

Pronóstico de diferentes subgrupos moleculares de tumores neuroendocrinos gastro-enteropancreáticos (TNE-GEP).

Elsa Bernal¹, Marta Mendiola¹, Laura G. Pastrian², Jaime Martínez¹, Cristina Alvarez-Escolá³, Angela Lamarca¹, Jose Tomas Castell⁴, Emilio Burgos², Jaime Feliu¹, **Jorge Barriuso**^{1†}

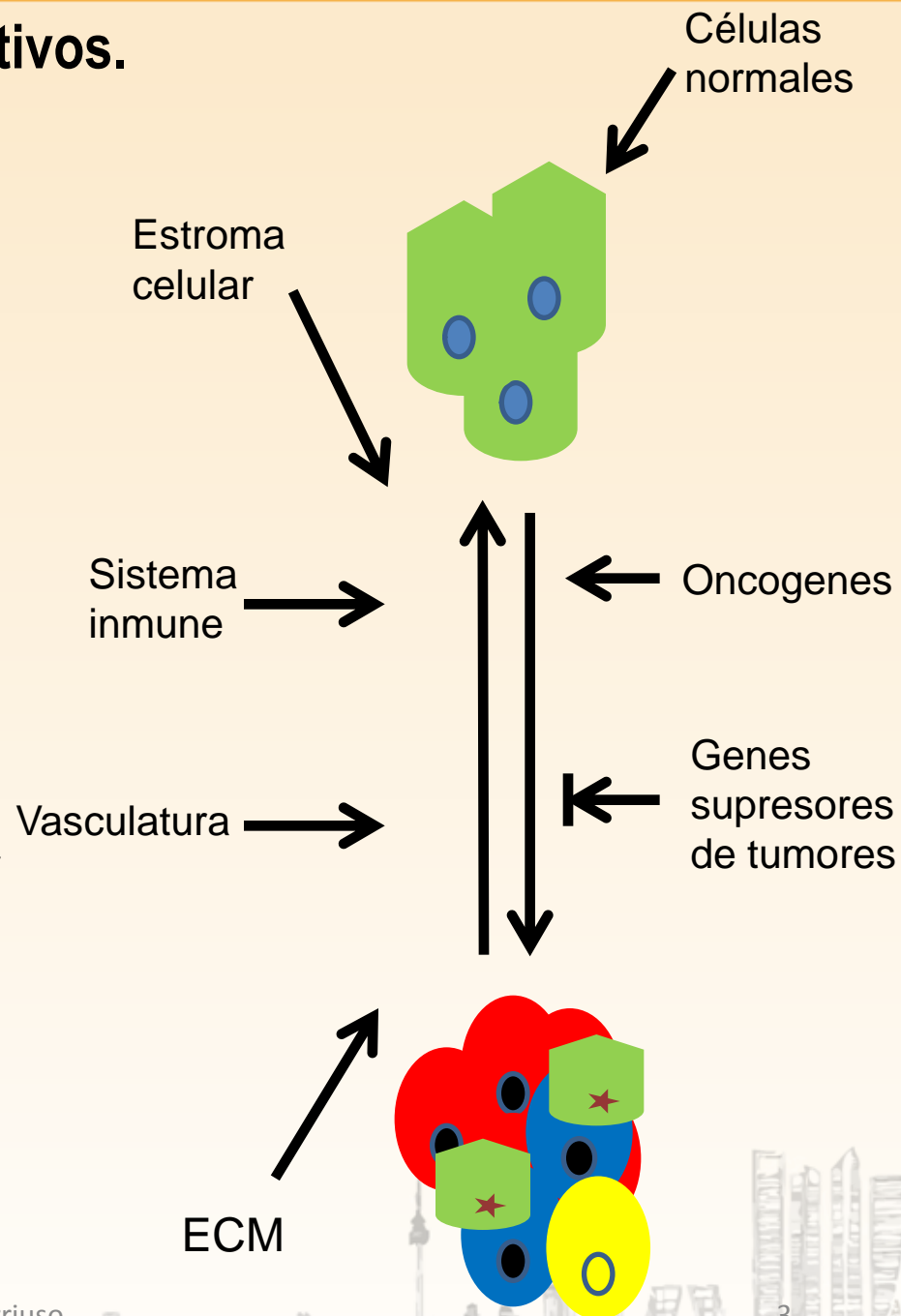
¹Servicio de Oncología Médica. Hospital Universitario La Paz. ²Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario La Paz. Madrid. ³Servicio de Endocrinología. Hospital Universitario La Paz. ⁴Servicio de Cirugía General. Hospital Universitario La Paz. †Actualmente: Molecular Cancer Group, University of Manchester, Manchester, UK

