

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

**Desarrollo de una clasificación molecular de tumores  
neuroendocrinos de diferentes orígenes mediante modelos de  
integración multi-ómica. Los nuevos subtipos  
neuroendocrinos y su relevancia clínica**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**Carlos Carretero Puche**

**Directoras**

**Rocío García Carbonero  
Beatriz Soldevilla Navarro**

**Madrid**

Universidad Complutense de Madrid  
**FACULTAD DE MEDICINA**



## **TESIS DOCTORAL**

DESARROLLO DE UNA CLASIFICACIÓN MOLECULAR DE TUMORES  
NEUROENDOCRINOS DE DIFERENTES ORÍGENES MEDIANTE MODELOS DE  
INTEGRACIÓN MULTI-ÓMICA. LOS NUEVOS SUBTIPOS NEUROENDOCRINOS  
Y SU RELEVANCIA CLÍNICA.

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

CARLOS CARRETERO PUCHE

DIRECTORAS

ROCÍO GARCÍA CARBONERO

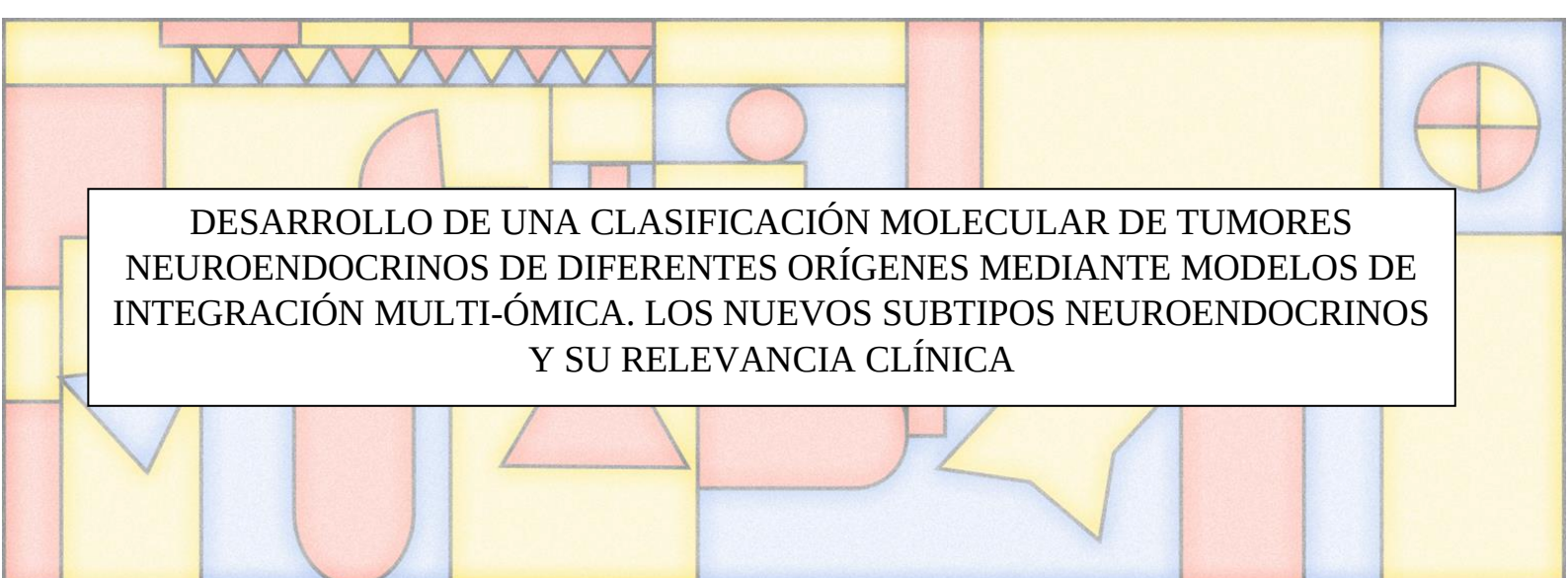
BEATRIZ SOLDEVILLA NAVARRO



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

FACULTAD DE MEDICINA

**PROGRAMA DOCTORADO EN BIOQUÍMICA, BIOLOGÍA  
MOLECULAR Y BIOMEDICINA**



**DESARROLLO DE UNA CLASIFICACIÓN MOLECULAR DE TUMORES  
NEUROENDOCRINOS DE DIFERENTES ORÍGENES MEDIANTE MODELOS DE  
INTEGRACIÓN MULTI-ÓMICA. LOS NUEVOS SUBTIPOS NEUROENDOCRINOS  
Y SU RELEVANCIA CLÍNICA**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN HOSPITAL 12 DE OCTUBRE  
CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES ONCOLÓGICAS**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR PRESENTADA POR:

**CARLOS CARRETERO PUCHE**

DIRECTORAS:

**ROCÍO GARCÍA CARBONERO**

**BEATRIZ SOLDEVILLA NAVARRO**



# 1 AGRADECIMIENTOS

---

*Con el presente trabajo cumplo el propósito de convertirme en investigador, algo con lo que soñaba en mi etapa en el instituto. Siempre me he considerado una persona con mucha curiosidad, pero si intento recordar cuál fue el momento en el que me empezó a interesar la biología, podría decir que prácticamente desde siempre. Desde que de niño veía con mi madre aquellos documentales, mientras ella preparaba sus clases de Biología, sentí fascinación por el conocimiento que el ser humano ha ido adquiriendo sobre sí mismo, y por todo aquello que aún queda por descubrir.*

*Me gustaría agradecer a la Dra. Rocío García Carbonero, mi directora de tesis, la oportunidad que me ha brindado para llegar a cumplir aquel sueño de adolescente. En primer lugar, gracias por confiar en mí, por tu paciencia cuando las cosas no salían como se esperaba, y por tu reconocimiento cuando los resultados han ido llegando con el tiempo. Durante estos años, me has enseñado a no perder el foco del porqué de nuestro trabajo y de tener esa perspectiva clínica en todo momento. Me parece muy loable que, a pesar de tu trabajo como oncóloga y de todas las obligaciones que consumen prácticamente todo tu tiempo, hayas decidido aportar tu granito de arena para intentar mejorar la calidad de vida de los pacientes montando este grupo de investigación. Por ello, tienes y tendrás toda mi admiración. Gracias por buscar siempre un hueco para guiarnos y ofrecer tu punto de vista. Gracias por el gran esfuerzo que realizas para poder darnos las herramientas que necesitamos en nuestro trabajo.*

*La otra “culpable” de que este trabajo haya salido adelante es la Dra. Beatriz Soldevilla Navarro, mi segunda directora de tesis. Sin lugar a duda, ella es el motor del laboratorio, el engranaje central que permite su funcionamiento. Creo que uno de los retos más difíciles que he tenido en mi vida ha sido ganarme tu confianza y, con ello, conseguir ganarme por fin la mía propia. Una gran dosis de la madurez, tanto científica como personal, que he ido adquiriendo durante todos estos años ha sido gracias a ti, lo que te convierte en parte, no solo de los éxitos conseguidos, sino también de los que aún queden por venir.*

*Hay otra persona a la que tengo mucho que agradecer porque su contribución ha sido fundamental para poder llegar hasta aquí, la Dra. Fátima Al-Shahrour. Fátima es la persona que ha orientado mi rumbo, la primera que vio en mí la capacidad real de hacer aportaciones al mundo de la ciencia. Gracias por tu generosidad, por tu ayuda, consejo y, sobre todo, por abrir el camino cuando la maleza era tan alta que ya no podía dar prácticamente ningún paso hacia delante.*

*También me gustaría agradecer a La universidad Complutense de Madrid y al programa de doctorado de bioquímica, biología molecular y biomedicina por aceptarme como estudiante de doctorado y al Instituto de Investigación 12 de Octubre y al Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas y a todos sus trabajadores que han hecho posible que haya llevado mi trabajo durante todo este tiempo.*

*Para llevar a cabo esta tesis doctoral ha sido necesario el trabajo de muchísima gente, de personas que no conozco, y que me han brindado la posibilidad de tener la inmensa cantidad de datos con los que se ha realizado el estudio; a los que por supuesto también doy las gracias. Importantísima ha sido la labor de Bea Gil, encargada de extraer el material biológico de todos los tumores; así como la de otros compañeros, aunque quedan pocos de aquellos comienzos, hace ya seis años. Bea, siempre tienes una buena frase y una sonrisa que hace alegrar a los demás. Muchas gracias por toda la ayuda prestada cuando aún no había abandonado las pipetas. No puedo olvidarme de Beatriz Antón, que ha dedicado horas y horas para completar la base de datos clínica, cuya dedicación y capacidad de sacrificio están fuera de toda duda. Además de una magnífica oncóloga es una persona excepcional y, tanto sus amigos como sus pacientes, tenemos mucha suerte de habérsela cruzado en nuestra vida. En ese tedioso trabajo*

*de recopilar la información clínica han participado la Dra. Anna La Salvia y la Dra. Paula Espinosa. Paula, ha sido un placer trabajar contigo, creo que vales mucho y que lo demostrarás en Valencia o allá donde vayas. En este proyecto han colaborado miembros del departamento de patología del Hospital 12 de Octubre, entre los que se encuentran Ana Teijo y Yolanda Rodríguez, parte fundamental del equipo. Tengo que dar también las gracias a los oncólogos y patólogos de otros hospitales que nos han proporcionado muestras, entre los que están Marta Benanavet y Lourdes Gómez Izquierdo del Hospital Virgen del Rocío de Sevilla, Paula Jiménez Fonseca del Hospital Universitario Central de Asturias y otros profesionales.*

*Son muchas las personas que me ha acompañado durante esta aventura y que me han ayudado, de una u otra manera, a llegar hasta el final. Por empezar desde el principio, me gustaría dar las gracias a todos aquellos que apoyaron y ayudaron a ese chico perdido que, en Febrero de 2017, iniciaba su primer trabajo en el Hospital 12 de Octubre. Mención especial para Cristina, mi primera compañera, que me ayudó todo lo que pudo, dejando lo que tuviera que hacer cuando yo tenía algún problema; igualmente para Geno, que se convirtió en mi hermana pequeña del laboratorio. También para María y Pablo, que fueron un apoyo muy importante para mí en aquellos primeros meses, y probablemente ni se imaginan cuánto. Por supuesto, a mi querida tecntriz Rocío y sus cristales de Swarovski; a Javier Ramos, una de las personas más nobles que he conocido; a Ángela, que siempre irradia felicidad, excepto cuando unos piratas informáticos le secuestran la tesis; a Irene, con quien tuve conversaciones que han marcado un antes y un después; así como a David, el único bioinformático que conocía en el 12, y que me echó una mano en los primeros meses, cuando no sabía ni lo que era “R”.*

*Durante todos estos años ha ido llegando gente maravillosa al equipo, a la que admiro y siempre guardaré un enorme cariño. Como Alberto, una mente privilegiada y magnífica persona, con quien compartir habitación es muy divertido, ya que te monta espectáculos hasta dormido; o Bea Rubio, una gran compañera que siempre está buscando la forma de ayudar y entretener a los demás, ya sea con falcons o con monedas de oro. No puedo dejar de nombrar a Jacinto, entrañable y querido por todo el mundo, a quien has de acudir si te sientes deprimido; que junto a la ya nombrada Bea Gil, a Patri, y en su momento Laura, hacen posible que nuestras tesis doctorales duren menos de veinte años. También me gustaría agradecer a Dani el trabajo que hace para ayudarnos con todo el papeleo, y por ser el gran tipo que es. Recordar aquí a Raúl, que dejó esa chispa suya durante el tiempo que pasó con nosotros, y a David, del que he aprendido su capacidad de superación y de adaptación a lo que la vida te ponga por delante. Por último, mencionar a quienes se incorporaron después, Arantza y las Marías, con las que ha sido un placer trabajar durante estos meses.*

*Es mucha la gente del hermano grupo de Pulmón con la que he vivido bonitos momentos a lo largo de estos años de doctorado. También serán inolvidables muchas vivencias compartidas con quienes todavía están o han estado en el CNIO, como Álvaro, Laura, Patri, Ali o Alba; y en el 12 de Octubre, como Juanma, Jose, María, Nuria, Ángel, Eva, Álvaro, Rober o Raquel, entre otros. Gracias de corazón por todos esos momentos.*

*No hubiera sido capaz de realizar esta tesis sin todo lo que me han enseñado mis compañeros de la Unidad de Bioinformática del CNIO. Me acogieron para una formación de dos meses, pero se ha acabado convirtiendo en una de seis años. Gracias otra vez a Fátima, por darme la oportunidad de formarme, tanto en lo profesional, como en lo personal, junto a todas las personas que han sido o aún son parte de esa fantástica unidad; y a Gonzalo, por su ayuda durante estos años, por todos sus consejos, su apoyo y los piropos hacia mi flequillo. Me gustaría continuar estos agradecimientos recordando a Guillermo, con quien comencé mi formación como bioinformático tanto en el CNIO como en el máster, y al que siempre llevaré en mi corazón. Junto a él, quiero agradecer al resto de miembros del Consiglio ilustrísimo. Al señor diputado*

*Héctor Tejero Franco, del que aprendí mucho los dos días que tuvo tiempo para contestar a mis preguntas; a Diana, simplemente una persona fantástica, que contagia su motivación y energía; a Coral, con la que me encantaba hablar de ciencia y que adoraba mis chistes; a Laura, que probablemente adoraba mis chistes aún más que Coral, a la que siempre guardaré un cariño especial; y a Piti, una chica brillante, que debería tener claro que vale su peso en oro. Sin duda, la llegada de Tomás a la unidad ha hecho que todos, incluido yo, demos un paso adelante como profesionales. Me gustaría agradecer de forma especial tu paciencia infinita, tanto conmigo como con mi gafe informático. También a Santi, un cerebro privilegiado y compañero espectacular, que me ha ayudado una barbaridad, tanto en lo personal como en lo laboral. Mención especial para Dani, dispuesto a ayudar a todo el mundo, probablemente una de las mejores personas que he conocido, y uno de los buenos amigos que me llevo de aquí. Qué decir de Elena, pieza fundamental para la unidad, que no duda en dedicar el tiempo que haga falta para colaborar y apoyarte. Gracias por enseñarme todo lo que sé de genómica junto a Osvaldo, con quien aprendí a analizar datos de transcriptómica. Otras personas que no han dudado en echarme una mano siempre que lo he necesitado han sido Kevin, Javier, Gabriel, Fernando o Luis. Asimismo, me gustaría mencionar a los últimos miembros de la unidad, que han contribuido a crear el buen ambiente que se respira en el grupo: a Ruth, Fran, Esther, Oscar, Dido, Alicia, Pablo, Marcos y, por supuesto, a mi querida Laura, con la que ha sido un placer coincidir en esta última etapa de doctorado después de tanto tiempo. También a los miembros de otras unidades, que siempre me atendían cuando consultaba cualquier duda, como Bruna, Lola, Jaime, Manuel, Adrián, Lanillos, Alberto o Fran, y muchos más.*

*No puedo dejar de agradecer en esta tesis a las personas más importantes de mi vida, a mi familia y amigos. A mis amigos de toda la vida por estar siempre ahí, para levantar el ánimo en los malos momentos y celebrar los buenos. Gracias, porque tengo la suerte de mantener esa amistad tan profunda durante tanto tiempo. Os quiero a todos vosotros Adri, Manuel, Diego, Ñako, Álvaro, Mario, Aitor, Gonzalo, Adrián, Miguel, Manu y Pablo. Sin olvidar a mis chicas Sonia, Esther, Silvia, Andrea y Dani. A la gente que me apoyó en horas difíciles como Sergio, María, Chechu y Aaron. También quiero mencionar a mi amigo David González, que me ayudó en momentos clave de mi tesis doctoral, y quizás sin esa ayuda no estaría escribiendo estas palabras.*

*A mi familia, a todos mis tíos y primos, que han estado pendientes durante este proceso, gracias de corazón. Por supuesto a mi padre Nacho, que siempre ha confiado en mí, que me ha dado las herramientas y todo el apoyo necesario para estar donde estoy y para ser quien soy. A mi hermana Elena, que no solo me ha ayudado durante todos estos años con su apoyo moral, sino que también me ha preparado físicamente, recordándome la importancia de la salud del cuerpo para tener una mente sana. Y también a mi madre Toñi, que ha sufrido, se ha emocionado y ha celebrado todos mis éxitos y fracasos como si fueran suyos. Me encanta tener contigo esas charlas sobre ciencia, aunque casi nunca pensamos lo mismo. Sé que todos y todas os alegráis por mí, no solo porque finaliza esta etapa de mi vida, sino porque ya no tendréis que oírme hablar más de la tesis.*

*Para terminar, quiero agradecer a Berta la paciencia que ha tenido conmigo, sobre todo durante este último año, así como su amor incondicional. Gracias por estar a mi lado, por apoyarme en las etapas compartidas de nuestra vida y por complementarme como lo haces. Por supuesto, no podía acabar sin mencionar a Noor, probablemente la que más tiempo ha pasado a mi lado mientras analizaba y escribía este trabajo, aunque me haya obligado a realizar alguna que otra repetición.*

*Gracias a todos y a todas por formar parte, de alguna manera, de esta tesis doctoral. Aunque en ciertos momentos no haya sido fácil, he tenido mucha suerte al poder rodearme de gente excepcional, de gente que me ha ayudado a conseguir una meta tan importante en mi vida.*

## 2 ÍNDICE

---

|         |                                                                                    |    |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1       | AGRADECIMIENTOS.....                                                               | 1  |
| 2       | ÍNDICE.....                                                                        | 6  |
| 3       | RESUMEN/SUMMARY .....                                                              | 16 |
| 4       | ABREVIATURAS.....                                                                  | 22 |
| 5       | INTRODUCCIÓN .....                                                                 | 42 |
| 5.1     | LA ERA DE LAS ÓMICAS. ....                                                         | 43 |
| 5.1.1   | Genómica. ....                                                                     | 43 |
| 5.1.2   | Transcriptómica.....                                                               | 45 |
| 5.1.3   | Metilómica. ....                                                                   | 48 |
| 5.2     | NEOPLASIAS NEUROENDOCRINAS (NNEs) .....                                            | 49 |
| 5.2.1   | Epidemiología.....                                                                 | 49 |
| 5.2.2   | Origen, características y presentación de las NNEs .....                           | 50 |
| 5.2.3   | Clasificación de las NNEs. ....                                                    | 54 |
| 5.2.3.1 | NNEs gastroenteropancreaticas .....                                                | 55 |
| 5.2.3.2 | NNEs pulmonares y del timo. ....                                                   | 55 |
| 5.2.3.3 | Otros tumores neuroendocrinos. ....                                                | 55 |
| 5.2.4   | Tratamiento de las NNEs.....                                                       | 58 |
| 5.2.4.1 | Tumores localizados. ....                                                          | 58 |
| 5.2.4.2 | Enfermedad Metastática. ....                                                       | 59 |
| 5.3     | ALTERACIONES MOLECULARES EN NNEs .....                                             | 62 |
| 5.3.1   | Síndromes hereditarios .....                                                       | 62 |
| 5.3.1.1 | Síndrome de neoplasia neuroendocrina múltiple tipo 1 (MEN-1) y tipo 4 (MEN-4)..... | 62 |
| 5.3.1.2 | Síndrome de neoplasia neuroendocrina múltiple tipo 2 (MEN-2). ....                 | 63 |
| 5.3.1.3 | Enfermedad de Von Hippel- Lindau (VHL). ....                                       | 63 |
| 5.3.1.4 | Neurofibromatosis tipo 1 (NF-1).....                                               | 64 |
| 5.3.1.5 | Complejo Esclerosis Tuberosa (TSC). ....                                           | 64 |
| 5.3.2   | Alteraciones moleculares en NNEs esporádicas .....                                 | 65 |
| 5.3.2.1 | NNEs pancreáticos.....                                                             | 65 |
| 5.3.2.2 | NNEs intestinales .....                                                            | 66 |
| 5.3.2.3 | NNEs pulmonares. ....                                                              | 66 |
| 5.4     | APROXIMACIONES ÓMICAS EN NNEs .....                                                | 67 |
| 5.4.1   | NNEs pancreáticas.....                                                             | 67 |
| 5.4.2   | NNEs intestinales.....                                                             | 71 |

|       |                                                                                             |    |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.4.3 | NNEs Pulmonares .....                                                                       | 73 |
| 5.5   | REFLEXIONES FINALES .....                                                                   | 78 |
| 6     | HIPÓTESIS .....                                                                             | 80 |
| 7     | OBJETIVOS .....                                                                             | 82 |
| 8     | MATERIALES Y MÉTODOS .....                                                                  | 84 |
| 8.1   | DISEÑO DEL ESTUDIO .....                                                                    | 85 |
| 8.2   | POBLACIÓN DE ESTUDIO .....                                                                  | 85 |
| 8.2.1 | Selección de pacientes .....                                                                | 85 |
| 8.2.2 | Información clínica .....                                                                   | 86 |
| 8.3   | PROCESAMIENTO DE LOS TEJIDOS .....                                                          | 87 |
| 8.3.1 | Identificación y selección del tejido de estudio .....                                      | 87 |
| 8.3.2 | Extracción del ARN .....                                                                    | 88 |
| 8.3.3 | Extracción del ADN .....                                                                    | 88 |
| 8.4   | PROCESAMIENTO DE LOS DATOS TRANSCRIPTÓMICOS .....                                           | 88 |
| 8.4.1 | Generación de los <i>microarrays</i> de expresión génica .....                              | 88 |
| 8.4.2 | Normalización y filtrado de los datos .....                                                 | 89 |
| 8.4.3 | Deconvolución de poblaciones celulares .....                                                | 89 |
| 8.4.4 | Inferencia de la actividad proteica de los reguladores principales .....                    | 90 |
| 8.4.5 | Pureza Tumoral .....                                                                        | 90 |
| 8.5   | PROCESAMIENTO DE LOS DATOS DE METILACIÓN .....                                              | 90 |
| 8.5.1 | Generación de los <i>microarrays</i> de metilación .....                                    | 91 |
| 8.5.2 | Normalización y filtrado de los datos .....                                                 | 92 |
| 8.5.3 | Obtención de los cambios en el número de copias somáticas (CNVs) .....                      | 92 |
| 8.5.4 | Cálculo del fenotipo de metilación de islas CpG (CIMP) .....                                | 92 |
| 8.6   | SELECCIÓN Y CREACIÓN DE LAS LISTAS DE GENES ANALIZADAS .....                                | 93 |
| 8.7   | ANÁLISIS DE LOS FACTORES MULTI-OMICOS ( <i>MOFA</i> ) .....                                 | 93 |
| 8.7.1 | Creación del modelo <i>MOFA</i> .....                                                       | 94 |
| 8.7.2 | Análisis de los factores del modelo <i>MOFA</i> .....                                       | 94 |
| 8.8   | CLASIFICACIÓN MOLECULAR .....                                                               | 96 |
| 8.8.1 | Generación de la Clasificación .....                                                        | 96 |
| 8.8.2 | Asociación con variables clínicas .....                                                     | 97 |
| 8.8.3 | Estudio del microambiente tumoral .....                                                     | 98 |
| 8.8.4 | Análisis de las diferencias en CNVs en los distintos subtipos neuroendocrinos .....         | 98 |
| 8.8.5 | Expresión diferencial y análisis funcional .....                                            | 98 |
| 8.8.6 | Estudio de la activación proteica inferida diferencial de los reguladores principales ..... | 99 |

|       |                                                                                                                                                                                                           |     |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 8.8.7 | Estudio de la metilación en los grupos moleculares obtenidos .....                                                                                                                                        | 99  |
| 8.8.8 | Identificación de los genes con valor pronóstico .....                                                                                                                                                    | 100 |
| 8.8.9 | Disponibilidad de código .....                                                                                                                                                                            | 100 |
| 9     | RESULTADOS .....                                                                                                                                                                                          | 101 |
| 9.1   | CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO .....                                                                                                                                                          | 102 |
| 9.2   | DESARROLLO DEL MODELO MOFA.....                                                                                                                                                                           | 105 |
| 9.2.1 | Factor 1.....                                                                                                                                                                                             | 108 |
| 9.2.2 | Factor 2.....                                                                                                                                                                                             | 110 |
| 9.2.3 | Factor 3.....                                                                                                                                                                                             | 111 |
| 9.2.4 | Factor 4.....                                                                                                                                                                                             | 112 |
| 9.2.5 | Factor 5.....                                                                                                                                                                                             | 114 |
| 9.2.6 | Factor 6.....                                                                                                                                                                                             | 114 |
| 9.2.7 | Factor 7.....                                                                                                                                                                                             | 115 |
| 9.2.8 | Factor 8.....                                                                                                                                                                                             | 116 |
| 9.3   | LA NUEVA CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEFINE TRES SUBTIPOS NEUROENDOCRINOS (SN) DE DIFERENTE PRONÓSTICO.....                                                                                                   | 116 |
| 9.4   | LOS SUBTIPOS NEUROENDOCRINOS MUESTRAN DIFERENTE COMPOSICIÓN CELULAR E INFILTRADO INMUNE.....                                                                                                              | 120 |
| 9.5   | CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS SUBTIPOS NEUROENDOCRINOS.....                                                                                                                                            | 122 |
| 9.5.1 | Los subtipos neuroendocrinos se diferencian en la variación del número de copias (CNVs).....                                                                                                              | 123 |
| 9.5.2 | Los subtipos neuroendocrinos muestran diferencias de expresión génica relacionadas con la diferenciación neuroendocrina, el metabolismo y la infiltración inmune. ....                                    | 125 |
| 9.5.3 | El estudio de la actividad proteica inferida de los principales reguladores biológicos pone de manifiesto diferencias relevantes entre los subtipos neuroendocrinos. ....                                 | 128 |
| 9.5.4 | Los perfiles de metilación diferencia al SN3 del resto de subtipos moleculares y podría ser el evento epigenético que regula la expresión de algunos genes diferencialmente expresados entre los SNs..... | 130 |
| 9.5.5 | La expresión de los genes <i>GIPC2</i> y <i>PAK3</i> tienen valor pronóstico independiente en TNEs de distinto origen anatómico. ....                                                                     | 132 |
| 10    | DISCUSIÓN.....                                                                                                                                                                                            | 134 |
| 11    | CONCLUSIONES .....                                                                                                                                                                                        | 144 |
| 12    | BIBLIOGRAFÍA.....                                                                                                                                                                                         | 148 |
| 13    | ANEXOS .....                                                                                                                                                                                              | 167 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                |                                                                                                                                                                                |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Tabla 1</b> | Hormonas secretadas por células neuroendocrinas y su función fisiológica.                                                                                                      |
| <b>Tabla 2</b> | Criterios de clasificación de las neoplasias neuroendocrinas epiteliales según la clasificación de la OMS de 2022.                                                             |
| <b>Tabla 3</b> | Análisis multi-ómicos de las NNEs pancreáticas, intestinales y pulmonares.                                                                                                     |
| <b>Tabla 4</b> | Colecciones de genes utilizados en el estudio.                                                                                                                                 |
| <b>Tabla 5</b> | Variables clínico-patológicas de la población de estudio.                                                                                                                      |
| <b>Tabla 6</b> | Distribución de las variables clínico-patológicas de los pacientes entre los subtipos neuroendocrinos. Se muestra el <i>p-valor</i> resultante de la prueba de <i>Fisher</i> . |
| <b>Tabla 7</b> | Taxonomía propuesta de los tumores neuroendocrinos mostrando las diferencias clínicas y biológicas más relevantes.                                                             |

