

La enfermedad de Hirschsprung y el carcinoma medular de tiroides: dos enfermedades en una alteración monogénica

M. Olivares Muñoz¹, M.V. Julià Masip¹, J. Oriola², L. Martorell Sampol³, A. Parareda Sallés⁴, J.M. Ribó Cruz¹

¹Servicio de Cirugía Pediátrica. Hospital Sant Joan de Déu. ²Laboratorio de Bioquímica y Genética Molecular. Hospital Clínic de Barcelona.

³Laboratorio de Genética Molecular. Hospital Sant Joan de Déu. ⁴Unidad de Tumores del Desarrollo. Servicio Oncología Pediátrica. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona.

RESUMEN

Introducción. Las mutaciones del protooncogén RET son las más frecuentes en la enfermedad de Hirschsprung (EH). Hay descritas más de 100 mutaciones de este gen asociadas a EH, pero aquellas en que el error reemplaza una cisteína por otro aminoácido (principalmente en exones 10 y 11) presentan riesgo de MEN 2A y carcinoma medular de tiroides familiar (CMTF). Estas mutaciones de riesgo se hallan en un 5% de los pacientes con EH y presentan una herencia autosómica dominante.

El CMTF tiene un comportamiento agresivo y la tiroidectomía profiláctica es el mejor tratamiento.

Presentamos nuestros resultados en el cribado de las mutaciones del gen RET asociado a CMT en pacientes afectados de EH.

Pacientes y método. Se han tratado en nuestro hospital 40 pacientes con EH en los últimos 15 años. Hemos clasificado a los pacientes en dos grupos: A) alto riesgo de mutación del gen RET asociada a CMTF (antecedentes familiares de EH, segmento largo y/o síndromes asociados) y B) bajo riesgo (afectación rectosigmoidea exclusiva).

Se han determinado los exones 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14 y 15 del protooncogén RET en 12/15 niños del grupo A y en 6/25 del grupo B.

Resultados. Una niña del grupo A presenta la mutación *p.Cys620Ser* (exón 10). En el estudio familiar se ha encontrado esta misma mutación en la madre, el tío materno y una de sus hijas.

Conclusiones. El manejo integral de los niños con EH exige el despistaje de mutaciones del gen RET asociadas a CMTF.

En los familiares de primer grado de los niños con una mutación de riesgo, el cribado es obligatorio.

PALABRAS CLAVE: Enfermedad de Hirschsprung; Protooncogén RET; Carcinoma medular de tiroides; MEN 2A.

HIRSCHSPRUNG'S DISEASE AND MEDULLARY CARCINOMA OF THE THYROIDS: TWO DISEASES IN A MONOGENETIC DISORDER

ABSTRACT

Introduction. The most common gene involved in Hirschsprung's disease (HD) is protooncogene RET. More than 100 mutations of this gene have been described associated with HD. The mutations that change a cysteine with another aminoacid (mainly in exons 10 and 11) give a risk of familial medullary thyroid carcinoma (FTMC) and MEN 2A. These mutations are found in 5% of patients with HD and have an autosomal dominant inheritance.

The FTMC is aggressive and the prophylactic thyroidectomy is the best treatment.

We present our results in screening for RET protooncogene mutations associated with TMC in patients with HD.

Patients and methods. We have treated 40 patients with HD in the last 15 years. We have classified the patients into two groups: A) high risk of RET protooncogene mutation associated with FTMC (family history of HD, long-segment and/or associated syndromes) and B) low risk (rectosigmoid involvement).

We have identified the exons 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14 and 15 of the RET protooncogene in 12 of 15 children from group A and 6 from 25 from group B.

Results. We have found the *p.Cys620Ser* mutation (exon 10) in a girl from group A (long-segment). In the family study, we have found the same mutation in her mother, her uncle and her cousin.

Conclusion. The comprehensive management of children with HD requires screening for RET protooncogene mutations associated with FTMC.

In the first-degree relatives of children with a mutation risk, screening is required.

KEY WORDS: Hirschsprung disease; Protooncogen RET; Medullary thyroid carcinoma; MEN 2A.

