

Ingrés d'Acadèmics corresponents

EL NOSTRE CONEIXEMENT D'UN TUMOR FASCINANT DEL TIROIDES. PASSAT, PRESENT I FUTUR

Xavier Matias-Guiu

Excel·lentíssim President, molt il·lustres acadèmics, senyores, senyors, companys, amics, el títol del treball que llegiré avui per a la meua recepció com acadèmic corresponent es El nostre coneixement d'un tumor fascinant del tiroides. Passat, present i futur.

Aquesta presentació vol ser un homenatge a aquells que dediquen el seu temps i entusiasme a aprofundir en el coneixement de malalties com el **carcinoma medul·lar de tiroides (CMT)**, sempre tenint en compte el benefici que la recerca pot tenir en l'esdevenir dels malalts. En aquesta presentació, faré un relat dels principals descobriments en relació al coneixement d'aquest tipus de tumor, i ho faré en quatre períodes; el passat remot, el passat recent, el present i el futur.

El CMT és un tumor enigmàtic. És infreqüent, és agressiu, es pot desenvolupar en associació amb altres neoplàsies endocrines, i pot succeir en un context familiar. La seva imatge macroscòpica i microscòpica és peculiar, amb substància amiloide, i el fa fascinant.

L'inici. Va ser descrit a 1959 per Hazard, després que altres autors (Stoffel, 1910; Horn, 1951; Brandenburg, 1954) mencionessin l'associació ocasional de tumors tiroïdals amb substància amiloide, i plantegessin la hipòtesi que el tumor s'originava en associació amb amiloidosi primària. Inclús es va pensar que fos l'amiloidosi la causa del propi tumor. A 1957, J Laskowski l'havia descrit en polonès i en la literatura mèdica polonesa com a "carcinoma hyalinicum thyroideae", però el seu treball va passar inadvertit. El seu comportament diferent al d'altres tumors de tiroides, indicava que constituïa una nova entitat clínico-patològica.

A 1961, Sipple va descriure l'associació de tumors de tiroides amb feocromocitoma (FEO) en un pacient, i va trobar a la literatura altres casos semblants. A 1968, Schimke va revisar les preparacions microscòpiques del cas publicat per Sipple, i va reinterpretar el tumor com a CMT. A 1962, Cushman va descriure tres casos de

CMT en tres successives generacions d'una família, dos dels quals presentaven també Feos. A 1968, Steiner va introduir el concepte de Neoplàsia Endocrina Múltiple (MEN), per descriure l'associació de tumors endocrins, entre ells el CMT. A 1973, Sizemore va tipificar la síndrome MEN 2A i el MEN 2B.

Aquest és el concepte que tenim en l'actualitat. El CMT pot ser esporàdic en un 75% dels cassos, i familiar en el 25% restant. Quan és familiar, pot aparèixer aïlladament, o bé en associació a altres malalties endocrines. Definim el MEN 2A com l'associació de CMT, FEO i hiperplàsia de paratiroides, ocasionalment en presència d'una lesió cutània peculiar, el lichen amiloidosus, amb dipòsit de substància amiloide a la pell de l'esquena. Aquesta és una situació curiosa. Dos lesions (CMT i lichen amiloidosus) que succeeixen en els mateixos pacients, i que les dues tenen substància amiloide. Avui sabem que l'origen de la substància amiloide és diferent en els dos tumors. Al CMT, és producte de la hormona produïda, que, com veurem més endavant, és la calcitonina. En el lichen amiloidosus, és producte de la degradació de cèl·lules epitelials de la pell de l'esquena, ocasionades pel rascat (a vegades inconscient), per una activació exagerada de les neurones sensibles de la medul·la espinal. Definim el MEN 2B, quan CMT i FEO s'associen a neuromes mucosos i alteracions mesodèrmiques. El MEN2B és una malaltia greu, on els tumors de tiroides són molt agressius. Per les seves manifestacions cutànies i mucoses, la lesió es ocasionalment diagnosticada pels dermatòlegs.

