

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 541 054**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.10.2011 E 11785107 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.04.2015 EP 2630259**

54 Título: **Firmas del resultado clínico en tumores estromales gastrointestinales y método de tratamiento de tumores estromales gastrointestinales**

30 Prioridad:

20.10.2010 EP 10013806

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

15.07.2015

73 Titular/es:

**UNIVERSITÉ DE BORDEAUX (25.0%)
35 place Pey Berland
33000 Bordeaux, FR;
INSERM (25.0%);
INSTITUT BERGONIÉ (25.0%) y
INSTITUT CURIE (25.0%)**

72 Inventor/es:

**CHIBON, FRÉDÉRIC;
COINDRE, JEAN-MICHEL y
AURIAS, ALAIN**

74 Agente/Representante:

VIGAND, Philippe

ES 2 541 054 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Firmas del resultado clínico en tumores estromales gastrointestinales y método de tratamiento de tumores estromales gastrointestinales.

5

Campo técnico

La presente invención se refiere a un método para la predicción *in vitro* de la supervivencia y/o el pronóstico metastásico de tumores estromales gastrointestinales (GIST). **Describe** un kit para (i) la predicción *in vitro* del resultado de supervivencia de un paciente que padece GIST, (ii) y/o el desarrollo de metástasis en un paciente tratado para o que padece GIST, (ii) y/o la predicción de la eficacia de un tratamiento para GIST. La presente invención también **describe** un método para buscar compuestos para el uso en el tratamiento de GIST, y un compuesto para su uso en el tratamiento de GIST.

10

Por lo tanto, la presente invención tiene utilidad en los campos médico y farmacéutico, especialmente en el campo de diagnóstico.

15

En la descripción a continuación las referencias en entre corchetes se refieren al listado de referencias situado al final del texto.

20

Antecedentes de la Invención

Los tumores estromales gastrointestinales (GIST) son los tumores mesenquimales más frecuentes del tracto gastrointestinal y suponen aproximadamente el 25 % de los sarcomas de tejidos blandos. Se cree los GIST surgen de células intestinales de Cajal (1), o de una célula progenitora común (2).

25

La tirosina cinasa KIT o el receptor del factor derivado de plaquetas α (PDGFRA) que activa las mutaciones son eventos oncogénicos tempranos en los GIST. La mayor parte de los GIST (80 %) se caracterizan por la activación de mutaciones del receptor de tirosina cinasa *KIT*, mientras que un subconjunto (8 %) alberga el receptor del factor derivado de plaquetas α (mutaciones *PDGFRA* (3,4). Además de estas mutaciones, se producen otros cambios genéticos, siendo las alteraciones más frecuentes indicadas las deleciones 14q, 22q y 1p (5). En líneas generales, la citogenética de GIST es bastante sencilla y los desequilibrios principalmente implican cromosomas completos o brazos de cromosomas. Particularmente, los perfiles moleculares y citogenéticos de GIST se correlacionan con el avance de la enfermedad. No obstante, se ha observado que los cambios son más frecuentes y más complejos en los tumores avanzados (6). Además, la base genética del pronóstico metastásico de los GIST es aún ampliamente desconocida.

30

35

La gestión clínica de los GIST consiste principalmente en la resección quirúrgica con terapia dirigida de adyuvante o neo-adyuvante con mesilato de Imatinib (Gleevec, anteriormente STI571, Novartis Pharma AG) que se ha demostrado que se dirige a la señalización aberrante de KIT o PDGFRA por la activación de mutaciones (7). La mayoría de los casos puede curarse únicamente mediante resección quirúrgica, pero el 20-40 % de los pacientes recaen, siendo la metástasis hepática distante la manifestación más común de la enfermedad recurrente.

40

Se han propuestos muchos criterios patológicos en base al sitio de tumor, el tamaño, el tipo de células, el grado de necrosis y la velocidad mitótica para predecir el pronóstico de pacientes con GIST. Se logró un consenso por el National Institute of Health (NIH) en 2001 para calcular el riesgo relativo de GIST en base al tamaño del tumor y el recuento mitótico (8) y en 2006, el Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) propuso un sistema actualizado que tiene en cuenta también una ubicación tumoral (9). Incluso si estos dos sistemas son particularmente eficientes en la determinación del riesgo metastásico de los GIST, se basan en un reflujo histopatológico indirecto de la agresividad tumoral. Además, los valores límite para estos criterios se han determinado empíricamente conduciendo a una subjetividad que es inevitable en las evaluaciones de los patólogos especializados. Por lo tanto, existe la necesidad de comprender más profundamente la biología que subyace de la agresividad de los GIST con el fin de identificar biomarcadores objetivos que mejoren la especificidad y la reproducibilidad de la predicción del pronóstico.

45

50

El desarrollo de un método independiente del investigador válido y fiable de pronóstico de GIST es esencial para la adecuada gestión clínica de pacientes con GIST, especialmente en el contexto de un tratamiento adyuvante, donde muchos pacientes se exponen a imatinib mientras que únicamente una pequeña proporción se beneficiará probablemente de dicho tratamiento (19).

55

Para conseguir este fin, ya se ha usado el perfil genómico y de expresión pero únicamente se han notificado resultados parciales y heterogéneos. A nivel genómico, se ha mostrado que el nivel de complejidad del genoma aumenta con la estadio del tumor (6, 10), pero no se ha definido ningún umbral y no se ha propuesto ninguna alteración específica excepto para las alteraciones p16^{INK4A} cuya función en el desarrollo de la metástasis es aún controvertido (11-16). A nivel de expresión, Yamaguchi y col. han propuesto una firma de expresión génica: identificaron CD26 como un marcador de pronóstico pero únicamente en los GIST de origen gástrico. No obstante, los autores concluyeron que CD26 puede no ser la causa de la progresión maligna de los GIST gástricos. Además,

60

65

esta firma se limita como se ha establecido únicamente en algunos casos (32 GIST), predice el resultado únicamente en GIST gástricos (pero no en GIST del intestino delgado) y no se ha comparado con métodos de clasificación histopatológica considerados como la "regla de oro" (17).

5 En los pocos análisis del perfil genómico o de expresión que usan un número más reducido de GIST que se han realizado antes de este estudio, únicamente uno (35) presenta un análisis integrativo que recopila el perfil geonómico y de transcripción como se presenta aquí. Este estudio se basó en 25 pacientes y tenía el objetivo de identificar genes diana situados en las regiones alteradas descritas en los últimos 15 años. Básicamente, muchos estudios han descrito el genoma de los GIST y han demostrado que la citogenética de los GIST es bastante sencilla, que se refleja únicamente por algunas aberraciones, siendo las deleciones más frecuentes que las ganancias (6, 10, 11, 12, 36, 37). Todos estos estudios concluyeron que las deleciones cromosómicas 14, 22 y 1p son las aberraciones más frecuentes. También se ha mostrado que los cambios son más frecuentes en los GIST de alto riesgo y demasiado malignos GIST que en los GIST de riesgo bajo/intermedio (6, 10), pero aún no se ha identificado una fuerte asociación entre una alteración y el pronóstico, excepto las alteraciones *CDKN2A* como se ha analizado anteriormente. Al nivel de expresión, la mayor parte de los estudios se han establecido para mejorar la delineación del diagnóstico (38, 39) o para identificar diferencias de expresión de acuerdo con un estado de mutación de *KIT* o *PDGFRA* (40-42).

20 La AURKA, codificada por un gen que mapea el cromosoma 20q13, es una proteína cinasa centrosomal mitótica (20). Es un oncogén bien conocido, cuya función principal en el desarrollo tumoral es el control de la segregación cromosómica durante la mitosis (21). La amplificación génica y la sobreexpresión de AURKA se han descrito ampliamente en muchos tipos de cáncer (22). En particular, conforme se ha demostrado claramente que la sobreexpresión de AURKA induce anomalías de duplicación centrosomal-distribución y aneuploidía que conducen a la transformación en células de cáncer de mama (23). Realmente, los centrosomas mantienen la estabilidad genómica a través del establecimiento del cuerpo del huso bipolar durante la división celular, asegurando una segregación equivalente de cromosomas replicados a dos células hijas. La expresión de AURKA también se ha asociado a un mal diagnóstico principalmente en carcinoma mamario (24), carcinoma de colon (25, 26), neuroblastoma (27) y carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (28). Tomados juntos, estos datos indican que la regulación por aumento de la expresión de AURKA puede ser un evento impulsor principal en el establecimiento de la complejidad genómica que conduce a una reprogramación de la expresión génica salvaje, creando las condiciones óptimas para el desarrollo de metástasis. Los inhibidores de AURKA se encuentran actualmente bajo estudio clínico (29-33).

35 Yamashita y col. ("Chromosomal numerical abnormality profiles of gastrointestinal stromal tumors", Japanese Journal of clinical oncology, vol. 36, N 2, 2006-02, páginas 85-92) describen el examen por medio de FISH de la anomalía cromosómica en GIST, con el fin de probar una anomalía numérica cromosómica (CNA) como un posible predictor biológico del comportamiento biológico de los GIST. Yamashita y col. también describen que la CNA en los sitios primarios fue más extensa en los GIST con recurrencia y metástasis que en aquellos sin, especialmente en cuanto a la pérdida del cromosoma 20 y el desequilibrio genómico de la sonda BAC que contiene AURKA en 20q en los casos con metástasis.

45 El documento WO2010/068951 describe el uso de un inhibidor de AURKA y un inhibidor de Src en los ensayos sinérgicos *in vitro* para probar si C1368 (un inhibidor selectivo de AURKA) y dasatinib (inhibidor de Src cinasa) sinergizan para inducir la muerte celular en la línea celular de cáncer humana HCT116, que es una línea celular de cáncer colorectal (véase la pág. 3, 1. 27-28). GIST no es un cáncer en el que se pruebe la asociación entre el inhibidor de AURKA y Src.

50 El documento WO2006/129064 indica que los inhibidores de AURKA pueden ser útiles para el tratamiento de tumores. Sin embargo, este documento no describe ningún resultado de dichos inhibidores sobre las líneas celulares de cáncer o en el paciente; D3 es únicamente putativo.

55 En vista de todos estos elementos, aún existe claramente la necesidad de nuevas herramientas que permitan predecir el pronóstico de los GIST, paliando particularmente los fallos, inconvenientes y obstáculos del estado de la técnica.

Descripción de la invención

60 Después de importantes investigaciones, el Solicitante descubrió sorprendentemente una firma de expresión génica pronóstica para el resultado clínico de GIST primarios.

65 Sorprendentemente, se ha demostrado por el Solicitante que la firma CINSARC (CINSARC para índice de complejidad en sarcoma (Complexity INdex in SARComa), una firma de pronóstico de la expresión de 67 genes relacionada con la complejidad genómica en los sarcomas, documento PCT/FR2010/000323, [55]) y/o una nueva firma de expresión de un gen predicen el pronóstico metastásico en GIST y que la combinación de cada una de estas firmas con los desequilibrios genómicos supera el método de clasificación histopatológica actual al determinar el pronóstico de los pacientes. Más específicamente, estas firmas moleculares identifican "pacientes de riesgo" en

casos estratificados como de riesgo intermedio de acuerdo con la clasificación del Armed Forces Institut of Pathology.

5 El Solicitante logra demostrar que existe una relación positiva entre el IG (Índice Genómico) y la expresión de AURKA.

El Solicitante sorprendentemente consigue construir un algoritmo de decisión en base al IG y la expresión de AURKA.

10 Ventajosamente, la aplicación de la firma permite una terapia con imatinib más selectiva, lo que conduce a un descenso de la morbilidad iatrogénica y mejores resultados para pacientes individuales.

15 Por consiguiente, en un primer aspecto, la invención **describe** un método para la predicción *in vitro* de la supervivencia y/o el pronóstico metastásico de tumores estromales gastrointestinales (GIST), comprendiendo el método la medición del nivel, en una muestra biológica obtenida de un paciente de GIST, de un agrupamiento de polipéptidos o polinucleótidos que consiste en Aurora cinasa A (AURKA).

20 Método para la predicción *in vitro* de la supervivencia y/o el pronóstico metastásico de tumores estromales gastrointestinales (GIST), caracterizado por que comprende la medición del nivel, en una muestra biológica obtenida de un paciente de GIST, de un agrupamiento de polipéptidos o polinucleótidos que consiste en Aurora cinasa A (AURKA), en el que GIST se clasifica en un grupo con alto riesgo de desarrollar metástasis en 5 años, es decir, con un riesgo de desarrollar metástasis en 5 años de más del 80 %, cuando AURKA se regula por aumento en comparación con un grupo sin ningún riesgo de desarrollar metástasis en 5 años, en el que AURKA se regula por disminución e inferior a 9,13, donde 9,13 se calcula a partir de la expresión media de AURKA de muestras tumorales estratificadas.

30 "Predicción de la supervivencia y/o pronóstico metastásico" se refiere en el presente documento a la predicción de si un paciente tiene una oportunidad de sobrevivir, o un riesgo de desarrollar metástasis tras el resultado de un GIST. La supervivencia o el desarrollo de metástasis puede calcularse a partir de la invención, GIST puede clasificarse en un grupo con alto riesgo de desarrollar metástasis en 5 años de un resultado de GIST, o en un grupo con ningún riesgo de desarrollar metástasis en 5 años, o en un grupo intermedio. Más particularmente, el grupo de pacientes con alto riesgo de desarrollar metástasis en 5 años se caracteriza por un riesgo de desarrollar metástasis en 5 años de más del 80 %, cuando AURKA se regula por aumento, en comparación con un grupo sin ningún riesgo de desarrollar metástasis en 5 años cuando AURKA se regula por disminución.

35 "Muestra biológica obtenida de un paciente de GIST" se refiere en el presente documento a cualquier muestra biológica que contiene células de GIST y obtenida a partir de un paciente tratado para o que padece GIST. Por ejemplo, GIST puede ser tumores no tratados primarios.

40 "Polipéptido" se refiere en el presente documento a la proteína AURKA (Número de Acceso de Genbank NM_198433; SEQ ID NO: 1), un fragmento de la proteína AURKA, una región de la proteína AURKA o un derivado de la proteína AURKA. Por ejemplo, el polipéptido puede ser un polipéptido que tiene al menos el 70 % de identidad de secuencia con la secuencia peptídica de la proteína AURKA, o un polipéptido que tiene al menos el 80 % de identidad de secuencia con la secuencia peptídica de la proteína AURKA, o un polipéptido que tiene al menos el 90 % de identidad de secuencia con la secuencia peptídica de la proteína AURKA.

50 "Polinucleótido" se refiere en el presente documento a cualquier polinucleótido que codifica el polipéptido como se ha definido anteriormente, o a cualquier polinucleótido que hibrida en condiciones rigurosas en un polipéptido que codifica el polipéptido como se ha definido anteriormente. El polinucleótido de la invención puede ser cualquiera de ADN o ARN, por ejemplo, la secuencia SEQ ID NO: 2. El ADN puede estar en cualquier forma de ADN genómico, un biblioteca de ADN genómico, ADNc o un ADN sintético. Además, el polinucleótido de la presente invención puede ser cualquier de los amplificados directamente por un método por RT-PCR usando ARN total o una fracción de ARNm preparada a partir de un GIST. El polinucleótido de la presente invención incluye un polinucleótido que hibrida en condiciones rigurosas en un polinucleótido.

55 La medición del nivel de polipéptidos puede realizarse por cualquier técnica apropiada conocida por el experto en la técnica. Puede ser, por ejemplo, una técnica de inmunohistoquímica, en la que la expresión de la proteína se mide después de la hibridación de un anticuerpo que reconoce específicamente la proteína AURKA.

60 La medición del nivel de polinucleótidos puede realizarse por cualquier técnica apropiada conocida por el experto en la técnica. Puede ser, por ejemplo, un método de qPCR genómica (reacción en cadena de polimerización cuantitativa), array CGH (Hibridación Genómica Comparativa) o RT-qPCR (qPCR en tiempo real) para comprobar el número de copias de ADN genómico o cuantificar la expresión del ADN genómico.

65 Ventajosamente, la expresión de AURKA permite predecir la supervivencia y/o el pronóstico metastásico de los GIST, y no ha de medirse ninguna otra expresión génica o de proteínas. El método de la invención puede

comprender el cálculo del Índice Genómico (IG), es decir, el número y tipo de alteraciones del genoma de GIST, de acuerdo con la fórmula como se indica a continuación:

$$IG = A^2 \times C,$$

5 en la que A es el número de alteraciones en el genoma de GIST y C es el número de cromosomas implicados en el GIST.

10 "Número de alteraciones en el genoma de GIST" se refiere en el presente documento a diferentes ganancias y pérdidas numéricas y segmentarias. Por ejemplo, las alteraciones pueden implicar todos los brazos del cromosoma o un cromosoma sin reordenación, o ganancias o pérdidas intra-cromosomales. Puede medirse mediante técnicas conocidas en la técnica, tal como array CGH.

15 "Número de cromosomas implicados en GIST" se refiere en el presente documento al número de cromosomas de células de GIST que tienen una alteración. El número de cromosomas puede medirse mediante array CGH.

20 Ventajosamente, GIST se clasifica en un grupo de supervivencia sin metástasis ni enfermedad cuando AURKA se regula por disminución y el IG es igual o inferior a 10. En este caso, la expresión de AURKA puede ser inferior a 9,13, o inferior a 9, o inferior a 8, o inferior a 7, o inferior a 6, o inferior a 5. En este caso, hay una supervivencia de 5 años, es decir, no hay metástasis o enfermedad durante 5 años después del resultado de GIST o después del fin de un tratamiento. En una realización particular, GIST puede clasificarse en un grupo con bajo riesgo de desarrollar metástasis en 5 años, es decir, con un riesgo de desarrollar metástasis en 5 años comprendido entre el 0 % y el 10 %, cuando la expresión de AURKA es igual o inferior a la media de la expresión de AURKA, y el IG es igual o inferior a 10, siendo dicha media la media de la expresión/nivel de AURKA en varios GIST, por ejemplo, una serie de 25 50 a 70 GIST, por ejemplo 60 GIST. En este caso, no hay metástasis ni enfermedad durante 5 años.

30 Como alternativa, GIST puede clasificarse en un grupo con alto riesgo de desarrollar metástasis en 5 años, es decir, con un riesgo de desarrollar metástasis en 5 años de más del 75 %, cuando la expresión de AURKA es más de la media de la expresión de AURKA y el IG es más de 10, siendo dicha media la media de la expresión de AURKA en varios GIST, por ejemplo, en una serie de 50 a 70 GIST, por ejemplo 60 GIST. En este caso, se dan el 75 % de los casos de metástasis o enfermedad durante 5 años después del resultado de GIST o después del fin de un tratamiento.

35 Se describe un kit para la predicción *in vitro* del resultado de supervivencia de un paciente que padece GIST, y/o el desarrollo de metástasis en un paciente tratado para o que padece GIST, y/o la predicción de la eficacia de un tratamiento para GIST, caracterizado por que comprende medios para detectar y/o cuantificar, en una muestra, la expresión/nivel de AURKA, y medios para el cálculo del IG.

40 "Medios para detectar y/o la expresión/nivel de AURKA" pueden ser cualquier medio para detectar niveles de proteínas o de polinucleótidos conocidos por el experto en la técnica. Los medios pueden ser, por ejemplo, los medios para realizar un análisis de inmunohistoquímica, una transferencia de western o una q-PCR.

45 "Medios para el cálculo del IG" se refiere en el presente documento a cualquier medio que permita el cálculo del número de alteraciones en el genoma de GIST y del número de cromosomas implicados en el GIST.

Se describe un método para buscar compuestos para el uso en el tratamiento de GIST, que comprende las etapas de:

- 50 a. Poner en contacto un compuesto de ensayo con una muestra biológica obtenida de un paciente que contiene células de GIST,
 b. Medir la expresión o el nivel de AURKA,
 c. Comparar dicha expresión o nivel de AURKA con la expresión de AURKA antes del contacto entre dicho compuesto de ensayo y dicha muestra,
 55 d. Seleccionar dicho compuesto de ensayo que permita una regulación por disminución de la expresión/nivel de AURKA.

"Regulación por disminución" se refiere en el presente documento a cualquier disminución de la expresión o el nivel de la proteína o el polinucleótido AURKA.

60 El método también comprende las etapas de:

- e. Calcular el IG,
 f. Comparar dicho IG con el IG antes del contacto entre dicho compuesto de ensayo y dicha muestra,
 65 g. Seleccionar dicho compuesto de ensayo que permita una regulación por disminución del IG a 10 o menos.

Se describe un inhibidor de AURKA para su uso en el tratamiento de GIST.

"Inhibidor" se refiere en el presente documento a cualquier compuesto que permita un descenso de la expresión/nivel de la proteína AURKA, o en un descenso de un efecto biológico de AURKA, cuando el inhibidor se pone en contacto con GIST. El inhibidor de AURKA puede ser PHA-739358 (29, 54), MLN8237 (30), MK-5108 (33).

Otro objeto de la invención es un método de tratamiento de GIST, en un sujeto que necesita el mismo, que comprende la etapa de administrar al paciente una dosis farmacéuticamente eficaz de un inhibidor como se ha definido anteriormente.

Breve descripción de las figuras

- Figura 1: Análisis Kaplan-Meyer de la supervivencia libre de metástasis (MFS) y libre de enfermedad (DFS) de acuerdo con la estratificación CINSARC. Los centroides se han vuelto a indicar en una serie publicada previamente (Yamaguchi y col., 2008) de 32 GIST (a) y después se aplican a la presente serie de 60 GIST (b).

- Figura 2: Análisis Kaplan-Meyer de la supervivencia libre de metástasis (MFS) y libre de enfermedad (DFS) de acuerdo con la expresión de AURKA. AURKA se ha identificado en la presente serie de 60 GIST, esta serie se considera como (a) el "conjunto de formación" y la serie de Yamaguchi como (b) el "conjunto de validación". A1 corresponde a tumores con expresión de AURKA por debajo de la media.

- Figura 3: Perfiles CGH de cuatro casos que representan GIST con muy pocos reordenaciones (GIST N° 8), GIST moderadamente reordenados (GIST N° 49 y N° 11) y GIST altamente reordenados (GIST N° 38). Las alteraciones genómicas se presentan y se organizan del cromosoma 1 a 22 sobre el eje X y los valores de relación logarítmica se indican sobre el eje Y. Se indican ganancias o pérdidas significativas mediante líneas de color azul y áreas de color azul por encima o por debajo de cada perfil, respectivamente.

- Figura 4: Análisis Kaplan-Meyer de la supervivencia libre de metástasis (MFS) y libre de enfermedad (DFS) de acuerdo con (a) IG, (b) clasificación del AFIP, y (c) IG en el subgrupo de casos intermedios del AFIP.

- Figura 5: Análisis Kaplan-Meyer de la supervivencia libre de metástasis (MFS) y libre de enfermedad (DFS) de acuerdo tanto con el IG como la expresión de AURKA. **AG1** corresponde a tumores con IG por debajo de 10 y expresión de AURKA por debajo de la media. **AG2** corresponde a tumores con IG sobre 10 y expresión de AURKA por encima de la media.

- Figura 6: Representación de gráfico volcán de la prueba t que compara los perfiles de expresión de GIST con o sin metástasis. El diagrama de Venn en la parte inferior indica el número de genes solapantes con la firma CINSARC.

- Figura 7: Gráfico de dispersión que presenta la asociación entre el Índice Genómico (IG, eje Y) y la expresión de AURKA (\log_2 , eje X). Las líneas horizontales y verticales de color **negro** corresponden a un umbral del IG de 10 y a una expresión media de AURKA, respectivamente. r = Coeficiente de correlación de Pearson. Los círculos de color **negro** indican casos metastásicos.

- Figura 8: Histograma que presenta las 4000 sondas eliminadas con más frecuencia en casos metastásicos (M) (azul). Las frecuencias correspondientes para casos no metastásicos (NM) están en rojo. Los ejes Y representan la frecuencia de delección. Los paneles inferiores son vistas detalladas de las sondas con las mayores diferencias entre los casos M y NM.

- Figura 9: Perfil genómico del cromosoma 9 de los 18 GIST metastásicos (panel superior). Las delecciones y ganancias se indican en color verde y rojo, respectivamente; y la intensidad del color es proporcional a los cambios en el número de copias. Se proporciona una vista detallada (panel inferior) para los 6 casos que presentan un locus *CDKN2A* dirigido a la delección homocigótica 9p21 (verde oscuro).

- Figura 10: Valores pronósticos de la expresión de proteína del gen AURKA. Análisis Kaplan-Meyer de la supervivencia libre de metástasis (MFS) de acuerdo con la expresión de AURKA. La expresión de la proteína AURKA se ha medido después de la hibridación específica con un anticuerpo que reconoce específicamente la proteína AURKA. Después, la hibridación del anticuerpo se reveló mediante un proceso cromogénico.

Ejemplos

Ejemplo 1: Material y métodos

Muestras tumorales

Se seleccionaron sesenta y siete tumores GIST recién congelados de la base de datos de GIST Europea CONTICAGIST (www.conticagist.org) que contiene datos de tejidos de GIST, incluyendo información relativa a pacientes, el tumor primario, el tratamiento, el seguimiento y la disponibilidad de muestras tumorales. Todos los GIST seleccionados eran tumores no tratados. Sus características se presentan en la tabla complementaria 1. La mayor parte de los GIST (59/67) se estudiaron tanto mediante array CGH como mediante perfil de expresión génica (una combinación de 66 mediante array CGH y 60 mediante perfil de expresión génica).

Aislamiento de ADN y array CGH

(Arrays Agilent (G4450A). En resumen, para cada muestra, se fragmentaron 350 ng de ADN mediante una digestión enzimática doble (Alul + RsaI) y se comprobaron con LabOnChip (Sistema Bioanalizador 2100, Agilent Technologies) antes del marcado y la hibridación. Los ADN de tumor y de control se marcaron por cebado aleatorio con CY5-dUTP y CY3-dUTP, respectivamente, hibridados a 65 °C durante 24 h y rotación a 20 rpm. Las matrices se exploraron usando un lector de micromatrices de ADN Agilent G2585CA y el análisis de imagen se hicieron usando el software Feature-Extraction V 10.1.1.1 (Agilent Technologies). La normalización se hizo usando el método modo de clasificación disponible en el software Feature-Extraction V 10.1.1, con un valor por defecto para cualquier parámetro. Los datos de proporción del número de copias brutos se transfirieron al software CGH Analytics v 4.0.76. Se usó el algoritmo ADM-2 del software CGH Analytics v 4.0.76 (Agilent) para identificar anomalías en el número de copias de ADN al nivel de la sonda. Se definió una ganancia en el número de copias de bajo nivel como una relación $\log_2 > 0,25$ y se definió una pérdida en el número de copias como una relación $\log_2 < -0,25$. Se definió una ganancia o amplificación de alto nivel como una relación $\log_2 > 1,5$ y se sospecha una delección homocigótica cuando la relación está por debajo de -1. Para establecer los criterios de decisión para el pronóstico, las alteraciones que implican más de 100 sondas se han computerizado automáticamente usando un filtro de aberración.

PCR cuantitativa genómica en tiempo real y secuenciación

Para determinar el estado del número de copias de *p16*, *p15* y *p14*, se realizó PCR en tiempo real en el ADN genómico usando TaqMan® Universal Master Mix (Applied Biosystems). Para normalizar los resultados, se usaron tres genes de referencia: *GAPDH*, *ALB* y *RPLP0*, con el fin de tener, para cada tumor, al menos dos de estos genes de referencia en un número normal de copias (array CGH). Los cebadores y la sonda usados para *RPLP0* son como se indica a continuación: (F) 5'-TGGATCTGCTGGTTGTCCAA-3' (SEQ ID NO: 3); (R) 5'-CCAGTCTTGATCAGCTGCACAT-3' (SEQ ID NO: 4); (sonda) 5'-AGGTGTTTACTGCCCACTATTATCTGGTTCAGA-3' (SEQ ID NO: 5). Se han descrito previamente otros cebadores y sondas usados (52). Los datos tumorales se normalizaron frente a los datos obtenidos para el ADN normal. Después, los resultados se calcularon como se ha descrito previamente (52). Un estado normal corresponde a $0,8 \leq \text{relación} \leq 1,2$, $0,1 < \text{relación} < 0,8$ se considera como una delección hemocigótica. Cuando la relación es inferior a 0,1, la delección se considera como homocigótica. El locus *CDKN2A* se ha sometido a secuenciación como se ha descrito previamente ([52]) y el gen *RB1* se secuenció usando ADN genómico de acuerdo con Houdayer y col. (53) o ADNc con los siguientes cebadores: (F1) 5'-TCATGTCAGAGAGAGAGCTTGG-3' (SEQ ID NO: 6), (R1) 5'-CGTGCACTCCTGTTCTGACC-3' (SEQ ID NO: 7); (F2) 5'-AATGGTTCACCTCGAACACC -3' (SEQ ID NO: 8), (R2) 5'-CTCGGTAATACAAGCGAACTCC-3' (SEQ ID NO: 9); (F3) 5'-CCTCCACACACTCCAGTTAGG-3' (SEQ ID NO: 10), (R3) 5'-TGATCAGTTGGTCTTCTCG-3' (SEQ ID NO: 11); (F4) 5'-GCATGGCTCTCAGATTCACC-3' (SEQ ID NO: 12), (R4) 5'-TCGAGGAATGTGAGGTATTGG-3' (SEQ ID NO: 13); (F5) 5'-TCTTCCTCATGCTGTTCCAGG-3' (SEQ ID NO: 14), (R5) 5'-TGTAACACAGTGTCCACCAAGG-3' (SEQ ID NO: 15).

Aislamiento de ARN y perfil de expresión génica mediante un ensayo de color

Se extrajeron los ARN totales de muestras tumorales congeladas con reactivo TRIzol (Life Technologies, Inc.) y se purificaron usando el kit RNeasy® Min Elute TM Cleanup (Qiagen) de acuerdo con los procedimientos del fabricante. La calidad del ARN se comprobó en un bioanalizador Agilent 2100 (Agilent Technologies). Se usaron ARN con un número de integridad del ARN (RIN) > 6,5 para micromatriz.

El análisis de expresión génica se realizó usando array de oligo genoma humano 44K completo Agilent (Agilent Technologies). Esta matriz representa más de 41.000 genes humanos y transcripciones, con anotaciones de dominio público. El ARN total (500 ng) se transcribió de forma inversa en ARNc incorporando un cebador promotor T7 oligo-dT antes de la generación de ARNc fluorescente usando un kit Agilent Quick Amp Labelling (Agilent Technologies). El ARNc marcado se purificó usando un kit Qiagen RNeasy Mini (Qiagen) y se cuantificó usando un instrumento NanoDrop ND-1000. En estos experimentos, los ARNc (muestra) marcado con Cy3 se hibridaron en la matriz usando un kit de hibridación de expresión génica (Agilent Technologies). La hibridación se incubó en cámaras Agilent SureHyb durante 17 horas en un horno de hibridación ajustado a 65 °C y rotación a 10 rpm. Los portaobjetos de micromatrices se lavaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante y después se exploraron en un lector de micromatrices de ADN Agilent G2565BA DNA y se hizo un análisis de imagen usando el software Feature-Extraction V 10.1.1.1 (Agilent Technologies).

Todos los datos de micromatrices se normalizaron simultáneamente usando el algoritmo centil. La prueba t se realizó usando Genespring (Agilent Technologies) y los P-valores se ajustaron usando el procedimiento de Benjamini-Hochberg. El P-valor y el límite de cambio para la selección génica fueron 0,001 y 3, respectivamente. El análisis de ontología génica se realizó para establecer el enriquecimiento estadístico en el término de GO usando Genespring (Agilent Technologies).