Correspondencia: Dra. Marta Olivares Muñoz

E-mail: martaolimu@hotmail.com

Estudio financiado por la Fundació Sant Joan de Déu a través del "Ajut Final de Residencia 2010"

Trabajo presentado en el L Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Pediátrica. Barcelona 2011

Recibido: Junio 2011

Aceptado: Marzo 2012

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Hirschsprung (EH) es una malformación congénita caracterizada por la ausencia de células ganglionares en el plexo mientérico de Auerbach y submucoso de Meissner de la pared del recto y en una longitud variable del intestino en sentido ascendente. Se presenta en

1 de cada 5.000 recién nacidos vivos y es más frecuente en niños que en niñas⁽¹⁾. La EH sólo es familiar en el 20% de los casos, presenta una penetrancia incompleta y una expresividad variable. Existen varios genes implicados en su desarrollo como el SOX10, GDNF, NRTN, EDNRB, ET-3, ECE-1, FHXI/SIP1, pero es el protooncogén RET el que tiene una mayor relevancia⁽²⁻⁵⁾. Se encuentra mutado en un 50% de los casos de EH familiar y segmento largo y en un 20% de los esporádicos⁽³⁻⁶⁾.

El protooncogén RET se localiza en el cromosoma 10 (*10q11.2*) y está formado por 21 exones. Codifica una proteína que actúa de receptor con actividad tirosina-kinasa que se expresa en células neuroendocrinas, células nerviosas simpáticas y parasimpáticas, tracto urogenital y células germinales testiculares. Este receptor se estructura en tres partes: un dominio extracelular rico en cisteínas, un dominio transmembrana y una porción intracelular con dos dominios tirosina-kinasa.

La proteína del gen RET es indispensable para la migración y diferenciación de las células de la cresta neural a neuronas parasimpáticas intestinales. Esta migración se produce de manera craneocaudalmente desde el esófago hasta el canal anal, entre la 5ª y la 12ª semanas de gestación. La EH se produce por una alteración de este receptor y cuanto más pronto tenga lugar la falta de migración, más largo será el segmento intestinal afecto⁽⁴⁻⁷⁾.

Se han descrito más de 100 mutaciones a lo largo de todo el protooncogén RET asociadas a EH, pero aquellas en que se produce un cambio de una cisteína por otro aminoácido en el dominio extracelular están también implicadas en el desarrollo del carcinoma medular de tiroides familiar (CMTF) y en el MEN 2A^(4,7-9). Estas mutaciones se producen con mayor frecuencia en los exones 10 y 11 y, más raramente, en los exones 13, 14, 15 y 16 y se presentan en un 5% de los pacientes afectados de EH, principalmente en aquellos de segmento largo y/o antecedentes familiares de EH. Presentan una herencia autosómica dominante^(2,3,9-12).

La penetrancia para el CMTF es completa, es decir, un paciente portador de mutación tiene un riesgo del 100% de desarrollar CMT que presenta un comportamiento agresivo y el único tratamiento eficaz es la tiroidectomía profiláctica^(8,9,11,13).

Presentamos el cribado de mutaciones del protooncogén RET asociadas a CMTF y MEN 2 en pacientes afectados de EH tratados en nuestro hospital.

MATERIAL Y MÉTODOS

En los últimos 15 años, se han tratado en nuestro hospital 40 niños con EH. Se han clasificado los pacientes en dos grupos:

A) Alto riesgo de mutación en el protooncogén RET: segmento largo (afectación más allá del ángulo esplénico), antecedente familiar de EH y/o síndromes asociados.

B) Bajo riesgo de mutación en el protooncogén RET: afectación rectosigmoidea exclusiva.

Se ha iniciado el estudio por los niños con mayor riesgo. Se ha explicado el estudio a los padres, se ha pedido el consentimiento informado aprobado por el comité de ética de investigación de nuestro hospital y se ha realizado la extracción sanguínea en 12 de 15 niños del grupo A y en 6 de 25 del grupo B.

La purificación del ADN, así como el almacenamiento de las muestras se han hecho en el laboratorio de Genética Molecular de nuestro hospital. En el laboratorio de Bioquímica y Genética Molecular del Hospital Clínico de Barcelona se ha realizado la amplificación de los exones 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14 y 15 del gen RET, la secuenciación mediante el método Sanger y análisis de las secuencias.

Se informará a todos los padres de los resultados.

RESULTADOS

En total se han analizado 18 de los 40 niños tratados de EH en nuestro hospital entre los años 1995 y 2010 (Tabla I).