Conflicto de intereses.

Los autores declaran no tener conflicto de intereses

Introducción y objetivos.

- Los recientes estudios de secuenciación publicados en tne-gep han demostrado un exceso número de mutaciones.
- Son más frecuentes las alteraciones en genes supresores de tumores: PTEN y CDKN1B.
- En ausencia de un claro patrón de alteraciones a nivel genómico cobran una gran relevancia las características de microambiente tumoral (MT).
- El objetivo principal del estudio es establecer patrones de expresión diferencial mediante inmunohistoquímica, analizando la expresión de proteínas del MT en relación a otros marcadores mejor establecidos.



Nat Genet. 2013 Dec;45(12):1483-6.

J Clin Invest. 2013 Jun 3;123(6):2502-8

Nat Commun 2013;4:2810

Science. 2011 Mar 4;331(6021):1199-203.

J Clin Oncol 2010 Jan 10;28(2):245-55

- Se recogieron los datos clínicos de todos los casos consecutivos de tne-gep del Hospital Universitario La Paz que tuvieran muestra suficiente para construir los “arrays” de tejido (TMA) desde 1980 a 2012.
- En total se analizaron 115 muestras.
- Para la construcción de los “arrays” de tejido se seleccionaron áreas no necróticas con foco tumoral.
- Se procedió al análisis, mediante inmunohistoquímica, de proteínas implicadas en el microambiente tumoral (LOXL2, LOX, CXCR4 y Betacatenina) frente a PTEN y P27.
- La familia de proteínas lysil-oxidasa son enzimas dependientes de cobre que catalizan las uniones entre colágeno y elastina en la matriz extracelular contribuyendo a la estabilidad de la misma.
- CXCR4 es el receptor de quimiocinas C-X-C 4 para el factor derivado del estroma 1 (SDF-1) que actúa como una potente señal de reclutamiento de células del sistema inmune en el MT

- La mediana de seguimiento fue 12 años.
- La mediana de edad fue de 46 años.
- El 67.8% eran intestinales y la mayoría (64.9%) tumores bien diferenciados.
- El grado de diferenciación y el estadio estaban relacionados de manera estadísticamente significativa con la supervivencia libre de enfermedad (SLE) y supervivencia global (SG) ($p < 0.001$).

