleure interprétation des élévations modérées de la CT. Les tests de stimulation n'apportent que peu d'informations supplémentaires et tendent à être abandonnés. Les objectifs de cette étude étaient de doser la calcitonine chez des patients présentant un CMT probable et d'évaluer l'intérêt de son dosage pour le dépistage, le diagnostic, le suivi et le pronostic du CMT (cas index et apparentés). Notre étude a porté sur 40 patients adressés par le service d'endocrinologie du CHUC, répartis en 27 cas index de CMT et 13 apparentés du 1er degré. La calcitoninémie a été dosée par immunométrie chimiluminescence, avec un domaine de mesure de 2 à 2000 pg/ml, et un seuil basal inférieur à 10 pg/ml. En préopératoire, le dosage de la CT a été réalisé chez 12% des patients seulement avec des taux allant de 10 et 150 pg/ml dans 4% des cas et supérieurs à 1000pg/ml dans 8% des cas. En post opératoire, 68% des cas index ont présenté une calcitoninémie élevée et 32% des patients CMT ont normalisés leur taux de CT. Le dépistage du CMT chez les apparentés des cas index ayant présenté une mutation dans le proto-oncogène RET a montré que 66,7% des apparentés ont présenté des taux de CT élevés allant de 11 à 766 pg/ml avant la chirurgie et 50% ont vu une persistance de leur CT élevée après la chirurgie. Ce dosage est le moyen le plus fiable pour faire le diagnostic préopératoire de CMT. Il doit permettre de proposer une chirurgie d'emblée adéquate. Les résultats de la guérison chirurgicale sont évalués en fonction du dosage postopératoire de la CT. La calcitonine est un marqueur biochimique très sensible. L'absence de son dosage en pré opératoire conduit à un retard diagnostique du CMT et la chirurgie initiale est souvent incomplète.

Mots clés: Calcitonine sérique, CMT sporadique, CMT héréditaire.

ABSTRACT: CALCITONIN PLACE IN SCREENING, MONITORING AND PROGNOSIS OF MEDULLARY THYROID CANCER.

Serum calcitonin (CT) is a sensitive and specific marker of medullary thyroid cancer(MTC). It's a diagnosis , prognosis and monitoring marker. The use of specific adult norms by sex allows a better interpretation of moderate CT elevations. Stimulation tests provide little additional information and tend to be abandoned. The aim of this study is to assay calcitonin in patients with probable MTC and to estimate the importance of its dosage for the screening, the diagnosis, the prognosis and the follow up of the MTC (index cases and their relatives). Our study included 40 patients referred by endocrinology department of CHUC, (27 MTC index cases and 1st degree relatives). Calcitonin was assayed by chemiluminescence immunometry, measuring range of 2-2000pg/ml, lower basal threshold to 10pg/ml. Before surgery, the CT assay was performed in 12% of patients only with rates ranging from 10 to 150pg/ml in 4% of cases and over 1000 pg/ml in 8% of cases. Post operatively, 68% of index cases had elevated calcitonin and 32% of MTC patients have normalized their CT rates. The MTC screening in relatives of index cases who presented a mutation in the RET proto-oncogene showed that 66.7% had high CT rates ranging from 11-766pg/ml before surgery and 50% maintain a high CT after surgery. At least, three facts show that the serum CT is a useful marker of the MTC: The CT is produced almost exclusively by the thyroid, patients with MTC have a high serum concentration of CT, ablating thyroid reduces the serum CT. The principle of the systematic dosage of basal CT in case of palpable thyroid nodule is now accepted by many European authors. This assay is the most reliable way to make the preoperative diagnosis of CMT. It should allow to propose an adequate and immediate surgery. The surgical results are assessed by postoperative CT assay. Calcitonin is a very sensitive biochemical marker. The absence of serum CT before surgery delays the diagnosis of MTC and lead to incomplete initial surgery.

Key words: Serum calcitonin, Sporadic MTC, Inherited MTC.

INTRODUCTION

La calcitonine (CT) sérique est reconnue comme un marqueur biologique des cancers médullaires de la thyroïde sporadiques et héréditaires dès 1968 [1-5]. Son élévation en base associée à son augmentation après injection de pentagastrine (test Pg) est pathognomonique du CMT [6]. Il s'agit d'un marqueur de diagnostic, de pronostic et de suivi.

La CT mature est constituée de 32 acides aminés [7,8]. Sa masse moléculaire est de 3418 Da [9]. Elle est codée par le gène CALC-I qui siège sur le bras court du chromosome 11 [10-13]. Ce gène est constitué de six exons portant l'information génétique pour la synthèse de deux protéines, la préprocalcitonine qui après maturation donne la calcitonine et le calcitonin-gene-related peptide-I (CGRP-I) [14]. Les exons 1,2 et 3 sont communs et nécessaires à la synthèse de la CT ou du CGRP-I. L'exon 4 participe à la synthèse de la CT et les exons 5 et 6 à celle du CGRP-I.

Il se produit au niveau du gène un phénomène d'épissage alternatif conduisant à une expression différentielle tissu-dépendante. C'est ainsi que la CT est préférentiellement produite par les cellules C de la thyroïde, et le CGRP-I est, au contraire, largement présent dans les cellules nerveuses.

Chez l'homme, les plus fortes concentrations de CT sont observées dans les cellules C parafolliculaires de la thyroïde notamment dans la portion centrale de chaque lobe [15,16,17].

Des cellules C peuvent aussi être localisées dans des tissus adjacents comme les parathyroïdes, le thymus, mais aussi dans l'intestin grêle, la vessie, le poumon et le foie.

Les valeurs de la CT mature circulante sont inférieures à 10pg/ml de plasma. Une valeur de CT supérieure à 10pg/ml est en faveur d'une HCC ou d'un CMT au stade de microcarcinome.

De récentes études ont permis de définir des seuils de calcitoninémie qui aident à la décision et évitent des gestes thérapeutiques excessifs. Une concentration de calcitoninémie supérieur à 100ng/l avant l'intervention chirurgicale confirme le diagnostic de CMT avec une valeur prédictive positive de 100%, en l'absence des facteurs traditionnels d'interférence notamment l'insuffisance rénale, la pseudohypoparathyroïdie [18,19,20].

Après une thyroïdectomie totale avec curage ganglionnaire, le niveau de CT doit baisser voire se normaliser. Par conséquent, la mesure de la CT est utilisée non seulement pour le diagnostic du CMT, mais aussi dans le suivi post-opératoire des patients présentant un CMT [19].

