

SPORADİK MEDÜLLER TİROİD KANSERLİ BİR HASTADA NADİR GÖRÜLEN RET PROTO-ONKOGEN MUTASYONU: D631Y

A RARE RET PROTO-ONCOGENE MUTATION IN A SPORADIC MEDULLARY THYROID CARCINOMA: D631Y

Feyza Nur Tuncer^{1,*}, Yıldız Tütüncü², Sema Yarman²

¹ İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı,
İstanbul, Türkiye.

² İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma
Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Sorumlu Yazar : Feyza Nur Tuncer

Yazışma adresi : İstanbul Üniversitesi,

Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü,
Genetik Anabilim Dalı, Vakıf Gureba Cad.
34093 Fatih/İstanbul, Türkiye

Telefon : +90 212 414 2000 /33355

Faks : +90 212 532 4171

E-mail adres : ftuncer@istanbul.edu.tr

ÖZET

Amaç: Multipl endokrin neoplazi tip 2 (MEN2), otozomal dominant kalıtım sergileyen bir sendrom olup, germ hattında meydana gelen yanlış anlamlı *RET* proto-onkogen mutasyonları ile ilişkilendirilmiştir. Mutasyon taşıyıcılarının yaklaşık %90'ının medüller tiroid karsinomu (MTK) geliştirdiği bilinmektedir. Hastalarda *RET* mutasyon taraması ile genetik tanı sağlanmakta ve ailede henüz semptom göstermeyen bireylerin mutasyon tipine göre önleyici cerrahi müdahaleye yönlendirilmeleri sağlanabilmektedir. Bu bağlamda, çalışmamız sporadik MTK teşhisli bireyin klinik takiplerinin sağlanması ve iki oğlu ile birlikte *RET* proto-onkogen genetik tanıların gerçekleştirilmesini amaçlamıştır.

Yöntem: İndeks vakanın detaylı klinik değerlendirmeleri ile pre-operatuvar ve post-operatif histopatolojik incelemeleri gerçekleştirilmiştir. Boyun ultrasonografisi ve biyokimyasal değerlendirmeler de dahil olmak üzere rutin klinik takip yapılmıştır.

RET proto-onkogenin rutin genetik tanısı, genin 10, 11, 13-16'nci ekzonlarının PZR amplifikasyonunu takiben Sanger dizilemesi yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir. Mutasyon taşıyan ekzon hastanın asemptomatik iki oğlunda taranmıştır.

Bulgular: İndeks vaka klinik incelemeler ve histopatolojik tanı ile sporadik MTK tanısı almıştır. *RET* gen mutasyon taraması sonucunda hastanın 11. ekzonunda c.1891G>T (D631Y) mutasyonu ile 11 ve 13. ekzonlarında sırasıyla rs1799939 ve rs1800861 polimorfizmleri tespit edilmiştir. Hastanın her iki oğlu da *RET* geni 11. ekzon için taranmış ancak mutasyon taşımadıkları bildirilmiştir.

Sonuç: Genetik tanı hem indeks vakanın sporadik MTK tanısını kesinleştirmiş hem de oğullarında sağlıklı olduğunu göstermiştir. Bu çalışma, literatürde ilk defa feokromasitomaya eşlik etmeyen sporadik medüller tiroid kanserli bir olguda D631Y mutasyon varlığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: MEN2, Medüller tiroid karsinomu, *RET* proto-onkogeni, D631Y, mutasyon.

ABSTRACT

Objectives: Multiple endocrine neoplasia type 2 (MEN2) syndrome is associated with germ-line missense mutations in *RET* proto-oncogene, inherited in an autosomal dominant manner. Approximately 90% of *RET* mutations were shown to develop medullary thyroid carcinoma (MTK). Genetic testing is accomplished through *RET* mutation screen and asymptomatic first degree relatives of index cases are recommended to be tested for preventative surgical operations. Thus, we aimed to perform clinical follow-up of a sporadic MTK case, as well as to carry out *RET* proto-oncogen genetic diagnosis on the index case and her two sons.

