

Diagnóstico mutacional del gen *RET* y la medicina de precisión en México

Mariana A. Martínez-Castillo,¹ María E. Medrano-Ortiz de Zárate,² Alejandra Valenzuela-Pérez,¹ Jorge A. Ruiz-Romero,¹ Félix O. Quijano-Castro¹ y Mauricio Salcedo^{1*}

¹Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social; ²Consultorio médico privado. Ciudad de México, México

Resumen

La medicina de precisión en algunas enfermedades es una realidad; respalda el desarrollo de métodos diagnósticos certeros y específicos, de nuevas drogas y moléculas. Nuestro equipo de investigación en México, conformado por investigadores clínicos y biomédicos, desde hace 20 años realiza de forma gratuita el diagnóstico mutacional del gen *RET* y su relación con el cáncer medular de tiroides y la neoplasia endocrina múltiple (NEM) 2 y 3. Las variantes patogénicas de *RET* en la población mexicana coinciden con los datos reportados: la mayoría con 634/NEM2 y 918/NEM3. Actualmente se están desarrollando nuevos métodos de nanobiotecnología para este tipo de determinaciones, de tal forma que puedan obtenerse resultados más rápidos, simples, sensibles y específicos aplicables en todo tipo de laboratorio.

PALABRAS CLAVE: Neoplasia de tiroides. Neoplasia endocrina múltiple. Gen *RET*. Medicina de precisión.

RET gene mutational diagnosis and precision medicine in Mexico

Abstract

Precision medicine is a reality in some diseases; it supports the development of accurate and specific diagnostic methods, new drugs and molecules. Our research team in Mexico, made up of clinical and biomedical researchers, has been performing free *RET* gene mutational diagnosis for medullary thyroid cancer and multiple endocrine neoplasia (MEN) 2 and 3 for 20 years. *RET* pathogenic variants in the Mexican population are consistent with reported data: most common mutations are 634/NEM2 and 918/NEM3. Currently, new nanobiotechnology methods are being developed for this type of determination in order to obtain faster, simpler, more sensitive and specific results applicable in all types of laboratories.

KEYWORDS: Thyroid neoplasm. Multiple endocrine neoplasia. *RET* gene. Precision medicine.

Introducción

El proyecto del genoma humano derivó en una enorme cantidad de información genética, debido fundamentalmente al desarrollo tecnológico de la secuenciación de los ácidos nucleicos.¹ Lo anterior permitió

la implementación de la medicina de precisión, con el desarrollo de diferentes métodos moleculares diagnósticos y terapias blanco, dirigidas a mutaciones o variantes patogénicas.^{1,2}

A la fecha son varios los ejemplos exitosos: las mutaciones se usan como marcadores moleculares,

Correspondencia:

*Mauricio Salcedo

E-mail: masava89@gmail.com

0016-3813/© 2022 Academia Nacional de Medicina de México, A.C. Publicado por Permanyer. Este es un artículo *open access* bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fecha de recepción: 15-02-2022

Fecha de aceptación: 03-03-2022

DOI: 10.24875/GMM.22000052

Gac Med Mex. 2022;158:160-166

Disponible en PubMed

www.gacetamedicademexico.com

así como para el desarrollo tecnológico de novedosas drogas específicas o nuevas taxonomías oncogenómicas. Otros ejemplos son el estudio de la leucemia mieloide crónica relacionada con el cromosoma Filadelfia³ y del cáncer mamario con los genes supresores *BRCA1/2*.⁴ Una estrategia mucho más compleja que las anteriores es la prueba TMB (*tumor mutational burden*), con la que se buscan variantes patogénicas en más de 400 genes, para individualizar el manejo terapéutico enfocado a genes *master* o *drivers*.^{5,6} De igual forma ocurre con el cáncer medular de tiroides (CMT), ya que gracias a su asociación con variantes patogénicas en el oncogén *RET*, este es aceptado como otra prueba molecular en cáncer.⁷

No cabe duda de que la aplicación de técnicas ómicas-moleculares son estrategias fundamentales para identificar blancos terapéuticos que se adapten exclusivamente al individuo, por lo que las posibilidades son casi inimaginables.⁶

El gen *RET* y su proteína

El protooncogen *RET* contiene 21 exones y codifica para una proteína transmembranal de 1114 aminoácidos; en su región extracelular presenta cuatro dominios tipo cadherina y uno rico en cisteínas, lo que facilita la dimerización del receptor para su activación; en la región transmembranal, yuxtamembranal e intracelular posee dos dominios de actividad de tirosina cinasa (Figura 1).^{7,8}

En las etapas tempranas del desarrollo, *RET* induce el crecimiento y morfogénesis del sistema genitourinario, se expresa en la cresta neural y es esencial para el desarrollo del sistema nervioso entérico.^{9,10} En los adultos actúa como proteína de supervivencia de neuronas centrales y periféricas y se expresa en células C tiroideas.

