

Neoplasia endocrina múltiple: estudio genético

G. PÉREZ DE NANCLARES

Unidad de Investigación en Endocrinología y Diabetes. Hospital de Cruces. Barakaldo. Vizcaya. España.

MULTIPLE ENDOCRINE NEOPLASIA: GENETIC APPROACH

Multiple endocrine neoplasias (MEN) are inherited autosomal dominant syndromes characterized by the association of distinct glandular lesions in several members of the same kindred. The main clinical features of MEN1 include primary hyperparathyroidism, pancreatic islet cell tumors and pituitary adenomas; less common features are adrenal adenomas, thymic and bronchial carcinoid tumors, lipomas and various cutaneous lesions. The MEN2 syndromes (MEN2A, MEN2B and familial medullary thyroid carcinomas) are characterized by a high penetrance of medullary thyroid carcinoma and differ in their variable expression of pheochromocytoma, hyperparathyroidism and other clinical features.

The *MEN1* tumor suppressor gene encodes a nuclear protein, menin, which interacts with distinct transcription factors. The MEN2 syndromes are caused by germ-line which encodes a tyrosine kinase transmembrane receptor. Genetic testing for mutations of the *RET* proto-oncogene, ations in these two genes allows identification of individuals predisposed to the disease, and their early diagnosis, and appropriate clinical and therapeutic management.

Key words: Multiple endocrine neoplasia. *MEN1* gene. *RET* proto-oncogene. Loss of heterozygosity.

Las neoplasias endocrinas múltiples (MEN) son síndromes de herencia autosómica dominante caracterizados por la asociación de lesiones en distintas glándulas presentes en varios miembros de una misma familia. Las principales características de MEN tipo 1 incluyen hiperparatiroidismo primario, tumores pancreáticos y adenomas hipofisarios; con menos frecuencia pueden aparecer adenomas suprarrenales, tumores tímicos y bronquiales, lipomas y varias lesiones cutáneas. Los síndromes tipo 2 (MEN 2A y 2B, y carcinoma medular de tiroides familiar) se caracterizan por alta penetrancia de carcinoma medular de tiroides y difieren en su expresión variable de feocromocitoma, hiperparatiroidismo y otros rasgos clínicos.

El gen supresor de tumores *MEN1* codifica para una proteína nuclear, la menina, que interactúa con diferentes factores de transcripción. Los síndromes MEN 2 se producen por mutaciones en línea germinal en el protooncogén *RET*, que codifica para un receptor tirosinasa. El estudio genético de mutaciones en estos 2 genes permite la identificación de individuos con predisposición a la enfermedad, el diagnóstico temprano y el adecuado tratamiento clínico y terapéutico.

Palabras clave: Neoplasia endocrina múltiple. Gen *MEN1*. Protooncogén *RET*. Pérdida de heterocigosidad.

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de un cada vez mayor número de enfermedades está basado en la detección de las alteraciones genéticas que las causan. Las técnicas de diagnóstico molecular son capaces de identificar a los individuos con mayor riesgo de sufrir una enfermedad antes de la aparición de los primeros signos y/o síntomas, así como de descartar definitivamente a los sujetos que, aun siendo familiares de un enfermo, no presentan la alteración genética. La aplicación de estas metodologías presenta, además del innegable avance para la práctica clínica, un importante ahorro económico, ya que son capaces de identificar a los individuos genéticamente afectados que serán los únicos que habrán de ser controlados a posteriori.

NEOPLASIA ENDOCRINA MÚLTIPLE TIPO 1

La neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN 1), o síndrome de Wermer¹, es una enfermedad autosómica dominante caracterizada

La autora del trabajo tiene una beca-contrato FIS del Ministerio de Sanidad (ref. CP03/0064). Este trabajo está incluido en una línea de investigación financiada por el Ministerio de Sanidad (beca RCMN C03/08).