Materials and Methods: Index case has been subjected to detailed clinical evaluations, as well as to pre- and post-operative histopathological examinations. Routine clinical follow-up including neck ultrasonography and biochemical evaluations have been performed. *RET* proto-oncogene routine diagnostic test was performed on 10, 11, 13-16th exons of the gene through PCR-amplification followed by Sanger sequencing. Exon with a mutation was screened on index cases' two sons.

Results: Clinical evaluations diagnosed index case as MTK. *RET* genetic screen revealed c.1891G>T (D631Y) in 11th exon confirming diagnosis. The two sons were found negative for *RET* gene mutations in their 11th exons.

Conclusion: Genetic diagnosis both confirmed clinical diagnosis of the index case and showed that the sons are healthy. This is the first report of a D631Y mutation in a case of sporadic medullary thyroid cancer without pheochromocytoma in the literature.

Keywords: MEN2, Medullary thyroid carcinoma, *RET* proto-oncogene, D631Y, mutation.

1. Giriş:

Multipl endokrin neoplazi tip 2 (MEN2), otozomal dominant kalıtım sergileyen ve medüller tiroid karsinomu (MTK), feokromositoma, paratiroid hiperplazisi, paratiroid adenomu ve/veya bu endokrin neoplazilerden en az ikisinin birlikte bulunması ile karakterize nadir bir ailesel sendromdur (1). *RET* proto-onkogenindeki mutasyonların neden olduğu MEN2 sendromu, hiperparatiroidi, feokrositoma ve medüller tiroid kanserinin karakteristik klinik bulgularının varlığı/yokluğuna göre MEN2A, MEN2B (MEN3) ve ailesel MTK (FMTK) olmak üzere üç alt gruba ayrılmaktadır (2).

MEN2 sendromu yaygın olarak germ hattında meydana gelen yanlış anlamlı (missense) *RET* proto-onkogenini aktive eden mutasyonlar ile ilişkilendirilmiştir (3, 4).

Aktive eden *RET* gen mutasyonu taşıyıcılarının yaklaşık %90'ının medüller tiroid karsinomu (MTK), %50'sinin ünilateral veya bilateral feokromositoma ve %20-30'unun da primer hiperparatiroidi geliştirdikleri gözlemlenmiştir (5). Hastalarda klinik bulguların gözlemlenme yaşı ve penetransı spesifik *RET* mutasyonlarına göre değişebilmektedir (6, 7, 8). Bu doğrultuda, Amerikan Tiroid Derneği (ATA) *RET* mutasyonların MTK fenotipi oluşturma riskini yüksekten düşüğe doğru D'den A'ya katogerize etmiş ve profilaktik tiroidektomi zamanlamasına dair önerileri standardize etmiştir (9). ATA'nın belirlediği bu kılavuzda genetik tanı sonucuna göre profilaktik total tiroidektomi gerçekleştirilerek MTK oluşumu engellenecek ve metastazların önüne geçilebilecektir (6, 10).

Tüm tiroid kanserlerinin %3-5'ini oluşturan MTK'nin %75'i sporadik, geri kalanın ise kalıtsal MEN2 sendromlarının ana bileşenlerinden biridir (11, 12). Bu nedenle, *RET* proto-onkogen mutasyon taramaları aile öyküsü gözetmeksizin sporadik MTK olduğu düşünülen vakalarda da gerçekleştirilmektedir (6). Literatürde, *RET* geninin 10, 11, 13-16'nci ekzonları yanlış anlamlı mutasyonlar için sıcak bölgeler (hot-spot) olarak belirlenmiş ve rutin genetik taramalar kapsamına alınmıştır (13, 14, 15).

Bu bilgiler çerçevesinde, çalışmamızda aile anamnezi negatif olduğundan görünürde spora-

dik MTK olarak kabul edilen hasta, merkezimizde çalışılmakta olan rutin *RET* proto-onkogen genetik tanı testine tabi tutulmuştur. Ancak hastada tespit edilen bu nadir D631Y mutasyonu klinik bulguları olmamasına rağmen her iki oğlunda da taranmış ve bu bireylerde taşıyıcılık saptanmıştır.

