

Câncer Medular de Tireoide: Diagnóstico

*Autoria: Sociedade Brasileira de Endocrinologia e
Metabolismo
Sociedade Brasileira de Cirurgia de Cabeça e
Pescoço
Sociedade Brasileira de Patologia
Sociedade Brasileira de Cancerologia
Colégio Brasileiro de Radiologia*

Elaboração Final: 31 de janeiro de 2011

Participantes: Maia AL, Puñales MK, Mazeto G, Caldas G, Ward LS, Kimura ET, Tincani AJ, Teixeira GV, Tavares MR, Hojaij FC, Araújo PPC, Miyahara L, Pereira SAM, Pereira EM, Marone M, Brandão RC, Soares Jr J e Andrada NC.

As Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar, iniciativa conjunta Associação Médica Brasileira e Agência Nacional de Saúde Suplementar, tem por objetivo conciliar informações da área médica a fim de padronizar condutas que auxiliem o raciocínio e a tomada de decisão do médico. As informações contidas neste projeto devem ser submetidas à avaliação e à crítica do médico, responsável pela conduta a ser seguida, frente à realidade e ao estado clínico de cada paciente.

DESCRIÇÃO DE MÉTODO DE COLETA DE EVIDÊNCIA:

A base consultada foi o MEDLINE/Pubmed, através dos descritores:

thyroid neoplasm; carcinoma medullary; multiple endocrine neoplasia, type 2a; multiple endocrine neoplasia, type 2b; risk factors; survival analysis, calcitonin; calcitonin/analysis; protooncogene proteins c-ret; genetic markers; treatment; neoplasm metastasis; lung neoplasms/secondary, brain neoplasms/secondary, bone neoplasms/secondary, outcome; ultrasonography; biopsy, fine-needle; tomography, X-ray computed; positron emission tomography.

GRAU DE RECOMENDAÇÕES E FORÇA DE EVIDÊNCIA:

A: Estudos experimentais ou observacionais de melhor consistência.

B: Estudos experimentais ou observacionais de menor consistência.

C: Relatos de casos (estudos não controlados).

D: Opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consensos, estudos fisiológicos ou modelos animais.

OBJETIVO:

Oferecer aos profissionais de saúde e estudantes de medicina, orientações sobre como diagnosticar, tratar e seguir o paciente com câncer medular da tireoide, baseadas nas melhores evidências disponíveis na literatura sobre o assunto.

CONFLITO DE INTERESSE:

Os conflitos de interesse declarados pelos participantes da elaboração desta diretriz estão detalhados na página 15.

INTRODUÇÃO

O carcinoma medular de tireoide (CMT) é uma neoplasia originária das células C ou parafoliculares, correspondendo a 4-10% dos tumores malignos da tireoide¹(B).

O CMT pode apresentar-se na forma esporádica (70-80%) ou como parte de uma síndrome hereditária de herança autossômica dominante, apresentando-se isoladamente, na forma de carcinoma medular de tireoide familiar (CMTF) ou como um dos componentes da neoplasia endócrina múltipla (NEM) 2A ou 2B²(D). O CMT hereditário afeta aproximadamente 1 em cada 30.000 indivíduos e se caracteriza pela presença da mutação do protooncogene RET³(D). O diagnóstico molecular atualmente disponível forma a base para o manejo adequado da hereditariedade do tumor, pois o diagnóstico e o tratamento precoces melhoram significativamente o prognóstico no indivíduo afetado e nos portadores assintomáticos^{4,5}(B). Em nosso meio, pacientes portadores de CMT hereditário que apresentaram nódulo palpável foram significativamente associados com doença persistente ou recorrência da mesma, com $p < 0,001$ e OR 1,9 (IC 95% 1,27-2,87). Nenhum paciente com metástases linfonodais no momento do diagnóstico tiveram cura pelo procedimento cirúrgico, com $p < 0,001$ e OR 5,0 (IC 95% 1,45-17,0), o que reforça a necessidade de diagnóstico molecular precoce⁵(B).

1. QUANDO SE DEVE FAZER A SUSPEITA CLÍNICA DE CARCINOMA MEDULAR DA TIREOIDE?

Clinicamente, o tumor nos pacientes com a forma esporádica do CMT, assim como o caso índice (proband) das formas familiares, apresenta-se como nódulo assintomático, único ou coexistindo no bócio multinodular. Na maioria dos casos, nenhum sintoma ou sinal específico está presente e a concomitância de doença nodular tireoidiana e linfadenomegalia cervical podem levar a suspeita de malignidade, mas não, especificamente de CMT²(D). Cerca de 15% dos pacientes podem

apresentar sintomas de doença invasiva como disfagia, rouquidão, dispneia, tosse e dor. Nesta fase, 75% dos casos de CMT com tumor palpável, apresentam também metástases linfonodais. Em 10-15% dos casos ocorrem metástases à distância, principalmente em pulmões, fígado, ossos, pele e cérebro²(D).

A diarreia e/ou o flushing são manifestações comuns em pacientes com níveis elevados de calcitonina, podendo apresentar-se como as queixas iniciais. A presença de outras manifestações nas formas familiares, como a amiloidose líquen cutânea em área interescapular⁶(B), ou sinais orais/faciais típicos^{7,8}(B) podem apresentar-se como primeiro sinal da síndrome.

A história familiar pode também ser útil na detecção de casos de CMT. Se o paciente apresentar familiares de primeiro grau com a doença e/ou mutação no RET, feocromocitoma, hiperparatireoidismo, aparência marfanóide ou ganglioneuromas múltiplos, deve ser considerado suspeito para CMT²(D).

Recomendação

Considerando-se a inespecificidade das manifestações clínicas do CMT, a suspeita de carcinoma medular de tireoide familiar (CMTF) deve ser considerada quando o paciente apresentar familiares de primeiro grau com CMT e/ou mutação no RET, associação com feocromocitoma, hiperparatireoidismo²(D), presença de amiloidose líquen cutânea⁷(B) ou sinais orais/faciais típicos⁸(B), aparência marfanóide ou ganglioneuromas múltiplos, mesmo na ausência de nódulo tireoideo palpável²(D). Na forma esporádica do CMT, a mais frequente forma de apresentação, a suspeita clínica deve ser

lembrada em todo paciente portador de doença nodular da tireoide²(D).

2. O EXAME DE CALCITONINA SÉRICA DEVE SER UTILIZADO DE ROTINA COMO RASTREAMENTO PARA DIAGNÓSTICO DE CMT EM PORTADORES DE NÓDULOS DE TIREOIDE?

Até o momento, o uso da dosagem sérica da calcitonina no rastreamento de CMT em pacientes com nódulos de tireoide permanece controverso⁹⁻¹¹(B). De forma geral, a dosagem de calcitonina basal sérica parece ser um exame útil para a triagem de nódulos tireoidianos quanto à possibilidade de CMT⁹⁻¹³(B). Embora os níveis de calcitonina encontrem-se elevados em apenas 1,6%¹⁰(B) a 4,8%¹¹(B) dos pacientes portadores de nódulos de tireoide, nestes casos, 5-40% apresentam CMT^{10,11}(B).

A elevada sensibilidade da dosagem de calcitonina na detecção de CMT constitui a principal vantagem do método, apresentando segundo alguns estudos, maior sensibilidade do que a punção aspirativa por agulha fina⁹(B), chegando a atingir 100% e especificidade de 95%^{10,12,14,15}(B). Sua especificidade fica em torno de 95%, porém, por causa da baixa prevalência da doença, têm valores preditivos positivos baixos: 15,4%¹²(B) ou 23,1% quando calcitonina basal até 20 pg/ml; 25% quando calcitonina basal for superior a 20 e menor que 50 pg/ml e só melhora para valor preditivo para 100 % se a calcitonina basal for maior que 100 pg/ml¹¹(B).

Grande parte dos estudos europeus sugerem que o hormônio seja incluído na avaliação de rotina dos nódulos, mas utilizam a dosagem de calcitonina estimulada pela pengastrina, não disponível em nosso meio. Guidelines para nódulos, da American Thyroid

Association (ATA) e Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM), não encontram nível de evidência para recomendá-lo^{16,17}(D).