Com es va identificar la cèl·lula d'origen? Durant anys es pensava que el tiroides estava exclusivament constituït per cèl·lules fol·liculars, fins que Hürthle a 1876, i Baber a 1877 varen descriure les cèl·lules parafol·liculars, com unes cèl·lules de citoplasma clar, infreqüents, que es troben al tiroides entremig de les cèl·lules fol·liculars. A 1932, Nonidez va demostrar que tenien grànuls que tenien afinitat per la plata, un tret freqüent a les cèl·lules que produeixen certes hormones.

A 1962, Copp va descriure la calcitonina, com una hormona que disminuïa els nivells de calci, i a 1964, Foster va confirmar que la calcitonina es produïa al tiroides. A 1966, Pearse les va denominar cèl·lules C, i Busolatti i Pearse varen demostrar que produïen calcitonina. A 1966, Williams va suggerir que el CMT s'originava de les cèl·lules C. A 1968, Melvin i Tashjian van veure que els pacients amb CMT tenien nivells sèrics elevats de calcitonina, i a 1969, Busolatti va demostrar que el CMT produïa calcitonina.

A 1973, Hubert Wolfe va veure que en alguns familiars de pacients amb CMT, hi havia nivells elevats de calcitonina, que corresponia amb la presència d'un nombre exagerat de cèl·lules C, (la hiperplàsia de cèl·lules C), i que aquesta era la lesió precursora del CMT familiar. Aquest va ser un descobriment molt important que va fer que el Departament de Patologia del New England Medical Center, a la Universitat de Tufts, a Boston, es convertís en un dels principals centres de recerca sobre el CMT. El Dr Wolfe, i el seu deixeble el Dr Ronald De Lellis van fer contribucions importantíssimes al coneixement d'aquesta malaltia, com ara l'estudi dels múltiples productes hormonals que produeix. Jo vaig tenir la immensa sort de fer la meua estada postdoctoral amb els Drs Wolfe i DeLellis. Sempre els hi estaré agraït del que vaig aprendre, no només, del CMT, sinó també de la biologia molecular del càncer i de la patologia molecular.

A partir del reconeixement de la hiperplàsia de cèl·lules C, com a lesió precursora del CMT familiar, la identificació d'aquesta lesió en el teixit tiroïdal adjacent a un CMT va ser pres com una indicació que el tumor era familiar.

Fins a 1991, estava clar que el CMT es podia associar a altres lesions, i que en un 25% tenia una presentació familiar. La sospita de que un tumor era familiar es basava en els antecedents familiars, la presència d'hiperplàsia de cèl·lules C, o la multicentricitat. Quan el tumor era solitari, i no hi havia hiperplàsia de cèl·lules C, es pensava que el tumor era esporàdic. Tot i això, els familiars de pacients amb CMT eren sotmesos a anàlisi dels nivells de calcitonina sèrica, tant de forma basal, com després d'estimulació amb calci i pentagastrina, per tal de fer un diagnòstic precoç. La previsió era que aquestes persones fossin sotmeses a aquests anàlisis una vegada a l'any durant tota la seva vida.

Passat recent. La situació va canviar a principis de la dècada dels 90, el que denominaré passat recent.

Dos grups independents, liderats pels doctors Ponder al Regne Unit, i Donis-Keller a Estats Units, van trobar que mutacions a la línia germinal en un gen denominat RET eren responsables de les formes familiars de CMT. Successius estudis van demostrar que les mutacions es trobaven en els exons 10 a 16 del gen, i que les localitzades en l'exò 16 eren les responsables de les formes més agressives, el MEN 2B. També es va veure que mutacions somàtiques en aquest gen apareixien en un cert percentatge de pacients amb CMT esporàdic

Encara recordo, a Nadal de 1992, quan jo ja havia tornat a Barcelona, el Dr Wolfe em va trucar per explicar-me que el Dr Ponder, a Anglaterra, havia trobat les mutacions a RET, i que en els propers mesos sortiria publicada la descripció original. Em va comentar que Ponder havia trobat les mutacions en els mateixos tumors que jo havia estat estudiant a Boston. La conversa va ser molt emocionant, perquè justament en aquests tumors, jo, i el meu company Paul Komminoth havíem estat estudiant l'expressió del gen RET, quan, evidentment, no sabíem encara que, de fet, era el gen responsable de la malaltia.