Le dosage de calcitonine permet d'affiner les indications opératoires, en particulier dans les formes héréditaires secondaires à certaines mutations du proto-oncogène RET classées comme étant à faible risque de progression (risque A). Dans cette situation, il est possible d'attendre l'élévation de la CT sérique pour programmer la thyroïdectomie totale. Il existe une relation linéaire entre le taux de CT et la masse tumorale [21]. En outre, les protocoles récents utilisant le temps de doublement CT (CDT) et des concentrations sériques de CT dans l'évaluation pronostique du CMT révèlent la nécessité de choix d'une méthode de dosage fiable de la calcitonine sérique [19].

L'utilisation de normes spécifiques par sexe permet une meilleure interprétation des élévations modérées de la CT. Les tests de stimulation n'apportent que peu d'informations supplémentaires et tendent à être abandonnés puisqu'ils n'améliorent pas la spécificité du dosage [20].

Ces tests permettent de confirmer le diagnostic de pathologie des cellules C (CMT ou HCC). Ils sont inutiles si la valeur de CT basale est très élevée (>100pg/ml) avec un diagnostic de CMT fortement probable sur des arguments cliniques ou cyto-

logiques. Le dosage de la calcitonine en base et après un test à la pentagastrine est resté d'une importance primordiale dans le dépistage familial, particulièrement lorsque l'analyse génétique n'est pas informative. Il représente le seul procédé efficace de diagnostic précoce des formes sporadiques [21-25].

Pendant des années, sous l'impulsion du GETC (Groupe d'Etude des Tumeurs à Calcitonine) puis du GTE (Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines), le test à la pentagastrine était la valeur de référence pour le dépistage, témoignant de la guérison des patients atteints de CMT.

Puis jusqu'à l'année 2009, la rupture de sa commercialisation a posé des problèmes dans la prise en charge des malades.

Peut-on se contenter de la valeur basale de la calcitonine pour suivre ou dépister les patients? Les CT basales ne sont pas suffisantes. Une approche à deux niveaux incluant le dosage de la CT stimulée est nécessaire pour améliorer les valeurs prédictives positives pour les taux de base de CT pour le diagnostic préopératoire du CMT.

Il est cependant important de noter que la disponibilité limitée de la pentagastrine ne doit plus être considérée comme un obstacle à cette approche car les études récentes ont d'une façon convaincante démontré que la stimulation de CT peut également être bien réalisée avec des injections de calcium [25-27].

Différents tests de stimulation à partir de sécrétagogues connus de la CT, tels que le calcium et un analogue de la gastrine (pentagastrine, oméprazole), ont été utilisés [28].

Le dosage de la calcitonine est aujourd'hui de plus en plus souvent réalisé pour dépister un cancer médullaire de la thyroïde dans le cadre d'une pathologie nodulaire thyroïdienne [21].

L'objectif de notre travail était de doser la calcitonine chez des patients présentant un CMT probable et d'évaluer l'intérêt de son dosage pour le dépistage, le diagnostic, le suivi et le pronostic du CMT (cas index et apparentés).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel

Nous avons recruté 40 patients appartenant à 25 familles non apparentées répartis comme suit: un cas index de NEM2A, 24 cas index de CMT d'apparence sporadique et 15 apparentés du premier degré des cas index.

2. Méthodes

Le diagnostic du CMT a été confirmé par l'étude anatomopathologique de la pièce opératoire et par la recherche de mutations dans le proto-oncogène RET.

La calcitoninémie a été dosée par immunométrie chimiluminescence avec un domaine de mesure de 2 à 2000 pg/ml et un seuil basal inférieur à 10 pg/ml. Nous avons utilisé des Kit Immulite avec les analyseurs Immulite 1000.

En post opératoire, le premier dosage de la calcitonine est réalisé une semaine après l'intervention. Lorsque le taux de cette dernière revient élevé, d'autres dosages seront envisagés à un mois et à 3 mois après l'intervention.

La recherche de mutations dans le proto-oncogène RET a été réalisée par PCR séquençage.

D'autres examens complémentaires ont été également réalisés pour les patients ayant présenté une mutation dans le proto-oncogène RET, tels que un dosage de la PTH, un bilan phosphocalcique et les métanéphrines urinaires pour le dépistage biologique de l'hyperparathyroïdie (HPT)+et du phéochromocytome (pHEO).

RÉSULTATS

Nous avons recruté 40 patients appartenant à 25 familles non apparentées répartis comme suit (figure 1):

- 1 cas index de NEM2A.
- 24 cas index de CMT d'apparence sporadique.
- 15 apparentés du premier degré des cas index.

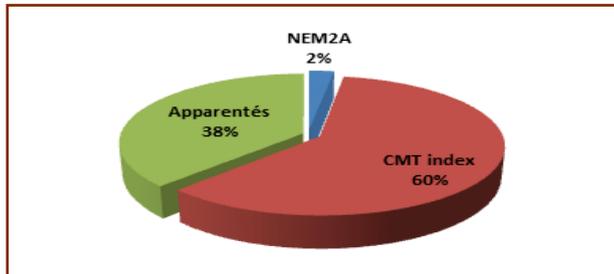


Figure 1. Répartition de la population d'étude.

Nous avons présenté sous forme de tableaux I et II, la répartition de ces échantillons en fonction du sexe, de l'âge de début de la maladie, du diagnostic clinique et du diagnostic génétique.

Tableau I. Répartition des patients en fonction du sexe et de l'âge.

| | cas index | | | Apparentés | | |
|-----------------|-----------|-------|-------|------------|-------|-------|
| | T | F | H | T | F | H |
| Age moyen (ans) | 44.0 | 45.64 | 42.09 | 18.57 | 21.14 | 16.81 |
| Ecart-type | 12.56 | 13.38 | 11.74 | 14.87 | 14.51 | 11.72 |

Tableau II. Répartition des patients par tranches d'âge selon l'âge de début du CMT des cas index.

| Age (années) | Nombre | Fréquence |
|--------------|--------|-----------|
| 20-29 | 3 | 12 % |
| 30-39 | 6 | 24 % |
| 40-49 | 10 | 40 % |
| 50-59 | 3 | 12 % |
| 60 et plus | 3 | 12 % |
| Total | 25 | 100% |

Parmi l'ensemble des cas index (25 malades), 56% (soit 14 sujets) sont de sexe féminin, et 44% (11 sujets) sont de sexe masculin avec un sex ratio F/H de 1.27 (figure 2).

Une prédominance féminine non significative ($p>0.05$) a été observée chez nos cas index CMT.

Les apparentés recrutés sont au nombre de quinze, 40% (6 sujets) sont de sexe masculin et 60% (09 sujets) de sexe féminin (figure 2).