Correspondencia: Dra. G. Pérez de Nanclares Leal.
Unidad de Investigación en Endocrinología y Diabetes.
Segunda Planta. Anatomía Patológica. Hospital de Cruces.
Plaza de Cruces, s/n. 48903 Barakaldo. Vizcaya. España.
Correo electrónico: gnanclares@hcr.u.osakidetza.net

Manuscrito recibido el 24-1-2005; aceptado para su publicación el 25-1-2005.

por la coexistencia de combinaciones variadas de tumores que afectan al paratiroides, las células de los islotes pancreáticos y la hipófisis anterior. Se han descrito, con menor frecuencia, otros tumores asociados: corteza suprarrenal, carcinoide, lipomas y angiofibromas^{2,3}.

Es una enfermedad rara y en ocasiones no reconocida. Aunque su incidencia pueda ser baja, su prevalencia se estima en 1/40.000 habitantes. Existen 2 formas: la esporádica y la familiar, y es difícil establecer la diferencia entre ambas, ya que el diagnóstico de una forma familiar puede verse truncado por el fallecimiento de los antecesores antes de que desarrollen el síndrome clínico. El síndrome se diagnostica generalmente durante la cuarta década de la vida, pero puede ser más tardío debido a la levedad de los síntomas y a su falta de reconocimiento.

Estudios de segregación familiar y de pérdida de heterocigosidad cromosómica en tumores asociados al MEN 1 han ido estrechando la zona cromosómica de sospecha de localización del gen causante de la enfermedad a la región 11q13⁴. En 1997 se localizó e identificó el gen en una región que consta de 9.181 pb y consiste en 10 exones que se transcriben a un ARNm de 2.772 pb. La proteína propuesta, la menina, consta de 610 aminoácidos y no presenta ningún péptido señal ni regiones transmembrana⁵. Su reciente localización en el núcleo sugeriría un papel en la regulación de la transcripción, la replicación del ADN o el ciclo celular, es decir, se trataría de un supresor tumoral⁶. Los valores de menina no permanecen constantes a lo largo del ciclo celular y, estableciendo comparaciones con las fluctuaciones que sufren otros supresores tumorales u otros reguladores del ciclo celular, se ha llegado a hipotetizar que funcionaría como un inhibidor de ciclinas dependientes de cinasa (CDK). Respecto a su mecanismo de señalización, se ha observado una interacción de la proteína menina con el Smad3 y el factor de transcripción JunD, miembro de la familia de las proteínas activadoras de factores de transcripción (AP-1), reprimiendo la transcripción de los factores activados por JunD⁷⁻⁹.

Aunque la pérdida de ambos alelos es necesaria para el desarrollo de los tumores, los individuos enfermos heredan una copia alterada de uno de sus progenitores enfermos, y la enfermedad se desarrolla de manera similar a lo propuesto por Knudson¹⁰ para el retinoblastoma. Esta característica y la falta de acción de la proteína menina a escala celular conjugarían bien con el desarrollo de tumores por el cese del control celular en algún punto. Hasta la fecha se han descrito más de 400 mutaciones diferentes entre las aproximadamente 300 familias con MEN 1 analizadas; asimismo, se han observado mutaciones de este gen en tumores endocrinos esporádicos en porcentajes variables: un 17% en insulinomas, un 21% en adenomas de paratiroides, un 33% en gastrinomas y un 36% en carcinoides bronquiales; es raro en tumores hipofisarios^{11,12}.

Las características de las mutaciones en el gen *MEN1* son las siguientes: a) el 45% son deleciones que suponen la pérdida de material genético; un 25%, mutaciones *nonsense* que dan lugar a una proteína truncada; un 15%, inserciones con aparición de material genético nuevo; un 10%, mutaciones *missense*, y menos de un 5%, *donor-splice* o mutaciones en los puntos de corte y empalme de los exones; b) aparecen en el 70-90% de las familias con MEN 1 típico; otro 20% de los pacientes pueden tener mutaciones en la región del promotor o las regiones no traducidas, y algunos presentan grandes deleciones no identificables mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR); c) no hay diferencias en la distribución de las mutaciones entre los casos familiares y los esporádicos; d) no existen regiones *hot spots* o puntos calientes para las mutaciones en *MEN1*; e) al menos un 10% de las mutaciones ocurre *de novo*, y f) no existe relación genotipo-fenotipo, salvo quizá para el hiperparatiroidismo familiar aislado, donde, si existe mutación en este gen, ésta se encuentra entre los exones 4 y 7^{11,13}.