Des de llavors, l'estudi mutacional de RET va convertir-se en una part important de la pràctica clínica davant d'un pacient amb CMT, en tot el món, però no tots els laboratoris tenien les condicions per a fer-ho. En aquells moments, jo treballava al servei d'Anatomia Patològica de l'Hospital de Sant Pau, sota la direcció del Dr Jaime Prat i era responsable del diagnòstic de la patologia endocrina, i de la interacció amb el servei d'Endocrinologia, dirigit pel Dr Alberto de Leiva. Amb el seu suport vàrem posar en marxa l'estudi mutacional dels nostres pacients, i ben aviat vàrem començar a rebre mostres de pacients de carcinoma medul·lar de tota Espanya, i també d'altres països. La demostració de la mutació de RET a teixit tumoral però no en teixit normal, confirmava la naturalesa esporàdica del tumor, mentre que la detecció de la mutació en teixit normal o les cèl·lules mononucleades de la sang, implicava el diagnòstic de càncer familiar. Com que el CMT es presentava en el 100% dels pacients amb mutacions germinals de RET, aviat es va proposar la realització de tiroïdectomies profilàctiques en pacients (generalment nens) asimptomàtics, per evitar el desenvolupament futur del tumor. Vaig tenir l'oportunitat de fer el diagnòstic molecular en un nen de Navarra, en una mostra de sang, enviada pel Dr Lluís Forgas, que va permetre fer la primera tiroïdectomia profilàctica a Espanya, a un nen portador d'una mutació a RET, on les

Dres Puras i De Miguel, a Pamplona, varen trobar un petit CMT, de menys de 5 mm.

Quasi vint anys després, l'estudi de les mutacions de RET ja és pràctica clínica, sense cap discussió. Hi ha diverses mutacions diferents, que s'associen a diversa agressivitat per part del tumor.

El present del CMT el situo a 2003, quan l'Organització Mundial de la Salut (OMS) va convocar a un grup d'investigadors per fer una actualització del coneixement de diverses neoplàsies endocrines, entre elles les de tiroïdes, i entre aquestes el CMT. A desembre de 2002, quan feia tot just tres mesos que m'havia traslladat de l'Hospital de sant Pau, al meu actual destí professional, a l'Hospital Universitari Arnau de Vilanova i la Universitat de Lleida, vaig rebre una trucada del Dr Ronald DeLellis. Em va explicar que la OMS li havia encarregat, juntament als Drs Lloyd, Heitz, i Eng, la coordinació de la redacció de la nova classificació, i que volia que jo participés en la part de patologia tiroïdal, i que coordinés el tema de CMT. Va ser una prova de generositat immensa perquè era ell, i no pas jo, l'expert mundial en aquest tipus de tumor; però, amb gran gratitud vaig acceptar. Vàrem treballar durant sis mesos, fins la reunió de consens, a Lió, a juny de 2003, on vaig tenir l'enorme privilegi, de compartir discussions amb els meus amics Paul Komminoth (el meu company a Boston), Mauro Papotti, deixeble de Bussolatti, el descobridor de la producció de calcitonina pel CMT, i de Dilwin Williams, la persona que va deduir que el CMT derivava de les cèl·lules parafol·liculars. En aquest document, es va fer una revisió de les contribucions més significatives en torn del CMT. En resum, és un tumor infreqüent, s'associa a elevada calcitonina sèrica, és un tumor neuroendocrí amb estroma amiloide, és obligatori fer estudi mutacional de RET, el seu pronòstic depèn molt de l'extensió tumoral, i té una pobra resposta al tractament quimioteràpic convencional.

Futur. Quin és el futur? El futur passa per reconèixer les alteracions moleculars del tumor, tractar d'identificar millor les formes més agressives, i tractar d'identificar molècules a les quals dirigir els esforços terapèutics. Hi ha uns quants grups que treballen en aquesta àrea, a Estats Units, al Regne Unit, a Itàlia, però també a Catalunya, a Lleida.

A 2003, poc després d'arribar a Lleida, amb la Dra Mercedes Robledo, del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas, a Madrid, vàrem decidir

ajuntar les nostres forces per estudiar les bases moleculars dels tumors tiroïdals, i, entre ells, el CMT. En aquest esforç s'hi ha ajuntat altra gent, com el Dr Encinas, i la Anna Macià a l'Institut de Recerca Biomèdica de Lleida, Esmeralda Castelblanco del grup d'Endocrinologia de l'IRBLLEIDA, o la gent del meu grup, com Pilar Gallel, Judit Pallares, Maria Santacana. Utilitzem les estratègies de genòmica del CNIO, i a Lleida, validem a nivell proteic i fem els estudis funcionals "in vitro" amb models cel·lulars i animals.