PCR en Tiempo Real

La transcripción inversa y el PCR en tiempo real se realizaron como se ha descrito anteriormente (52). Se usaron

ensayos de expresión génica TaqMan® (Applied Biosystems): Hs01582072_m1 para *AURKA*; Hs01078066_m1 para *RB1*; Hs99999905_m1 para *GAPDH*; Hs99999903_m1 para *ACTB* y Hs99999902_m1 para *RPLP0*. El nivel de expresión de *p14* y *p16* se evaluó como se ha descrito previamente (52). Con el fin de normalizar los resultados, se usaron los genes *GAPDH*, *ACTB* y *RPLP0* como genes de referencia. Se realizaron triplicados para cada muestra para cada gen. Se definió un CT de referencia (ciclo umbral, *Threshold Cycle*) para cada muestra como el CT medido medio de los tres genes de referencia. El nivel de ARNm relativo de *AURKA* en una muestra se definió como: $\Delta CT = CT(\text{gen de interés}) - CT(\text{media de los tres genes de referencia})$.

Análisis estadístico.

Para asignar el pronóstico, se aplicó el método centroide más cercano. Los centroides representan una media centrada de expresión para la firma de genes para cada resultado de paciente (metastásico y no metastásico). Por lo tanto, los centroides se calcularon a partir de las muestras de la cohorte 1 (17) y después cada muestra de esta serie (considerada así como un conjunto de validación) se asignó a la clase de pronóstico (centroide) con la mayor correlación de Spearman.

La supervivencia libre de metástasis y de enfermedad se calculó mediante el método Kaplan-Meier desde la fecha del diagnóstico inicial a la fecha de la primera metástasis, recaída, último seguimiento o muerte para pacientes con diagnóstico de metástasis. Las curvas de supervivencia se compararon con la prueba del rango logarítmico. Se realizaron cocientes de riesgo con el modelo de riesgo proporcional de Cox. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el software R versión 2.11.11 y el paquete "supervivencia".

Ejemplo 2: Resultados

CINSARC es un factor de pronóstico significativo en GIST

Para evaluar el problema de si la firma publicada previamente puede tener un valor de pronóstico en los GIST, se realizó un perfil de expresión en una serie de 67 GIST (Tabla 1).

Tabla 1: Descripción de los pacientes.
Los porcentajes se indican entre paréntesis. nd = no determinado

Sexo	
Hombre	27 (40)
Mujer	40 (60)
Ubicación	
Estómago	43 (64)
Intestino delgado	12 (18)
Otro	12 (18)
Subtipo histológico	
Huso	52 (77,5)
Epitelioide	5 (7,5)
Mixto	10(15)
Tamaño del tumor	
≤2	5 (7,5)
2-5	25 (37)
5-10	21 (31,5)
>10	15 (22,5)
nd	1 (1,5)
Índice mitótico	
≤5	42 (63)
>5	25 (37)
Riesgo según el AFIP	
Muy bajo	15 (22)
Bajo	16 (24)
Intermedio	16 (24)
Alto	19 (28,5)
nd	1 (1,5)
Margen quirúrgico	
R0	46 (69)
R1	4 (6)

nd	17 (25)
Mutaciones	
KIT	52 (77,5)
Ex 9	2 (3)
Ex 11	48 (71,5)
Ex 13	1 (1,5)
EX 17	1 (1,5)
PDGFRA	12 (18)
Ex 12	2 (3)
Ex 14	1 (1,5)
Ex 18	9(13,5)
WT	3 (4,5)
Eventos de recaída	
Local	7(10)
Distancia	18 (27)

Entre ellos, se obtuvo una cantidad suficiente de ARNm para 60 casos (89,5 %). Se aplicó la firma centroide más cercana CINSARC (18) a los GIST, usando una serie publicada (17) como un conjunto de formación para reconvertir los centroides y la presente serie como el conjunto de validación. El análisis Kaplan-Meier (figura 1) reveló que en ambas series la firma CINSARC dividió los tumores en dos grupos con supervivencias libre de metástasis (MFS) y libre de enfermedad (DFS) muy distintas (conjunto de validación: MFS: HR = 18,3, CI al 95 % = [2,4 - 140], P = 0,005 y DFS: HR = 19,6, CI al 95 % = [2,6 - 149,5], P = 0,004).

Cambios en la expresión génica asociados al pronóstico metastásico

Los resultados que se han presentado anteriormente indican que la expresión de los genes implicados en el control de la mitosis y la integridad cromosómica (CINSARC) se asocia a resultados de supervivencia en los GIST. Por lo tanto, Se cuestionó si el fenómeno recíproco era verdadero, es decir, si la expresión diferencial entre los casos metastásicos y no metastásicos puede identificar dichos genes. Para evaluar esta cuestión, se realizó una prueba t supervisada que comparaba los perfiles de expresión tumoral estratificados de acuerdo con los resultados (figura 6). Entre los 297 genes diferencialmente expresados (338 sondas) (Tabla 2), 70 (86 sondas) se regularon por disminución en los casos metastásicos y 227 (252 sondas) se regularon por aumento en los casos metastásicos (FC > 3 y P < 0,001).

Tabla 2: 297 genes expresados diferencialmente entre GIST con o sin metástasis (prueba t).

Genes regulados por aumento en GIST metastásicos		Genes expresados diferencialmente entre GIST con o sin metástasis (prueba t)	
Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Acceso a Genbank	Descripción
A_23_P71558	9,44E-08	NM_004260	Proteína 4 RecQ de Homo sapiens (RECQL4), ARNm [NM_004260]
A_23_P104651	3,83E-07	NM_080668	5 asociado al ciclo de división celular de Homo sapiens (CDCA5), ARNm [NM_080668]
A_23_P131866	5,70E-07	NM_198433	Aurora cinasa A de Homo sapiens (AURKA), variante transcripcional 1, ARNm [NM_198433]
A_23_P168747	5,91E-07	NM_017760	Complejo II de condensina no SMC de Homo sapiens, subunidad G2 (NCAPG2), ARNm [NM_017760]
A_23_P333998	5,91E-07	AF090919	ARNm PRO0327 del clon HQ0327 de Homo sapiens, cds completa. [AF090919]
A_23_P32707	5,95E-07	M_012291	Cuerpos polares del huso extra de Homo sapiens, homólogo 1 (S. cerevisiae) (ESPL1), ARNm [NM_012291]
A_32_P103633	5,95E-07	NM_004526	2 de mantenimiento de microcromosomas MCM2 de Homo sapiens deficiente, mitotina (S. cerevisiae) (MCM2), ARNm [NM_004526]
A_23_P29330	7,06E-07	NM_148674	Mantenimiento estructural de cromosomas 1 B de Homo sapiens (SMC1 B), ARNm [NM_148674]
A_24_P277576	7,78E-07	NM_004237	Interactor del receptor de hormona tiroidea 13 de Homo sapiens (TRIP13), ARNm [NM_004237]
A_23_P385861	7,78E-07	NM_152562	2 asociado al ciclo de división celular de Homo sapiens (CDCA2), ARNm [NM_152562]
A_23_P145657	7,78E-07	M_012447	Antígeno estromal 3 de Homo sapiens (STAG3), ARNm [NM_012447]
A_23_P7636	7,78E-07	NM_004219	1 transformante de tumor pituitario de Homo sapiens (PTTG1), ARNm [NM_004219]
A_24_P195454	7,78E-07	A_24_P195454	Proteína 3 que contiene súper hélice ácida transformante de Homo sapiens (TACC3), ARNm [NM_006342]
A_23_P212844	7,78E-07	NM_006342	2 transformante de tumor pituitario de Homo sapiens (PTTG2), ARNm [NM_006607]
A_23_P18579	9,70E-07	NM_006607	Asociado a microtúbulos TPX2 de Homo sapiens, homólogo (Xenopus laevis) (TPX2), ARNm [NM_012112]
A_23_P68610	9,70E-07	NM_012112	ALU2_HUMAN (P39189) Entrada de advertencia de contaminación de la secuencia de la subfamilia SB de Alu, parcial (13 %) [THC2705254]
A_24_P507383	9,70E-07	THC2705254	Homo sapiens NUF2, componente del complejo de cinetocoro NDC80, homólogo (S. cerevisiae) (NUF2), variante transcripcional 1, ARNm [NM_145697]
A_23_P74349	1,09E-06	NM_145697	NUF2
A_23_P218827	1,15E-06	NM_199420	Polimerasa de Homo sapiens (ADN dirigido), theta (POLQ), ARNm [NM_199420]
A_23_P302654	1,16E-06	NM_018140	Proteína centrosomal de Homo sapiens 72 kDa (CEP72), ARNm [NM_018140]
A_24_P942335	1,40E-06	BC002881	Marco de lectura abierta 42 del cromosoma 15 de Homo sapiens, ARNm (clon ADNc IMAGE: 3940845), cds. parcial [BC002881]

Genes regulados por aumento en GIST metastásicos				
Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso a Genbank	Símbolo del gen
A_23_P253661	1,48E-06	13,7	NM_024902	FLJ13236
A_23_P122197	1,52E-06	3,4	NM_031966	CCNB1
A_32_P188921	1,58E-06	4,2	BC007606	BC007606
A_23_P429491	1,58E-06	3,9	NM_145018	FLJ25416
A_23_P340909	1,58E-06	5,1	BC013418	C13orf3
A_23_P375	1,58E-06	4,7	NM_018101	CDCA8
A_24_P105102	1,58E-06	3,5	NM_182687	PKMYT1
A_23_P361419	1,58E-06	5,6	NM_018369	DEPDC1B
A_23_P133956	1,58E-06	4,8	NM_002263	KIFC1
A_23_P124417	1,93E-06	5,4	NM_004336	BUB1
A_24_P306704	2,01E-06	10,1	XR_016161	KRT18P23
A_24_P113144	2,01E-06	3,1	NM_024857	ATAD5
A_24_P297539	2,06E-06	6,4	NM_181803	UBE2C
A_24_P413884	2,08E-06	5,8	NM_001809	CENPA
A_23_P401	2,15E-06	4,3	NM_016343	CENPF
A_24_P76521	2,17E-06	4,9	AK056691	GSG2
A_32_P151800	2,36E-06	3,5	NM_207418	FAM72A
A_23_P150935	2,44E-06	5,4	NM_005480	TROAP
A_24_P354300	2,96E-06	3,3	NM_015.426	WDR51A
A_32_P217911	2,96E-06	3,8	BG951379	BG951379
A_24_P319613	3,11E-06	8,2	NM_002497	NEK2

Descripción

Proteína hipotética de Homo sapiens FLJ13236 (FLJ13236), ARNm [NM_024902]

Ciclina B1 de Homo sapiens (CCNB1), ARNm [NM_031966]

Clon ADNc de Homo sapiens IMAGE: 3351130, cds completa. [BC007606]

Proteína hipotética de Homo sapiens FLJ25416 (FLJ25416), ARNm [NM_145018]

Marco de lectura abierto 3 del cromosoma 13 de Homo sapiens, ARNm (clon ADNc MGC: 4832 IMAGE: 3604003), cds completa. [BC013418]

8 asociado a ciclo de división celular (CDCA8) de Homo sapiens, ARNm [NM_018101]

Proteína cinasa de Homo sapiens, tirosina/reonina 1 asociada a membrana (PKMYT1), variante transcripcional 2, ARNm [NM_182687]

1 B que contiene el dominio DEP de Homo sapiens (DEPDC1 B), ARNm [NM_018369]

Cinesina miembro de la familia C1 de Homo sapiens (KIFC1), ARNm [NM_002263]

BUB1 Ciernes desinhibida por benzimidazoles homólogo 1 de Homo sapiens (levadura) (BUB1), ARNm [NM_004336]

PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC642448), ARNm [XR_016161]

Familia de ATPasa de Homo sapiens, 5 que contiene el dominio (ATAD5), ARNm [NM_024857]

Enzima de conjugación de ubiquitina E2C de Homo sapiens (UBE2C), variante transcripcional 6, ARNm [NM_181803]

Proteína del centrómero A de Homo sapiens (CENPA), variante transcripcional 1, ARNm [NM_001809]

Proteína del centrómero F de Homo sapiens, 350/400 ka (mitosina) (CENPF), ARNm [NM_016343]

ADNc FLJ32129 fis de Homo sapiens, clon PEBLM2000213, débilmente similar a genes Mus musculus para integrina α M290, hapsin. [AK056691]

Familia con similitud de secuencia 72 de Homo sapiens, miembro A (FAM72A), ARNm [NM_207418]

Proteína asociada a trofinina de Homo sapiens (tastina) (TROAP), ARNm [NM_005480]

Dominio de repetición WD 51 A de Homo sapiens (WDR51A), ARNm [NM_015426]

MR1-CT0735-120101-003-h03 CT0735 ADNc de Homo sapiens, secuencia de ARNm [BG951379]

Cinasa 2 relacionada con NIMA (nunca en mitosis de genes a) de Homo sapiens (NEK2), ARNm [NM_002497]

Genes regulados por aumento en GIST metastásicos					Descripción
Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso a Genbank	Símbolo del gen	Descripción
A_24_P313504	3,16E-06	3,2	NM_005030	PLK1	Cinasa 1 de tipo Polo de Homo sapiens (Drosophila) (PLK1), ARNm [NM_005036]
A_23_P1.43190	3,30E-06	4,0	NM_002466	MYBL2	2 tipo homólogo oncogénico viral (avian) de mieloblastosis v-myb de Homo sapiens 2 (MYBL2), ARNm [NM_002466]
A_23_P6001.6	3,43E-06	5,7	NR_002734	PTTG3	3 transformante de tumor pituitario de Homo sapiens (PTTG3) en cromosoma 8 [NR_002734]
A_32_P96719	3,61E-06	4,3	NM_024745	SHCBP1	Proteína del dominio de unión a SHCSH2 1 de Homo sapiens (SHCBP1), ARNm [NM_024745]
A_23_P133123	3,63E-06	3,1	NM_032117	MND1	Homólogo 1 divisiones nucleares meióticas de Homo sapiens (S. cerevisiae) (MND1), ARNm [NM_032117]
A_23_P118815	3,63E-06	6,1	NM_001012271	BIRC5	5 que contiene repetición IAP baculoviral de Homo sapiens (survivina) (BIRC5), variante transcripcional 3, ARNm [NM_001012271]
A_24_P323598	3,63E-06	4,8	NM_001017420	ESCO2	Establecimiento de cohesión 1 homólogo 2 de Homo sapiens (S. cerevisiae) (ESCO2), ARNm [NM_001017420]
A_24_P227091	3,63E-06	3,7	NM_004523	KIF11	Miembro de la familia de kinesina 11 de Homo sapiens (KIF11), ARNm [NM_004523]
A_24_P322354	3,63E-06	6,3	NM_145060	C18orf24	Marco de lectura abierta 24 del cromosoma 18 de Homo sapiens (C18orf24), variante transcripcional 2, ARNm [NM_145060]
A_23_P96325	3,63E-06	6,5	NM_001009954	FLJ20105	Proteína FLJ20105 de Homo sapiens (FLJ20105), variante transcripcional 2, ARNm [NM_001009954]
A_23_P253752	3,86E-06	3,5	NM_138419	FAM54A	Familia con similitud de secuencia 54 de Homo sapiens, miembro A (FAM54A), ARNm [NM_138419]
A_23_P80902	4,16E-06	4,5	NM_020242	KIF15	Miembro de la familia de kinesina 15 de Homo sapiens (KIF15), ARNm [NM_020242]
A_23_P118174	4,45E-06	3,5	NM_005030	PLK1	Cinasa 1 tipo Polo de Homo sapiens (Drosophila) (PLK1), ARNm [NM_005030]
A_23_P415443	4,45E-06	3,5	NM_015341	NCAPH	Complejo I de condensina no SMC de Homo sapiens, subunidad H (NCAPH), ARNm [NM_015341]
A_24_P323434	4,47E-06	7,1	NM_152562	CDCA2	2 asociado al ciclo de división celular de Homo sapiens (CDCA2), ARNm [NM_152562]
A_24_P466231	4,91E-06	3,6	THC2515749	THC2515749	proteína Q6NWX8_HUMAN (Q6NWX8) LOC146909 (Fragmento), parcial (29%) [THC2515749]
A_23_P51085	5,23E-06	6,0	NM_020675	SPC25	Homo sapiens SPC25, componente del complejo de cinetocoro NDC80, homólogo (S. cerevisiae) (SPC25), ARNm [NM_020675]
A_32_P407245	5,31E-06	4,0	NM_024902	FLJ13236	Proteína hipotética de Homo sapiens FLJ13236 (FLJ13236), ARNm [NM_024902]
A_23_P138507	5,32E-06	5,5	NM_001786	CDC2	2 de ciclo de división celular de Homo sapiens, G1 a S y G2 a M (CDC2), variante transcripcional 1, ARNm [NM_001786]
A_23_P49878	5,32E-06	7,2	NM_019013	FAM64A	Familia con similitud de secuencia 64 de Homo sapiens, miembro A (FAM64A), ARNm [NM_019013]
A_23_P345707	5,58E-06	5,6	NM_152259	C15orf42	Marco de lectura abierto 42 del cromosoma 15 de Homo sapiens (C15orf42), ARNm [NM_152259]

Genes regulados por aumento en GIST metastásicos					Descripción
Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso a Genbank	Símbolo del gen	Descripción
A_23_P52017	5,62E-06	7,4	NM_018136	ASPM	Homólogo asp (huso anormal) de Homo sapiens, microcefalia asociada (Drosophila) (ASPM), ARNm [NM_018136]
A_23_P88630	5,62E-06	3,3	NM_000057	BLM	Síndrome de Bloom de Homo sapiens (BLM), ARNm [NM_000057]
A_24_P680947	5,62E-06	9,1	ENST00000335534	LOC146909	Proteína hipotética de Homo sapiens LOC146909, ARNm (clon ADNc IMAGE: 4418755), cds. parcial [BC048263]
A_32_P109296	5,67E-06	5,8	NM_152259	C15orf42	Marco de lectura abierta 42 del cromosoma 15 de Homo sapiens (C15orf42), ARNm [NM_152259]
A_24_P914479	5,84E-06	3,4	BC002724	SNX5	Nexina 5 de clasificación de Homo sapiens, ARNm (clon ADNc IMAGE: 3629947), cds completa. [BC002724]
A_24_P84970	5,88E-06	3,0	XR_016386	KRT18P42	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC391819), ARNm [XR_016386]
A_24_P161827	6,30E-06	5,1	XR_018749	LOC442405	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC442405), ARNm [XR_018749]
A_23_P388812	6,70E-06	5,7	NM_152515	CKAP2L	2 tipo proteína asociada al citoesqueleto de Homo sapiens (CKAP2L), ARNm [NM_152515]
A_23_P48669	6,84E-06	4,4	NM_005192	CDKN3	Inhibidor de cinasa 3 dependiente de ciclina de Homo sapiens (fosfatasa de especificidad dual asociada a CDK2) (CDKN3), ARNm [NM_005192]
A_23_P151150	7,46E-06	4,9	NM_202002	FOXO1	Caja cabeza horquilla M1 de Homo sapiens (FOXO1), variante transcripcional 1, ARNm [NM_202002]
A_23_P52278	7,65E-06	4,0	NM_004523	KIF11	Miembro de la familia de kinesina 11 de Homo sapiens (KIF11), ARNm [NM_004523]
A_23_P34788	7,84E-06	4,7	NM_006845	KIF2C	Miembro de la familia de kinesina 2C de Homo sapiens (KIF2C), ARNm [NM_006845]
A_23_P70007	7,84E-06	5,3	NM_012484	HMMR	Receptor de movilidad mediada por hialuronano de Homo sapiens (RHAMM) (HMMR), variante transcripcional 1, ARNm [NM_012484]
A_23_P161474	7,95E-06	4,5	NM_182751	MCM10	10 de mantenimiento de minicromosomas MCM10 de Homo sapiens deficiente (S. cerevisiae) (MCM10), variante transcripcional 1, ARNm [NM_182751]
A_24_P48248	7,95E-06	3,1	NM_024032	C17orf53	Marco de lectura abierta 53 del cromosoma 17 de Homo sapiens (C17orf53), ARNm [NM_024032]
A_23_P252292	8,09E-06	4,5	NM_006733	CENPI	Proteína del centrómero I de Homo sapiens (CENPI), ARNm [NM_006733]
A_24_P14156	8,62E-06	5,3	NM_006101	NDC80	Homólogo NDC80 de Homo sapiens, componente del complejo de cinetocoro (S. cerevisiae) (NDC80), ARNm [NM_006101]
A_23_P356684	8,95E-06	5,9	NM_018685	ANLN	Anilina de Homo sapiens, proteína de unión a actina (ANLN), ARNm [NM_018685]
A_23_P57588	9,10E-06	4,7	NM_016426	GTSE1	1 expresado de fase G-2 y S de Homo sapiens (GTSE1), ARNm [NM_016426]
A_24_P375360	9,10E-06	4,3	XR_019146	LOC651439	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC651439), ARNm [XR_019146]

Genes regulados por aumento en GIST metastásicos				
Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso a Genbank	Símbolo del gen
A_24_P257099	9,31E-06	7,1	NM_018410	DKFZp762E1312
A_24_P247233	9,39E-06	4,9	XR_018420	KRT18P16
A_23_P37704	9,39E-06	4,4	NM_030928	CDT1
A_23_P164814	9,69E-06	3,3	NM_024323	C19orf57
A_23_P88331	9,69E-06	6,2	NM_014750	DLG7
A_23_P57379	9,69E-06	4,1	NM_003504	CDC45L
A_23_P259586	9,69E-06	6,7	NM_003318	TTK
A_23_P210853	9,69E-06	5,6	NM_021067	GINS1
A_24_P916195	9,69E-06	4,5	NM_016426	GTSE1
A_24_P332595	9,69E-06	4,2	XR_018618	KRT18P47
A_23_P94422	9,90E-06	5,2	NM_014791	MELK
A_23_P206441	9,94E-06	4,2	NM_000135	FANCA
A_32_P62997	1,00E-05	7,4	NM_018492	PBK
A_24_P728920	1,05E-05	6,6	BC131554	BC 131554
A_24_P218979	1,18E-05	3,3	NM_031299	CDCA3
A_24_P378331	1,22E-05	3,1	NM_144508	CASC5
A_24_P96780	1,22E-05	4,6	NM_016343	CENPF
A_23_P256956	1,23E-05	6,9	NM_005733	KIF20A
A_24_P195164	1,23E-05	4,3	THC2524582	THC2524582
A_23_P65757	1,23E-05	5,1	NM_004701	CCNB2
A_23_P122650	1,23E-05	4,5	XR_018843	LOC649233

Descripción

Proteína hipotética de Homo sapiens DKFZp762E1312 (DKFZp762E1312), ARNm [NM_018410]

PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC391827), ARNm [XR_018420]

Licencia de cromatina de Homo sapiens y factor de replicación de ADN 1 (CDT1), ARNm [NM_030928]

Marco de lectura abierta 57 del cromosoma 19 de Homo sapiens (C19orf57), ARNm [NM_024323]

Discos de Homo sapiens, gran homólogo 7 (Drosophila) (DLG7), ARNm [NM_014750]

Tipo ciclo división celular 45 CDC45 de Homo sapiens (S. cerevisiae) (CDC45L), ARNm [NM_003504]

Proteína cinasa TTK de Homo sapiens (TTK), ARNm [NM_003318]

Subunidad 1 del complejo GINS de Homo sapiens (homólogo Psf1) (GINS1), ARNm [NM_021067]

1 expresado de G-2 y fase S de Homo sapiens (GTSE1), ARNm [NM_016426]

PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC390634), ARNm [XR_018618]

Cinasa cremallera de leucina embrionaria material de Homo sapiens (MELK), ARNm [NM_014791]

Anemia de Fanconi de Homo sapiens, grupo de complementación A (FANCA), variante transcripcional 1, ARNm [NM_000135]

Cinasa de unión a PDZ de Homo sapiens (PBK), ARNm [NM_018492]

Clon ADNc de Homo sapiens IMAGE: 40108029, [BC131554]

3 asociado al ciclo de división celular de Homo sapiens (CDCA3), ARNm [NM_031299]

Candidato 5 de susceptibilidad de cáncer de Homo sapiens (CASC5), variante transcripcional 2, ARNm [NM_144508]

Proteína del centrómero F de Homo sapiens, 350/400 ka (mitosina) (CENPF), ARNm [NM_016343]

Miembro de la familia de cinasina 20A de Homo sapiens (KIF20A), ARNm [NM_005733]

Q5U0N8_HUMAN (Q5U0N8) Queratina 18 (Proteína de inducción de la proliferación celular 46), parcial (46%) [THC2524582]

Ciclina B2 de Homo sapiens (CCNB2), ARNm [NM_004701]

PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC649233), ARNm [XR_018843]

Genes regulados por aumento en GIST metastásicos					Descripción
Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso a Genbank	Símbolo del gen	
A_24_P306896	1,27E-05	5,9	ENST00000323198	ENST00000323198	similar a enzima E2C de conjugación de ubiquitina (ligasa C de proteína ubiquitina) (Proteína C vehículo de ubiquitina) (UbcH10) (LOC648937), ARNm [Fuente: RefSeq_dna;Acc:XR_018466]
A_23_P35219	1,27E-05	8,7	NM_002497	NEK2	Cinasa 2 relacionada con NIMA (nunca en la mitosis de genes a) de Homo sapiens (NEK2), ARNm [NM_002497]
A_32_P151544	1,27E-05	5,1	NM_000224	KRT18	Queratina 18 de Homo sapiens (KRT18), variante transcripcional 1, ARNm [NM_000224]
A_24_P176374	1,30E-05	3,9	NM_030928	CDT1	Licencia de cromatina de Homo sapiens y factor de replicación de ADN 1 (CDT1), ARNm [NM_030928]
A_24_P153003	1,41E-05	3,2	XR_019238	LOC652192	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC652192), ARNm [XR_019238]
A_23_P119254	1,44E-05	3,4	NM_018154	ASF1 B	Función anti-silenciamiento ASF1 de Homo sapiens 1 homólogo B (S. cerevisiae) (ASF1 B), ARNm [NM_018154]
A_24_P230486	1,44E-05	4,1	A_24_P230486	A_24_P230486	Topoisomerasa (ADN) II alfa de Homo sapiens 170 kDa (TOP2A), ARNm [NM_001067]
A_23_P118834	1,46E-05	5,2	NM_001067	TOP2A	Complejo I de condensina no SMC de Homo sapiens, subunidad G (NCAPG), ARNm [NM_022346]
A_23_P155815	1,53E-05	5,2	NM_022346	NCAPG	Homólogo asp de Homo sapiens (huso anormal), microcefalia asociada (Drosophila) (ASPM), ARNm [NM_018136]
A_24_P911179	1,53E-05	8,0	NM_018136	ASPM	Marco de lectura abierta 135 del cromosoma 1 de Homo sapiens (C1orf135), ARNm [NM_024037]
A_23_P160537	1,57E-05	3,8	NM_024037	C1orf135	2 asociado a célula germinal de Homo sapiens (haspin) (GSG2), ARNm [NM_031965]
A_23_P66732	1,58E-05	3,5	NM_031965	GSG2	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC731794), ARNm [XR_015605]
A_24_P418687	1,62E-05	5,6	XR_015605	LOC731794	Homólogo C del ciclo de división celular 25 de Homo sapiens (S. pombe) (CDC25C), variante transcripcional 1, ARNm [NM_001790]
A_23_P70249	1,68E-05	7,4	NM_001790	CDC25C	Lámina B1 de Homo sapiens (LMNB1), ARNm [NM_005573]
A_23_P258493	1,68E-05	3,5	NM_005573	LMNB1	Proteína centrosomal de Homo sapiens 55 kDa (CEP55), ARNm [NM_018131]
A_23_P115872	1,69E-05	5,9	NM_018131	CEP55	
A_24_P50328	1,72E-05	4,8	A_24_P50328	A_24_P50328	
A_24_P471242	1,84E-05	4,9	A_24_P471242	A_24_P471242	
A_24_P383660	1,84E-05	6,1	XR_018670	KRT18P12	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC643471), ARNm [XR_018670]
A_23_P99292	1,97E-05	3,2	NM_006479	RAD51AP1	Proteína 1 asociada a RAD51 de Homo sapiens (RAD51AP1), ARNm [NM_006479]

Genes regulados por aumento en GIST metastásicos

Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso a Genbank	Símbolo del gen	Descripción
A_23_P25069	2,13E-05	3,7	BC039117	OVOS2	Ovostatina 2 de Homo sapiens, ARNm (clon ADNc IMAGE: 4827636). [BC039117]
A_24_P161809	2,22E-05	5,2	ENST00000333983	ENST00000333983	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC391179), ARNm [XR_018953]
A_23_P259641	2,22E-05	3,1	NM_004456	EZH2	Potenciador de homólogo zeste 2 de Homo sapiens (Drosophila) (EZH2), variante transcripcional 1, ARNm [NM_004456]
A_24_P255954	2,23E-05	5,5	XR_019330	LOC652370	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC652370), ARNm [XR_019330]
A_23_P206059	2,25E-05	3,5	NM_003981	PRC1	Regulador de proteína de ciclinas 1 de Homo sapiens (PRC1), variante transcripcional 1, ARNm [NM_003981]
A_23_P35871	2,26E-05	5,3	NM_024680	E2F8	Factor de transcripción 8 E2F de Homo sapiens (E2F8), ARNm [NM_024680]
A_24_P416079	2,33E-05	4,4	NM_016359	NUSAP1	Proteína 1 asociada a nucleolar y huso de Homo sapiens (NUSAP1); variante transcripcional 1, ARNm [NM_016359]
A_24_P161733	2,43E-05	5,9	A_24_P161733	A_24_P161733	
A_24_P350060	2,47E-05	5,6	XR_016386	KRT18P42	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC391819), ARNm [XR_016386]
A_23_P63789	2,52E-05	3,0	NM_001005414	ZWINT	Interactor ZW10 de Homo sapiens (ZWINT), variante transcripcional 4, ARNm [NM_001005414]
A_24_P412088	2,52E-05	5,0	NM_182751	MCM10	10 de mantenimiento de minicromosomas MCM10 deficiente de Homo sapiens (S. cerevisiae) (MCM10), variante transcripcional 1, ARNm [NM_182751]
A_32_P108748	2,62E-05	3,5	THC2534530	THC2534530	Proteína G de condensación de cromosoma AF235023 {Homo sapiens} (exp = 0; wgp = 1; cg = 0), parcial (3 %) [THC2534530]
A_24_P16230	2,66E-05	6,6	XR_019037	LOC391271	PREDICHO: LOC391271 hipotético de Homo sapiens (LOC391271), ARNm [XR_019037]
A_23_P355075	2,80E-05	3,0	AK023669	CENPN	fis FLJ13607 ADNC de Homo sapiens, clon PLACE1010624. [AK023669]
A_24_P25872	3,08E-05	5,4	NM_017779	DEPDC1	1 que contiene dominio DEP de Homo sapiens (DEPDC1), ARNm [NM_017779]
A_24_P792988	3,09E-05	6,0	A_24_P792988	A_24_P792988	Proteína del centrómero I de Homo sapiens (CENPI), ARNm [NM_006733]
A_24_P419132	3,09E-05	3,5	NM_006733	CENPI	Proteína de interacción MLF1 de Homo sapiens (MLF1IP), ARNm [NM_024629]
A_23_P254733	3,21E-05	3,3	NM_024629	MLF1IP	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC391803), ARNm [XR_018462]
A_24_P281374	321E-05	5,2	XR_018462	KRT18P45	Gamma-glutamil hidrolasa de Homo sapiens (conjugasa, folilpoligammaglutamil hidrolasa) (GGH), ARNm [NM_003878]
A_23_P134910	3,27E-05	3,9	NM_003878	GGH	
A_23_P148475	3,48E-05	4,5	NM_012310	KIF4A	Miembro de la familia de cinesina 4A de Homo sapiens (KIF4A), ARNm [NM_012310]
A_24_P358406	3,54E-05	6,2	A_24_P358406	A_24_P358406	

Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso a Genbank	Símbolo del gen	Descripción
A_24_P169843	3,63E-05	4,8	XR_019568	KRT18P28	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC343326), ARNm [XR_019568]
A_23_P150667	3,63E-05	4,4	NM_031217	KIF18A	Miembro de la familia de cinesina 18A de Homo sapiens (KIF18A), ARNm [NM_031217]
A_24_P780319	3,69E-05	4,1	A_24_P780319	A_24_P780319	Homólogo punto de control CHK1 de Homo sapiens (S. pombe) (CHEK1), ARNm [NM_001274]
A_23_P116123	3,69E-05	3,5	NM_001274	CHEK1	
A_24_P584463	3,72E-05	5,4	XR_018311	LOC139060	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC139060), ARNm [XR_018311]
A_23_P323751	3,80E-05	6,8	NM_030919	FAM83D	Familia con similitud de secuencia 83 de Homo sapiens, miembro D (FAM83D), ARNm [NM_030919]
A_24_P186746	3,92E-05	6,6	XR_019198	KRT18P34	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC391589), ARNm [XR_019198]
A_24_P84711	4,01E-05	4,8	A_24_P84711	A_24_P84711	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC391179), ARNm [XR_018953]
A_24_P230466	4,03E-05	6,2	XR_018953	KRT18P32	
A_32_P9924	4,09E-05	3,5	THC2525505	THC2525505	Homo sapiens miembro de la familia de cinesina 14 (KIF14), ARNm [NM_014875]
A_23_P149668	4,16E-05	5,8	NM_014875	KIF14	
A_23_P25150	4,39E-05	21,2	NM_006897	HOXC9	Homeobox C9 de Homo sapiens (HOXC9), ARNm [NM_006897]
A_23_P58321	4,53E-05	3,4	NM_001237	CCNA2	Ciclina A2 de Homo sapiens (CCNA2), ARNm [NM_001237]
A_23_P99320	4,57E-05	6,6	NM_000224	KRT18	Queratina 18 de Homo sapiens (KRT18), Variante de transcripción 1, ARNm [NM_000224] Proteína hipotética de Homo sapiens FLJ40504 (FLJ40504), ARNm [NM_173624]
A_23_P373708	4,60E-05	5,8	NM_173624	FLJ40504	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC651696), ARNm [XR_019148]
A_24_P358131	4,85E-05	6,0	XR_019148	LOC651696	
A_24_P256063	5,02E-05	6,7	XR_019231	LOC442249	PREDICHO: Homo sapiens hipotética LOC442249 (LOC442249), ARNm [XR_019231]
A_24_P24645	5,30E-05	5,7	XR_018938	KRT18P21	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC132391), ARNm [XR_018938]
A_32_P154726	5,37E-05	6,8	THC2603239	THC2603239	Q9NJB6_TRYBR (Q9NJB6) Fibrilarina, parcial (10 %) [THC2603239]
A_23_P216517	5,67E-05	4,0	NM_032818	C9orf100	Marco de lectura abierta 100 del cromosoma 9 de Homo sapiens (C9orf100), ARNm [NM_032818]

Genes regulados por aumento en GIST metastásicos				Descripción
Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso a Genbank	Símbolo del gen
A_24_P281443	5,82E-05	7,2	XR_018559	LOC649375
A_23_P134584	5,83E-05	3,0	NM_005431	XRCC2
A_24_P6850	5,92E-05	4,7	A_24_P6850	A_24_P6850
A_24_P264644	5,92E-05	5,6	XR_016695	KRT18P41
A_23_P368909	6,02E-05	4,4	ENST00000328711	ENST00000328711
A_24_P42136	6,22E-05	7,7	NM_000224	KRT18
A_24_P230057	6,74E-05	7,2	XR_018216	LOC647913
A_24_P314571	7,33E-05	3,5	NM_182513	SPC24
A_23_P29723	7,60E-05	4,4	NM_001012410	SGOL1
A_23_P120863	8,27E-05	5,8	NM_004861	GAL3ST1
A_24_P225970	8,78E-05	5,9	NM_001012409	SGOL1
A_23_P130182	1,01E-04	5,2	NM_004217	AURKB
A_23_P10385	1,05E-04	4,1	NM_016448	DTL
A_23_P92093	1,16E-04	3,5	NM_001407	CELSR3
A_24_P940678	1,22E-04	4,4	NM_170589	CASC5
A_24_P401601	1,27E-04	5,9	XR_017288	KRT18P40
A_23_P500464	1,31E-04	7,8	NM_001844	COL2A1
A_23_P373119	1,35E-04	3,2	NR_002165	HMG4L

PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC649375), ARNm [XR_018559]

Reparación de rayos X que complementa una reparación defectuosa en células de hámster Chino 2 de Homo sapiens (XRCC2), ARNm [NM_005431]

PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC345430), ARNm [XR_016695]

Proteína no caracterizada C13orf29. [Fuente: Uniprot/SWISSPROT; Acc: Q8IVM7] [ENST00000328711]

Queratina 18 de Homo sapiens (KRT18), variante transcripcional 1, ARNm [NM_000224]

PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC647913), ARNm [XR_018216]

Homo sapiens SPC24, componente del complejo de cinetocoro NDC80, homólogo (S. cerevisiae) (SPC24), ARNm [NM_182513]

1 tipo shugoshin de Homo sapiens (S. pombe) (SGOL1), variante transcripcional A2, ARNm [M_001012410]

galactosa-3-O-sulfotransferasa 1 de Homo sapiens (GAL3ST1), ARNm [NM_004861]

1 tipo shugoshin de Homo sapiens (S. pombe) (SGOL1), variante transcripcional A1, ARNm [NM_001012409]

Aurora cinasa B de Homo sapiens (AURKB), ARNm [NM_004217]

homólogo denticleless de Homo sapiens (Drosophila) (DTL), ARNm [NM_016448]

Cadherina de Homo sapiens, receptor 3 de tipo G de siete pasos EGF LAG (homólogo flamingo, Drosophila) (CELSR3), ARNm [NM_001407]

Candidato de susceptibilidad de cáncer 5 de Homo sapiens (CASC5), variante transcripcional 1, ARNm [NM_170589]

PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC390904), ARNm [XR_017288]

Colágeno, tipo II, alfa 1 de Homo sapiens (osteoartritis primaria, displasia espondiloepifisaria, congénito) (COL2A1), variante transcripcional 1, ARNm [NM_001844]

Grupo de alta movilidad de Homo sapiens (cromosoma no histona) tipo proteína 4 (HMG4L) en cromosoma 20 [NR_002165]

Genes regulados por aumento en GIST metastásicos				
Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso a Genbank	Símbolo del gen
A_24_P384369	1,36E-04	3,7	XR_018339	LOC648448
A_23_P200310	1,46E-04	3,1	NM_017779	DEPDC1
A_24_P247454	1,46E-04	7,6	XR_019026	KRT18P19
A_23_P85441	1,51E-04	3,3	NM_020789	IGSF9
A_24_P144625	1,59E-04	7,3	A_24_P144625	A_24_P144625
A_23_P431776	1,60E-04	8,6	NM_001986	ETV4
A_24_P416346	1,61E-04	8,1	NM_001986	ETV4
A_23_P408955	1,68E-04	4,2	NM_004091	E2F2
A_23_P48835	1,71E-04	3,7	NM_138555	KIF23
A_23_P379614	1,73E-04	3,0	NM_007280	OIP5
A_32_P119154	1,78E-04	4,5	BE138567	BE138567
A_23_P310	1,89E-04	4,0	NM_023009	MARCKSL1
A_32_P76720	1,89E-04	3,6	NM_016575	NT5DC3
A_23_P50250	1,90E-04	3,0	NM_001824	CKM
A_23_P217236	1,99E-04	3,1	NM_005342	HMGB3
A_24_P346855	2,00E-04	4,9	NM_002417	MKI67
A_24_P68088	2,04E-04	10,8	NR_002947	TCAM1
A_24_P399888	2,10E-04	4,2	NM_001002876	CENPM
A_23_P88731	2,13E-04	3,4	NM_002875	RAD51
A_23_P350754	2,14E-04	3,5	AF238487	OR7E13P
A_23_P117852	2,21E-04	3,9	NM_014736	KIAA0101
A_23_P100127	2,25E-04	4,8	NM_170589	CASC5

<p>PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC648448), ARNm [XR_018339]</p> <p>1 que contiene del dominio DEP de Homo sapiens (DEPDC1), ARNm [NM_017779]</p> <p>PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC339781), ARNm [XR_019026]</p> <p>Superfamilia de inmunoglobulina de Homo sapiens, miembro 9 (IGSF9), ARNm [NM_020789]</p> <p>Gen 4 variante ets de Homo sapiens (proteína de unión potenciadora de E1A, E1AF) (ETV4), variante transcripcional 1, ARNm [NM_001986]</p> <p>Gen 4 variante ets de Homo sapiens (proteína de unión potenciadora de E1A, E1AF) (ETV4), variante transcripcional 1, ARNm [NM_001986]</p> <p>Factor de transcripción 2 E2F de Homo sapiens (E2F2), ARNm [NM_004091]</p> <p>Miembro de la familia de cinesina 23 de Homo sapiens (KIF23), variante transcripcional 1, ARNm [NM_138555]</p> <p>Proteína 5 de interacción Opa de Homo sapiens (OIP5), ARNm [NM_007280]</p> <p>xr77d10.x2 NCI_CGAP_Ov26 clon ADnc de Homo sapiens IMAGE: 2766163 3', secuencia de ARNm [BE138567]</p> <p>1 tipo MARCKS de Homo sapiens (MARCKSL1), ARNm [NM_023009]</p> <p>3 que contiene el dominio de 5'-nucleotidasa de Homo sapiens (NT5DC3), variante transcripcional 2, ARNm [NM_016575]</p> <p>Creatina cinasa de Homo sapiens, músculo (CKM), ARNm [NM_001824]</p> <p>Grupo box 3 de alta movilidad de Homo sapiens (HMGB3), ARNm [NM_005342]</p> <p>Antígeno de Homo sapiens identificado por anticuerpo monoclonal Ki-67 (MKI67), ARNm [NM_002417]</p> <p>Homólogo 1 molécula de adhesión celular testicular de Homo sapiens (ratón) (TCAM1) en cromosoma 17 [NR_002947]</p> <p>Proteína del centrómero M de Homo sapiens (CENPM), variante transcripcional 2, ARNm [NM_001002876]</p> <p>Homólogo RAD51 de Homo sapiens (homólogo RecA, E. coli) (S. cerevisiae) (RAD51), variante transcripcional 1, ARNm [NM_002875]</p> <p>Receptor tipo olfativo PJCG2 de Homo sapiens (PJCG2) mRNA, cds. parcial [AF238487]</p> <p>KIAA0101 de Homo sapiens (KIAA0101), variante transcripcional 1, ARNm [NM_014736]</p> <p>Candidato de susceptibilidad de cáncer 5 de Homo sapiens (CASC5), variante transcripcional 1, ARNm [NM_170589]</p>	<p>Descripción</p>
---	--------------------

Genes regulados por aumento en GIST metastásicos

Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso a Genbank	Símbolo del gen	Descripción
A_23_P155989	2,30E-04	3,0	NM_022145	CENPK	Proteína del centrómero K de Homo sapiens (CENPK), ARNm [NM_022145]
A_24_P109661	2,33E-04	7,5	XR_019191	KRT18P20	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC121054), ARNm [XR_019191]
A_24_P686014	2,48E-04	6,3	XR_019186	LOC651929	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC651929), ARNm [XR_019186]
A_23_P50108	2,48E-04	3,7	NM_006101	NDC80	Homólogo NDC80 de Homo sapiens, componente del complejo de cinetocoro (S. cerevisiae) (NDC80), ARNm [NM_006101]
A_23_P108294	2,53E-04	3,6	NM_177543	PPAP2C	Fosfatasa de ácido fosfatídico tipo 2C de Homo sapiens (PPAP2C), variante transcripcional 3, ARNm [NM_177543]
A_23_P110851	2,95E-04	6,4	NM_198253	TERT	Transcriptasa inversa de telomerasa de Homo sapiens (TERT), variante transcripcional 1, ARNm [NM_198253]
A_24_P264293	3,03E-04	9,4	XR_019060	LOC644030	PREDICHO: Homo sapiens similar a Queratina, citoesqueleto 18 tipo I (Citoqueratina 18) (CK-18) (Queratina-18) (K18) (LOC644030), ARNm [XR_019060]
A_24_P247303	3,33E-04	8,7	A_24_P247303	A_24_P247303	ARNm para proteína KIAA0599 de Homo sapiens, cds. parcial [AB011171]
A_32_P311737	3,42E-04	3,2	AB011171	PLEKHG3	Cistationina-beta-sintasa de Homo sapiens (CBS), ARNm [NM_000071]
A_23_P166306	3,44E-04	6,9	NM_000071	CBS	Exonucleasa 1 de Homo sapiens (EXO1), variante transcripcional 3, ARNm [NM_003686]
A_23_P23303	3,48E-04	3,3	NM_003686	EXO1	
A_24_P255836	3,52E-04	3,5	A_24_P255836	A_24_P255836	Miembro de la familia TAF NM_063888 (factor de transcripción asociada a TBP) (taf-13) {Caenorhabditis elegans} (exp = -1; wgp = 0; cg = 0), parcial (15 %) [THC2634862]
A_32_P168561	3,61E-04	3,1	THC2634862	THC2634862	
A_24_P254705	3,62E-04	3,7	NM_020394	ZNF695	Proteína finger cinc 695 de Homo sapiens (ZNF695), ARNm [NM_020394]
A_24_P234196	3,63E-04	3,8	NM_001034	RRM2	Polipéptido ribonucleótido reductasa M2 de Homo sapiens (RRM2), ARNm [NM_001034]
A_32_P188127	3,68E-04	6,8	A_32_P188127	A_32_P188127	3 tipo VIII nei endonucleasa de Homo sapiens (E. coli) (NEIL3), ARNm [NM_018248]
A_23_P155711	3,77E-04	5,3	NM_018248	NEIL3	
A_24_P85498	3,84E-04	11,6	AL117481	DKFZP434B061	ARNm de Homo sapiens; ADNc DKFZp434B061 (del clon DKFZp434B061); cds. parcial [AL117481]
A_23_P115444	3,97E-04	4,2	NM_005092	TNFSF18	Superfamilia (ligando) del factor de necrosis tumoral de Homo sapiens, miembro 18 (TNFSF18), ARNm [NM_005092]
A_32_P108938	4,05E-04	5,7	THC2536711	THC2536711	
A_23_P143512	4,08E-04	3,1	NM_007031	HSF2BP	Proteína de unión del factor de transcripción 2 de choque térmico de Homo sapiens (HSF2BP), ARNm [NM_007031]
A_23_P252928	4,12E-04	11,3	NM_005367	MAGEA12	Familia antígeno melanoma A de Homo sapiens, 12 (MAGEA12), ARNm [NM_005367]

Genes regulados por aumento en GIST metastásicos					Descripción	
Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso a Genbank	Símbolo del gen	Descripción	
A_32_P147090	4,70E-04	3,3	NM_199357	ARHGAP11A	Proteína de activación Rho GTPasa 11A de Homo sapiens (ARHGAP11A), variante transcripcional 2, ARNm [NM_199357]	
A_23_P102058	4,89E-04	3,1	NM_002381	MATN3	Matriquina 3 de Homo sapiens (MATN3), ARNm [NM_002381]	
A_32_P169500	4,92E-04	3,2	THC2537856	THC2537856	Entrada de advertencia de contaminación de secuencia de la subfamilia J Alu ALU1_HUMAN (P39188) de Homo sapiens, parcial (14 %) [THC2537856]	
A_23_P163099	5,02E-04	3,2	NM_002692	POLE2	Polimerasa de Homo sapiens (ADN dirigido), epsilon 2 (subunidad p59) (POLE2), ARNm [NM_002692]	
A_23_P405267	5,04E-04	3,2	AK057922	CDH24	fis FLJ25193 ADNc de Homo sapiens, clon JTH00761. [AK057922]	
A_23_P74115	5,23E-04	3,1	NM_003579	RAD54L	Tipo RAD54 de Homo sapiens (S. cerevisiae) (RAD54L), ARNm [NM_003579]	
A_24_P409420	5,78E-04	5,6	A_24_P409420	A_24_P409420		
A_24_P384018	5,78E-04	3,7	NR_002171	OR7E156P	Receptor olfativo de Homo sapiens, familia 7, subfamilia E, miembro 156 pseudogen (OR7E156P) en cromosoma 13 [NR_002171]	
A_24_P192727	5,85E-04	6,5	ENST00000224809	KAZALD1	Precursor de proteína 1 que contiene el dominio del inhibidor de serina proteasa de tipo Kazal. [Fuente: Uniprot/SWISSPROT; Acc: Q96182] [ENST00000224809]	
A_32_P210202	5,99E-04	3,2	NM_203394	E2F7	Factor de transcripción 7 E2F de Homo sapiens (E2F7), ARNm [NM_203394]	
A_23_P58557	6,09E-04	3:4	NM_173800	FLJ90650	laeverin de Homo sapiens (FLJ90650), ARNm [NM_173800]	
A_32_P43084	6,45E-04	3,3	BM980974	BM980974	BM980974 UI-CF-EN1-ade-p-19-0-UI.s1 UI-CF-EN1 Homo sapiens ADNc clon UI-CF-EN1-ade-p-19-0-UI 3', secuencia de ARNm [BM980974]	
A_23_P135061	6,68E-04	3,0	NM_003389	CORO2A	Coronina de Homo sapiens, proteína de unión a actina, 2A (CORO2A), variante transcripcional 1, ARNm [NM_003389]	
A_32_P32391	6,76E-04	3,7	NR_002171	OR7E156P	Receptor olfativo de Homo sapiens, familia 7, subfamilia E, miembro 156 pseudogen (OR7E156P) en cromosoma 13 [NR_002171]	
A_23_P7412	7,04E-04	4,2	NM_024850	BTNL8	8 tipo butirflina de Homo sapiens (BTNL8), variante transcripcional 1, ARNm [NM_024850]	
A_32_P46544	7,04E-04	3,0	A_32_P46544	A_32_P46544		
A_23_P113034	7,23E-04	3,5	NM_032024	C10orf11	Marco de lectura abierta 11 del cromosoma 10 de Homo sapiens (C10orf11), ARNm [NM_032024]	
A_23_P50517	7,29E-04	3,9	ENST00000314121	ENST00000314121	Proteína de cinc finger 541. [Fuente: Uniprot/SWISSPROT; Acc: Q9H0D2] [ENST00000314121]	
A_23_P96291	7,47E-04	5,3	NM_004988	MAGEA1	Familia del antígeno de melanoma A de Homo sapiens, 1 (dirige la expresión del antígeno MZ2-E) (MAGEA1), ARNm [NM_004988]	
A_23_P16110	7,63E-04	3,5	NM_001079935	OR7E24	Receptor olfativo de Homo sapiens, familia 7, subfamilia E, miembro 24 (OR7E24), ARNm [NM_001079935]	
A_32_P150891	8,60E-04	4,4	NM_001042517	DIAPH3	Homólogo 3 diáfano de Homo sapiens (Drosophila) (DIAPH3), variante transcripcional 1, ARNm [NM_001042517]	
A_23_P207154	8,75E-04	5,2	NM_022644	CSH2	Hormona 2 de somatomotropina coriónica de Homo sapiens (CSH2), variante transcripcional 2, ARNm [NM_022644]	
A_23_P250164	9,04E-04	4,3	NM_000187	HGD	Homogentisato 1,2-dioxigenasa de Homo sapiens (homogentisato oxidasa) (HGD), ARNm [NM_000187]	

Genes regulados por aumento en GIST metastásicos			Genes regulados por disminución en GIST metastásicos		
Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso a Genbank	Símbolo del gen	Descripción
A_24_P820087	9,47E-04	3,3	BC053669	BC053669	Clon ADNc de Homo sapiens IMAGE:6146402, cds. parcial [BC053669]
Genes regulados por disminución en GIST metastásicos					
Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso de Genbank	Símbolo del gen	Descripción
A_23_P167159	1,32E-06	28,6	NM_007281	SCRG1	Proteína responsable de tembladera 1 de Homo sapiens (SCRG1), ARNm [NM_007281]
A_24_P198044	5,02E-06	3,5	NM_133464	ZNF483	Proteína de cinc finger 483 de Homo sapiens (ZNF483), variante transcripcional 1, ARNm [NM_133464]
A_23_P45536	6,65E-06	13,6	NM_005369	MCF2	Secuencia de transformación derivada de la línea celular MCF.2 de Homo sapiens (MCF2), ARNm [NM_005369]
A_23_P79978	7,08E-06	12,7	NM_020689	SLC24A3	Familia de vehículo de soluto 24 de Homo sapiens (intercambiador de sodio/potasio/calcio), miembro 3 (SLC24A3), ARNm [NM_020689]
A_23_P62881	7,46E-06	7,3	NM_032291	SGIP1	Proteína de interacción 1 (endofilina) tipo GRB2 del dominio de SH3 (SGIP1) de Homo sapiens, ARNm [NM_032291]
A_23_P73117	1,07E-05	8,9	NM_013266	CTNNA3	Catenina de Homo sapiens (proteína asociada a cadherina), alfa 3 (CTNNA3), ARNm [NM_013266]
A_32_P65700	1,14E-05	6,0	BX106262	BX106262	Soares_multiple_sclerosis_2NBHMSP clon ADNc de Homo sapiens IMAGp998020625, secuencia de ARNm [BX106262]
A_23_P394567	1,41E-05	3,1	NM_020853	KIAA1467	Homo sapiens KIAA1467 (KIAA1467), ARNm [NM_020853]
A_23_P259442	1,53E-05	4,4	NM_001873	CPE	Carboxipeptidasa E de Homo sapiens (CPE), mRNA[NM_001873]
A_24P56363	1,58E-05	3,6	NM_030925	CAB39L	Tipo proteína de unión a calcio 39 de Homo sapiens (CAB39L), variante de transcripción 1, ARNm [NM_030925]
A_24_P333857	2,15E-05	7,1	NM_032291	SGIP1	Proteína de interacción 1 (endofilina) tipo GRB2 del dominio SH3 de Homo sapiens (SGIP1), mRNA [NM_032291]
A_24_P153831	2,22E-05	5,6	BC022004	CTNNA3	Catenina de Homo sapiens (proteína asociada a cadherina), alfa 3, ARNm (clon ADNc IMAGE: 4823848), cds. completo [BC022004]
A_23_P344194	2,40E-05	5,2	NM_001013635	LOC387856	Homo sapiens similar a la secuencia expresada A1836003 (LOC387856), ARNm [NM_001013635]
A_23_P92903	2,45E-05	7,4	NM_031908	C1QTNF2	Proteína 2 relacionada con C1q de Homo sapiens y el factor de necrosis tumoral (C1QTNF2), ARNm [NM_031908]
A_32_P213861	2,52E-05	3,3	AK124663	C4orf12	fis FLJ42672 ADNc de Homo sapiens, clon BRAMY2026533. [AK124663]
A_23_P213810	2,66E-05	3,2	NM_015621	CCDC69	69 que contiene el dominio de súper hélice de Homo sapiens (CCDC69), ARNm [NM_015621]
A_23_P92899	2,70E-05	7,0	NM_031908	C1QTNF2	Proteína 2 relacionada con C1q de Homo sapiens y el factor de necrosis tumoral (C1 QTNF2), ARNm [NM_031908]

Genes regulados por disminución en GIST metastásicos

Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso de Genbank	Símbolo del gen	Descripción
A_23_P95634	2,73E-05	7,7	NM_016599	MYOZZ	Miozenina 2 de Homo sapiens (MYOZZ), ARNm [NM_016599]
A_24_P45481	2,76E-05	5,2	NM_005465	AKT3	Homólogo 3 del oncogén viral de tímoma murino v-akt de Homo sapiens (proteína cinasa B, gamma) (AKT3), variante transcripcional 1, mRNA [NM_005465]
A_23_P139891	3,33E-05	4,8	NM_012306	FAIM2	Molécula 2 inhibidora apoptótica de Fas de Homo sapiens (FAIM2), ARNm [NM_012306]
A_23_P325690	3,73E-05	7,3	NM_144698	ANKRD35	Dominio de repetición de anquirina 35 de Homo sapiens (ANKRD35), ARNm [NM_144698]
A_23_P43810	4,79E-05	8,1	NM_206943	LTP1	Proteína de unión 1 beta del factor de crecimiento transformante latente de Homo sapiens (LTP1), variante transcripcional 1, ARNm [NM_206943]
A_24_P37300	5,14E-05	9,3	AF052115	AF052115	Secuencia de ARNm clon 23688 de Homo sapiens. [AF052115]
A_24_P381499	7,11E-05	4,3	NM_152436	GLIPR1L2	2 tipo 1 relacionado con patogénesis GLI de Homo sapiens (GLIPR1L2), ARNm [NM_152436]
A_23_P96285	7,67E-05	7,0	NM_022912	REEP1	Proteína 1 accesoria del receptor de Homo sapiens (REEP1), ARNm [NM_022912]
A_23_P64510	8,17E-05	3,8	NM_024557	RIC3	Resistencia a inhibidores del homólogo 3 de colinesterasa de Homo sapiens (C. elegans) (RIC3), ARNm [NM_024557]
A_23_P364024	8,78E-05	3,2	NM_006851	GLIPR1	1 relacionado con la patogénesis GLI de Homo sapiens (glioma) (GLIPR1), ARNm [NM_006851]
A_32_P73991	9,58E-05	7,1	THC2667995	THC2667995	
A_24_P390096	9,75E-05	3,5	NM_006851	GLIPR1	1 relacionado con la patogénesis GLI de Homo sapiens (glioma) (GLIPR1), ARNm [NM_006851]
A_32_P440667	1,00E-04	5,6	AK000774	AK000774	fis FLJ20767 de ADNc de Homo sapiens, clon COL06986. [AK000774]
A_24_P278747	1,05E-04	7,8	NM_001759	CCND2	Ciclina D2 de Homo sapiens (CCND2), ARNm [NM_001759]
A_23_P213288	1,11E-04	3,1	NM_001037582	SCD5	Desaturasa 5 de esteroil-CoA desaturasa de Homo sapiens (SCD5), variante transcripcional 1, ARNm [NM_001037582]
A_23_P150394	1,21E-04	3,5	NM_022003	FXYD6	Regulador de transporte iónico 6 que contiene el dominio FXYD de Homo sapiens (FXYD6), ARNm [NM_022003]
A_23_P47728	1,22E-04	5,2	NM_033063	MAP6	Proteína 6 asociada a microtúbulos de Homo sapiens (MAP6), variante transcripcional 1, ARNm [NM_033063]
A_23_P254165	1,28E-04	9,3	NM_021785	RAI2	2 inducido por ácido retinoico de Homo sapiens (RAI2), ARNm [NM_021785]
A_24_P67350	1,30E-04	7,0	NM_020689	SLC24A3	Familia del vehículo de soluto 24 de Homo sapiens (intercambiador de sodio/potasio/calcio), miembro 3 (SLC24A3), ARNm [NM_020689]
A_24_P943781	1,30E-04	3,9	NM_024913	FLJ21986	Proteína hipotética de Homo sapiens FLJ21986 (FLJ21986), ARNm [NM_024913]
A_24_P381505	1,31E-04	3,5	NM_152436	GLIPR1L2	2 tipo 1 relacionado con patogénesis GLI de Homo sapiens (GLIPR1L2), ARNm [NM_152436]
A_32_P795513	1,86E-04	11,5	NM_198271	LMOD3	Leiomodina 3 de Homo sapiens (fetal) (LMOD3), ARNm [NM_198271]
A_24_P76821	1,93E-04	8,4	NM_198271	LMOD3	Leiomodina 3 de Homo sapiens (fetal) (LMOD3), ARNm [NM_198271]
A_23_P75915	1,99E-04	3,9	AY326436	RIC3	ARNm de isoforma de RIC3 de Homo sapiens (RIC3), cds completa. [AY326436]

Genes regulados por disminución en GIST metastásicos

Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso de Genbank	Símbolo del gen	Descripción
A_32_P91005	2,13E-04	4,4	BM697215	BM697215	UI-E-DX0-ago-c-07-0-UI.r1 UI-E-DX0 clon ADNc UI-E-DX0-ago-c-07-0-UI 5' de Homo sapiens, secuencia de ARNm [BM697215]
A_32_P222695	2,13E-04	3,2	NM_001001669	FLJ41603	Proteína FLJ41603 de Homo sapiens (FLJ41603), ARNm [NM_001001669]
A_24_P35537	2,13E-04	4,7	NM_024557	RIC3	Resistencia a inhibidores del homólogo 3 de colinesterasa de Homo sapiens (C. elegans) (RIC3), ARNm [NM_024557]
A_24_P141520	2,18E-04	3,4	AK022297	AK022297	fis FLJ12235 ADNc de Homo sapiens, clon MAMMA 1001243. [AK022297]
A_32_P174040	2,20E-04	14,5	THC2675966	THC2675966	Q9F8M7_CARHY (Q9F8M7) DTDp-glucosa 4,6-deshidratasa (Fragmento), parcial (11 %) [THC2697639]
A_23_P5342	2,23E-04	16,2	NM_018557	LRP1B	Proteína 1 B relacionada con lipoproteína de baja densidad de Homo sapiens (eliminada en tumores) (LRP1 B), ARNm [NM_018557]
A_32_P172803	2,28E-04	3,0	NM_001039580	MAP9	Proteína 9 asociada a microtubulos de Homo sapiens (MAP9), ARNm [NM_001039580]
A_23_P94840	2,41E-04	5,2	NM_130897	DYNLRB2	2 tipo roadblock dineína de Homo sapiens, cadena ligera (DYNLRB2), ARNm [NM_130897]
A_23_P19182	2,61E-04	4,4	NM_016606	REEP2	Proteína 2 accesoria receptor de Homo sapiens (REEP2), ARNm [NM_016606]
A_23_P77304	2,77E-04	4,2	NM_004644	AP3B2	Complejo de proteína 3 relacionada con el adaptador de Homo sapiens, beta 2 subunidad (AP3B2), ARNm [NM_004644]
A_32_P179998	2,80E-04	9,5	NM_033053	DMRTC1	Familia C1 tipo DMRT de Homo sapiens (DMRTC1), ARNm [NM_033053]
A_24_P32085	2,82E-04	3,4	NM_024761	MOBKLB2	MOB1 de Homo sapiens, 2B tipo activador de cinasa Mps One Binder (levadura) (MOBKLB2), ARNm [NM_024761]
A_24_P110983	2,95E-04	4,8	ENST00000366539	AKT3	RAC-gamma serina/treonina-proteína cinasa (EC 2.7.11.1) (RAC-PK-gamma) (Proteína cinasa Akt-3) (Proteína cinasa B, gamma) (PKB gamma) (STK-2). [Fuente: Uniprof/SWISSPROT; Acc: Q9Y243] [ENST00000366539]
A_23_P500892	3,06E-04	3,7	NM_003320	TUB	Homólogo tubby de Homo sapiens (ratón) (TUB), variante transcripcional 1, ARNm [NM_003320]
A_24_P191781	3,10E-04	4,5	NM_015393	DKFZP564O0823	Proteína DKFZP564O0823 de Homo sapiens (DKFZP564O0823), ARNm [M_015393]
A_24_P97825	3,61E-04	3,0	NM_015621	CCDC69	69 que contiene el dominio de súper hélice de Homo sapiens (CCDC69), ARNm [NM_015621]
A_32_P50943	3,76E-04	5,3	THC2734830	THC2734830	AGENCOURT_7904751 NIH_MGC_82 Homo sapiens clon ADNc IMAGE: G105895 5', secuencia de ARNm [BQ428696]
A_24_P769588	3,76E-04	4,2	BQ428696	BQ428696	Homo sapiens clon 24626 secuencia de ARNm. [AF052141]
A_24_P810104	3,79E-04	3,0	AF052141	AF052141	fis FLJ13735 ADNc de Homo sapiens, clon PLACE3000155, débilmente similar a ARNm de Homo sapiens para proteína KIAA0672. [AK023797]
A_24_P942385	4,28E-04	5,1	AK023797	KIAA0672	Proteína de interacción DAB2 de Homo sapiens (DAB2IP), variante transcripcional 1, ARNm [NM_032552]
A_23_P123848	4,32E-04	3,2	NM_032552	DAB2IP	Ciclina D2 de Homo sapiens (CCND2), ARNm [NM_001759]
A_24_P270235	4,37E-04	5,1	NM_001759	CCND2	Proteína de interacción DAB2 de Homo sapiens (DAB2IP), variante transcripcional 2, ARNm [NM_138709]
A_24_P149704	4,62E-04	3,1	NM_138709	DAB2IP	