En el caso número 5 (niña de 26 meses con segmento largo, sin antecedentes familiares ni personales de interés) se halló la mutación *p.Cys620Ser* en el exón 10 del protooncogén RET. Se realizó el despistaje de feocromocitoma con eco abdominal y rastreo corporal con MIGB, que fue negativo. La calcitonina estaba en niveles normales. Se realizó la tiroidectomía profiláctica con preservación de las glándulas paratiroides, que cursó sin incidencias, a la edad de 33 meses. La anatomía patológica no evidenció signos de malignidad ni lesiones preneoplásicas (hiperplasia de células C parafoliculares). Sigue controles periódicos en la Unidad de Tumores del Desarrollo para descartar la aparición de otras neoplasias asociadas, especialmente feocromocitoma e hiperparatiroidismo.

En el estudio a familiares de primer grado, se realizó la determinación del protooncogén RET al padre y a la madre. La madre resultó ser portadora de la mutación. No presentaba otras neoplasias, pero los niveles de calcitonina estaban elevados. Se realizó la tiroidectomía, que evidenció dos microcarcinomas medulares, sin afectación ganglionar (T1N0M0). En la ampliación del estudio familiar se halló que un tío materno y una de sus dos hijas también eran portadores de la misma mutación.

DISCUSIÓN

La asociación de la EH con el CMT viene dada por un efecto dual de mutaciones en la proteína del gen RET donde se produce un cambio de una cisteína por otro aminoácido. La mutación más frecuentemente encontrada en EH-CMT es *p.Cys620Arg*⁽⁹⁾.

Nosotros hemos hallado, en una niña afecta de segmento largo, la mutación *p.Cys620Ser* en el exón 10. Esto

Tabla I. Características de los pacientes estudiados

Paciente	Sexo	Antecedentes familiares	Antecedentes personales	Segmento afecto	RET
1	Niña	No	No	Largo	Normal
2	Niño	No	No	Largo	Normal
3	Niño	No	No	Largo	Normal
4	Niño	No	No	Largo	Normal
5	Niña	No	No	Largo	p.C620S
6	Niña	Padre	No	RS	Normal
7	Niña	Padre	No	Largo	Normal
8	Niño	Madre y hermana	No	Largo	Normal
9	Niño	No	Síndrome de Down	Largo	Normal
10	Niño	No	Síndrome de Down	Largo	Normal
11	Niña	No	Encefalopatía no filiada + MAR	Largo	Normal
12	Niño	No	Polimorformado	RS	Normal
13	Niño	No	No	RS	Normal
14	Niña	No	No	RS	Normal
15	Niño	No	No	RS	Normal
16	Niño	No	No	RS	Normal
17	Niño	No	No	RS	Normal
18	Niño	No	No	RS	Normal

supone un 5,5% de los pacientes de nuestra serie y un 10% entre el grupo de los afectos de segmento largo. Nuestros resultados confirman el beneficio del estudio sistemático del gen RET (principalmente del exón 10) en todos los pacientes afectos de EH con el objetivo de identificar, en una fase preclínica, a aquellos portadores de las mutaciones con riesgo de desarrollar CMT así como a sus familiares de primer grado.

El estudio genético también es de gran ayuda para determinar el momento de realizar la tiroidectomía profiláctica ya que los pacientes con EH y mutaciones del gen RET en los codones 609, 611, 618, 620 y 791 tiene un riesgo alto de desarrollar CMT y, por tanto, está indicada la tiroidectomía de manera precoz^(8,9,11,13-15). También es necesario un seguimiento a largo plazo de estos pacientes ya que presentan riesgo de desarrollar otros tumores, como el feocromocitoma y el hiperparatiroidismo, especialmente aquellos que presentan determinados polimorfismos genéticos.

Serías muy largas y con estudios muy exhaustivos de pacientes con EH no incluyen el estudio del gen RET de manera sistemática. Nosotros nos proponemos hacer extensivo el estudio a todos nuestros pacientes y establecerlo como protocolo en el diagnóstico y manejo de los pacientes con EH. El objetivo principal del análisis debe ser la detección de los portadores de mutaciones asociadas a CMT. La mayoría de autores están de acuerdo en que es imprescindible el estudio de los exones 10, 11 y 13 pero hay que tener presente que la valoración de otras mutaciones o polimorfismos también puede ayudar a un mayor entendimiento y manejo de los niños con EH⁽¹⁶⁻¹⁹⁾.

