

Perfil genético de los tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos

JOSÉ M. CABEZAS AGRÍCOLA

GENETIC PROFILE OF GASTROENTEROPANCREATIC NEUROENDOCRINE TUMORS

Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors are relatively rare neoplasms but their incidence has significantly increased in the last 30 years. These tumors are usually sporadic but can also occur as part of certain endocrine tumor susceptibility syndromes such as multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) and von Hippel Lindau disease. The genetic abnormalities associated with the development or progression of these tumors depend on the site of origin and suggest multiple gene involvement.

Knowledge of this genetic complex has been gained from a variety of approaches such as comparative genomic hybridization, loss of heterozygosity and DNA microarray analysis. These genetic studies indicate that pancreatic endocrine tumors frequently harbor mutations in the MEN1 gene, among others, and that carcinoid tumors, in contrast, show more alterations on chromosome 18.

Nevertheless, the molecular pathogenesis of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors remains to be fully elucidated, mainly because the data refer to small and heterogeneous tumor series.

Key words: Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. MEN1. Von Hippel Landau disease. Carcinoids. Loss of heterozygosity. Comparative genomic hybridization.

Servicio de Endocrinología y Nutrición. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago (C.H.U.S.). Santiago de Compostela. España.

Los tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos (TEGEP) son tumores relativamente poco frecuentes, pero con un incremento en su incidencia en los últimos 30 años. Pueden aparecer principalmente de forma esporádica o como parte de ciertos síndromes tumorales hereditarios, como la neoplasia endocrina múltiple (MEN1) o la enfermedad de von Hippel Lindau (VHL). Las anomalías genéticas asociadas con el desarrollo y la progresión de estos tumores dependen del lugar de origen y apuntan a múltiples genes afectados. El conocimiento de esta compleja genética ha sido posible gracias a la hibridación genómica comparativa (CGH), a la pérdida de heterocigosis (LOH) y al análisis de *microarrays* de DNA. En estos estudios genéticos parece que los tumores endocrinos pancreáticos (TEP) a menudo tienen mutaciones en el gen MEN1, entre otros, y que los carcinoides, por el contrario, tienen más alteraciones en el cromosoma 18. Sin embargo, la patogenia molecular de los TEGEP debe ser todavía elucidada en profundidad, principalmente debido a las pequeñas y heterogéneas series estudiadas.

Palabras clave: Tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos. MEN1. VHL. Carcinoides. LOH. CGH.

Los tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos (TEGEP) son tumores que derivan del sistema endocrino difuso del tracto gastrointestinal y del páncreas con una incidencia anual, según las más recientes estimaciones, de 2,5-5 casos por 100.000 habitantes (representan únicamente el 2% de los tumores malignos gastrointestinales)^{1,2}. Sin embargo, basándonos en los resultados del registro estadounidense Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) del Instituto Nacional de Cáncer (EE.UU.) y de otros registros europeos, la incidencia en los últimos 30 años está aumentando, en parte probablemente por un mayor conocimiento de estos tumores y a una mejora en las herramientas diagnósticas (ecodoscopia, octreoscan/SPECT, etc.)^{1,2}. Como en otro tipo de cánceres, sólo el conocimiento real de la genética molecular de los TEGEP y de las vías que subyacen a la iniciación y la progresión de estos tumores permitirá modificar las actuales clasificaciones morfológicas, posibilitar un diagnóstico más precoz, prever el riesgo de diseminación y desarrollar tratamientos específicos y óptimos para este complejo y heterogéneo grupo de tumores^{1,3-5}.

Correspondencia: Dr. José M. Cabezas Agrícola.
Servicio de Endocrinología y Nutrición. Complejo Hospitalario Universitario
0,de Santiago (C.H.U.S.).
Travesía Choupana, s/n. 15706. Santiago de Compostela. España.
Correo electrónico: jose.manuel.cabezas.agricola@sergas.es

La localización de genes supresores de tumores, protooncogenes y genes reparadores implicados en el desarrollo de estos tumores (a través de la angiogénesis o transducción de señales intracelulares por medio de tirosina-cinasas, entre otras) ha sido posible gracias a la aplicación de técnicas de mapeo cromosómico y otras técnicas citogenéticas, como la hibridación genómica comparativa (comparative genomic hybridization, CGH), que permite detectar ganancias o pérdidas de material cromosómico, y más recientemente el análisis comparativo de microarrays de ADN o ARN, y tisulares, que permiten analizar la expresión de miles de genes simultáneamente que estén sobreexpresados o no^{4,6,7}.