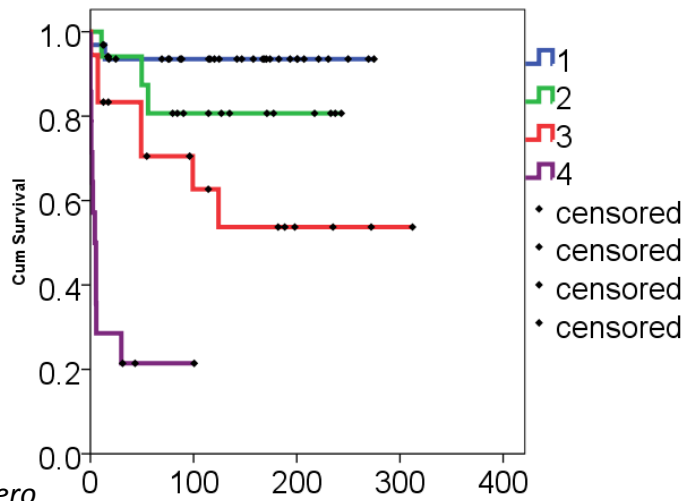
Tabla1. Características basales

Edad (años)	
Mediana	46
Rango	12 - 85
Sexo	
Mujer	56 (49.1)
Hombre	58 (50.9)
Primario	
Pancreas	30 (27.5)
Intestino delgado	28 (25.7)
Estomago	1 (0.9)
Apéndice	43 (39.4)
Colorrectal	7 (6.4)
Grado OMS	
G1	74 (64.9)
G2	13 (11.4)
G3	8 (7.0)
Desconocido	19 (16.6)
Estadio	
I	34 (38.6)
II	17 (19.3)
III	18 (20.5)
IV	19 (21.6)

T	
1	21 (25.0)
2	24 (28.6)
3	21 (25.0)
4	18 (21.4)
Índice de proliferación (ki-67)	
<2%	67 (58.8)
2-20%	14 (12.3)
>20%	7 (6.1)
Desconocido	26 (22.8)
Metástasis	
Presentes	17 (14.9)
Ausentes	97 (85.1)
Afectación ganglionar	
Presente	24 (21.1)
Ausente	59 (51.8)
Desconocida	31 (27.1)
Funcionante	
Funcionante	7 (6.1)
No-funcionante	55 (48.3)
Desconocido	52 (45.6)
Recaída	
No	86 (77.5)
Sí	25 (22.5)

Resultados

Supervivencia libre de enfermedad (SLE) por estadio.



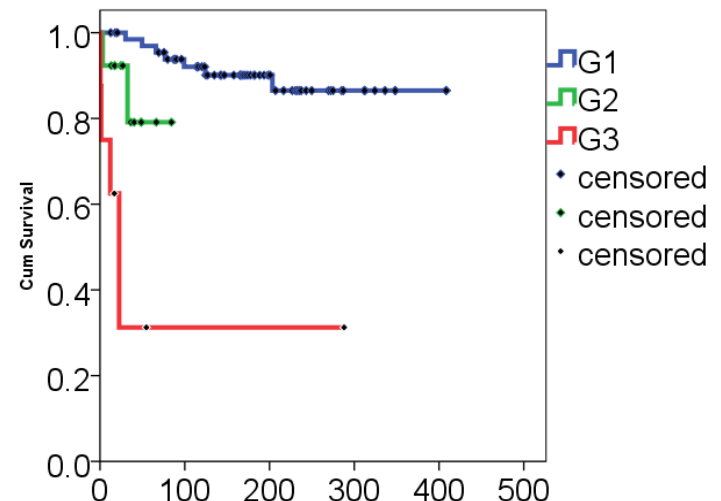
Número en riesgo

I	32	21	8	
II	17	9	4	
III	18	8	3	1
IV	14	1		

Log rank, valor de p	HR	IC 95%
----------------------	----	--------

<0.001	II vs I	2.87	0.50 - 17.19
	III vs I	7.14	1.48 - 34.42
	IV vs I	37.61	7.90 - 179.1

Supervivencia global (SG) por grado de diferenciación.



Número en riesgo

G1	68	53	27	10
G2	13	1		
G3	8	1	1	

Log rank, valor de p	HR	IC 95%
----------------------	----	--------

<0.001	2 vs 1	4.17	0.79 - 22.11
	3 vs 1	17.57	1.48 - 34.42

- En nuestra serie existe una alta correlación entre el grado de diferenciación morfológico y el Ki67

- En la mayoría de los anticuerpos evaluados el porcentaje de casos no evaluables fue inferior a un 25% con la excepción de betacatenina.