NEOPLASIA ENDOCRINA MÚLTIPLE TIPO 2

Las mutaciones en el protooncogén *RET* se asocian con MEN 2A en el 98% de los casos, MEN 2B en un 95% de los pacientes, enfermedad de Hirschsprung (HSCR; megacolon agangliónico) y carcinoma medular de tiroides (CMT), tanto familiar (FMTC) como esporádico, en un 88%^{14,15}.

La MEN 2 es una enfermedad autosómica dominante que afecta a unas 500-1.000 familias. Tanto el tipo 2A como el 2B presentan una alta penetrancia de carcinoma medular de tiroides; de hecho, el 90% de estas familias presentarán evidencia de CMT de distinta gravedad. El 75% de los MEN 2 son 2A y cursan con CMT (el 90% de los adultos), feocromocitoma uni o bilateral (50%) y tumores paratiroides (20-30%). La forma del MEN 2B es mucho más agresiva y se caracteriza por CMT y feocromocitoma, junto con hábitos marfanoides y ganglioneuromatosis mucosa e intestinal^{3,16}.

El protooncogén *RET* está situado en la región 10q11.2 y está constituido por, al menos, 21 exones, con un tamaño estimado de 60 kb. Posee una estructura caracterizada por un primer intrón muy largo (24 kb) y pequeños exones separados en la primera mitad y más cercanos en la segunda, característica muy similar a la de otros genes que también codifican para receptores tirosincinasas (*PDGFRB*, *KIT*). Su último exón puede sufrir un *splicing* alternativo¹⁷. Codifica para una proteína receptora tirosincinasa de 1.114 o 1.072 residuos, dependiendo del *splice* del último exón, cuya función es traducir señales de crecimiento y la diferenciación celular de las células de la cresta neural (diferenciación neuronal y neuroendocrina). Parece poseer un papel en la proliferación celular, en

la migración y la diferenciación durante la embriogénesis (principalmente en la neurogénesis y la organogénesis de los riñones). La estructura de esta proteína consta de: *a*) una región extracelular, constituida por el péptido señal, un dominio de cadherinas y un dominio rico en cisteínas; *b*) una región transmembrana, y *c*) una región intracelular, con dos dominios tirosinasa¹⁸.

En el 98% de los pacientes con MEN 2A y en el 90% de las formas familiares de carcinoma medular de tiroides, las alteraciones genéticas se caracterizan por la homodimerización de la proteína RET debido, generalmente a mutaciones en su dominio rico en cisteínas (exones 10 y 11)¹⁹, aunque más recientemente han podido encontrarse mutaciones en los exones 13, 14 y 15²⁰. Por otra parte, la forma MEN 2B cursa con una activación constitutiva del centro catalítico por la mutación Met918Thr (exón 16), de ahí que las directrices internacionales para el estudio genético de estas enfermedades sugieran el análisis de los exones 10, 11, 13, 14, 15 y 16³.

El codón específicamente mutado se corresponde, por tanto, con una de las formas concretas de la enfermedad, incluyendo asimismo la agresividad del carcinoma medular de tiroides. Esta información resulta imprescindible para al tratamiento médico o quirúrgico de estos carcinomas. Por ejemplo, los niños con mutaciones en el exón 16 se clasifican como de alto riesgo de presentar una forma agresiva de CMT y suelen ser tiroidectomizados en los primeros 6 meses de vida; sin embargo, si la mutación se encuentra en los exones 10 u 11, no serán operados hasta los 5 años de edad; incluso si la mutación se encuentra en los exones 13, 14 o 15, cursará con una forma de CMT muy leve y la edad del paciente puede retrasarse hasta los 10 años³. Esta progresión tumoral más o menos temprana se está intentando explicar mediante mecanismos de un segundo acontecimiento mutacional, como es el caso de mutaciones germinales y somáticas simultáneas²¹ o la confluencia de distintos polimorfismos descritos a lo largo de todo el gen y que parecen influir en la edad de aparición de los síntomas o en su gravedad²².