Por su importante papel en la morfogénesis y maduración, no es sorprendente el papel de *RET* en diversas patologías:⁹ *RET* está mutado en el cáncer papilar del tiroides^{9,11} y sobreexpresado en enfermedades hematológicas⁹ y en carcinoma de páncreas, pulmón y mama.¹²⁻¹⁴

Del gen *RET* al CMT y neoplasias endocrinas múltiples (NEM)

La figura patognomónica del CMT son las células C parafooliculares alteradas.¹⁵ En términos genéticos, el CMT se presenta de manera autosómica

dominante, por lo que 100 % de los sujetos con mutación en *RET* (heterocigotos) desarrollarán CMT en algún momento de su vida,¹⁶ el cual constituye una de las principales manifestaciones neoplásicas tempranas en la mayoría de los individuos NEM2 y 3.

Inicialmente, algunas familias NEM2 fueron clasificadas incorrectamente con CMT familiar (CMTF), aspecto de interés clínico ya que es indispensable descartar oportunamente alteraciones en las glándulas paratiroides, feocromocitomas, etcétera, y definir que los CMTF son pacientes NEM2 verdaderos.^{15,17,18} En este contexto y acorde a la Asociación Americana de Tiroides, la agresividad clínica del CMT depende de la variante patogénica en *RET*, conocimiento que ha permitido formar grupos de riesgo (Tabla 1).¹⁶ Independientemente del tipo de variantes patogénicas presentes, estas incrementan la vida media de la proteína.

Otro dato clínico de importancia es que en las familias con CMT se presenta el fenómeno de anticipación: al heredar la mutación, el fenotipo se presentará aproximadamente 10 años más temprano que en el padre o madre afectado, es decir, en cada generación el individuo afectado es más joven.¹⁷

El reto es encontrar la variante patogénica en *RET*. Ya que estas mutaciones se localizan en sitios calientes, su búsqueda y detección se facilita tecnológicamente en los familiares (Figura 1). Estos sitios se localizan dentro de los exones 5, 8, 10, 11, 13-16, virtualmente en 100 % de los casos, y son característicos para el diagnóstico de CMTF, CMT esporádico o NEM2 y NEM3.^{11,15,16}

Correlación del genotipo-fenotipo de *RET*

Los estudios genéticos sobre las mutaciones en *RET* indican una fuerte correlación genotipo-fenotipo, por lo que esta relación es un arma poderosa y su valor radica en la predicción del inicio de la enfermedad y el pronóstico; actualmente se utiliza como una guía para la intervención terapéutica y el manejo de los pacientes.

La complejidad de *RET* se aprecia en la diversidad de sus variantes; bases de datos como ARUP o COSMIC reportan 199, 44.8 % patogénicas, 51.4 % de significado incierto y el resto de índole benigna.¹⁹⁻²¹

Más de 95 % de los pacientes con NEM2 presenta una de las variantes patogénicas en los codones 609, 611, 618, 620, 630 o 634,^{9,22} mientras NEM3 virtualmente se asocia al codón 918. Este síndrome se caracteriza por neuromas mucosos, *habitus* marfanoides, CMT, feocromocitoma, así como