BIBLIOGRAFÍA

1. Haricharan Ramanath N, Georgeson Keith E. Hirschsprung disease. *Seminars in Pediatr Surg.* 2008; 17: 266-75.
2. Kapur RP. Practical pathology and genetics of Hirschsprung's disease. *Semin Pediatr Surg.* 2009; 18: 212-23.
3. Martucciello G. Hirschsprung's Disease, One of the Most Difficult Diagnoses in Pediatric Surgery: A Review of the Problems from Clinical Practice to the Bench. *Eur J Pediatr Surg.* 2008; 18: 140-9.
4. Asai N, Jijiwa M, Enomoto A, Kawai K, Maeda K, Ichihara M, Murakumo Y, Takahashi M. RET receptor signaling: dysfunction in thyroid cancer and Hirschsprung's disease. *Pathol Int.* 2006; 56 (4): 164-72.
5. Pakarinen MP, Rintala RJ, Koivusalo A, Heikkinen M, Lindahl H, Pukkala E. Increased incidence of medullary thyroid carcinoma in patients treated for Hirschsprung's disease. *J Pediatr Surg.* 2005; 40 (10): 1532-14.
6. Wells SA, Santoro M. Targeting the RET Pathway in Thyroid Cancer. *Clin Cancer Res.* 2009; 15 (23): 7119-23.
7. Romeo G, Cecceherini I, Celli J, Priolo M, Bestos N, Bonardi G, et al. Association of multiple endocrine neoplasia type 2 and Hirschsprung disease. *J Intern Med.* 1998; 243: 515-20.
8. Bütter A, Gagné J, Al-Jazaeri A, Emran MA, Deal C, St-Vil D. Prophylactic thyroidectomy in pediatric carriers of multiple endocrine neoplasia type 2A or familial medullary thyroid carcinoma: mutation in C620 is associated with Hirschsprung's disease. *J Pediatr Surg.* 2007; 42 (1): 203-6.
9. Skába R, Dvoráková S, Václavíková E, Vlcek P, Frantlová M, Bendlová B. The risk of medullary thyroid carcinoma in patients with Hirschsprung's disease. *Pediatr Surg Int.* 2006; 22 (12): 991-5.

10. Fialkowski EA, DeBenedetti MK, Moley JF, Bachrach B. RET proto-oncogene testing in infants presenting with Hirschsprung disease identifies 2 new multiple endocrine neoplasia 2A kindreds. *J Pediatr Surg.* 2008; 43 (1): 188-90.
11. Moore SW, Zaahl MG. Multiple endocrine neoplasia syndromes, children, Hirschsprung's disease and RET. *Pediatr Surg Int.* 2008; 24 (5): 521-30.
12. Moore Sam W, Zaahl Monique. Familiar associations in medullary thyroid carcinoma with Hirschsprung disease: the role of the RET-C620 "Janus" genetic variation. *J Pediatr Surg.* 2010; 45: 393-6.
13. Moore Samuel W, Appfekstaedt J, Zaahl MG. Familiar medullary carcinoma prevention, risk evaluation, and RET in children of families with MEN2. *J Pediatr Surg.* 2007; 42: 326-32.
14. Nishikawa M, Murakumo Y, Imai T, Kawai K, Nagaya M, Funahashi H, et al. Cys611Ser mutation in RET proto-oncogene in a kindred with medullary thyroid carcinoma and Hirschsprung's disease. *Eur J Hum Genet.* 2003; 11 (5): 364-8.
15. Cañizo A, Fanjul M, Cerdá J, Menárguez J, Parente A, Laín A, et al. ¿Es imprescindible la tiroidectomía profiláctica inmediata en el carcinoma medular de tiroides familiar? *Cir Pediatr.* 2008; 21: 100-3.
16. Vaclavikova E, Kavalcova L, Skaba R, Dvorakova S, Macokova P, Rouskova B, Bendova B. Hirschsprung's disease and medullary thyroid carcinoma: 15-year experience with molecular genetic screening of the RET proto-oncogene. *Pediatr Surg Int.* 2012; 28: 123-8.
17. Sancandi M, Griseri P, Pesce B, Patrone G, Puppo F, Lerone M, et al. Single nucleotide polymorphic alleles in the 5' region of the RET proto-oncogene define a risk haplotype in Hirschsprung's disease. *J Med Genet.* 2003; 40: 714-8.
18. Kim JH, Yoon KO, Kim JK, Kim JW, Lee SK, Kong SY, Seo JM. Novel mutations of RET gene in Korean patients with sporadic Hirschsprung's disease. *J Pediatr Surg.* 2006; 41: 1250-4.
19. Vega Hernández L, Castaño González L, Belar Beitia O, Ruiz Aja E, Martínez Ezquerro N, López Álvarez-Buhilla P. Estudio de polimorfismos asociados a la enfermedad de Hirschsprung. *Cir Pediatr.* 2011; 24: 131-6.