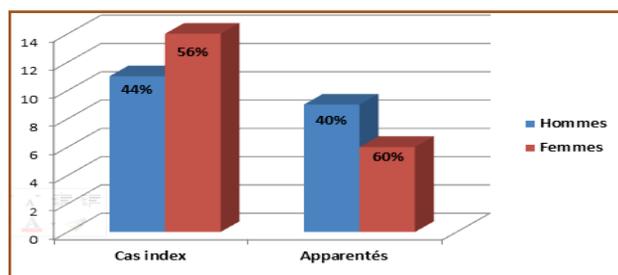


Figure 2. Répartition des cas index et des apparentés selon le sexe.

Une prédominance masculine ($p<0,05$) a été notée chez les apparentés du 1^{er} degré, avec un sex ratio F/H de 0.66.

L'âge moyen de nos patients cas index est de 44.0 ± 12.56 ans avec des extrêmes de 26 et 75 ans. Nous avons constaté que les patients cas index de sexe féminin sont plus âgés que les cas index CMT masculins (tableau I).

L'âge moyen des CMT sporadiques est de: 44.54 ± 12.61 ans.

La répartition des cas index par tranches d'âge selon l'âge de découverte du CMT a montré que la fréquence la plus élevée de survenu du CMT a été observée entre 40-49 ans (tableau II). Le nodule thyroïdien était le motif de consultation le plus fréquent chez nos cas index CMT (62.50%) suivi des adénopathies et du goitre multinodulaire (tableau III).

Tableau III. Circonstances de diagnostic du CMT chez les cas index CMT.

| Circonstances diagnostic | Fréquence |
|--------------------------|-----------|
| Nodule thyroïdien | 62,50% |
| Adénopathies | 20,99% |
| Goitre multinodulaire | 12,51% |
| HTA maligne | 4% |

Ces différents motifs de consultation peuvent s'associer à d'autres syndromes ou signes cliniques. L'association la plus fréquente que nous avons rencontrée est le nodule thyroïdien associé à une diarrhée (Tableau IV).

Dans 12% des cas, le CMT est associé à une diarrhée motrice et dans 8% des cas les circonstances diagnostiques sont représentées par une HTA+Notalgia+Diarrhée motrice et le syndrome de flush (tableau IV).

Tableau IV. Autres circonstances diagnostiques associées.

| Circonstances diagnostic | Fréquence |
|--------------------------------------|-----------|
| Diarrhée motrice + nodule thyroïdien | 12% |
| Notalgia + Diarrhée motrice + HTA | 4% |
| Le syndrome de flush | 4% |

Selon le phénotype clinique 96% de nos patients ont présenté un CMT d'apparence sporadique et seulement 4% ont présenté une NEM2A (PHEO+CMT) (tableau V).

Tableau V. Répartition des CMT entre sporadiques et NEM2.

| Pathologie | Nombre | Fréquence |
|-----------------------------|--------|-----------|
| CMT d'apparence sporadiques | 24 | 96% |
| NEM2 A | 1 | 4% |
| Total | 25 | 100% |

Suite à la découverte d'une mutation chez le cas index d'une famille, ses apparentés ont été pris en charge immédiatement.

Le criblage génétique a été offert à tous les apparentés de 1^{er} degré des cas index mutés NEM2A et CMT/NEM2. Il est revenu positif dans 46.66% des cas objectivant la mutation C634Y à l'état hétérozygote.

Les cas index sont au nombre de 25 sujets. Le dosage de la calcitonine n'a pas été effectué en préopératoire pour 88%, soit 22 sujets n'ont pas été testés pour la calcitonine.

En post opératoire, plus de 2/3 ont présenté un taux élevé de TCT (tableau VI).

L'analyse génétique des exons les plus fréquemment mutés du proto-oncogène RET a permis d'identifier la mutation C634Y de l'exon 11 à l'état hétérozygote avec une fréquence de 8% (NEM2=un patient CMT/NEM2A (Patient présentant un CMT isolé sans ATCD familial et sans PHEO ni HPT)+un patient NEM2A) (tableau VII).

Tableau VI. Taux plasmatiques de CT préopératoire chez les CMT cas index.

| CT(pg/ml) | Fréquence (%) Pré opératoire | Fréquence (%) Postopératoires |
|--------------|------------------------------|-------------------------------|
| <2 | / | 32%(8/25) |
| 10-150 | 4(1/25) | 4%(1/25) |
| 150-1000 | / | 8%(2/25) |
| 1000 et plus | 8%(2/25) | 56%(14/25) |
| Non faite | 88%(22/25) | 0 |

Tableau VII. Fréquence de la mutation C634Y retrouvée chez les cas index.

| Mutation | Nombre cas index | Fréquence |
|--------------|------------------|-------------|
| Absence | 23 | 92% |
| Présence | 2 | 8% |
| Total | 25 | 100% |

L'âge moyen des apparentés du cas index NEM2A est de 18.57 ans avec des extrêmes allant de 4 ans à 40 ans dont 7 ont présenté la même mutation germinale C634Y (tableau VIII).

Le dépistage biologique du CMT a été réalisé chez les apparentés ayant présenté la mutation C634Y du proto-oncogène RET a montré que 66,7% ont présenté un taux de CT élevé (supérieur à 10pg/ml) avant la chirurgie et que 50% de ces derniers ont vu une persistance du taux élevé de CT après la chirurgie (tableau VIII).

Nous avons réalisé 7 thyroïdectomies dont certaines étaient curatives et d'autres prophylactiques.

DISCUSSION

Au cours de ces 10 dernières années, les circonstances de découverte du CMT ont changé, surtout depuis l'utilisation des stratégies spécifiques de diagnostic: Le dosage de la calcitonine sérique chez des patients présentant des nodules thyroïdiens et le criblage génétique des mutations du proto-oncogène RET chez tous les patients présentant un CMT [29,30].

Le sexe féminin est prédominant dans la population des cas index (56%) par rapport au sexe masculin (44%), avec un sex ratio F/H de 1.27. La NEM2 est une affection à transmission autosomique dominante, les deux sexes sont touchés de façon égale. 40% des apparentés du 1er degré des cas index sont de sexe

féminin, et 60% sont de sexe masculin avec un sex ratio F/H de 0.66.

Nous avons noté une prédominance féminine chez les cas index CMT et une prédominance masculine chez les apparentés du 1er degré, cependant cette différence est non significative.

Kameyama et al, Belgholm et al [31,32] ont noté dans leur recrutement de CMT une prédominance féminine dans les CMT sporadiques et masculine dans les NEM2A.

Nous avons noté une différence dans l'âge moyen au diagnostic des CMT: L'âge moyen de nos patients est de 44.0±12.56 ans avec des extrêmes de 26 et 75 ans. De plus, les cas index de sexe féminin sont plus âgés que les cas index CMT masculins.