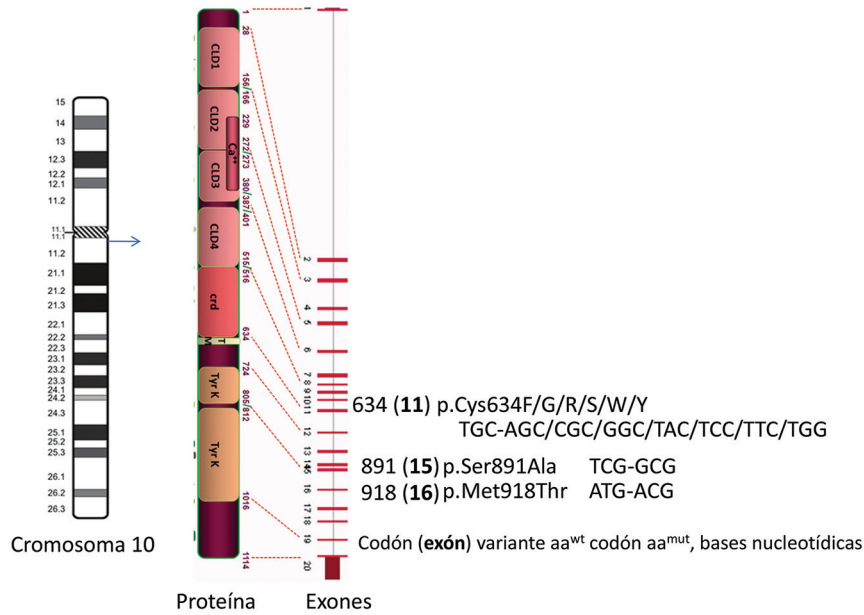


Figura 1. Esquema representativo del gen *RET* y su proteína. Ideograma del cromosoma 10 con el patrón de bandas G, la flecha indica la posición citogenética aproximada de *RET*. A la derecha, esquema representativo de la proteína *RET* que muestra las distintas regiones proteicas y los sitios de mutación correspondientes en los exones (líneas rojas pequeñas). En seguida se observan tres ejemplos de la nomenclatura para las variantes patogénicas de *NEM2* y *NEM3*. Figura tomada y modificada de <http://atlasgeneticsoncology.org/index.html>.

Tabla 1. Recomendaciones para testeo molecular de variantes patogénicas de *RET* y tiroidectomía profiláctica

| Categoría de riesgo ATA para el CMT | Codón en el gen <i>RET</i> (exón) | Edad indicada para el testeo molecular* | Edad indicada para tiroidectomía profiláctica** |
|-------------------------------------|---|---|--|
| Muy alto | 918 (16) | — | Uno a seis meses |
| Alto | 634, 883 (11, 15) | A los tres años | Antes de los 5 años |
| Moderado | 533, 609, 611, 618, 620, 630, 631, 666, 768, 790, 804, 891, 912 (10, 11, 13-16) | A los cinco años | Infancia o adolescencia con base en la revisión de los niveles de calcitonina en suero |

Las palabras resaltadas con negritas indican el exón donde se localizan los codones de sitios de mutación.

*Exploración física anual, ecografía de cuello y medición de calcitonina sérica.

**Los pacientes deben excluirse antes de la tiroidectomía si ya presentan feocromocitoma. Estas recomendaciones son acordes con las de la Asociación Americana de Tiroides (ATA, American Thyroid Association).¹⁶

ganglioneuromatosis gastrointestinal, sin hiperparatiroidismo. Las primeras manifestaciones se observan a edad más temprana que en los pacientes con *NEM2*, frecuentemente durante la lactancia, y suelen acompañarse de estreñimiento crónico, distensión abdominal, diarrea o megacolon al nacimiento.²² Las proteínas originadas por esas variantes se asocian a un fenotipo severo y de peor pronóstico cuya expectativa de vida no excede de los 20 años.⁹

Diagnóstico clínico-molecular de CMT/*NEM*

El CMT se presenta frecuentemente con la detección fortuita (incidental) o por palpación de un nódulo

tiroideo aislado no doloroso o por el crecimiento de un ganglio cervical. El ultrasonido y la citología por aspiración con aguja fina confirman el diagnóstico y se procede a realizar la tiroidectomía total con disección selectiva de ambos cuellos por la agresividad biológica de esta neoplasia.^{6,16,22,23}

La metodología de apoyo diagnóstica utilizada en México para los CMT/*NEM* se establece con la detección de los niveles séricos de calcitonina ≥ 10 pg/mL y del antígeno carcinoembrionario.¹⁶

En un esfuerzo para brindar una atención médica integral, durante las últimas dos décadas nuestro equipo de investigación está incluyendo la detección de mutaciones de *RET*. Para ofrecer un abordaje

integral y decidir la conducta a seguir, la prueba molecular se realiza en células sanguíneas y tumorales, para discriminar la mutación en línea germinal o somática.^{15,17}

El cribado bioquímico en los familiares de un paciente CMT/NEM2-NEM3 se realiza con el método estándar de determinación de calcitonina, frecuentemente tras la estimulación con pentagastrina; por el contrario, el cribado molecular se realiza una sola vez en la vida.