Um dos motivos para a falta de consenso e talvez uma das maiores desvantagens do método, é que ainda não existe uma padronização para os níveis de corte, sendo que, normalmente, dependem da técnica utilizada e dos valores de referência¹⁸(B)¹⁹(D). Utilizando-se como critério de corte concentrações basais maiores ou iguais a 100 pg/mL, o risco de CMT ou hiperplasia de células C é de 50%^{11,20}(B). No entanto, valores basais elevados inferiores a 100 pg/mL estão presentes em várias situações clínicas e laboratoriais não relacionadas ao CMT, devendo estes resultados ser avaliados com cautela²¹(B). A reatividade cruzada ou alteração dos resultados devido à prócalcitonina ou peptídeos relacionados, hiperparatireoidismo, gravidez ou lactação, inflamação, infecção ou sepsis, bilirrubinas, hemólise ou hiperlipemia, parecem ser mínimas utilizando os novos ensaios imunométricos (IRMA) quimioluminescentes de dois sítios, os quais são altamente específicos para a calcitonina monomérica⁹(B). Porém existem ainda outras situações onde a calcitonina pode estar elevada, como na tireoidite autoimune e na insuficiência renal crônica. Níveis elevados também podem ser observados na presença de anticorpos heterófilos²²(B). Além disto, valores falsamente baixos podem ocorrer devido ao efeito gancho ou mesmo, raramente, em tumores que não secretam a calcitonina^{23,24}(C).

Dessa forma, dependendo então do valor de corte utilizado, dois problemas serão acrescentados à prática clínica: os resultados falso-positivos / negativos e a relação custo-efetividade²⁴(C)²⁵(B).

Recomendação

Até o momento, o uso da dosagem sérica da calcitonina no rastreamento de CMT em pacientes com nódulos de tireoide permanece controverso¹¹(B). A falta de padronização dos valores de referência, resultados falso-positivos / negativos, valor preditivo positivo baixo de 15,4%¹²(B) ou 23,1%¹¹(B) e a relação custo-efetividade ainda duvidosa²⁵(B) contraindicam sua utilização de forma rotineira na investigação da doença nodular de tireoide^{16,17}(D).

3. O QUE SIGNIFICA PARA O PORTADOR DE DOENÇA NODULAR DE TIREOIDE APRESENTAR CALCITONINA SÉRICA ELEVADA?

Dois aspectos devem ser considerados ao se constatar níveis plasmáticos elevados de calcitonina (acima do valor de referência do método) em paciente portador de nódulo de tireoide: primeiro, se o nível hormonal realmente indica a presença de CMT; segundo, na presença do CMT, definir a extensão da lesão, a presença de outras neoplasias associadas e avaliar a existência de mutações no gene RET²⁶(D).

O valor de corte constitui um dos problemas do uso da calcitonina. Desta forma, se os níveis de calcitonina basais não forem tão elevados e o diagnóstico citológico de CMT não ficar estabelecido, o teste de estímulo com pentagastrina estaria indicado antes do procedimento cirúrgico²⁶(D). Como a pentagastrina não está disponível em muitos países, inclusive em nosso meio, uma alternativa diagnóstica seria a realização do teste de estímulo com cálcio. Entretanto, não existem estudos controlados comparando resultados de ambos os testes, de forma que os resultados após o estímulo com cálcio não estão definidos como aqueles com pentagastrina²⁶(D).

Níveis de calcitonina pré-operatória se correlacionam com o tamanho e estádio tumoral. Considerando-se os ensaios imunométricos (IRMA) quimioluminescentes de dois sítios com o valor da normalidade < 10 pg/ml, os valores de calcitonina > 1000 pg/ml correlacionam-se com tumores com média de diâmetro de 2,5 cm enquanto < 100 pg/ml são associados com tamanho médio de tumor inferiores a 1 cm. O tamanho dos tumores correlacionou-se significativamente ($r^2 = 0,52$, $p < 0,01$) com os níveis de calcitonina pré-operatória, com relação mais direta nos casos de CMT hereditário ($r^2 = 0,71$, $p < 0,05$) do que em CMT esporádica ($r^2 = 0,36$, $p < 0,05$). Os níveis abaixo de 50 pg / mL no pré-operatório é preditor de normalização do nível de calcitonina no pós-operatório^{27(B)}.

Metástases para linfonodos (locoregionais) podem ser observadas inicialmente com níveis de calcitonina entre 10 a 40 pg/ml, quando o valor de referência normal < 10 pg/ml)^{28(B)}. Pacientes com níveis de calcitonina entre 150 a 400 pg/ml devem ser considerados suspeitos para doença metastática extra-tireoidiana e/ou metastática à distância^{28(B)}.

A presença de metástases à distância deve ser considerada quando a calcitonina encontra-se muito elevada, particularmente acima de 400 pg/mL e esta suspeita de metástases devem ser investigadas antes da cirurgia^{27(B)}.

A calcitonina é o principal marcador bioquímico utilizado para a detecção, estadiamento, abordagem pós-operatória e avaliação do prognóstico em pacientes com CMT^{28(B)}; o antígeno cárcinoembrionário (CEA) também é produzido pelas células tumorais do CMT e seu nível associa-se ao processo de desdiferenciação e à massa tumoral do CMT^{29(B)}.

Pacientes que apresentem calcitonina basal sérica elevada (acima do valor de referência do método) deverão ser submetidos à USG cervical e PAAF para confirmação diagnóstica de CMT. O US cervical será muito importante na detecção de linfonodos suspeitos, definindo a extensão da doença locoregional^{30(B)}.

Recomendação

Os portadores de doença nodular de tireoide que apresentam calcitonina elevada necessitam confirmar se este aumento está relacionado com a presença de CMT e, uma vez diagnosticado CMT, qual a extensão do tumor^{26(D)}. Esta definição de aumento de calcitonina relacionado à presença de CMT modifica o tipo de abordagem cirúrgica, como será visto no tratamento.

O nível de calcitonina pré-operatória correlaciona-se com o tamanho e com o estágio tumoral^{27(B)}, é indicativo de presença de metástases locoregionais^{28(B)} e/ou à distância^{27(B)} e sua persistência em nível elevado contribui para avaliação do prognóstico de pacientes operados de CMT^{28(B)}.

4. QUAL É O VALOR DA ULTRASSONOGRAFIA CERVICAL NO DIAGNÓSTICO DO CARCINOMA MEDULAR DA TIREOIDE?

A ultrassonografia (US) cervical apresenta um papel importante na investigação dos pacientes com casos de CMT. A US cervical possibilita tanto a avaliação das lesões tireoidianas como a detecção de linfadenomegalias, interferindo diretamente no planejamento cirúrgico e, consequentemente, na evolução clínica dos pacientes^{31,32(B)}.

Na investigação ultrassonográfica da tireoide de paciente portador de CMT encontra-se nódulo(s) hipoeicoico(s), com calcificações no seu

interior e ausência do “sinal do halo” em 89% dos casos^{31,33}(B). Fluxo sanguíneo intranodular foi encontrado em 79% dos casos e fluxo sanguíneo perinodular em 50% dos casos³¹(B). O aspecto de hipocogenicidade poderia lembrar o aspecto dos carcinomas papilíferos, mas no CMT há aspecto mais heterogêneo ou multinodular, microcalcificações e, algumas vezes, calcificações grosseiras; também há hipervascularização, com vasos centrais desorganizados³³(B). Histologicamente as calcificações correspondem a deposições de cálcio circundadas por amiloide^{33,34}(B).

Na investigação ultrassonográfica da região cervical linfadenomegalias são observadas em 50% dos casos, enquanto que metástases linfonodais estão presentes em mais de 75% dos casos com nódulos tireoidianos palpáveis³⁵(B).

A US cervical é considerada o exame mais sensível para detecção de metástases locoregionais, principalmente em cadeias profundas^{30,31,36}(B). Apresenta sensibilidade, especificidade e acurácia diagnóstica de 100%, 80%, 95%, respectivamente e fornece razão de verossimilhança positiva (RVP) moderada de 5 e razão de verossimilhança negativa (RVN) máximo de zero³⁰(B).