L'âge moyen des apparentés du 1er degré est de 18.57±14.87 ans avec des extrêmes de 4 et 40 ans.

L'âge moyen de nos patients CMT d'apparence sporadiques est de 44.54±12.61 ans avec une prédominance féminine.

Notre patient NEM2A a été diagnostiqué à l'âge de 33 ans. Quant au patient CMTF, il l'a été à l'âge de 51 ans, avec un âge moyen des NEM2 de 42 ans.

Ces résultats concordent avec les travaux de Matias-Guiu et al [33,34] qui retrouve dans les cas sporadiques, un âge moyen de présentation de 50 ans, avec une légère prédominance féminine.

De plus, de nombreuses études ont montré que l'incidence maximale du CMT sporadique se produit dans la cinquième décennie de la vie tandis que le CMT héréditaire peut être diagnostiqué plus tôt, selon la disponibilité du criblage génétique et biochimique [35].

Le CMTF peut n'apparaître qu'après l'âge de 30 voire 50 ans en fonction de la mutation de RET [36].

Le nodule thyroïdien était le motif de consultation pour 62,50% des cas index CMT d'apparence sporadique suivi des adénopathies et du goitre multinodulaire, ce qui concorde avec les données de la littérature [37-39].

Le phéochromocytome a été le mode de découverte du cas index NEM2A. Les phéochromocytomes sont synchrones ou métachrones au CMT et apparaissent rarement avant l'âge de 20 ans. Ils sont bilatéraux dans deux tiers des cas [40-43], ce qui a été vu chez notre cas index NEM2A.

La notalgia a été observée dans un seul cas et la diarrhée motrice l'a été dans 3 cas tandis que le syndrome de flush n'a été observé que dans un seul cas.

Tableau VIII. Taux plasmatiques de CT préopératoire des apparentés du premier degré mutés avant et après la chirurgie du CMT.

| Apparentés du cas index | Age au diagnostic par années | Mutation | CT (pg / ml) | | |
|-------------------------|------------------------------|----------|--------------------|--------------------|------------------|
| | | | CT Avant chirurgie | CT Après chirurgie | Thyroïdectomie |
| Neveux (III16) | 4ans | C634Y | 11 | <2 | Thyroïdectomisé |
| Fils (III-11) | 4ans | C634Y | 756 | 760/766/478/423 | Thyroïdectomisé |
| Fille (III-10) | 10ans | C634Y | 5 | <2 | Thyroïdectomisée |
| Neveux (III-13) | 11ans | C634Y | 11 | <2 | Thyroïdectomisé |
| Frère cadet (II-12) | 27ans | C634Y | Non faite | 106/429 | Thyroïdectomisé |
| Sœur (III-3) | 40ans | C634Y | 558.82/403.8 | 116/76.6/154 | Thyroïdectomisée |
| Sœur (II-9) | 34ans | C634Y | 4,87 | <2 | Thyroïdectomisée |

Le syndrome de flush et la diarrhée motrice restent des circonstances diagnostiques rares, ils sont associés à des tumeurs évoluées avec hypersécrétion majeure de CT [36] c'est ce qui a été observé chez le cas index CMT d'apparence sporadique qui avaient présenté un taux de CT supérieur 2000 pg/ml.

Notre cas index NEM2A avait présente une diarrhée motrice avec un taux de CT nettement inférieur.

En préopératoire, le dosage de la calcitonine est revenu élevé chez les 12% uniquement des cas index qui ont subi le dosage de la calcitonine.

En post opératoire, 32% des patients CMT opérés ont normalisés leur taux plasmatique de CT alors que plus des 2/3 des patients ont présenté une maladie résiduelle.

66,7% ont présenté un taux de CT élevé (supérieur à 10 pg/ml) avant la chirurgie et que 50 % ont présenté une persistance du taux élevé de CT après la chirurgie.

Nous avons constaté que le diagnostic du CMT en préopératoire par le dosage de CT est rarement fait puisque le dosage de la CT n'est pas réalisé de façon systématique devant tout nodule thyroïdien.

Au moins trois faits prouvent que la calcitonine sérique est comme un marqueur utile du CMT:

- La calcitonine est produite presque exclusivement par la thyroïde.

- Les patients présentant un CMT ont une concentration sérique élevée de calcitonine.

- L'ablation de la glande thyroïde chez les mammifères abaisse la calcitonine du sérum (concentrations aux niveaux presque indétectables).

Le principe du dosage systématique de la calcitonine (CT) basale devant tout nodule thyroïdien palpable est maintenant admis par de nombreux auteurs européens [44-48] qu'en est-il en Algérie ?

Le dosage de CT, basale et stimulée, est d'abord utilisé pour confirmer le diagnostic préopératoire, puis comme dépistage du CMT sporadique. Il permet la prise en charge du CMT à un stade précoce.

Ce dosage est le moyen le plus fiable pour faire le diagnostic préopératoire de CMT. Il doit permettre de proposer une chirurgie d'emblée adéquate.

Les résultats de la guérison chirurgicale sont évalués en fonction du dosage postopératoire de la calcitonine. Si la calcitonine basale est « normale » ou indosable, le test à la pentagastrine permet de confirmer la guérison, en l'absence de réponse après thyroïdectomie totale.

Un taux résiduel de calcitonine, à la limite de la normale, doit être considéré comme une alarme signant la persistance de minimes résidus de tissu tumoral (micro-métastases ganglionnaires).

On peut espérer qu'une telle démarche aille de pair avec une amélioration du pronostic de la maladie sachant qu'actuellement la normalisation post-chirurgicale de la calcitonine n'est observée que dans 35 % des cas de macro-CMT et 70 % des cas de micro-CMT sporadiques [43, 49, 50].

Les niveaux de CT se stabilisent habituellement 72 heures après la chirurgie mais peuvent continuer à diminuer ensuite.

Le délai de normalisation du taux de CT après thyroïdectomie totale réussie pour CMT est assez variable même si la demi-vie de la CT chez le sujet normal n'est que de 10 min.

Après thyroïdectomie totale réussie pour CMT, la CT ne peut se normaliser qu'avant 15 jours mais aussi en 3 mois ou 6 mois. En pratique, la demi-vie de la CT des CMT varie de 3 à 30 h. Ceci souligne l'inutilité des dosages de CT en per opératoire.

La définition de l'hypercalcitoninémie résiduelle après thyroï-

dectomie totale pour CMT est délicate. S'agit-il d'un taux de CT :

- Dans la zone normale (< 12 pg/ml).

- Ou strictement indétectable, ou < 3 pg/ml, auquel on s'attendrait après exérèse de tout le tissu thyroïdien [51, 52].