La detección temprana permite reducir la morbimortalidad, puesto que una pronta tiroidectomía es curativa en determinados estadios.^{24,25} De tal forma, resulta claro que la determinación bioquímica combinada con el testeo genético-molecular aumenta la sensibilidad y agudeza del proceso de tamizaje. En nuestra experiencia, el testeo molecular solo resulta de enorme utilidad, mientras que una vez detectada la mutación, el paciente es sometido a la determinación de calcitonina con notable costo-beneficio.

Asesoramiento y medicina de precisión

Una vez que los pacientes tienen el diagnóstico clínico, altos niveles séricos de calcitonina y el gen mutado, deben recibir asesoramiento genético debido a la predisposición de su descendencia a desarrollar la enfermedad. En tal caso, todos los familiares de primer grado del probando deben someterse al diagnóstico molecular de *RET*. En este contexto, dependiendo del grado de riesgo por la mutación, está indicada la tiroidectomía profiláctica o la disección de los ganglios linfáticos centrales.²⁶

No obstante, antes de diseñar planes de tratamiento quirúrgico deben sopesarse los beneficios oncológicos que se esperan de la operación contra los riesgos. En el beneficio neto de la cirugía profiláctica debe considerarse el riesgo continuo de morbilidad oncológica si no se trata esta patología, la reducción del riesgo relativo del tratamiento (curación quirúrgica, probablemente alta) y el riesgo de daño del tratamiento (morbilidad posquirúrgica, probablemente baja en manos experimentadas).²⁷ Acorde a lo anterior, hay dos escuelas para actuar éticamente en estos casos: realizar la cirugía hasta que el portador presente sintomatología o efectuar la cirugía profiláctica a la edad más temprana posible.²² La Asociación Americana de Tiroides (Tabla 1)¹⁶ recomienda que la tiroidectomía profiláctica se efectuó durante el primer año e, incluso, durante los primeros meses de vida en niños que se encuentran en la categoría de muy

alto riesgo (M918T). Los niños en la categoría de alto riesgo (C634F/G/R/S/W/Y, A883F) deben someterse a tiroidectomía profiláctica a la edad de cinco años, o antes en caso de que presenten niveles elevados de calcitonina basal o estimulada. La disección de los ganglios linfáticos centrales se puede aplicar a niños con calcitonina > 40 pg/mL o metástasis en los ganglios linfáticos detectada por métodos de imagen. En este caso, la experiencia quirúrgica del cirujano es determinante.²⁶

En niños con riesgo de desarrollo de CMT, el diagnóstico genético precoz y la cirugía profiláctica temprana en manos experimentadas se asociaron a excelentes resultados entre siete y 16 años después del procedimiento. Cuando los niños eran mayores, 10 años en comparación con 6.1 años, en la tiroidectomía profiláctica solo 44/50 (88 %) se curaron bioquímicamente, en comparación con 114/115, 99.1 %. Estos datos apoyan que un adecuado asesoramiento y abordamiento diagnóstico de la enfermedad se relacionan con tasas de curación bioquímica de 100 %, ausencia de enfermedad estructural residual o recurrencia, y rara vez con alguna morbilidad operatoria permanente.²⁷

El testeo molecular de *RET* en el Instituto Mexicano del Seguro Social

El equipo multidisciplinario de investigación genómica conformado por investigadores clínicos y biomédicos trabaja como Centro de Diagnóstico Mutacional de *RET*. Para su creación, fue necesaria la participación de líderes especialistas de otras entidades del sector salud, un esfuerzo sin precedentes. El Centro recopila la información para la generación de bases de datos y divulgación de la epidemiología de CMT-*RET* en la población mexicana.