### Tablas Suplementarias

|                 |                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Tabla S1</b> | Proporción de varianza de cada ómica explicada por el modelo de <i>MOFA</i> .                                                                                                                                                                    |
| <b>Tabla S2</b> | Proporción de varianza de cada ómica explicada por cada factor del modelo de <i>MOFA</i> .                                                                                                                                                       |
| <b>Tabla S3</b> | <i>P-valores</i> ajustados por <i>FDR</i> resultantes de la prueba <i>Kruskal Wallis</i> midiendo diferencias en los valores de los factores entre las distintas categorías de las características clínico-patológicas de naturaleza categórica. |
| <b>Tabla S4</b> | Resultado del modelo de <i>Cox</i> construido a partir de los factores del modelo de <i>MOFA</i> .                                                                                                                                               |
| <b>Tabla S5</b> | Coeficiente de regresión y <i>p-valores</i> resultantes del modelo de regresión lineal entre los factores y las poblaciones del microambiente tumoral.                                                                                           |
| <b>Tabla S6</b> | Vías de señalización enriquecidas en los factores del modelo de <i>MOFA</i> .                                                                                                                                                                    |
| <b>Tabla S7</b> | Resultados de la prueba de <i>Wilcoxon</i> comparando el valor de los factores entre las diferentes categorías de las variables clínico-patológicas en aquellas asociaciones significativas por la prueba de <i>Kruskal Wallis</i> .             |

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Tabla S8</b>  | Resultados de la prueba de <i>Wilcoxon</i> comparando el valor de los factores significativos en la prueba de <i>Kruskal Wallis</i> entre las diferentes categorías de las variables clínico-patológicas en los distintos tipos de tumor primario. |
| <b>Tabla S9.</b> | Las 20 sondas de metilación con mayor importancia relativa en el Factor 1.                                                                                                                                                                         |
| <b>Tabla S10</b> | Coeficiente de correlación de <i>Pearson</i> y <i>p-valor</i> entre los resultados de <i>ESTIMATE</i> y los factores del modelo de <i>MOFA</i> .                                                                                                   |
| <b>Tabla S11</b> | Enriquecimiento de genes biomarcadores de células normales en el Factor 2.                                                                                                                                                                         |
| <b>Tabla S12</b> | Correlación de los genes diferencialmente expresados entre los subtipos carcinoide A y carcinoide B propuestos por Alcalá <i>et al</i> y el Factor 4 del modelo de <i>MOFA</i> en las muestras de origen pulmonar.                                 |
| <b>Tabla S13</b> | Resultado de los modelos de <i>Cox</i> univariantes.                                                                                                                                                                                               |
| <b>Tabla S14</b> | Resultado de la prueba de <i>Kruskal Wallis</i> comparando los diferentes <i>scores</i> del programa <i>ESTIMATE</i> entre los subtipos neuroendocrinos indicando el <i>q-valor</i> .                                                              |
| <b>Tabla S15</b> | Resultado de la prueba de <i>Wilcoxon</i> comparando los diferentes <i>scores</i> del programa <i>ESTIMATE</i> entre los subtipos neuroendocrinos.                                                                                                 |
| <b>Tabla S16</b> | Resultado de la prueba de <i>Kruskal Wallis</i> comparando la infiltración de diferentes poblaciones celulares entre los subtipos neuroendocrinos indicando el valor ajustado por <i>FDR</i> .                                                     |
| <b>Tabla S17</b> | Resultado de la prueba de <i>Wilcoxon</i> comparando la infiltración de diferentes poblaciones celulares entre los subtipos neuroendocrinos indicando el <i>q-valor</i> .                                                                          |
| <b>Tabla S18</b> | Resultado de la prueba de <i>Wilcoxon</i> comparando la infiltración de diferentes poblaciones celulares entre los subtipos neuroendocrinos en cada tumor primario por separado indicando el <i>q-valor</i> .                                      |
| <b>Tabla S19</b> | Anotación de los CNVs encontrados en las muestras.                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Tabla S20</b> | Resultado de la prueba de <i>Fisher</i> comparando la diferencia de la cantidad de amplificaciones y deleciones encontradas entre los subtipos neuroendocrinos.                                                                                    |
| <b>Tabla S21</b> | Distribución de las 26 alteraciones en el número de copias somática encontradas entre los subtipos neuroendocrinos y el <i>p-valor</i> resultante de la prueba de <i>Fisher</i> .                                                                  |
| <b>Tabla S22</b> | Genes anotados en los CNVs con diferencias significativas entre los subtipos neuroendocrinos.                                                                                                                                                      |
| <b>Tabla S23</b> | Distribución de los CNVs con diferencias significativas entre los subtipos neuroendocrinos entre los distintos tumores primarios.                                                                                                                  |
| <b>Tabla S24</b> | Genes diferencialmente expresados entre SN1 y SN3 con un <i>p-valor ajustado</i> < 0,05 y un CL2 > 0,5.                                                                                                                                            |

|                  |                                                                                                                                                                                             |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Tabla S25</b> | Genes diferencialmente expresados entre SN1 y SN2 con un <i>p-valor ajustado</i> < 0,05 y un CL > 0,5.                                                                                      |
| <b>Tabla S26</b> | Genes diferencialmente expresados entre SN2 y SN3 con un <i>p-valor ajustado</i> < 0.1 y un CL > 0,2.                                                                                       |
| <b>Tabla S27</b> | Genes diferencialmente expresados con un <i>p-valor ajustado</i> por <i>FDR</i> <0,05 en al menos uno de los tumores primarios.                                                             |
| <b>Tabla S28</b> | Resultados del análisis de GSEA entre los distintos subtipos neuroendocrinos.                                                                                                               |
| <b>Tabla S29</b> | Resultados del análisis de GSEA entre los distintos subtipos neuroendocrinos utilizando set de genes de células normales.                                                                   |
| <b>Tabla S30</b> | Las 100 proteínas con mayor diferencia estadística entre los grupos SN1 y SN2 con un <i>p-valor ajustado</i> < 0,05 y un CL2 > 2.                                                           |
| <b>Tabla S31</b> | Las 100 proteínas con mayor diferencia estadística entre los grupos SN1 y SN3 con un <i>p-valor ajustado</i> < 0,05 y un CL2 > 2.                                                           |
| <b>Tabla S32</b> | Proteínas diferencialmente activadas entre los grupos SN2 y SN3 con un <i>p-valor ajustado</i> < 0.1 y un CL2 > 1.                                                                          |
| <b>Tabla S33</b> | Análisis de actividad proteica diferencial entre los subtipos neuroendocrinos en cada tumor primario por separado de las proteínas de interés.                                              |
| <b>Tabla S34</b> | Sondas de metilación con diferencias estadísticas entre los SN2 y los otros subtipos neuroendocrinos.                                                                                       |
| <b>Tabla S35</b> | Sondas de metilación con diferencias estadísticas entre los SN1 y los otros subtipos neuroendocrinos.                                                                                       |
| <b>Tabla S36</b> | Sondas de metilación con diferencias estadísticas entre los SN3 y los otros subtipos neuroendocrinos.                                                                                       |
| <b>Tabla S37</b> | Genes y sondas con correlaciones absolutas mayores a 0,4.                                                                                                                                   |
| <b>Tabla S38</b> | Correlación entre los genes de interés en los diferentes tumores primarios por separado con las sondas de metilación con una correlación absoluta > 0,4 en todos los tumores.               |
| <b>Tabla S39</b> | Variables seleccionadas por el modelo de <i>Cox</i> regularizado con <i>Lasso</i> introduciendo la información de los genes diferencialmente expresados entre los subtipos neuroendocrinos. |

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** Diagrama de flujo de selección de muestras tumorales.
- Figura 2** La supervivencia global de los pacientes depende de la localización anatómica del tumor primario.
- Figura 3** Varianza explicada por el modelo *MOFA*.
- Figura 4** Los factores del modelo *MOFA* se asocian con diferentes variables clínico-patológicas y biológicas.
- Figura 5** El Factor 1 está asociado con el fenotipo metilador de los TNEs.
- Figura 6** El Factor 2 explica la variación en la diferenciación neuroendocrina de los NETs.
- Figura 7** Relación no lineal entre el Factor 3 y la calidad del ARN de las muestras.
- Figura 8** El factor 4 se asocia con variables clínicas y moleculares únicamente en los TNEs pulmonares.
- Figura 9** El Factor 6 diferencia las muestras de origen hepático.
- Figura 10** Los subtipos neuroendocrinos (SNs) están asociados con variables clínico-patológicas relacionadas con la agresividad biológica y con el pronóstico de los pacientes.
- Figura 11** Diferencia en la predictibilidad de los modelos de Cox al añadir la clasificación molecular.
- Figura 12** Los subtipos neuroendocrinos muestran diferente composición.
- Figura 13** Caracterización molecular de los subtipos neuroendocrinos.
- Figura 14** Los subtipos neuroendocrinos tienen diferencias en la cantidad de CNVs.
- Figura 15** Genes y vías de señalización diferencialmente expresados en los subtipos neuroendocrinos.
- Figura 16** Regiones diferencialmente metiladas en los subtipos neuroendocrinos y genes potencialmente regulados epigenéticamente.
- Figura 17** Modelo de Cox multivariante con las variables clínicas y los genes seleccionados por el modelo regularizado con *Lasso*.

## Figuras Suplementarias

- Figura S1** La calidad de los datos transcriptómicos y metilómicos están asociados a las componentes principales.
- Figura S2** El Factor 1 está asociado con el grado tumoral, los niveles de 5-HIAA y el estadio de los pacientes con TNEs.
- Figura S3** Los 20 genes más relevantes en los Factores de *MOFA*.
- Figura S4** Diversos Factores del modelo de *MOFA* correlacionan con los *scores* de *ESTIMATE*.
- Figura S5** El Factor 4 está asociado al CIMP y al grado de los TNEs.
- Figura S6** El Factor 6 está asociado al grado de TNEs.
- Figura S7** Correlación cofenética.
- Figura S8** Diferencias en la supervivencia global de los SNs en los distintos tumores primarios.
- Figura S9** Modelo de *Cox* multivariante.
- Figura S10** Los subtipos neuroendocrinos se diferencian en la pureza tumoral y el *score* inmune calculado por *ESTIMATE*.
- Figura S11** Diferencias en la infiltración inmune entre los subtipos neuroendocrinos.
- Figura S12** Diferencias en la infiltración inmune entre los subtipos neuroendocrinos en los distintos tumores primarios.
- Figura S13** Variaciones en el número de copias (CNVs) encontradas en las muestras.
- Figura S14** Genes diferencialmente expresados en los subtipos neuroendocrinos.
- Figura S15** Expresión diferencial de los genes de interés entre los subtipos neuroendocrinos en cada tumor primario por separado.
- Figura S16** Enriquecimiento de biomarcadores de células normales en los subtipos neuroendocrinos.
- Figura S17** Reguladores diferencialmente activados en los subtipos neuroendocrinos.
- Figura S18** Activación diferencial de las proteínas de interés entre los subtipos neuroendocrinos en cada tumor primario por separado.

**Figura S19** Correlación entre la expresión y la metilación de los genes de interés en cada tumor primario por separado.

**Figura S20** Supervivencia global en función de la expresión de *GIPC2*.

**Figura S21** Supervivencia global en función de la expresión de *PAK3*.

### **3 RESUMEN/SUMMARY**

---

Los tumores neuroendocrinos (TNEs) son un grupo particular de tumores que se originan en el sistema neuroendocrino difuso, por lo que su distribución anatómica es muy diversa. A pesar de ello, los TNEs comparten una serie de características clínicas e histopatológicas comunes, como su capacidad de sintetizar y segregar hormonas dando lugar a síndromes clínicos específicos (lo que se conoce como tumores funcionantes), o la expresión de receptores de somatostatina en su superficie celular, que es de una gran utilidad diagnóstica y terapéutica. En general son tumores de baja agresividad biológica, aunque su comportamiento clínico es heterogéneo y no siempre predecible, y tienen una baja carga mutacional y pocas mutaciones recurrentes, jugando la epigenética un papel destacable. Sin embargo, las bases moleculares de la enfermedad no se conocen en profundidad, y los estudios publicados se basan en cohortes de tumores con una localización primaria específica.

En este contexto, el objetivo principal de este estudio es el desarrollo de una clasificación molecular universal de TNEs independiente de su lugar de origen, que permita caracterizar los mecanismos biológicos implicados en la evolución clínica de la enfermedad, con el fin de identificar vulnerabilidades compartidas y facilitar el desarrollo de nuevos biomarcadores diagnósticos, pronósticos y/o predictivos, y de nuevas estrategias de tratamiento que eventualmente puedan mejorar el pronóstico de estos pacientes. Para ello, se han realizado perfiles transcriptómicos y metilómicos (*arrays* transcriptómicos *Clariom Human S* y los *arrays* de metilación *EPIC de Illumina*, respectivamente) en muestras tumorales parafinadas de 194 pacientes diagnosticados con TNEs G1-G3 de diferentes localizaciones primarias dentro del tracto gastroenteropancreático (GEP) y pulmonar, incluyendo muestras tumorales tanto de lesiones primarias como de metástasis a distancia. Con ambos conjuntos de datos ómicos, se ha construido un modelo de *MOFA (Multi-Omics Factor Analysis)*, constituido por 8 factores. Una vez que se descartaron del modelo los factores asociados a variables de confusión, se realizó una clasificación de ensamblado utilizando ocho algoritmos diferentes. Evaluamos las diferencias en las variables clínicas discretas entre los subtipos moleculares mediante la prueba de *Fisher* y realizamos un análisis de supervivencia global (SG) utilizando la metodología *Kaplan-Meier* (KM) y el modelo de regresión de *Cox* (MRC). Además, hemos analizado las diferencias en la composición del microambiente tumoral entre los distintos grupos usando la prueba de rangos de *Wilcoxon* sobre *scores* obtenidos a partir de técnicas de deconvolución. Por último, hemos estudiado las distintas características moleculares de cada grupo identificando los genes diferencialmente expresados (GDE) usando el paquete de R *limma*, y el enriquecimiento de rutas biológicas mediante el método *GSEA*, y hemos explorado la posible asociación entre los GDEs y el pronóstico empleando MRCs penalizados por *Lasso*.

Hemos generado un modelo de *MOFA* con ocho factores. Los factores 3 (asociado con la calidad del ARN) y 6 (relacionado con metástasis en hígado) fueron excluidos del modelo. La clasificación molecular con 6 factores ha identificado 3 subtipos neuroendocrinos (SNs) que se asocian de manera significativa con el pronóstico de los pacientes, siendo el SN1 el que presenta un pronóstico más favorable y el SN3 el que presenta una evolución clínica más agresiva (SG a los 10 años del 86%, 78% y 65%, respectivamente,  $p\text{-valor}=0.0018$ ). El subtipo neuroendocrino con mejor pronóstico (SN1) está enriquecido en diversas poblaciones inmunes, y presenta mayor expresión de genes relacionados con el metabolismo y la digestión de nutrientes (*FBP1*, *FABP1* y *GSTA1*), genes inmunes (*PIGR*) y a otras vías de señalización asociadas (metabolismo de ácidos grasos, metabolismo de xenobióticos, interferón gamma, respuesta inflamatoria, receptor de célula T). El subtipo neuroendocrino con peor pronóstico (SN3) muestra altos niveles de metilación y de CNVs, además de asociarse con características clínicas de mayor agresividad biológica (G2-3, estadio IV al diagnóstico, mayores niveles de 5-HIAA). En los SN3 se observó además una expresión más elevada de genes relacionados con la actividad neuroendocrina, destacando diversos miembros de la familia de las cromograninas-secretograninas (*CHGA*, *CHGB*, *SCG3* y *SCG5*), genes asociados a actividad neuronal o neuroendocrina (*BEX1*, *DDC*, *RIMS2* y *QPCT*) y la tirosín fosfatasa *PTPRN* relacionada con la vía de la insulina. Además, encontramos una mayor expresión de genes relacionados con la transcripción (*MEIS2*, *TCEAL2*, *NOVA1*, *ANKRD30B*), la metilación y remodelación de la cromatina (*CXXC4*) y el huso mitótico (*CEP126*). Los TNEs con un pronóstico intermedio (SN2) presentan un perfil molecular mixto, compartiendo características transcriptómicas con el SN3, pero con niveles de metilación más parecidos a los SN1. Los modelos de regresión de *Cox* penalizados por *Lasso* seleccionaron 8 genes de los 92 GDEs entre los tres subtipos neuroendocrinos, sin embargo, solo *GIPC2* y *PAK3* mostraron un valor pronóstico independiente del grado, el sexo, el estadio al diagnóstico y la localización del tumor primario, asociándose una mayor expresión con una mayor supervivencia (*GIPC2*:  $p\text{-valor} = 0,001$ ; *PAK3*:  $p\text{-valor} = 0,028$ ). Los genes *PTPRN* (tirosina fosfatasa implicada en la secreción de insulina), *BEX1* (regulador de la transcripción) y *NOVA1* (factor de *splicing* alternativo) se han identificado como potenciales genes conductores o *drivers* comunes en la biología de los TNEs de diferentes orígenes anatómicos en base a los resultados obtenidos y los datos de la literatura, aunque es necesario realizar estudios funcionales en modelos preclínicos para entender su papel en el desarrollo y progresión de los TNEs.

Este estudio es el mayor análisis transcriptómico y epigenómico integrado no supervisado realizado hasta la fecha en TNEs, y ha permitido el desarrollo de una clasificación molecular de TNEs que ha revelado fuentes de variabilidad biológica comunes en los diferentes orígenes

tumorales primarios. Este modelo estratifica a los pacientes en tres subtipos neuroendocrinos pronósticos que se asocian a características clínicas y moleculares diferenciales, generando hipótesis relacionadas con las bases biológicas de la enfermedad que podrían justificar el diverso comportamiento clínico de los TNEs. Este estudio puede facilitar asimismo la identificación de biomarcadores pronósticos y dianas terapéuticas que permitan el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas universales en TNEs de distinto origen tisular.

Neuroendocrine tumors (NETs) are a distinctive group of tumors originating in the diffuse neuroendocrine system, resulting in a wide anatomical distribution. Despite this diversity, NETs share common clinical and histopathological features, such as the ability to synthesize and secrete hormones leading to specific clinical syndromes (known as functioning tumors) and the expression of somatostatin receptors on their cell surface, which is diagnostically and therapeutically valuable. Generally, NETs exhibit low biological aggressiveness, although their clinical behavior is heterogeneous and not always predictable. They have a low mutational burden and few recurrent mutations, with epigenetics playing a notable role. However, the molecular bases of the disease are not deeply understood, and published studies are based on cohorts of tumors with a specific primary location.

In this context, the main objective of this study is to develop a universal molecular classification of NETs independent of their origin, aiming to characterize the biological mechanisms involved in the clinical evolution of the disease. The goal is to identify shared vulnerabilities and facilitate the development of new diagnostic, prognostic, and/or predictive biomarkers, as well as new treatment strategies that may ultimately improve patient prognosis.

To achieve this, transcriptomic and methylomic profiles (using *Clariom Human S* transcriptomic arrays and *Illumina EPIC* methylation arrays, respectively) were generated from paraffin-embedded tumor samples of 194 patients diagnosed with G1-G3 NETs from various primary locations within the gastroenteropancreatic (GEP) tract and lungs. This included samples from both primary lesions and distant metastases. A Multi-Omics Factor Analysis (MOFA) model consisting of 8 factors was constructed using both omics datasets. After excluding factors related to variance, clustering was performed using eight different algorithms. Differences in discrete clinical variables between molecular subtypes were evaluated using Fisher's test, and overall survival (OS) was analyzed using Kaplan-Meier (KM) methodology and Cox regression models (CRM). Additionally, differences in the tumor microenvironment composition among groups were assessed using the *Wilcoxon rank-sum* test on scores obtained from deconvolution techniques. Finally, the molecular characteristics of each group were studied by identifying differentially expressed genes (DEGs) using the limma R package, exploring biological pathway enrichment through *Gene Set Enrichment Analysis* (GSEA), and investigating the potential association between DEGs and prognosis using *Lasso*-penalized CRM.