2. Gereç ve Yöntem:

2.1. Klinik Değerlendirmelerin Gerçekleştirilmesi:

51 yaşındaki kadın hasta İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı polikliniğine ilk defa kontrol amaçlı başvurmuştur. Hastanın muayenesinde ve hikayesinde bir dış merkezde tiroid ameliyatı geçirmiş olduğu anlaşılmıştır. Ameliyatın tiroid ultrasonografisinde (USG) 32x22 mm çaplı, heterojen, kalsifiye odaklar içeren nodül nedeniyle yapılmış olduğu anlaşılmıştır. Hasta ameliyat öncesi ve sonrası mevcut biyokimyasal tetkikleri ve ultrasonografik bulguları ile değerlendirilmiştir.

2.2. Patolojik İncelemeler:

Pre-operatuvar dış merkezde istenen tetkikler arasında karsino embriyogenik antijen (CEA) değerinin yüksek olduğu fark edilerek dış merkez patoloji preparatları fakültemizin Patoloji Anabilim Dalı'nda konsülte edilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak MTK belirteçleri olan CEA ve kromogranin A ile preparatların boyanması istenmiştir.

2.3. Genetik İncelemeler:

Hasta ve oğulları İstanbul Üniversitesi Aziz Sanca Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı bünyesinde gerçekleştirilen rutin *RET* proto-onkogen genetik tanı testine tabi tutulmuştur. Bu test bünyesinde bireylerden elde edilen periferik kandan DNA materyalleri Pure-Link Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) kullanılarak izole edilmiştir. Test, indeks vakanın *RET* geninin sıcak bölgeleri olan 10, 11, 13-16'nci ekzonları polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile amplifiye edilip, doğrudan dizileme hizmeti için gönderilmesini içermektedir. Daha sonra hastada tespit edilen mutasyon oğullarında da taranmıştır. Bu bağlamda, PZR ve dizileme primerleri aynı olup, Primer3 programı

kullanılarak ekzon ve ekzon-intron aralıklarını kapsayacak şekilde tasarlanmıştır. Sanger dizilemesi çift yönlü olacak şekilde Macrogen Korea, Inc. firmasında gerçekleştirilmiş olup, dizi analizleri CLC Main Workbench 6.5 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. *RET* proto-onkogenine ait NM_020975.4 referans transkript olarak kullanılmıştır.

3. Bulgular:

3.1 Klinik değerlendirmelere ilişkin bulgular:

51 yaşındaki kadın hastada geçmiş patoloji preparatları üzerinde gerçekleştirilen histopatolojik incelemeler sonucu 3,5 cm çaplı tümörde kalsifikasyon ve nekroz, vasküler, tiroid kapsülü ve tiroid dışı yumuşak doku invazyonları tespit edilmiş ancak tiroid içi yayılım tespit edilmemiştir. Bunların dışında ek bir tümör odağı gözlenmemiştir. İmmünohistokimyasal olarak tümörün kalsiton ve kromogranin A ile pozitif boyandığı tespit edilmiş ve patoloji konsültasyonu sonucu tanı MTK olarak rapor edilmiştir.

Post-operatif değerlendirmeler kapsamında gerçekleştirilen biyokimyasal tetkikler Tablo 1'de özetlenmiştir. Feokromositoma ve primer hiperparatiroidisi saptanmayan hastada MEN2A dışlanmıştır (Tablo 2). Hastanın kontrol tiroid USG'sinde sol lob orta kısım posterolateralinde 3.7x3.6x2.0 mm düzgün konturlu, periferik mikrokistik alanlar içeren hiperekoik nodül (kolloidal nodül) saptanmış olup, patolojik LAP tespit edilmemiştir. Bu bilgiler ışığında hastaya tamamlayıcı tiroidektomi ve boyun lenf diseksiyonu uygulanmıştır. Post-operatif histopatolojik incelemeler sonucunda kolloidal nodül ve boyun sol, sağ ve santral lenf bezlerinde reaktif değişiklikler saptanmıştır. Biyokimyasal takibi devam eden hastanın bir yıl sonraki kontrol serum kalsitonin ve CEA değerlerinin normal sınırlar içinde olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3).