Aunque la inmensa mayoría de las alteraciones genéticas de los TEGEP son eventos somáticos no hereditarios, es decir, esporádicos, la identificación de genes de tumores endocrinos familiares como en la neoplasia endocrina múltiple tipo 1, MEN1) no sólo ha permitido mejorar el tratamiento de dichos síndromes familiares, sino que además ha facilitado el conocimiento molecular de tumores endocrinos esporádicos que hasta fechas muy recientes se habían resistido, debido probablemente a su heterogeneidad y relativa rareza⁷⁻¹⁰.

Existen cuatro enfermedades bien establecidas que cursan con tumores endocrinos pancreáticos (TEP) hereditarios en mayor o menor medida: MEN1, enfermedad de von Hippel-Lindau (VHL), neurofibromatosis tipo 1 o enfermedad de von Recklinghausen (NF1), y esclerosis tuberosa (en inglés, TSC); todas ellas son enfermedades autosómicas dominantes causadas por genes supresores tumorales^{3,5,7-10}. El MEN1 es un trastorno autosómico dominante, con una prevalencia de 2-3 casos/100.000 habitantes, caracterizado por la aparición de tumores en las paratiroides, TEP, adenohipófisis y adrenales principalmente, pero también tumores neuroendocrinos en timo, pulmones y estómago, y tumores de estirpe no endocrina en la piel. Es causado en un 80% de los casos por mutaciones inactivadoras en la línea germinal del gen del MEN1 de 10 exones, localizado en el cromosoma 11q13, que codifica una proteína de 610 aa, menina, de localización variable según la fase del ciclo celular (en el núcleo cuando la célula está en reposo; en el citoplasma cuando está en división) y que interactúa con proteínas relacionadas con la regulación de la transcripción, la estabilidad del genoma y la división y la proliferación celular^{10,11}. Hasta el año 2008 se han descrito 1.336 mutaciones diferentes, de las cuales la mayoría son mutaciones inactivadoras sin sentido que dan lugar a una proteína truncada y a la subsiguiente proliferación tumoral. Hasta la fecha no se ha podido demostrar una correlación genotipo-fenotipo, con la consiguiente imposibilidad de predecir el curso de la enfermedad en base a la mutación encontrada. En un 10-20% de los casos no se han logrado identificar mutaciones en ninguno de los exones, pero queda la posibilidad de que otros genes o mutaciones en los promotores o intrones del MEN1

puedan ocasionar este síndrome. En diversos estudios se han identificado mutaciones de menina en el 85% de los TEP y en el 41% de los gastrinomas asociados al MEN1, y pérdidas alélicas (pérdida de heterocigosis [en inglés, LOH]) en el 46% (de media) de TEP esporádicos⁹.

El VHL cursa con hemangioblastomas retinianos y cerebrales, carcinoma renal, feocromocitomas (10-20%), tumores quísticos pancreáticos benignos y TEP no funcionantes (12-17%)^{7,11}. El gen de VHL es un gen supresor tumoral de tres exones (cromosoma 3p25.5), que regula la angiogénesis y la proliferación celular inducida por la hipoxia. La proteína de dicho gen actuaría sobre varias proteínas para degradarlas, sobre todo sobre el hypoxia inducible factor 1 α (HIF-1 α), proteína que en condiciones normales se combina con el HIF-1 β y, una vez en el núcleo, inicia la transcripción de genes regulados por hipoxia que se han descrito en tumores neuroendocrinos en general, como el vascular endotelial growth factor (VEGF) (cuya expresión y la de su receptor están muy aumentadas en TEGEP), el platelet-derived growth factor (PDGF) (presente en cerca de un 70% de las células de tumores carcinoides y en su estroma), el transforming growth factor alpha (TGF α) y otros. Cuando el gen del VHL está mutado o no funcional, el HIF-1 α se acumula y, tras su unión al HIF-1 β , aumenta la transcripción de los anteriores genes, principalmente el VEGF y la subsiguiente activación endotelial, migración y proliferación. Se han diseñado moléculas dirigidas a: a) inhibir el ligando VEGF, como el anticuerpo recombinante monoclonal bevacizumab; b) inhibir el receptor del ligando –inhibidores de la tirosina-cinasa–, como el sorafenib y el sunitinib, y c) inhibidores del mammalian Target Of Rapamycine (mTOR, cinasa serina-treonina reguladora de la apoptosis, el crecimiento y la proliferación celular, a través de una compleja vía de señalización celular –PI3K/PTEN/AKT/mTOR–, cuya pérdida de función conlleva una activación de dicha vía y el posterior desarrollo tumoral), como el everolimus y el tensiolimus. La LOH en el gen 3p25 se ha demostrado en el 30% de los TEP esporádicos y no suele estar asociada a mutaciones somáticas de este gen, lo cual indica que no es un factor clave en los TEP esporádicos, pero que otros genes en este cromosoma, por el contrario, sí podrían desempeñar algún papel^{5,7,9,11}.