Genes regulados por disminución en GIST metastásicos					Descripción
Nombre de la Sonda	P-valor corregido	Cambio en veces	Acceso de Genbank	Símbolo del gen	
A_23_P121665	4,70E-04	6,6	NM_020777	SORCS2	Receptor 2 que contiene el dominio VPS10 relacionado con sortilina de Homo sapiens (SORCS2), ARNm [NM_020777]
A_23_P133068	4,72E-04	3,6	NM_001148	ANK2	Anquirina 2 de Homo sapiens, neuronal (ANK2), variante transcripcional 1, ARNm [NM_001148]
A_32_P372337	4,98E-04	8,3	ENST00000333010	ENST00000333010	Cinasa de Janus y proteína 2 de interacción con microtubulos. [Fuente: Uniprot/SwissProt; Acc: Q96AA8] [ENST00000333010]
A_23_P351667	5,16E-04	10,2	NM_003812	ADAM23	Metalopectidasa ADAM de Homo sapiens Dominio 23 (ADAM23), ARNm [NM_003812]
A_24_P334300	5,22E-04	8,5	NM_004113	FGF12	Factor de crecimiento de fibroblasto 12 de Homo sapiens (FGF12), variante transcripcional 2, ARNm [NM_004113]
A_32_P229618	5,40E-04	4,9	NM_001364	DLG2	Discos de Homo sapiens, homología grande 2, capsina-110 (Drosophila) (DLG2), ARNm [NM_001364]
A_32_P228206	5,45E-04	3,1	THC2463424	THC2463424	AA348270 EST54713 Hipocampo I Homo sapiens extremo 3' ADNc similar a EST que contiene repetición Alu, secuencia de ARNm [AA348270]
A_32_P21354	5,47E-04	6,9	THC2688038	THC2688038	Podocano de Homo sapiens (PODN), ARNm [NM_153703]
A_23_P368154	5,50E-04	9,4	NM_153703	PODN	Proteína 1 de interacción filamina A de Homo sapiens (FILIP1), ARNm [NM_015687]
A_24_P84668	5,85E-04	3,8	NM_015687	FILIP1	Serina peptidasa 1 Htra de Homo sapiens (HTRA1), ARNm [NM_002775]
A_23_P97990	7,14E-04	5,3	NM_002775	HTRA1	Leucemia mielóide/linfoide o de linaje mixto de Homo sapiens (homólogo tritorax, Drosophila); translocado a 3 (MLLT3), ARNm [NM_004529]
A_24_P192627	7,15E-04	3,4	NM_004529	MLLT3	Proteína de activación de Rho GTPasa de Homo sapiens (ARHGAP24); variante de transcripción 2, ARNm [NM_031305]
A_23_P110151	7,49E-04	4,0	NM_031305	ARHGAP24	Proteína hipotética de Homo sapiens FLJ21986 (FLJ21986), ARNm [NM_024913]
A_24_P187799	7,72E-04	3,4	NM_024913	FLJ21986	2 tipo del receptor del factor de coagulación II (trombina) de Homo sapiens (F2RL2), ARNm [M_004101]
A_32_P60065	8,02E-04	14,2	NM_004101	F2RL2	Serina/treonina cinasa 33 de Homo sapiens (STK33), ARNm [NM_030906]
A_23_P127915	8,60E-04	4,3	NM_030906	STK33	Factor de transcripción de ISL2 de Homo sapiens, LIM/homeodomain, (islote 2) (ISL2), ARNm [NM_145805]
A_23_P54469	8,63E-04	4,3	NM_45805	ISL2	Proteína transmembrana 16E (Proteína de displasia gnatodifiseal 1). [Fuente: Uniprot/SwissProt; Acc: Q75V66] [ENST00000324559]
A_24_P100996	8,75E-04	3,6	ENST00000324559	TMEM16E	Cromogranina B (secretogranina 1) (CHGB) de Homo sapiens, ARNm [NM_001819]
A_23_P57155	8,86E-04	6,6	NM_001819	CHGB	Proteína de activación de Rho GTPasa 24 (ARHGAP24) de Homo sapiens, variante transcripcional 2, ARNm [NM_031305]
A_24_P380061	9,14E-04	3,9	NM_031305	ARHGAP24	Cromogranina B (secretogranina 1) (CHGB) de Homo sapiens, ARNm [M_001819]
A_23_P382584	9,27E-04	7,3	NM_001819	CHGB	fis FLJ31517 ADNc de Homo sapiens, clon NT2RI2000007. [AK056079]
A_32_P310335	9,32E-04	4,6	AK056079	AK056079	

5 Con respecto a los 70 genes regulados por disminución, no se identificó ninguna ruta enriquecida significativa. Por el contrario, se observó que 45 de los 227 genes regulados por aumento pertenecían a la firma CINSARC (Figura 6). Además, el análisis de Ontología Génica reveló que las rutas enriquecidas en esta selección de genes (227 genes regulados por aumento metastásicos) eran casi las mismas que las enriquecidas en la firma CINSARC. Realmente, 63 de las 77 (82 %) rutas enriquecidas eran comunes con los genes CINSARC (Tabla 3).

Tabla 3: Comparación de rutas enriquecidas (análisis de Ontología Génica) en genes CINSARC y en prueba t comparando tumores de acuerdo con el resultado y con la inactivación de la ruta p16/Rb1.

Acceso Go	Término GO	CINSARC		GIST metastásicos		GIST con alterado de la ruta p16/Rb1		Matriz				
		p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	Recuento en Matriz	% en Matriz
GO:0000279	Fase M	0	39	59,09	0	46	42,20	4,41 E-38	42	36,84	219	1,42
GO:0022240	proceso del ciclo celular	0	42	63,64	0	46	42,20	4,65E-32	42	36,84	343	2,22
GO:0022240	fase del ciclo celular	0	41	62,12	0	46	42,20	5,14E-37	42	36,84	267	1,73
GO:0000278	ciclo celular mitótico	0	38	57,58	9,03E-41	39	35,78	1,08E-32	36	31,58	221	1,43
GO:0007049	ciclo celular	0	47	71,21	1,44E-40	57	52,29	4,90E-31	54	47,37	584	3,78
GO:0000087	Fase M del ciclo celular mitótico	0	34	51,52	5,12E-39	38	34,86	3,26E-31	35	30,70	163	1,06
GO:0007067	mitosis	0	34	51,52	9,10E-38	36	33,03	3,32E-30	33	28,95	160	1,04
GO:0051301	división celular	0	36	54,55	2,45E-27	32	29,36	1,16E-24	33	28,95	209	1,35
GO:0044427	parte cromosómica	9,22E-16	14	21,21	7,80E-20	16	14,68	2,36E-11	15	13,16	270	1,75
GO:0000775	cromosoma, región centromérica	1,53E-16	14	21,21	1,57E-19	16	14,68	3,65E-14	15	13,16	66	0,43
GO:0005694	cromosoma	9,22E-16	17	25,76	5,47E-19	20	18,35	1,49E-11	20	17,54	318	2,06
GO:0007059	segregación del cromosoma	1,90E-08	6	9,09	2,43E-17	13	11,93	2,91E-12	7	6,14	58	0,38
GO:0043228	organelo no unido a membrana	1,83E-23	37	56,06	1,76E-15	35	32,11	1,47E-13	41	35,96	1509	9,77
GO:0043232	organelo no unido a membrana intracelular	1,83E-23	37	56,06	1,76E-15	35	32,11	1,47E-13	41	35,96	1509	9,77
GO:0007346	regulación del ciclo celular mitótico	2,43E-17	9	13,64	4,17E-15	8	7,34	1,12E-11	4	3,51	77	0,50
GO:0051726	regulación del ciclo celular	3,31E-14	19	28,79	4,10E-15	22	20,18	8,55E-11	21	18,42	437	2,83
GO:0005634	núcleo	2,84E-08	44	66,67	1,39E-12	80	73,39	2,44E-05	82	71,93	3992	25,84
GO:0015630	citoesqueleto de microtúbulo	2,33E-24	23	34,85	1,33E-11	18	16,51	8,53E-11	18	15,79	314	2,03
GO:0006996	organización del organelo y biogénesis	6,03E-14	23	34,85	2,30E-11	27	24,77	4,50E-08	25	21,93	979	6,34
GO:0007017	proceso basado en microtúbulos	2,92E-19	18	27,27	3,38E-11	16	14,68	4,07E-10	17	14,91	178	1,15
GO:0044446	parte de organelo intracelular	9,22E-16	33	50,00	1,15E-10	31	28,44	1,05E-04	30	26,32	2239	14,49

Acceso Go	Término GO	CINSARC		GIST metastásicos		GIST con altercado de la ruta p16/R81		Matriz			
		p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	p-valor corregido	Recuento en Selección	Recuento en Matriz	% en Matriz
GO:004442	parte de organelo	9,22E-16	33	50,00	1,22E-10	31	28,44	1,12E-04	30	2244	14,53
GO:0000070	segregación cromática hermana mitótica	5,21E-04	2	3,03	3,72E-10	9	8,26	7,51E-06	3	28	0,18
GO:0000019	segregación cromática hermana	6,05E-04	2	3,03	5,39E-10	9	8,26	9,60E-06	3	29	0,19
GO:0051276	organización cromosomal y biogénesis	9,76E-04	6		8,55E-10	14	12,84	4,19E-05	9	347	2,25
GO:0007051	organización del huso y biogénesis	2,11E-17	10	15,15	9,02E-10	6	5,50	6,38E-07	5	21	0,14
GO:0006259	proceso metabólico de ADN	6,01E-05	10	15,15	1,91E-09	22	20,18	1,74E-05	12	400	2,59
GO:0005819	huso	2,37E-22	13	19,70	7,92E-09	10	9,17	1,85E-07	8	51	0,33
GO:0044430	parte del citoesqueleto	4,65E-18	22	33,33	3,50E-08	17	15,60	1,49E-07	17	548	3,55
GO:0010564	regulación del proceso del ciclo celular	0,00474	2	3,03	6,07E-08	4	3,67	9,40E-07	4	45	0,29
GO:0007088	regulación de la mitosis	0,00152	2	3,03	1,63E-07	4	3,67	1,88E-06	4	35	0,23
GO:0016043	organización del componente celular y biogénesis	1,46E-09	23	34,85	1,89E-07	28	25,69	7,19E-05	26	1450	9,39
GO:0000226	organización del citoesqueleto de microtúbulo y biogénesis	3,57E-16	12	18,18	2,64E-07	6	5,50	6,19E-05	5	70	0,45
GO:0007126	meiosis	0,01027	2	3,03	2,99E-07	7	6,42	6,88E-05	6	53	0,34
GO:0051327	Fase M del ciclo celular meiótico	0,01027	2	3,03	2,99E-07	7	6,42	6,88E-05	6	53	0,34
GO:0051321	ciclo celular meiótico	0,01113	2	3,03	3,54E-07	7	6,42	7,78E-05	6	54	0,35
GO:0000075	punto de control del ciclo celular	7,52E-10	3	4,55	6,47E-07	4	3,67	3,89E-07	1	41	0,27
GO:0007010	organización del citoesqueleto y biogénesis	2,67E-13	18	27,27	1,72E-06	16	14,68	1,88E-06	18	423	2,74
GO:0006260	replicación de ADN	0,00227	8	12,12	2,94E-06	11	10,09	2,30E-02	8	169	1,09
GO:0005524	unión de ATP	4,57E-10	28	42,42	3,20E-016	36	33,03	8,83E-03	35	1268	8,21

Acceso Go	Término GO	CINSARC			GIST metastásicos			GIST con altercado de la ruta p16/R81			Matriz	
		p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	Recuento en Matriz	% en Matriz
GO:0032559	adenil ribonucleótido	5,80E-10	28	42,42	4,22E-06	36	33,03	1,09E-02	35	30,70	1282	8,30
GO:0003777	actividad del motor de microtúbulos de unión	2,08E-07	9	13,64	1,02E-05	10	9,17	8,79E-07	12	10,53	76	0,49
GO:0030554	unión de adenil nucleótido	1,80E-09	28	42,42	1,60E-05	36	33,03	3,12E-02	35	30,70	1349	8,73
GO:0043226	organelo	9,92E-07	54	81,82	1,61E-05	88	80,73	5,91E-02	97	85,09	6717	43,48
GO:0043229	organelo intracelular	9,92E-07	54	81,82	1,61E-05	88	80,73	5,91 E-02	97	85,09	6715	43,47
GO:0006974	respuesta al estímulo de daño a ADN				1,86E-05	13	11,93	1,81 E-02	1	0,88	270	1,75
GO:0045840	regulación positiva de la mitosis				3,96E-05	1	0,92	1,53E-04	1	0,88	9	0,06
GO:0007018	movimiento basado en microtúbulos	4,49E-08	9	13,64	6,25E-05	10	9,17	8,26E-06	12	10,53	93	0,60
GO:0043227	organelo unido a membrana	0,002856	44	66,67	6,25E-05	80	73,39				5904	38,22
GO:0043231	organelo intracelular unido a membrana	0,002850	44	66,67	6,25E-05	80	73,39				5901	38,20
GO:0030261	condensación de cromosoma				8,82E-05	5	4,59				20	0,13
GO:0005874	microtúbulo	7,54E-10	14	21,21	1,53E-04	12	11,01	5,35E-04	13	11,40	198	1,28
GO:0007093	punto de control del ciclo celular mitótico	1,95E-06	3	4,55	1,61E-04	4	3,67				22	0,14
GO:0005856	citoesqueleto	7,31E-14	23	34,85	1,65E-04	18	16,51	2,41E-07	23	20,18	899	5,82
GO:0005875	complejo asociado a microtúbulos	4,99E-06	9	13,64	2,84E-04	10	9,17	5,02E-05	8	7,02	110	0,71
GO:0030705	transporte intracelular dependiente de citoesqueleto	2,58E-07	9	13,64	3,32E-04	10	9,17	6,01 E-05	12	10,53	112	0,73
GO:0044424	parte intracelular	6,64E-05	55	83,33	3,79E-04	88	80,73				7677	49,70
GO:0050000	localización de cromosoma				4,16E-04	1	0,92	1,42E-03	1	0,88	6	0,04
GO:0051303	establecimiento de localización del cromosoma				4,16E-04	1	0,92	1,42E-03	1	0,88	6	0,04
GO:0051656	establecimiento de localización de organelo				5,46E-04	1	0,92	3,04E-03	1	0,88	27	0,17

Acceso Go	Término GO	CINSARC p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	GIST metastásicos p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	GIST con altercado de la ruta p16/R81 p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	Recuento en Matriz	% en Matriz
GO:00062 81	reparación del ADN				5,57E-04	12	11,01		224	1,45		
GO:00516 40	localización del organelo				6,68E-04	1	0,92	3,76E-03	1	0,88	28	0,18
GO:00325 53	unión a ribonucleótido	1,01E-07	28	42,42	8,49E-04	36	33,03				1600	10,36
GO:00325 55	unión a purina ribonucleótido	1,01E-07	28	42,42	8,49E-04	36	33,03				1600	10,36
GO:00070 76	condensación de cromosoma mitótica				9,01E-04	5	4,59				16	0,10
GO:00457 87	regulación positiva del ciclo celular				9,01E-04	1	0,92	4,14E-03	1	0,88	16	0,10
GO:00056 22	intracelular	3,09E-04	56	84,85	0,00174	91	83,49				8242	53,35
GO:00037 74	actividad del motor	3,37E-05	9	13,64	0,00183	10	9,17	6,12E-05	13	11,40	137	0,89
GO:00058 76	microtúbulo del huso	7,68E-07	6	9,09	0,00219	5	4,59	1,03E-02	5	4,39	19	0,12
GO:00170 76	unión a purina nucleótido	2,58E-07	28	42,42	0,00219	36	33,03				1669	10,80
GO:00070 52	organización mitótica del huso y biogénesis	6,52E-04	4	6,06	0,01084	2	1,83	3,58E-02	2	1,75	12	0,08
GO:00009 110	citocinesis	0,016369	4	6,06	0,01393	4	3,67	5,72E-02	4	3,51	27	0,17
GO:00063 10	recombinación de ADN				0,01520	4	3,67				73	0,47
GO:00063 23	paquete de ADN				0,02611	5	4,59				111	0,72
GO:00001 66	unión a nucleótido	5,35E-06	28	42,42	0,04644	36	33,03				1913	12,38
GO:00070 94	punto de control del huso del ciclo celular				0,04644	3	2,75				6	0,04
GO:00315 77	punto de control del huso mitótico				0,04644	3	2,75				6	0,04
GO:00007 76	cinetocoro	0,00036	4	6,06							26	0,17
GO:00046 72	actividad de proteína cinasa	0,01408	11	16,67							566	3,66
GO:00046 74	actividad de proteína serina/treonina cinasa	0,00054	11	16,67							403	2,61
GO:00055 15	unión a proteína	0,00105	40	60,61							6165	39,91
GO:00058 13	centrosoma	0,00175	4	6,06							68	0,44

Acceso Go	Término GO	CINSARC p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	GIST metastásicos p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	GIST con altercado de la ruta p16/R81 p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	Matriz Recuento en Matriz	% en Matriz
GO:0005815	centro de organización de microtúbulo	0,00022	4	6,06					79	0,51		
GO:0006270	inicio de replicación de ADN	0,00741	4	6,06					22	0,14		
GO:0006468	aminoácido de proteína	0,01889	12	18,18					584	3,78		
GO:0007089	punto de control de inicio transversal de fosforilación del ciclo celular mitótico	0,00529	3	4,55					6	0,04		
GO:0007096	regulación de salida de mitosis	0,03771	1	1,52					11	0,07		
GO:0009987	proceso celular	0,00000	60	90,91					9867	63,87		
GO:0019932	señalización mediada por el segundo mensajero	0,03778	7	10,61					182	1,18		
GO:0032991	complejo macromolecular	0,04542	15	22,73					1992	12,89		
GO:0043234	completo de proteína	0,03040	15	22,73					1493	9,66		
GO:0048015	señalización mediada por fosfoinositida	0,00030	7	10,61					83	0,54		
GO:0051325	interfase	0,00202	6	9,09					70	0,45		
GO:0051329	interfase del ciclo celular mitótico	0,00163	6	9,09					67	0,43		

Además, el análisis de enriquecimiento génico de los 182 genes no incluido en CINSARC mostró que este conjunto de genes también se enriqueció por los genes implicados en las mismas rutas que los genes CINSARC, es decir, control de la mitosis e integridad cromosómica (Tabla 4).

Tabla 4: Análisis de Ontología Génica de los 182 genes expresados diferencialmente entre G1S1 con o sin metástasis y no incluidos en la firma CINSARC.

ACCESO GO	Término GO	p-valor	p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	Recuento en Matriz	% en Matriz
GO:0022403	fase del ciclo celular	5,72E-21	1,48E-15	22	36,07	267	1,73
GO:000279	Fase M	2,61E-20	3,37E-15	22	36,07	219	1,42
GO:0007049	ciclo celular	3,45E-19	2,97E-14	29	47,54	584	3,78
GO:0022402	proceso del ciclo celular	2,05E-18	1,32E-13	22	36,07	343	2,22
GO:0044427	parte cromosómica	9,72E-15	5,01E-10	9	14,75	270	1,75
GO:000278	ciclo celular mitótico	6,57E-14	2,82E-09	15	24,59	221	1,43
GO:0007059	segregación del cromosoma	9,42E-14	3,47E-09	7	11,48	58	0,38
GO:0000087	Fase M del ciclo celular mitótico	1,59E-13	5,11E-09	15	24,59	163	1,06
GO:0005694	cromosoma	1,88E-13	5,39E-09	12	19,67	318	2,06
GO:0007067	mitosis	2,17E-12	5,59E-08	13	21,31	160	1,04
GO:0000775	cromosoma, región centromérica	1,41E-11	3,31 E-07	9	14,75	66	0,43
GO:0006259	proceso metabólico de ADN	9,77E-11	2,10E-06	16	26,23	400	2,59
GO:0051726 GO:0000074	regulación del ciclo celular	4,09E-10	8,06E-06	12	19,67	437	2,83
GO:0000070 GO:0016359	segregación cromátida hermana mitótica	4,38E-10	8,06E-06	6	9,84	28	0,18
GO:0000819	segregación cromátida hermana	5,74E-10	9,86E-06	6	9,84	29	0,19
GO:0051276 GO:0007001 GO:0051277	organización cromosomal y biogénesis	8,43E-10	1,28E-05	9	14,75	347	2,25
GO:0005634	núcleo	8,28E-10	1,28E-05	52	85,25	3992	25,84
GO:0051301	división celular	1,00E-09	1,44E-05	12	19,67	209	1,35
GO:0051327	Fase M del ciclo celular meiótico	1,75E-09	2,26E-05	7	11,48	53	0,34
GO:0007126	meiosis	1,75E-09	2,26E-05	7	11,48	53	0,34
GO:0051321	ciclo celular meiótico	2,05E-09	2,51E-05	7	11,48	54	0,35
GO:0007346	regulación del ciclo celular mitótico	3,66E-08	4,29E-04	3	4,92	77	0,50
GO:0006260	replicación de ADN	1,53E-07	1,72E-03	7	11,48	169	1,09
GO:0006974	respuesta al estímulo de daño a ADN	1,91E-07	2,05E-03	10	16,39	270	1,75
GO:0043232	organelo no unido a membrana intracelular	2,40E-07	2,38E-03	12	19,67	1509	9,77
GO:0043228	organelo no unido a membrana	2,40E-07	2,38E-03	12	19,67	1509	9,77
GO:0010564	regulación del proceso del ciclo celular	4,46E-07	4,25E-03	3	4,92	45	0,29
GO:0006281	reparación del ADN	2,04E-06	1,88E-02	9	14,75	224	1,45
GO:0007076	condensación de cromosoma mitótica	2,95E-06	2,50E-02	4	6,56	16	0,10
GO:0007088	regulación de la mitosis	3,00E-06	2,50E-02	3	4,92	35	0,23

ACCESO GO	Término GO	p-valor	p-valor corregido	Recuento en Selección	% en Selección	Recuento en Matriz	% en Matriz
GO:0044446	parte de organelo intracelular	2,98E-06	2,50 E-02	9	14,75	2239	14,49
GO:0044422	parte de organelo	3,13E-06	2,52E-02	9	14,75	2244	14,53
GO:0006996	organización del organelo y biogénesis	4,43E-06	3,46E-02	9	14,75	979	6,34
GO:0030261 GO:0000068	condensación de cromosoma	7,69E-06	5,51 E-02	4	6,56	20	0,13
GO:0006310	recombinación de ADN	8,03E-06	5,60E-02	5	8,20	73	0,47

AURKA es un marcador significativo de pronóstico de metástasis

5 Se aprovecharon los resultados del análisis supervisado para ensayar la posibilidad de reducir la firma CINSARC. Entre los genes significantes de clasificación superior clasificados en la prueba t supervisada, *AURKA* (Aurora cinasa A, denominada previamente STK6 o STK15) fue el mejor gen clasificado que también pertenecía a la firma CINSARC (Tabla 1). Se ensayó así si *AURKA* en solitario podría predecir resultados, así como CINSARC y se estratificaron muestras de acuerdo con su expresión de *AURKA* (con la expresión media de 9,13 como límite, tabla 5).

Tabla 5. Expresión de p16 y RBI medida por matriz de expresión y por RT-qPCR. Los datos de la matriz de expresión se transforman en log2 y los datos de RT-qPCR son la diferencia entre los CT del gen ensayado y los genes de referencia, lo que significa cuando mayor es el valor, menor es la expresión. Las expresiones elevadas se indican en color rojo y las expresiones bajas en color verde. Los datos clínicos principales y los resultados se indican a partir de la tabla 1. Número de copias de p16 y RBI: 2 = sin delección detectable; 1 = sin delección detectable; * = indica mutación de truncamiento; 0 = sin copia, nd = no realizado

GIST	Expresión (Agilent)			CGH			IGV 10 >9,13	Número de copias de CDKN2A/2B y RB1				Anotación			Mutación KIT y PDGFRA			
	CINSARC	Clasificación CINSARC	AURKA	Estratificación AURKA	número de Alt	Nbr Cht		Alt-mbre cht	Índice Genómico	p14	p16	p25	RB1	Histología	Sitio primario de tumor	Recurrencia local	Metástasis	Gen mutado
GIST1	8,68	C1	8,12	A1	3	3	3	G11	2	2	2	1	alto riesgo	estómago	No	No	P18	p.D842V
GIST10	7,95	C1	8,56	A1	5	4	6,25	G11	2	2	2	2	bajo riesgo	intestino delgado	No	No	K11	p.V560D
GIST13	8,84	C1	8,05	A1	2	2	2	G11	2	2	2	2	intermedio	estómago	No	No	K11	p.W557R
GIST15	9,37	C1	7,89	A1	4	3	5,33	G11	2	2	2	2	bajo riesgo	estómago	No	No	K11	p.V559D
GIST18	8,93	C1	9,05	A1	6	4	9	G11	2	2	2	2	intermedio	duodeno	No	No	K11	p.L576P
GIST21	9,41	C1	8,66	A1	2	2	2	G11	2	2	2	2	intermedio	estómago	No	No	K11	p.L576P
GIST23	8,42	C1	8,39	A1	0	0	0	G11	nd	nd	nd	2	bajo riesgo	intestino delgado	No	No	P12	p.Y555C
GIST24	9,04	C1	8,23	A1	4	4	4	G11	2	2	2	2	bajo riesgo	peritoneo	No	No	K11	p.T574_R586insK
GIST27	8,67	C1	7,75	A1	1	1	1	G11	2	2	2	2	alto riesgo	estómago	No	No	K11	p.K581_S590dup
GIST30	8,31	C1	7,62	A1	2	2	2	G11	2	2	2	2	intermedio	estómago	No	No	K11	p.L576_R588dup
GIST32	9,15	C1	8,09	A1	1	1	1	G11	2	2	2	2	intermedio	estómago	No	No	K11	p.W557R
GIST33	9,02	C1	8,55	A1	3	3	3	G11	2	2	2	2	muy bajo	estómago	No	No	P18	p.D842V
GIST36	8,34	C1	7,61	A1	1	1	1	G11	2	2	2	2	muy bajo	estómago	No	No	K11	p.V559D
GIST40	8,52	C1	7,80	A1	1	1	1	G11	2	2	2	2	bajo riesgo	estómago	No	No	K11	p.P573_T574dup; T574dup; Q575_R586dup
GIST43	9,12	C1	8,01	A1	1	1	1	G11	2	2	2	2	muy bajo	estómago	No	No	K11	p.T574_R586dup
GIST44	9,37	C1	8,41	A1	5	3	8,33	G11	2	2	2	2	bajo riesgo	estómago	No	No	K11	p.Q556_V559del
GIST46	9,20	C1	8,60	A1	5	3	8,33	G11	2	2	2	2	muy bajo	intestino delgado	No	No	K11	p.Q556_V559del
GIST48	8,17	C1	8,14	A1	8	7	9,14	G11	2	2	2	2	bajo riesgo	intestino delgado	No	No	K11	p.M552_E561del
GIST49	9,35	C1	8,93	A1	7	5	9,8	G11	2	2	2	2	muy bajo	estómago	No	No	K11	p.E554_K558del

GIST	Expresión (Agilent)		CGH			IG>10 A>9,13	Número de copias de CDKN2A/2B y RJB				Histología	Anotación		Mutación KIT y PDGFRA			
	CINSARC	AURKA	Estratificación AURKA	número de Alt	Nbr Cht		Alt-mbre cht	Índice Genómico	p14	p16		p25	RB1	Sitio primario	Recurrencia local	Metástasis	Gen mutado
GIST50	7,67	8,36	A1	7	6	8,17	G11	AG1	1	1	2	alto riesgo	intestino delgado	No	No	K11	p.M552_E554delinsK
GIST51	9,31	8,33	A1	0	0	0	G11	AG1	2	2	2	muy bajo	estómago	No	No	K11	p.W557R
GIST55	8,70	7,72	A1	5	4	6,25	G11	AG1	2	2	2	muy bajo	estómago	No	No	K11	p.D572_D579dupinsL
GIST60	9,21	8,77	A1	1	1	1	G11	AG1	2	2	2	muy bajo	estómago	No	No	P18	p.D842V
GIST62	9,47	8,30	A1	1	1	1	G11	AG1	2	2	2	muy bajo	estómago	No	No	K11	p.N566_P573del
GIST64	9,31	8,60	A1	5	5	5	G11	AG1	2	2	2	bajo riesgo	intestino delgado	No	No	K11	p.V560D
GIST66	8,47	8,82	A1	7	6	8,17	G11	AG1	1	1	2	bajo riesgo	duodeno	No	No	K11	p.V559G
GIST8	8,90	7,71	A1	1	1	1	G11	AG1	2	2	2	bajo riesgo	estómago	No	No	K11	p.W557_K558del
GIST59	7,93	7,31	A1	8	6	10,7	G12	AG2	2	2	2	muy bajo	estómago	No	No	K11	p.N567_L576delinsKE homo
GIST65	8,30	8,69	A1	20	11	36,36	G12	AG2	1	1	2	intermedio	intestino delgado	No	No	K13	p.K642E
GIST67	7,99	7,35	A1	11	6	20,17	G12	AG2	2	2	2	bajo riesgo	estómago	No	No	K11	p.V560d
GIST39	8,80	8,88	A1	12	11	13,09	G12	AG2	1	1	2	intermedio	estómago	No	Sí	K11	p.W557_V559delins F
GIST25	nd	nd	nd	0	0	0	G11	nd	2	2	2	muy bajo	estómago	No	No	P18	p.D842V
GIST7	nd	nd	nd	1	1	1	G11	nd	2	2	2	intermedio	estómago	No	No	K11	p.W557_E561del
GIST52	9,50	8,32	A1	nd	nd	nd	G11	nd	2	2	2	alto riesgo	retroperitoneo	No	No	WT	p.P573_H580ins WT
GIST12	9,00	8,66	A1	0	0	0	G11	AG1	2	2	2	intermedio	estómago	No	No	K11	p.D572_T574dup
GIST29	9,65	8,48	A1	2	2	2	G11	AG1	2	2	2	intermedio	estómago	No	No	P18	p.I843_D846del
GIST4	9,63	8,51	A1	3	3	3	G11	AG1	2	2	2	bajo riesgo	estómago	No	No	K11	P.V559D
GIST41	9,38	8,97	A1	1	1	1	G11	AG1	2	2	2	bajo riesgo	estómago	No	No	P12	p.D561V
GIST45	9,43	8,84	A1	2	2	2	G11	AG1	2	2	2	muy bajo	estómago	No	No	P18	p.D842V
GIST35	9,32	8,85	A1	6	5	7,2	G11	AG1	2	2	2	intermedio	estómago	No	No	P14	p.N659K
GIST54	9,50	9,11	A1	2	2	2	G11	AG1	2	2	2	muy bajo	estómago	No	No	P18	p.D842V
GIST20	9,60	9,02	A1	9	5	16,2	G12	AG2	2	2	2	alto riesgo	pared abdominal	No	No	K11	p.W557R
GIST22	9,45	9,71	A2	5	4	6,25	G11	AG2	2	2	2	intermedio	estómago	No	No	P18	p.D842V
GIST42	9,89	9,50	A2	2	2	2	G11	AG2	1	1	2	bajo riesgo	estómago	No	No	WT	WT
GIST6	11,51	12,11	A2	13	11	15,36	G12	AG2	2	2	0	alto riesgo	intestino delgado	Sí	No	K11	p.E554_K558del
GIST53	11,01	10,10	A2	4	4	4	G11	AG2	0	0	2	intermedio	estómago	No	No	K11	p.Q556_I563del
GIST11	9,79	9,73	A2	9	8	10,13	G12	AG2	nd	nd	2	bajo riesgo	duodeno	No	No	K11	p.V560A
GIST14	11,59	11,95	A2	11	8	15,13	G12	AG2	2	2	1	intermedio	mesenterio	Sí	Sí	K17	p.N822K
GIST16	9,60	9,70	A2	8	6	10,67	G12	AG2	2	2	1	alto riesgo	yeyuno	No	Sí	K9	p.A502_Y503dup
GIST19	11,45	12,01	A2	29	17	49,47	G12	AG2	2	2	1	intermedio	colon	Sí	Sí	K9	p.A502_Y503dup
GIST2	9,86	10,22	A2	12	11	13,09	G12	AG2	2	2	2	alto riesgo	intestino delgado	No	Sí	K11	p.Y553_Q556del
GIST37	11,09	11,20	A2	29	15	56,07	G12	AG2	1	1	2	intermedio	estómago	Sí	Sí	K11	p.W557_K558del
GIST38	11,23	10,80	A2	31	17	56,53	G12	AG2	1	1	1	alto riesgo	estómago	No	Sí	K11	p.W557_V560delinsF