Fa unes setmanes, Aga Maliszewska, investigadora del grup de la Dra Robledo, va llegir la seva tesi, co-dirigida per mi, en que estudiava el perfil d'expressió gènica de CMT en funció de les seves mutacions de RET, identificant gens diana que, potser, podran explicar la diferent agressivitat dels tumors, i obrir la possibilitat d'inhibició farmacològica. Fa uns mesos, la prestigiosa revista *Oncogene* publicava un article en que Mario Encinas, identificava el gen *Sprouty 1*, com un gen supressor tumoral al CMT. Fa uns anys, el nostre grup aportava proves de la importància de la via NFκB en relació a les mutacions de RET; i, en un article publicat a *Endocrine Related Cancer*, plantejàvem la possibilitat de tractar als pacients amb CMT amb inhibidors de EGFR i de VEGF. Tenim, en aquests moments en curs estudis que, pensem, contribuiran a aprofundir en el coneixement d'aquest tumor, amb l'objectiu de millorar el pronòstic de les formes disseminades i contribuir al maneig dels pacients que pateixen aquest tipus de tumor.

En resum, el CMT és fascinant amb morfologia peculiar, associació a altres tumors, context familiar, susceptible de diagnòstic precoç per anàlisi genètica. El futur permetrà identificar millor les formes més agressives, i identificar nous mètodes de tractament.

Per finalitzar, no voldria acabar aquesta presentació sense expressar el meu agraïment a tots els companys amb qui he interaccionat en les institucions en que he tingut el privilegi de treballar. És impossible mencionar-les a totes. Als meus companys de l'Hospital de Sant Pau i la Universitat Autònoma de Barcelona, entre els anys 1982 i 2002, molt especialment al Dr Jaime Prat; sense la seva influència, la meua vida professional hagués sigut diferent. Als professionals del New England Medical Center, entre ells els Drs Wolfe i DeLellis, que van canviar la meua forma de treballar. I també a la gent de l'Hospital Universitari Arnau de Vilanova, la Universitat

de Lleida, i l'Institut de Recerca Biomèdica de Lleida (IRBLLEIDA), que tinc l'honor de dirigir, entre ells al Dr Viñas, que m'apadrina en aquest acte. A Lleida, i l'IRBLLEIDA n'és un exemple, es fa recerca d'excel·lència, seguint criteris d'avaluació internacionalment reconeguts, amb projectes finançats per agències públiques i privades espanyoles i internacionals, i amb publicacions a les revistes més prestigioses. Finalment, el meu reconeixement a la Dra Rosa Martí Laborda, la meva dona, companya, i col·laboradora científica, i als meus fills, sense la influència de la qual, no es podria entendre el que he sigut a nivell personal i professional.

I a tots els membres de la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya i al seu President, per aquest nomenament. Gràcies.