No entanto, a sensibilidade da US cervical pré-operatória é menor na avaliação da região cervical, com resultados falso-negativos da região cervical do pescoço variando de acordo com o local: região central 32%; ipsilateral, 14% e infreqüentemente na região contralateral³²(B). Para avaliar o nível de comprometimento da região cervical há diferença significativa entre a tomografia cervical e a ultrassonografia, com sensibilidade,

especificidade e acurácia de 77%, 70%, 74% para a tomografia e 62%, 79%, 68% para a USG com $p=0,002$. Quando se avalia as regiões divididas em central e lateral, a tomografia tem melhor resultado na região lateral em relação ao comportamento central, com sensibilidade, especificidade e acurácia de 78%, 78%, 78% para lateral e 74%, 44%, 64% para central, enquanto que o USG atinge 65%, 82%, 71% na região lateral e 55%, 69%, 60% na região central³⁰(B).

Recomendação

A ultrassonografia (US) cervical deve ser indicada em todos os pacientes com suspeita de CMT³¹(B), sendo o exame mais sensível na detecção de metástases locoregionais, principalmente em cadeias profundas³⁶(B). O valor da US cervical, no diagnóstico do CMT, reside na possibilidade de evidenciar que o nódulo é suspeito para neoplasia, sugerir a extensão da doença, guiar a punção aspirativa por agulha fina e possibilitar o planejamento terapêutico mais adequado³¹(B). Na avaliação da região cervical, especialmente o compartimento lateral, a tomografia cervical tem acurácia maior em relação ao USG cervical³⁰(B).

5. QUAIS SÃO AS LIMITAÇÕES DA PUNÇÃO ASPIRATIVA POR AGULHA FINA NO DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO DO CARCINOMA MEDULAR DA TIREOIDE?

De maneira geral, a sensibilidade da PAAF em diagnosticar tumores de tireoide é de 98,9%, e consegue definir CMT em 62 a 89% dos casos. Apresenta cerca de 10% de resultados falso-negativos e seu valor preditivo positivo é 85%^{15,37}(B). O método pode ainda ser sugestivo de malignidade em 91 a 98,9%, indicando a intervenção cirúrgica^{15,37}(B).

Um esfregaço típico de CMT apresenta células usualmente solitárias, ou em grupos coesos isolados, grandes, variando na forma de ovais a redondas, poliédricas ou fusiformes, com predomínio de arranjos tridimensionais em um terço dos casos^{37(B)}. O citoplasma pode ser abundante ou escasso e, usualmente, contém granulações acidofílicas, visíveis com colorações específicas (Giemsa). Existem dois ou mais núcleos, tipicamente redondos e excêntricos^{37-39(B)}. Células multinucleadas com núcleos variados, em linhas semicirculares, podem estar presentes. Células plasmocitoides e dendríticas são observadas em número considerável dos casos, parecendo ser um importante indicador diagnóstico^{37(B)}. O amiloide é frequentemente detectável como grumos de material amorfo, revelado pela coloração em vermelho Congo^{24(C)}^{37-39(B)}.

Apesar do padrão citológico típico do CMT, existem inúmeras falhas no diagnóstico citológico pré-cirúrgico e o fato do CMT não ser diagnosticado pela PAAF representa um grande impacto clínico na evolução do paciente^{38-40(B)}. A ausência do diagnóstico específico de CMT pode diminuir a magnitude da cirurgia inicial e a atenção para os linfonodos do compartimento cervical central^{15(B)}.

Um dos motivos para a falha diagnóstica da PAAF é a possibilidade de que, em um bócio multinodular, não ter sido puncionado justamente o nódulo com CMT^{26(D)}, ou ainda que, na presença de microfocos do tumor, a detecção ultrassonográfica, e consequente PAAF, tornam-se muito mais difícil^{41(B)}. Outro motivo é o próprio padrão citológico, que pode ser confundido com tumores de células de Hürthle, carcinomas papilíferos, carcinomas indiferenciados ou mesmo adenomas celulares^{39(B)}.

Outros métodos diagnósticos têm sido associados à PAAF, na tentativa de aprimorar o diagnóstico diferencial do CMT. Com o uso da microscopia eletrônica de varredura, podem ser evidenciadas protusões granulares na superfície celular, correspondendo a grânulos secretórios, um achado citológico característico do CMT^{42(B)}. A reação imunocitoquímica para calcitonina, CEA e cromogranina A costuma ser positiva no CMT e deve ser realizada sempre que o diagnóstico é incerto^{42(B)}, enquanto que a imunocoloração pelo MIB-1 não diferencia o CMT dos carcinomas papilares, tumores foliculares ou de Hürthle^{43(B)}. Outra possibilidade é a avaliação, em células retiradas da agulha utilizada para a punção, da expressão do mRNA da calcitonina, do CEA e do próprio RET^{44(D)}. No entanto, os métodos citados acima ainda não são realizados de forma rotineira na avaliação dos nódulos tireoideanos.

A dosagem de calcitonina no aspirado obtido por PAAF(CT-PAAF), de lesões suspeitas para CMT primário ou metastático, tem sido sugerida como alternativa para aumentar a sensibilidade do método^{45(B)}^{46(C)}. Apesar do número de pacientes avaliados ser pequeno e ainda faltar um período de seguimento maior, os resultados evidenciam sensibilidade e especificidade de 100%, contra sensibilidade de 61,9% e especificidade de 80% quando não acrescentamos a dosagem de calcitonina na realização da PAAF^{45(B)}. A dosagem de calcitonina no aspirado obtido por PAAF em lesões benignas geralmente é indetectável, mas pode variar de 1 à 12 pg/ml. Há correlação significativa entre os níveis séricos de calcitonina e dosagem de calcitonina no aspirado do PAAF, com $r=0,642$ com $p=0,009$; o declive da linha de regressão tem IC 95% de 0,008 – 0,049 e indica que a

contribuição da calcitonina sérica na dosagem de calcitonina no aspirado do PAAF varia de 0,8 a 5% do valor sérico da calcitonina. Para atingir a sensibilidade e especificidade de 100% foi realizado um corte arbitrário de 3 vezes o valor da normalidade da calcitonina sérica, e considera-se doença quando há CT-PAAF acima de 36 pg/ml⁴⁵(B).

Recomendação

As limitações da PAAF no diagnóstico citológico de CMT compreendem punção em bócios multinodulares ou presença de microfocos de tumor em material puncionado com ausência das características citológicas típicas descritas³⁹(B), tendo menor sensibilidade de definir CMT em relação aos outros tumores de tireoide³⁷(B). O diagnóstico diferencial pode ser aprimorado pela adição de outras técnicas associadas à análise citológica, particularmente imunocitoquímica⁴²(B) e a dosagem de calcitonina no aspirado da PAAF⁴⁵(B).

6. HÁ NECESSIDADE DE INVESTIGAR METÁSTASES E/OU OUTRAS NEOPLASIAS ANTES DA CIRURGIA EM PACIENTES PORTADORES DE CMT?

Pacientes com níveis de calcitonina entre 150 a 400 pg/ml devem ser considerados como suspeitos para doença metastática linfonodal e/ou à distância e devem ser avaliados nesse sentido²⁸(B).

A presença de metástases à distância deve ser considerada quando a calcitonina encontra-se muito elevada, particularmente acima de 400 pg/mL e deve ser investigada antes da cirurgia²⁷(B). As metástases no CMT afetam principalmente fígado, pulmões, ossos e medula óssea podendo acometer também cérebro e pele^{36,47}(B)⁴⁸(C). A tomografia computadorizada é exame sensível na detecção de lesões pulmonares^{36,47}(B),

mediastinais³⁶(B), enquanto que a ressonância magnética é mais indicada na detecção de metástases hepáticas e ósseas³⁶(B).

Dois outros importantes aspectos na avaliação de pacientes com calcitonina elevada e provável CMT, consistem na necessidade de investigação da presença de outras neoplasias associadas (feocromocitoma e/ou hiperparatireoidismo), uma vez que a presença dessas patologias pode alterar a abordagem e prioridades cirúrgicas⁴⁹(B).

O feocromocitoma é um tumor raro que pode apresentar um quadro clínico característico de síndrome adrenérgica, com sudorese, palpitações, cefaleia e hipertensão arterial. A maioria dos pacientes apresenta sintomatologia na forma esporádica, mas nas formas familiares, a frequência de pacientes assintomáticos pode chegar a 52%⁴⁹(B).

A investigação do feocromocitoma deve ser realizada, antes da tireoidectomia, principalmente nos pacientes com história clínica suspeita para o tumor hereditário ou quando for detectada mutação do RET. Quando disponível, a dosagem das metanefrinas plasmáticas ou urinárias apresentam melhor sensibilidade e especificidade⁵⁰(B), mas o TC ou RM também podem ser utilizados para o rastreamento⁵¹(B).