La NF1 y la TSC pueden manifestarse como lesiones benignas en forma de hamartomas, astrocitomas y tumores bien diferenciados cerebrales, oculares, pulmonares, cardíacos, renales, dermatológicos y TEP. En la NF1 pueden aparecer TEP, somatostatinomas de duodeno y carcinoides en ampolla de Vater. El gen NF1 es un gen supresor tumoral (cromosoma 17q11) que codifica una proteína llamada neurofibrina, que también está relacionada con la vía mTOR no sólo directamente, sino también a través de la regulación de la función de la proteína de la TSC. En la TSC se han descrito muy pocos casos de TEP. Los genes asociados con la TSC son TSC-1 (cromosoma 9q34) y TSC-2 (cromo-

soma 16p13, que es el que se suele asociar a tumores endocrinos pancreáticos). En condiciones normales, el complejo TSC-1/2 regula la progresión del ciclo celular controlando la actividad del mTOR⁷.

TUMORES ENDOCRINOS PANCREÁTICOS

De acuerdo a estudios de CGH y de LOH en los TEP esporádicos, las pérdidas cromosómicas son algo más frecuentes que las ganancias, y estos cambios son más numerosos a medida que aumentan el tamaño y la agresividad (metástasis) del tumor^{5,7}. En general, los TEP no funcionantes tienen más alteraciones genéticas que los funcionantes^{5,7,8}. Las pérdidas son más frecuentes en el cromosoma 1p (21% de los tumores), 3p (19-30%, donde se localizan genes supresores tumorales como VHL, RAR- β , MLHI y RASSF1A, involucrados en algunos estudios en la patogenia de estos tumores), 6q (28%), 10p (14%, donde se localiza el gen PTEN, uno de los reguladores de la actividad del mTOR), 11q (28-66%), 22q (40%), Y (31%, exclusivo de los TEP) y X (31%), y las ganancias son más frecuentes en el cromosoma 4p (17%), 5q (25%), 7p (41%), 9q (28%), 12q (23%), 14q (32%), 17p (31%) y 20q (27%)^{5,7-9,12-17}.

A diferencia de los TEP asociados al MEN1, donde la mayoría de estos tumores tienen mutaciones de menina, sólo un 46% (de media) de los TEP esporádicos tiene mutaciones somáticas en este gen; son más frecuentes en los funcionantes (37-67%) que en los no funcionantes (8%), a excepción de los insulinomas, aunque la presencia LOH en el cromosoma 11q13 es mucho más frecuente (hasta un 68%), lo que apunta a la existencia de otros genes supresores u oncogenes en este cromosoma que puedan estar involucrados en el desarrollo de TEP esporádicos.

El gen supresor tumoral p16/CDKN2A (o p16^{INK-4a}) localizado en el cromosoma 9p codifica la p16, inhibidor de las cinasas dependiente de ciclinas 4 (CDK4). Cuando esta última está activa, inhibe la progresión celular en el punto del ciclo celular G₁S. Los mecanismos de inactivación del gen p16^{INK-4a} incluyen mutaciones, deleciones o hipermetilación del gen promotor. Se han descrito alteraciones de este gen en forma de hipermetilación del gen promotor (pero no mutaciones ni deleciones) en el 52% de gastrinomas (duodenales y pancreáticos), aunque no se ha hallado correlación alguna entre este hecho y las características clínicas o el comportamiento biológico de estos tumores¹⁸. También se han descrito en menor medida deleciones o hipermetilación en TEP no funcionantes.

Estudios preliminares recientes con microarrays apuntan a nuevos genes críticos en el proceso de invasión tumoral, progresión y metástasis, que se expresarían de forma diferente en TEP benignos vs. TEP metastásicos. Estos genes están involucrados en vías relacionadas con: a) angiogénesis, adhesión y remodelado (genes de la E-cadherina del endotelio vascular,

E-selectina, fibronectina y angiopoyetina "ANG2"), que estarían sobreexpresados; b) transducción de señales a través de tirosina-cinasas (PDGF-, que se ha hallado hiperexpresado en TEP metastásicos, DDR1, MKK4); c) señalización celular calcio-dependiente, y d) respuesta a fármacos (p. ej., gen MDR1 que codifica la glicoproteína P, un transportador transmembrana que induce resistencia a fármacos en el cáncer y, por consiguiente, se asocia a mayor agresividad tumoral y peor pronóstico)^{5,14-17}.