An 8-factor MOFA model was generated, with factors 3 (associated with RNA quality) and 6 (related to liver metastasis) excluded. The 6-factor molecular classification identified three neuroendocrine subtypes (NSs) significantly associated with patient prognosis. NS1

demonstrated the most favorable prognosis, while NS3 exhibited a more aggressive clinical course (10-year OS of 86%, 78%, and 65%, respectively;  $p\text{-value}=0.0018$ ). NS1, the neuroendocrine subtype with the best prognosis, showed enrichment in various immune populations and higher expression of genes related to metabolism and nutrient digestion (*FBP1*, *FABP1* and *GSTA1*), immune genes (*PIGR*), and other associated signaling pathways (fatty acid metabolism, xenobiotic metabolism, interferon gamma, inflammatory response, T cell receptor). NS3, the neuroendocrine subtype with the worst prognosis, displayed elevated levels of methylation and copy number variations (CNVs), along with associations with clinically more aggressive features (G2-3, stage IV at diagnosis, higher 5-HIAA levels). NS3 also exhibited higher expression of genes related to neuroendocrine activity, including various members of the chromogranin-secretogranin family (*CHGA*, *CHGB*, *SCG3*, and *SCG5*), genes associated with neuronal or neuroendocrine activity (*BEX1*, *DDC*, *RIMS2*, and *QPCT*), and the tyrosine phosphatase *PTPRN* linked to the insulin pathway. Additionally, higher expression of genes related to transcription (*MEIS2*, *TCEAL2*, *NOVA1*, *ANKRD30B*), chromatin methylation and remodeling (*CXXC4*), and the mitotic spindle (*CEP126*) was observed. NETs with intermediate prognosis (NS2) presented a mixed molecular profile, sharing transcriptomic characteristics with SN3, but with methylation levels more like SN1. *Lasso*-penalized *Cox* regression models selected 8 genes out of the 92 DEGs among the three neuroendocrine subtypes; however, only *GIPC2* and *PAK3* demonstrated prognostic value independent of grade, sex, stage at diagnosis, and tumor location, with higher expression associated with increased survival (*GIPC2*:  $p\text{-value} = 0.001$ ; *PAK3*:  $p\text{-value} = 0.028$ ). *PTPRN* (tyrosine phosphatase involved in insulin secretion), *BEX1* (transcriptional regulator), and *NOVA1* (alternative *splicing* factor) were identified as potential common driver genes in the biology of NETs of different anatomical origins based on the results and literature data. However, functional studies in preclinical models are necessary to understand their role in the development and progression of NETs.

This study represents the largest unsupervised integrated transcriptomic and epigenomic analysis to date in NETs, leading to the development of a molecular classification that reveals common sources of biological variability across different primary tumor origins. This model stratifies patients into three prognostic neuroendocrine subtypes associated with differential clinical and molecular characteristics, generating hypotheses related to the biological basis of the disease that may explain the diverse clinical behavior of NETs. Additionally, this study may facilitate the identification of prognostic biomarkers and therapeutic targets, enabling the development of new universal therapeutic strategies for NETs of various tissue origins.

## 4 ABREVIATURAS

---

5-FU: 5- fluorouracilo.

5-HIAA: Ácido 5 hidroxindolacético.

AC: Adenilato Ciclasa.

ANPEP: *Alanyl Aminopeptidase, Membrane*.

ANXA2: *Annexin A2*.

APBB1: *Amyloid Beta Precursor Protein Binding Family B Member 1*.

APC: *Adenomatous Polyposis Coli*.

APOB: *Apolipoprotein B*.

ARACNE: *Algorithm for the Reconstruction of Accurate Cellular Networks*.

ARID1A: *AT-Rich Interaction Domain 1A*.

ARID1B: *AT-Rich Interaction Domain 1B*.

ARID2: *AT-Rich Interaction Domain 2*.

ARL4D: *ADP Ribosylation Factor Like GTPase 4D*.

ARN: Ácido ribonucleico.

ARX: *Aristaless Related Homeobox*.

ASCL1: *Achaete-Scute Family BHLH Transcription Factor 1*.

ASPH: *Aspartate Beta-Hydroxylase*.

AST: Análogos de somatostatina

ASXL2: *ASXL Transcriptional Regulator 2*.

ATM: *ATM Serine/Threonine Kinase*.

ATP: Adenosina trifosfato.

ATRX: *Alpha Thalassemia Syndrome X-Linked*.

AVEN: *Apoptosis And Caspase Activation Inhibitor*.

ABCA3: *ATP Binding Cassette Subfamily A Member 3*.

ABCA7: *ATP Binding Cassette Subfamily A Member 7*.

ABCC3: *ATP Binding Cassette Subfamily C Member 3*.

ACE2: *Angiotensin Converting Enzyme 2*.

ACSL5: *Acyl-CoA Synthetase Long Chain Family Member 5*.

ACTH: Hormona adrenocorticotrópica.

ADAMDEC1: *ADAM Like Decysin 1*.

ADGRG6: *Adhesion G Protein-Coupled Receptor G6*.

ADH1B: *Alcohol Dehydrogenase 1B (Class I), Beta Polypeptide*.

ADH1C: *Alcohol Dehydrogenase 1C (Class I), Gamma Polypeptide*.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ADNc: ADN complementario.

AFAP1L2: *Actin Filament Associated Protein 1 Like 2*.

AGAP3: *ArfGAP With GTPase Domain, Ankyrin Repeat And PH Domain 3*.

AKT2: *AKT Serine/Threonine Kinase 2*.

ALDOB: *Aldolase, Fructose-Bisphosphate B*.

ANK1: *Ankyrin 1*.

ANKRD22: *Ankyrin Repeat Domain 22*.

ANKRD30B: *Ankyrin Repeat Domain 30B*.

BCAM: *Basal Cell Adhesion Molecule (Lutheran Blood Group)*.

BCI: *Breast Cancer Index*

BCL11A: *BAF Chromatin Remodeling Complex Subunit BCL11A*.

BCL2: *B-Cell CLL/Lymphoma 2*.

BEAN1-AS1: *BEAN1 Antisense RNA 1*

BEX1: *Brain Expressed X-Linked 1*.

BMP5: *Bone Morphogenetic Protein 5*.

BPTF: *Bromodomain PHD Finger Transcription Factor*.

BRAF: *B-Raf Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase*.

BRCA1: *Breast Cancer 1*.

BRCA2: *Breast Cancer 2*.

BRSK1: *BR Serine/Threonine Kinase 1*

BRWD3: *Bromodomain and WD Repeat Domain Containing 3*.

c-KIT: *KIT Proto-Oncogene, Receptor Tyrosine Kinase*.

C1S: *Complement C1s*.

CA: *Carcinoide atípico*.

CACNA1A: *Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 A*.

CACNA1D: *Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 D*.

CACNA1G: *Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 G*.

CALCA: *Calcitonin Related Polypeptide Alpha*.

CALM2: *Calmodulin 2*.

CAPN8: *Calpain 8*.

CASP10: *Caspase 10*.

CASP8: *Caspase 8.*

CBX6: *Chromobox Protein Homolog 6.*

CCD: *Dispositivo de carga acoplada.*

CCDC8: *Coiled-Coil Domain Containing 8.*

CCL28: *C-C Motif Chemokine Ligand 28.*

CCNA1: *Cyclin A1.*

CD2: *CD2 Molecule.*

CD3D: *CD3 Delta Subunit Of T-Cell Receptor Complex.*

CD68: *CD68 Molecule.*

CD96: *CD96 Molecule.*

CDCA7: *Cell Division Cycle Associated 7.*

CDH19: *Cadherin 19.*

CDK5R2: *Cyclin Dependent Kinase 5 Regulatory Subunit 2.*

CDKN1B : *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1B.*

CDKN2A: *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A.*

CDKN2C: *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2C.*

CDX1: *Caudal Type Homeobox1.*

CEACAM5: *CEA Cell Adhesion Molecule 5.*

CEBPA: *CCAAT Enhancer Binding Protein Alpha.*

CECs: *Células enterocromafines.*

CEEs: *Células enteroendocrinas.*

CELSR3: *Cadherin EGF LAG Seven-Pass G-Type Receptor 3.*

CEP: *Células endocrinas pancreáticas.*

CEP126: *Centrosomal Protein 126.*

CES2: *Carboxylesterase 3.*

CFC1B: *Cryptic, EGF-CFC Family Member 1B.*

CFLAR: *CASP8 And FADD Like Apoptosis Regulator.*

CgA: *Cromogranina A.*

CGH: *Hibridación Genómica Comparada.*

CHD5: *Chromodomain Helicase DNA Binding Protein 5.*

CHEK2: *Checkpoint Kinase 2.*

CHEK3: *Checkpoint Kinase 3.*

CHGA: *Chromogranin A.*

CHGB: *Chromogranin B*.

**CHRNA2: Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 2 Subunit.**

CHRND: *Cholinergic Receptor Nicotinic Delta Subunit.*

CIMP: CpG island methylation phenotype.

CMT: Carcinoma medular de tiroides

CIRBP: *Cold Inducible RNA Binding Protein*.

CL2: Cambio logarítmico en base 2.

CLCA1: *Chloride Channel Accessory 1*.

CLDN11: *Claudin 11*.

CLDN6: *Claudin 6*.

CMANE: Carcinomas mixtos adeno-neuroendocrinos.

CMS: *Consensus Molecular subtypes*.

CNE: Carcinoma neuroendocrino.

CNECG: Carcinoma neuroendocrino de célula grande.

CNECP: Carcinomas neuroendocrinos de célula pequeña.

CNEP: Células neuroendocrinas pulmonares

CNTN1: *Contactin 1*.

CNV: *Copy number variation.*

COL6A1: *Collagen Type VI Alpha 1 Chain.*

CPE: *Carboxypeptidase E*.

CRYBA2: *Crystallin Beta A2*.

CSECs: Células similares a las enterocromafines.

*CSPA: Cluster-based Similarity Partitioning Algorithm.*

CT: Carcinoide típico.

CTCs: Células tumorales circulantes.

CTLA-4: *Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*

CTSC: *Cathepsin C*.

CTSS: *Cathepsin S*.

CTSZ: *Cathepsin Z*.

**CXX4:** *CXXC Finger Protein 4.*

CXXC4: CXXC Finger Protein 4.

CYBRD1: *Cytochrome B Reductase 1*.

CYP26C1: *Cytochrome P450 Family 26 Subfamily C Member 1.*

CYP2C18: *Cytochrome P450 Family 2 Subfamily C Member 18.*

CYP7B1: *Cytochrome P450 Family 7 Subfamily B Member 1.*

DAAM2: *Dishevelled Associated Activator Of Morphogenesis 2.*

DAB2IP: *DAB2 Interacting Protein.*

DAM: *Desviación absoluta de la mediana*

DAXX: *Death Domain Associated Protein.*

DCC: *Deleted In Colorectal Carcinoma.*

DCHS2: *Dachsous Cadherin-Related 2.*

DDC: *Dopa Decarboxylase.*

DDN: *Dendrin.*

ddNTPs: *Didesoxinucleótidos.*

DDX54: *DEAD-Box Helicase 54.*

DEPD5: *DEP Domain Containing 5.*

DEPDC7: *DEP Domain Containing 7.*

DICER: *Dicer 1, Ribonuclease III.*

DIRAS2: *DIRAS Family GTPase 2.*

DLG4: *Discs Large MAGUK Scaffold Protein 4.*

DLL3: *Delta Like Canonical Notch Ligand 3.*

DNM1: *Dynamin 1.*

DPEP1: *Dipeptidase 1.*

DSC2: *Desmocollin 2.*

DUOX2: *Dual Oxidase 2.*

E2F: *E2F Transcription Factor 1.*

EBF1: *EBF Transcription Factor 1.*

EBF4: *EBF Family Member 4.*

EFNB3: *Ephrin B3.*

EGFR: *Epidermal Growth Factor Receptor.*

EGR4: *Early Growth Response 4.*

EIF1AX: *Eukaryotic Translation Initiation Factor 1A X-Linked.*

EMP2: *Epithelial Membrane Protein 2.*

EMX1: *Empty Spiracles Homeobox 1.*

ENE: *Enolasa neuronal específica.*

ENPP2: *Ectonucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase 2.*

ENPP5: *Ectonucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase Family Member 5.*

EPHA10: *EPH Receptor A10.*

ERBB4: *Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 4.*

ERCC6L: *ERCC Excision Repair 6 Like, Spindle Assembly Checkpoint Helicase.*

EWSR1: *Ewing Sarcoma Breakpoint Region 1.*

EZH1: *Enhancer Of Zeste 1 Polycomb Repressive Complex 2 Subunit.*

F2RL1: *F2R Like Trypsin Receptor 1.*

F5: *Coagulation Factor V.*

FABP1: *Fatty Acid Binding Protein 1.*

FABP2: *Fatty Acid Binding Protein 2.*

FAM177B: *Family With Sequence Similarity 177 Member B.*

FAM27E3: *Family With Sequence Similarity 27 Member E3.*

FBP1: *Fructose-Bisphosphatase 1.*

FBXL16: *F-Box And Leucine Rich Repeat Protein 16.*

FDA: *U.S Food and Drug Administration*

FDR: *False Discovery Rate.*

FERMT1: *FERM Domain Containing Kindlin 1.*

FEV: *FEV Transcription Factor, ETS Family Member.*

FGF12: *Fibroblast Growth Factor 12.*

FGF2: *Fibroblast Growth Factor 2.*

FGFR2: *Fibroblast Growth Factor Receptor 2.*

FGFRL1: *Fibroblast Growth Factor Receptor Like 1.*

FHL2: *Four And A Half LIM Domains 2.*

FIBP: *FGF1 Intracellular Binding Protein.*

FMN1: *Formin 1.*

FOXA3: *Forkhead Box A3.*

FOXP3: *Forkhead Box P3.*

FYB: *FYN Binding Protein 1.*

G1: *Grado 1.*

G2: *Grado 2.*

G3: *Grado 3.*

G6PC2: *Glucose-6-Phosphatase, Catalytic 2*.

GABRB3: *Gamma-Aminobutyric Acid Type A Receptor Subunit Beta3*.

GALM: *Galactose Mutarotase*.

GATA2: *GATA Binding Protein 2*.

GATA3: *GATA Binding Protein 3*.

GATA6: *GATA Binding Protein 6*.

GCK: *Glucokinase*.

GDAP1L1: *Ganglioside-Induced Differentiation-Associated Protein 1-Like 1*.

GDE: Genes diferencialmente expresados.

GDF15: *Growth Differentiation Factor 15*.

GDF6: *Growth Differentiation Factor 6*.

GEP: Gastroenteropancreático

GETNE: Grupo español de tumores neuroendocrinos.

GIPC2: *GIPC PDZ Domain Containing Family Member 2*.

GIPR: *Gastric Inhibitory Polypeptide Receptor*.

GJB3: *Gap Junction Protein Beta 3*.

GJD2: *Gap Junction Protein Delta 2*.

GKN1: *Gastroke 1*.

GLUT2: *Glucose Transporter 2*.

GMEB1: *Glucocorticoid Modulatory Element Binding Protein 1*.

GNG4: *G Protein Subunit Gamma 4*.

GPCRs: Proteínas acopladas a proteínas G

GPR135: *G Protein-Coupled Receptor 135*.

GPRC5A: *G Protein-Coupled Receptor Class C Group 5 Member A*.

GRB10: *Growth Factor Receptor Bound Protein 10*.

GRIA3: *Glutamate Ionotropic Receptor AMPA Type Subunit 3*.

GRIK4: *Glutamate Ionotropic Receptor Kainate Type Subunit 4*.

GRTF1: *Growth Hormone Regulated TBC Protein 1*.

GSEA: *Gene set enrichment analysis*.

GSTA1: *Glutathione S-Transferase Alpha 1*.

HAS3: *Hyaluronan Synthase 3*.

HC: Hormona de crecimiento.

HDAC4: *Histone Deacetylase 4*.

HEPACAM2: *HEPACAM Family Member 2.*

HER2: *Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 2*

HERC2: *HECT And RLD Domain Containing E3 Ubiquitin Protein Ligase 2.*

HIC1: *Hypermethylated In Cancer 1 Protein 1.*

HIFs: Factores inducibles de hipoxia.

HK1: *Hexokinase 1.*

HMGA1: *High Mobility Group AT-Hook 1.*

HMGCS2: *3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA Synthase 2.*

HNF1: *Hepatocyte Nuclear factor 1.*

HNF1A: *Hepatocyte Nuclear factor 1 alpha.*

HNF1B: *Hepatocyte Nuclear factor 1 beta.*

HNF4: *Hepatocyte Nuclear factor 4.*

HNF4A: *Hepatocyte Nuclear factor 4 alpha.*

HOXB-AS3: *HOXB Cluster Antisense RNA 3.*

HR: *Hazard Ratio.*

HRAS: *HRas Proto-Oncogene, GTPase.*

HSPA4L: *Heat Shock Protein Family A (Hsp70) Member 4 Like.*

IAPP: *Islet Amyloid Polypeptide.*

IER3: *Immediate Early Response 3.*

IGFBP5: *Insulin Like Growth Factor Binding Protein 5.*

IGLL5: *Immunoglobulin Lambda Like Polypeptide 5.*

IHH: *Indian Hedgehog Signaling Molecule.*

IL11RA: *Interleukin 11 Receptor Subunit Alpha.*

IL1RL2: *Interleukin 1 Receptor Like 2.*

IL7R: *Interleukin 7 Receptor.*

INS: *Insulin.*

INSM1: *Insulinoma-associated 1.*

INSR: *Insulin Receptor.*

IPMK: *Inositol Polyphosphate Multikinase.*

IQGAP2: *IQ Motif Containing GTPase Activating Protein 2.*

IRX3: *Iroquois Homeobox 3.*

IT: *Insulinoma tumors.*

JCHAIN: *Joining Chain Of Multimeric IgA And IgM.*

JMJD1: *Jumonji C Domain-Containing Histone Demethylase 2A.*

JPH3: *Junctophilin 3.*

K: número de grupos.

KAZALD1: *Kazal Type Serine Peptidase Inhibitor Domain 1.*

KCNA5: *Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 5.*

KCNC3: *Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily C Member 3.*

KCNH2: *Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 2.*

KCNH6: *Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 6.*

KCNH7: *Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 7.*

KCNK10: *Potassium Two Pore Domain Channel Subfamily K Member 10.*

KCNN1: *Potassium Calcium-Activated Channel Subfamily N Member 1.*

KDM4A: *Lysine Demethylase 4A.*

KLB: *Klotho Beta.*

KLF3: *KLF Transcription Factor 3.*

KLF4: *KLF Transcription Factor 4.*

KLF5: *KLF Transcription Factor 5.*

KLHDC8A: *Kelch Domain Containing 8A.*

KLRB1: *Killer Cell Lectin Like Receptor B1.*

KMT2: *Lysine Methyltransferase 2.*

KMT2A: *Lysine Methyltransferase 2A.*

KMT2C: *Lysine Methyltransferase 2C.*

KMT2D: *Lysine Methyltransferase 2D.*

KNN: *K-nearest neighbors.*

KRAS: *KRAS Proto-Oncogene, GTPase.*

LAMA3: *Laminin Subunit Alpha 3.*

LAMA5: *Laminin Subunit Alpha 5.*

LASSO: *Least absolute shrinkage and selection operator.*

LAX1: *Lymphocyte Transmembrane Adaptor 1.*

LBXCOR1: *Ladybird Homeobox Corepressor 1.*

LCN2: *Lipocalin 2.*

LGALS4: *Galectin 4.*

LGALS9: *Galectin 9.*

LINE: *Long interspersed nuclear element*.

LOPD-GDD: *Protección de Datos Personales y Garantía de los Derechos Digitales*.

LPAR5: *Lysophosphatidic Acid Receptor 5*.

LRP12: *LDL Receptor Related Protein 12*.

LRRK1: *Leucine Rich Repeat Kinase 1*.

LTBP4: *Latent Transforming Growth Factor Beta Binding Protein 4*.

LYN: *LYN Proto-Oncogene, Src Family Tyrosine Kinase*.

LYZ: *Lysozyme*.

MACC1: *MET Transcriptional Regulator MACC1*.

MAL2: *Mal, T Cell Differentiation Protein 2*.

MAP3K9: *Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase 9*.

MAPK10: *Mitogen-Activated Protein Kinase 10*.

MAPK9: *Mitogen-Activated Protein Kinase 9*.

MAPK: *Mitogen-Activated Protein Kinase*.

MAPT: *Microtubule Associated Protein Tau*.

MAST4: *Microtubule Associated Serine/Threonine Kinase Family Member 4*.

MAT2B: *Methionine Adenosyltransferase 2 Non-Catalytic Beta Subunit*.

MC2R: *Melanocortin 2 Receptor*.

MDGA1: *MAM Domain Containing Glycosylphosphatidylinositol Anchor 1*.

MEGF11: *Multiple EGF Like Domains 11*.

MEIS2: *Meis Homeobox 2*.

MEIS3: *Meis Homeobox 3*.

MEN-1: *Síndrome de neoplasia neuroendocrina múltiple tipo 1*.

MEN-2: *Síndrome de neoplasia neuroendocrina múltiple tipo 2*.

MEN-4: *Síndrome de neoplasia neuroendocrina múltiple tipo 4*.

MEN1: *Menin 1*.

MERTK: *MER Proto-Oncogene, Tyrosine Kinase*.

MGMT: *O-6-Methylguanine-DNA Methyltransferase*.

MINEN: *neoplasias mixtas neuroendocrinas y no neuroendocrinas denominadas*.

MLH1: *MutL Homolog 1*.

MLL3: *Myeloid/Lymphoid Or Mixed-Lineage Leukemia Protein 3*.

MLP: *Metastasis-like primary tumors*.

MOFA: *Multi-Omics Factor Analysis*.

MP: *MammaPrint*

MPZL2: *Myelin Protein Zero Like 2*.

MS4A8: *Membrane Spanning 4-Domains A8*.

MSH2: *MutS Homolog 2*.

MSH6: *MutS Homolog 6*.

MSigDB: *The Molecular Signatures Database*.

MST1R: *Macrophage Stimulating 1 Receptor*.

mTOR: *Mammalian Target of Rapamycin*.

MUC2: *Mucin 2, Oligomeric Mucus/Gel-Forming*.

MUC3A: *Mucin 3A, Cell Surface Associated*.

MUTYH: *MutY DNA Glycosylase*.

MYC: *MYC Proto-Oncogene, BHLH Transcription Factor*.

MYD88: *MYD88 Innate Immune Signal Transduction Adaptor*.

MYT1: *Myelin Transcription Factor 1*.

NES: *Normalized Enrichment Score*.

NET1: *Neuroepithelial Cell Transforming 1*.

NEUROD1: *Neuronal Differentiation 1*.

NEUROG3: *Neurogenin 3*.

NF-1: *Neurofibromatosis tipo 1*.

NF- $\kappa$ B: *Factor nuclear kappa light chain enhancer of activated B cells*.

NF1: *Neurofibromin 1*.

NFASC: *Neurofascin*.

NGS: *Next Generation Sequencing*.

NIPBL: *NIPBL Cohesin Loading Factor*.

NK: *Natural Killer*.

NKX2: *NK2 Homeobox*.

NMF: *Non-negative-matrix factorization*

NNE: *Neoplasia neuroendocrina*.

NNe-GEP: *Neoplasia neuroendocrina gastroenteropancreática*

NOSTRIN: *Nitric Oxide Synthase Trafficking*.

NOTCH1: *Notch Receptor 1*.

NOTCH2: *Notch Receptor 2*.

NOTCH3: *Notch Receptor 3*.  
NOTCH4: *Notch Receptor 4*.  
NOTCH: *Notch Receptor*.  
NOVA1: *NOVA Alternative Splicing Regulator 1*.  
NRCAM: *Neuronal Cell Adhesion Molecule*.  
NRXN1: *Neurexin 1*.  
NSD1: *Nuclear Receptor Binding SET Domain Protein 1*.  
NXPE1: *Neurexophilin And PC-Esterase Domain Family Member 1*.  
NXPH1: *Neurexophilin 1*.  
ODX: *Oncotype DX*.  
OLFM4: *Olfactomedin 4*.  
OMS: *Organización Mundial de la Salud*.  
ONECUT1: *One Cut Homeobox 1*.  
ONECUT2: *One Cut Homeobox 2*.  
OR3A1: *Olfactory Receptor Family 3 Subfamily A Member 1*.  
OR51S1: *Olfactory Receptor Family 51 Subfamily S Member 1*.  
OTP: *Orthopedia Homeobox*.  
OTX1: *Orthodenticle Homeobox 1*.  
PAK3: *P21 (RAC1) Activated Kinase 3*.  
PAK6: *P21 (RAC1) Activated Kinase 6*.  
PBXIP1: *PBX Homeobox Interacting Protein 1*.  
PCA: *Análisis de componente principales*.  
PCDHA9: *Protocadherin Alpha 9*.  
PCGF2: *Polycomb Group Ring Finger 2*.  
PCR: *Reacción en cadena de la polimerasa*.  
PD1: *Programmed cell death protein 1 receptor*.  
PDGF-R: *Platelet Derived Growth Factor Receptor*.  
PDGFRA: *Platelet Derived Growth Factor Receptor Alpha*.  
PDL1: *Programmed death-ligand 1*.  
PDM: *Posiciones diferencialmente metiladas*.  
PDX1: *Pancreatic And Duodenal Homeobox 1*.  
PDZRN3: *PDZ Domain Containing Ring Finger 3*.