3.2 Genetik incelemelere ilişkin bulgular:

51 yaşındaki indeks kadın hasta, İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı'nda rutin *RET* proto-onkogen genetik tanı testine tabi tutulmuştur. Hastanın *RET* geninin 11. ekzonunda heterozigot c.1891G>T (D631Y) mutasyonu tespit edilmiştir

(Tablo 4). Buna ek olarak, hastanın 11 ve 13. ekzonlarda sırasıyla G691S (rs1799939) ve L769L (rs1800861) polimorfizmleri tespit edilmiştir (Tablo 4). Bunun üzerine, hastanın iki oğlunun *RET* proto-onkogen 11. ekzonları taranmıştır. Ancak çocuklarda D631Y mutasyonu tespit edilmemiştir.

4. Tartışma ve Sonuç:

MTK, tiroidin parafoliküler C hücrelerinden kaynaklanan nadir bir tümör olup, hemen hemen herediter vakaların tümünde, sporadik vakaların ise % 40'ından fazlasında *RET* proto-onkogen mutasyonu ile karakterizedir (12). Genetik taramalarla tanı alan MTK erken tiroidektomi ile önlenebilen bir kanser türüdür (16). MTK değerlendirmesinde klinik bulguların yanı sıra, *RET* proto-onkogen mutasyon taramasının aile öyküsü aranmaksızın gerçekleştirilmesi ile genotip-fenotip risklerinin belirlenmesi ve hastalığın idamesi açısından çoğunlukla sporadik ve ailesel vakaları ayırt etmede şiddetle önerilmektedir (17).

Bu bilgiler ışığında gerçekleştirdiğimiz çalışmada, klinik ve histopatolojik bulgular doğrultusunda sporadik MTK tanısı alan 51 yaşındaki kadın hasta, *RET* proto-onkogen rutin genetik tanı testine tabi tutulmuştur. *RET* geninin 11. ekzonunda c.1891G>T (D631Y) mutasyonu tespit edilen olgunun, ATA risk grubu değerlendirmesinde B sınıf bir mutasyon (ATA-B) taşıdığı kanıtlanmıştır (Tablo 4). Bunun yanında hastada tespit edilen rs1799939 ile rs1800861 polimorfizmlerinin toplumda sık rastlanan genetik varyasyonlar olduğu, hastalıkla doğrudan ilişkileri bulunmadığı bilinmektedir (Tablo 4) (18).

ATA-B sınıfı mutasyonlarda profilaktik tiroidektominin, yıllık serum kalsitonin ve boyun USG takiplerinin normal değerlerde seyretmesi ve daha az agresif MTK aile öyküsünün bulunması halinde, 5 yaş sonrasına ertelenebileceği önerilmektedir (9). Bu nedenle, indeks olgunun iki oğlu, D631Y mutasyonunu %50 kalıtma riski göz önünde bulundurularak, *RET* proto-onkogeninin 11. ekzonu için mutasyon taramasına tabi tutulmuşlardır. Her iki oğlu da D631Y mutasyonu bulunmadığından ve ailede başka birinde MTK öyküsü olmadığından, indeks vakanın sporadik MTK tanısı kesinlik kazanmıştır.

D631Y mutasyonu gözlemlenen *RET* proto-onkogen mutasyonların yaklaşık %1'ini ihtiva eden nadir bir mutasyondur (6). Günümüze kadar literatürde iki Koreli ailenin toplam 11 bireyi ile bir Alman ailenin tek bireyinde D631Y mutasyonu tespit edilmiştir (19,10). Bunların dışında 20 bireyde daha D631Y mutasyonu bildirilmiştir (10). D631Y mutasyonu tespit edilmiş ailevi ve sporadik vakaların ortak özelliği feokromositoma klinik bulgularının bulunmasıdır (6, 10, 19). Oysa bu mutasyonu taşıyan hastamızda feokromositoma bulunmamaktadır. Bununla birlikte başlangıçta feokromositoması olan D631Y mutasyonlu hastaların klinik takiplerinde bir kısmının MTK geliştirdiği tespit edilmiş, ancak D631Y ile MTK arasında kesin bir ilişki bulunamamıştır (10).