A combinação de várias dosagens das metanefrinas não melhorou o diagnóstico além do teste da metanefrina plasmática livre. A sensibilidade da metanefrina plasmática livre é de 99% (IC95% 96%-100%) e metanefrina urinária fracionada de 97% (IC 95% 92%-99%); ambas superiores à sensibilidade da dosagem de catecolaminas plasmáticas de 84% (IC95% 78%-89%) e catecolaminas urinárias de 86% (IC 95%,

80%-91%). A sensibilidade da metanefrina urinária total é de 77% (IC 95%, 68%-85%) e a dosagem de ácido vanil mandélico urinário somente de 64% (IC 95% 55%-71%). A especificidade foi maior para o ácido vanil mandélico urinário de 95% (IC 95% 93% - 97%) e metanefrinas urinária total de 93% (IC 95% 89% -97%). A especificidade cai para metanefrina plasmática livre, de 89% (IC 95%, 87%-92%), catecolaminas urinárias de 88% (IC 95%, 85%-91%), e de plasma com 81% (IC 95% 78% - 84%); e mais baixa para metanefrina urinária fracionada com 69%(IC 95% 64% -72%)⁵⁰(B).

Exames de imagem como a tomografia computadorizada (TC) ou a ressonância magnética (RM) de abdômen podem ser utilizados no diagnóstico deste tumor de supra-renal. A sensibilidade de ambos varia de 98 a 100 % para tumores esporádicos (geralmente acima de 3 cm), mas em casos familiares varia em torno de 76%⁵¹(B). No entanto, a especificidade de 70% é menor que os testes de catecolaminas ou metanefrinas, devido à frequência elevada de “incidentalomas” nas adrenais⁵¹(B).

No diagnóstico do hiperparatireoidismo primário, considerando-se que uma das principais características é a hipercalcemia, a dosagem de cálcio sérico corrigida pela albumina é suficiente no rastreamento dos casos suspeitos⁵²(D).

Recomendação

Há necessidade de investigar metástases loco-regional e/ou à distância antes da cirurgia no portador de CMT com níveis de calcitonina entre 150 a 400 pg/ml^{27,28}(B).

É indispensável a investigação de feocromocitoma, pois ele necessita ser operado antes da tireoidectomia⁴⁹(B). A metanefrina

plasmática livre fornecer o melhor teste para excluir ou confirmar feocromocitoma e deve ser o teste de primeira escolha para o diagnóstico deste tumor⁵⁰(B).

Casos de suspeita de hiperparatireoidismo primário devem ser investigado pela dosagem de cálcio sérico corrigida pela albumina⁵²(D).

7. QUAIS SÃO OS INDIVÍDUOS COM DIAGNÓSTICO OU SUSPEITA DE CARCINOMA MEDULAR DE TIREOIDE DEVEM REALIZAR EXAME MOLECULAR DO PROTOONCOGENE RET?

Desde a identificação do RET como gene responsável pelo CMT associado a da neoplasia endócrina múltipla (NEM) 2A e ao carcinoma medular de tireoide familiar (CMTF) em 1993³(D)⁵³(B) e a NEM 2B em 1994^{54,55}(B), o diagnóstico molecular tornou-se uma ferramenta fundamental no diagnóstico precoce, na determinação da conduta terapêutica e no prognóstico da neoplasia no indivíduo afetado e em familiares em risco.

Em 1994 foi publicado o primeiro estudo comparando a análise molecular e o diagnóstico clínico na NEM 2A⁵⁶(B) e estudos posteriores demonstraram que o diagnóstico molecular é superior na identificação de indivíduos assintomáticos e em risco de desenvolvimento da neoplasia, modificando o momento da indicação cirúrgica de tireoidectomia profilática^{4,57,58}(B).

O exame molecular é capaz de identificar mutações em aproximadamente 95%⁵⁹(B) à 100%⁶⁰(B) dos casos de NEM 2A e NEM 2B e em 88% daqueles com CMTF, além de 4% dos pacientes com CMT esporádico^{59,60}(B). Aproximadamente 85% dos indivíduos com NEM 2A apresentam mutações no códon 634

(exon 11), enquanto que 10% a 15% apresentam mutações nos códons 609, 611, 618 e 620 (exon 10)⁵⁹(B).

Os estudos em famílias brasileiras com a forma hereditária do CMT revelam números similares, com marcada preponderância de indivíduos com NEM 2A e mutações no codon 634^{61,62}(B). Nossos resultados sugerem que a mutação no códon 634 tem impacto direto sobre a agressividade dos tumores NEM 2A. Indivíduos com mutação C634R apresentam mais metástases à distância no diagnóstico em comparação com indivíduos com mutação C634Y ou C634W 54,5% vs 19,4% vs 14,3%, respectivamente com $p = 0,03$ ⁶¹(B). A análise de acometimento de linfonodos e/ou metástases à distância realizada pela curva de Kaplan-Meier demonstrou que estas evoluções acontecem mais tardiamente em pacientes portadores da mutação C634Y em relação aos portadores da mutação 634R, com $p = 0,001$ e isto interfere na decisão no momento mais adequado para a abordagem cirúrgica profilática⁶¹(B).

O exame molecular deve ser realizado em todos os indivíduos com história de hiperplasia das células C, CMT (familiar e esporádico) e/ou NEM 2, independente da idade ao diagnóstico. O risco de CMT hereditário nos casos aparentemente esporádicos varia de 1,5⁶³(B) a 12,5%^{60,61,64}(B). Essas mutações são geralmente identificadas em pacientes jovens e em tumores multicêntricos^{60,63}(B).

Recomendação

A avaliação molecular está indicada em todos os pacientes portadores de hiperplasia das células C, CMT (familiar e esporádico) e/ou NEM2^{56,59,60}(B). Além de identificar as formas familiares, o diagnóstico molecular precoce permite

tomar condutas diagnósticas e terapêuticas que modificam a história natural da doença ao indicar a tireoidectomia profilática⁴(B), dá informações do prognóstico da doença⁵⁸(B) e permitir o adequado aconselhamento genético⁶⁴(B).

8. TODOS OS FAMILIARES DO PACIENTE COM CMT HEREDITÁRIO DEVEM SER AVALIADOS?

O CMT hereditário apresenta herança autossômica dominante, com 100% de penetrância⁵⁶(B). Isso implica uma probabilidade de 50% na transmissão do CMT entre as gerações. Devido ao impacto do diagnóstico precoce no manejo e prognóstico^{4,5,7,57,58}(B), em caso de identificação de mutação em indivíduo com CMT, todos os familiares de primeiro grau devem ser analisados, ou seja, pais, irmãos e filhos⁶⁵(B). Antes do advento do diagnóstico molecular, a avaliação diagnóstica do CMT hereditário em indivíduos em risco era realizada através da determinação da calcitonina basal sérica ou estimulada, anualmente dos 3 aos 30 anos⁶⁵(B).

As mutações encontradas nos exons 10, 11, 13 e 14 foram de 22%, 54%, 21% e 3% respectivamente. De acordo com o genótipo há 3 grupos de risco para CMT:

Grupo de alto risco (códons 634 e 618), com idade mediana de 3 e 7 anos respectivamente no momento do diagnóstico; Grupo de risco intermediário (códons 790, 620, 611) com idade mediana de 12, 34 e 41 anos respectivamente no momento do diagnóstico;

Grupo de baixo risco (códons 768 e 804) com idade mediana de 47 anos e 60 anos respectivamente no momento do diagnóstico⁶⁵(B).

Os indivíduos RET negativos estão dispensados do acompanhamento médico, não sendo necessário

realizar o rastreamento para CMT ou patologias associadas a NEM 2⁵⁶(B). Nos indivíduos testados positivamente para mutações no RET, particularmente àqueles com mutação no codon 634, está indicado o rastreamento para feocromocitoma e hiperparatireoidismo⁶⁰(B).