Los oncogenes (Ras, BRAF, MYC, JUN) y los genes supresores tumorales comunes (p53, Rb, RET, PTEN) parecen tener muy poca trascendencia en la patogenia molecular de los TEGEP en general y de los TEP en particular, al menos en los bien diferenciados y en fases no avanzadas, aunque con excepciones (p53 se halla muy a menudo hiperexpresado en los carcinomas endocrinos pobremente diferenciados del tracto gastrointestinal, y únicamente se ha hallado Ras hiperexpresado en los insulinomas malignos)^{5,7}.

TUMORES NEUROENDOCRINOS GASTROINTESTINALES ("CARCINOIDES")

Las aberraciones genéticas en los carcinoides gástricos e intestinales (CI) son menos frecuentes que en los TEP^{3,5,7}. En el caso de los TNE gástricos (ECLomas), y más concretamente los carcinomas, se han descrito LOH en cromosomas 8p, (82%), 11q (locus del gen MEN1) (en el 41% de casos esporádicos), 11p (50%), 12p (50%), 13q (50%), 15q (58%) y 17p (57%). En el caso de los CI, las ganancias cromosómicas se han encontrado en 19q, 17q y 4p14, y en mucha menor medida en 7, 5 y 20, mientras que las pérdidas se han hallado sobre todo en cromosoma 18 y en menor medida en 9p (17% de los CI), 11q22-23 (13%) y 16q21 (18%)^{3,5,19-21}.

Las pérdidas en el cromosoma 18 han sido descritas en el 43-88% de los carcinoides intestinales (frecuencia muy variable debido al tamaño muestral de las distintas series), sobre todo los de localización ileal, lo que apunta a que en este cromosoma, sobre todo en el brazo largo, se hallen genes supresores tumorales claves en la patogenia de estos tumores; aunque, hasta ahora, genes como DPC4/Smad y DCC localizados en ese cromosoma no se han hallado mutados. Sin embargo, pérdidas en este cromosoma son muy infrecuentes en los TEP, lo que, unido a otros datos, sugiere que son genéticamente distintos a los CI.

Se ha descrito LOH en cromosoma 11q con frecuencias variables según localización; así, es muy alta (50-60%) en carcinoides de colon descendente, apéndice, recto y duodenales, y tan sólo del 14% en ileales. Las mutaciones en el gen MEN1 en CI han sido descritas en pocos estudios (y con frecuencias muy bajas o nulas)^{3,5}.

Las pérdidas en el cromosoma 9p21 (lugar del gen supresor tumoral p16/CDKN2A) apenas se han descrito en los CI, así como mutaciones en el p53.

TABLA 1. Alteraciones genéticas en TEP esporádicos y CI

Localización	Alteración cromosómica (gen potencial)
Páncreas	Pérdidas: 1p, 3p (VHL, RAR- β , MLHI, RASSF1A), 6q, 10pq (PTEN), 11q (mutación MEN1 y LOH), 22q, Y y X Ganancias: 4pq, 5q, 7pq, 9q, 12q, 14q, 17p (NF1, HER2/neu), 20q Hipermetilación gen promotor p16 ^{INK-4a} , genes cadherina, selectina, ANG2, etc.
Carcinoides gastrointestinales	Pérdidas: 18, 9p, 11q, 16q Ganancias: 19q, 17q, 4p, 5, 7, 20 Gen β -catenina

El protooncogén ERBB2/HER-2/neu (cromosoma 17) es un miembro de la familia del receptor EGF, una tirosina-cinasa en la que la sobreexpresión de su proteína está relacionada con la transformación maligna y potencial metastático. Se ha encontrado aumentada su expresión en un 31% de carcinoides intestinales y un 14% de gastrinomas, pero no en otros TEGEP, de modo que su papel en la patogenia de estos tumores no está claro. Por otra parte, el receptor del EGF se ha hallado hiperexpresado en el 33% de carcinoides del intestino delgado primarios y metastáticos, y se ha ensayado con éxito en cultivos celulares un inhibidor del receptor tirosina-cinasa EGF (gefitinib)¹².

La proteína β -catenina (CTNBI), cuyo gen está en el cromosoma 3p, desempeña un papel importante en la adhesión celular, la transcripción y la vía de señalización Wnt (esta última es crucial en varios tipos de tumores); en condiciones normales, está unida en la membrana celular a las cadherinas. Mutaciones en la β -catenina y la E-cadherina han sido descritas en TEGEP (no en TEP) pobremente diferenciadas y durante la progresión de la enfermedad^{3,9}.