BIBLIOGRAFÍA

1. Wermer P. Genetic aspects of adenomatosis of endocrine glands. *Am J Med.* 1954;16:363-71.
2. Thakker RV. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN 1). En: De Groot LJ, editor. *Endocrinology.* Philadelphia: WB Saunders; 1995. p. 2815-31.
3. 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.
4. Larsson C, Skogseid B, Oberg K, Nakamura Y, Nordenskjold M. Multiple endocrine neoplasia type 1 gene maps to chromosome 11 and is lost in insulinoma. *Nature.* 1988;332:85-7.
5. Chandrasekharappa SC, Guru SC, Manickam P, Olufemi S-E, Collins FS, Emmert-Buck MR, et al. Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type 1. *Science.* 1997;276:404-7.
6. Guru SC, Goldsmith PK, Burns AL, Marx SJ, Spiegel AM, Collins FS, et al. Menin, the product of the MEN1 gene, is a nuclear protein. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;17:1630-4.
7. Agarwal SK, Guru SC, Heppner C, Erdos MR, Collins RM, Park SY, et al. Menin interacts with the AP1 transcription factor JunD and represses JunD-activated transcription. *Cell.* 1999;96:143-52.
8. Poisson A, Zablewska B, Gaudray P. Menin interacting proteins as clues towards the understanding of multiple endocrine neoplasia type 1. *Cancer Lett.* 2003;189:1-10.
9. Sukhodolets KE, Hickman AB, Agarwal SK, Sukhodolets MV, Obungu VH, Novotny EA, et al. The 32-kilodalton subunit of replication protein A interacts with menin, the product of the MEN1 tumor suppressor gene. *Mol Cell Biol.* 2003;23:493-509.
10. Knudson AG. Mutation and cancer: statistical analysis of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1971;68:820-3.
11. Agarwal SK, Burns AL, Sukhodolets KE, Kennedy PA, Obungu VH, Hickman AB, et al. Molecular pathology of the MEN1 gene. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;114:189-98.
12. Tsukada T, Yamaguchi K, Kameya T. The MEN1 gene and associated diseases: an update. *Endocr Pathol.* 2001;12:259-73.
13. Hai N, Aoki N, Matsuda A, Mori T, Kosugi S. Germline MEN1 mutations in sixteen Japanese families with multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). *Eur J Endocrinol.* 1999;141:475-80.
14. 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.
15. 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.
16. Eng C. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2 and Hirschsprung's disease. *N Engl J Med.* 1996;335:943-51.
17. Myers SM, Eng C, Ponder BA, Mulligan LM. Characterization of RET proto-oncogen 3' splicing variants and polyadenylation sites: a novel C-terminus for RET. *Oncogen.* 1995;11:2039-45.
18. Bugalho MJ, Domingues R, Sorinho L. Molecular diagnosis of multiple endocrine neoplasia type 2. *Expert Rev Mol Diagn.* 2003;3:89-99.
19. Komminoth P, Kunz EK, Matias-Guiu X, Hiort O, Christiansen G, Colomer A, et al. Analysis of RET protooncogene point mutations distinguishes heritable from nonheritable medullary thyroid carcinomas. *Cancer.* 1995;76:479-89.
20. Bolino A, Schuffenecker I, Luo Y, Seri M, Silengo M, Tocco T, et al. RET mutations in exons 13 and 14 of FMTC patients. *Oncogene.* 1995;10:2415-9.
21. Marsh DJ, Andrew SD, Eng C, Learoyd DL, Capes AG, Pojer R, et al. Germline and somatic mutations in an oncogene: RET mutations in inherited medullary thyroid carcinoma. *Cancer Res.* 1996;56:1241-3.
22. Robledo M, Gil L, Pollan M, Cebrian A, Ruiz S, Azanedo M, et al. Polymorphisms G691S/S904S of RET as genetic modifiers of MEN 2A. *Cancer Res.* 2003;63:1814-7.