L'hypercalcitoninémie persistante ou récidivante n'a pas d'influence sur le pronostic à court terme, surtout en cas de CMT génétiquement déterminé comme en témoignent les expériences de Van Heerden [53], Van Vroonhoven et surtout Vasen (Euromen 1993) [51] qui retrouvent des taux de survie équivalents de 92 % à 5 ans et 89 % à 10 ans en cas de guérison ou de non-guérison biologique ce qui a été observé chez nos CMT héréditaires, puisque après plus de 5 ans d'évolution de la maladie, aussi bien les patients qui avaient des taux élevés que ceux normaux de calcitonine sont toujours en vie [51, 53].

Les patients présentant les niveaux modérément élevés (<150 pg/ml) mais stables de calcitonine sérique après une 1ère chirurgie adéquate devraient être maintenus en observation.

Chez les patients ayant une calcitonine de base discernable dans le sérum et aucun signe clinique évident de la maladie, une surveillance à long terme est indiquée pour pouvoir détecter une nouvelle élévation de la calcitoninémie [51]. Le temps optimal de ce suivi devrait être basé sur les temps de doublement de CT et de l'âge. Un temps de dédoublement de la calcitonine rapide devrait inciter à une recherche de métastases [51].

Le criblage génétique du proto-oncogène RET chez tous les cas index CMT a retrouvé la mutation germinale de l'exon 11 C634Y à l'état hétérozygote avec une fréquence de 8%.

Nos résultats sont en corrélation avec les résultats du consortium international des mutations de RET montrant que les mutations les plus fréquentes ont été retrouvées dans l'exon 11 au codon 634 [54, 55].

Dans les 23 autres cas de CMT sporadique, aucune mutation germinale n'a été retrouvée, éliminant de ce fait le caractère héréditaire de la maladie.

En effet, le CMT est diagnostiqué cliniquement comme sporadique quand le patient ne présente pas d'autres tumeurs endocrines et quand aucun autre cas de CMT, de phéochromocytome ou d'hyperparathyroïdie n'est identifié dans la famille du patient.

Aussi, ce n'est que l'absence de mutations germinales dans le proto-oncogène RET qui permet un diagnostic définitif de CMT sporadique [56].

Dans 5 % des cas, la négativité de l'analyse n'exclut pas formellement un CMTF dont la mutation n'est pas connue à ce jour surtout lorsqu'on est en présence d'un CMT multifocal, bilatéral, associé à une HCC bilatérale, (caractéristiques histologiques suspectes de forme familiale). Le séquençage du gène RET sur toute la séquence codante, disponible en semi-routine, est indiqué à la recherche d'une mutation sur un autre exon du gène [57, 58].

La première étape dans la prise en charge d'un cas typique de NEM2 est d'entreprendre une analyse du proto-oncogène RET chez le cas d'index [59]. Quand une mutation est identifiée, tous les apparentés du 1er degré de la famille sont dépistés pour la même mutation pour identifier les porteurs du gène muté.

C'est ainsi que le dépistage de la mutation C634Y de RET a été offert à tous les apparentés du 1er degré des patients CMT mutés (Recommandation n°9 de l'ATA) [60]. Les patients ayant présenté la mutation ont été examinés à la recherche d'un CMT par un dosage de la calcitonine sérique, du PHEO et de l'HPT pour une éventuelle prise en charge prophylactique.

Le criblage génétique est revenu positif dans 46.66% des cas objectivant la mutation C634Y à l'état hétérozygote. Ces résul-

tats concordent avec les données de la littérature qui ont montré un taux de mutations de 38-52% chez les apparentés du 1^{er} degré des cas index CMT [61,62].

L'identification de cette mutation permet de repérer les sujets à risque et de leur proposer une thyroïdectomie prophylactique.

Le cancer médullaire de la thyroïde évolue dans les formes familiales de l'hyperplasie des cellules C jusqu'au cancer. Le temps requis pour la progression de l'HCC au carcinome microscopique est peu clair et fortement variable [63].

Des porteurs obligatoires de mutations même avec la mutation du codon 634 de RET, âgés de plus de 70 ans sans traitement chirurgical ont été observés [64,65].

La difficulté de la réalisation de la thyroïdectomie prophylactique dépend également de raisons psychologiques et culturelles. Il pourrait être difficile pour les parents d'accepter qu'un enfant en très bas âge puisse être opéré en l'absence de tout signe clinique évident de la maladie.

Cinq de nos patients ont présenté un taux de CT élevé avant la thyroïdectomie:

En effet les taux de CT préopératoires sont fortement corrélés avec la progression de la maladie [66].

À l'heure du dernier criblage, le dépistage génétique a permis d'identifier 8 apparentés non mutés (53.34%). Ils ont été exclus de la surveillance et les 7 (46,66%) apparentés ayant présentés la mutation continueraient leur suivi.

La thyroïdectomie prophylactique chez les enfants présentant une NEM2A doit être pratiquée avant le développement du cancer. Elle semble offrir à long terme des résultats très satisfaisants jusqu'à la guérison [67].

Cette stratégie pour la prévention du CMT familial devrait être pratiquée selon la mutation spécifique portée par chaque patient. Le problème qui se pose, actuellement, est de déterminer à quel moment proposer la chirurgie chez ces patients.

De manière schématique, pour les NEM2A-FMTC avec mutations de RET dans les exons 10 et 11, deux attitudes sont possibles:

-L'attitude recommandée par les équipes Anglo-Saxonnes: Pour eux, «des recommandations pour» de la thyroïdectomie prophylactique et l'ampleur de la résection chirurgicale sont basées sur un modèle de corrélations phénotype/génotype qui utilise une classification des mutations en des niveaux de risque particuliers [67,68].

-L'autre alternative est celle du GTE:

Pour cette école la thyroïdectomie est fondée sur les résultats du dosage de la CT et du test Pentogastrine pour décider du moment de la chirurgie.

En raison de ces controverses, il existe plusieurs définitions de la thyroïdectomie prophylactique [69].

Certains auteurs disent que le but de la thyroïdectomie prophylactique est la résection de la glande thyroïde avant le développement d'un CMT envahissant, ce qui évite le besoin de dissection concomitante du compartiment lymphatique cervical central, qui peut engendrer une morbidité plus élevée que la thyroïdectomie isolée prophylactique vraie [69-72].

D'autres disent que la définition de la thyroïdectomie prophylactique est basée sur l'absence de nodule thyroïdien lors de l'examen clinique et à l'exploration radiographique.

D'autres auteurs expliquent que le but de la thyroïdectomie prophylactique n'est pas d'empêcher la survenue de la malignité mais d'enlever la thyroïde affectée bien avant que les métastases ne se produisent.