Hasta la fecha, siete familias con CMT/NEM3 no relacionadas fueron positivas (ATG > ACG) a M918T somática y germinal; la mayoría de los sujetos fueron del sexo masculino (edad \approx 15 años) con calcitonina > 400 pg/mL antes del procedimiento quirúrgico, con seguimiento por más de 100 meses. Una paciente femenina de 59 años con calcitonina sérica de 2400 pg/mL presentó la mutación somática; el seguimiento se prolongó por seis meses. Todos los pacientes fueron sujetos a procedimiento quirúrgico y presentaron niveles de calcitonina \leq 10 pg/mL en controles posteriores. Histológicamente presentaron un patrón de CMT clásico y solo uno con patrón oncócito.

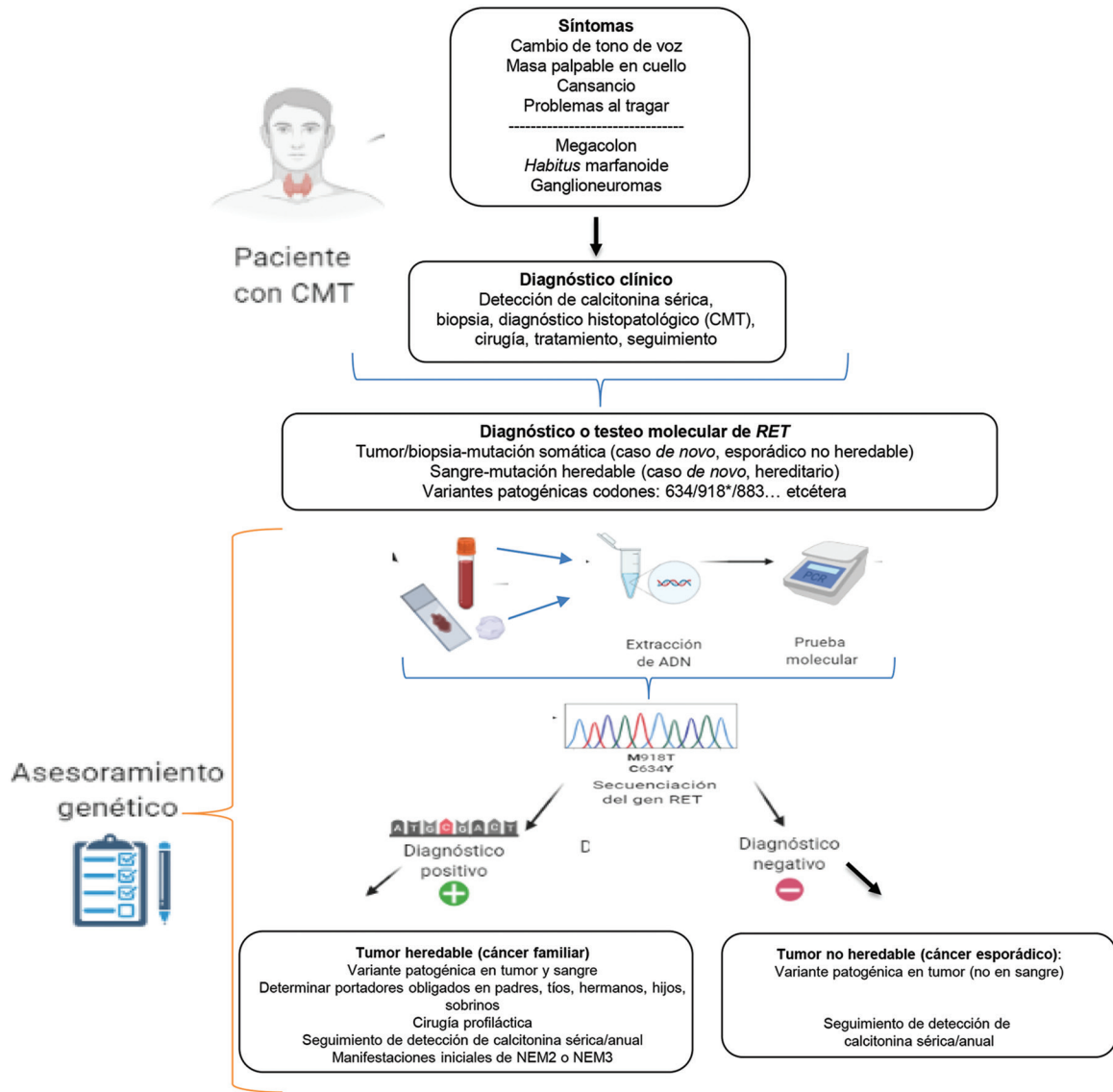


Figura 2. Algoritmo sugerido en el diagnóstico molecular del gen RET. Se muestra la estrategia para el testeo molecular en la detección de variantes patogénicas del gen RET. En el recuadro se observan los principales síntomas sugerentes de CMT, NEM2 y NEM3. Estos síndromes se descartan con el diagnóstico clínico. En caso positivo se procede al testeo molecular. La detección de la mutación se debe realizar a partir de una muestra de sangre (germinal) y de tejido (o incluido en parafina, somático). De las muestras se extrae el ADN, el cual se somete a amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Posteriormente se realiza la secuenciación del ADN amplificado, con lo que se genera el electroferograma, como se muestra en la figura. La prueba positiva en sangre es indicativa de mutación germinal o del tipo heredable, por lo que se debe efectuar un tamizaje con esa misma mutación en cada uno de los familiares del probando; en los sujetos positivos se sugiere asesoramiento genético y quirúrgico. El resultado negativo para mutación en sangre y tejido es indicativo de cáncer no asociado a RET y de cualquier otro tipo de mutación en otros genes.

Familias mexicanas con CMT/NEM2

Se han estudiado más de 20 familias CMT/NEM2 no relacionadas, la mayoría positivas para las variantes C634R, dos C634W y una C634T, todas con la histología de patrón clásico.

Especialmente de una familia con más de 20 años de seguimiento se obtuvo información clínica valiosa;

se trató de 50 miembros estudiados que correspondieron a cinco generaciones. Inicialmente fue diagnosticada como CMTF, con cinco miembros C634R (somática y germinal) positivos. Por presentar la mutación germinal, todos los integrantes con vínculos sanguíneos (primos, hermanos, tíos, sobrinos, hijos) fueron sujetos al testeo molecular. De esta forma, se identificaron 15 portadores de la mutación, cinco