GIST	Expresión (Agilent)		CGH				IG>10 o A>9,13	Número de copias de CDKN2A/2B y RUB				Histología	Anotación		Mutación KIT y PDGFRA			
	CINSARC	Clasificación CINSARC	AURKA	Estratificación AURKA	número de Alt	Nbr Cht		Alt ² -mbre cht	Índice Genómico	p14	p16		p25	RB1	Sitio primario de tumor	Recurrencia local	Metástasis	Gen mutado
GIST56	11,97	C2	13,11	A2	21	13	33,92	G12	AG2	1	1	2	alto riesgo	intestino delgado	Sí	Sí	WT	WT
GIST61	12,74	C2	12,89	A2	26	17	39,76	G12	AG2	1	1	1	alto riesgo	estómago	No	Sí	P18	p.D842V
GIST63	10,87	C2	10,70	A2	5	4	6,25	G12	AG1	1	1	2	alto riesgo	recto	No	Sí	K11	p.V560D
GIST9	11,36	C2	11,67	A2	16	10	25,6	G12	AG2	1	1	1	alto riesgo	estómago	Sí	Sí	K11	p.V560D
GIST28	10,73	C2	10,76	A2	14	9	21,78	G12	AG2	0	0	2	alto riesgo	estómago	No	Sí	K11	p.W557_V559delinsF
GIST47	10,32	C2	9,64	A2	22	12	40,33	G12	AG2	0	0	2	alto riesgo	estómago	No	Sí	K11	p.E554_D572delinsF
GIST5	10,45	C2	9,92	A2	5	4	6,25	G11	AG2	0	0	1	alto riesgo	estómago	No	Sí	K11	p.W557_K558 del
GIST58	10,86	C2	10,19	A2	17	8	36,13	G12	AG2	0	0	2	alto riesgo	estómago	No	Sí	K11	p.W557_K558delinsFP
GIST57	nd	nd	nd	nd	13	10	16,9	G12	AG1	0	0	2	alto riesgo	intestino delgado	No	Sí	K11	p.V559D
GIST17	nd	nd	nd	nd	26	13	52	G12	AG2	0	0	2	nd	duodeno	Sí	Sí	K11	p.V569_L576del
GIST3	nd	nd	nd	nd	16	10	25,6	G12	AG2	2	2	1	alto riesgo	estómago	No	Sí	K11	pV560D
GIST26	nd	nd	nd	nd	11	7	17,29	G12	AG2	2	2	1	intermedio	mediastino	No	No	K11	p.K558_V559delinsN homo
GIST34	nd	nd	nd	nd	11	8	15,13	G12	AG2	2	2	1	muy bajo	intestino delgado	No	No	K11	p.V560D

Para este fin, se consideró la presente serie de 67 GIST como el conjunto de formación y la de Yamaguchi como el conjunto de validación. Después, los datos de expresión se validaron mediante qRT-PCR y se descubrió una alta correlación entre ambas técnicas (coeficiente de correlación de Pearson = 0,94; $P < 1 \times 10^{-15}$). Los análisis de supervivencia revelaron que los dos grupos obtenidos tenían resultados muy diferentes, tanto en el conjunto de formación (serie Presente, MFS: $P = 5,31 \times 10^{-11}$ y DFS: $P = 3,61 \times 10^{-12}$, figura 2a) y en el conjunto de validación (serie de Yamaguchi, MFS: $P = 9,5 \times 10^{-4}$, figura 2b).

La complejidad cromosomal es un factor de pronóstico significativo de GIST

Se ha demostrado previamente que la firma CINSARC se asocia a la complejidad del genoma (18), por lo tanto la pregunta es, si el nivel de alteración del genoma de los GIST se correlaciona con la firma CINSARC y con el pronóstico metastásico. El perfil genómico con matrices que contienen 60.000 oligonucleótidos (véase Material y métodos) se ha realizado en 66 GIST con suficiente calidad del ADN. Se obtuvieron diferentes perfiles, que variaban de sencillo, es decir, sin ningún cambio detectable, a complejos, con ganancias y pérdidas numéricas y segmentarias (figura 3). No se detectó ningún nivel de amplificación elevado en los 66 perfiles con la excepción de un caso con amplificación 5p (GIST17). La mayor parte de las alteraciones implicaban brazos de cromosomas enteros o cromosomas sin reordenaciones. De hecho, cuando únicamente se detectaron unos pocos cambios (menos de ocho), estos siempre afectaron a todos los brazos o los cromosomas, mientras que cuando el perfil estaba compuesto por más de 10 cambios, pudieron observarse ganancias o pérdidas intra-cromosómicas. Para definir un método numérico teniendo en cuenta estos criterios, es decir, el número y tipo de alteraciones, se calculó un Índice Genómico (IG) para cada perfil como se indica a continuación: $IG = A^2 \times C$ (A = número de alteraciones y C = número de cromosomas implicados). Después, se asignaron los tumores a dos grupos, G11 o G12, dependiendo de si su IG era o no superior a 10, respectivamente (Tabla 5). Los análisis Kaplan-Meier de supervivencia libre de metástasis y enfermedad demostraron que esta estratificación dividió los tumores en dos grupos con un resultado muy distinto (figura 4a). Además, esta estratificación genómica puede identificar GIST con diferentes pronósticos metastásicos en el grupo de riesgo intermedio de la clasificación AFIP (9) (figura 4b y c).

El análisis integrativo permite la identificación de un grupo de pacientes sin riesgo

Considerando estos resultados en su conjunto, se construye un algoritmo de decisión en base al IG y la expresión de *AURKA*. Más específicamente, existe una correlación positiva entre el IG y la expresión de *AURKA* (correlación de Pearson $r = 0,65$, figura 7). Se observó que los tumores con expresión de *AURKA* por debajo de la media y con un IG inferior a 10 nunca desarrollaron metástasis ni recidiva (figura 7, Tabla 5). En este sentido, los análisis Kaplan-Meier MFS y DFS demostraron que los tumores con buenos factores de pronóstico (AG1: Expresión de *AURKA* < media e $IG < 10$), tienen una MFS en 5 años del 100 %, mientras que los tumores con malos factores de pronóstico (AG2: Expresión de *AURKA* > media o $IG > 10$) tienen una MFS en 5 años del 23 %, $P = 2,61 \times 10^{-8}$, figura 5). Por lo tanto, este algoritmo conduce a la individualización de un grupo de pacientes sin riesgo (AG1: Expresión de *AURKA* < 9,13 y $IG < 10$).

La ruta P16/RB1 está relacionada con el pronóstico metastásico.

Como resultado de estos hallazgos, se reconsideraron los datos de array CGH para examinar si alguna alteración específica estaba relacionada con el pronóstico de los pacientes. Se comparó la frecuencia de alteración de cada sonda entre los GIST con o sin pronóstico metastásico (figura 8). No se observó ninguna diferencia significativa en las frecuencias de ganancia entre los dos grupos (datos no mostrados). Sin embargo, entre las frecuencias de delección de alta clasificación en los casos metastásicos, se observó la mayor diferencia para ocho sondas eliminadas en el 78,9 % y el 9,6 % de los casos metastásicos y no metastásicos, respectivamente (figura 8). Todas las sondas se localizan en 9p21 y se dirigen a los loci *CDKN2A* (3 sondas), *CDKN2B* (3 sondas) o *MTAP* (2 sondas). Se observaron delecciones 9p21 en 18 casos ($18/66 = 27\%$) y entre estos tumores, 13 desarrollaron metástasis ($13/18 = 72\%$). Estas delecciones implicaban en su totalidad los brazos 9p o se restringían únicamente a los loci *CDKN2A/B* y se asumió que eran homocigóticas para 7 casos (6/7 con pronóstico metastásico) como se indicó por las relaciones de CGH muy bajas (figura 9). La región eliminada con más frecuencia parecía implicar 3 loci (*CDKN2A*, *CDKN2B* y *MTAP*), pero las delecciones homocigóticas permitieron identificar con más precisión los genes de interés puesto que dos tumores con delección homocigótica excluyeron *MTAP* (GIST N° 5 y N° 17). Por consiguiente, se comprobó el estado del número de copias de *CDKN2A* y *CDKN2B* mediante qPCR genómica y se confirmaron completamente todos los resultados de CGH. En particular, se confirmaron y se refinaron delecciones homocigóticas sospechadas, y se observó que la delección homocigótica en GIST N° 5 implicaba únicamente *CDKN2A* pero no *CDKN2B* (cuya única copia se conservó) (Tabla 5). Posteriormente, todos los GIST sin delección homocigótica y de los cuales estaba disponible el ADN (58 casos) se sometieron a secuenciación de *CDKN2A*. No se detectó ninguna mutación (datos no mostrado) y únicamente se identificaron tres SNP (RS3731249, RS11515 y un SNP silencioso no referenciado: c.*56G>A) en 4, 14 y 20 casos respectivamente. Para cuantificar con precisión las expresiones de *p14* y *p16* (ambos ARNm hibridado en el mismo (sondas Agilent), se cuantificó la expresión usando sondas específicas para RT-qPCR *p14* y *p16* (Tabla 5). En todos los tumores sin copia alguna de *p16* (7 casos) y en tres tumores con únicamente una copia, el ARNm *p16* estaba casi ausente; y no se detectó ninguna proteína por IHC en los dos casos con delección homocigótica y los tres casos con delección hemocigótica para los cuales están disponibles bloques histológicos (datos no mostrados). Por lo tanto, la falta de ARNm *p16* y/o la

proteína se evidencia en 10 casos, perteneciendo nueva al grupo metastásico (18 casos).

Por lo tanto, se especuló que otra alteración genómica podría conducir a la inactivación de la ruta p16 en los casos sin delección homocigótica de p16. Se observó una delección homocigótica y 13 delecciones hemicigóticas del locus RB1 (Tabla 6).

Tabla 6: Resultados del análisis CINSARC, expresión de AURKA (A = 9,13 como límite), análisis CGH (IG = 10 como límite) y número de copias de CDKN2A/2B y RBI determinado por qPCR genómica y array CGH, respectivamente (2 = sin delección detectable; 1 = delección homocigótica; 0 = sin copia). P = PDGFRA, K = KIT, WT = Tipo salvaje, nd = no realizado

GIST	Matriz de Exp.		CGH		Número de copias de p16		Reurrencia local		Expresión de p16		Expresión de RB1	
	Clasificación CINSARC	Estratificación de AURKA	Índice genómico	AG2 = IG > 10 o A > 9,13	Número de copias de p16	Número de copias de RBI	Reurrencia local	Metástasis	Matriz de ADNc	qPCR	Matriz de ADNc	qPCR
GIST10	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	10,67	10,13	6,82	6,13
GIST13	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	8,66	10,21	7,94	4,98
GIST15	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	8,36	11,80	8,46	4,68
GIST18	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	11,86	6,89	6,96	5,58
GIST21	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	12,43	6,81	8,19	4,39
GIST23	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	8,75	nd	7,00	nd
GIST24	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	9,26	11,06	8,17	4,91
GIST27	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	9,57	12,03	7,62	5,32
GIST30	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	8,68	14,01	7,81	5,20
GIST32	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	10,90	8,96	8,02	4,45
GIST33	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	9,31	12,47	7,11	5,53
GIST36	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	10,39	10,01	7,53	5,08
GIST40	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	10,02	9,15	8,67	4,35
GIST43	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	10,75	8,98	7,73	4,84
GIST44	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	11,23	8,88	7,50	5,52
GIST46	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	11,06	9,08	7,29	5,68
GIST48	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	10,08	10,23	8,12	5,16
GIST49	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	12,40	6,38	8,91	5,08
GIST51	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	12,80	5,89	7,65	4,94
GIST55	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	9,44	11,19	7,92	5,10
GIST60	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	9,53	11,57	7,89	4,98
GIST62	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	8,32	13,57	8,29	4,35
GIST64	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	9,10	11,98	8,71	4,41
GIST8	C1	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	8,78	15,46	7,95	5,15
GIST12	C2	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	13,31	8,47	8,73	4,21
GIST29	C2	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	10,65	9,89	8,20	5,16
GIST31	C2	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	9,03	11,57	7,99	4,79
GIST4	C2	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	10,27	12,02	7,89	5,10
GIST41	C2	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	10,04	10,03	7,29	5,46
GIST52	C2	A1	nd	nd	2	nd	No	No	9,72	13,49	7,20	5,30
GIST45	C2	A1	GI1	AG1	2	2	No	No	7,44	15,35	6,93	5,77
GIST50	C1	A1	GI1	AG1	1	2	No	No	10,70	9,27	8,32	5,95
GIST66	C1	A1	GI1	AG1	1	2	No	No	9,85	9,52	7,70	5,39
GIST59	C1	A1	GI2	AG2	2	2	No	No	13,72	3,71	7,78	4,30
GIST67	C1	A1	GI2	AG2	2	2	No	No	11,94	7,98	7,30	5,36
GIST20	C2	A1	GI2	AG2	2	2	No	No	12,89	6,43	8,25	4,32
GIST22	C2	A2	GI1	AG2	2	2	No	No	11,59	7,42	8,05	4,91
GIST11	C2	A2	GI2	AG2	nd	2	No	No	10,76	9,47	6,87	5,78
GIST65	C1	A1	GI2	AG2	1	2	No	No	9,22	9,23	8,06	5,20
GIST25	nd	nd	GI1	nd	2	2	No	No	nd	nd	nd	nd
GIST7	nd	nd	GI1	nd	2	2	No	No	nd	nd	nd	nd
GIST1	C1	A1	GI1	AG1	2	1	No	No	9,96	10,33	6,06	6,93
GIST35	C2	A1	GI1	AG1	2	1	No	No	10,42	10,39	6,28	6,75
GIST54	C2	A1	GI1	AG1	2	1	No	No	9,39	11,79	6,61	6,02
GIST26	nd	nd	GI2	AG2	2	1	No	No	nd	nd	nd	nd
GIST34	nd	nd	GI2	AG2	2	1	No	No	nd	nd	nd	nd
GIST42	C2	A2	GI1	AG2	1	2	No	No	12,27	12,51	9,02	5,32
GIST53	C2	A2	GI1	AG2	0	2	No	No	5,64	14,20	8,40	4,96
GIST6	C2	A2	GI2	AG2	2	0	Sí	No	15,17	3,38	4,32	9,01

GIST39	C1	A1	GI2	AG2	1	2	No	Sí	11,60	7,25	7,96	5,56
GIST3	nd	nd	GI2	AG2	2	1	No	Sí	nd	nd	nd	nd
GIST37	C2	A2	GI2	AG2	1	2	Sí	Sí	12,33	7,14	8,68	4,99
GIST63	C2	A2	GI1	AG2	1	2	No	Sí	9,38	nd	7,22	nd
GIST38	C2	A2	GI2	AG2	1	1	No	Sí	11,89	6,59	7,02	6,42
GIST14	C2	A2	GI2	AG2	2	1	Sí	Sí	14,13	3,91	8,91	7,19
GIST16	C2	A2	GI2	AG2	2	1	No	Sí	11,73	9,67	7,22	5,47
GIST19	C2	A2	GI2	AG2	2	1	Sí	Sí	12,64	8,02	7,22	5,96
GIST2	C2	A2	GI2	AG2	2	1	No	Sí	13,77	4,95	7,17	6,76
GIST61	C2	A2	GI2	AG2	1	1*	No	Sí	14,80	5,18	7,63	7,58
GIST56	C2	A2	GI2	AG2	1	2	Sí	Sí	11,96	14,13	8,89	5,05
GIST9	C2	A2	GI2	AG2	1	1	Sí	Sí	6,51	12,92	6,97	4,06
GIST57	nd	nd	GI2	AG1	0	2	No	Sí	nd	nd	nd	nd
GIST28	C2	A2	GI2	AG2	0	2	No	Sí	5,69	15,29	8,01	4,82
GIST47	C2	A2	GI2	AG2	0	2	No	Sí	6,08	13,37	7,48	4,80
GIST5	C2	A2	GI1	AG2	0	2	No	Sí	3,80	18,20	8,96	5,09
GIST58	C2	A2	GI2	AG2	0	2	No	Sí	6,17	14,57	7,89	5,22
GIST17	nd	nd	GI2	AG2	0	2	Sí	Sí	nd	nd	nd	nd

5 Once tumores que albergan deleciones *RB1* se clasifican AG2 y ocho desarrollaron metástasis. De forma interesante, los tumores con una deleción homocigótica *p16* no tienen ninguna deleción *RB1* aunque están muy reordenados. Mediante la secuenciación de *PB1* en todos pacientes con ARN y ADN disponible (66 casos) se identificó una mutación (c.1959_1960del/p.Lys653AsnfsX14) en la copia conservada en GIST N° 61. El análisis qPCR confirmó que los tumores eliminados tenían una expresión significativamente regulada por disminución de *RB1* (Tabla 6).

10 **Conclusión:**

Se demostró que CINSARC es una firma muy potente para predecir el pronóstico metastásico. CINSARC está compuesto por 67 genes que están implicados en la integridad cromosómica y las rutas de control de la mitosis, indicando que dichos mecanismos parecen impulsar el desarrollo de la metástasis en este tipo de tumor, como se demostró recientemente en los sarcomas (18). Esto concuerda con los resultados del enfoque recíproco, que es la identificación de genes expresados de forma diferente entre los GIST con o sin pronóstico metastásico. Realmente, entre los 227 genes regulados por aumento en los 18 tumores metastatizantes, 45 eran habituales con la firma CINSARC y las rutas activadas eran casi todas equiparables. Estos resultados indican que la integridad genómica y el control de la mitosis son los mecanismos de fijación eficaces subyacentes del desarrollo de la metástasis y, además, que estos mecanismos parecen ser suficientes, o al menos los más fuertes. En este sentido, se demuestra que la expresión del gen de clasificación superior en ambos enfoques, *AURKA*, es tan eficiente como CINSARC para predecir el pronóstico metastásico en ambas series de GIST.

25 A raíz de los resultados que demuestran la función central del control de la integridad del genoma, se especuló que un defecto de dichos mecanismos debería conducir a desajustes cromosómicos y que la complejidad genómica resultante también debería predecir el resultado en los GIST. Esto es exactamente lo que se muestra aquí, ya que la estratificación del tumor de acuerdo con un Índice Genómico (IG) de CGH que integra el número de alteraciones y de cromosomas alterados forma dos grupos de resultados claramente distintos. Esto está claramente de acuerdo con los resultados de expresión de *AURKA*, ya que las pérdidas del cromosoma completo son las alteraciones más frecuentes observadas en los GIST, y se asume que estas se originan de la deficiencia de segregación cromosómica inducida por defectos en los puntos de control de la mitosis, tal como la sobreexpresión de *AURKA* (34).

35 A diferencia de los resultados de Yamagushi y col., este estudio demuestra que CINSARC, la expresión de *AURKA* o los valores de pronóstico de CGH son independientes de la ubicación del tumor. Además, como se ha mencionado anteriormente, el significado biológico de CINSARC y su asociación a los cambios genómicos indica claramente que los genes CINSARC están implicados en el progreso maligno y no son sólo una consecuencia del proceso. Esta hipótesis se sostiene por la asociación que se observa aquí entre las deleciones *CDKN2A* (deleciones homocigóticas en 6 casos y deleciones hemicigóticas en 9 casos entre 18 casos con pronóstico metastásico frente a 5 deleciones hemicigóticas en 48 pacientes no metastásicos), grupos de pronóstico de CINSARC y aparición metastásica. Los estudios previos ya han señalado la asociación potencial de alteraciones *CDKN2A* o la expresión de *p16^{INK4a}* con respecto a la progresión tumoral (11-16, 43). No obstante, los datos siguen siendo controvertidos debido principalmente a la falta de una distinción clara del gen dirigido en el locus 9p21. Aún no está claro qué gen de *CDKN2A*, *CDKN2B* o *MTAP* impulsa la asociación a un mal pronóstico. Al nivel genómico, incluso si *CDKN2A* y *2B* parecen eliminarse sistémicamente (37, 44, 45), dos estudios indican que es probable que las deleciones 9p21 se dirijan a gen *MTAP* y no exclusivamente a *CDKN2A* y *CDKN2B* (35, 46). Aquí, los análisis CGH y qPCR genómica demostraron que las deleciones homocigóticas se dirigen específicamente a *CDKN2A* y que la región común de la deleción excluye *CDKN2B* y *MTAP*. Sorprendentemente, no se descubrió ninguna mutación *CDKN2A* perjudicial en ningún caso de GIST ensayado. Schnieder-Stock y col. (14) informaron de 9 denominadas mutaciones en una serie de 43 GIST. Pero dos de ellas con idénticas y se han detectado en un tumor y su recurrencia, una se

referencia como SNP, dos son mutaciones silenciosas y en un caso no se obtuvo ninguna secuencia interpretable. Por todo ello, los autores evidenciaron únicamente cuatro mutaciones *CDKN2A* (4/43 = 9 %). De acuerdo con estos datos, se esperaban aproximadamente cinco mutaciones en el estudio y se han identificado tres cambios, dos SNP y un cambio silencioso no referenciado hasta ahora. Una explicación para esta discrepancia podría ser un sesgo muestral, pero es de destacar que se detectaron dos veces más deleciones *CDKN2A* homocigóticas que las indicadas en el estudio de Schneider-Stock y col. (7/63 frente a 2/43). Siguiendo la idea de que otra alteración exclusiva podría explicar los tumores agresivos (CINSARC C2, AG2) sin la inactivación de *p16* se identificaron dos tumores sin copia funcional de *RB1* y 12 se regularon por disminución significativamente debido a la pérdida de una copia de *RB1* (p-valor). No se detectó ninguna mutación de truncamiento en estos tumores pero se especula que las micro-deleciones, que no se identificaron debido a la resolución más baja de las matrices, podrían explicar esta inactivación, como en los sarcomas (47). Se sostiene en gran medida una aparición exclusiva de alteraciones *p16* y *RB1* por la observación de que ningún de los tumores con deleción homocigótica *CDKN2A* alberga una deleción *RB1*, y entre los 29 GIST con una de estas deleciones, únicamente tres casos albergan ambas deleciones (Tabla 1). En total, la ruta *p16/RB1* se inactiva o se regula por disminución en 14/18 (78 %) y en 3/48 (6 %) pacientes con y sin pronóstico metastásico, respectivamente, lo que significa claramente que la inactivación de la ruta *p16/RB1* está relacionada con el desarrollo metastásico.

CDKN2A codifica dos proteínas supresoras de tumor claves, *p16^{INK4a}* y *p14^{ARF}*, que están implicadas en la regulación de la transición G1 y G2/M del ciclo celular. Juntas, estas proteínas regulan dos puntos de control del ciclo celular importantes, *p53* y las rutas *RB1* para *p14* y *p16^{INK4a}*, respectivamente. La pérdida de estos genes puede conducir a replicar la senescencia, la inmortalización celular y el crecimiento tumoral (48-51). La mayor parte de los genes CINSARC están bajo el control de transcripción de E2F, que se regula estrictamente por la interacción de *RB1*. Realmente, *RB1* secuestra E2F que se administra tras la fosforilación *RB1* por *CDK4* (Cinasa dependiente de ciclina 4) y *p16^{INK4a}* inhibe *CDK4*. Por lo tanto, estos resultados permiten especular que la inactivación de la ruta *p16/RB1* en los GIST, principalmente por deleción, es probablemente la alteración causal que conduce a la sobreexpresión de los genes implicados en el control de la mitosis. Esta desregulación dispara las reordenaciones genómicas celulares hasta que de forma natural se selecciona y se fija una combinación. Por lo tanto, la complejidad genómica resultante y su expresión relacionada confieren a la célula tumoral agresividad y potencial metastásico. Aunque esta hipótesis tiene que validarse experimentalmente en modelos celulares y de ratón, se sostiene por el análisis de expresión de los GIST con o sin ruta *p16/RB1* funcional que muestra que 42/225 (19 %) genes regulados por aumento en los GIST sin ruta *p16/RB1* funcional son comunes con la firma CINSARC. Además, estos 225 genes están implicados en las mismas rutas que las enriquecidas en las firmas CINSARC y metastásicas (Tabla complementaria 3).

Se ha demostrado que el mesilato de imatinib se dirige a la señalización aberrante de *KIT* inhibiendo la proliferación y la supervivencia en las células de GIST. Hasta el 2009, la terapia con imatinib estaba limitada a una enfermedad diseminada o avanzada en el momento del diagnóstico. Desde entonces, se ha aprobado un tratamiento adyuvante y ha surgido la necesidad de aplicar criterios de selección para identificar pacientes que puedan beneficiarse de dicha gestión. La selección de pacientes prevista por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos, *Food and Drug Administration*) y en menor medida por la EMA (Agencia Europea de Medicamentos, *European Medicines Agency*) se basa esencialmente en la evaluación del riesgo histológico. Los sistemas de estadificación con base histológica tanto del AFIP (9) como del NIH (8) se aceptan ampliamente como "reglas de oro" al determinar el riesgo metastásico tumoral y para determinar si un paciente con GIST es adecuado o no para la terapia adyuvante con imatinib. Aquí, se muestra que la firma CINSARC y la expresión de *AURKA* superan la clasificación AFIP (el análisis de supervivencia de acuerdo con la clasificación AFIP se presenta en la figura 4), particularmente cuando se relacionan con el índice genómico de CGH. De particular interés, el Índice Genómico es capaz de distinguir pacientes con buen o mal pronóstico en GIST clasificados como de riesgo intermedio por estos sistemas histopatológicos (que representan aproximadamente el 25 % de los diagnósticos). Más específicamente, entre los 16 casos de riesgo intermedio del AFIP, cuatro desarrollaron metástasis. Estos casos se clasificaron como con mal pronóstico por el IG (figura 4 y Tabla 5). Por lo tanto, el IG establecido en este estudio es una herramienta muy potente para gestionar un paciente con GIST que se beneficiará más probablemente de la terapia, ya que CGH es una técnica que ya se usa en la práctica diaria por un número creciente de departamentos de patología y puede aplicarse a muestras fijadas en formalina embebidas en parafina (FFPE). Para validar la aplicación técnica del IG, se recoge una mayor cohorte de muestras de GIST FFPE para realizar CGH con ADN de bloques FFPE.

Por lo tanto, se proponen dos métodos de decisión posibles para mejorar los sistemas de clasificación del AFIP o del NIH o para reemplazar estos métodos histopatológicos. En primer lugar, al usar las clasificaciones AFIP o NIH, los casos de riesgo intermedio son problemáticos para la gestión terapéutica y los resultados demuestran que el uso del perfil CGH puede resolver fácil y rápidamente tal problema. En segundo lugar, los resultados sugieren que el uso combinado de IG y la expresión de *AURKA* ofrecen una mejor selección de pacientes para la terapia con imatinib que la clasificación AFIP. Ambos métodos ofrecen tratamientos igualmente eficaces para pacientes con riesgo metastásico, pero la selección basada en CINSARC/*AURKA*, que es totalmente independiente del investigador, disminuirá uniformemente el número de pacientes, sin riesgo metastásico, que se declararán falsamente aptos para la terapia de imatinib.

Lista de Referencias

1. Sircar, K. y col. Interstitial cells of Cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol* 23, 377-389 (1999).
- 5 2. Kindblom, L.G., Remotti, H.E., Aldenborg, F., & Meis-Kindblom, J.M. Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. *Am J Pathol* 152, 1259-1269 (1998).
- 10 3. Hirota, S. y col. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 279, 577-580 (1998).
4. Heinrich, M.C. y col. PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science* 299, 708-710 (2003).
- 15 5. Corless, C.L., Fletcher, J.A., & Heinrich, M.C. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 22, 3813-3825 (2004).
- 20 6. Wozniak, A. y col. Array CGH analysis in primary gastrointestinal stromal tumors: cytogenetic profile correlates with anatomic site and tumor aggressiveness, irrespective of mutational status. *Genes Chromosomes Cancer* 46, 261-276 (2007).
7. Rubin, B.P., Heinrich, M.C., & Corless, C.L. Gastrointestinal stromal tumour. *Lancet* 369, 1731-1741 (2007).
- 25 8. Fletcher, C.D. y col. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: A consensus approach. *Hum Pathol* 33, 459-465 (2002).
- 30 9. Miettinen, M. & Lasota, J. Gastrointestinal stromal tumors: review on morphology, molecular pathology, prognosis, and differential diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 130, 1466-1478 (2006).
- 35 10. Gunawan, B. y col. Biological and clinical significance of cytogenetic abnormalities in low-risk and high-risk gastrointestinal stromal tumors. *Hum Pathol* 33, 316-321 (2002).
11. el-Rifai, W., Sarlomo-Rikala, M., Miettinen, M., Knuutila, S., & Andersson, L.C. DNA copy number losses in chromosome 14: an early change in gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 56, 3230-3233 (1996).
- 40 12. el-Rifai, W., Sarlomo-Rikala, M., Andersson, L.C., Knuutila, S., & Miettinen, M. DNA sequence copy number changes in gastrointestinal stromal tumors: tumor progression and prognostic significance. *Cancer Res* 60, 3899-3903 (2000).
13. Kim, N.G. y col. Putative chromosomal deletions on 9P, 9Q and 22Q occur preferentially in malignant gastrointestinal stromal tumors. *Int J Cancer* 85, 633-638 (2000).
- 45 14. Schneider-Stock, R. y col. High prognostic value of p16INK4 alterations in gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 21, 1688-1697 (2003).
15. Schneider-Stock, R. y col. Loss of p16 protein defines high-risk patients with gastrointestinal stromal tumors: a tissue microarray study. *Clin Cancer Res* 11, 638-645 (2005).
- 50 16. Romeo, S. y col. Cell cycle/apoptosis molecule expression correlates with imatinib response in patients with advanced gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 15, 4191-4198 (2009).
17. Yamaguchi, U. y col. Distinct gene expression-defined classes of gastrointestinal stromal tumor. *J Clin Oncol* 26, 4100-4108 (2008).
- 55 18. Chibon, F. y col. Validated prediction of clinical outcome in sarcomas and multiple types of cancer on the basis of a gene expression signature related to genome complexity. *Nat. Med* 16, 781-787 (2010).
- 60 19. DeMatteo, R.P., Heinrich, M.C., El-Rifai, W.M., & Demetri, G. Clinical management of gastrointestinal stromal tumors: before and after STI-571. *Hum Pathol* 33, 466-477 (2002).
20. Kimura, M. y col. Cell cycle-dependent expression and spindle pole localization of a novel human protein kinase, Aik, related to Aurora of Drosophila and yeast Ipl1. *J Biol Chem*. 272, 13766-13771 (1997).
- 65 21. Bischoff, J.R. & Plowman, G.D. The Aurora/Ipl1p kinase family: regulators of chromosome segregation and cytokinesis. *Trends Cell Biol* 9, 454-459 (1999).