Recomendação

Em caso de identificação de mutação autossômica dominante em indivíduo com CMT, todos os familiares de primeiro grau devem ser investigados, ou seja, pais, irmãos e filhos⁶⁵(B). Onde a análise molecular ainda não é possível, a possibilidade de hereditariedade não pode ser afastada, sendo recomendável a avaliação de indivíduos em risco através da determinação da calcitonina basal sérica ou estimulada, anualmente dos 3 aos 30 anos de idade⁶⁵(B). Em casos de famílias com história também de feocromocitoma e/ou hiperparatireoidismo, o rastreamento anual para essas neoplasias também está indicado⁶⁰(B).

9. A ALTERAÇÃO GENÉTICA INTERFERE NA APRESENTAÇÃO CLÍNICA DO CMT?

O primeiro estudo multicêntrico que avaliou indivíduos com NEM 2, evidenciou que mutações no codon 634 (exon 11) associavam-se à presença de feocromocitoma e hiperparatireoidismo⁵⁹(B); posteriormente outros estudos também encontraram aspectos semelhantes⁶⁵(B)⁶⁶(D). As mutações no codon 918 (exon 16) foram específicas da NEM 2B e nos codons 768 (exon 13) e 804 (exon 14) foram identificadas unicamente em casos de CMTF⁶⁵(B)⁶⁶(D).

Atualmente, a associação entre as diferentes apresentações clínicas (fenótipos) e mutações específicas no protooncogene RET (genótipo) são bem documentadas na literatura^{58,59,60,63,65}(B)⁶⁶(D).

Os feocromocitomas são detectados em aproximadamente 50% dos indivíduos com mutações no codon 634 e codon 918 e raramente são observados em mutações no exon 10 (codon 609, 611, 618, 620) ou exon 15 (codon 791, 804)^{59,67,68,69}(B). O hiperparatireoidismo na NEM 2A é comumente associado a mutações no codon 634 e, em particular, a substituição de cisteína pela arginina (mutação C634R)⁶¹(B).

As alterações genéticas também estão associadas ao comportamento biológico do tumor⁶¹(B)⁶⁶(D). Mutações no codon 918 são consideradas de risco muito elevado de transformação neoplásica e agressividade tumoral. As mutações nos codons 634 e 618, clássicas da NEM 2A, de risco elevado de transformação neoplásica^{4,68}(B). Adicionalmente, trocas específicas de nucleotídeos no codon 634, podem alterar a evolução natural da doença na NEM 2A, sendo que a mutação C634R apresenta um caráter mais agressivo quando comparada a mutação C634Y⁶¹(B). As mutações nos codons 790, 620 e 611 de risco intermediário e nos codons 804 e 768 de baixo risco de malignidade⁶⁸(B).

Outros estudos, no entanto, têm chamado a atenção para a ampla variabilidade clínica e agressividade tumoral associadas a mutações no RET em codons classicamente descritos como de baixa atividade (ex. 804)⁷⁰⁻⁷²(B).

Recomendação

É importante conhecer as mutações do gene RET, pois estão associadas à apresentação clínica e ao comportamento biológico dos tumores e definem o planejamento terapêutico do paciente⁵⁹(B).

10. QUE OUTRAS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS PODEM ESTAR ASSOCIADAS A MUTAÇÕES DO PROTONCOGENE RET?

Outras manifestações clínicas associadas a mutações no protoncogene RET e NEM 2A aparecem em patologias raras como o líquen amiloide cutânea (CLA)^{73,77(B)} e a doença de Hirschsprung (HIRS)^{78,80(B)}.

Em 1989 foi descrita pela primeira vez a associação entre mutações no RET no códon 634 e lesão de pele denominada líquen amiloide cutânea (CLA)^{73(B)}. O CLA pode apresentar-se como prurido na região inter escapular do dorso, correspondendo aos dermatomas T2 a T6, e histologicamente visualizada como uma lesão cutânea com deposição de matéria amorfa na derme papilar a qual se cora positivamente com tioflavina T fluorescência e outras substâncias caracterizando o amiloide, de etiologia desconhecida^{73,75,80(B)}. O prurido pode preceder a lesão da pele em anos, melhora com a exposição ao sol e piora nos períodos de estresse. Subsequente a lesão pruriginosa, em parte secundária ao ato de coçar, desenvolve-se uma área papular de coloração marrom^{73,76(B)}. Contudo, essa manifestação cutânea é consequência de atos repetitivos de coçar a zona pruriginosa, causando hiperplasia da epiderme, pigmentação e destruição da queratina, levando a apoptose. Os resíduos liberados da destruição celular são depositados na região acima derme como amiloide^{81(B)}.

Em 1992, foi descrito a associação da NEM 2A e a lesão de pele sem deposição de amiloide e associada à dor paroxística na mesma região da lesão da pele, na qual os pacientes referiam hipostesia ao contato e dor hiperestésica^{81(B)}. Essa associação dos aspectos cutâneos e neurológicos

na região dorsal é denominada neuralgia parastésica (NP) que representa a neuropatia do ramo do nervo dorsal posterior também pode atuar como marcador precoce e deve ser investigada em indivíduos em risco de NEM 2A, bem como indivíduos com NP devem ser realizar o rastreamento das mutações do RET^{81(B)}.

A doença de Hirschsprung, ou aganglionose intestinal, associada a NEM 2A é uma doença congênita rara, caracterizada pela ausência das células ganglionares nos plexos intermuscular (Auerbach) e submucosos, profundo (Henle) e superficial (Meissner), consequente a uma falha na migração da crista neural no intestino distal^{82(D)}. A doença de Hirschsprung (HIRS) é geralmente diagnosticada no período neonatal e manifesta-se por obstrução intestinal baixa, com ou sem sepse, associada à ausência da passagem do mecônio nas primeiras 48 horas de vida, distensão abdominal, vômitos e, em alguns casos, enterocolite neonatal. Em alguns pacientes o diagnóstico é mais tardio, podendo ocorrer na infância ou até na vida adulta, caracterizando-se por constipação severa, distensão abdominal e vômitos crônicos, desnutrição e peristaltismo visível à inspeção abdominal^{83,84(D)}.

Mutações no RET são responsáveis por aproximadamente metade dos casos familiares HIRS^{85(B)}. No entanto, outras mutações envolvendo glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), endothelin B receptor (EDNRB), EDN3 e SOX10 foram associados com a doença^{83(D)}. Visto que a NEM 2A ou CMTF associado à HIRS segregam-se em famílias e afetam indivíduos que carregam uma única mutação em uma das quatro posições da cisteína, alguns estudos sugerem que possivelmente essas mutações tenham um duplo

impacto funcional sobre o RET: ativação constitutiva do RET pela formação de homodímeros de RET ligados por dissulfida associado a uma diminuição drástica do RET na superfície celular. Esses achados suportam a ideia de que mutações únicas têm efeitos opostos, dependendo do tecido em que RET é expresso, podendo resultar em proliferação descontrolada de células endócrinas afetadas nas NEM2A ou no CMTF (ganho de função) e apoptose nos neurônios entéricos (perda de função)⁸⁵(B).

Recomendação

Na presença de alterações clínicas cuja associação ao CMT já é conhecida, como o líquen amiloide cutânea⁷⁴(B) e a doença de Hirschsprung⁷⁸(B), deve ser considerada a suspeita de doença hereditária, sendo indicada a avaliação molecular do RET^{74,85}(B).

11. QUAIS EXAMES ADICIONAIS DEVEM SER SOLICITADOS NA SUSPEITA DE NEM 2A?

Em pacientes com CMT e suspeita de NEM 2A, a consideração inicial é excluir a possibilidade de hiperparatireoidismo primário (HPTP)⁵²(D) e principalmente feocromocitoma, pois este necessita fazer o procedimento cirúrgico primeiro^{49,57}(B).

O feocromocitoma é raro na infância⁸⁶(B). A grande maioria dos casos são intra-adrenais e benignos⁶⁹(B). Indivíduos com mutações no RET apresentam o quinto percentil para idade do diagnóstico do feocromocitoma, ocorrendo mais comumente na terceira e quarta década de vida, sugerindo assim o rastreamento a partir dos 20 anos de idade⁸⁶(B). As metanefrinas plasmáticas e urinárias são consideradas os melhores métodos de rastreamento para o

feocromocitoma^{50,86}(B)⁸⁷(D). A metanefrina plasmática livre fornecer o melhor teste para excluir ou confirmar feocromocitoma e deve ser o teste de primeira escolha para o diagnóstico deste tumor⁵⁰(B).