PEG10: *Paternally Expressed 10*.

PGH: *Proyecto Genoma Humano*.

PHF21A: *PHD Finger Protein 21A*.

PHF8: *PHD Finger Protein 8*.

PIGR: *Polymeric Immunoglobulin Receptor*.

PIK3C2G: *Phosphatidylinositol-4-Phosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Type 2 Gamma*.

PIK3CA: *Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha*.

PILRB: *Paired Immunoglobulin Like Type 2 Receptor Beta*.

PITX2: *Paired Like Homeodomain 2*.

PITX3: *Paired Like Homeodomain 3*.

PKD2: *Polycystin 2, Transient Receptor Potential Cation Channel*.

PLAG1: *PLAG1 Zinc Finger*.

PNMA1: *PNMA Family Member 1*.

PODXL: *Podocalyxin Like*.

PPM1N: *Protein Phosphatase, Mg<sup>2+</sup>/Mn<sup>2+</sup> Dependent 1N (Putative)*.

PPP2R2B: *Protein Phosphatase 2 Regulatory Subunit Bbeta*.

PRDM1: *PR/SET Domain 1*.

PROCR: *Protein C Receptor*.

PROM1: *Prominin 1*.

PROX1: *Prospero Homeobox 1*.

PRR5L: *Proline Rich 5 Like*.

PRSS3: *Serine Protease 3*.

PSD3: *Pleckstrin And Sec7 Domain Containing 3*.

PSIP1: *PC4 And SFRS1 Interacting Protein 1*.

PTEN: *Phosphatase and tensin homolog*.

PTF1A: *PÁNCREAS Associated Transcription Factor 1a*.

PTGER2: *Prostaglandin E Receptor 2*.

PTP: *Proteína tirosín fosfatasa*

PTPRK: *Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type K*.

PTPRN2: *Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type N2*.

PTPRN: *Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type N*.

PTTG1IP: *PTTG1 Interacting Protein*.

PYGL: *Glycogen Phosphorylase L*.

PYY: *Peptide YY*.

qPCR: *Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa*.

QPCT: *Glutaminyl-Peptide Cyclotransferase*.

R2: *Coeficiente de determinación*.

RALGPS: *Ral Guanine Nucleotide Dissociation Stimulator*.

RANK: *Receptor Activator Of Nuclear Factor Kappa B*.

RAP1GAP2: *RAP1 GTPase Activating Protein 2*.

RASSF1: *Ras Association Domain Family Member 1*.

RASSF1A: *Ras Association Domain Family Member 1A*.

RB1: *RB Transcriptional Corepressor 1*.

RET: *Ret Proto-Oncogene*.

RGS11: *Regulator Of G Protein Signaling 11*.

RGS17: *Regulator Of G Protein Signaling 11*.

RHOT2: *Ras Homolog Family Member T2*.

RICTOR: *RPTOR Independent Companion Of MTOR Complex 2*.

RRIAD1: *Regulatory Subunit Of Type II PKA R-Subunit Domain Containing 1*.

RIMBP2: *RIMS Binding Protein 2*.

RIMS2: *Regulating Synaptic Membrane Exocytosis 2*.

RNA-seq: *RNA sequencing*.

RNASE1: *Ribonuclease A Family Member 1, Pancreatic*.

ROBO1: *Roundabout Guidance Receptor 1*.

RPH3A: *Rabphilin 3A*.

RPKM: *Reads Per Kilobase per Million*.

RPP25: *Ribonuclease P And MRP Subunit P25*.

RPS27L: *Ribosomal Protein S27 Like*.

RPS6KA6: *Ribosomal Protein S6 Kinase A6*.

RRBP1: *Ribosome Binding Protein 1*.

RTN1: *Reticulon 1*.

RUNDC3A: *RUN Domain Containing 3A*.

S100: *S100 Calcium Binding Protein*.

SARDH: *Sarcosine Dehydrogenase*.

SCAMP5: *Secretory Carrier Membrane Protein 5*.

SCG3: *Secretogranin III.*

SCG4: *Secretogranin IV.*

SCG5: *Secretogranin V.*

SCRT2: *Scratch Family Transcriptional Repressor 2.*

SEC31A: *SEC31 Homolog A, COPII Coat Complex Component.*

SECTM1: *Secreted And Transmembrane 1.*

SEER: *Surveillance, Epidemiology and End Results program.*

SEMA5A: *Semaphorin 5A.*

SERPINB5: *Serpin Family B5.*

SETD1B: *SET Domain Containing, Histone Lysine Methyltransferase 1B.*

SETD2: *SET Domain Containing, Histone Lysine Methyltransferase 2.*

SETDB1: *SET Domain Containing, Histone Lysine Methyltransferase B1.*

SH3BP2: *SH3 Domain Binding Protein 2.*

SI: *Sucrase-Isomaltase.*

SIK3: *SIK Family Kinase 3.*

SIX2: *SIX Homeobox 2.*

SLAMF7: *SLAM Family Member 7.*

SLC12A2: *Solute Carrier Family 12 Member 2.*

SLC15A1: *Solute Carrier Family 15 Member 1.*

SLC16A1: *Solute Carrier Family 16, Member 1.*

SLC26A11: *Solute Carrier Family 26 Member 11.*

SLC26A3: *Solute Carrier Family 2 Member 2.*

SLC26A5: *Solute Carrier Family 26 Member 5.*

SLC2A2: *Solute Carrier Family 2 Member 2.*

SLC35D3: *Solute Carrier Family 35 Member D3.*

SLC36A2: *Solute Carrier Family 36 Member 2.*

SLC38A11: *Solute Carrier Family 38 Member 11.*

SLC39A3: *Solute Carrier Family 39 Member 3.*

SLC3A1: *Solute Carrier Family 3 Member 1.*

SLC4A10: *Solute Carrier Family 4 Member 10.*

SLC4A4: *Solute Carrier Family 4 Member 4.*

SLC8A2: *Solute Carrier Family 8 Member A2.*

SLIT1: *Slit Guidance Ligand 1.*

SLP: Supervivencia libre de progresión

SMAD4: *SMAD Family Member 4.*

SMARCA1: *SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin A1.*

SMARCA2: *SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin A2.*

SMARCA4: *SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin A4.*

SMARCB2: *SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin B2.*

SMARCC1: *SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin C1.*

SMOX: *Spermine Oxidase.*

SN1: Subtipo Neuroendocrino 1.

SN2: Subtipo Neuroendocrino 2.

SN3 Subtipo Neuroendocrino 3.

SN: Subtipo Neuroendocrino.

SNAP25: *Synaptosome Associated Protein 25.*

SNPs: *Single Nucleotide Polymorphisms.*

SOCS3: *Suppressor Of Cytokine Signaling 3.*

SOGA3: *SOGA Family Member 3.*

SOX1: *SRY-Box Transcription Factor 1.*

SOX9: *SRY-Box Transcription Factor 9.*

SP1: *Sp1 Transcription Factor.*

SPINK1: *Serine Peptidase Inhibitor Kazal Type 1.*

SSBP2: *Single Stranded DNA Binding Protein 2.*

Sst: Somatostatina

SST1: Somatostatin

SSTR1: *Somatostatin receptor 1.*

SSTR2: *Somatostatin receptor 2.*

SSTR3: *Somatostatin receptor 3.*

SSTR5: *Somatostatin receptor 5.*

ST14: *ST14 Transmembrane Serine Protease Matriptase.*

STAG1: *Stromal Antigen 1.*

STEAP4: *STEAP4 Metalloreductase.*

STMN3: *Stathmin 3.*

STXBP1: *Syntaxin Binding Protein 1.*

STZ: Estreptozocina.

SYK: *Spleen Associated Tyrosine Kinase*.

SYPL2: *Synaptophysin Like 2*.

SYT14: *Synaptotagmin 14*.

SYT7: *Synaptotagmin 7*.

TBCD: *Tubulin Folding Cofactor D*.

TCEA3: *Transcription Elongation Factor A3*.

TCEAL2: *Transcription Elongation Factor A Like 2*.

TCEAL3: *Transcription Elongation Factor A Like 3*.

TCF21: *Transcription Factor 21*.

TCGA: *Tumor Cancer Genomic Atlas*

TCN1: *Transcobalamin 1*.

TERT: *Telomerase Reverse Transcriptase*.

TGF- $\beta$  : *Transforming Growth Factor Beta*.

TGFB1: *Transforming Growth Factor Beta 1*.

THOC1: *THO Complex Subunit 1*.

TLE2: *TLE Family Member 2, Transcriptional Corepressor*.

TLE6: *TLE Family Member 6, Subcortical Maternal Complex Member*.

TMB: *Tumor mutational burden*.

TMEM123: *Transmembrane Protein 123*.

TMEM171: *Transmembrane protein family 171*.

TMM: *Trimmed Mean of M-values*.

TNE: Tumor neuroendocrino.

TNe-GEP: Tumor neuroendocrino gastroenteropancreático

TNEPan: Tumores neuroendocrinos pancreáticos.

TNEPi: Tumores neuroendocrinos pituitarios.

TNFA: *Tumor Necrosis Factor Alpha*.

TNFAIP8: *TNF Alpha Induced Protein 8*.

TNFRSF10D: *TNF Receptor Superfamily Member 10d*.

TNFRSF11A: *TNF Receptor Superfamily Member 11A*.

TNFSF10: *TNF Superfamily Member 10*.

TOX2: *TOX High Mobility Group Box Family Member 2*.

TP53: *Tumor Protein P53*.

TRAF4: *TNF Receptor Associated Factor 4.*

TRPC1: *Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily C Member 1.*

TSC1: *Tuberous sclerosis complex 1.*

TSC2: *Tuberous sclerosis complex 2.*

TSPAN15: *Tetraspanin 15.*

TSPYL2: *TSPY Like 2.*

TTYH2: *Tweety Family Member 2.*

TUB: *TUB Bipartite Transcription Factor.*

TUSC3: *Tumor Suppressor Candidate 3.*

TWIST1: *Twist Family BHLH Transcription 1.*

TXNDC17: *Thioredoxin Domain Containing 17.*

UAP1: *UDP-N-Acetylglucosamine Pyrophosphorylase 1.*

UGT1A1: *UDP Glucuronosyltransferase Family 1 Member A1.*

UGT2B15: *UDP Glucuronosyltransferase Family 2 Member B15.*

UGT: *UDP Glucuronosyltransferase Family.*

UNC13A: *Unc-13 Homolog A.*

UNC79: *Unc-79 Homolog, NALCN Channel Complex Subunit.*

UQ: *Upper Quartil.*

USP4: *Ubiquitin Specific Peptidase 4.*

VAMP8: *Vesicle Associated Membrane Protein 8.*

VAX2: *Ventral Anterior Homeobox 2.*

VEGF-R: *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor.*

VHL: *Von Hippel- Lindau.*

VIP: *Vasoactive Intestinal Peptide.*

VIPER: *Virtual Inference of Protein-activity by Enriched Regulon analysis.*

WDR26: *WD Repeat Domain 26.*

WNT6: *Wnt Family Member 6.*

WWTR1: *WW Domain Containing Transcription Regulator 1.*

YAP1: *Yes1 Associated Transcriptional Regulator.*

ZDHHC20: *Zinc Finger DHHC-Type Palmitoyltransferase 20.*

ZNF334: *Zinc Finger Protein 334.*

ZNF337: *Zinc Finger Protein 337.*

ZNF483: *Zinc Finger Protein 334.*

ZNF705A: *Zinc Finger Protein 705A.*

ZNF765: *Zinc Finger Protein 765.*

ZNF7: *Zinc Finger Protein 7.*

## 5 INTRODUCCIÓN

---

## 5.1 LA ERA DE LAS ÓMICAS

El importante desarrollo de la tecnología de los últimos años ha impulsado el avance meteórico del conocimiento de las bases moleculares sobre las que se rigen los procesos biológicos, implicados tanto en el funcionamiento normal de los organismos, como en el contexto de múltiples enfermedades. El desarrollo de la secuenciación de ADN en 1975 por Sanger y Couson<sup>1</sup> supuso el primer paso en el análisis genómico de las principales especies, desde el bacteriófago  $\phi$ X174 hasta el *Homo Sapiens*. La era de la genómica comenzó en 1990 con el estudio completo del genoma humano (Proyecto Genoma Humano (PGH)) mediante la tecnología de Sanger, donde una fuerte inversión económica de unos 3.000 millones de dólares y el trabajo conjunto de 20 centros de secuenciación de seis países diferentes, posibilitó la primera secuenciación completa del ADN humano en 10 años<sup>2,3</sup>. En la actualidad, y con la llegada de los secuenciadores de ADN de nueva generación (*Next Generation Sequencing* o NGS), el tiempo estimado para la obtención del genoma completo de una muestra puede oscilar entre 0,5 y 72 horas<sup>4,5</sup>, con un coste aproximado de 700 dólares. Esta drástica disminución en tiempo y coste ha fomentado el crecimiento exponencial de estudios que muestran las bases genéticas asociadas con diferentes procesos biológicos en el contexto de la salud y la enfermedad.

Además, el desarrollo tecnológico también ha permitido descifrar otros niveles de información genética de una célula como el perfil de expresión del ácido ribonucleico (ARN) o transcriptoma, de proteínas (proteoma) o de los mecanismos implicados en la modificación de la expresión de genes sin modificar la secuencia del ADN (epigenoma). Así pues, actualmente nos encontramos en lo que se conoce como la “era de la post-genómica”, donde el gen ha dejado de ser la única entidad molecular de estudio, siendo fundamental el análisis completo de todos los niveles de la información molecular para explicar la funcionalidad de las células<sup>3</sup>.

### 5.1.1 Genómica

Se conoce como genómica al estudio del conjunto completo del ácido desoxirribonucleico (ADN), incluyendo todos los genes que conforman un genoma de un organismo, que generalmente se lleva a cabo mediante la obtención de la secuencia de nucleótidos del ADN. En la actualidad, esta práctica se realiza utilizando tecnologías NGS (*Next Generation Sequencing*). Estas tecnologías pueden ser: i) de segunda generación, que son las

más utilizadas y las primeras que permitieron la secuenciación simultánea de varios genes; o ii) de tercera generación que, a diferencia de las de segunda generación, permiten la obtención de la secuencia de una molécula única sin necesidad de realizar una amplificación previa del ADN con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)<sup>6</sup>.

Existen diferentes equipos para la tecnología de secuenciación de segunda generación que se diferencian principalmente en los procesos químicos requeridos para su desarrollo, entre los que se encuentra la pirosecuenciación, la secuenciación por pH y la secuenciación por fluorescencia actualmente desarrollada por Illumina<sup>6</sup>.

Tras el proceso de secuenciación, se obtienen los nucleótidos que forman las múltiples cadenas de ADN que se obtuvieron en la fragmentación (lecturas), pero se desconoce la localización de cada una de ellas. Así, el siguiente paso implica un alineamiento que mapee las lecturas sobre un genoma ordenado, al que se denomina genoma de referencia. Una vez que los fragmentos estén ordenados y alineados, se podrá comparar la secuencia obtenida con las bases del genoma de referencia identificando variaciones en la secuencia, denominadas mutaciones o polimorfismos, en función de la frecuencia con la que se encuentren en la población general<sup>7,8</sup>.

La genómica es de gran utilidad en múltiples campos relacionados con la biología, como la medicina, la biotecnología o la antropología, entre otros<sup>9-11</sup>. Concretamente en medicina, el estudio del genoma humano ha permitido descubrir las causas genéticas de una infinidad de enfermedades, lo que se traduce en una mejora de su diagnóstico, tratamiento y prevención. Un ejemplo claro de cómo la secuenciación de nueva generación ha supuesto un gran avance en el conocimiento de las bases moleculares de enfermedades complejas es el cáncer<sup>11</sup>.

El cáncer es un conjunto de enfermedades que, en la mayoría de los casos, acumulan una serie de alteraciones genéticas o epigenéticas que ofrecen ventajas selectivas a ciertas células, lo que aumenta su capacidad de proliferación, de migración y de supervivencia. Entre estas alteraciones se encuentran las mutaciones conductoras o *drivers*, que favorecen la tumorigénesis y la progresión tumoral. Las mutaciones que afectan a genes con funciones pro-oncogénicas suelen localizarse en zonas concretas, dando lugar a un aumento de la funcionalidad de la proteína resultante, mientras que las que afectan a genes supresores tumorales están habitualmente distribuidas a lo largo de todo el gen y producen una pérdida de función<sup>12</sup>. En las enfermedades neoplásicas estas mutaciones se adquieren habitualmente durante la replicación del ADN en la mitosis (mutaciones somáticas), aunque en ocasiones tienen lugar durante la meiosis, traduciéndose en patologías hereditarias que pueden

aumentar de manera significativa el riesgo de desarrollar determinados tipos de cáncer. El estudio de las bases genéticas implicadas en los síndromes de predisposición hereditaria al cáncer ha facilitado la identificación de los genes más relevantes relacionados con la carcinogénesis de múltiples tumores. Un ejemplo de ello lo encontramos en las mutaciones en los genes implicados en distintos mecanismos de reparación de ADN, como *BRCA1* y *BRCA2*, que aumentan el riesgo de cáncer de mama, ovario, páncreas o próstata, o *MLH1*, *MSH2* y *MSH6*, que aumentan el riesgo de desarrollar cáncer de endometrio o cáncer colorrectal, entre otros<sup>13,14</sup>. La detección de mutaciones germinales en estos genes permite identificar individuos portadores antes del desarrollo de la enfermedad, e implementar estrategias de cribado o diagnóstico precoz, aumentando así la eficacia del tratamiento con fines curativos, y mejorando en consecuencia el pronóstico de los pacientes. Además, la aplicación de estas tecnologías a la caracterización de las alteraciones moleculares somáticas de los tumores ha supuesto una revolución en el tratamiento de enfermedades oncológicas, permitiendo el desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas y personalizadas que actúan sobre las proteínas alteradas<sup>15</sup>. Un ejemplo de ello lo podemos ver en el gen del receptor de crecimiento epidérmico (*EGFR*). La activación de este receptor se asocia con un aumento de la proliferación y migración celular que, en condiciones fisiológicas, se activa durante la regeneración de tejidos. La mutación de este gen produce una activación constitutiva de la proteína, generando una proliferación celular descontrolada<sup>16</sup>. Los pacientes de cáncer de pulmón que presentan determinadas mutaciones en este gen pueden beneficiarse del tratamiento dirigido con inhibidores de *EGFR*<sup>17</sup>. Sin embargo, estos pacientes eventualmente desarrollan resistencia adquirida al tratamiento<sup>18</sup>. El estudio dinámico de las alteraciones genéticas a lo largo de la evolución de la enfermedad es por ello fundamental, y ha sido facilitado enormemente por el desarrollo de la biopsia líquida, que analiza el ADN tumoral circulante mediante técnicas poco invasivas para el paciente<sup>19</sup>. No obstante, la introducción de otras ómicas en los estudios moleculares que complementen la información genómica es también esencial para avanzar y desarrollar tratamientos nuevos y personalizados para cada paciente<sup>20</sup>.

### **5.1.2 Transcriptómica**

Se define como transcriptómica al estudio de los niveles de expresión de todos los genes transcritos (ARN) de una célula o un conjunto de células. En la actualidad podemos diferenciar tres tecnologías para desarrollar este tipo de estudios: los *microarrays* de expresión, la

secuenciación de ARN (*RNA-seq*) y la secuenciación de ARN de célula única (*single cell RNA-seq*).

**a) Microarrays de expresión:** la tecnología de *microarrays* se basa en el uso de chips que contienen secuencias de ADN complementario (ADNc) denominadas sondas, que son capaces de hibridar con el ARN de una muestra, purificada y marcada con fluorescencia. Las sondas presentes en el *microarray* están diseñadas para cubrir la mayoría de los genes de secuencia conocida. Tras la hibridación del ARN con el chip, se cuantifica la señal lumínica de cada sonda que refleja la expresión de los genes identificados<sup>21</sup>.

**b) Secuenciación de ARN (*RNA-seq*):** en este caso, el ARN extraído de la muestra problema es retrotranscrito en ADNc, que será secuenciado mediante tecnología NGS. A diferencia de la secuenciación de ADN, donde se obtienen las variantes respecto al genoma de referencia tras el alineamiento, en la secuenciación de ARN se cuantifica el número de lecturas que alinean con cada gen. Estas lecturas se deben normalizar para poder comparar el resultado de la secuenciación de varias muestras (por ejemplo, varios pacientes), ya que pueden diferir en la cantidad total de lecturas<sup>21,22</sup>. La ventaja que presenta la secuenciación de ARN con respecto a los *microarrays* es que permite la obtención del transcriptoma completo, mientras que las sondas que forman parte del diseño del array cubren solo un porcentaje del genoma. Aunque el análisis de datos es más complejo que en los datos generados por *microarrays*, el *RNA-seq* es más sensible para detectar genes con baja y alta expresión<sup>23</sup>.

**c) Firmas transcriptómicas de utilidad clínica en cáncer:** el estudio del transcriptoma en cáncer ha permitido explicar rasgos clínicos específicos en grupos de pacientes, así como identificar biomarcadores de diagnóstico, pronóstico o predictivos de respuesta a algunos tratamientos. El cáncer de mama es el ejemplo paradigmático en el cual varias de estas firmas (Oncotype DX (ODX)<sup>®</sup>; MammaPrint (MP)<sup>®</sup>; Prosign<sup>®</sup>; Breast Cancer Index (BCI)<sup>®</sup> y Endopredict<sup>®</sup>) se han implementado en la práctica clínica, fundamentalmente por su aportación en la predicción del riesgo de recurrencia tras la cirugía en distintos contextos clínicos, que mejora la estratificación pronóstica por criterios clínicos, y permite reducir el tratamiento adyuvante en las pacientes de bajo riesgo<sup>24-27</sup>.

Las firmas transcriptómicas también han sido de gran utilidad para subclasificar biológicamente a los tumores<sup>28,29</sup> y potencialmente identificar vulnerabilidades terapéuticas específicas de cada subtipo molecular. No obstante, su papel predictivo de respuesta a terapias específicas es más controvertido, y no han sido validadas para su implementación en la

práctica clínica hasta la fecha<sup>30-32</sup>. En el contexto de las neoplasias neuroendocrinas (NNEs), la firma transcriptómica con mayor desarrollo clínico es el NETest.

El NETest es una firma de genes cuya expresión en sangre medida por PCR ha demostrado tener diversas utilidades clínicas. En su desarrollo inicial, con fines diagnósticos, se seleccionaron 51 genes capaces de identificar NNEs gastroenteropancreáticas (NNe-GEP) frente a muestras controles, con una sensibilidad del 85-95% y una especificidad del 93-97%. La identificación se basa en el uso de cuatro algoritmos diferentes de inteligencia artificial entrenados que generan *scores* que van de 0 a 8<sup>33</sup>.