Selon Claudio Spinelli et al [73] la thyroïdectomie prophylactique signifie une thyroïdectomie totale réalisée chez un patient présentant une NEM2, cliniquement asymptomatique, avec un

taux de calcitonine de base évalué plus bas que 100pg/ml et une calcitonine après test à la pentagastrine inférieure à 250pg/ml [73,74].

Le moment propice de la thyroïdectomie est aussi influencée par l'âge du patient au diagnostic, la concentration de CT et les antécédents familiaux.

Sur la base de toutes ces définitions, des thyroïdectomies ont été proposées aux apparentés du 1^{er} degré mutés de notre cas index NEM2A. Ils ont tous subits une thyroïdectomie totale à des âges différents.

Un CMT bilatéral a été retrouvé chez les 3 patients adultes, qui avaient aussi subi une ablation bilatérale du phéochromocytome dépisté.

Le type de mutation de RET semble être associé à l'agressivité du CMT. Par conséquent, le moment de la chirurgie pourrait être aussi guidé par les tests génétiques [74].

Donc l'intervention adéquate doit être dans tous les cas une thyroïdectomie totale avec curage central et curage jugulo-carotidien bilatéral systématique sauf, peut-être, dans certains cas de diagnostic génétique avec test à la pentagastrine négatif.

L'absence de positivité du test à la pentagastrine n'est pas synonyme de non envahissement ganglionnaire (2 cas sur 33 pour Moley) [75].

Il est, donc, évident que, bien que les opérations aient été prévues pour être prophylactiques, plus que 80% ont été thérapeutiques puisque les thyroïdes enlevées étaient néoplasiques.

Chez les patients qui ont subi une chirurgie curative, les niveaux de calcitonine de base étaient plus hauts que la normale avant la chirurgie.

CONCLUSION

La calcitonine est un marqueur biochimique très sensible. L'absence de son dosage en pré opératoire conduit à un retard diagnostique du CMT et la chirurgie initiale est souvent incomplète. L'incidence du CMT en pathologie thyroïdienne courante est sous-estimée et l'intérêt de dépister un CMT à un stade précoce microscopique curable chirurgicalement pose le problème du rapport coût/efficacité.

Nos résultats ont montré que le diagnostic du CMT en préopératoire par le dosage de CT est rarement fait à Constantine puisque le dosage de la CT n'est pas réalisé de façon systématique devant tout nodule thyroïdien aussi le bilan initial des pathologies nodulaires de la thyroïde doit-il comporter un dosage systématique de la calcitonine?

RÉFÉRENCES

1. **Feingold J.** La génétique prédictive en médecine. *GynecolobstetFertil.* 2000; 28: 391-5.
2. **Pichon MF, Basuyau JP, Gory-De La bacre G, Eche N, Daver A, Blanc Vincent MP et al.** Standards, options et recommandations: Marqueurs Tumoraux sériques des cancers de la thyroïde. *Bulletin du cancer.* Août 2001; 88, 8: 775-792.
3. **Peix J L.** Cancer médullaire familial: doit-on moduler le geste chirurgical en fonction du génotype. XIII^{ème} congrès de la SFE Brest. *Annale d'endocrinologie.* Nov 2000; 61, 5.
4. **Deftos L J, Lee M R & Potts Jr. J T.** A radioimmunoassay for thyrocalcitonin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1968; 60: 293-299.
5. **Neher R, Riniker B, Rittel W, Zuber H.** Struktur von calcitonin M und D. *He/v Chim Acta.* 1968; 51: 1900-1905.
6. **Santoro M, Elillo R M, Carlomagno F, Visconti R, De Vita G,**