22. Marumoto, T., Zhang, D., & Saya, H. Aurora-A - a guardian of poles. *Nat. Rev Cancer* 5, 42-50 (2005).
- 5 23. Zhou, H. y col. Tumour amplified kinase STK15/BTAK induces centrosome amplification, aneuploidy and transformation. *Nat. Genet.* 20, 189-193 (1998).
24. Sen, S., Zhou, H., & White, R.A. A putative serine/threonine kinase encoding gene BTAK on chromosome 20q13 is amplified and overexpressed in human breast cancer cell lines. *Oncogene* 14, 2195-2200 (1997).
- 10 25. Bischoff, J.R. y col. A homologue of *Drosophila* aurora kinase is oncogenic and amplified in human colorectal cancers. *EMBO J* 17, 3052-3065 (1998).
26. Lam, A.K., Ong, K., & Ho, Y.H. Aurora kinase expression in colorectal adenocarcinoma: correlations with clinicopathological features, p16 expression, and telomerase activity. *Hum Pathol* 39, 599-604 (2008).
- 15 27. Shang, X. y col. Aurora A is a negative prognostic factor and a new therapeutic target in human neuroblastoma. *Mol Cancer Ther* 8, 2461-2469 (2009).
- 20 28. Reiter, R. y col. Aurora kinase A messenger RNA overexpression is correlated with tumor progression and shortened survival in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 12, 5136-5141 (2006).
29. Benten, D. y col. Aurora kinase inhibitor PHA-739358 suppresses growth of hepatocellular carcinoma in vitro and in a xenograft mouse model. *Neoplasia*. 11, 934-944 (2009).
- 25 30. Gorgun, G. y col. A novel Aurora-A kinase inhibitor MLN8237 induces cytotoxicity and cell-cycle arrest in multiple myeloma. *Blood* 115, 5202-5213 (2010).
31. Kovar, H. AURKA inhibitors: right in time. *Pediatr. Blood Cancer* 55, 3-4 (2010).
- 30 32. Maris, J.M. y col. Initial testing of the aurora kinase A inhibitor MLN8237 by the Pediatric Preclinical Testing Program (PPTP). *Pediatr. Blood Cancer* 55, 26-34 (2010).
33. Shimomura, T. y col. MK-5108, a highly selective Aurora-A kinase inhibitor, shows antitumor activity alone and in combination with docetaxel. *Mol Cancer Ther* 9, 157-166 (2010).
- 35 34. Schwartzman, J.M., Sotillo, R., & Benezra, R. Mitotic chromosomal instability and cancer: mouse modelling of the human disease. *Nat. Rev Cancer* 10, 102-115(2010).
- 40 35. Astolfi, A. y col. A molecular portrait of gastrointestinal stromal tumors: an integrative analysis of gene expression profiling and high-resolution genomic copy number. *Lab Invest* (2010).
- 45 36. Debiec-Rychter, M., Lasota, J., Sarlomo-Rikala, M., Kordek, R., & Miettinen, M. Chromosomal aberrations in malignant gastrointestinal stromal tumors: correlation with c-KIT gene mutation. *Cancer Genet. Cytogenet.* 128, 24-30 (2001).
37. Belinsky, M.G. y col. High density DNA array analysis reveals distinct genomic profiles in a subset of gastrointestinal stromal tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 48, 886-896 (2009).
- 50 38. Allander, S.V. y col. Gastrointestinal stromal tumors with KIT mutations exhibit a remarkably homogeneous gene expression profile. *Cancer Res* 61, 8624-8628 (2001).
39. Price, N.D. y col. Highly accurate two-gene classifier for differentiating gastrointestinal stromal tumors and leiomyosarcomas. *Proc Natl. Acad. Sci. U. S. A* 104, 3414-3419 (2007).
- 55 40. Subramanian, S. y col. Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) with KIT and PDGFRA mutations have distinct gene expression profiles. *Oncogene* 23, 7780-7790 (2004).
41. Antonescu, C.R. y col. Gene expression in gastrointestinal stromal tumors is distinguished by KIT genotype and anatomic site. *Clin Cancer Res* 10, 3282-3290 (2004).
- 60 42. Kang, H.J. y col. Correlation of KIT and platelet-derived growth factor receptor alpha mutations with gene activation and expression profiles in gastrointestinal stromal tumors. *Oncogene* 24, 1066-1074 (2005).
- 65 43. Haller, F. y col., Loss of 9p leads to p16INK4A down-regulation and enables RB/E2F1-dependent cell cycle promotion in gastrointestinal stromal tumours (GISTs). *J Pathol* 215, 253-262 (2008).

44. Perrone, F. y col. 9p21 locus analysis in high-risk gastrointestinal stromal tumors characterized for c-kit and platelet-derived growth factor receptor alpha gene alterations. *Cancer* 104, 159-169 (2005).
- 5 45. Assamaki, R. y col. Array comparative genomic hybridization analysis of chromosomal imbalances and their target genes in gastrointestinal stromal tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 46, 564-576 (2007).
46. Huang, H.Y. y col. Homozygous deletion of MTAP gene as a poor prognosticator in gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 15; 6963-6972 (2009).
- 10 47. Chibon. F. y col. The RB1 gene is the target of chromosome 13 deletions in malignant fibrous histiocytoma. *Cancer Res.* Nov 15, 6339-45 (2000).
48. Serrano, M., Hannon,G.J., & Beach,D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature* 366, 704-707 (1993).
- 15 49. Hannon, G.J. & Beach, D. p15INK4B is a potential effector of TGF-beta-induced cell cycle arrest. *Nature* 371, 257-261 (1994).
- 20 50. Kamb, A. y col. Analysis of the p16 gene (CDKN2) as a candidate for the chromosome 9p melanoma susceptibility locus. *Nat. Genet.* 8, 23-26 (1994).
51. Enders, G.H. The INK4a/ARF locus and human cancer. *Methods Mol Biol* 222, 197-209 (2003).
- 25 52. Pérot, G. y col. Constant p53 Pathway Inactivation in a Large Series of Soft Tissue Sarcomas with Complex Genetics. *Am J Pathol.* 177, 2080-2090 (2010).
53. Houdayer, C., y col. Comprehensive screening for constitutional RB1 mutations by DHPLC and QMPSF. *Hum Mutat.* 23, 193-202 (2004).
- 30 54. Carpinelli P y col. PHA-739358, a potent inhibitor of Aurora kinases with a selective target inhibition profile relevant to cancer. *Mol Cancer Ther.* 2007 Dec; 6 (12 Pt 1): 3158-68.
- 35 55. PCT/FR2010/000323

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> Université Bordeaux Segalen
INSERM
40 Institut Bergonié
Institut Curie
- <120> Firmas del resultado clínico en tumores estromales gastrointestinales y método de tratamiento de tumores estromales gastrointestinales.
- 45 <130> BIP208465PC00
- <150> EP10013806
50 <151> 2010-10-20
- <160> 15
- <170> PatentIn version 3.5
- 55 <210> 1
<211> 403
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 1

ES 2 541 054 T3

Met Asp Arg Ser Lys Glu Asn Cys Ile Ser Gly Pro Val Lys Ala Thr
 1 5 10 15

Ala Pro Val Gly Gly Pro Lys Arg Val Leu Val Thr Gln Gln Phe Pro
 20 25 30

Cys Gln Asn Pro Leu Pro Val Asn Ser Gly Gln Ala Gln Arg Val Leu
 35 40 45

Cys Pro Ser Asn Ser Ser Gln Arg Ile Pro Leu Gln Ala Gln Lys Leu
 50 55 60

Val Ser Ser His Lys Pro Val Gln Asn Gln Lys Gln Lys Gln Leu Gln
 65 70 75 80

Ala Thr Ser Val Pro His Pro Val Ser Arg Pro Leu Asn Asn Thr Gln
 85 90 95

Lys Ser Lys Gln Pro Leu Pro Ser Ala Pro Glu Asn Asn Pro Glu Glu
 100 105 110

Glu Leu Ala Ser Lys Gln Lys Asn Glu Glu Ser Lys Lys Arg Gln Trp
 115 120 125

Ala Leu Glu Asp Phe Glu Ile Gly Arg Pro Leu Gly Lys Gly Lys Phe
 130 135 140

Gly Asn Val Tyr Leu Ala Arg Glu Lys Gln Ser Lys Phe Ile Leu Ala

ES 2 541 054 T3

145 150 155 160

Leu Lys Val Leu Phe Lys Ala Gln Leu Glu Lys Ala Gly Val Glu His
165 170 175

Gln Leu Arg Arg Glu Val Glu Ile Gln Ser His Leu Arg His Pro Asn
180 185 190

Ile Leu Arg Leu Tyr Gly Tyr Phe His Asp Ala Thr Arg Val Tyr Leu
195 200 205

Ile Leu Glu Tyr Ala Pro Leu Gly Thr Val Tyr Arg Glu Leu Gln Lys
210 215 220

Leu Ser Lys Phe Asp Glu Gln Arg Thr Ala Thr Tyr Ile Thr Glu Leu
225 230 235 240

Ala Asn Ala Leu Ser Tyr Cys His Ser Lys Arg Val Ile His Arg Asp
245 250 255

Ile Lys Pro Glu Asn Leu Leu Leu Gly Ser Ala Gly Glu Leu Lys Ile
260 265 270

Ala Asp Phe Gly Trp Ser Val His Ala Pro Ser Ser Arg Arg Thr Thr
275 280 285

Leu Cys Gly Thr Leu Asp Tyr Leu Pro Pro Glu Met Ile Glu Gly Arg
290 295 300

Met His Asp Glu Lys Val Asp Leu Trp Ser Leu Gly Val Leu Cys Tyr
305 310 315 320

Glu Phe Leu Val Gly Lys Pro Pro Phe Glu Ala Asn Thr Tyr Gln Glu
325 330 335

Thr Tyr Lys Arg Ile Ser Arg Val Glu Phe Thr Phe Pro Asp Phe Val
340 345 350

Thr Glu Gly Ala Arg Asp Leu Ile Ser Arg Leu Leu Lys His Asn Pro
355 360 365

Ser Gln Arg Pro Met Leu Arg Glu Val Leu Glu His Pro Trp Ile Thr
370 375 380

Ala Asn Ser Ser Lys Pro Ser Asn Cys Gln Asn Lys Glu Ser Ala Ser
385 390 395 400

Lys Gln Ser

5

<210> 2
 <211> 2339
 <212> ADN
 <213> ADNc correspondiente a ARNm
 <400> 2

ES 2 541 054 T3

acaaggcagc	ctcgctcgag	cgcaggccaa	tcggtttct	agctagagg	tttaactcct	60
atttaaaaag	aagaaccttt	gaattctaac	ggctgagctc	ttggaagact	tgggtccttg	120
ggtcgcaggt	gggagccgac	gggtgggtag	accgtggggg	atatctcagt	ggcggacgag	180
gacggcgggg	acaaggggcg	gctggtcgga	gtggcggagc	gtcaagtccc	ctgtcggttc	240
ctccgtccct	gagtgtcctt	ggcgtgcct	tgtgcccgcc	cagcgccttt	gcatccgctc	300
ctgggcaccg	aggcgcctg	taggatactg	cttgttactt	attacagcta	gaggcatcat	360
ggaccgatct	aaagaaaact	gcatttcagg	acctgttaag	gctacagctc	cagttggagg	420
tccaaaaagt	gttctcgtga	ctcagcaatt	tccttgcag	aatccattac	ctgtaaatag	480
tggccaggt	cagcgggtct	tgtgtccttc	aaattcttcc	cagcgcattc	ctttgcaagc	540
acaaaagctt	gtctccagtc	acaagccggt	tcagaatcag	aagcagaagc	aattgcaggc	600
aaccagtgt	cctcatcctg	tctccaggcc	actgaataac	accctaaaaga	gcaagcagcc	660
cctgccatog	gcacctgaaa	ataatcctga	ggaggaactg	gcatcaaac	agaaaaatga	720
agaatcaaaa	aagaggcagt	gggctttgga	agactttgaa	attggtcgcc	ctctgggtaa	780
aggaaagttt	ggtaatgttt	atttggaag	agaaaagcaa	agcaagtta	ttctggctct	840
taaagtgtta	tttaaagctc	agctggagaa	agccggagtg	gagcatcagc	tcagaagaga	900
agtagaaata	cagtcccacc	ttcggcatcc	taatattctt	agactgtatg	gttatttcca	960
tgatgctacc	agagtctacc	taattctgga	atatgcacca	cttggaacag	tttatagaga	1020
acttcagaaa	ctttcaaagt	ttgatgagca	gagaactgct	acttatataa	cagaattggc	1080
aatgcctg	tcttactgtc	attcgaagag	agttattcat	agagacatta	agccagagaa	1140
cttacttctt	ggatcagctg	gagagcttaa	aattgcagat	tttgggtggt	cagtacatgc	1200
tccatcttcc	aggaggacca	ctctctgtgg	caccctggac	tacctgcccc	ctgaaatgat	1260
tgaaggtcgg	atgcatgatg	agaaggtgga	tctctggagc	cttggagttc	tttgctatga	1320
atTTTTagtt	gggaagcctc	cttttgaggc	aaacacatac	caagagacct	acaaaagaat	1380
atcacgggtt	gaattcacat	tcctgactt	tgtaacagag	ggagccaggg	acctcatttc	1440
aagactgttg	aagcataatc	ccagccagag	gccaatgctc	agagaagtac	ttgaacacct	1500
ctggatcaca	gcaaattcat	caaaaccatc	aaattgcca	aacaaagaat	cagctagcaa	1560
acagtcttag	gaatcgtgca	gggggagaaa	tccttgagcc	agggtgcca	tataacctga	1620

ES 2 541 054 T3

caggaacatg ctactgaagt ttatTTTacc attgactgct gccctcaatc tagaacgcta 1680
 cacaagaaat atttgtTTta ctCagcaggt gtgccttaac ctccctattc agaaagctcc 1740
 acatcaataa acatgacact ctGaaGTgaa agtagccacg agaattgtgc tacttatact 1800
 ggTtcataat ctggaggcaa ggTtcgactg cagccgcccc gtcagcctgt gctaggcatg 1860
 gtgtcttcac aggaggcaaa tccagagcct ggctgtgggg aaagtgacca ctctgccctg 1920
 accccgatca gTtaaggagc tgtgcaataa ccttcctagt acctgagtga gtgtgtaact 1980
 tattgggttg gcgaagcctg gTaaagctgt tggaatgagt atgtgattct tTTtaagtat 2040
 gaaaaataag atatatgtac agacttgtat tTTTtctctg gtggcattcc tTtaggaatg 2100
 ctgtgtgtct gtccggcacc ccggtaggcc tgattgggtt tctagtcctc cTtaaccact 2160
 tatctcccat atgagagtgt gaaaaatagg aacacgtgct ctacctccat ttagggattt 2220
 gcttgggata cagaagaggc catgtgtctc agagctgtta agggcttatt tTTTaaaac 2280
 attggagtca tagcatgtgt gTaaacttta aatatgcaaa Taaataagta tctatgtct 2339

5 <210> 3
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia Artificial

15 <400> 3
 20 tggatctgct gttgtccaa

20 <210> 4
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Secuencia Artificial

30 <400> 4
 22 ccagtcttga tcagctgcac at

35 <210> 5
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Secuencia Artificial

45 <400> 5
 34 aggtgttac tgcccacta ttatctggtt caga

<210> 6
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia Artificial

<400> 6
 22 tcatgtcaga gagagagctt gg

5 <210> 7
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Secuencia Artificial

 10 <400> 7
 20 cgtgcactcc tgttctgacc

 15 <210> 8
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Secuencia Artificial

 20 <400> 8
 20 aatggtcac ctcgaacacc

 25 <210> 9
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Secuencia Artificial

 30 <400> 9
 22 ctcgtaata caagcgaact cc

 35 <210> 10
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Secuencia Artificial

 40 <400> 10
 21 cctccacaca ctccagttag g

 45 <210> 11
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 50 <220>
 <223> Secuencia Artificial

 <400> 11
 20 tgatcagttg gtccttctcg

 55 <210> 12
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 60 <220>
 <223> Secuencia Artificial

 <400> 12
 20 gcatggctct cagattcacc

 65

ES 2 541 054 T3

5
<210> 13
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia Artificial

10
<400> 13
21 tcgaggaatg tgaggtattg g

15
<210> 14
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia Artificial

20
<400> 14
20 tcttctcat gctgttcagg

25
<210> 15
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia Artificial

30
<400> 15
21 tgtacacagt gtccaccaag g

REIVINDICACIONES

1. Método para la predicción *in vitro* de la supervivencia y/o el pronóstico metastásico de tumores estromales gastrointestinales (GIST), **caracterizado por que** comprende la medición del nivel, en una muestra biológica obtenida de un paciente de GIST, de un agrupamiento de polipéptidos o polinucleótidos que consiste en Aurora cinasa A (AURKA), en el que GIST se clasifica en un grupo con alto riesgo de desarrollar metástasis en 5 años, es decir, con un riesgo de desarrollar metástasis en 5 años de más del 80 %, cuando AURKA se regula por aumento en comparación con un grupo sin ningún riesgo de desarrollar metástasis en 5 años, en el que AURKA se regula por disminución e inferior a 9,13, donde 9,13 se calcula a partir de la expresión media de AURKA de muestras tumorales estratificadas.

2. Método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha medición del nivel del agrupamiento de polipéptidos es una medición del nivel de expresión de un agrupamiento de polinucleótidos que consiste en AURKA.

3. Método de acuerdo con una cualquiera de la reivindicación 1 a 2, que comprende el cálculo del Índice Genómico (IG), es decir, el número y tipo de alteraciones del genoma de GIST, de acuerdo con la fórmula como se indica a continuación:

$$IG = A^2 \times C,$$

en la que A es el número de alteraciones en el genoma de GIST y C es el número de cromosomas implicados en el GIST.

4. Método de acuerdo con la reivindicación 3, en el que GIST se clasifica en un grupo de supervivencia sin metástasis ni enfermedad cuando AURKA se regula por disminución y el IG es igual o inferior a 10.

5. Método de acuerdo con la reivindicación 3, en el que GIST se clasifica en un grupo con bajo riesgo de desarrollar metástasis en 5 años, es decir, con un riesgo de desarrollar metástasis en 5 años igual al 0 %, cuando la expresión de AURKA es igual o inferior a la media de expresión de AURKA y el IG es igual o inferior a 10, siendo dicha media la media de la expresión de AURKA en varios GIST.

6. Método de acuerdo con la reivindicación 3, en el que GIST se clasifica en un grupo con alto riesgo de desarrollar metástasis en 5 años, es decir, con un riesgo de desarrollar metástasis en 5 años de más del 75 %, cuando la expresión de AURKA es más de la media de la expresión de AURKA y el IG es más de 10, siendo dicha media la media de la expresión de AURKA en varios GIST.

a)

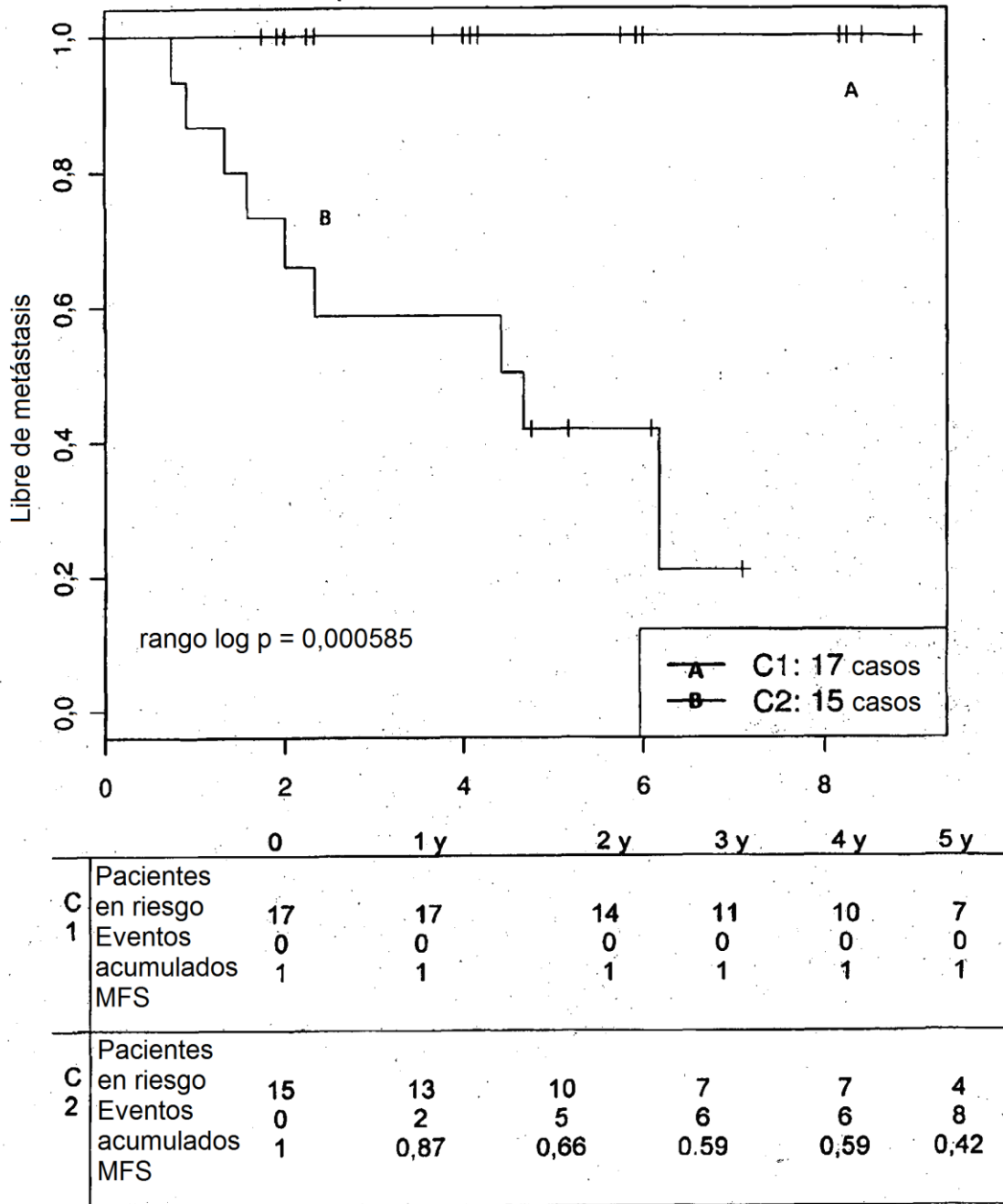
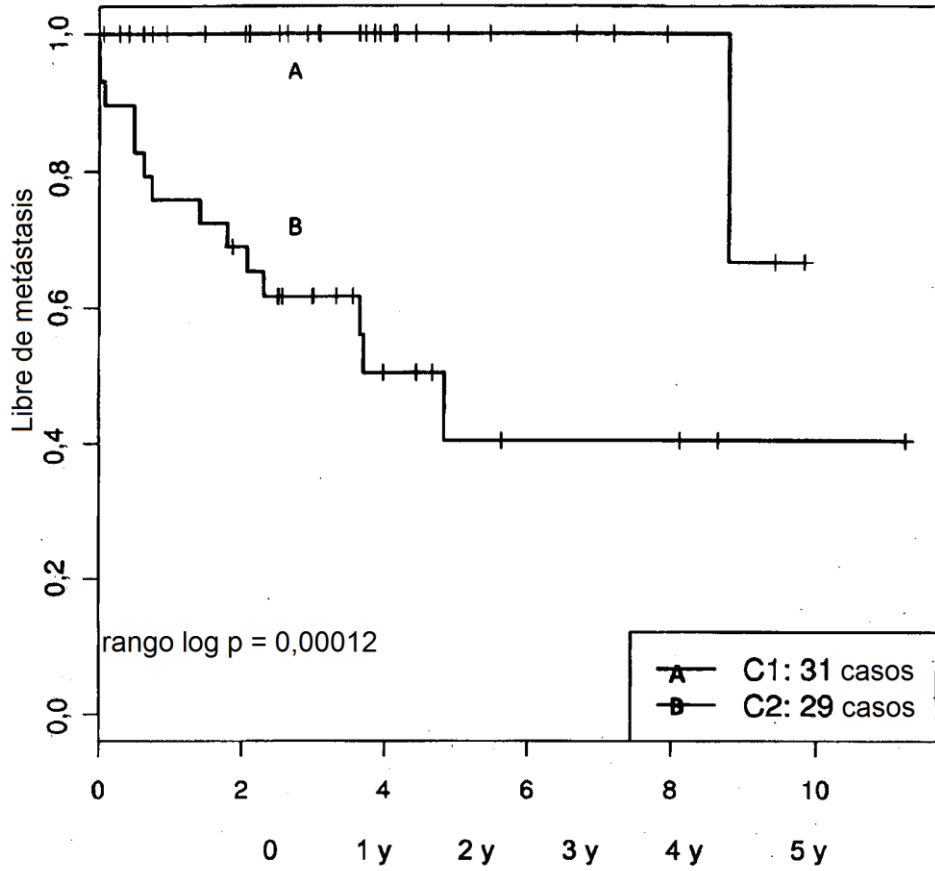


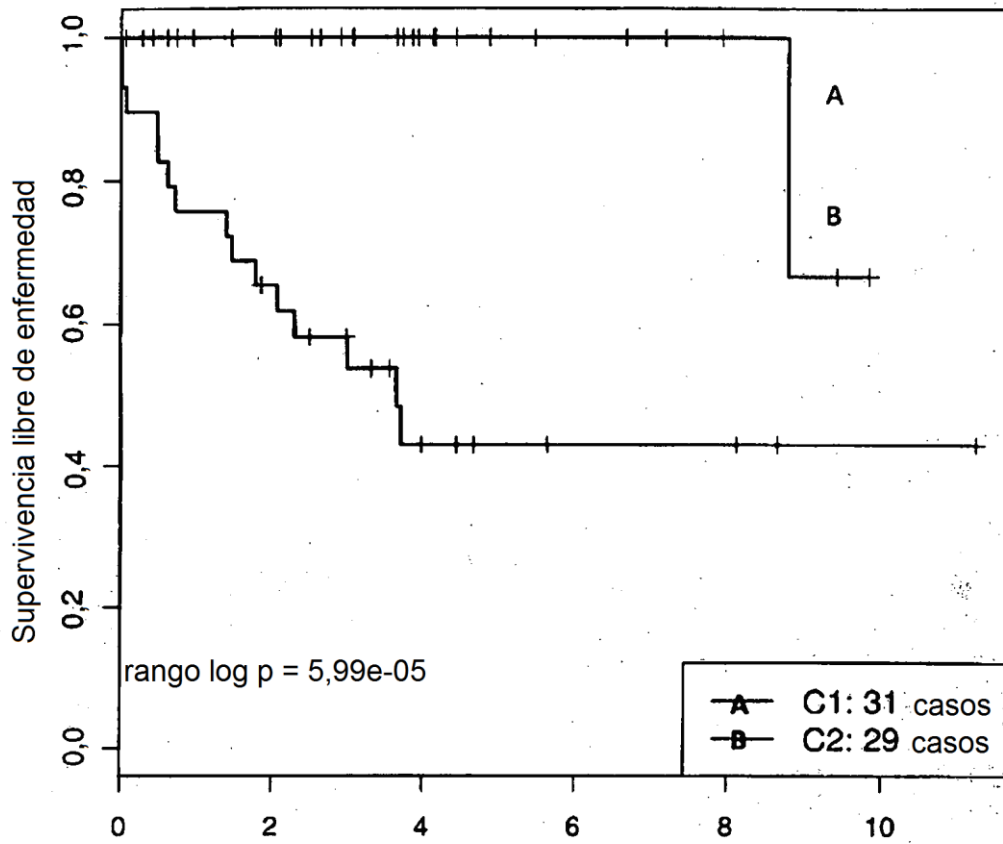
Figura 1 (parte 1)

b)



C1	Pacientes en riesgo						
	Eventos acumulados	31	25	24	17	11	7
	MFS	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	1	1	1
C2	Pacientes en riesgo	29	22	19	13	8	4
	Eventos acumulados	1	7	9	11	13	14
	MFS	0,97	0,76	0,69	0,62	0,50	0,40

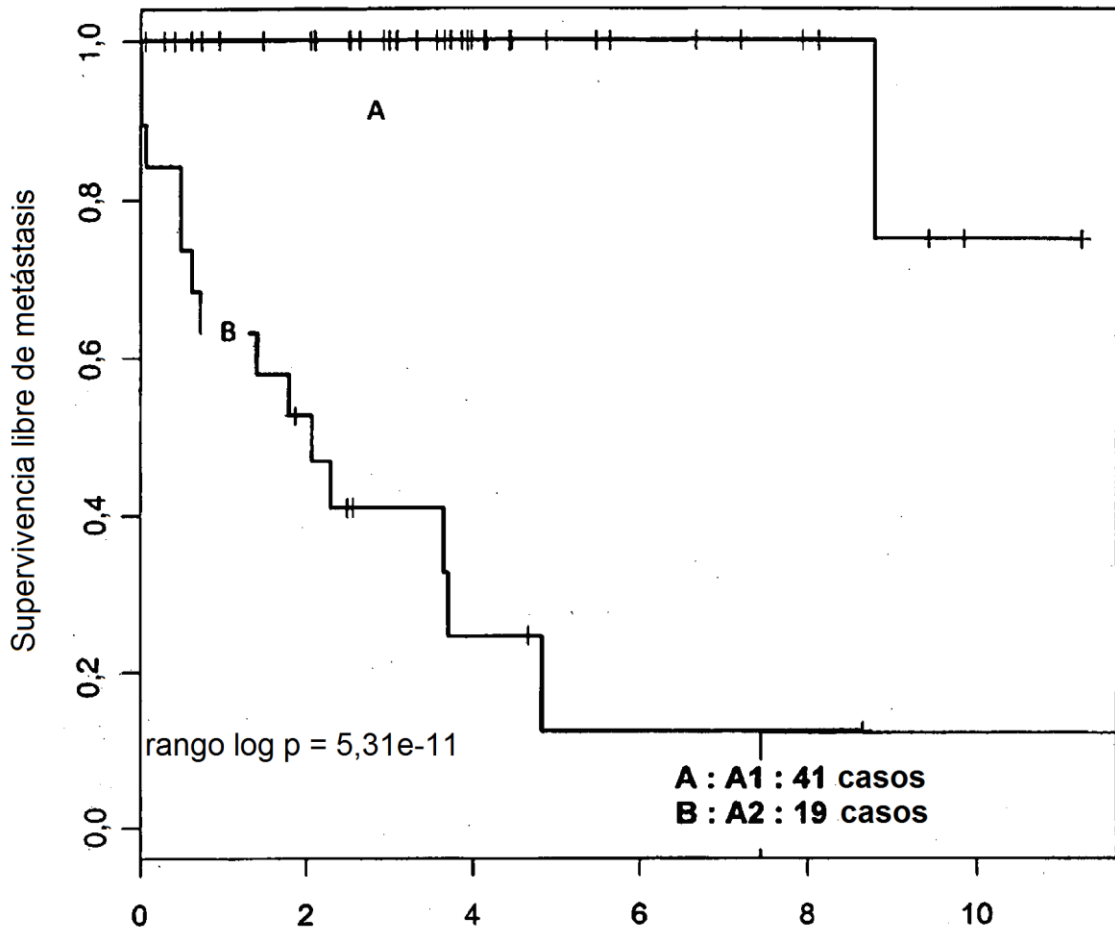
Figura 1 (parte 2)