O hiperparatireoidismo ocorre em aproximadamente 25% dos pacientes com NEM 2A, sendo a média de idade para o diagnóstico 38 anos⁸⁸(B). No entanto, hiperparatireoidismo foi diagnosticado em crianças entre 13 a 18 anos de idade em uma série casos⁸⁹(B). A avaliação deve incluir as dosagens do hormônio paratiroideano (PTH), cálcio corrigido pela albumina ou cálcio ionizável⁵²(D). Nas mutações do códon 634 há maior frequência do hiperparatireoidismo⁹⁰(B).

Recomendação

A investigação de feocromotimoma é fundamental na NEM 2A, pois a avaliação e/ou tratamento devem preceder a cirurgia da tireoide. Na ausência de sinais e sintomas, ou massa adrenal, as dosagens das metanefrinas urinárias e plasmáticas na avaliação da NEM 2A devem começar a partir dos 12 anos de idade⁸⁶(B). A dosagem da PTH, cálcio corrigido pela albumina (ou ionizável) devem ser realizados anualmente começando aos 12 anos de idade nos portadores das mutações do RET nos códons 630 e 634 e a partir dos 20 anos nos pacientes portadores das outras mutações do RET na NEM 2A⁹⁰(B).

12. QUAIS EXAMES ADICIONAIS DEVEM SER SOLICITADOS NA SUSPEITA DE NEM 2B?

Diferentemente dos pacientes com NEM 2A, aonde raramente as crianças tem metástases antes dos 5 anos, nos pacientes com NEM 2B, a doença pode se apresentar mais agressivamente, já com metástase antes do primeiro ano de vida

e a USG cervical deve ser realizada ao diagnóstico para avaliação de linfonodos^{31,91}(B).

A avaliação dos códons especificamente associados ao feocromocitoma na NEM 2 indica que o rastreamento inicial para feocromocitoma deveria começar aos 10 anos de idade em portadores de mutações nos codons 918, 634, 630 na NEM 2B⁶⁸(B). No entanto, o diagnóstico de feocromocitoma já foi descrito em uma criança com 5 anos de idade com mutação no códon 634⁹¹(B). Na ausência de sinais e sintomas ou massa adrenal, a dosagem urinária das metanefrinas urinárias ou plasmáticas está indicada. O rastreamento em pacientes com NEM 2B deve começar anualmente a partir dos 5 anos nos pacientes portadores de mutações no RET nos codons 630 e 634⁹²(B).

Recomendação

A ultrassonografia cervical deve ser realizada o mais breve possível na suspeita de NEM 2B, pois a presença de metástases pode mudar o procedimento cirúrgico³¹(B). A investigação de feocromocitoma é crítica em paciente portador de NEM 2B, pois tem aparecimentos precoce^{68,91}(B) e o tratamento deve preceder a cirurgia da tireoide⁵⁷(B).

13. QUAIS EXAMES DEVEM SER REALIZADOS NOS INDIVÍDUOS ASSINTOMÁTICOS PORTADORES DE MUTAÇÃO NO RET QUE SÃO ENCAMINHADOS PARA CIRURGIA?

A avaliação pré-operatória apresenta três propósitos: 1. Avaliar a extensão da doença através da ultrassonografia cervical³³(B), uma vez que a presença de metástases determinará a extensão da cirurgia; 2. Identificar co-morbidades como feocromocitoma e hiperparatireoidismo, que também poderão alterar o plano cirúrgico e

3. Detectar, nos portadores de mutação no RET, o tipo da mutação, permitindo identificar carreadores assintomáticos e definindo prognóstico da doença. O risco de metástase do CMT antes dos 5 anos em NEM 2A é muito baixa⁹³(B), enquanto no NEM 2B alguns pacientes já apresentam metástases nos primeiros anos de vida⁹¹(B).

A calcitonina sérica ou estimulada deve ser realizada em todo paciente com diagnóstico molecular de CMT²⁷(B), uma vez que a calcitonina é utilizada na detecção, estadiamento, seguimento no pós-operatório e prognóstico em longo prazo, embora em pacientes com idade muito jovem os dados disponíveis não estejam bem estabelecidos. Tem sido proposto como referência, níveis de calcitonina < 40 ng/L em crianças abaixo de 6 meses de idade, < 15 ng/L em crianças entre 6 meses e 3 anos de idade e crianças acima de 3 anos valores semelhantes ao adulto⁹⁴(B).

Recomendação

A avaliação pré-operatória em indivíduos assintomáticos que apresentam RET positivo deve incluir dosagem da calcitonina sérica basal²⁷(B), a realização da ultrassonografia cervical³³(B) e a definição do tipo de mutação RET, que define prognóstico da doença⁵⁸(B) e identifica carreadores assintomáticos⁶⁴(B). A necessidade de investigação para feocromocitoma e/ou hiperparatireoidismo pode ser decidida com base no tipo específico de mutação e idade do indivíduo⁵⁹(B).

CONFLITO DE INTERESSE

Teixeira GV: Recebeu reembolso por comparecimento a simpósios patrocinado pela empresa Johmédica.

REFERÊNCIAS

1. Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995 [see comments]. *Cancer* 1998;83:2638-48.
2. Maia AL GJ, Puñales MK. Multiple endocrine neoplasia type 2. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2005; 49:725-34.
3. Mulligan LM, Kwok JB, Healey CS, Elsdon MJ, Eng C, Gardner E, et al. Germ-line mutations of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2A. *Nature* 1993;363:458-60.
4. Machens A, Niccoli-Sire P, Hoegel J, Frank-Raue K, van Vroonhoven TJ, Roehler HD, et al. Early malignant progression of hereditary medullary thyroid cancer. *N Engl J Med* 2003;349:1517-25.
5. Punaes MK, da Rocha AP, Meotti C, Gross JL, Maia AL. Clinical and oncological features of children and young adults with multiple endocrine neoplasia type 2A. *Thyroid* 2008;18:1261-8.
6. Rothberg AE, Raymond VM, Gruber SB, Sisson J. Familial medullary thyroid carcinoma associated with cutaneous lichen amyloidosis. *Thyroid* 2009;19:651-5.
7. Camacho CP, Hoff AO, Lindsey SC, Signorini PS, Valente FO, Oliveira MN, et al. Early diagnosis of multiple endocrine neoplasia type 2B: a challenge for physicians. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2008;52:1393-8.
8. Sallai A, Hosszu E, Gergics P, Racz K, Fekete G. Orolabial signs are important clues for diagnosis of the rare endocrine syndrome MEN 2B. Presentation of two unrelated cases. *Eur J Pediatr* 2008;167:441-6.
9. Costante G, Meringolo D, Durante C, Bianchi D, Nocera M, Tumino S, et al. Predictive value of serum calcitonin levels for preoperative diagnosis of medullary thyroid carcinoma in a cohort of 5817 consecutive patients with thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:450-5.
10. Hasselgren M, Hegedus L, Godballe C, Bonnema SJ. Benefit of measuring basal serum calcitonin to detect medullary thyroid carcinoma in a Danish population with a high prevalence of thyroid nodules. *Head Neck* 2010;32:612-8.
11. Elisei R, Bottici V, Luchetti F, Di Coscio G, Romei C, Grasso L, 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.
12. Papi G, Corsello SM, Cioni K, Pizzini AM, Corrado S, Carapezzi C, et al. Value of routine measurement of serum calcitonin concentrations in patients with nodular thyroid disease: A multicenter study. *J Endocrinol Invest* 2006;29:427-37.
13. Vierhapper H, Raber W, Bieglmayer C, Kaserer K, Weinhausl A, Niederle B. Routine measurement of plasma calcitonin in nodular thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1589-93.