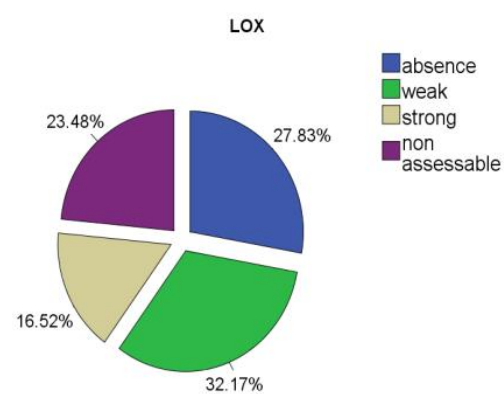
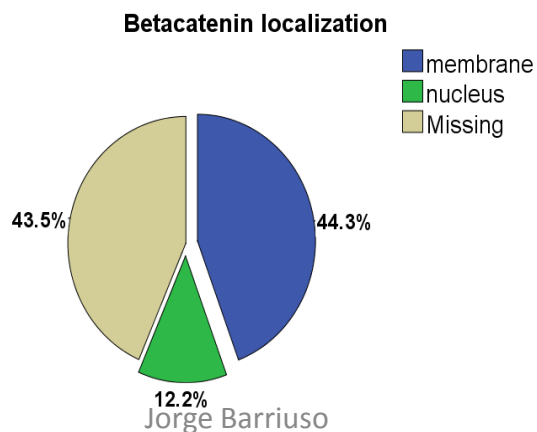
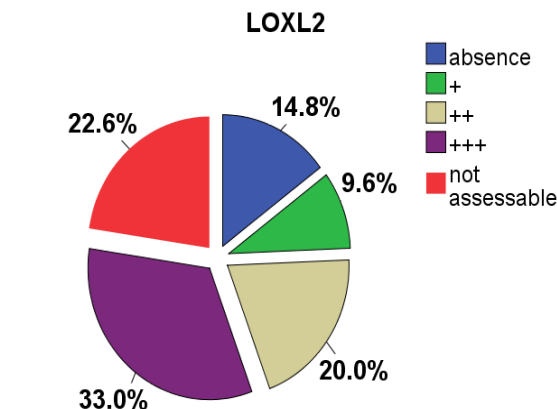
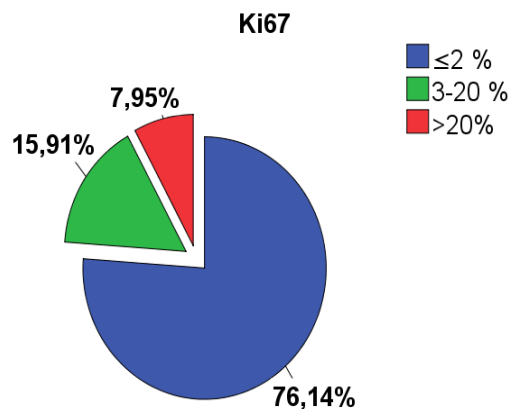
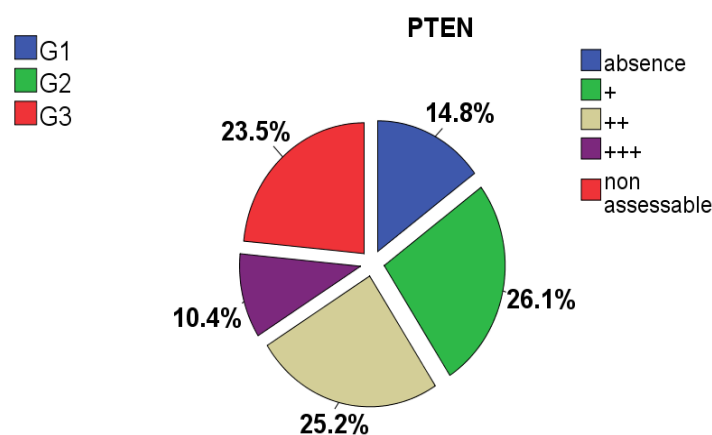
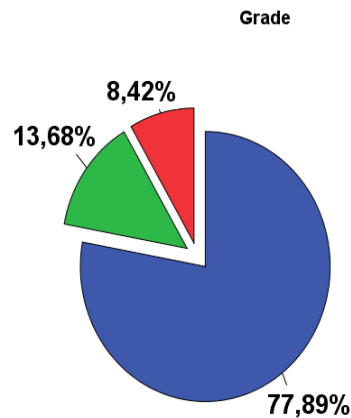
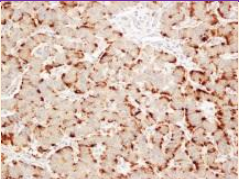
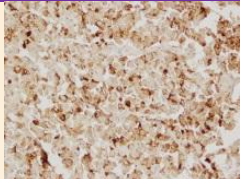
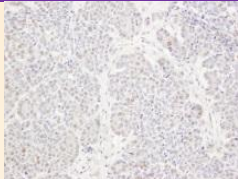
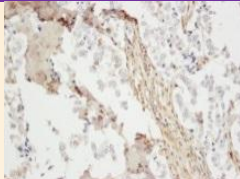
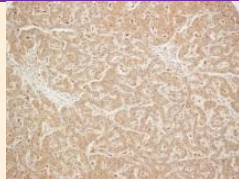
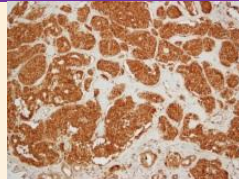
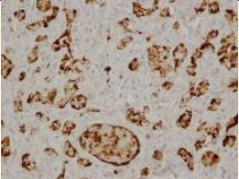
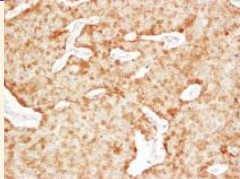