	0	1y	2y	3y	4y	5y
Pacientes en riesgo	31	25	24	17	11	7
Eventos acumulados	0	0	0	0	0	0
DFS	1	1	1	1	1	1
Pacientes en riesgo	29	22	18	12	7	4
Eventos acumulados	1	7	10	13	15	15
DFS	0,97	0,76	0,66	0,54	0,43	0,43

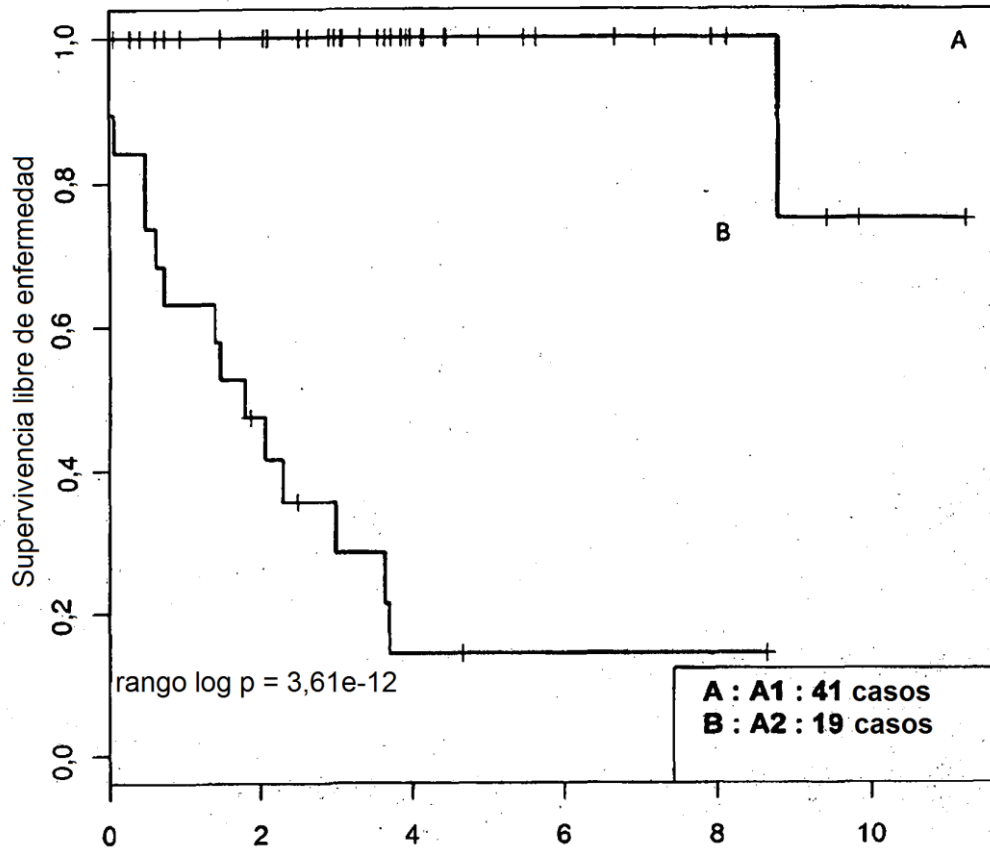
Figura 1 (parte 3)

a)



		0	1 y	2 y	3 y	4 y	5 y
A1	Pacientes en riesgo	41	35	34	25	16	10
	Eventos acumulados	0	0	0	0	0	0
	MFS	1	1	1	1	1	1
A2	Pacientes en riesgo	19	12	9	5	3	1
	Eventos acumulados	1	7	9	11	13	14
	MFS	0,95	0,63	0,53	0,41	0,24	0,12

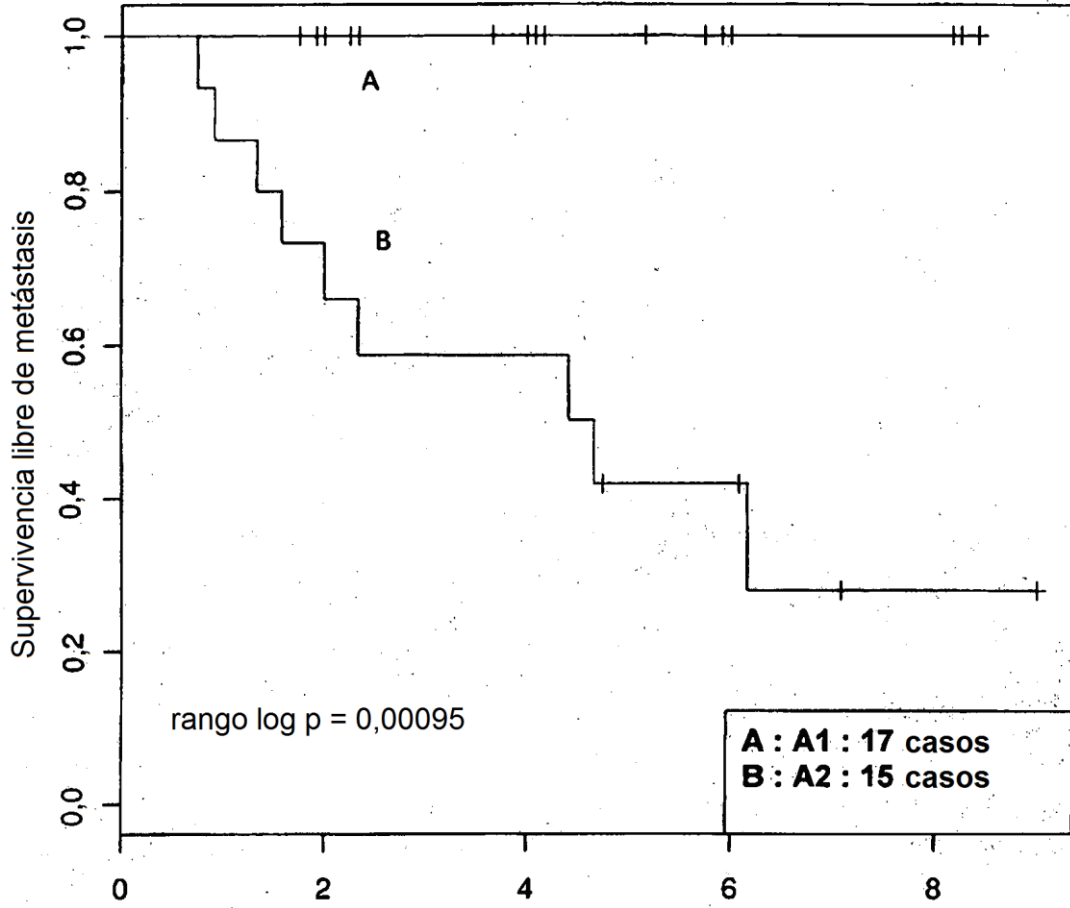
Figura 2 (parte 1)



	0	1y	2y	3y	4y	5y
A: Pacientes en riesgo	41	35	34	25	16	10
Eventos acumulados	0	0	0	0	0	0
DFS	1	1	1	1	1	1
B: Pacientes en riesgo	19	12	8	4	2	1
Eventos acumulados	1	7	10	13	15	15
DFS	0,95	0,63	0,47	0,28	0,14	0,14

Figura 2 (parte 2)

b)



	0	1 y	2 y	3 y	4 y	5 y
A1: Pacientes en riesgo	17	17	14	11	10	7
Eventos acumulados	0	0	0	0	0	0
MFS	1	1	1	1	1	1
A2: Pacientes en riesgo	15	13	10	7	7	4
Eventos acumulados	0	2	5	6	6	8
MFS	1	0,87	0,66	0,59	0,59	0,42

Figura 2 (parte 3)

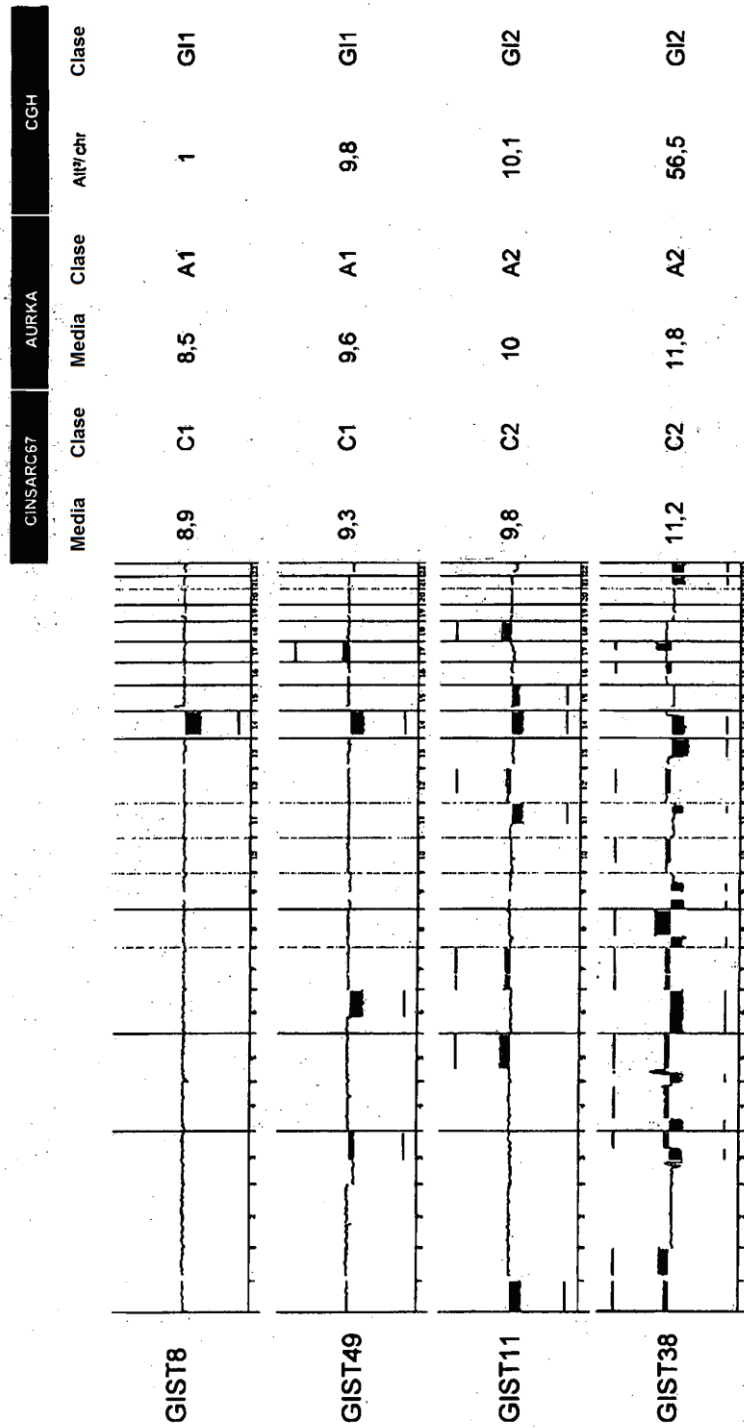
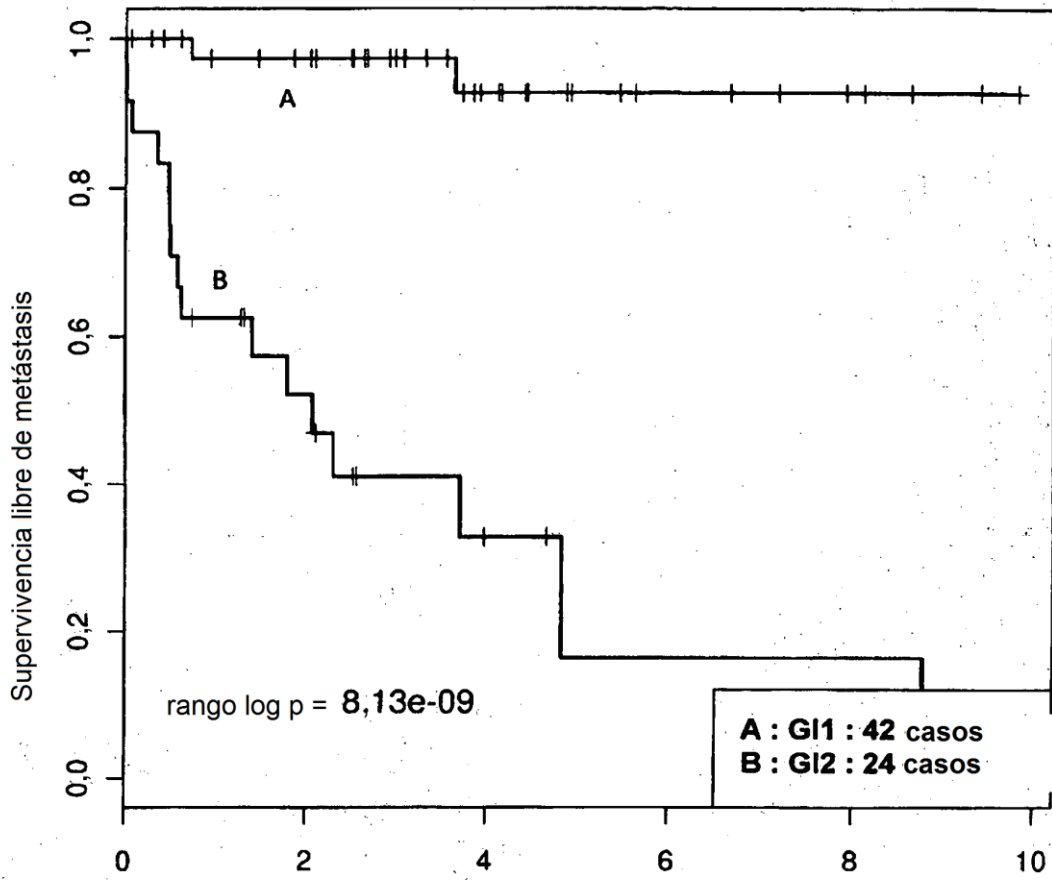


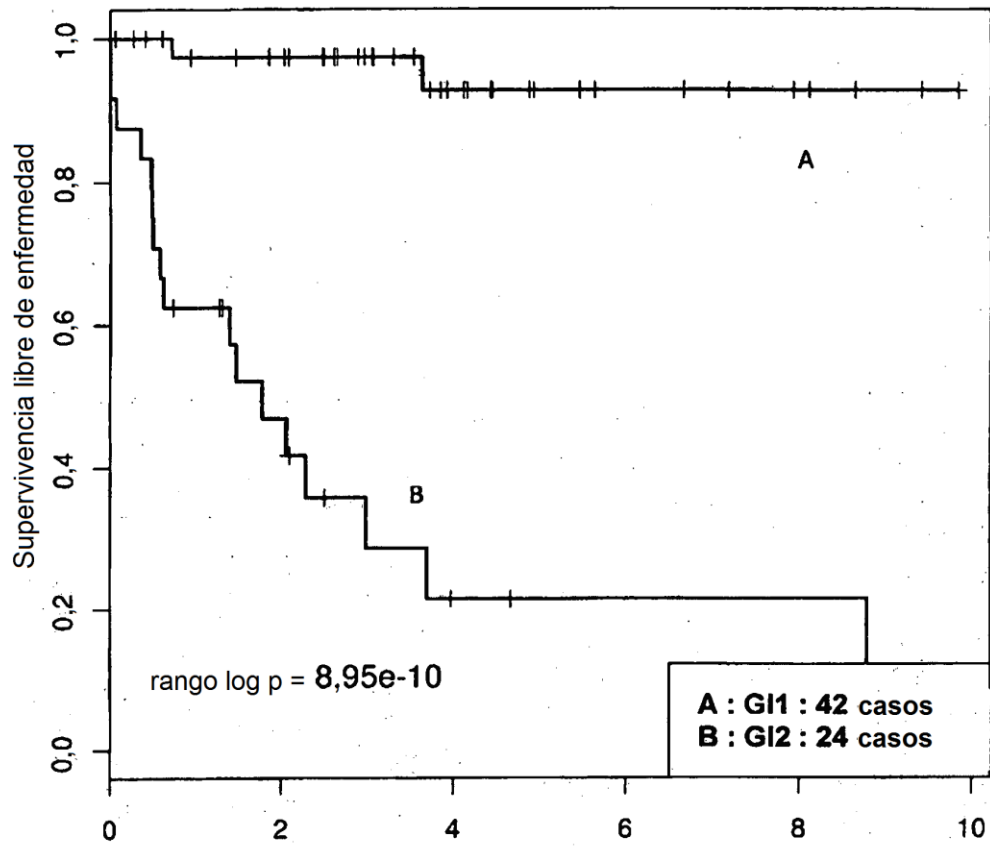
Figura 3

a)



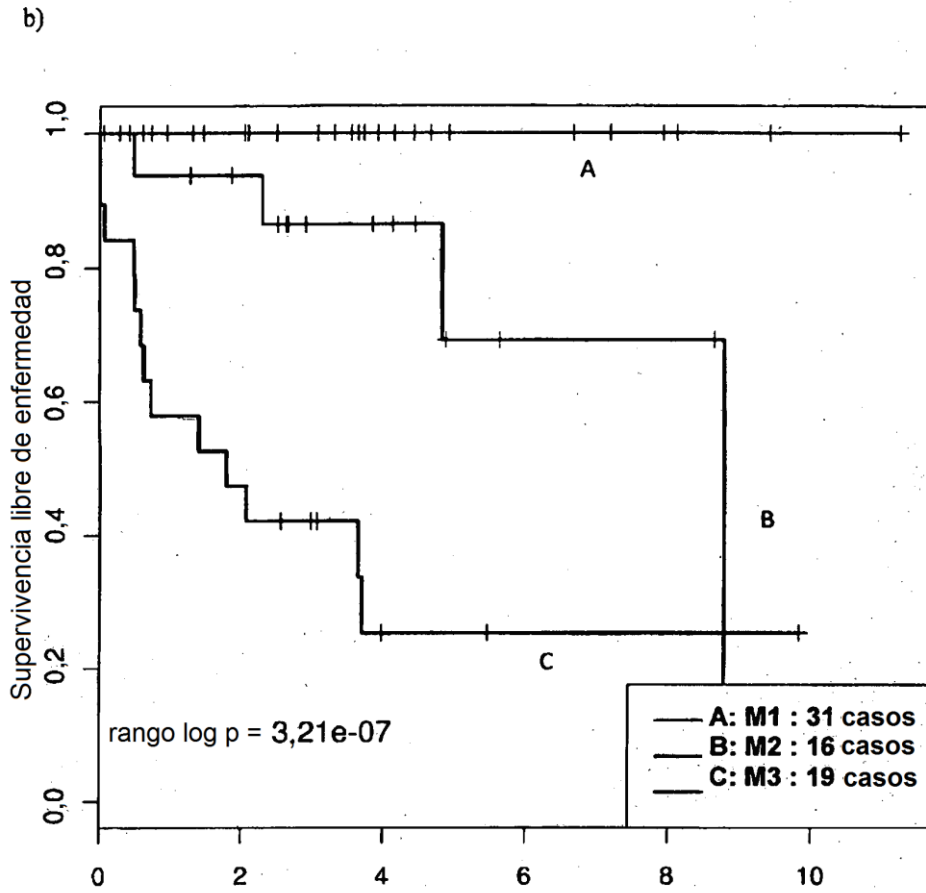
		0	1 y	2 y	3 y	4 y	5 y
GI 1	A: Pacientes en riesgo	42	36	34	25	16	9
	Eventos acumulados	0	1	1	1	2	2
	MFS	1	0,97	0,97	0,97	0,93	0,93
GI 2	B: Pacientes en riesgo	24	14	10	5	3	1
	Eventos acumulados	1	9	11	13	14	15
	MFS	0,96	0,63	0,52	0,41	0,33	0,16

Figura 4 (parte 1)



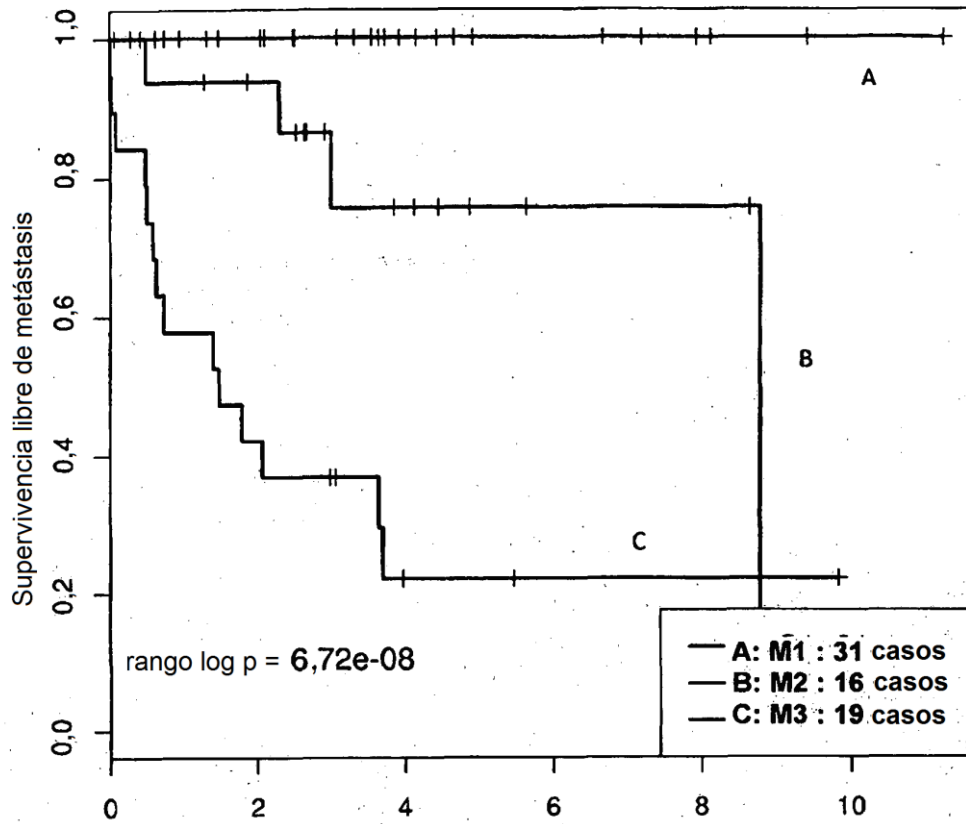
	0	1y	2y	3y	4y	5y
Pacientes en riesgo	42	36	34	25	16	9
Eventos acumulados	0	1	1	1	2	2
DFS	1	0,97	0,97	0,97	0,93	0,93
Pacientes en riesgo	24	14	9	4	2	1
Eventos acumulados	1	9	12	15	16	16
DFS	0,96	0,63	0,47	0,29	0,21	0,21

Figura 4 (parte 2)



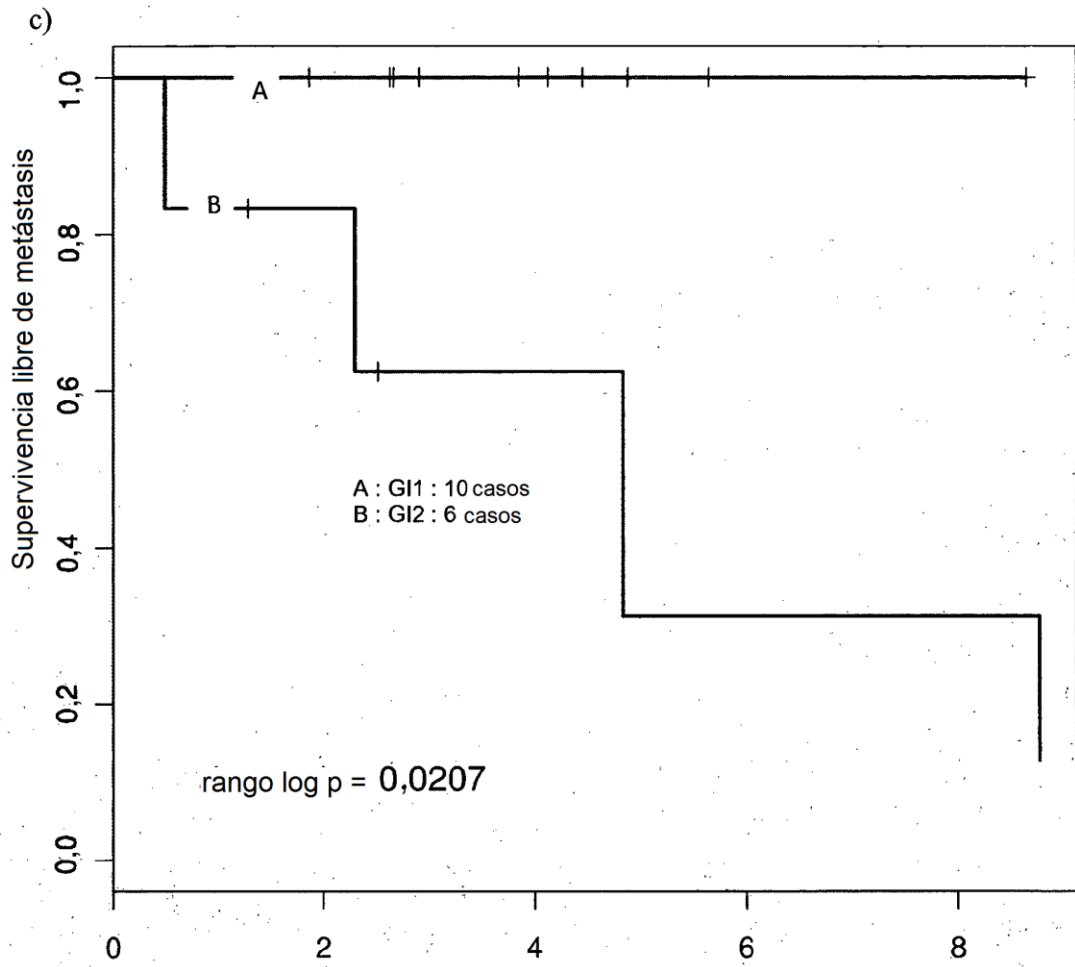
		0	1 y	2 y	3 y	4 y	5 y
M1	Pacientes en riesgo	31	25	23	17	11	6
	Eventos	0	0	0	0	0	0
	acumulados	1	1	1	1	1	1
	MFS						
M2	Pacientes en riesgo	16	15	13	8	7	3
	Eventos	0	1	1	2	2	3
	acumulados		0.94	0.94	0.87	0.87	0.69
	MFS	1					
M3	Pacientes en riesgo	19	11	9	6	2	2
	Eventos	1	8	10	11	13	13
	acumulados	0.95	0.58	0.47	0.42	0.25	0.25
	MFS						

Figura 4 (parte 3)



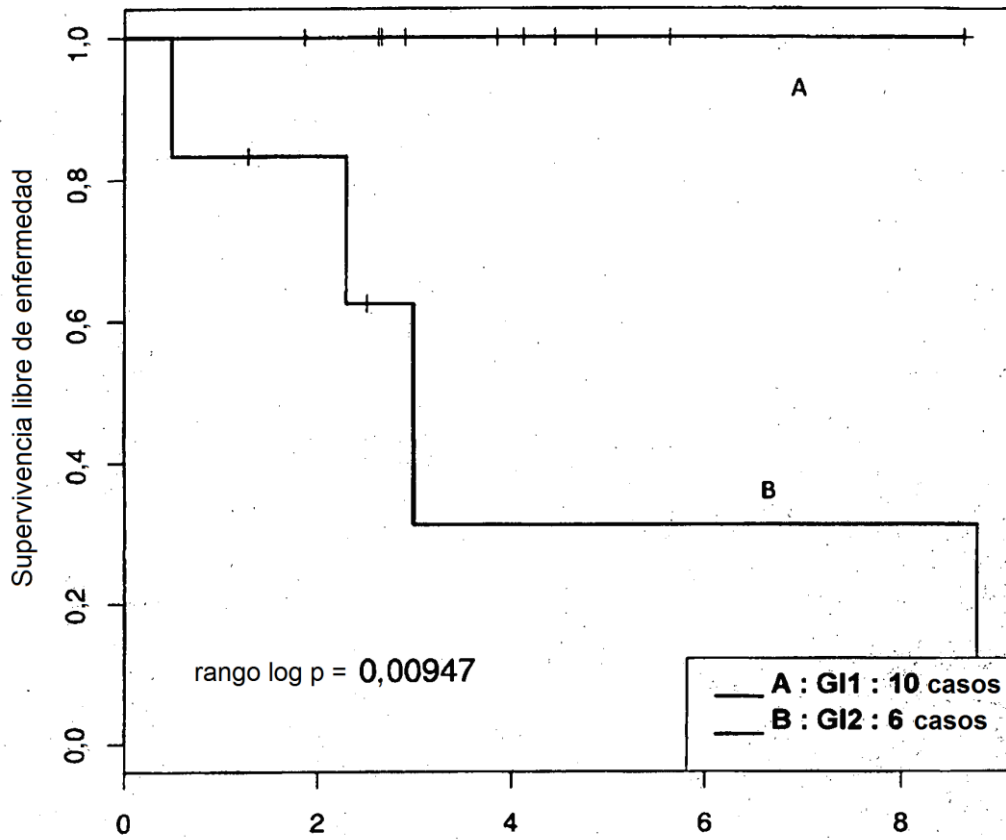
	0	1y	2y	3y	4y	5y
A: Pacientes en riesgo	31	25	23	17	11	6
Eventos acumulados	0	0	0	0	0	0
DFS	1	1	1	1	1	1
B: Pacientes en riesgo	16	15	13	7	6	3
Eventos acumulados	0	1	1	3	3	3
DFS	1	0,94	0,94	0,76	0,76	0,76
C: Pacientes en riesgo	19	11	8	6	2	2
Eventos acumulados	1	8	11	12	14	14
DFS	0,95	0,58	0,42	0,37	0,22	0,22

Figura 4 (parte 4)