- Lupoli G, Fusco A, Vecchio G.** Molecular biology of Men 2 gene. *J. Intern Med.* Jun 1998; 243,6: 505-8.
- 7. Tashjian Jr. AH.** Immunoassay of thyrocalcitonin. I: The method and its serological specificity. *Endocrinology.* 1969; 84: 140-148.
- 8. Delfos LJ.** Medullary thyroid carcinoma. Karger S Publishing Co, New York. 1-114.
- 9. Cohen R., Becker KL, Jullienne A.** Calcitonine et peptides apparentés Calcitonin and related peptides. *EMC-Endocrinologie.* 2004; 1: 200-213.
- 10. Pacini F, Castagna M G, Cipri C, Schlumberger M.** Medullary Thyroid Carcinoma. *Clinical Oncology.* 2010; 22: 475-485.
- 11. Przepiorka D, Baylin SB, McBride OW et al.** The human calcitonin gene is located on the short arm of chromosome 11. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 1984; 120: 493-499.
- 12. Holick MF, Krane SM, Potts JT.** Calcium phosphore et métabolisme osseux: hormones régulatrices du calcium. *Harrison-Principes de médecine interne.* 5^e ed française Flammarion-Médecine-Sciences, Paris. 1992: 1900-1901.
- 13. Kittur SD, Hoppener JWM, Antoniat SE, Daniels JD, Meyers DA, Maestri NE et al.** Linkage map of the short arm of the human chromosome 11: location of the genes for catalase, calcitonin and insulin like growth factor Ii. *Proc Natl AcadSci.* 1985; 82: 5064-5067.
- 14. Jonas V, Lin CR, Kawashima E, Semon D, Swanson LW, Mermod JJ, et al.** Alternative RNA processing events in human calcitonin/calcitonin gene-related peptide gene expression. *Proc Natl AcadSci USA* 1985; 82: 1994-8.
- 15. Becker KL, Snider RH, Moore CF, Monaghan KG, Silva OL.** Calcitonin in extrathyroidal tissues of man. *Acta Endocrinol.* 1979; 192: 746-51.
- 16. Becker KL, Geelhoed G, O'Neill W, Monaghan KG, Snider RH, Moore CF et al.** Calcitonin in tissues of thyroidectomized monkey. *Experientia.* 1980; 36: 609-10.
- 17. Pacini F, Fugazzola L, Basolo F, Elisei R, Pinchera A.** Expression of calcitonin gene-related peptide in medullary thyroid cancer. *J Endocrinol Invest.* 1992; 15: 539-542.
- 18. Levy-Bohbot N, Patey M, Larbre N, Hecart AC, Caron J, Delemer B.** Comment interpréter une hypercalcitoninémie? How to interpret hypercalcitoninemia? *La Revue de Médecine Interne.* 2006; 27 610-615.
- 19. Fangous MS, Kerspern H, Moineau MP, Kerlan V, Alavi Z, Carré JL.** L'effet crochet dans le dosage radio-immunologique de la calcitonine, à propos d'un cas *Annales d'Endocrinologie.* 2012; 73: 552-555.
- 20. D'Herbomez M, Bauters C, Cortet-Rudelli C, Dewailly D, Do-Cao C, Wémeau JL.** Biomarqueurs en Endocrinologie. *Presse Med.* 2014; 43: 40-56.
- 21. Peix JL, Lifante JC, Borson Chazot F, Giraud F.** La chirurgie prophylactique du cancer médullaire de la thyroïde. *Bull. Acad. Natle Méd.* Octobre 2012; 196, 7: 1247-1260.
- 22. Mulligan LM, Kwork JBJ, Healey CS, Elson MJ, Eng C, Gardner E, Love DR et al.** Germline mutations of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2. *Nature.* 1993b; 363: 458-60.
- 23. Gotthardt M, Battmann A, Hoffken H, et al.** 18F-FDG PET somatostatin receptor scintigraphy, and CT in metastatic medullary thyroid carcinoma: a clinical study and an analysis of the literature. *Nucl Med Commun.* 2004; 25: 439-43.
- 24. Niccoli-Sire P, Conte-Devolx B.** Néoplasie endocrinienne multiple de type 2: places respectives de la biologie et de la génétique moléculaire/Immuno-analyse & Biologie spécialisée. 2003;18: 320-328.
- 25. Niccoli P, Brunet P, Roubicek C, et al.** Abnormal basal calcitonin level and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance emodialysis. *Eur J Endocrinol.* 1995; 132: 75-81.
- 26. Lips CJ, Landsvater RM, Hoppener JW, Geerdink RA, Blijham G, Van Veen JM, et al.** Clinical screening as compared with DNA analysis in families with multiple endocrine neoplasia type 2A. *N Engl J Med.* 1994; 331: 828-35.
- 27. Doyle P, Düren C, Nerlich K, Verburg FA, Grelle I, Jahn H et al.** Potency and tolerance of calcitonin stimulation with high-dose calcium versus pentagastrin in normal adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 2970-4.
- 28. Gharib H, Papini E, Paschke R et al.** AACE/AME/ETA Task Force on Thyroid Nodules. American Association of Clinical Endocrinologists, Associazione Medici Endocrinologi, and European Thyroid Association medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules: Executive Summary of recommendations. *J Endocrinol Invest.* 2010; 33(suppl 5): 1-50.
- 29. Elisei R, Bottici V, Luchetti F et al.** Impact of routine measurement of serum calcitonin on the diagnosis and outcome of medullary thyroid cancer: experience in 10 864 patients with nodular thyroid disorders. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89:163-8.
- 30. Wohllk N, Cote GJ, Bugalho MM, Ordonez N, Evans DB, Goepfert H et al.** Relevance of RET proto-oncogene mutations in sporadic medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 3740-3745.
- 31. Kameyama K, Okinaga H, Takami H.** Clinical manifestations of familial medullary thyroid carcinoma. *Biomedicine and pharmacotherapy.* 2004; 58: 348-350.
- 32. Begholm U, Adami HO, Bergstrom R et al.** Clinical characteristics in sporadic and familial medullary thyroid carcinoma: a nationwide study of 249 patients in Sweden from 1959 through 1981. *Cancer.* 1989; 63:1196-204.
- 33. Moura MM, Cavaco BM, Pinto AE, Domingues R, Santos JR, Cid MO, Bugalho MJ.** Correlation of RET somatic mutations with clinicopathological features in sporadic medullary thyroid carcinomas 1,4,5 and V Leite. *British Journal of Cancer.* 2009; 1,4,5, 100: 1777-1783.
- 34. Matias-Guiu Y, De Lellis R, Molloy JF, Gagel RF, Albores Saavedra J, Bussolati G et al.** Pathology and Genetics Tumors endocrine organs. World Health Organization Classification of Tumours. IARC library. 2004; 86-91.
- 35. Raue F, Frank-Raue K.** Genotype-phenotype relationship in multiple endocrine neoplasia type 2. Implications for clinical management. *Hormones.* Athens. 2009; 8, 1: 23-8.
- 36. Niccoli-Sire P, Conte-Devolx B.** Néoplasies endocriniennes multiples de type 2. *Annale D'endocrinologie.* Octobre 2007; 68, N5.
- 37. Saad MF, Ordonez NG, Rashid RK, Guido JJ, Hill Jr CS, Hickey RC et al.** Medullary carcinoma of the thyroid: a study of the clinical features and prognostic factors in 161 patients. *Medicine.* 1984; 65: 319-42.
- 38. Takami H, Hosoda Y.** Current status of inherited medullary thyroid carcinoma in Japan. *Oncol Rep.* 1996; 3: 943-6.
- 39. Gill JR, Reyes-Mugica M, Lyengar S, Kidd KK, Touloukian RJ, Smith C et al.** Early presentation of metastatic medullary carcinoma in multiple endocrine neoplasia, type IIA: implications for therapy. *J Pediatr.* 1996; 129: 459-63.