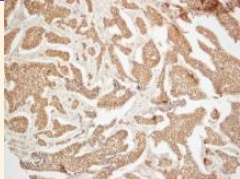
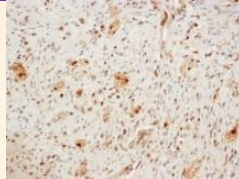
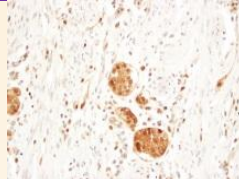


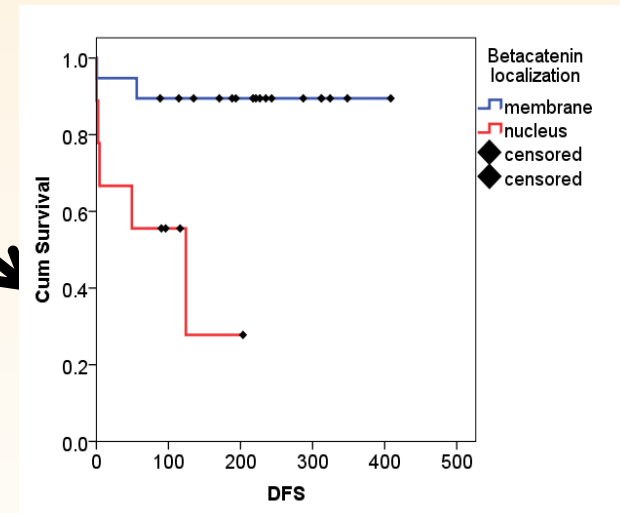
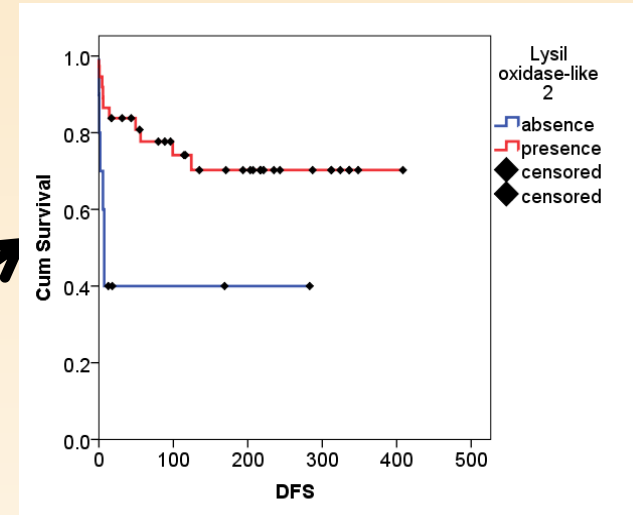
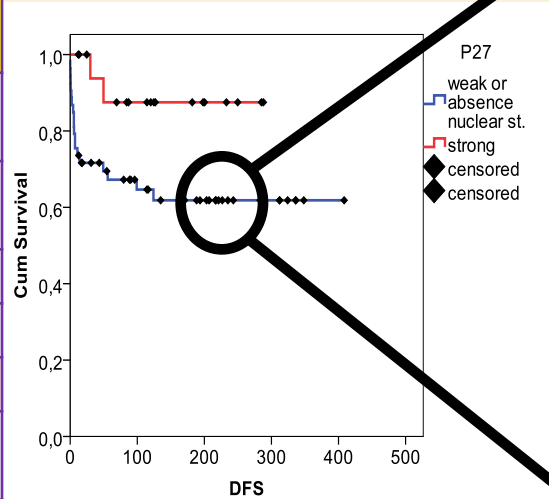
Tabla 3. Ejemplos de inmunohistoquímica (IHQ) para LOXL2 y PTEN.

Localización	LOXL2			PTEN		
	Membrana basal	Parcheado	Ausencia	+	++	+++
Pancreas						
Intestinal						

- La determinación de LOXL2 por IHQ mostró dos patrones de tinción en las células tumorales: parcheado/citoplasmático y de membrana, pudiendo estar en relación con una excreción por las células tumorales de la proteína.
- PTEN fue cuantificado como ausente, +, ++ y +++ de intensidad de tinción
- La sobreexpresión de LOXL2 estaba asociada con mejor SLE ($p < 0.001$). La expresión nuclear de betacatenina se relacionó con peor SLE ($p < 0.001$). La presencia de PTEN se asoció con mejor SLE ($p < 0.001$). La presencia de P27 se asoció con mejor SLE ($p = 0.044$)

Tabla3 . SLE (DFS), medianas calculadas en meses mediante el método de Kaplan – Meier.

	Valor p	med	95% IC
P27 negativo			
LOXL2 presencia	0.010*	NA	NC
LOXL2 ausencia		7.18	4.58-9.78
CXCR4 presencia	0.035*	55.9	0.1 – 132.8
CXCR4 ausencia		NA	NC
BCATm	0.025*	NA	NC
BCATn		124	16.7 – 231.5
PTEN negativo			
LOXL2 presencia	<0.001*	NA	NC
LOXL2 ausencia		0.43	0.00 – 2.17
CXCR4 presencia	0.421	NC	NC
CXCR4 ausencia		NC	NC
BCATm	0.043*	NA	NC
BCATn		124	35.3 – 212.9