14. Ozgen AG, Hamulu F, Bayraktar F, Yilmaz C, Tuzun M, Yetkin E, et al. Evaluation of routine basal serum calcitonin measurement for early diagnosis of medullary thyroid carcinoma in seven hundred seventy-three patients with nodular goiter. *Thyroid* 1999;9:579-82.
15. Bugalho MJ, Santos JR, Sobrinho L. Preoperative diagnosis of medullary thyroid carcinoma: fine needle aspiration cytology as compared with serum calcitonin measurement. *J Surg Oncol* 2005;91:56-60.
16. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, et al. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2006;16:109-42.
17. Maia AL, Ward LS, Carvalho GA, Graf H, Maciel RM, Maciel LM, et al. Thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: Brazilian consensus. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2007;51:867-93.
18. Rink T, Truong PN, Schroth HJ, Diener J, Zimny M, Grunwald F. Calculation and validation of a plasma calcitonin limit for early detection of medullary thyroid carcinoma in nodular thyroid disease. *Thyroid* 2009;19:327-32.
19. Karges W, Dralle H, Raue F, Mann K, Reiners C, Grussendorf M, et al. Calcitonin measurement to detect medullary thyroid carcinoma in nodular goiter: German evidence-based consensus recommendation. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004;112:52-8.
20. Niccoli P, Wion-Barbot N, Caron P, Henry JF, de Micco C, Saint Andre JP, et al. Interest of routine measurement of serum calcitonin: study in a large series of thyroidectomized patients. The French Medullary Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:338-41.
21. Karanikas G, Moameni A, Poetzi C, Zettinig G, Kaserer K, Bieglmayer C, et al. Frequency and relevance of elevated calcitonin levels in patients with neoplastic and nonneoplastic thyroid disease and in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:515-9.
22. Papapetrou PD, Polymeris A, Karga H, Vaiopoulos G. Heterophilic antibodies causing falsely high serum calcitonin values. *J Endocrinol Invest* 2006;29:919-23.
23. Leboeuf R, Langlois MF, Martin M, Ahnadi CE, Fink GD. "Hook effect" in calcitonin immunoradiometric assay in patients with metastatic medullary thyroid carcinoma: case report and review of the literature. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:361-4.
24. Dora JM, Canalli MH, Capp C, Punaes MK, Vieira JG, Maia AL. Normal perioperative serum calcitonin levels in patients with advanced medullary thyroid carcinoma: case report and review of the literature. *Thyroid* 2008;18:895-9.
25. Cheung K, Roman SA, Wang TS, Walker HD, Sosa JA. Calcitonin measurement in the evaluation of thyroid nodules in the United States: a cost-effectiveness and decision analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2173-80.

26. Elisei R. Routine serum calcitonin measurement in the evaluation of thyroid nodules. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008;22:941-53
27. Cohen R, Campos JM, Salaun C, Heshmati HM, Kraimps JL, Proye C, et al. Preoperative calcitonin levels are predictive of tumor size and postoperative calcitonin normalization in medullary thyroid carcinoma. Groupe d'Etudes des Tumeurs a Calcitonine (GETC). *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:919-22.
28. Machens A, Schneyer U, Holzhausen HJ, Dralle H. Prospects of remission in medullary thyroid carcinoma according to basal calcitonin level. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2029-34.
29. Giraudet LA, Al Ghulzan A, Auperin A, Leboulleux S, Chehboun A, Troalen F, et al. Progression of medullary thyroid carcinoma: assessment with calcitonin and carcinoembryonic antigen doubling times. *Eur J Endocrinol* 2008; 158:239-46.
30. Ahn JE, Lee JH, Yi JS, Shong YK, Hong SJ, Lee DH, et al. Diagnostic accuracy of CT and ultrasonography for evaluating metastatic cervical lymph nodes in patients with thyroid cancer. *World J Surg* 2008;32:1552-8.
31. Saller B, Moeller L, Gorges R, Janssen OE, Mann K. Role of conventional ultrasound and color Doppler sonography in the diagnosis of medullary thyroid carcinoma. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2002;110:403-7
32. Kouvaraki MA, Shapiro SE, Fornage BD, Edeiken-Monro BS, Sherman SI, Vassilopoulou-Sellin R, et al. Role of preoperative ultrasonography in the surgical management of patients with thyroid cancer. *Surgery* 2003;134:946-54.
33. Gorman B, Charboneau JW, James EM, Reading CC, Wold LE, Grant CS, et al. Medullary thyroid carcinoma: role of high-resolution US. *Radiology* 1987; 162:147-50.
34. Chang TC, Hong CT, Chang SL, Hsieh HC, Liaw KY, How SW. Correlation between sonography and pathology in thyroid diseases. *J Formos Med Assoc* 1990;89:777-83
35. Moley JF, DeBenedetti MK. Patterns of nodal metastases in palpable medullary thyroid carcinoma: recommendations for extent of node dissection. *Ann Surg* 1999;229:880-7.
36. Giraudet AL, Vanel D, Leboulleux S, Auperin A, Dromain C, Chami L, et al. Imaging medullary thyroid carcinoma with persistent elevated calcitonin levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:4185-90.
37. Papaparaskeva K, Nagel H, Droese M. Cytologic diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland. *Diagn Cytopathol* 2000;22:351-8.
38. Mihai R, Parker AJ, Roskell D, Sadler GP. One in four patients with follicular thyroid cytology (THY3) has a thyroid carcinoma. *Thyroid* 2009;19:33-7

39. Shah SS, Faquin WC, Izquierdo R, Khurana KK. FNA of misclassified primary malignant neoplasms of the thyroid: Impact on clinical management. *Cytojournal* 2009;6:1.
40. Chang TC, Wu SL, Hsiao YL. Medullary thyroid carcinoma: pitfalls in diagnosis by fine needle aspiration cytology and relationship of cytomorphology to RET proto-oncogene mutations. *Acta Cytol* 2005;49:477-82.
41. Kini SR, Miller JM, Hamburger JI, Smith MJ. Cytopathologic features of medullary carcinoma of the thyroid. *Arch Pathol Lab Med* 1984;108:156-9.
42. Takeichi N, Ito H, Okamoto H, Matsuyama T, Tahara E, Dohi K. The significance of immunochemically staining calcitonin and CEA in fine-needle aspiration biopsy materials from medullary carcinoma of the thyroid. *Jpn J Surg* 1989;19:674-8.
43. Bugalho MJ, Mendonca E, Sobrinho LG. Medullary thyroid carcinoma: an accurate pre-operative diagnosis by reverse transcription-PCR. *Eur J Endocrinol* 2000;143:335-8.
44. Takano T, Miyauchi A, Matsuzuka F, Liu G, Higashiyama T, Yokozawa T, et al. Preoperative diagnosis of medullary thyroid carcinoma by RT-PCR using RNA extracted from leftover cells within a needle used for fine needle aspiration biopsy. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:951-5.
45. Boi F, Maurelli I, Pinna G, Atzeni F, Piga M, Lai ML, et al. Calcitonin measurement in wash-out fluid from fine needle aspiration of neck masses in patients with primary and metastatic medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2115-8.
46. Siqueira D, Rocha AP, Punales MK, Maia AL. Identification of occult metastases of medullary thyroid carcinoma by calcitonin measurement in washout fluid from fine needle aspiration of cervical lymph node. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2009;53:479-81.
47. Santarpia L, El-Naggar AK, Sherman SI, Hymes SR, Gagel RF, Shaw S, et al. Four patients with cutaneous metastases from medullary thyroid cancer. *Thyroid* 2008;18:901-5.
48. Mirallie E, Vuillez JP, Bardet S, Frampas E, Dupas B, Ferrer L, et al. High frequency of bone/bone marrow involvement in advanced medullary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:779-88.
49. Rodriguez JM, Balsalobre M, Ponce JL, Rios A, Torregrosa NM, Tebar J, Parrilla P. Pheochromocytoma in MEN 2A syndrome. Study of 54 patients. *World J Surg* 2008;32:2520-6.
50. Lenders JW, Pacak K, Walther MM, Linehan WM, Mannelli M, Friberg P, et al. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: which test is best? *Jama* 2002;287:1427-34.
51. Pomares FJ, Canas R, Rodriguez JM, Hernandez AM, Parrilla P, Tebar FJ. Differences between sporadic and