Estos genes pueden agruparse en base a su función biológica en ocho *clusters* o grupos funcionales diferentes, seis de los cuales son capaces de predecir la agresividad del tumor (SSTRoma, proliferoma, metaboloma, secretoma, epigenoma y pluroma). La nueva clasificación diferencia los tumores de baja actividad (0-44%), actividad intermedia (41-79%) y alta actividad (80-100%), siendo capaz de predecir la agresividad de la enfermedad. Además, el NETest ha demostrado tener mayor capacidad diagnóstica y precisión pronóstica que otros biomarcadores clásicos, como la cromogranina A, así como capacidad para monitorizar para la respuesta a análogos de somatostatina y a la terapia con radioligandos<sup>34,35</sup>.

Debido a la heterogeneidad tumoral, se han desarrollado métodos de análisis transcriptómicos que diferencian la expresión génica en una sola célula o grupo de células del mismo tipo (*single cell RNA-seq*). Además, aunque los datos transcripcionales recogidos de una muestra tumoral contienen la información de expresión de todos los tipos de células que forman parte de ella, existen métodos que permiten inferir la composición específica del microambiente tumoral a partir de los datos globales<sup>36,37</sup>. Esto es muy relevante ya que el microambiente tumoral establece una interacción dinámica con las células neoplásicas, lo cual juega un papel clave en el desarrollo de la enfermedad y su respuesta a distintas terapias<sup>38-40</sup>. Una prueba de ello es el valor pronóstico y predictivo de respuesta a la inmunoterapia que tiene la infiltración tumoral de diferentes poblaciones inmunes<sup>38</sup>. No obstante, aunque el transcriptoma es una herramienta útil para conocer la biología del cáncer y para la identificación de biomarcadores de utilidad clínica, los datos que se obtienen son una representación parcial de una compleja red de regulación molecular donde intervienen otros mecanismos relevantes en el desarrollo de la enfermedad, así que al igual que ocurriría con la genómica, es fundamental complementar estos análisis con otras ómicas (genómica, metiloma, proteómica..) para obtener una información más precisa de la enfermedad.

### 5.1.3 Metilómica

La metilómica es el estudio de los niveles de metilación del genoma de una o un conjunto de células. La metilación del ADN es considerada un evento epigenético, es decir, un cambio que regula la expresión de los genes sin cambiar la secuencia de ADN. Los cambios epigenéticos por metilación implican la ganancia de un grupo metilo ( $-\text{CH}_3$ ) en una citosina que conforma la cadena de ADN. Las citosinas que adquieren esta modificación se sitúan habitualmente en regiones del genoma ricas en citosinas y guaninas llamadas islas CpGs, que se localizan con frecuencia en zonas reguladoras del gen. La adición de los grupos metilo inducen un cambio estructural de esa región, que habitualmente se traduce en una disminución de la expresión génica<sup>41</sup>.

Las principales técnicas que permiten obtener este tipo de perfiles son los *arrays* de metilación y la secuenciación de bisulfito.

**a) Arrays de Metilación:** se basan en el genotipado de ADN transformado con bisulfito. El ADN tratado con bisulfito hace que las citosinas que no estén metiladas formen uracilos, mientras que las metiladas se mantienen sin cambios. Mediante dos tipos de sondas, se identificarán las regiones metiladas y las no metiladas. Una vez que el ADN de la muestra se ha hibridado, se incorporan dNTPs marcados con fluorescencia, donde las timinas y adeninas se marcan con un color y las guaninas y citosinas con otro. Al final, el nivel de metilación se determina por la ratio de fluorescencia entre las zonas metiladas y no metiladas<sup>42</sup>.

**b) Secuenciación Bisulfito:** se basa en la obtención de la secuencia de ADN previamente transformada con bisulfito, al igual que en el caso de los *arrays* de metilación. Tras la acción del compuesto químico, se amplifica el ADN mediante PCR y se hace un proceso de clonado. El ADN resultante se secuencia y se alinea con el genoma de referencia. Como el proceso realizado hace que todas las citosinas no metiladas se transformen en timina, los picos de citosinas que se detectan indican que en esa región se encuentra ADN metilado<sup>43</sup>.

**c) Firmas de metilación con utilidad en cáncer:** los cambios epigenéticos son eventos fundamentales durante el desarrollo de la tumorigénesis, especialmente las hiper/hipometilaciones que se producen en oncogenes y/o genes supresores tumorales concretos<sup>44</sup>. Al igual que con el genoma y el transcriptoma, los datos metilómicos han demostrado tener un gran valor en el diagnóstico y pronóstico de algunos tipos de cáncer. Así, algunas herramientas de utilidad clínica basadas en rasgos de metilación se encuentran

aprobadas por la FDA (*Food and Drug Administration*). Un ejemplo de ello es *AssureMDx™*, que se basa en el perfil de metilación de tres genes (*OTX1*, *ONECUT2* y *TWIST1*) en muestras de orina y ayuda a identificar los pacientes a riesgo de desarrollar cáncer de vejiga<sup>45</sup>. Otro ejemplo es el *kit theascreen®PITX2 RGQ PCR*, que es una prueba de PCR en tiempo real que determina la ratio de metilación en el promotor 2 del homeobox 2 de la pituitaria (*PITX2*) en muestras tumorales y predice la respuesta a quimioterapia adyuvante basada en antraciclinas en pacientes con cáncer de mama de alto riesgo con receptores de estrógenos y progesterona positivos y *HER2* negativo<sup>46</sup>.

## 5.2 NEOPLASIAS NEUROENDOCRINAS (NNEs)

### 5.2.1 Epidemiología

La incidencia de las neoplasias neuroendocrinas es baja, si bien no ha parado de aumentar a lo largo de las últimas décadas, siendo de 8,61 nuevos casos cada 100.000 habitantes al año en los datos más recientemente publicados de un registro poblacional Europeo<sup>47</sup>. El incremento de la incidencia observado en las últimas décadas se cree que es debido fundamentalmente al aumento en el conocimiento de estos tumores, así como a la mejora de las técnicas diagnósticas. Los tumores neuroendocrinos (TNEs) de mayor incidencia se originan en el tracto gastroenteropancreático (GEP) (3,56 casos nuevos anuales por cada 100.000 habitantes) y en el pulmón (1,47-1,49 nuevos casos/10<sup>5</sup> habitantes/año). Dentro de las NNe-GEP, las localizaciones más frecuentes son el intestino delgado (1,05-1,46/10<sup>5</sup>/año), recto 1,04/10<sup>5</sup>/año, páncreas 0,48-1/10<sup>5</sup>/año, y el apéndice (0,95/10<sup>5</sup>/año)<sup>47,48</sup>. La supervivencia de los pacientes con NNEs ha mejorado notablemente en los últimos años, con una reducción del riesgo de muerte de un 21% para tumores diagnosticados en el periodo 2009-2012 comparado con los diagnosticados en 2000-2004<sup>48</sup>. Esta mejoría pronóstica es particularmente relevante en TNEs GEP con enfermedad avanzada (HR, 0,71)<sup>48</sup>. El pronóstico de las NNEs es muy variable en función de la edad, el sexo, la localización del tumor primario, la diferenciación histológica, el grado y el estadio al diagnóstico<sup>47-49</sup>. Así, las medianas de supervivencia oscilan de manera muy amplia entre los estadios localizados y avanzados (30 años vs 1 año), de G1 a G3 (16,2 años vs 10 meses), y en función de la localización anatómica, siendo el apéndice y el recto las localizaciones con tasas más altas de supervivencia (>30 y 26,6 años, respectivamente), y el pulmón y páncreas las que tienen tasas más bajas (5,5 y 3,6 años,

respectivamente). No obstante, a pesar de su baja incidencia, su larga supervivencia comparado con otros tumores sólidos hace que su prevalencia sea notable, siendo el segundo tumor más prevalente en el tracto digestivo después del adenocarcinoma colorrectal<sup>48</sup>. Estos datos ponen de manifiesto la relevancia de las NNEs como un problema de salud a pesar de ser consideradas como una enfermedad rara, mostrando la importancia de ahondar en su conocimiento para mejorar el pronóstico y la calidad de vida de estos pacientes.

### **5.2.2 Origen, características y presentación de las NNEs**

Las NNEs se originan en células neuroendocrinas que se encuentran distribuidas de manera difusa por todo el organismo, aunque predominan en el tracto gastrointestinal y el árbol traqueobronquial, pudiendo formar islotes celulares dentro de órganos con componente glandular como el páncreas y el tiroides, u organizarse en glándulas endocrinas como la hipófisis, las paratiroides, las adrenales o los paraganglios. Se han descrito al menos 17 tipos de células neuroendocrinas, capaces de sintetizar y secretar hormonas peptídicas o aminas biogénicas específicas, cuyo exceso puede dar lugar a síndromes clínicos característicos. A pesar de ello, todas ellas comparten la expresión de proteínas endocrinas como los receptores de somatostatina y neuronales como la sinaptofisina y la cromogranina A (CgA), de ahí su denominación de células neuroendocrinas<sup>50</sup>. Dentro de los tipos celulares que forman el sistema neuroendocrino difuso se encuentran las células neuroendocrinas pulmonares (CNEP) que pueden encontrarse aisladas dentro del parénquima o formando pequeños grupos de células llamados cuerpos neuroendocrinos. Aunque su función no está del todo bien elucidada, las hormonas secretadas por estas células parecen afectar a los sistemas de detección de oxígeno, el flujo sanguíneo pulmonar, el tono bronquiolar y la respuesta inmune, además de ser células que tienen un papel fundamental en la regeneración de tejidos a través de la reprogramación celular<sup>51</sup>. Las hormonas secretadas por estas células incluyen la serotonina, calcitonina, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, péptido liberador de gastrina y ácido gamma-aminobutírico, además de CgA y sinaptofisina (Tabla 1). Por otro lado, las células endocrinas que se encuentran solitarias por el tracto gastrointestinal se denominan enteroendocrinas (CEEs) y su función varía según el órgano en el que se encuentren<sup>51</sup>. Por ejemplo, las CEEs gástricas se clasifican en células G (gastrina), D (somatostatina), enterocromafines (CECs) (serotonina), similares a las enterocromafines (CSECs) (histamina) y X (greлина). La hormona más relacionada con la función gástrica es la gastrina, secretada por

las células G que estimulan la secreción de histamina por las CSEC regulando la producción de ácido gástrico de las células vecinas. Sin embargo, la mayoría de losTNEs gástricos parecen proceder de CECs (Tabla 1).

Entre las funciones de las CEEs intestinales está la regulación de la digestión y absorción de nutrientes, el apetito y la motilidad intestinal. De esta manera en los intestinos delgado y grueso se pueden encontrar también CECs, células X, y D además de células I (colecistocinina), K (péptido inhibitorio de gastrina), L (péptido similar al glucagón), S (secretina) y N (neurotensina)<sup>51</sup>. Actualmente existen indicios de que son las CECs aquellas que darían lugar a los TNEs de intestino delgado ya que estos tumores secretan con frecuencia serotonina. Sin embargo, en el caso del intestino grueso se cree que el origen podría estar en las células G o D debido a que tienen mayor secreción de gastrina y de somatostatina (Tabla 1).

Por último, las células endocrinas pancreáticas (CEPs) se clasifican en alfa (glucagón), beta (insulina), gamma (polipéptido pancreático), delta (somatostatina) y épsilon (greлина), y están encargadas de regular el metabolismo de nutrientes, la digestión y la homeostasis de la glucosa<sup>51</sup> (Tabla 1).

Tabla 1. Hormonas secretadas por células neuroendocrinas y su función fisiológica.

| HORMONA                                          | CÉLULA                            | FUNCIÓN                                                                                                                                                     |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Calcitonina                                      | CNEP                              | Flujo de sangre pulmonar y tono bronquial                                                                                                                   |
| Péptido relacionado con el gen de la calcitonina | CNEP                              | Vaso-regulación, bronquioprotección y reclutamiento de sistema inmune                                                                                       |
| Péptido liberador de gastrina                    | CNEP                              | Regulación de la producción de moco y citoquinas relacionados con procesos de inflamación.                                                                  |
| Ácido gamma-aminobutírico                        | CNEP y CEPs                       | Regulación de la producción de moco y citoquinas relacionados con procesos de inflamación.                                                                  |
| Somatostatina                                    | CNEP, células D y células delta   | Inhiben la secreción de insulina, glucagón serotonina, gastrina y péptido YY                                                                                |
| Péptido intestinal vasoactivo (VIP)              | CNEP y CEEs                       | Actúa como neurotransmisor, regulador inmune, vasodilatador y secretor                                                                                      |
| Histamina                                        | CNEP y CECs gástricas             | Estimula la secreción de ácido gástrico                                                                                                                     |
| Grelina                                          | CNEP, células I y células epsilon | Estimula el apetito, promueve la gluconeogénesis y aumenta la secreción de ácido gástrico                                                                   |
| Colecistocinina                                  | CENEP y células I                 | Estimula la contracción de la vesícula, la secreción de enzimas pancreáticas, la motilidad intestinal y la saciedad e inhibe la secreción de ácido gástrico |
| Serotonina                                       | CNEP y CEEs                       | Regulan la vasodilatación y la contracción del músculo liso                                                                                                 |
| Secretina                                        | CEEs gástricas                    | Estimula la liberación de bicarbonato y agua para neutralizar el ácido gástrico                                                                             |
| Péptido inhibidor de gastrina (GIP)              | CEEs (Células K)                  | Inhibe la secreción de insulina y en menor medida la secreción de ácido gástrico                                                                            |
| Sustancia P (neuropéptido)                       | CEEs (Células EC)                 | Regula la motilidad intestinal y la permeabilidad mucosa                                                                                                    |
| Glucagon-like péptido 1 (GLP-1)                  | CEEs (Células L)                  | Estimula la secreción de insulina e inhibe la secreción de glucagón                                                                                         |
| Neurotensina                                     | CEEs (Células N)                  | Inhibe la secreción de ácido gástrico                                                                                                                       |

Continúa en la siguiente página

|                         |                                           |                                                                                                                                    |
|-------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Glucagón                | CEPs (Células alpha)                      | Aumenta los niveles de glucosa en sangre estimulando la producción de glucosa e inhibiendo el almacenaje de glicógeno en el hígado |
| Insulina                | CEPs (Células beta)                       | Estimula la captación de glucosa por otros tejidos                                                                                 |
| Gastrina                | Células G de estómago, duodeno y páncreas | Estimula la secreción de ácido gástrico                                                                                            |
| Polipéptido Pancreático | CEPs (Células gamma/PP)                   | Inhibe el glucagón y la somatostatina                                                                                              |

CECs: Células enterocromafines; CEEs: Células enteroendocrinas; CEPs: Células endocrinas pancreáticas; CNEPs: Células neuroendocrinas pulmonares

La expresión de los receptores de somatostatina (SSTR) es un rasgo muy característico de los TNEs bien diferenciados y es de gran utilidad diagnóstica y terapéutica (ver apartado 5.2.4.2). Entre el 70-80% de los TNEs gastroenteropancreáticos (TNe-GEP) y pulmonares expresan algún subtipo de SSTR, siendo el SSTR2 el más frecuente. Acorde con sus funciones biológicas, la expresión de SSTR se correlaciona negativamente con el grado tumoral y se asocia a una mejor supervivencia<sup>52</sup>.

Una de las peculiaridades más destacables de los TNEs es su capacidad para secretar hormonas (tumores funcionantes). Alrededor de un 20% de pacientes con TNEs presentan síndromes de hipersecreción hormonal, siendo el síndrome carcinoide (SC) el más común. El SC está ocasionado por el exceso de serotonina y produce un cuadro clínico característico caracterizado por diarrea secretora, sofocos, broncoespasmos, hipotensión y cardiopatía carcinoide por fibrosis valvular. El exceso de secreción de otras hormonas produce otros síndromes menos frecuentes con síntomas relacionados con la hormona que producen<sup>53-55</sup>. Sin embargo, la mayoría de los tumores (80%) son no funcionantes y pueden permanecer asintomáticos hasta etapas avanzadas de la enfermedad. Según los datos del registro SEER (*Surveillance, Epidemiology and End Results program*) americano, la mayoría de los tumores que se diagnostican son localizados (52%) y de bajo grado (51% G1), siendo un porcentaje menor los que debutan con metástasis a distancia (27%) o presentan neoplasias de algo grado (33%).

### **5.2.3 Clasificación de las NNEs**

La amplia distribución anatómica de las NNEs ha llevado al desarrollo de múltiples clasificaciones, no siempre del todo consistentes, dependientes de la localización del tumor primario, de las que se ha desarrollado una nomenclatura compleja y en ocasiones confusa. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha evolucionado progresivamente hacia una clasificación universal basada en la diferenciación tumoral y el grado, definido en función de la tasa de proliferación tumoral. La clasificación de la OMS más reciente (2022) ha incluido, por primera vez, tumores endocrinos y neuroendocrinos<sup>56</sup>. No obstante, persisten ciertos criterios que difieren en función de la localización anatómica, que resumimos a continuación (Tabla 2).

### **5.2.3.1 NNEs gastroenteropancreáticas**

Las NNe-GEP se clasifican en función de la diferenciación histológica en tumores neuroendocrinos bien diferenciados (TNE) o carcinomas neuroendocrinos pobremente diferenciados (CNE). Además, existen neoplasias mixtas neuroendocrinas y no neuroendocrinas denominadas MINEN. Los TNE se subdividen en función de su índice proliferativo en grado 1 (G1), si el índice ki-67 es  $<3\%$  o el índice mitótico  $< 2$  mitosis/ $2\text{mm}^2$ , grado 2 (G2), que tienen un índice proliferativo medio (ki-67  $3\text{-}20\%$  o  $2\text{-}20$  mitosis/ $2\text{mm}^2$ ); y grado 3 (G3), con un ki-67  $> 20\%$  o  $> 20$  mitosis/ $2\text{mm}^2$ . Por el contrario, los CNE son todos G3 y se clasifican en función de la citomorfología de sus células en CNE de célula grande (CNECGs) y CNEs de célula pequeña (CNECPs)<sup>56</sup>.

### **5.2.3.2 NNEs pulmonares y del timo**

Las NNEs de origen pulmonar o tímico se clasifican en función de la diferenciación histológica en TNEs bien diferenciados o carcinoides y CNEs pobremente diferenciados de célula grande o pequeña. Los carcinoides a su vez pueden subclasificarse en función del índice mitótico y la presencia o no de necrosis en carcinoides típicos (CT) (equivalentes a los TNE G1 GEP), con ausencia de necrosis y  $< 2$  mitosis/ $2\text{ mm}^2$ , carcinoides atípicos (CA) (equivalentes a los TNE G2 GEP), que tienen presencia de necrosis y/o un mayor índice mitótico ( $2\text{-}10$  mitosis/ $2\text{mm}^2$ ), y carcinoides con morfología de carcinoide atípico y alto índice mitótico ( $> 10$  mitosis/ $2\text{mm}^2$  y Ki67  $> 30\%$ ) (equivalentes a los TNE G3 GEP)<sup>56</sup>.

### **5.2.3.3 Otros tumores neuroendocrinos**

Otras NNEs epiteliales clasificadas de manera similar a las NNEs GEP son las que se originan en el tracto digestivo superior o en las glándulas salivales, si bien existen pequeñas diferencias en cuanto a los puntos de corte empleados en los índices proliferativos o mitóticos para establecer los grados (Tabla 2). Por el contrario, el carcinoma medular de tiroides (CMT) se clasifica en CMT de bajo grado si presentan  $< 5$  mitosis/ $2\text{ mm}^2$ , no tienen necrosis y el índice Ki67 es  $< 5\%$ , mientras que si presentan necrosis o igualan o superan estos índices de mitosis o Ki67 se denominan CMT de alto grado. Otras NNEs de localizaciones anatómicas menos frecuentes, las NNEs neuronales o las neoplasias endocrinas tienen distintos sistemas de

clasificación que no vamos a describir porque se sale del foco de interés de esta tesis doctoral<sup>56-</sup>

<sup>58</sup>.

Tabla 2. Criterios de clasificación de las neoplasias neuroendocrinas epiteliales según la clasificación de la OMS de 2022.

| TIPO NEOPLASIA NEUROENDOCRINA (NNE)                         | CLASIFICACIÓN                 | CRITERIO DIAGNÓSTICO                                                                        |
|-------------------------------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>NNEs gastroenteropancreáticas (NNe-GEP)</b>              |                               |                                                                                             |
| Tumor Neuroendocrino Bien Diferenciado (TNE)                | TNE G1                        | < de 2 mitosis/2 mm <sup>2</sup> y/o Ki67 <3%                                               |
|                                                             | TNE G2                        | 2-20 mitosis/2 mm <sup>2</sup> y/o Ki67 3-20%                                               |
|                                                             | TNE G3                        | >20 mitosis/2 mm <sup>2</sup> y/o Ki67 >20%                                                 |
| Carcinoma Neuroendocrino Pobrementemente Diferenciado (CNE) | CNE célula grande (CNECG)     | >20 mitosis/2 mm <sup>2</sup> y/o Ki67 >20% y citomorfología de célula grande               |
|                                                             | CNE de célula pequeña (CNECP) | >20 mitosis/2 mm <sup>2</sup> y/o Ki67 >20% y citomorfología de célula pequeña              |
| <b>NNEs de Pulmón y timo</b>                                |                               |                                                                                             |
| Tumor Neuroendocrino Bien Diferenciado (TNE)                | Carcinoide Típico (CT) / G1   | < de 2 mitosis/2 mm <sup>2</sup> y no necrosis                                              |
|                                                             | Carcinoide Atípico (CA) / G2  | 2-10 mitosis/2 mm <sup>2</sup> y/o necrosis                                                 |
|                                                             | TNE de elevada proliferación  | Morfología atípica >10 mitosis/2 mm <sup>2</sup> y/o Ki67 > 30%                             |
| Carcinoma Neuroendocrino Pobrementemente Diferenciado (CNE) | CNE célula grande (CNECG)     | > 10 mitosis/2 mm <sup>2</sup> , siempre con necrosis y morfología de célula grande         |
|                                                             | NEC célula pequeña (CNECP)    | > 10 mitosis/2 mm <sup>2</sup> , frecuentemente con necrosis y morfología de célula pequeña |
| <b>NNEs de Tiroides</b>                                     |                               |                                                                                             |
| Carcinoma Medular de Tiroides (CMT)                         | CMT de bajo grado             | < 5 mitosis/2 mm <sup>2</sup> , no necrosis y Ki67 <5%                                      |
|                                                             | CMT de alto grado             | Al menos una de estas 3 variables: ≥ 5 mitosis/2 mm <sup>2</sup> necrosis Ki67 ≥5%          |

CMT: Carcinoma Medular de Tiroides; CNE: Carcinoma neuroendocrino; CNEG: Carcinoma neuroendocrino de célula grande; CNEP: Carcinoma neuroendocrino de célula pequeña; NNE: Neoplasia neuroendocrina; TNE: Tumor neuroendocrino

#### **5.2.4 Tratamiento de las NNEs**

El abordaje terapéutico de las NNEs depende de múltiples factores relacionados con el tumor, como la localización del tumor primario y sus metástasis, la diferenciación histológica, el grado o índice proliferativo, el ritmo de crecimiento tumoral, la expresión de SSTR y la extensión tumoral, así como de factores relacionados con el paciente, como el estado general, la edad y comorbilidad asociada y la presentación clínica de la enfermedad. Además, hay que tener en cuenta la morbilidad de las distintas estrategias terapéuticas, el perfil de toxicidad de los fármacos, el acceso y experiencia local, y las preferencias del paciente. Los objetivos terapéuticos son variables en función de la extensión y manifestaciones clínicas de la enfermedad. Así, en tumores localizados se busca curar la enfermedad, mientras que en tumores no resecables el objetivo es cronificar la enfermedad mejorando la calidad de vida de los pacientes, fundamentalmente mediante el control de los síntomas derivados del síndrome de hipersecreción hormonal y de la clínica derivada de la ocupación tumoral, así como aumentar el intervalo libre de progresión y mejorar el pronóstico de la enfermedad.