*valores estadísticamente significativos

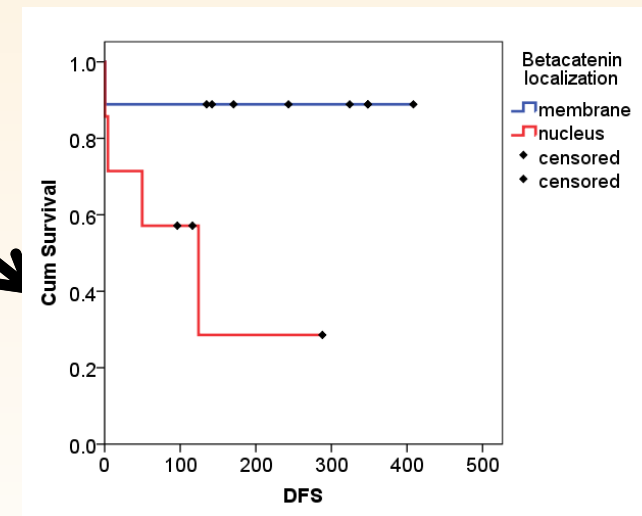
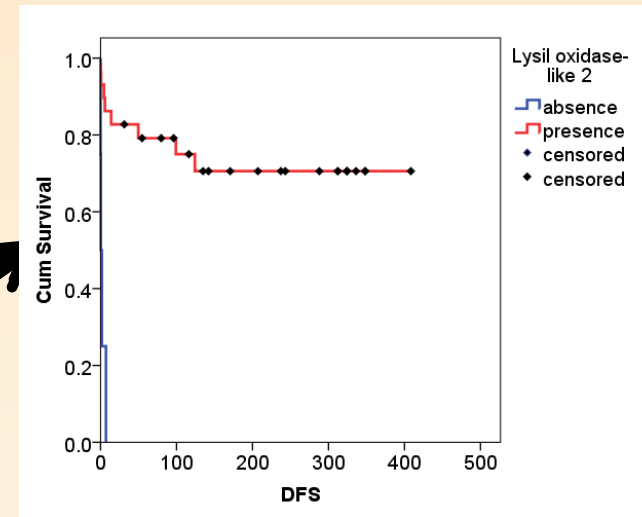
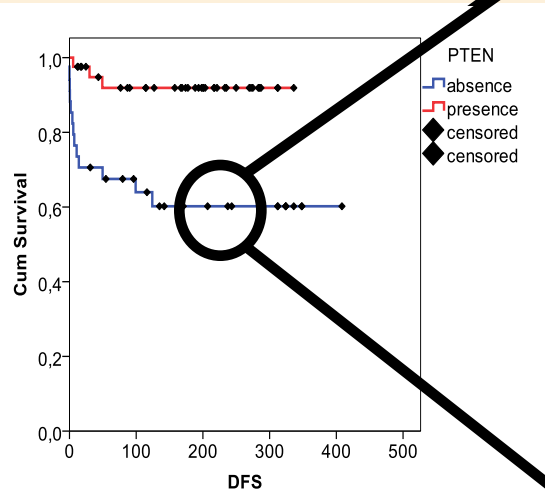
Tabla3 . SLE (DFS), medianas calculadas en meses mediante el método de Kaplan – Meier.

	Valor p	med d	95% IC
P27 negativo			
LOXL2 presencia	0.010*	NA	NC
LOXL2 ausencia		7.18	4.58-9.78
CXCR4 presencia	0.035*	55.9	0.1 – 132.8
CXCR4 ausencia		NA	NC
BCATm	0.025*	NA	NC
BCATn		124	16.7 – 231.5
PTEN negativo			
LOXL2 presencia	<0.001*	NA	NC
LOXL2 ausencia		0.43	0.00 – 2.17
CXCR4 presencia	0.421	NC	NC
CXCR4 ausencia		NC	NC
BCATm	0.043*	NA	NC
BCATn		124	35.3 – 212.9

*valores estadísticamente significativos

Tabla3 . SLE (DFS), medianas calculadas en meses mediante el método de Kaplan – Meier.