menores de tres años quienes fueron sujetos a tiroidectomía profiláctica. Las piezas quirúrgicas mostraron hiperplasia de paratiroides. En el seguimiento aproximado de 16 años, todos reportan curación bioquímica, ausencia de enfermedad residual y ninguna evidencia de recurrencia (datos en proceso para publicación), resultados que concuerdan con los de una revisión europea. A los de ocho años del diagnóstico inicial, el probando debutó con feocromocitoma, por lo cual esta familia se clasificó como NEM2. Con el análisis genético se logró identificar que la variante C634R se presenta con alta penetrancia, 79 % a la edad de 30 años.¹⁷ Con estos resultados sugerimos que los pacientes positivos para dicha variante deberían ser reclasificados como NEM2, tal como sucede con la variante C618S.²⁸ Esto proporciona evidencia de que las variantes patogénicas 618, 634 o 918 están asociadas a NEM2 o NEM3, respectivamente.

Los datos anteriores harán posible el desarrollo de técnicas diagnósticas de nueva generación y adecuaciones para sistemas simples, precisos, específicos, flexibles y económicos, con el fin de generar programas y algoritmos accesibles a todos los sectores de la población (Figura 2).^{15,29-31}

Afortunadamente, los síndromes CMT/NEM2-NEM3 son patologías poco frecuentes^{32,33} que se relacionan etnográficamente y cuyas mutaciones se siguen transmitiendo en la actualidad.³⁴ Lo anterior se demuestra por los escasos datos publicados, que representan un *lapsus* por la rareza de la frecuencia de estos síndromes, o bien, por las tendencias de la ciencia,³⁵⁻³⁷ de ahí que se exhorte a incrementar los estudios sobre estas patologías.

Conclusiones

La medicina de precisión en México es una realidad. Como resultado de la revolución molecular y genómica, la detección oportuna de las enfermedades genera la posibilidad de realizar intervenciones para prevenir la aparición de síntomas o minimizar su gravedad.

El conocimiento sobre los cambios genéticos de cada persona tiene como objetivo ayudar a decidir cuál tratamiento será el adecuado o puede tener mayor probabilidad de funcionar en un paciente específico.^{38,39}

Agradecimientos

Los autores agradecen los apoyos económicos otorgados por el Conacyt y el Instituto Mexicano del

Seguro Social, los cuales han sido fundamentales para la implementación y aplicación de las pruebas. Agradecemos su desinteresado apoyo y colaboración a los doctores Sergio Rodríguez Cuevas, María Elena Medrano Ortiz de Zárate y grupos clínicos del Hospital de Pediatría y Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI (Instituto Mexicano del Seguro Social), así como del Instituto Nacional de Pediatría y del Hospital Infantil de México "Federico Gómez". Mariana A. Martínez Castillo es becaria de Conacyt y del Instituto Mexicano del Seguro Social. Jorge A. Ruiz Romero es pasante de medicina del Instituto Politécnico Nacional Servicio Social.