El manejo clínico de las NNEs es complejo dada su baja incidencia, su amplia distribución anatómica, lo cual implica a un gran número de especialistas, y su gran heterogeneidad de presentación y evolución clínica, en un contexto de opciones terapéuticas y evidencia clínica limitadas. En este contexto, los comités multidisciplinarios, que incluyen oncólogos médicos, endocrinólogos, neumólogos, gastroenterólogos, cirujanos torácicos y digestivos, patólogos, enfermeras, radiólogos intervencionistas, y médicos de medicina nuclear, juegan un papel esencial en la planificación de la estrategia diagnóstica y terapéutica. La derivación temprana a centros expertos en NNEs es altamente recomendable ya que puede agilizar el diagnóstico, optimizar la aproximación terapéutica y mejorar el pronóstico de los pacientes.

##### **5.2.4.1 Tumores localizados**

En general, y como en la mayoría de las neoplasias, la principal elección terapéutica para la enfermedad localizada es la cirugía oncológica completa, aunque en determinadas localizaciones (estómago, páncreas, recto) puede ser suficiente con tratamientos menos invasivos como la resección endoscópica, enucleación o seguimiento (p.ej. tumores < 1cm de bajo grado y naturaleza indolente). El tratamiento perioperatorio con altas dosis de análogos de somatostatina es recomendable en aquellos pacientes con tumores funcionantes para evitar

una crisis hormonal, que puede amenazar la vida del paciente tras la manipulación tumoral u otros procedimientos invasivos<sup>59-61</sup>.

#### **5.2.4.2 Enfermedad Metastática**

En la enfermedad metastásica el tratamiento sistémico es la base del tratamiento tanto en los TNE como en los CNE. En los TNE, el arsenal terapéutico ha aumentado notablemente en la última década y comprende la terapia biológica (análogos de la somatostatina, interferón), terapias dirigidas (como everolimus y sunitinib), terapias ablativas locorregionales (radiofrecuencia, embolización transarterial), quimioterapia y radiofármacos (terapia con radioligandos dirigidos a los receptores de la somatostatina). En los CNE, la quimioterapia citotóxica clásica es el único tratamiento ampliamente disponible, si bien su eficacia es limitada. La cirugía puede jugar algún papel en casos seleccionados de TNE con enfermedad oligometastásica resecable, o como terapia paliativa en casos de complicación local (p.ej. perforación u obstrucción intestinal)<sup>59-61</sup>.

**a) Análogos de la somatostatina:** la somatostatina o el factor inhibidor de la liberación de somatotropina (SRIF, *somatotropine release-inhibiting factor*) es un neuropéptido hipotalámico capaz de inhibir la secreción de múltiples hormonas a nivel central (hormona de crecimiento, prolactina, hormona estimulante de la tiroides, hormona liberadora de hormona denocorticotropa, etc) y regular otras funciones periféricas en múltiples órganos y glándulas (inhibición de la motilidad intestinal, de la absorción de nutrientes e iones y de la secreción endocrina (insulina, gastrina, péptido vasoactivo intestinal,...) y exocrina (enzimas pancreáticas). Además, la somatostatina también disminuye la secreción de catecolaminas y aldosterona, e interviene en procesos celulares mediante la liberación de factores de crecimiento y citoquinas, pudiendo además contribuir al crecimiento tumoral. La somatostatina puede encontrarse en dos formas bioactivas, SRF-14 y SRF-28, ambas procedentes de un mismo precursor codificado por el gen *SST1*, situado en el cromosoma 3q.27.3. Debido a su corta vida media (< 3 minutos), se sintetizaron análogos de somatostatina (AST) más resistentes a las proteasas, con mayor estabilidad en sangre periférica y una vida media más larga (90-120 minutos), posibilitando su uso clínico<sup>62</sup>. La somatostatina ejerce sus funciones biológicas mediante su interacción con receptores específicos de alta afinidad, los 5 receptores de somatostatina (SSTRs1-5). Se expresan fundamentalmente en cerebro, glándulas endocrinas y tracto gastrointestinal. El 80% de los TNEs bien diferenciados presentan sobre-expresión de estos receptores, destacando el SSTR1, SSTR2 y SSTR5. Además, los receptores SSTR2 y SSTR5 se

expresan más en tumores funcionantes, siendo SSTR2 más comúnmente expresado en TNE gastroentéricos (88%-100%) que en TNE broncopulmonares (36-56%).

Los SSTRs forman parte de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) y se acoplan a través de proteínas G a diferentes sistemas efectores como la enzima adenilato ciclasa (AC), canales iónicos, fosfotirosina fosfatasas (PTPs), proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) y la bomba  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ <sup>62</sup>.

Los AST son fármacos muy eficaces para el control del síndrome hormonal en tumores funcionantes y también ejercen un efecto antiproliferativo. La inhibición del crecimiento celular está mediada por la activación de las PTPs que defosforilan e inactivan diferentes vías de señalización que promueven proliferación celular como PI3K-mTOR y MAPK. Además de este efecto citostático, se ha descrito que los AST inducen apoptosis celular y disminuyen la migración celular. Más específicamente, la activación del SSTR2 es capaz de inhibir la angiogénesis mediante la disminución de la activación de la vía NOS.

Los AST aprobados para el control del síndrome hormonal y como fármacos antiproliferativos en TNEs digestivos son el octreotide y el lanreotide. Ambos presentan una alta afinidad por SSTR2, moderada por SSTR5, intermedia por SSTR3, y baja para SSTR1 y SSTR4, e inducen una respuesta clínica (mejoría de diarrea y sofocos) en el 70-75% de los casos y una respuesta bioquímica (reducción de los niveles hormonales > 50%) en el 30-40%<sup>63,64</sup>. Los AST también han demostrado en dos ensayos aleatorizados de fase III (PROMID, CLARINET) mejorar el intervalo libre de progresión frente a placebo en pacientes con TNEs GEP de bajo grado (Ki-67 < 10%)<sup>65,66</sup>.

Los AST también se emplean como vehículo para dirigir radionúclidos como el Lutecio-177 a su diana, los receptores de somatostatina, que es una de las opciones terapéuticas más eficaces en el tratamiento de los TNEs. En el estudio pivotal NETTER-1, 229 pacientes con TNE metastásicos del intestino medio en progresión a dosis estándar de AST fueron aleatorizados a recibir <sup>177</sup>Lu-Dotatate en una dosis de 7,4 GBq cada 8 semanas (4 infusiones iv) más octreotida LAR 30 mg cada 4 semanas frente a dosis altas de octreotida LAR (60 mg cada 4 semanas). La mediana de SLP fue significativamente superior para los pacientes tratados con <sup>177</sup>Lu-DOTATATE (28 meses vs 8,4 meses en el grupo control, HR 0,21,  $p < 0,001$ )<sup>67</sup>. En el análisis intermedio también se observó una tendencia hacia una mejor supervivencia, aunque esto no se demostró con un mayor seguimiento, si bien un tercio de los pacientes del grupo de control recibieron radioligandos tras la progresión de la enfermedad<sup>68</sup>. Otros estudios actualmente en marcha están evaluando el papel de los radioligandos dirigidos a los receptores SSTR en TNEs

digestivos de alto grado y en otras localizaciones anatómicas como el pulmón, y comparándolo con otras opciones de tratamiento (p.ej. everolimus, quimioterapia).

**b) Inhibidores de mTOR:** la activación de la vía PI3K-mTOR induce un aumento de la proliferación y migración celular, y está implicada en el desarrollo de NNEs. El everolimus es un análogo de la rapamicina, que inhibe la vía mTORC1 mediante su unión a las proteínas FKBP, formando un complejo proteico junto a mTOR. El complejo everolimus-FKBP-mTOR evita el acceso de mTORC1 a sus substratos además de disminuir su integridad. Este fármaco ha demostrado aumentar la supervivencia libre de progresión en pacientes con TNEs gastrointestinales, pancreáticos y pulmonares respecto al placebo, en ensayos clínicos randomizados de doble ciego como los estudios RADIANT<sup>69</sup>.

**c) Antiangiogénicos:** la angiogénesis es un proceso estrechamente relacionado con los TNEs bien diferenciados y de bajo grado. Sin embargo, hasta la fecha sólo el inhibidor multikinasa Sunitinib ha sido aprobado por las autoridades reguladoras para el tratamiento de los TNEs de origen pancreático<sup>70</sup>. Más recientemente, otros antiangiogénicos como el surufatinib (aprobado en China) o el cabozantinib han demostrado eficacia en TNEs pancreáticos y extrapancreáticos<sup>71,72</sup>.

**d) Quimioterapia:** la quimioterapia sigue siendo un componente esencial de la estrategia de tratamiento de los pacientes con NNE, particularmente para aquellos con alta carga tumoral, sintomáticos y rápidamente progresivos (generalmente NNE G3 o G2 alto, particularmente en los de origen pancreático). La quimioterapia más usada en los TNEs está basada en agentes alquilantes y antimetabolitos. Uno de los fármacos más utilizados para tumores neuroendocrinos de origen pancreático ha sido la estreptozocina (STZ), un análogo de la glucosa capaz de ser transportado por los receptores GLUT2 expresados por las células  $\beta$ -pancreáticas. Una vez dentro de la célula es capaz de unirse al ADN generando enlaces cruzados intracatenarios produciendo la muerte celular. La STZ suele combinarse con fármacos como el 5 fluorouracilo (5-FU), un inhibidor de la enzima timidilato ciclasa que evita la formación de timina y la replicación del ADN, o con doxorubicina, otro antibiótico intercalante del ADN que inhibe la topoisomerasa II<sup>61,73</sup>

Más recientemente, la combinación de capecitabina/temozolomida se asoció con una mejora significativa en la supervivencia libre de progresión (SLP) en comparación con temozolomida sola en pacientes con TNE pancreáticos avanzados. La tasa de respuesta objetiva (40%) y mediana de SLP (22,7 meses) observadas con capecitabina/temozolomida son las más altas reportadas en un estudio aleatorizado para TNE pancreáticos. La deficiencia de MGMT se

asoció con la respuesta y, aunque no se recomienda la prueba de MGMT de rutina, se puede considerar para pacientes seleccionados que necesitan una respuesta objetiva<sup>74</sup>.

En los CNEs generalmente se emplean esquemas basados en platino (cisplatino o carboplatino) y etopósido, un inhibidor de la topoisomerasa II, con tasas de respuesta tumoral del 30-40% y medianas de supervivencia inferiores al año<sup>75</sup>.

### **5.3 ALTERACIONES MOLECULARES EN NNEs**

Las NNEs en general presentan una baja tasa de mutaciones recurrentes, si bien las alteraciones moleculares varían en función de la diferenciación y el grado, así como en función del origen del tumor primario. La mayoría de las NNEs son esporádicas, aunque alrededor del 5% se desarrollan en el contexto de síndromes hereditarios. La identificación de genes implicados en estos síndromes familiares ha contribuido a identificar algunos de los mecanismos implicados en la patogénesis de las NNEs. Además, la revolución ómica está ayudando a mejorar la caracterización molecular de esta familia heterogénea de tumores.

#### **5.3.1 Síndromes hereditarios**

Los síndromes hereditarios engloban el 5% de los TNEs diagnosticados. Algunos de estos síndromes van a generar sólo tumores de tipo neuroendocrino o endocrino (MEN1, MEN2 y MEN4), mientras que otros también pueden incrementar el riesgo de otro tipo de neoplasias (Von Hippel-Lindau, Neurofibromatosis tipo I y Esclerosis Tuberosa).

##### **5.3.1.1 *Síndrome de neoplasia neuroendocrina múltiple tipo 1 (MEN-1) y tipo 4 (MEN-4)***

Se produce por alteraciones en el gen supresor tumoral *MEN1*, localizado en el brazo largo del cromosoma 11, que codifica para la proteína menina. Esta enfermedad tiene herencia autosómica dominante. Las alteraciones más frecuentes son mutaciones puntuales en la región codificante, aunque algunas pueden darse en sitios de *splicing* alternativo o en el promotor del

gen. Además, hay casos en los que se producen deleciones de grandes dimensiones a lo largo del brazo cromosómico donde se encuentra *MEN1*. La menina es una proteína cuya función principal es la regulación del ciclo celular a través de regulación de la metilación de histonas. Los tumores asociados a este síndrome son los adenomas paratiroides (95%), TNEs pancreáticos (40%) y con menor frecuencia los carcinoides en timo (2%), bronquios (2%) y tumores gástricos de células enterocromafines (10%)<sup>76</sup>.

El síndrome MEN-4 se caracteriza por seguir una herencia autosómica dominante y presentar mutaciones en el inhibidor dependiente de quinasa *CDKN1B*. El MEN-4 es una fenocopia del MEN-1, compartiendo las mismas consecuencias, pero produciéndose de una manera menos frecuente<sup>77</sup>.

#### **5.3.1.2      *Síndrome de neoplasia neuroendocrina múltiple tipo 2 (MEN-2)***

MEN-2 es un síndrome que se genera por mutaciones activadoras en el proto-oncogén *RET* que se encuentra en el brazo largo del cromosoma 10. Este síndrome se caracteriza por una herencia autosómica dominante. Se diferencian dos subtipos, el MEN-2A es el más común (90-95% de los casos) y MEN-2B (5-10%). Ambos se asocian a un alto riesgo de desarrollar carcinoma medular de tiroides (95%) y feocromocitomas (30-50%). Además, el MEN2A se asocia con hiperparatiroidismo en un 20-30% de los casos. Los pacientes con MEN-2B suelen desarrollar CMT muy agresivos a edades tempranas, y asocian otras características físicas típicas como neurinomas en la mucosa de la lengua, deformidades labiales, oculares y músculo-esqueléticas<sup>77</sup>.

#### **5.3.1.3      *Enfermedad de Von Hippel- Lindau (VHL)***

La enfermedad VHL es causada por mutaciones en el gen *VHL*, localizado en el brazo corto del cromosoma 3, y presenta una herencia autosómica dominante. El gen *VHL* codifica para una proteína supresora de tumores, encargada de regular negativamente los factores inducibles de hipoxia (HIFs). En ausencia de *VHL*, HIF es capaz de translocarse al núcleo, induciendo la transcripción de genes relacionados con la angiogénesis, proliferación celular y glicolisis. Esta enfermedad se puede presentar bajo dos fenotipos diferentes. La enfermedad VHL de tipo 1 tiene ausencia de la proteína funcional provocada por deleciones, mutaciones sin

sentido y mutaciones de cambio de pauta de lectura, caracterizándose por la formación de hemanglioblastomas retinianos y del sistema nervioso central, carcinomas renales y tumores pancreáticos, pero no feocromocitomas. En cambio, la enfermedad VHL de tipo 2 se produce por sustituciones de una base nucleotídica que cambia el aminoácido de la proteína y puede generar feocromocitomas, además de los otros tipos de neoplasias<sup>78</sup>.

#### **5.3.1.4      *Neurofibromatosis tipo 1 (NF-1)***

La neurofibromatosis tipo I es una enfermedad hereditaria autosómica dominante producida por mutaciones en el supresor tumoral NF1, que da lugar a la pérdida de función de la proteína. Este gen se localiza en el brazo largo del cromosoma 17 y codifica para la neurofibrina. La neurofibrina es una proteína citoplasmática cuya función consiste en el control de la proliferación celular a través de la inhibición de Ras, por lo que la pérdida de su función conlleva la activación de la vía de las MAPK. Los pacientes que sufren esta enfermedad suelen presentar manchas en la piel color café con leche, además de neurofibromas, gliomas ópticos, así como un aumento en la incidencia de feocromocitomas y TNEs duodeno-pancreáticos<sup>79</sup>.

#### **5.3.1.5      *Complejo Esclerosis Tuberosa (TSC)***

El Complejo de Esclerosis Tuberosa es un síndrome hereditario autosómico dominante con mutaciones en los genes *TSC1* o *TSC2*. *TSC1* es un gen que codifica para la proteína hamartina, que se encuentra en el brazo largo del cromosoma 9, mientras que *TSC2* codifica la proteína tuberina y se localiza en el brazo corto del cromosoma 16. La tuberina y la hamartina forman un complejo proteico que inhibe la vía de mTOR a través de la desfosforilación de su efector Rheb. La ausencia de funcionalidad de cualquiera de las dos proteínas provoca una activación desregulada de la vía y promueve la supervivencia de la célula. La presencia de lesiones cutáneas y neurológicas, así como angiomiolipomas renales y hamartomas son algunas de las consecuencias de padecer esta enfermedad, aunque en un porcentaje bajo de casos también pueden desarrollar TNEs pancreáticos, pituitarios y paratiroides<sup>80</sup>.

Estos y otros genes asociados con predisposición hereditaria a desarrollar NNEs también se encuentran con frecuencia alterados en tumores esporádicos. Algunos ejemplos son *IPMK* en TNEs intestinales, *MEN1*, *VHL*, *BRCA2*, *CHEK2* y *CDKN1B* en TNEs pancreáticos y modificaciones en *MUTYH* que se han encontrado en ambos casos<sup>81</sup>.

### 5.3.2 Alteraciones moleculares en NNEs esporádicas

El 95% de las NNEs son esporádicas. Las alteraciones moleculares implicadas en el desarrollo de las NNEs esporádicas no se conocen en profundidad, y se han estudiado fundamentalmente en las sublocalizaciones anatómicas con mayor incidencia, el intestino delgado, el páncreas y el pulmón.

#### 5.3.2.1 NNEs pancreáticos

El primer estudio de secuenciación que se hizo en TNEs esporádicos de origen pancreático, identificó mutaciones recurrentes en *MEN1* (44%), así como en otros genes cuyas proteínas estaban relacionadas en la remodelación de la cromatina, como *ATRX* (18%) y *DAXX* (25%). Las mutaciones en estos genes son mutuamente excluyentes, debido a que estas proteínas tienen una interacción física entre ellas junto a la histona H3. Otros genes que se encontraron alterados, pero en una menor proporción, fueron los relacionados con la vía de PI3K-mTOR como el activador *PIK3CA* (1%) y los inhibidores *PTEN* (7%) y *TSC2* (9%)<sup>82</sup>.

La frecuente alteración de los genes relacionados con la remodelación de la cromatina está estrechamente ligada a la inestabilidad cromosómica que se ha observado en los TNEs pancreáticos en estudios anteriores. Las alteraciones más frecuentes incluyen la delección del 1q,3p (gen *VHL*) y 11q (gen *MEN1*). Las amplificaciones más consistentes se identificaron en los genes 7p, 9p y 17q<sup>81</sup>.

A diferencia de los TNEs, los CNEs pancreáticos poseen cambios en los genes *TP53* (75%) y *RB1* (42%), además de tener en general un mayor número de mutaciones (TMB). Estas diferencias también se observan entre los CNEs y los TNEs G3, que muestran alteraciones típicas de las neoplasias bien diferenciadas<sup>83</sup>.

Las variaciones moleculares epigenómicas también son muy relevantes en los TNEs pancreáticos. Existen estudios que indican cómo los patrones de metilación de las islas CpG cambian en algunos TNEs cuando se comparan con tejido sano. Se ha visto cómo algunas regiones de tipo Alu y LINE-1 se encuentran hipometiladas en TNEs pancreáticos, pudiendo causar alteraciones cromosómicas relevantes. Sin embargo, otras zonas del ADN se han encontrado hipermetiladas, silenciando la expresión de genes supresores tumorales como *RASSF1A*, relacionado con la parada del ciclo celular y la apoptosis, *HIC-1*, que es un efector de

la vía *TP53* en cáncer, los genes supresores de tumores *APC* y *CDKN2A*, o los genes implicados en la reparación del ADN *MLH1* y *MGMT*<sup>84-86</sup>.

### 5.3.2.2 *NNEs intestinales*

Las primeras investigaciones en NNEs intestinales esporádicas, se basaron en buscar grandes pérdidas y ganancias cromosómicas mediante *arrays* de CGH. Así, la pérdida en los cromosomas 11 y 18 y ganancias en los cromosomas 4, 5, 14 y 20, fue lo que se encontró con mayor frecuencia<sup>81</sup>.

Los únicos genes que están recurrentemente mutados en TNEs intestinales son los genes *CDKN1B* (8% mutados 14% delecionados) y *APC* (8-15%mutados y 4% delecionados)<sup>81</sup>.

El análisis integrado del genoma, transcriptoma, metiloma y el análisis de la variación del número de copias somática (CNV), ha identificado tres nuevos subtipos moleculares de TNE de intestino delgado con diferente pronóstico. El análisis de la metilación del ADN ha demostrado que el 70-80% de estos TNEs tienen una desregulación epigenética significativa<sup>87,88</sup>.

Al igual que en los CNEs pancreáticos, *TP53* está frecuentemente mutado en los CNEs intestinales, si bien esta frecuencia es mucho menor que la observada en CNE de origen pulmonar. Otros genes frecuentemente mutados en CNEs intestinales son *KRAS* y *BRAF*<sup>89,90</sup>.

### 5.3.2.3 *NNEs pulmonares*

En los carcinoides (TNEs) pulmonares, *MEN1* se ha identificado como el gen más frecuentemente mutado, (~11%)<sup>91,92</sup>. Sin embargo, en el trabajo de Fernández-Cuesta y colaboradores, se han descrito mutaciones en otros genes relacionados con la remodelación de la cromatina, como *PSIP1*(5%), *ARID1A* (7%) y otros del complejo SWI/SNF (*SMARCA1*, *SMARCA2*, *SMARCA4*, *ARID2*, *SMARCC2*, *SMARCB1* y *BCL11A*). Las mutaciones de *MEN1* y *PSIP1* se han encontrado de forma mutuamente excluyente y casi siempre acompañadas de pérdida de heterocigosidad. También hallaron alteraciones en genes que codifican para metiltransferasas (*SETD1B*, *SETDB1* y *NSD1*), demetilinas (*KDM4A*, *PHF8*, y *JMJD1*), miembros del complejo *Polycomb* (*CBX6*, *EZH1*, *YY1*) y modificadores de histonas (*BRWD3* y *HDAC4*). En total, un 40% de las muestras tenían mutaciones mutuamente excluyentes en genes relacionados con modificaciones de las histonas. Otras rutas alteradas en estos tumores son la

implicada en la cohesión de cromátidas hermanas (*STAG1*, *NIPBL*, *DICER*, *ERCC6L*) y el factor iniciador de la traducción (*EIF1AX*, *SEC31A*, *WDR26* y *HERC2*)<sup>91</sup>.

Por su parte, Simbolo y colaboradores., además de observar un porcentaje alto de muestras con mutaciones en genes relacionados con la remodelación de la cromatina (45%) y otros genes identificados por Fernández-Cuesta y colaboradores, encontraron mutaciones en genes modificadores de histonas de la familia KMT2 (*KMT2A*, *KMT2C* y *KMT2D*) o del complejo SWI/SNF (*ARID1A*, *ARID1B* y *ARID2*)<sup>92</sup>.

En los CNEs pulmonares existe una muy alta frecuencia de mutaciones en genes relacionados con el ciclo celular, como *TP53* (81% CNECG; 92% CNECP), *RB1* (33% CNECG; 75% CNECP) y *ATM* (4% CNECG). Más rutas mutadas en estos tumores son: *NOTCH* (*NOTCH1*, *NOTCH2*, *NOTCH3* y *NOTCH4*) y mTOR (*PTEN*, *PI3KCA*, *NF1*, *INSR*, *TSC2* y *RICTOR*)<sup>93</sup>. La cantidad de CNVs observadas en los CNEs pulmonares es también mucho mayor que en los carcinoides o TNEs. Los CNVs observados con mayor frecuencia son la ganancia de los cromosomas 5p (35%) y 8 (25%), y la pérdida de heterocigosidad del cromosoma 13 y 17p, donde se encuentran los genes *RB1* y *TP53*, respectivamente<sup>92</sup>.