	Valor p	med	95% IC
P27 negativo			
LOXL2 presencia	0.010*	NA	NC
LOXL2 ausencia		7.18	4.58-9.78
CXCR4 presencia	0.035*	55.9	0.1 – 132.8
CXCR4 ausencia		NA	NC
BCATm	0.025*	NA	NC
BCATn		124	16.7 – 231.5
PTEN negativo			
LOXL2 presencia	<0.001*	NA	NC
LOXL2 ausencia		0.43	0.00 – 2.17
CXCR4 presencia	0.421	NC	NC
CXCR4 ausencia		NC	NC
BCATm	0.043*	NA	NC
BCATn		124	35.3 – 212.9



*valores estadísticamente significativos

Tabla 4 . Análisis univariante y multivariante mediante regresión de Cox ajustado por estadio y grado en el grupo con expresión de P27 débil o ausente.

	Univariante			Multivariante		
	Valor p	HR	IC 95%	Valor p	HR	IC 95%
LOXL2	0.016*	0.28	0.10 - 0.79	0.016*	0.25	0.08 – 0.80
BETACATENINA	0.016*	7.81	1.47- 41.6	0.086	4.37	0.81 – 23.54
CXCR4	0.042*	2.76	1.04 – 7.34	0.887	0.91	0.26 – 3.18

*Valores estadísticamente significativos

Tabla 5. Análisis univariante y multivariante mediante regresión de Cox ajustado por estadio y grado en el grupo con ausencia de expresión de PTEN.

	Univariante			Multivariante		
	Valor p	HR	IC 95%	Valor p	HR	IC 95%
LOXL2	<0.001*	0.07	0.02 -0.29	0.019*	0.06	0.01 - 0.63
BETACATENINA	0.079	7.38	0.79 - 68.8	0.231	849	0.01 - 5*10 ⁷
CXCR4	0.427	1.57	0.52 – 4.75	0.121	0.25	0.04 - 1.45

*Valores estadísticamente significativos

Tabla 4 . Análisis univariante y multivariante mediante regresión de Cox ajustado por estadio y grado en el grupo con expresión de P27 débil o ausente.

	Univariante			Multivariante		
	Valor p	HR	IC 95%	Valor p	HR	IC 95%
LOXL2	0.016*	0.28	0.10 - 0.79	0.016*	0.25	0.08 – 0.80
BETACATENINA	0.016*	7.81	1.47- 41.6	0.086	4.37	0.81 – 23.54
CXCR4	0.042*	2.76	1.04 – 7.34	0.887	0.91	0.26 – 3.18

*Valores estadísticamente significativos

Tabla 5. Análisis univariante y multivariante mediante regresión de Cox ajustado por estadio y grado en el grupo con ausencia de expresión de PTEN.

	Univariante			Multivariante		
	Valor p	HR	IC 95%	Valor p	HR	IC 95%
LOXL2	<0.001*	0.07	0.02 -0.29	0.019*	0.06	0.01 - 0.63
BETACATENINA	0.079	7.38	0.79 - 68.8	0.231	849	0.01 - 5*10 ⁷
CXCR4	0.427	1.57	0.52 – 4.75	0.121	0.25	0.04 - 1.45

*Valores estadísticamente significativos

- Se necesitan iniciativas para encontrar nuevos biomarcadores en TNE-GEP que permitan estratificar a los pacientes en distintos grupos pronósticos de manera más precisa de lo que las herramientas actuales permiten.
- La escasez de mutaciones encontradas en la secuenciación de estos tumores hace que buscar nuevos biomarcadores en el microambiente tumoral sea una estrategia válida.
- En el trabajo presentado se demuestra que partiendo de un análisis inicial de expresión de marcadores ya establecidos se pueden encontrar subgrupos con distinto pronóstico en función de la expresión de proteínas del estroma.
- LOXL2 es un factor pronóstico de SLE independiente en los TNE-GEP con ausencia de expresión de P27 y PTEN.
- Los pacientes con un patrón de expresión P27 negativo / LOXL2 negativo y PTEN negativo / LOXL2 negativo tienen peor SLE.
- El carácter generador de hipótesis de este trabajo retrospectivo requiere de la validación de estos datos de manera prospectiva en series independientes.