Financiamiento

El presente manuscrito no recibió apoyo económico para su elaboración.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no realizaron experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Bibliografía

1. Ashley EA. Towards precision medicine. *Nat Rev Genet.* 2016;17:507-522.
2. Jackson SE, Chester JD. Personalised cancer medicine: personalized cancer medicine. *Int J Cancer.* 2015;137:262-266.
3. Tasian SK, Loh ML, Hunger SP. Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2017;130:2064-2072.
4. Manahan ER, Kuerer H, Sebastian M, Hughes KS, Boughey JC, Euhus DM, et al. Consensus guidelines on genetic testing for hereditary breast cancer from the American Society of Breast Surgeons. *Ann Surg Oncol.* 2019;26:3025-3031.
5. Berland L, Heeke S, Humbert O, Macocco A, Long-Mira E, Lassalle S, et al. Current views on tumor mutational burden in patients with non-small cell lung cancer treated by immune checkpoint inhibitors. *J Thorac Dis.* 2019;11:S71-S80.
6. Ziegelstein RC. Personalomics. *JAMA Intern Med.* 2015;175:888-889.
7. Drlon A, Hu ZI, Lai GY, Tan DSW. Targeting RET-driven cancers: lessons from evolving preclinical and clinical landscapes. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018;15:150.
8. Cakir M, Grossman AB. Medullary thyroid cancer: molecular biology and novel molecular therapies. *Neuroendocrinology.* 2009;90:323-348.