## 5.4 APROXIMACIONES ÓMICAS EN NNEs

### 5.4.1 NNEs pancreáticas

En el estudio de Sadanandam y colaboradores se lleva a cabo un análisis multiómico integrado entre distintas especies para estratificar los TNEs pancreáticos en subtipos con características distintivas, para comprender mejor su heterogeneidad clínica y biológica y abrir nuevas oportunidades de terapia personalizada en un futuro<sup>94</sup>. Para ello analizaron el transcriptoma de 86 muestras entre las que se encontraban cuatro islotes pancreáticos normales, siete metástasis provenientes de TNEs pancreáticos y 75 TNEs pancreáticos primarios, para obtener una clasificación molecular. Utilizando el algoritmo *non-negative matrix factorization* (NMF), obtuvieron 5 grupos de tumores:

a) **“Normal islet-like”**: grupo formado por las muestras tumorales que clasifican junto a los islotes pancreáticos normales

**b) “Islet/insulinoma tumors” (IT):** en este subtipo se encuentran fundamentalmente tumores primarios poco agresivos y de bajo grado (81% G1, 19% G2); el 19% de estos tumores mostraron mutaciones en *TSC2* o *PTEN* y un 25% en *ATM*. La hipótesis de los autores es que estos tumores podrían originarse a partir de células  $\beta$  maduras, ya que expresan genes específicos como *PDX1*, *INS*, *IAPP*, *INSM1*, el transportador de glucosa *GLUT2* (*SLC2A2*), la glucosa 6-fosfatasa (*G6PC2*) y la glucokinasa (*GCK*). Además, este subtipo presenta mayor vascularización que los demás, con una mayor expresión de células CD31<sup>+</sup>

**c) “Metastasis-like primary tumors 1-2” (MLP1 y MLP2):** se diferencian en su composición (45% de las muestras MLP2 eran de metástasis ganglionares o hepáticas frente al 5% de las muestras MLP1) y en la expresión del gen *ENPP2*. Sin embargo, tienen en común que son tumores no funcionantes y comparten una alta expresión de genes relacionados con el estroma, células madre e hipoxia, por lo que se les consideró un único grupo llamado MLP. El subtipo MLP comparte con IT el enriquecimiento en mutaciones en *TSC2* y *PTEN* (24%) y en *ATM* (16%). Sin embargo, el subtipo MLP poseía también mutaciones en los genes *DAXX* y *ATRAX* (28%). Este subtipo está enriquecido en tumores de grados altos (24% G1, 60% G2 y 16% G3) y se asocia a células progenitoras pancreáticas por la alta expresión de los biomarcadores *HNF1B*, *GATA6*, *SLC16A1* y *HK1*.

**d) “MEN1-like/intermediate”:** este grupo está formado predominantemente por tumores no funcionantes, de los cuales aproximadamente el 16% está relacionado con metástasis a distancia. A pesar de su ligera asociación a metástasis, este subtipo comparte varios genes con el grupo IT, por lo que se le asocia un fenotipo intermedio. Este grupo está enriquecido en tumores de bajo grado (75% G1, 25% G2) y en mutaciones *MEN1* (50%) y *DAXX/ATRAX* (42%). Además de los grupos transcriptómicos, este trabajo realiza una clasificación adicional usando el perfil de expresión de microARN de 28 de las muestras. En base a ello observaron que los subtipos de MLP en humanos y ratones fueron similares a las metástasis hepáticas en términos de perfiles de transcriptoma de miARN y ARNm, y también expresaron de manera similar genes implicados en la regulación del desarrollo temprano del páncreas, mientras que los subtipos IT expresaron genes característicos de las células de los islotes maduros, lo que sugiere diferentes vías de tumorigénesis. Además, estos subtipos exhiben perfiles metabólicos distintos, particularmente del piruvato, lo que corrobora la relevancia de sus identidades diferenciales<sup>94</sup>.

En 2017, Scarpa y colaboradores secuenciaron el genoma completo de 98 muestras de TNEs pancreáticos esporádicos<sup>95</sup>. En este trabajo encontraron nueva firma mutacional asociada a la

pérdida funcional de la proteína codificada por el gen *MUTYH*, obtenida a partir de una copia mutada del gen, junto a pérdida de heterocigosidad de esa región. La mutación de *MUTYH* está implicada en el síndrome de poliposis colorrectal atenuada, asociado a un mayor riesgo de desarrollar cáncer colorrectal, y se observó en la línea germinal de tres pacientes de TNE pancreático. Es de destacar que se identificó una proporción mayor de lo esperado (17%) de mutaciones germinales en esta cohorte de TNEs pancreáticos clínicamente esporádicos, incluidas mutaciones no reportadas previamente en varios genes de reparación del ADN, como *BRCA2*, *CHEK2* y *MUTYH*. Además, los análisis de expresión génica identificaron 3 subgrupos similares a los previamente propuestos por Sadanandam (IT, *MEN1-like/intermediate* y MLP). El subgrupo más parecido a MLP también tenía mayor expresión de genes relacionados con hipoxia y señalización HIF. Los investigadores concluyeron que fundamentalmente existen cuatro vías de señalización que se encuentran alteradas en estos tumores:

**a) La vía de reparación de ADN:** donde destacan las mutaciones germinales en *MUTYH*, *CHEK3* y *BRCA2*.

**b) La vía asociada a la remodelación de la cromatina:** con alteraciones en los genes *MEN1*, *SETD2*, *ARID1A* y *MLL3*

**c) El mantenimiento de los telómeros:** en concreto la sobre-expresión de *TERT* a través de la pérdida de función de *MEN1*, *DAXX* y *ATRX*.

**d) La vía mTOR:** destacando las mutaciones en *PTEN*, *TSC1*, *TSC2* y *DEPD5*, que suponen un 12% de los pacientes y se asocian a un peor pronóstico en los tumores G2. Es importante destacar que *MEN1* puede afectar a las cuatro vías a la vez, generando una gran variedad de fenotipos diferentes<sup>95</sup>.

Más recientemente, Lakis y colaboradores obtuvieron datos de metilación de 84 TNEs pancreáticos esporádicos del trabajo de Scarpa y colaboradores, además de 11 muestras de tejido normal adyacente, que integraron con información genómica<sup>96</sup>. En base a los datos de metilación identificaron en tres grupos:

**a) T1 (26% de las muestras):** enriquecido en muestras funcionantes (63%), con poca representación de mutaciones en los genes *MEN1*, *ATRX*, y *DAXX*.

**b) T2 (43% de las muestras):** enriquecido en tumores con mutaciones en *ATRX* y *DAXX*, así como en genes relacionados con la ruta de mTOR, presenta una mayor longitud de sus telómeros y mayor pérdida de heterocigosidad, destaca la baja metilación del gen *MGMT* (O6-

metilguanina-ADN metiltransferasa) y la hipermetilación del gen *PDX1*, que se correlacionan positiva y negativamente con la expresión de dichos genes.

**c) T3:** enriquecido en tumores G1, mutaciones *MEN1* y pérdidas en el cromosoma 11, donde se localiza el gen *MEN1*, así como hipermetilación del gen *PDX1* como en el subgrupo T2<sup>96</sup>.

Por otro lado, Yang y colaboradores analizaron 84 muestras de NNEs pancreáticas (78 TNEs y 6 CNEs), 35 de ellas como cohorte de descubrimiento, obteniéndose datos del transcriptoma y proteoma de estos tumores<sup>97</sup>. Las muestras se clasificaron utilizando las distintas ómicas por separado mediante el algoritmo NMF, dando como resultado cuatro subtipos solapantes entre ambas ómicas. Estos subtipos fueron confirmados cuando se utilizaron las 48 muestras restantes como cohorte de validación:

**a) “Proliferative”:** este grupo se encontraba enriquecido en CNEs (45%) con mayor expresión de genes relacionados con el punto de control G2M del ciclo celular y de las dianas del factor de transcripción *E2F*. Además, genes como el de Ki67 u otros relacionados con los cromosomas y el spliceosoma están más activados en este grupo, lo que sugiere una mayor proliferación. Por otro lado, el factor de transcripción con mayor enriquecimiento fue *FOXM1*, un regulador de numerosos genes asociados con el ciclo celular. Estas características hacen que los pacientes que pertenecen a este grupo tengan menor supervivencia global.

**b) “Alpha-cell-like”:** los tumores correspondientes a este subtipo son TNEs que tienen una mayor expresión del gen *ARX*, relacionado con las células  $\alpha$ -pancreáticas con las que guarda una gran similitud a nivel transcriptómico. Este subtipo tiene una gran expresión de proteínas vinculadas con la fosforilación oxidativa y la función mitocondrial, junto a enzimas implicadas en el metabolismo de la arginina y glutamina, así como genes regulados por el factor de transcripción *AEBP1*. También concentra la mayoría de los tumores con mutaciones en *MEN1*, *ATRX*, *TSC1* y *TSC2*.

**c) “PDX1-high”:** TNEs con alta expresión del gen *PDX1* relacionado con células  $\beta$ -pancreáticas y un enriquecimiento en la expresión de genes regulados por el factor de transcripción *ONECUT1*. Además de *PDX1*, estos tumores poseen alta expresión de *NEUROG3*, *PTF1A* y *SOX9*. Ambos son factores de transcripción que se encuentran activados en precursores de células neuroendocrinas pancreáticas.

**d) “Stromal/Mesenchymal”:** las muestras pertenecientes a este subtipo lo conformaban 45 TNEs y 1 CNE y se caracterizaban por una mayor expresión de genes

relacionados con la transición epitelio-mesénquima y una mayor abundancia de proteínas asociadas con la matriz extracelular. Estos tumores presentaban un alto parecido transcriptómico con las células mesenquimales y endoteliales con una alta infiltración inmune y de células estromales. Dichos resultados sugieren una mayor participación del microambiente tumoral en este subtipo. Cuatro de los pacientes que se encontraban en este grupo poseían mutaciones en línea germinal del gen *VHL*, causante del síndrome Von Hippel-Lindau. Otra de las vías que aparece sobre-expresada es la vía Hippo, con una gran activación de los reguladores *YAP1* y *WWTR1* relacionados con ella<sup>101</sup>.

#### 5.4.2 NNEs intestinales

Anderson y colaboradores obtuvieron el perfil transcriptómico de 33 tumores neuroendocrinos provenientes del íleon<sup>102</sup>. Es importante destacar que los 33 pacientes que se usaron para este estudio tenían metástasis al diagnóstico y sus tumores eran bien diferenciados, la mayoría G1 o G2 y solo uno era G3. Las muestras que se usaron para obtener el ARN mensajero fueron tumor primario (30%), metástasis hepáticas (64%) y metástasis en ganglios linfáticos (6%). Primero se realizó un análisis del número de copias somática de los tumores, donde se vio como la delección del cromosoma 18 es la más frecuente, encontrándose en un 65% de las muestras. Otras alteraciones recurrentes fueron las ganancias de los cromosomas 4, 5, 7 y 14. Con los datos transcriptómicos de estos tumores se realizó una clasificación no supervisada mediante *clustering* jerárquico. Como resultado se obtuvieron 3 grupos, un subtipo grande (grupo A), con aproximadamente la mitad de las muestras (51%) y otros más pequeños (grupo B y grupo C) con un cuarto de los tumores cada uno (27% y 31%):

**a) Grupo A:** lo caracterizan tumores predominantemente G1, estando compuesto por tumores primarios y metastásicos. La mayoría de los genes sobre-expresados en este subtipo están relacionados con actividad neurosecretora, destacando *SSTR2*, junto a los genes *PHF21A* o *NEUROD1* como los reguladores con actividad inferida más influyentes, ambos relacionados en la diferenciación neuronal y entero-endocrina.

**b) Grupo B:** la mayoría de los tumores de este subtipo son G2 y pertenecen tanto a muestras primarias como metastásicas. Los pacientes de este subtipo tienen significativamente peor supervivencia que los del grupo A y está enriquecido en tumores con ganancia del cromosoma 14 (33%). Este grupo tiene una expresión intermedia entre el A y el C de los genes

relacionados con secreción neuroendocrina, pareciéndose más a las muestras del grupo A que a las del grupo C. Por otra parte, los genes *TGFB1* y *HRAS* son los que tienen mayor diferencia en su actividad inferida respecto a las muestras del grupo A.

**c) Grupo C:** las muestras de este grupo son en su mayoría G2 y ninguna pertenece al tumor primario. Al igual que en el grupo B se puede encontrar un enriquecimiento de tumores con ganancia del cromosoma 14 (42%). Además, tiene alta expresión de genes asociados a angiogénesis y a la organización del citoesqueleto. Podemos encontrar el gen *FGF2* altamente expresado en este subtipo, así como *NUPR1* como el regulador más importante<sup>102</sup>.

Más recientemente, Karpathakis y colaboradores analizaron una cohorte de 72 tumores primarios de TNEs intestinales<sup>86</sup>. La mayoría de las muestras con información de estadio provenían de pacientes con enfermedad metastásica (28 vs 9) y eran de bajo grado (68% G1, 28% G2 y 4% G3). El análisis somático de la alteración en el número de copias dio resultados similares a los que se vieron en el trabajo de Andersson *et al.* La delección del cromosoma 18 fue la más frecuente (64%), seguida de las ganancias del cromosoma 4 (19%), 20 (17%) y 5 (11%). Con los datos de variación del número de copias se realizó un *clustering* de las muestras que dividió los tumores en tres grupos, que tenían un perfil transcriptómico y de metilación diferente:

**a) Grupo A:** todos los miembros de este subtipo tienen delección del cromosoma 18 y algunos de ellos presentan además mutaciones en el gen *CDKN1B*. Los pacientes pertenecientes a este subtipo se caracterizaron por tener la mejor supervivencia libre de progresión. En este grupo se investigaron genes cuya regulación epigenética podría suponer la segunda alteración que acompañara a la pérdida de heterocigosidad del cromosoma 18. Los genes que mostraron una hipermetilación asociada a una reducción de la expresión fueron *LAMA3*, *SERPINB5* y los genes de la familia de receptores del factor de necrosis tumoral *RANK* y *TNFRSF11A*. A pesar de ello el fenotipo de metilación de islas CpG (CIMP) de estos tumores fue en general bajo.

**b) Grupo B:** se caracteriza por incluir tumores sin alteraciones en el número de copias, pero altamente metilados (56% CIMP alto).

**c) Grupo C:** este subtipo se distingue por tener una gran diferencia de ganancia del número de copias y ser el de peor pronóstico, ya que en él se encuentran los tumores de alto grado. A parte de la definición de los anteriores subtipos, en este trabajo se identificó una firma de genes cuya regulación epigenética diferenciaba las muestras de tejido normal frente a los tumores. Los genes más comúnmente alterados fueron el factor de transcripción *CDX1*, la

fructosa 1-6bisfosfatasa 1 (*FBP1*), la proteína transmembrana *TMEM171*, el inhibidor del receptor polipéptido gástrico *GIPR* y los genes *GDAP1L1* y *CELSR3*<sup>98</sup>.

De manera similar, Simbolo y colaboradores analizaron una cohorte de 52 NNEs intestinales (49 TNEs y 3 CNEs), predominantemente metastásicos al diagnóstico (58%) y de bajo grado (69% G1, 25% G2 y 6% G3)<sup>99</sup>. Se estudió el estado mutacional de una firma de 57 genes, en los cuales el 34% de las muestras tenía al menos una mutación. El gen más recurrentemente alterado fue *CDKN1B* (9.6%), seguido de *APC* y *CDKN2C* (7.7%), y por último *BRAF*, *KRAS*, *PIK3CA* y *TP53* (3.8%). Al igual que en trabajos anteriores, la alteración del número de copias más frecuente fue la pérdida del cromosoma 18 (44.2%), que afectaba fundamentalmente a los genes *CDH19*, *BCL2*, *DCC* y *SMAD4*. En base a estas alteraciones se generaron tres grupos:

**a) Grupo 1:** lo formaban 18 muestras caracterizadas por tener mutaciones somáticas.

**b) Grupo 2:** todos sus miembros tenían al menos dos genes localizados en el cromosoma 18 con pérdida de heterocigosidad.

**c) Grupo 3:** se encontraban las muestras que no tenían mutaciones ni pérdida de heterocigosidad en genes localizados en el cromosoma 18, aunque presentaban alteración en el CNV en otros genes<sup>99</sup>.

#### 5.4.3 NNEs Pulmonares

Simbolo y colaboradores analizaron 67 muestras de NNEs pulmonares (35 CAs y 32 CNECGs) repartidos entre cohorte de descubrimiento (14 CAs y 14 CNECGs) y de validación (21 CAs y 18 CNECGs)<sup>100</sup>. Las muestras de la cohorte de descubrimiento se clasificaron usando un algoritmo de clasificación jerárquica y NMF, estratificando las muestras en tres grupos que coincidían en un 91,4% usando ambos algoritmos. Como resultado se obtuvo una firma de 58 genes que se utilizó para la clasificación de la cohorte completa en tres grupos:

**a) C1:** se compone en su mayoría por CNECGs (95%) y se caracteriza por tener una mayor expresión de los genes diana del factor de transcripción *E2F*, del oncogén *MYC* y de los genes relacionados con los puntos de control del ciclo celular G2/M. Este grupo tiene una mayor expresión de *ki67* y se asocia a una peor supervivencia. También posee una expresión muy baja de *RB1* comparado con los otros dos grupos. Todas las muestras de este subtipo contienen alteraciones concurrentes en *TP53* y *RB1*, aunque se encontraron otros genes mutados como *PIK3CA* (23,8 %) y *SMARCA2* (19%).

**b) C2:** contiene un fenotipo intermedio entre el C1 y C3, con un 63,6% de CAs y un 36,4% de CNECGs, así como unos niveles de Ki67 y de supervivencia intermedios entre los grupos C1 y C3. A su vez el grupo C2 se puede dividir en 2 subtipos: C2a (61% CNECGs y 23% CAs) y C2b (100% CAs). Todos los CNECGs del grupo C2a tenían mutaciones en *TP53*, el 50% de ellos además tenía mutaciones en heterocigosis en *RB1*. Por otro lado, uno de los CAs presentaba una mutación en el gen *MEN1*. En C2b, 4 de 11 muestras tenían mutación en *MEN1* y una en *TP53*.

**c) C3:** es un grupo en el que la mayoría de las muestras son CAs (83%), con una media Ki67 más baja y una mayor supervivencia, si se compara con los otros dos grupos. Este subtipo se caracteriza por una mayor expresión de los genes relacionados con el peroxisoma y el metabolismo de ácidos biliares y ácidos grasos. La mutación en el gen *MEN1* fue la alteración más frecuente en este subtipo con un 37,5%, seguido de *TP53* (16,7%)<sup>100</sup>.

Alcalá y colaboradores utilizaron datos de expresión y metilación de 110 carcinoides de pulmón (68,2% CT y 31,8% CA) y 72 CNECGs, para construir un modelo implementando un programa de análisis de factores multi-ómicos<sup>101</sup>. Usando los dos primeros factores latentes del modelo se realizó un *clustering* de consenso que identificó tres grupos diferentes:

**a) “Carcinoid A”:** subtipo que se encuentra enriquecido en carcinoides típicos (75%) que a su vez se pueden dividir en “Carcinoid A1” y “Carcinoid A2”. El subgrupo “Carcinoid A1” tiene mayor infiltración de células dendríticas. Estos tumores muestran una baja expresión de los genes *HNF1A* y *HNF4A*, que vienen acompañados por una alta metilación de sus promotores, y una alta expresión del inhibidor de la vía de Notch *DLL3* y del factor de transcripción *ASCL1*. Por otro lado, el subtipo “Carcinoid 2” se caracteriza por una baja expresión de los genes *SLIT1* y *ROBO1*.

**b) “Carcinoid B”:** la mayoría de los tumores que forman este grupo son carcinoides atípicos (54%). Se encuentra enriquecido en mutaciones del gen *MEN1* (50%) y se asocia a peor supervivencia si se compara con el grupo A. Las muestras de este subtipo tienden a tener mayor infiltración de monocitos y mayor expresión de genes de la familia de las glucoronil-transferasas (*UGT*). Otros genes con una alta expresión fueron *ANGPTL3* y *ERBB4*, acompañados por una baja expresión de *OTP* y *NKX2*.

**c) “Cluster LCNEC”:** este grupo lo forman un 92% de CNECG y 6 carcinoides a los que se les da el nombre de supra-carcinoides. Los pacientes con tumores supra-carcinoides tenían una supervivencia parecida al resto de pacientes de su grupo, siendo menor que la de los pacientes de los otros dos grupos. Los tumores de este subtipo tenían un mayor número de

mutaciones, mayor expresión de genes inmunomoduladores y mayor infiltración de neutrófilos. Este subtipo se caracteriza por una baja expresión de *DLL3*, acompañada por un aumento de expresión de los genes *NOTCH1-3*<sup>101</sup>.

En 2019 Laddha y colaboradores publicaron una clasificación molecular utilizando 30 tumores carcinoides pulmonares, de los cuales 13 eran atípicos y 17 típicos<sup>102</sup>. Utilizando la información transcriptómica obtenida mediante *RNA-seq*, encontraron 3 subtipos moleculares diferentes de TNEs pulmonares, los cuales difieren a su vez en datos de metilación.

**a) LC1:** es el grupo con mayor diferencia tanto en expresión, como en metilación de genes con respecto a los otros dos. Los genes relacionados con los factores de transcripción *HNF1* y *HNF4* se encuentran con baja expresión y alta metilación, como son *HNF1A*, *FOXA3* y *HNF4A*, mientras que tanto el factor de transcripción *ASCL1*, como sus genes diana poseen valores altos de expresión.

**b) LC2:** es un subtipo enriquecido en muestras con mutaciones en el gen *MEN1*. Se caracteriza por una alta expresión e hipometilación de *FEV*, *GATA2* y *PROCR*, mientras que *SOX1* se encuentra hipermetilado y silenciado. Se identifica fácilmente respecto los otros dos subtipos usando los biomarcadores *ASCL1* y *S100*, ya que a diferencia de LC1 tiene una baja expresión de *ASCL1* y una mayor expresión de *S100* que LC3.

**c) LC3:** Los pacientes con tumores LC3 tenían una mediana de edad significativamente menor que los otros subtipos. Estos tumores se caracterizan por mayor expresión de los genes hipometilados *SIX2*, *ONECUT2* e *IL1RL2* y una muy baja expresión del gen *S100*<sup>102</sup>.