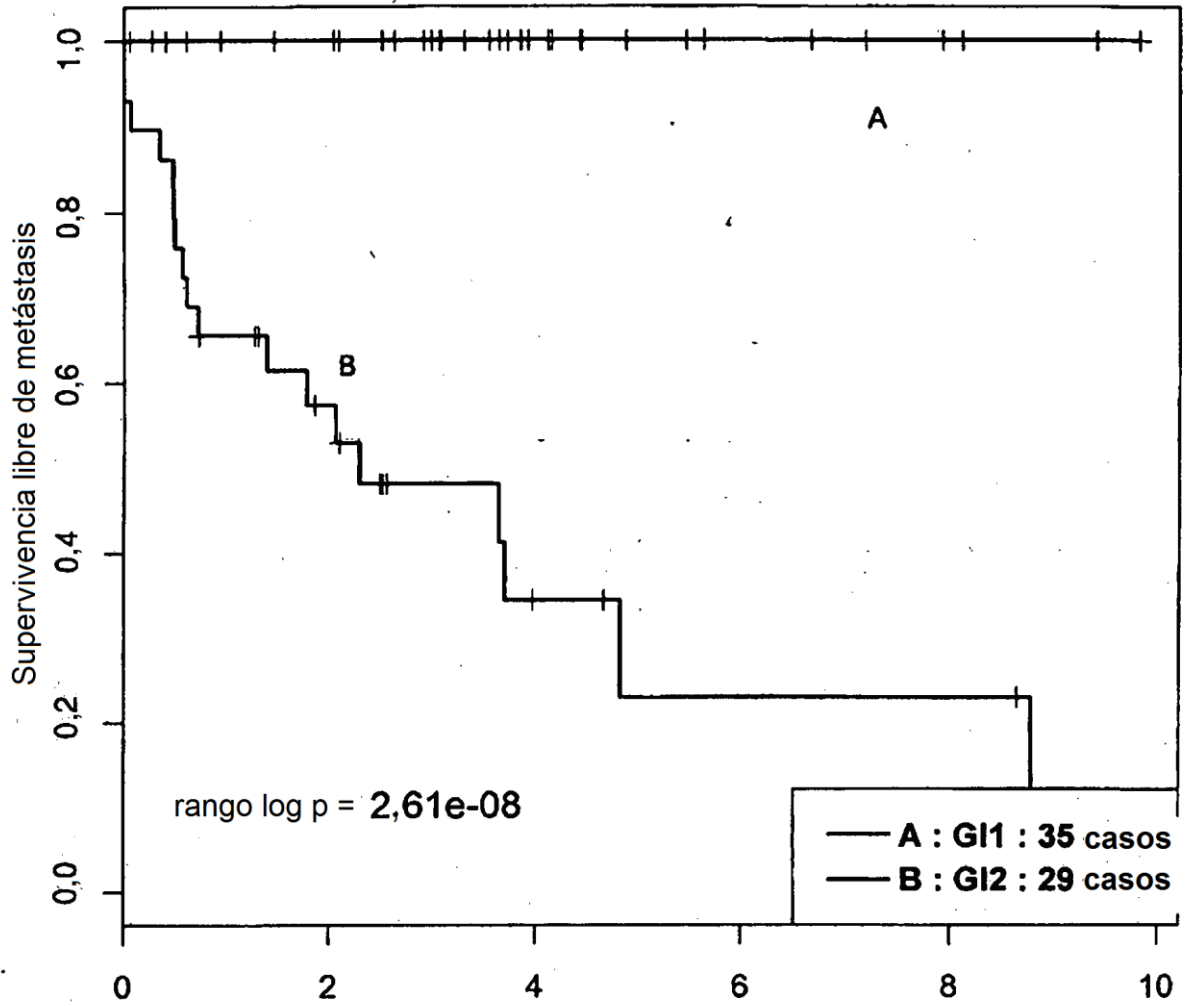
		0	1 y	2 y	3 y	4 y	5 y
GI1	Pacientes en riesgo	10	10	9	6	5	2
	Eventos acumulados	0	0	0	0	0	0
	MFS	1	1	1	1	1	1
GI2	Pacientes en riesgo	6	5	4	2	2	1
	Eventos acumulados	0	1	1	2	2	3
	MFS	1	0,83	0,83	0,63	0,63	0,31

Figura 4 (parte 5)



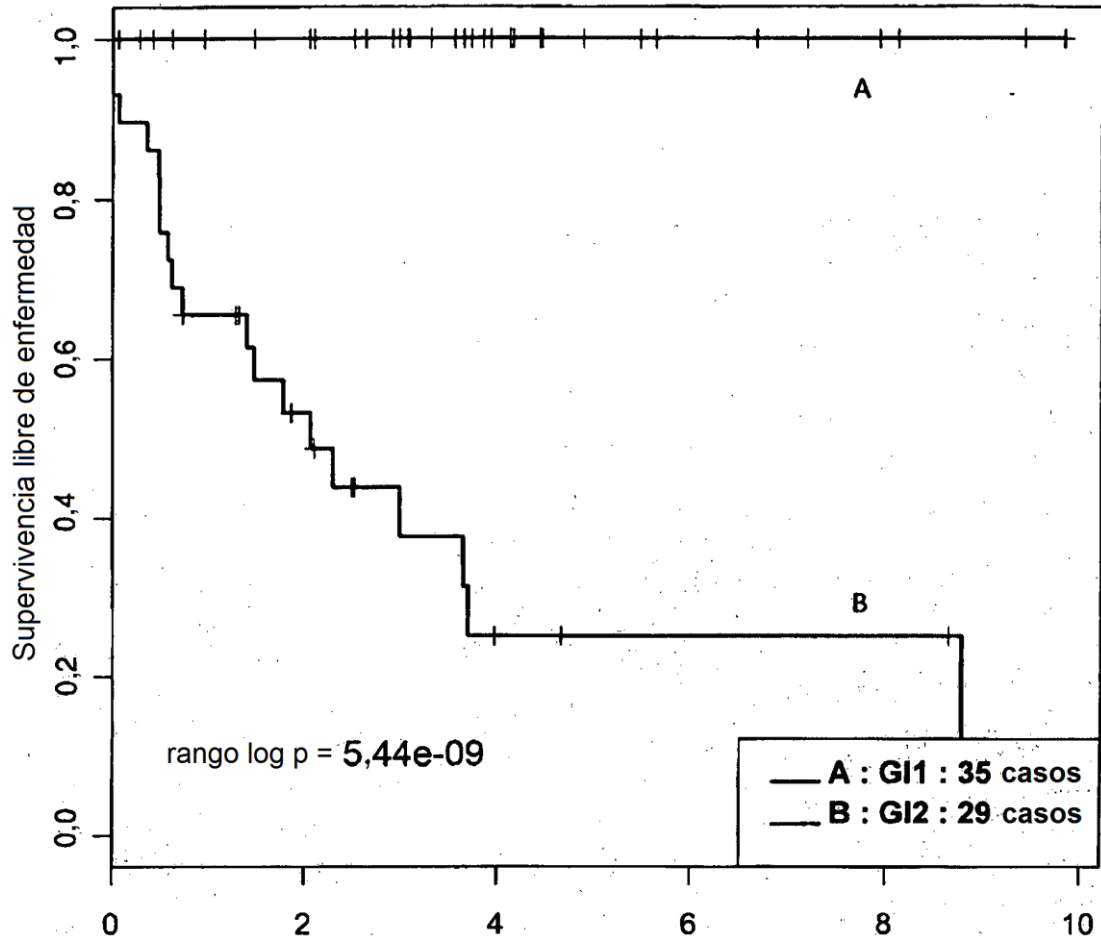
	0	1y	2y	3y	4y	5y
A: Pacientes en riesgo	10	10	9	6	5	2
Eventos acumulados	0	0	0	0	0	0
DFS	1	1	1	1	1	1
B: Pacientes en riesgo	6	5	4	1	1	1
Eventos acumulados	0	1	1	3	3	3
DFS	1	0,83	0,83	0,31	0,31	0,31

Figura 4 (parte 6)



		0	1 y	2 y	3 y	4 y	5 y
A G1	Pacientes en riesgo	35	30	29	22	14	8
	Eventos acumulados	0	0	0	0	0	0
	MFS	1	1	1	1	1	1
A G2	Pacientes en riesgo	29	18	13	7	4	2
	Eventos acumulados	1	10	12	14	16	17
	MFS	0,97	0,66	0,57	0,48	0,34	0,23

Figura 5 (parte 1)



	0	1y	2y	3y	4y	5y
A: Pacientes en riesgo	35	30	29	22	14	8
Eventos acumulados DFS	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	1	1
B: Pacientes en riesgo	29	18	12	6	3	2
Eventos acumulados DFS	1	10	13	16	18	18
	0,97	0,66	0,53	0,38	0,25	0,25

Figura 5 (parte 2)

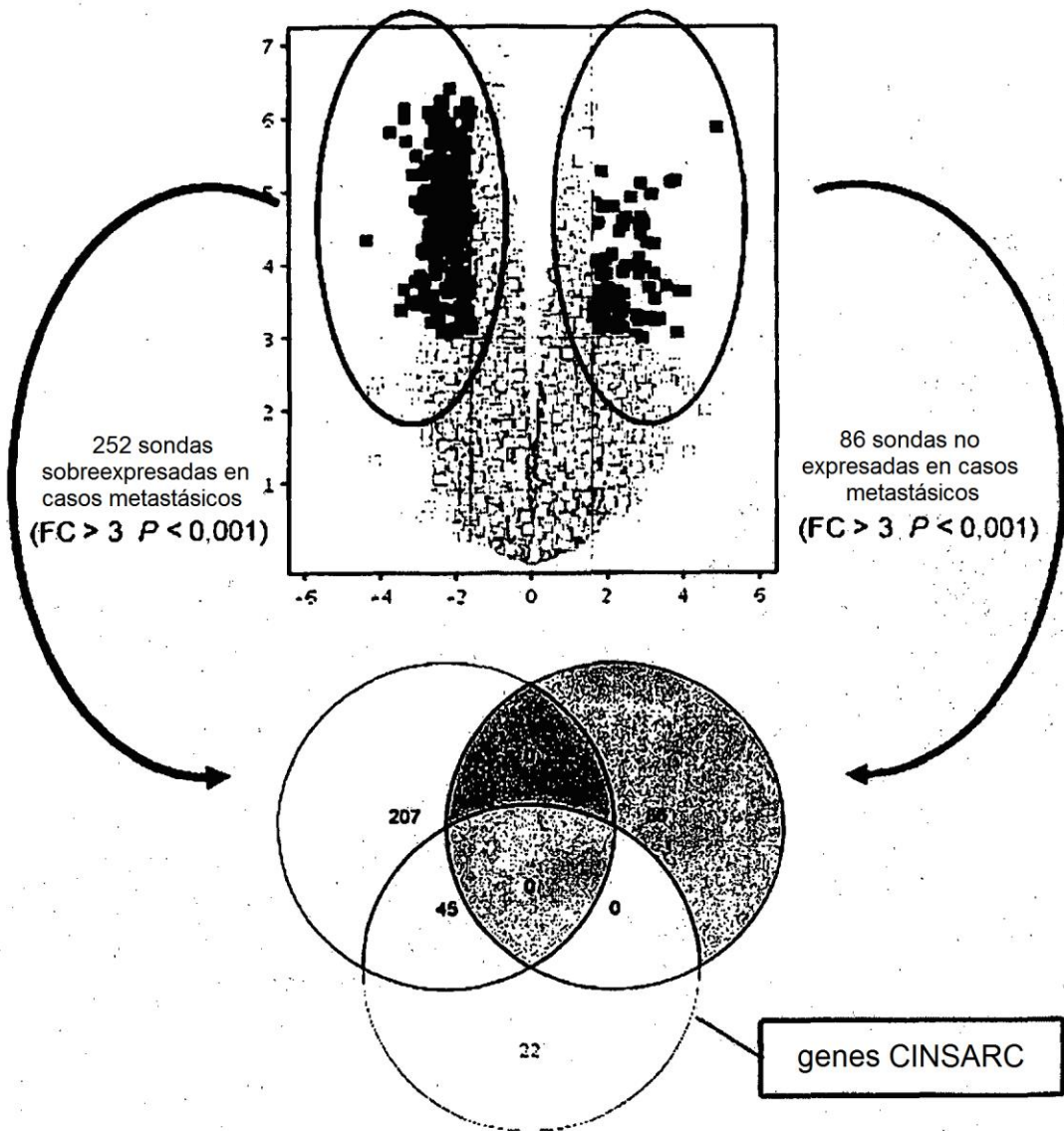


Figura 6

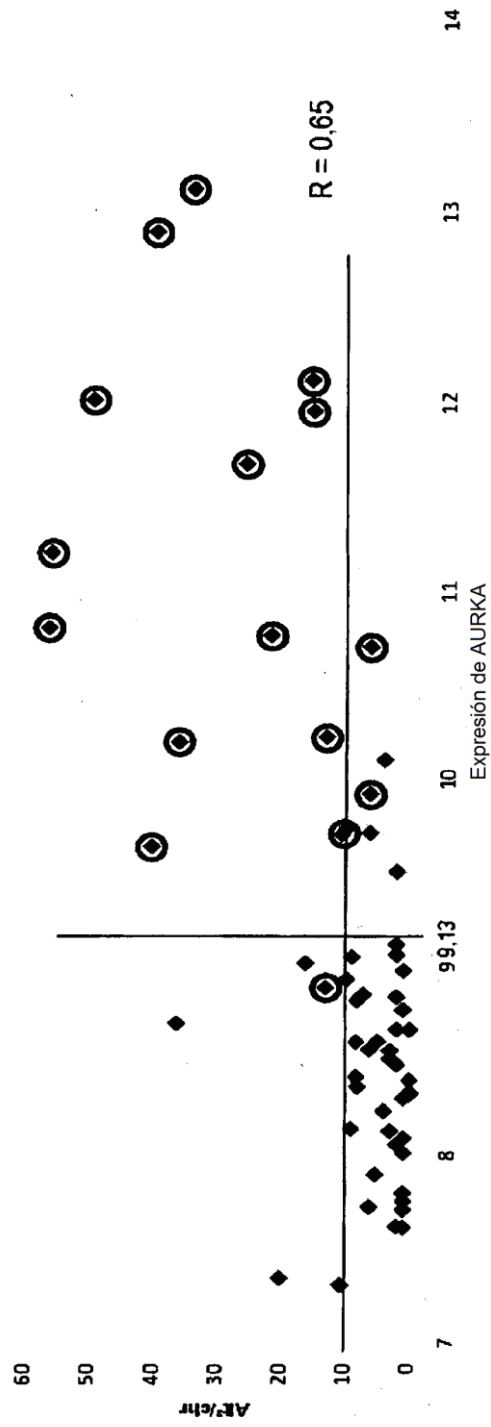


Figura 7

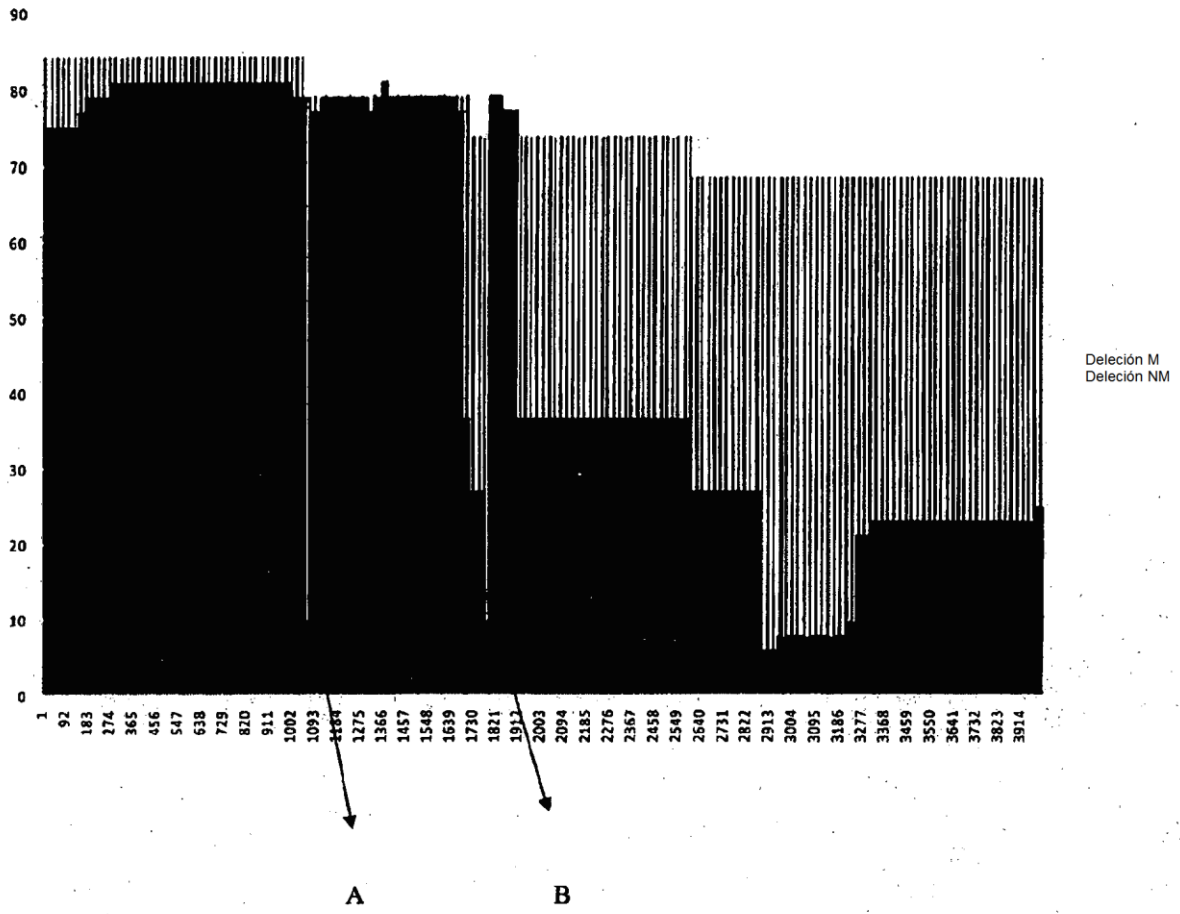


Figura 8 (parte 1)

A :

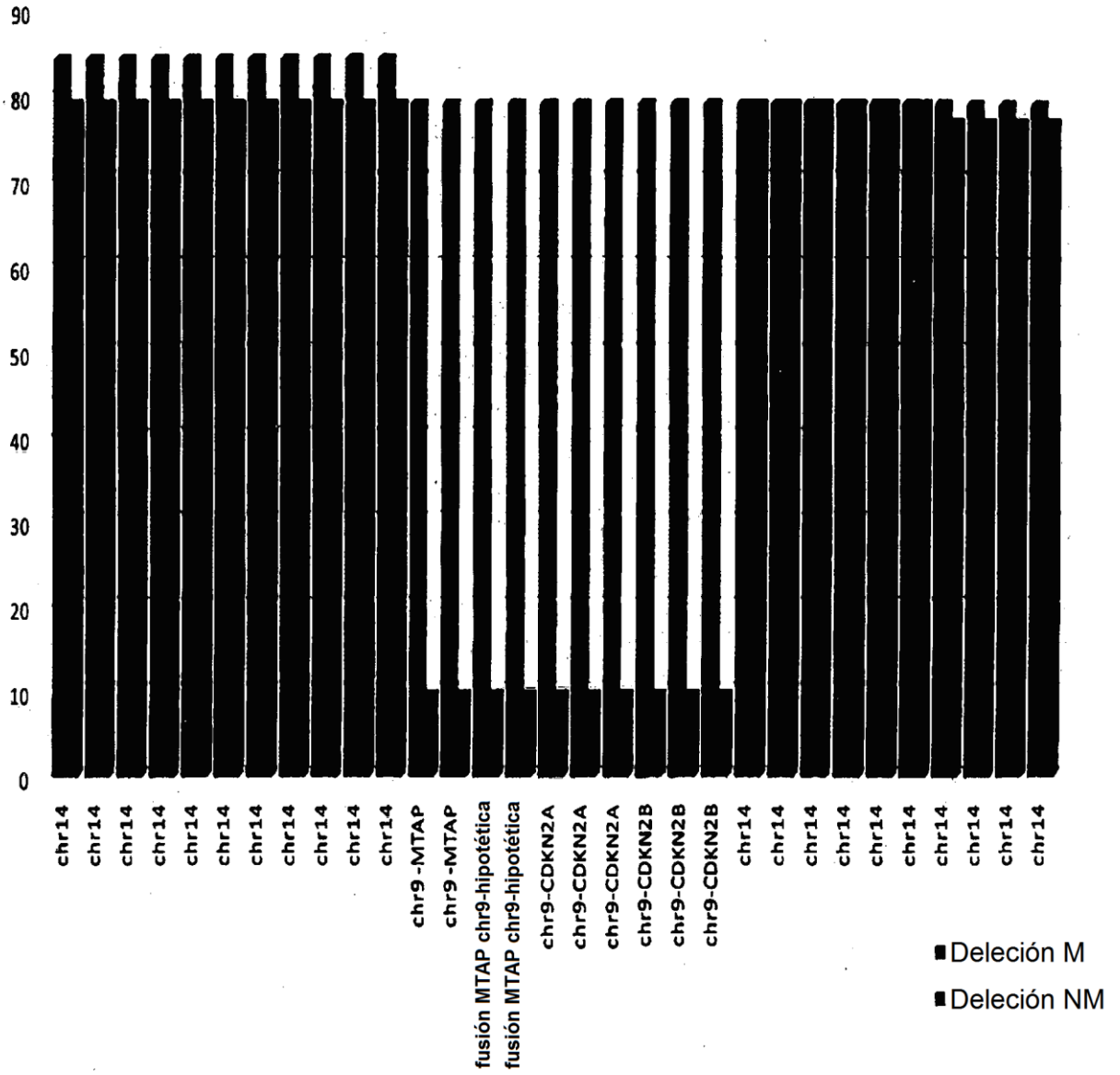


Figura 8 (parte 2)

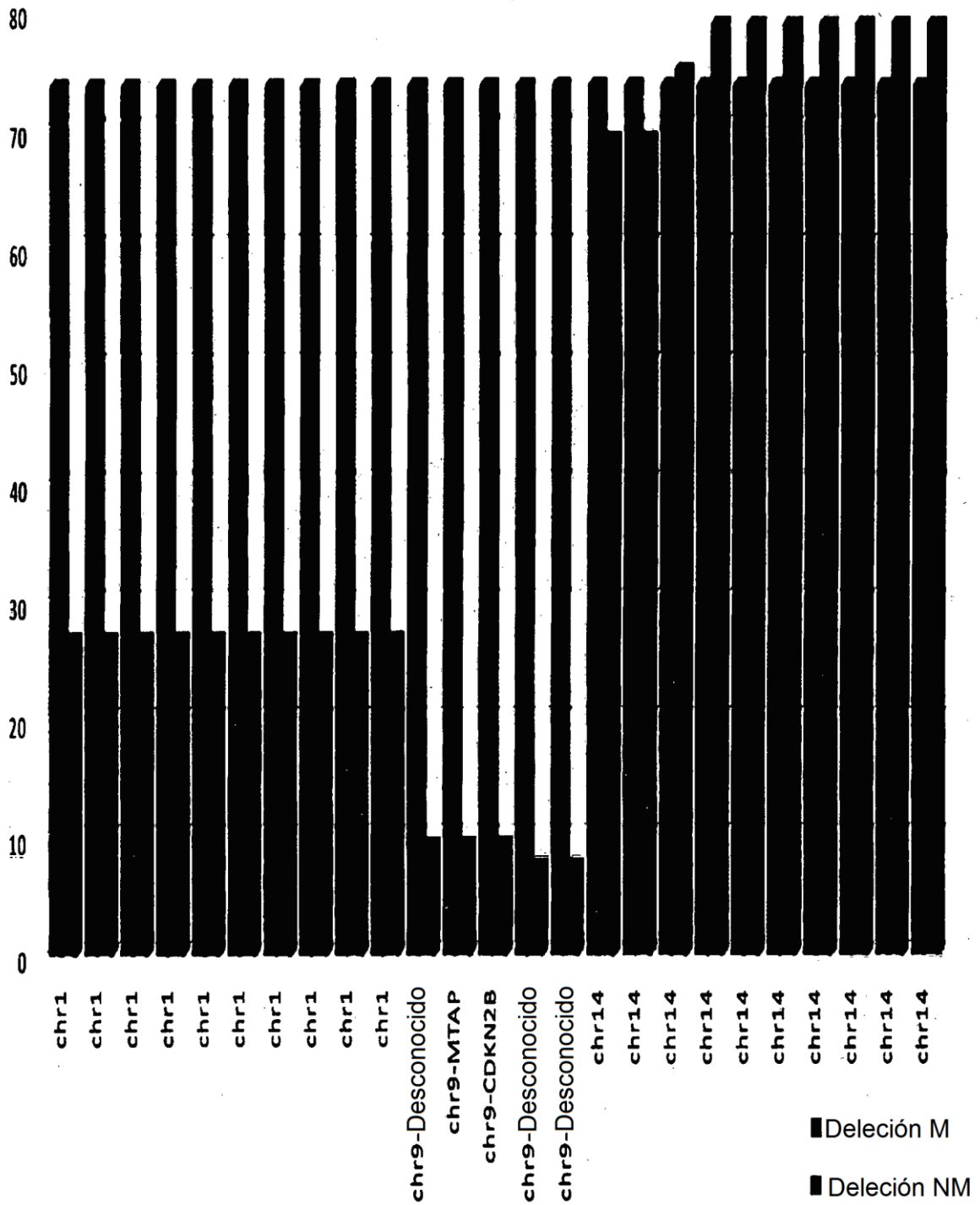


Figura 8 (parte 3)

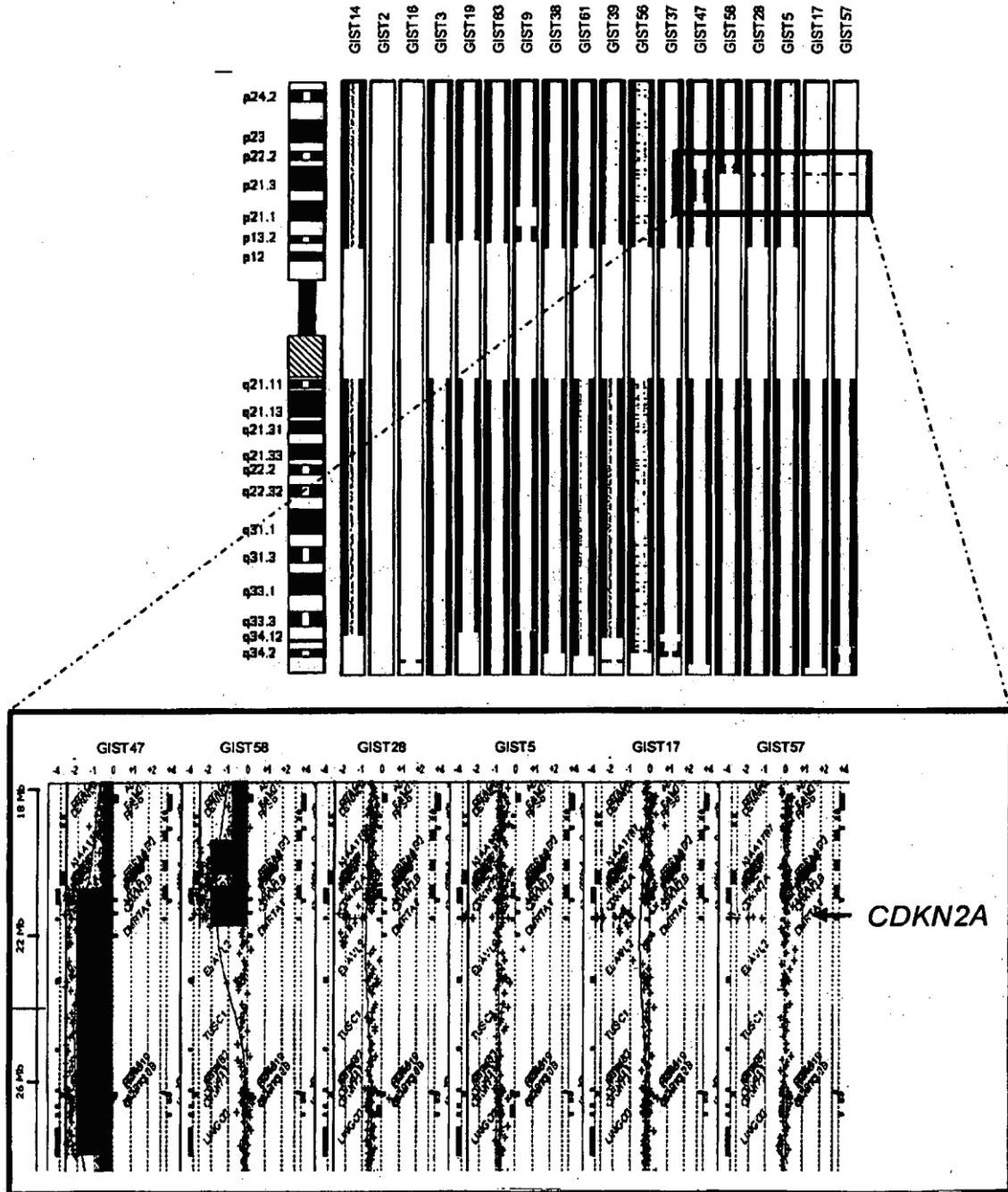


Figura 9

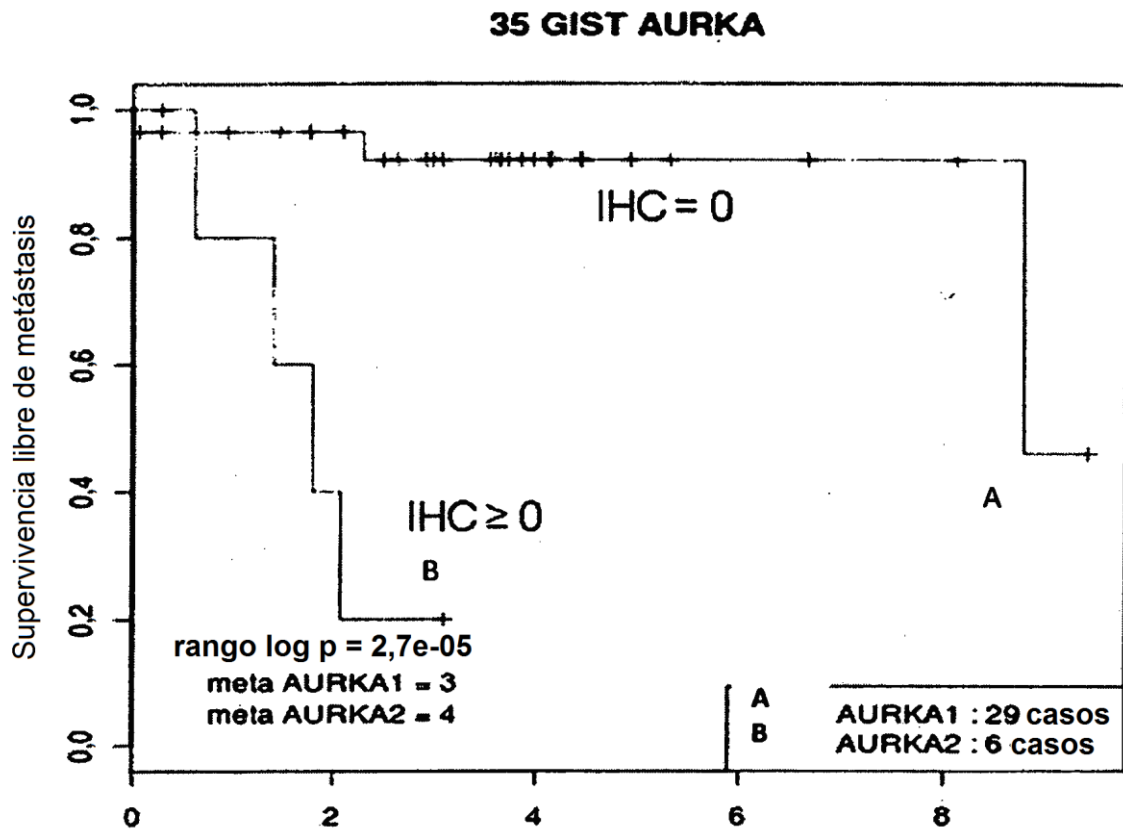


Figura 10