En conclusión, cada vez es más evidente que bajo el nombre de TEGEP se engloba un heterogéneo grupo de tumores con marcadas divergencias genéticas (alteraciones en el gen MEN1 mucho más frecuentes en TEP que en CI, y alteraciones en el cromosoma 18 y cromosoma 9q casi exclusivas de estos últimos), que en parte explicarían sus diferentes respuestas a la quimioterapia. En la tabla 1 se resumen los anteriores datos.

BIBLIOGRAFÍA

- Modlin IM, Oberg K, Chung DC, Jensen RT, Herder WW, Thakker RV, et al. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Lancet Oncol*. 2008;9:61-72.
- Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, et al. One hundred years after "carcinoid": Epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol*. 2008;26:3063-72.
- Oberg K. Genetics and molecular pathology of neuroendocrine gastrointestinal and pancreatic tumors (gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors). *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2009;16:72-8.
- Yao JC. Molecular targeted therapy for carcinoid and islet-cell carcinoma. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2007;21:163-72.
- Perren A, Anlauf M, Komminoth P. Molecular profiles of gastroenteropancreatic endocrine tumors. *Virchows Arch*. 2007;451(Suppl 1):S39-49.
- Leotlela PD, Jauch A, Holtgreve-Grez H, Thakker RV. Genetics of neuroendocrine and carcinoid tumours. *Endocrine-Related Cancer*. 2003;10:437-50.
- Duerr EM, Chung DC. Molecular genetics of neuroendocrine tumors. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2007;21:1-14.
- Lubensky IA, Zhuang Z. Molecular genetic events in gastrointestinal and pancreatic neuroendocrine tumors. *Endocr Pathol*. 2007;18:156-62.
- Zikusoka MN, Kidd M, Eick G, Latich I, Modlin IM. The molecular genetics of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer*. 2005;104:2292-309.
- Lemos MC, Thakker RV. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): analysis of 1336 mutations reported in the first decade following identification of the gene. *Hum Mutation*. 2008;22:32.
- Jensen RT, Berna MJ, Bingham DB, Norton JA. Inherited pancreatic endocrine tumor syndromes: Advances in molecular pathogenesis, diagnosis, management, and controversies. *Cancer*. 2008;113(Suppl 7):1807-43.
- Hofslie E. Genes involved in neuroendocrine tumor biology. *Pituitary*. 2006;9:165-78.
- Toumpanakis CG, Caplin ME. Molecular genetics of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Gastroenterology*. 2008;103:729-32.
- Couvelard A, Hu J, Steers G, O'toole D, Sauvanet A, Belghiti J, et al. Identification of potential therapeutic targets by gene-expression profiling in pancreatic endocrine tumors. *Gastroenterology*. 2006;131:1597-610.
- Hofslie E, Wheeler T, Langaas M, Laegreid A, Thommesen L. Identification of novel neuroendocrine-specific tumour genes. *Br J Cancer*. 2008;99:1330-9.
- Arnold CN, Nagasaka T, Goel A, Scharf I, Grabowski P, Sosnowski A, et al. Molecular characteristics and predictors of survival in patients with malignant neuroendocrine tumors. *Int J Cancer*. 2008;123:1556-64.
- Capurso G, Lattimore S, Crnogorac-Jurcevic T, Panzuto F, Milione M, Bhakta V, et al. Gene expression profiles of progressive pancreatic endocrine tumours and their liver metastases reveal potential novel markers and therapeutic targets. *Endocrine-Related Cancer*. 2006;13:541-58.
- Serrano J, Goebel SU, Peghini PL, Lubensky IA, Gibril F, Jensen RT. Alterations in the p16^{INK-4a}/CDKN2A tumor suppressor gene in gastrinomas. *JCEM*. 2000;85:4146-56.
- Kulke MH, Freed E, Chiang DY, Philips J, Zahrieh D, Glickman JN, et al. High resolution analysis of genetic alterations in small bowel carcinoid tumors reveals areas of recurrent amplification and loss. *Genes, Chromosomes & Cancer*. 2008;47:591-603.
- Wang GG, Yao JC, Worah S, White JA, Luna R, Wu T-T, et al. Comparison of genetic alterations in neuroendocrine tumors: frequent loss of chromosome 18 in ileal carcinoid tumors. *Modern Pathology*. 2005;18:1079-87.
- Kim DH, Nagano Y, Choi IS, White JA, Yao JC, Rashid A. Allelic alterations in well-differentiated neuroendocrine tumors (carcinoid tumors) identified by genome-wide single nucleotide polymorphism analysis and comparison with pancreatic endocrine tumors. *Genes Chromosomes Cancer*. 2008;47:84-92.