- multiple endocrine neoplasia type 2A pheochromocytoma. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998;48:195-200.
52. Fraser WD. Hyperparathyroidism. *Lancet* 2009;374:145-58.
53. Donis-Keller H, Dou S, Chi D, Carlson KM, Toshima K, Lairmore TC, et al. Mutations in the RET proto-oncogene are associated with MEN 2A and FMTC. *Hum Mol Genet* 1993; 2:851-6.
54. Eng C, Smith DP, Mulligan LM, Nagai MA, Healey CS, Ponder MA, et al. Point mutation within the tyrosine kinase domain of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2B and related sporadic tumours. *Hum Mol Genet* 1994;3:237-41.
55. Carlson KM, Dou S, Chi D, Scavarda N, Toshima K, Jackson CE, et al. Single missense mutation in the tyrosine kinase catalytic domain of the RET protooncogene is associated with multiple endocrine neoplasia type 2B. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:1579-83.
56. 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.
57. Vieira AE, Mello MP, Elias LL, Lau IF, Maciel LM, Moreira AC, et al. Molecular and biochemical screening for the diagnosis and management of medullary thyroid carcinoma in multiple endocrine neoplasia type 2A. *Horm Metab Res* 2002;34:202-6.
58. Sanso GE, Domene HM, Garcia R, Pusiol E de M, Roque M, Ring A, et al. Very early detection of RET proto-oncogene mutation is crucial for preventive thyroidectomy in multiple endocrine neoplasia type 2 children: presence of C-cell malignant disease in asymptomatic carriers. *Cancer* 2002;15;94:323-30.
59. 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.
60. Bugalho MJ, Domingues R, Santos JR, Catarino AL, Sobrinho L. Mutation analysis of the RET proto-oncogene and early thyroidectomy: results of a Portuguese cancer centre. *Surgery* 2007;141:90-5.
61. Pinales MK, Graf H, Gross JL, Maia AL. RET codon 634 mutations in multiple endocrine neoplasia type 2: variable clinical features and clinical outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2644-9.
62. Santos MA, Quedas EP, Toledo R de A, Lourenco 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;51:1468-76.

63. Eng C, Mulligan LM, Smith DP, Healey CS, Frilling A, Raue F, Neumann HP, Ponder MA, Ponder BA. Low frequency of germline mutations in the RET proto-oncogene in patients with apparently sporadic medullary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995;43:123-7.
64. Wiench M, Wygoda Z, Gubala E, Wloch J, Lisowska K, Krassowski J, et al. Estimation of risk of inherited medullary thyroid carcinoma in apparent sporadic patients. *J Clin Oncol* 2001;19:1374-80.
65. Machens A, Gimm O, Hinze R, Hoppner W, Boehm BO, Dralle H. Genotype-phenotype correlations in hereditary medullary thyroid carcinoma: oncological features and biochemical properties. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1104-9.
66. Raue F, Frank-Raue K. Genotype-phenotype relationship in multiple endocrine neoplasia type 2. Implications for clinical management. *Hormones (Athens)* 2009;8:23-8.
67. Quayle FJ, Fialkowski EA, Benveniste R, Moley JF. Pheochromocytoma penetrance varies by RET mutation in MEN 2A. *Surgery* 2007;142:800-5.
68. Machens A, Brauckhoff M, Holzhausen HJ, Thanh PN, Lehnert H, Dralle H. Codon-specific development of pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:3999-4003.
69. Machens A, Ukkat J, Brauckhoff M, Gimm O, Dralle H. Advances in the management of hereditary medullary thyroid cancer. *J Intern Med* 2005; 257:50-9.
70. Niccoli-Sire P, Murat A, Rohmer V, Franc S, Chabrier G, Baldet L, et al. Familial medullary thyroid carcinoma with noncysteine ret mutations: phenotype-genotype relationship in a large series of patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:3746-53.
71. Lombardo F, Baudin E, Chiefari E, Arturi F, Bardet S, Caillou B, et al. Familial medullary thyroid carcinoma: clinical variability and low aggressiveness associated with RET mutation at codon 804. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1674-80.
72. Feldman GL, Edmonds MW, Ainsworth PJ, Schuffenecker I, Lenoir GM, Saxe AW, et al. Variable expressivity of familial medullary thyroid carcinoma (FMTc) due to a RET V804M (GTG—>ATG) mutation. *Surgery* 2000;128:93-8.
73. Gagel RF, Levy ML, Donovan DT, Alford BR, Wheeler T, Tschen JA. Multiple endocrine neoplasia type 2a associated with cutaneous lichen amyloidosis. *Ann Intern Med* 1989;111:802-6.
74. Pacini F, Fugazzola L, Bevilacqua G, Viacava P, Nardini V, Martino E. Multiple endocrine neoplasia type 2A and cutaneous lichen amyloidosis: description of a new family. *J Endocrinol Invest* 1993;16:295-6.
75. Donovan DT, Levy ML, Furst EJ, Alford BR, Wheeler T, Tschen JA, et al. Familial cutaneous lichen amyloidosis in association

- with multiple endocrine neoplasia type 2A: a new variant. *Henry Ford Hosp Med J* 1989;37:147-50.
76. Kousseff BG, Espinoza C, Zamore GA. Sipple syndrome with lichen amyloidosis as a paracrinopathy: pleiotropy, heterogeneity, or a contiguous gene? *J Am Acad Dermatol* 1991;25:651-7.
77. Borst MJ, VanCamp JM, Peacock ML, Decker RA. Mutational analysis of multiple endocrine neoplasia type 2A associated with Hirschsprung's disease. *Surgery* 1995;117:386-91.
78. Khan AH, Desjardins JG, Youssef S, Gregoire H, Seidman E. Gastrointestinal manifestations of Sipple syndrome in children. *J Pediatr Surg* 1987;22:719-23.
79. 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;43:188-90.
80. Nunziata V, di Giovanni G, Lettera AM, D'Armiento M, Mancini M. Cutaneous lichen amyloidosis associated with multiple endocrine neoplasia type 2A. *Henry Ford Hosp Med J* 1989;37:144-6.
81. Chabre O, Labat F, Pinel N, Berthod F, Tarel V, Bachelot I. Cutaneous lesion associated with multiple endocrine neoplasia type 2A: lichen amyloidosis or notalgia paresthetica? *Henry Ford Hosp Med J* 1992;40:245-8.
82. Baumgarten HG, Holstein AF, Stelzner F. Nervous elements in the human colon of hirschsprung's disease (with comparative remarks on neuronal profiles in the normal human and monkey colon and sphincter ani internus). *Virchows Arch A Pathol Pathol Anat* 1973;358:113-36.
83. Amiel J, Lyonnet S. Hirschsprung disease, associated syndromes, and genetics: a review. *J Med Genet* 2001;38:729-39.
84. Di Nardo G, Blandizzi C, Volta U, Colucci R, Stanghellini V, Barbara G, et al. Review article: molecular, pathological and therapeutic features of human enteric neuropathies. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;28:25-42.
85. Fitze G, Cramer J, Ziegler A, Schierz M, Schreiber M, Kuhlisch E, et al. Association between c135G/A genotype and RET proto-oncogene germline mutations and phenotype of Hirschsprung's disease. *Lancet* 2002;359:1200-5.
86. Barontini M, Levin G, Sanso G. Characteristics of pheochromocytoma in a 4- to 20-year-old population. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1073:30-7.
87. 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 2. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5658-71.
88. Raue F, Kraimps JL, Dralle H, Courgard P, Proye C, Frilling A, et al. Primary Hyperparathyroidism in multiple endocrine neoplasia type 2A. *J Intern Med* 1995;238:369-73.

89. Skinner MA, DeBenedetti MK, Moley JF, Norton JA, Wells SA Jr. Medullary thyroid carcinoma in children com multiple endocrine neoplasia types 2A e 2B. . J Pediatr Surg 1996;31:177-81.
90. Schuffenecker I, Virally-Monod M, Brohet R, Goldgar D, Conte-Devolx B, Leclerc L et al. Risk and penetrance of primary hyperparathyroidism in multiple neoplasia type 2A families with mutations at codons 634 of hte RET proto-oncogene. Groupe D'etude des Tumeurs à Calcitonine. J Clin Endocrinol Metab 1998;83:487-91.
91. Unruh A, Fitze G, Janig U, Bielack S, Lochbuhler H, Coerdts W. Medullary thyroid carcinoma in a 2-month-old male with multiple neoplasia 2B and symptoms of pseudo-Hirschsprung disease: a case report. J Pediatr Surg 2007;42:1623-6.
92. 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.
93. Szinnai G, Meier C, Komminoth P, Zumsteg UW. Review of multiple endocrine neoplasia type 2A in children: therapeutic results of early thyroidectomy and prognostic value of codon analysis. Pediatrics 2003; 111(2):E132-9.
94. Basuyau JP, Mallet E, Leroy M, Brunelle P. Reference intervals for serum calcitonin in men, women, and children. Clin Chem 2004;50:1828-30.