9. Santoro M, Moccia M, Federico G, Carlomagno F. RET gene fusions in malignancies of the thyroid and other tissues. *Genes (Basel)*. 2020;11:424.
10. Ibáñez CF. Structure and physiology of the RET receptor tyrosine kinase. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5:a009134.
11. Yeganeh MZ, Sheikholeslami S, Hedayati M. RET proto oncogene mutation detection and medullary thyroid carcinoma prevention. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16:2107-2117.
12. Romei C, Ciampi R, Elsei R. A comprehensive overview of the role of the RET proto-oncogene in thyroid carcinoma. *Nat Rev Endocrinol*. 2016;12:192-202.
13. Belli C, Anand S, Gainor J, Penault-Llorca F, Subbiah V, Drilon A. Progresses toward precision medicine in RET-altered solid tumors. *Clin Cancer Res*. 2020;23:6102-6111.
14. Wirth LJ, Sherman E, Robinson B, Solomon B, Kang H, Lorch J, et al. Efficacy of Selpercatinib in RET-altered thyroid cancers. *N Engl J Med*. 2020;383:825-835.
15. Takahashi M, Kawai K, Asai N. Roles of the RET proto-oncogene in cancer and development. *JMA J*. 2020 15;3:175-181.
16. Wells SA, Asa SL, Dralle H, Elisei R, Evans DB, Gagel R, et al. Revised American Thyroid Association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2015;25:567-610.
17. González-Yebra B, Medrano ME, Mantilla A, Palma V, Colin C, Hernández DM, et al. Penetrance of inherited medullary thyroid carcinoma and genotype-phenotype correlation in a large multiple endocrine neoplasia type 2A family with C634Y RET mutation. *Endocr Pathol*. 2003;14:71-80.
18. González B, Salcedo M, Medrano ME, Mantilla A, Quiñónez G, Benítez-Bribiesca L, et al. RET oncogene mutations in medullary thyroid carcinoma in Mexican families. *Arch Med Res*. 2003;34:41-49.
19. Elisei R, Bottici V, Cappagli V, Ramone T, Tacito A, Ciampi R, et al. Clinical utility of genetic diagnosis for sporadic and hereditary medullary thyroid carcinoma. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2019;80:187-190.
20. Margraf RL, Crockett DK, Krautscheid PM, Seamons R, Calderon FR, Wittwer CT, et al. Multiple endocrine neoplasia type 2 RET protooncogene database: repository of MEN2-associated RET sequence variation and reference for genotype/phenotype correlations. *Hum Mutat*. 2009;30:548-556.
21. Elisei R, Tacito A, Ramone T, Ciampi R, Bottici V, Cappagli V, et al. Twenty-five years experience on RET genetic screening on hereditary MTC: an update on the prevalence of germline RET mutations. *Genes*. 2019;10:698.
22. Crockett DK, Piccolo SR, Ridge PG, Margraf RL, Lyon E, et al. Predicting phenotypic severity of uncertain gene variants in the RET proto-oncogene. *PLoS One*. 2011;6:e18380.
23. Jasim S, Ying AK, Waguespack SG, Rich TA, Grubbs EG, Jimenez C, et al. Multiple endocrine neoplasia type 2B with a RET proto-oncogene A883F mutation displays a more indolent form of medullary thyroid carcinoma compared with a RET M918T mutation. *Thyroid*. 2011;21:189-192.
24. Ball DW. Medullary thyroid cancer: monitoring and therapy. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2007;36:823-837.
25. Matias-Guiu X, de Lellis R. Medullary thyroid carcinoma: a 25-year perspective. *Endocr Pathol*. 2014;25:21-29.
26. Wells SA. Advances in the management of MEN2: from improved surgical and medical treatment to novel kinase inhibitors. *Endocr Relat Cancer*. 2018;25:T1-T13.
27. Sezer A, Çelik M. Prophylactic and therapeutic surgery in familial medullary thyroid cancer. En: Özüiker T, Adaş M, Günay S, editores. *Thyroid and parathyroid diseases*. Suiza: Springer International Publishing; 2019.
28. Machens A, Dralle H. Long-term outcome after DNA-based prophylactic neck surgery in children at risk of hereditary medullary thyroid cancer. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2019;33:101274.
29. Moers AM, Landsvater RM, Schaap C, Jansen-Schillhorn-van Veen JM, de Valk IA, Blijham GH, et al. Familial medullary thyroid carcinoma: not a distinct entity? Genotype-phenotype correlation in a large family. *Am J Med*. 1996;101:635-641.
30. González-Yebra B, Peralta R, González AL, Ayala-García MA, Medrano ME, Salcedo M. Genetic alterations in a primary medullary thyroid carcinoma and its lymph node metastasis in a patient with 15 years follow-up. *Diagn Pathol*. 2012;7:63.
31. Romei C, Cosci B, Renzini G, Bottici V, Molinaro E, Agate L, et al. RET genetic screening of sporadic medullary thyroid cancer (MTC) allows the preclinical diagnosis of unsuspected gene carriers and the identification of a relevant percentage of hidden familial MTC (FMTC): clinical benefits of RET genetic screening. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;74:241-247.
32. Oczko-Wojciechowska M, Czarniecka A, Gawlik T, Jarzab B, Krajewska J. Current status of the prognostic molecular markers in medullary thyroid carcinoma. *Endocr Connect*. 2020;9:R251-R263.
33. Maciel RM, Maia AL. Global endocrinology: geographical variation in the profile of RET variants in patients with medullary thyroid cancer: a comprehensive review. *Eur J Endocrinol*. 2022;186:R15-R30.
34. Opsahl EM, Brauckhoff M, Schlichting E, Helset K, Svartberg J, Brauckhoff K, et al. A nationwide study of multiple endocrine neoplasia type 2A in Norway: predictive and prognostic factors for the clinical course of medullary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2016;26:1225-1238.
35. Machens A, Elwerr M, Lorenz K, Weber F, Dralle H. 100-year evolution of precision medicine and surgery for multiple endocrine neoplasia type 2A. *Endocrine*. 2020;68:368-376.
36. Litton JK, Burstein HJ, Turner NC. *Molecular testing in breast cancer*. EE. UU.: American Society of Clinical Oncology Educational Book; 2019.
37. Khan Z, Na JS, Jerome S. Review of COVID-19 myocarditis in competitive athletes: legitimate concern or fake news? *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:684780.
38. Screening for COVID-19: deciding which test to use in testing programs. EE. UU.: U.S. Food and Drug Administration. 2022.
39. Mulligan LM. Progress and potential impact of RET kinase targeting in cancer. *Expert Rev Proteomics*. 2016;13:631-633.