Bütün bu literatür bilgileri altında gerçekleştirdiğimiz çalışmada ilk kez feokromositomaya ait klinik bulguları bulunmayan MTK ile karşımıza gelen bir hastada D631Y mutasyonu tespit etmiş bulunmaktayız. Hastanın iki çocuğu da bu mutasyonu taşımadığından profilaktik tiroidektomi söz konusu olmamıştır. Ancak MTK ile sık birliktelik göstermeyen D631Y mutasyonuna bakarak profilaktik tiroidektomi kararı alabilmek için klinik takibi düzenli D631Y mutasyonuna sahip hasta sayısının artırılması gerekmektedir. Diğer taraftan bu mutasyonu taşıyan MTK hastalarının takibinde feokromositomanın ortaya çıkabilme ihtimaline karşı da dikkatli olunmalıdır.

Tablo 4: İndeks vakada gerçekleştirilen rutin RET proto-onkogen mutasyon tarama testi sonuçları

Lokasyon	Kodon Numarası	Kodon Değişimi	Protein Değişimi	cDNA pozisyonu	Klasifikasyon	ATA Risk Grubu	MAF Değeri
Ekzon 11	631	GAC>TAC	D631Y	c.1891G>T	Mutasyon	B	-
Ekzon 11	691	GGT>AGT	G691S	c.2071 G>A	Polimorfizm (rs1799939)	-	0,17 (A)
Ekzon 13	769	CTT>CTG	L769L	c.2307 T>G	Polimorfizm (rs1800861)	-	0,29 (G)

Hastalıkla ilişkili ATA-B sınıfı c.1891G>T (D631Y) heterozigot mutasyonu ile 11 ve 13. ekzonlarda saptanan ve hastalıkla doğrudan ilişkili olmayan yaygın polimorfizmler gösterilmektedir.

Çıkar Uyuşmazlığı: Yazarlar çıkar uyuşmazlığı bildirmemektedir.

Tablo 1: İndeks vakanın post-operatif biyokimyasal tetkikleri

Biyokimyasal belirteçler	Değeri	Normal aralığı	Birimi
Serum kalsitonin	0,93	0-10	pg/ml
CEA*	1,67	0-3	ng/mL

*CEA: Karsino Embriyojenik Antijen

Tablo 2: İndeks vakanın feokromositoma açısından değerlendirilmesinde kullanılan biyokimyasal tetkikler

Biyokimyasal belirteçler (24 saatlik idrarda)	Değeri	Normal aralığı	Birimi
Adrenalin	1,13	4-20	µg/24hr
Noradrenalin	33,73	23-105	µg/24hr
Metanefrin	41,86	74-297	µg/24hr

Not: Feokromositoma dışlanmıştır.

Tablo 3: İndeks vakanın operasyondan bir yıl sonraki MTC kontrol biyokimyasal tetkikleri

Biyokimyasal belirteçler	Değeri	Normal aralığı	Birimi
Serum kalsitonin	0,02	0-10	pg/ml
CEA*	0,904	0-3	ng/mL

Not: Normal sonuçlar

*CEA: Karsinom Embriyojenik Antijen

KAYNAKLAR:

1. Eng C, Clayton D, Schuffenecker I, Lenoir G, Cote G, Gagel RF, van Amstel HKP, Lips CJ, Nishisho I, Takai SI, Marsh DJ, Robinson BG, Frank-Raue K, Raue F, Xue F, Noll WW, Romei C, Pacini F, Fink M, Niederle B, Zedenius J, Nordenskjold M, Komminoth P, Hendy GN, Gharib H, Thibodeau SN, Lacroix A, Frilling A, Ponder BAJ, Mulligan LM. The relationship between specific RET proto-oncogene mutations and disease phenotype in multiple endocrine neoplasia type 2. International RET mutation consortium analysis JAMA. 1996; 276:1575-1579.
2. Pasquali D, Di Matteo FM, Renzullo A, Accardo G, Esposito D, Barbato F, Colantuoni V, Circelli L, Conzo G. Multiple endocrine neoplasia, the old and the new: a mini review. G. Chir 2012; 33(11-12): 370-373.
3. Donis-Keller H, Dou S, Chi D, Carlson KM, Toshima K, Lairmore TC, Howe JR, Moley JF, Goodfellow P, Wells SA. Mutations in the RET proto-oncogene are associated with MEN 2A and FMTK. Hum Mol Genet 1993; 2: 851-856.
4. Mulligan LM, Kwok JBJ, Healey CS, Elsdon MJ, Eng C, Gardner E, Love DR, Mole SE, Moore JK, Papi L, Ponder MA, Telenius H, Tunnacliffe A, Ponder BAJ. Germ-line mutations of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2A. Nature. 1993; 363: 458-460.
5. Brandi ML, Gagel RF, Angeli A, Bilezikian JP, Beck-Peccoz P, Bordi C, Conte-Devolx B, Falchetti A, Gheri RG, Libroia A, Lips CJ, Lombardi G, Mannelli M, Pacini F, Ponder BA, Raue F, Skogseid B, Tamburrano G, Thakker RV, Thompson NW, Tomassetti P, Tonelli F, Wells SA Jr, Marx SJ. Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86: 5658-5671.
6. Machens A, Dralle H. Familial prevalence and age of RET germline mutations: implications for screening. Clin Endocrinol (Oxf). 2008; 69:81-87.
7. Machens A, Holzhausen HJ, Thanh PN, Dralle H. Malignant progression from C-cell hyperplasia to medullary thyroid carcinoma in 167 carriers of RET germline mutations. Surgery 2003; 134:425-431.
8. Eng C. The RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2 and Hirschsprung's disease. N Engl J Med 1996; 335: 943-951.
9. Kloos RT, Eng C, Evans DB, Francis GL, Gagel RF, Gharib H, Moley JF, Pacini F, Ringel MD, Schlumberger M, Wells SA Jr. Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association. Thyroid 2009; 19: 565-612.
10. Elston MS, Meyer-Rochow GY, Holdaway I, Conaglen JV. Patients with RET D631Y Mutations Most Commonly Present with Pheochromocytoma and not Medullary Thyroid Carcinoma. Horm Metab Res 2012; 44: 339-342.
11. Accardo G, Conzo G, Esposito D, Gambardella C, Mazzella M, Castaldo F, Di Donna C, Polistena A, Avenia N, Colantuoni V, Giugliano D, Pasquali D. Genetics of medullary thyroid cancer: An overview. Int J Surg 2017; 41: S2-S6.
12. Fagin JA, Wells Jr. SA. Biologic and clinical perspectives on thyroid cancer. N Engl J Med 2016; 15(375): 1054-1067.
13. Lindsey SC, Kunii IS, Germano-Neto F, Sittoni MY, Camacho CP, Valente FO, Yang JH, Signorini PS, Delcelo R, Cerutti JM, Maciel RM, Dias-da-Silva MR. Extended RET gene analysis in patients with apparently sporadic medullary thyroid cancer: clinical benefits and cost. Horm Cancer 2012; 3(4):181-186.
14. Santos MA, Quedas EP, Toledo Rde A, Lourenço DM Jr, Toledo SP. Screening of RET gene mutations in multiple endocrine neoplasia type-2 using conformation sensitive gel electrophoresis (CSGE). Arq Bras Endocrinol Metabol 2007; 51(9): 1468-1476.
15. Zupan A, Glavač D. "The development of rapid and accurate screening test for RET hotspot somatic and germline mutations in MEN2 syndromes. Exp Mol Pathol 2015; 99: 416-425.

16. Castinetti F, Moley J, Mulligan LM, Wagunespack SG. A Comprehensive Review On MEN2B. *Endocr Relat Cancer* 2017; ERC-17-0209.
17. Moline J ve Eng C. Multiple endocrine neoplasia type 2: An overview. *Genet Med* 2011; 13: 755-764.
18. Fugazzola L, Muzza M, Mian C, Cordella D, Barollo S, Alberti L, Cirello V, Dazzi D, Girrelli ME, Opocher G, Beck-Peccoz P, Persani L. RET genotypes in sporadic medullary thyroid cancer: studies in a large Italian series. *Clin Endocrinol Oxf* 2008; 69:418-425.
19. Bae SJ, Kim D-J, Kim JY, Park SY, Choi SH, Song YD, Ki C-S, Jae Hoon Chung JH. A Rare Extracellular D631Y Germline Mutation of the RET Proto-Oncogene in Two Korean Families with Multiple Endocrine Neoplasia 2A. *Thyroid* 2006; 16(6): 609-614.