REFERÈNCIES

- 1- Hazard JB, Hawk WA, Crile G Jr: Medullary (solid) carcinoma of the thyroid; a clinicopathologic entity. *J Clin Endocrinol Metab* 1959 19:152-61
- 2- Carney JA. Familial multiple endocrine neoplasia: the first 100 years. *Am J Surg Pathol*. 2005; 29:254-74.
- 3- Wolfe HJ, Melvin KE, Cervi-Skinner SJ, Saadi AA, Juliar JF, Jackson CE, Tashjian AH Jr. C-cell hyperplasia preceding medullary thyroid carcinoma. *N Engl J Med*. 1973 289:437-41
- 4- Wolfe HJ, DeLellis RA. Familial medullary thyroid carcinoma and C cell hyperplasia. *Clin Endocrinol Metab*. 1981 Jul;10(2):351-65
- 5- Mole SE, Mulligan LM, Healey CS, Ponder BA, Tunncliffe A. Localisation of the gene for multiple endocrine neoplasia type 2A to a 480 kb region in chromosome band 10q11.2. *Hum Mol Genet*. 1993 2:247-52
- 6- Donis-Keller H, Dou S, Chi D, Carlson KM, Toshima K, Lairmore TC, Howe JR, Moley JF, Goodfellow P, Wells SA Jr. Mutations in the RET proto-oncogene are associated with MEN 2A and FMTC. *Hum Mol Genet*. 1993 2:851-6.
- 7- DeLellis R, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. 2004 World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of tumours of endocrine organs. Chapter 2: tumour of the thyroid and parathyroid. Lyon: IARC Press. IARC WHO Classification of Tumours 86-91
- 8- Matias Guiu X, Colomer A, Mato E, Cuatrecasas M, Komminoth P, Prat J, Wolfe H: Expression of the ret proto oncogene in pheochromocytoma. An in situ hybridization and northern blot study. *Journal of Pathology* 1995 176:63 68.
- 9- Komminoth P, Kunz EK, Matias Guiu X, Hiort O, Colomer A, Roth J, Heitz PHU: Analysis of ret proto oncogene point mutations allows for the discrimination of sporadic and inherited medullary thyroid carcinoma. *Cancer* 1995 76:479-89
- 10- Matias-Guiu X, Lagarda E, Calaf M, Azpiroz A, DeLeiva A, Prat J, Baiget M: Identification of a novel somatic mutation in the ret proto-oncogene in a patient with sporadic medullary thyroid carcinoma. *Human Mutation* 1997; 9:476.
- 11- Matias-Guiu X, LaGuerre J, Puras-Gil AM, Rosai J. Metastatic neuroendocrine tumors to the thyroid gland mimicking medullary carcinoma: A pathologic and immunohistochemical study of six cases. *Am J Surg Pathol* 1997; 21:754-762
- 12- Mato A, Matias-Guiu X, Chico A, Webb S, Cabezas R, Bernal L, de Leiva A. Somatostatin and somatostatin receptor subtypes gene expression in medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocr Metab* 1998; 83:2417-2420
- 13- Gallel P, Pallares J, Dolcet X, Llobet D, Eritja N, Santacana M, Yeramian A, Palomar-Asenjo V, Lagarda H, Mauricio D, Encinas M, Matias-Guiu X 2008 Nuclear factor-kappaB activation is associated with somatic and germ line RET mutations in medullary thyroid carcinoma. *Human Pathol* 2008 39:994-1001
- 14- Rodriguez-Antona C, Pallares J, Montero-Conde C, Inglada-Perez L, Castelblanco E, Landa I, Leskela S, Leandro-Garcia L, Lopez-Jimenez E, Letón R, Cascón A, Lerma E, Martín MC, Carralero MC, Mauricio D, Cigudosa J, Matias-Guiu X, Robledo M. Overexpression and activation of EGFR and VEGFR2 in medullary thyroid carcinomas is related to metastasis. *Endocr Relat Cancer*. 2010 29;17:7-16.
- 15- Castelblanco E, Gallel P, Ros S, Gatiús S, Valls J, DeCubas AA, Maliszewska A, Yebra-Pimentel MT, Menarguez J, Gamallo C, Opocher G, Robledo M, Matias-Guiu X. Thyroid paraganglioma. Report of three cases, and description of an immuno-histochemical profile useful in the differential diagnosis with medullary thyroid carcinoma, based on cDNA array results. *Hum Pathol*. 2012 43:1103-12.
- 16- Macia A, Gallel P, Vaquero M, Gou-Fabregas M, Santacana M, Maliszewska A, Robledo M, Gardiner JR, Basson MA, Matias-Guiu X, et al. 2011 Sprouty1 is a candidate tumor-suppressor gene in medullary thyroid carcinoma. *Oncogene* 2012 31:3961-72
- 17- Maliszewska A, Leandro-Garcia LJ, Castelblanco E, Gómez-López G, Inglada-Pérez L, Ivarez-Escola C, Macià A, De la Vega, L, Letón R, Gómez-Graña A, Landa I, De Cubas A, Cascón A, Rodriguez Antona C, Borrego S, Zane M, Schiavi, F, Merante Bosch, Pelizzo MR, Pisano DG, Opocher G, Matias-Guiu X, Encinas M, Robledo M. Differential gene expression of Medullary Thyroid Carcinoma reveals specific markers associated with genetic conditions. *Am J Pathol* (in press)