- 40. Machens A, Brauckhoff M, Holzhausen H et al.** Codon-specific involvement of pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 3999-4003.
- 41. N'Guyen L, Niccoli-Sire P, Caron N, Bastie D, Maes B, Chabrier G and al and the GETC.** Pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2: a prospective study. *Eur. J. Endocrinol.* 2001; 144: 37-44.
- 42. Sánchez Sobrinoa P, Páramo Fernández C, Gil Gil P, Mantiñán Gil B, Pérez Pedrosac A, Palmeiro Carballeira R et al.** Phenotype of the C634Y mutation in the RET proto-oncogene in MEN2A: report of a family. *Endocrinol Nutr.* 2012; 58, 5: 229-235.
- 43. Neumann HP, Vortmeyer A, Schmidt D et al.** Evidence of MEN-2 in the original description of classic pheochromocytoma. *The New England Journal of Medicine.* 2007; 357: 1311-1315.
- 44. Su KW, Matsumoto T, Takahashi H, Yamamoto M, Ogata E.** Interaction of calcitonin with vitamin D and prostaglandin E2 on renal tubular reabsorption of calcium in thyroparathyroidectomized rats. *Miner Electrolyte Metab.* 1988; 14: 229-34.
- 45. Mulder H.** Calcitonin-testosterone interrelationship: A classic feedback system? *Neth J Med.* 1993; 42: 209-11.
- 46. Costante G, Durante C, Francis Z et al.** Determination of calcitonin levels in C-cell disease: Clinical interest and potential pitfalls. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2009; 5: 35-44.
- 47. Bucht E, Sjöberg HE.** Evidence for precursors of calcitonin/PDN 21 in human milk. *Regul Pept.* 1987; 19: 65-71.
- 48. Pacini F, Schlumberger M, Dralle H et al.** European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. *European Journal of Endocrinology/European Federation of Endocrine Societies.* 2006; 154: 787-803.
- 49. Rebut-Bonneton C, Segond N, Demignon J, Porquet D, Evain-Brion D.** Effects of calcitonin on human trophoblastic cells in culture: absence of autocrine control. *Mol Cell Endocrinol.* 1992; 185: 65-71.
- 50. Machens A, Niccoli-Sire P, Hoegel J, Frank-Raue K, Van Vroonhoven TJ, Roehrer HD, Wahl R, Lamesch P, Raue F, Conte-Devolx B, Dralle H for the European Multiple Endocrine Neoplasia (EU-ROMEN) Study Group.** Early malignant progression of hereditary medullary thyroid cancer. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349: 1517-1525.
- 51. Proye C.** Cancers médullaires de la thyroïde hyperthyrocalcitoninémie persistante après chirurgie, réinterventions-résultats. *Annales de Chirurgie.* Juin 2003; 128: 289-292.
- 52. Fugazzola L, Pinchera A, Luchetti F, Iaccone P, Miccoli P, Romeil C et al.** Disappearance rate of serum calcitonin after total thyroidectomy for medullary thyroid carcinoma. *Intern J Biol Markers.* 1994; 9: 21-24.
- 53. Van Heerden J, Grant C S, Gharib H, Hay JD, Ilstrup DM.** Long term course of patients with persistent hypercalcitoninemia after apparent curative primary surgery for medullary thyroid carcinoma. *Surgery.* 1990; 212: 395-401.
- 54. Mulligan LM, Eng C, Attie T et al.** Diverse phenotypes associated with exon 10 mutations of the RET proto-oncogene. *Hum Mol Genet.* 1994; 3: 2163-7.
- 55. Donis-Keller H, Dou S, Chi D, Carison KM, Toshima K, Laimore TC et al.** Mutations in the RET proto-oncogene are associated with MEN 2A and FMTC. *Human Mol Genet.* 1993; 2, 7: 851-856.
- 56. Hedayati M, Yeganeh MZ, Sheikhol Eslami S, Rezghi Barez S, Houghoghi Rad L, Azizi F.** Predominant RET Germline Mutations in Exons 10, 11, and 16 in Iranian Patients with Hereditary Medullary Thyroid Carcinoma. *Journal of Thyroid Research.* 2011: 6.
- 57. Niccoli-Sire P, Conte-Devolx B.** Cancer médullaire de la thyroïde. *Annales d'Endocrinologie.* 2007; 68: 325-331.
- 58. Niccoli-Sire P, Conte-Devolx B.** Néoplasie endocrinienne multiple de type 2: places respectives de la biologie et de la génétique moléculaire/Immuno-analyse & Biologie spécialisée. 2003; 18: 320-328.
- 59. Bauters C, Leclerc L, Wémeau JL, Proye C, Pigny P, Porchet N.** Néoplasies endocriniennes multiples Quand et comment les rechercher ? Apports récents de la génétique. *La Revue de Médecine Interne.* 2003; 24: 721-729.
- 60. Kloos RT, Eng C, Evans DB, Francis GL, Gagel RF et al.** The ATA Guidelines Task Force Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association. *Thyroid.* 2009; 19: 565-612.
- 61. Lesueur F, Cebrian A, Robledo M, Niccoli-Sire P, Svensson KA, Pinson S et al.** Polymorphisms in RET and its coreceptors and ligands as genetic modifiers of multiple endocrine neoplasia type 2A. *Cancer Res.* 2006; 66: 1177-80.
- 62. Frilling A, Dralle H, Eng C, Raue F and Broelsch CE.** Presymptomatic DNA Screening in families with multiple endocrine neoplasia type 2 and familial medullary thyroid carcinoma. *Surgery.* 1995; 118: 1099-1104.
- 63. 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.
- 64. Bergant D, Hocevar M, Besic N, Glavac D, Korosec B and Caserman S.** Hereditary medullary thyroid cancer in Slovenia-genotype-phenotype correlations. *Middle Eur. J. Med.* 2006; 118: 411-416.
- 65. Niccoli-Sire P, Murat A, Rohmer V, Franc S, Chabrier G, Baldet L, et al.** Familial medullary thyroid carcinoma (FMTC) with non-cysteine RET mutations: phenotype-genotype relationship in a large series of patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86, 8: 3746-53.
- 66. Pacini F, Castagna M G, Cipri C, Schlumberger M.** Medullary Thyroid Carcinoma. *Clinical Oncology.* 2010; 22: 475-485.
- 67. Kloos RT, Eng C, Evans DB, Francis GL, Gagel RF, Gharib H, Moley JF et al.** Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association. *Thyroid.* 2009; 19: 565-612.
- 68. Frank-Raue K, Rondot S, Raue F.** Molecular genetics and phenomics of RET mutations : Impact on prognosis of MTC. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2010; 322: 2-7.
- 69. Machens A, Dralle H.** Multiple endocrine neoplasia type 2 and the RET protooncogene: from bedside to bench to bedside. *Mol Cell Endocrinol.* 2006; 247: 34-40.
- 70. Grubbs GE, Waguespack GS, Rich TA, Xing Y, KYing A, Evans DB et al.** Do the recent American Thyroid Association (ATA) Guidelines accurately guide the timing of prophylactic thyroidectomy in MEN2A? *Surgery.* 2010; 148: 1302-10.
- 71. Waguespack SG.** A perspective from pediatric endocrinology on the hereditary medullary thyroid carcinoma syndromes. *Thyroid.* 2009; 19: 543-6.
- 72. Robinson BG & Al.** New era: prophylactic surgery for patients with multiple Endocrines Neoplasia-2a. *ANZ J Surg.* 2006; 76: 586-90.
- 73. Spinelli C, Di Giacomo M, Costanzo S, Elisei R, Miccoli P.** Role of RET codonic mutations in the surgical management of medullary

thyroid carcinoma in pediatric age multiple endocrine neoplasm type 2 syndromes. *Journal of Pediatric Surgery*. 2010; 45, Issue 8: 1610-1616.

74.Decker RA, Geiger JD, Cox CE, Mackovjak M, Sarkar M, Peacock ML. Prophylactic surgery for multiple endocrine neoplasia type IIa after genetic diagnosis: is parathyroid transplantation indicated? *World J Surg*. 1996; 20: 814-20.

75.Schellhaas E, König C, Frank-Raue K, Buhr HJ, Hotz HG, Berlin and Heidelberg. Long-term outcome of prophylactic therapy for familial medullary thyroid cancer. *Germany Surgery*. 2009; 146: 906-12.