**Tabla 3.** Análisis multi-ómicos de las NNEs pancreáticas, intestinales y pulmonares.

| PUBLICACIÓN                    | MUESTRAS                | ÓMICAS                                                                                                      | SUBTIPOS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>NNEs Pancreáticas</b>       |                         |                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Sadanandam <i>et al</i> , 2015 | 75 TP<br>7 MH<br>3 MN   | <b>Genómica:</b> Panel de genes NGS<br><b>Transcriptómica:</b> Microarray                                   | <b>"normal islet-like":</b> Tumores similares a islotes normales.<br><b>"islet/insulinoma tumors":</b> Tumores de bajo grado similar a células $\beta$ -pancreáticas.<br><b>"metastasis-like primary tumors 1-2":</b> Metástasis de alto grado y similar a células progenitoras pancreáticas.<br><b>"MEN1-like/intermediate":</b> Tumores de bajo grado y mutados en MEN1.                                                                                                                                          |
| Scarpa <i>et al</i> , 2017     | 85 TP                   | <b>Genómica:</b> Panel de genes NGS<br><b>Transcriptómica:</b> RNAseq                                       | Similares a Sadanandam <i>et al</i> 2015.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Lakis <i>et al</i> , 2021      | 85 TP<br>11 MN          | <b>Genómica:</b> Panel de genes NGS<br><b>Metilómica:</b> 450 K BeadChips<br><b>Transcriptómica:</b> RNAseq | <b>T1:</b> Tumores funcionantes poco mutados<br><b>T2:</b> Tumores mutados en ATRX, DAXX y vía mTOR. Baja metilación de MGMT y alta metilación de PDX1.<br><b>T3:</b> Tumores de bajo grado con mutación en MEN1. Alta metilación de PDX1.                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Yang <i>et al</i> , 2021       | 78 TNEs<br>6 CNEs       | <b>Genómica:</b> WGS<br><b>Transcriptómica:</b> RNAseq<br><b>Proteómica:</b> Espectrometría de masas        | <b>"Proliferative":</b> NECs con alta expresión de targets de E2F y pacientes con peor supervivencia.<br><b>"Alpha-cell-like":</b> TNEs asociados a células $\alpha$ -pancreáticas con alta expresión de genes mitocondriales y mutaciones en MEN1, ATRX y TSC1-2.<br><b>"PDX1-high":</b> TNEs con alta expresión de PDX1 y genes relacionados con precursores de células NE.<br><b>"Stromal/Mesenchymal":</b> Tumores asociados a células mesenquimales con mayor infiltración inmune y expresión de genes de TEM. |
| <b>NNEs Intestinales</b>       |                         |                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Andersson <i>et al</i> , 2016  | 12 TP<br>2 MGL<br>22 MH | <b>Transcriptómica:</b> Microarray<br><b>CNV:</b> Array de CGH                                              | <b>Grupo A:</b> Tumores G1 con alta expresión de genes relacionados con actividad neurosecretora.<br><b>Grupo B:</b> Tumores G2 con expresión intermedia entre grupo A y grupo C.<br><b>Grupo C:</b> Tumores G2 y muestras procedentes de metástasis.                                                                                                                                                                                                                                                               |

Continúa en la siguiente página

|                                 |                             |                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Karpathakis <i>et al</i> , 2018 | 74 TP                       | <b>Metilómica:</b> 450 K BeadChips<br><b>Transcriptómica:</b> Microarray                                    | <b>Grupo A:</b> Pacientes con alta supervivencia relacionados con tumores con pérdida del cromosoma 18.<br><b>Grupo B:</b> Tumores sin CNV con un CIMP alto.<br><b>Grupo C:</b> Tumores de alto grado y con mucha ganancia en el número de copias asociado a peor pronóstico.                                                                                       |
| Simbolo <i>et al</i> , 2018     | 49 TNEs<br>3 NECs           | <b>Genómica:</b> Panel de genes NGS                                                                         | <b>Grupo 1:</b> Tumores mutados.<br><b>Grupo 2:</b> Tumores mutados y con pérdida del cromosoma 18<br><b>Grupo3:</b> Tumores sin alteraciones.                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>NNEs Pulmonares</b>          |                             |                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Simbolo <i>et al</i> , 2019     | 35 CAs<br>32 CNECG s        | <b>Genómica:</b> NGS<br><b>Transcriptómica:</b> AmpliSeqRNA                                                 | <b>C1:</b> CNECG, con mayor expresión de genes targets de E2F y MYC y muestras con mutaciones en TP53 y RB1.<br><b>C2:</b> Fenotipo intermedio entre C1 y C3.<br><b>C3:</b> Cas con mutaciones en MEN1 y asociado a mejor supervivencia con alta expresión de genes de metabolismo de ácidos grasos y biliares.                                                     |
| Alcalá <i>et al</i> , 2019      | 75 CT<br>35 Cas<br>72 CNECG | <b>Genómica:</b> WGS<br><b>Transcriptómica:</b> RNAseq<br><b>Metilómica:</b> EPIC 850Kk                     | <b>"Carcinoid A":</b> Tumores atípicos con dos subtipos diferentes.<br><b>"Carcinoid B":</b> Tumores atípicos con mutaciones en MEN1 y mayor infiltración de monocitos.<br><b>"Cluster LCNEC":</b> CNECG y 6 supra-carcinoides. Tumores hipermutados, con mayor expresión de genes inmunomoduladores e infiltración de neutrófilos y asociado a peor supervivencia. |
| Laddha <i>et al</i> , 2019      | 17 CTs<br>13 CAs            | <b>Genómica:</b> Panel de genes NGS<br><b>Transcriptómica:</b> RNAseq<br><b>Metilómica:</b> 450 K BeadChips | <b>LC1:</b> Expresión de ASCL1 alta y baja de genes diana de HNF1 y HNF4.<br><b>LC2:</b> Enriquecido en mutaciones MEN1, con baja expresión de ASCL1 y alta de S100.<br><b>LC3:</b> Tumores con baja expresión de S100.                                                                                                                                             |

CAs: Carcinoides atípicos; CNE: Carcinoma Neuroendocrino; MGL: Metástasis en ganglios linfáticos; MH: Metástasis hepática; MN: Muestras normales; NE: Neuroendocrina; NNE: Neoplasia Neuroendocrina; TEM: Transición epitelio-mesénquima; TN: Tumor Neuroendocrino; TNEPan: Tumor Neuroendocrino pancreático; TP: Tumor primario

## 5.5 REFLEXIONES FINALES

Los estudios moleculares realizados en tumores neuroendocrinos (TNEs) han demostrado la relevante contribución de los resultados al diagnóstico de la enfermedad, pudiendo destacar especialmente el NETest. Además, estos análisis han mostrado una eficaz capacidad para estratificar los tumores en función de características clínicas relevantes, tales como la diferenciación, el grado y la supervivencia de los pacientes, a través de técnicas de clasificación no supervisada. Hasta el momento, estos trabajos han definido a los TNEs con una baja carga mutacional, destacándose la recurrencia de alteraciones en el gen MEN1, la cual se manifiesta consistentemente en TNEs de diversas ubicaciones anatómicas. Asimismo, los perfiles transcriptómicos y metilómicos han sobresalido por su habilidad para estratificar los TNEs de diversas localizaciones anatómicas en subtipos específicos que se asocian a la agresividad. Estos resultados sugieren un potencial prometedor en la identificación de biomarcadores pronósticos y de vulnerabilidades que podrían ser aprovechadas en la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas.

A pesar de la variabilidad existente dependiente del origen tumoral, se ha observado que los TNEs presentan rasgos comunes en términos histopatológicos, biológicos y clínicos (cromogranina A y los receptores de somatostatina) que podrían ser extremadamente útiles en el desarrollo de un manejo clínico común para los TNEs, incluyendo estrategias terapéuticas más universales y efectivas. Sin embargo, hasta la fecha este aspecto no ha sido exhaustivamente abordado, realizándose estudios centrados en localizaciones anatómicas específicas. Además, estos trabajos se han centrado en pequeñas cohortes de TNEs con orígenes tumorales comunes como consecuencia de la baja incidencia de esta enfermedad en comparación con otros tumores sólidos. En concordancia, no existen bases de datos públicas estandarizadas, como *el Tumor Cancer Genomic Atlas* (TCGA), dificultando la recopilación de datos comparables para su análisis.

Para avanzar en el estudio molecular de los TNEs y equiparar el nivel de conocimiento alcanzado en otras neoplasias, es esencial impulsar esfuerzos a nivel internacional que posibiliten la creación de cohortes amplias, a partir de las cuales se puedan obtener resultados robustos, y abordar el estudio de estas neoplasias de manera integrada para generar conocimiento biológico común con potencial utilidad clínica.

La presente tesis doctoral se propone dar el primer paso en el estudio molecular de los TNEs de diversas ubicaciones anatómicas, destacando y evidenciando las necesidades planteadas en

esta reflexión general. Con ello, se busca sentar las bases para un enfoque más amplio que contribuya a la comprensión profunda de estas neoplasias, promoviendo avances significativos en el campo de la oncología y, en particular, en el conocimiento biológico y clínico de los TNEs.

## 6 HIPÓTESIS

---

Los tumores neuroendocrinos son una familia de tumores de una amplia distribución anatómica, ya que se originan en el sistema neuroendocrino difuso, y si bien comparten características clínico-patológicas comunes, su comportamiento clínico puede ser muy variable. En general son tumores de baja carga mutacional y con pocas mutaciones recurrentes, en los que la epigenética juega un papel relevante. Pero las bases moleculares de la enfermedad no se conocen en profundidad, ya que su baja incidencia, junto con su amplia distribución anatómica y heterogeneidad clínica, han limitado sustancialmente su estudio.

En este contexto, las hipótesis de nuestro estudio son las siguientes:

- 1.- El desarrollo de una clasificación molecular integral independiente del órgano de origen facilitará la identificación de rasgos biológicos comunes y vulnerabilidades compartidas, potencialmente modulables con terapias dirigidas, y permitirá profundizar en la comprensión de los mecanismos biológicos subyacentes implicados.
- 2.- Esta clasificación molecular global de TNEs puede refinar la estratificación pronóstica de los pacientes en la práctica clínica, y permitirá identificar nuevos biomarcadores diagnósticos, pronósticos y/o predictivos de potencial utilidad clínica, así como la identificación de nuevas dianas terapéuticas para el desarrollo de estrategias terapéuticas innovadoras que mejoren el pronóstico de estos pacientes.

## 7 OBJETIVOS

---

El objetivo principal de este estudio es el desarrollo de una clasificación molecular universal de TNEs independiente de su lugar de origen, que permita caracterizar los mecanismos biológicos implicados en la evolución clínica de la enfermedad, con el fin de identificar vulnerabilidades compartidas y facilitar el desarrollo de nuevos biomarcadores diagnósticos, pronósticos y/o predictivos, y de nuevas estrategias de tratamiento que eventualmente puedan mejorar el pronóstico de estos pacientes. Con este fin, los objetivos específicos de este proyecto son los siguientes:

- Objetivo Específico 1. Desarrollar un modelo de integración multi-ómica mediante el método *MOFA (Multi-Omics Factor Analysis)* que contenga y clasifique las fuentes de variabilidad biológica más relevantes de los TNEs de diferente origen tisular, integrando los perfiles transcriptómicos y metilómicos de las muestras tumorales de la población de estudio.
- Objetivo Específico 2. Explorar las relaciones entre los factores del modelo y la información clínica y molecular disponible.
- Objetivo Específico 3. Generar una clasificación transversal en TNEs de diferente origen anatómico en base al modelo de integración multi-ómico.
- Objetivo Específico 4. Definir molecularmente los subtipos moleculares propuestos en la clasificación y evaluar su potencial utilidad clínica.

## **8 MATERIALES Y MÉTODOS**

---

## **8.1 DISEÑO DEL ESTUDIO**

El diseño del estudio es observacional, retrospectivo y multicéntrico, y ha incluido pacientes diagnosticados de TNEs entre 1989 y 2019 de varios hospitales españoles. El perfil transcriptómico se llevó a cabo en el departamento de Genómica de la Universidad de Salamanca y el perfil metilómico se realizó en la unidad de Genómica de Genyo (Granada). El análisis bioinformático se ha llevado a cabo por el doctorando en la Unidad de Bioinformática del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). El proyecto de investigación fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital 12 de Octubre. El tratamiento de los datos de carácter personal se atuvo a la normativa vigente, *Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y Garantía de los Derechos Digitales (LOPD-GDD)*.

## **8.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO**

### **8.2.1 Selección de pacientes**

Para seleccionar la población de estudio se revisaron todos los pacientes diagnosticados a lo largo de 3 décadas (1989-2019) de TNEs bien diferenciados de origen GEP o pulmonar. En total se identificaron 400 pacientes, 292 de los cuales tenían excedente de muestra tumoral disponible para estudios moleculares adicionales. De los pacientes con muestra tumoral disponible, se obtuvo ADN de calidad y cantidad adecuadas para realizar los estudios de metilación en 218 casos, y ARN de calidad y cantidad adecuadas para los estudios transcriptómicos en 275 casos. Finalmente, se pudo obtener perfil metilómico y transcriptómico de manera conjunta en 194 pacientes que constituyen la población de estudio (Figura 1).

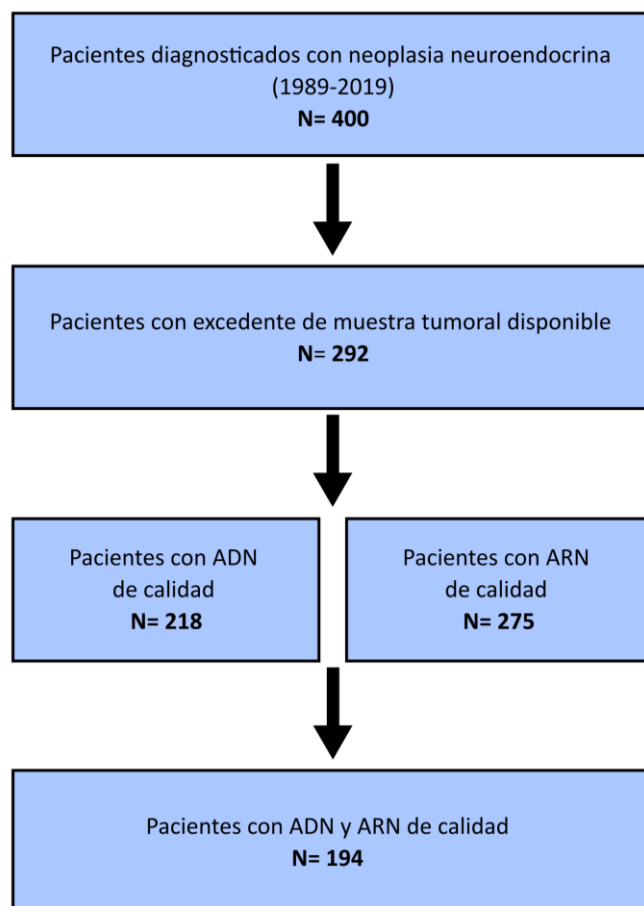


Figura 1. Diagrama de flujo de selección de muestras tumorales.

### 8.2.2 Información clínica

La información clínica de los pacientes fue recogida de forma retrospectiva del historial médico del paciente por los oncólogos del equipo investigador. Las variables recogidas fueron las siguientes:

#### a) Variables clínica-patológicas:

- Edad al diagnóstico.
- Sexo: mujer, hombre.
- Localización del tumor primario: estómago, páncreas, intestino delgado, intestino grueso (colorrectal), pulmón.
- Grado tumoral e índice proliferativo:
  1. En TNE GEP: G1 (Ki-67 de 0 a 2 %), G2 (Ki-67 de 3 a 20 %), G3 (Ki-67 > 20%).

2. En TNE pulmonares: carcinoide típico o G1(< 2 mitosis/mm<sup>2</sup> y ausencia de necrosis), carcinoide atípico o G2(2-10 mitosis/mm<sup>2</sup> y/o presencia de necrosis).

- Localización de la muestra tumoral obtenida: tumor primario versus metástasis (especificando órgano afecto).
- Estadificación tumoral al diagnóstico: según clasificación TNM AJCC 7ª edición (233)<sup>103</sup>.

**b) Evolución clínica:**

- Fecha del diagnóstico.
- Fecha de recidiva o de último seguimiento en ausencia de recidiva (en enfermedad localizada resecada con intención curativa).
- Fecha de progresión o de último seguimiento en ausencia de progresión (en enfermedad avanzada).
- Fecha de fallecimiento o de último seguimiento en pacientes vivos.
- Supervivencia global: se calculó desde la fecha del diagnóstico hasta la fecha del fallecimiento o la fecha del último contacto en pacientes vivos.

## **8.3 PROCESAMIENTO DE LOS TEJIDOS**

### **8.3.1 Identificación y selección del tejido de estudio**

Las muestras tumorales fueron fijadas en formol y embebidas en parafina para su procesamiento y posterior análisis según la práctica habitual de los Servicios de Anatomía Patológica implicados. Todas las muestras fueron evaluadas por patólogos expertos en tumores digestivos y pulmonares, que identificaron, marcaron y macro-diseccionaron las áreas tumorales de interés para los análisis moleculares correspondientes.

### 8.3.2 Extracción del ARN

La extracción de ARN se realizó por parte del personal de laboratorio del equipo investigador. Se extrajo el ARN total de 8 cortes de 5 micras realizadas a partir de los tejidos parafinados (N=194) mediante el kit de extracción *RNeasy FFPE Kit* (QIAGEN, Hilden, Germany) siguiendo las instrucciones del fabricante. Este proceso consta de una desparafinación manual y química, un proceso de lisis y una extracción de ARN mediante columnas. La cuantificación del ARN total extraído se midió a partir de la absorbancia a 260 nm mediante *Nanodrop* (Agilent Technologies, NanoDrop, Wilmington, DEU). La calidad del ARN se calculó mediante la ratio de absorbancia 260/280 nm.

### 8.3.3 Extracción del ADN

La extracción del ADN por parte del personal de laboratorio de las muestras parafinadas (N=194) se realizó en 8 cortes de 5 micras con el kit DNA FFPE tissue kit (QIAGEN, Hilden, Germany), siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración de ADN total se calculó a partir de la absorbancia obtenida a 260nm mediante *Nanodrop* (Agilent Technologies, NanoDrop, Wilmington, DEU). La pureza del ADN se obtuvo a partir de la relación de absorbancia a 260/280 nm.

## 8.4 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS TRANSCRIPTÓMICOS

### 8.4.1 Generación de los *microarrays* de expresión génica

La obtención de datos transcriptómicos del ARN extraído fue realizado por la unidad de Genómica del Centro de Investigación del Cáncer IBMCC-FICUS de la Universidad de Salamanca-CSIC. Para ello se utilizaron *microarrays* de expresión *Clariom™ S Human Array* (Affymetrix, Santa Clara, EEUU). En primer lugar, se procesaron las muestras de ARN mediante el kit *GeneChip Pico Reagent kit* (Applied Biosystems, Waltham, EEUU), amplificando la señal de ARN. A continuación, se generó el ADNc de cadena doble biotinilado a partir de la totalidad del ARN mensajero, cubriendo la totalidad del transcriptoma. Tras la obtención del ADNc, se realizó el

proceso de hibridación con las sondas del *array* durante 16-18 horas a una temperatura de 45° tras los cuales se llevaron a cabo una serie de tinciones y lavados de acuerdo con el protocolo del fabricante. Finalmente, los *arrays* fueron escaneados mediante *GeneChip Scanner 3000 7G System* (Affymetrix, Santa Clara, EEUU) y cuantificados mediante el software *Affymetrix GeneChip Command Console 3.2*, obteniéndose los datos de expresión de 20.800 genes.

#### **8.4.2 Normalización y filtrado de los datos**

Los archivos obtenidos fueron leídos y normalizados mediante el paquete de R *affy* (v1.72) usando la versión de R 4.1.3<sup>104</sup>. Todas las muestras en conjunto fueron normalizadas mediante la función *expresso* de *affy* (método de corrección de ruido “*RMA*”, método de normalización por “*quantiles*”, método de corrección de pm “*pmonly*” y método de fusión “*medianpolish*”). Una vez normalizadas, fueron anotadas a nivel de gen. En los casos donde había varias sondas representando un mismo gen, se escogió la que tenía mayor varianza eliminando genes repetidos y usando la sonda que aportaba más información. Como resultado final se obtuvo una matriz de expresión con 19.420 genes anotados con su símbolo oficial.

Con la matriz de genes se realizó un análisis de componentes principales (PCA). Los 10 componentes principales fueron correlacionados con la medida de calidad del *array* obtenida mediante el software *Transcriptome Analysis Console*. Esta medida de calidad tiene en cuenta la diferencia de distribución entre las sondas control positivas (pos) y las sondas control negativas (neg), indicando la capacidad de diferenciar la señal real del ruido. La primera componente correlacionó significativamente con la calidad del ARN (*coeficiente de correlación* = 0.93 ; *p-valor* < 10<sup>-6</sup>), por lo que se decidió regresar este valor de la matriz de expresión utilizando la función *removeBatchEffect* de *limma* (v3.54.0)<sup>105</sup>, eliminando así el efecto de la calidad de las muestras en los datos (Figura S1).

#### **8.4.3 Deconvolución de poblaciones celulares**

A partir de la matriz de expresión normalizada y corregida, se infirió la abundancia de diferentes poblaciones celulares utilizando el paquete de R *MCP-counter* (v1.1.0)<sup>37</sup>. Los marcadores utilizados para el estudio de deconvolución incluyeron marcadores de células T (CD3

y CD5), células TCD8 (CD8B), linfocitos citotóxicos (EOMES y GNLY), células *natural killer*(NK) (NCR1 y KIR), células B (CD19, CD79A y CD79B), células con linaje monocítico (CSF1R), células dendríticas (CD1), neutrófilos (FCGR3B y CEACAM3), células endoteliales (VWF, CDH5) y fibroblastos (DCN y TAGLN).

#### 8.4.4 Inferencia de la actividad proteica de los reguladores principales

Mediante el uso de la matriz de expresión normalizada, y con el efecto de la calidad eliminada, se infirió la actividad proteica de diferentes reguladores principales. En primer lugar, se utilizó el algoritmo *ARACNE* (*Algorithm for the Reconstruction of Accurate Cellular Networks*) para obtener una red de relaciones entre los reguladores principales con el resto de los genes de la matriz de expresión<sup>106</sup>. Los genes analizados se seleccionaron según el criterio de los desarrolladores del software, escogiendo los archivos disponibles en el repositorio github oficial del laboratorio de Andrea Califano ([https://github.com/califano-lab/single-cell-pipeline/tree/master/ARACNe/human\\_hugo](https://github.com/califano-lab/single-cell-pipeline/tree/master/ARACNe/human_hugo)). A partir de las redes obtenidas, se infirió la actividad proteica de los diferentes reguladores mediante el paquete de R *VIPER* (*Virtual Inference of Protein-activity by Enriched Regulon analysis*) (v1.32.0)<sup>107</sup>.

#### 8.4.5 Pureza Tumoral

La pureza tumoral de las muestras se estimó utilizando el paquete de R *ESTIMATE* (*Estimation of STromal and Immune cells in MAlignant Tumors* v1.0.13), que además estima el componente estromal e inmune de los tejidos tumorales a partir de los perfiles de expresión génica<sup>108</sup>.

### 8.5 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS DE METILACIÓN

Los datos de metilación fueron recopilados por la Unidad de Genómica de Genyo (Granada). Para su obtención se utilizaron los *arrays* de metilación *Infimum Methylation EPIC array* (Illumina, San Diego, EEUU). Estos *arrays* cubren 850.000 sitios de metilación de diferente

naturaleza, entre los que destacan zonas diferencialmente metiladas entre tejido normal y algunos tumores.

### 8.5.1 Generación de los *microarrays* de metilación

Las muestras se sometieron a un proceso de conversión bisulfito de 250 ng de ADN mediante *EZ-96 DNA Methylation Kit* (Zymo Research, Irvine, EEUU). El ADN convertido fue posteriormente procesado con *Infinium HD FFPE Restore Protocol* (Illumina), en conjunto con el kit *ZR-96 DNA Clean & Concentrator-5 (Deep Well)* de Zymo Research. Este proceso restaura el ADN degradado de las muestras *FFPE* a un estado que es amplificable mediante el protocolo de amplificación de genoma completo de *Infinium*.

El protocolo *Infinium HD FFPE Methylation assay* consiste en:

- Amplificación de genoma completo.
- Fragmentación mediante enzimas del producto amplificado.
- Precipitación, decantación, secado y resuspensión.
- Hibridación del ADN en el *array*.
- Lavado del *array* y tinción de las bases.
- Fijación del *array*, secado.
- Escaneado y detección de la fluorescencia en plataforma *iScan System* (Illumina).

El análisis preliminar de los datos se realiza mediante el software *GenomeStudio*, que mide la intensidad del marcador detectado en Cy3 y Cy5 e identifica el porcentaje de citosinas metiladas, interrogando cada una de las posiciones con una sonda específica para el locus metilado y una sonda específica para el locus no-metilado.

El estado de metilación de un sitio *CpG* específico se calcula a partir de la intensidad de los alelos metilados (M) y no metilados (U), como la relación de las señales fluorescentes  $\beta = \text{Max}(M, 0) / [\text{Max}(M, 0) + \text{Max}(U, 0) + 100]$ . En esta escala,  $0 < \beta < 1$ , los valores  $\beta$  cercanos a 1 indican metilación completa y los cercanos a 0 señalan que no hay metilación.

### 8.5.2 Normalización y filtrado de los datos

Los archivos IDAT fueron leídos y procesados por el paquete de R *ChAMP* (v2.28.0)<sup>109</sup>. Se filtraron las sondas según el protocolo por defecto, quedando eliminadas aquellas sondas con un *p-valor* de detección  $>0,01$ , las que tienen una señal menor a 3 cuentas en al menos el 5% de las muestras, las sondas no pertenecientes a sitios *CpG*, los sitios relacionados con polimorfismos, sondas que pueden haber sufrido hibridación cruzada y sondas situadas en los cromosomas sexuales. Tras el filtrado se obtuvieron 516.582 sondas. Finalmente se realizó la normalización de los datos mediante el método *BMIQ* obteniendo los valores  $\beta$  normalizados, sobre los que se obtuvieron los valores *M* mediante la transformación logarítmica en base 2.

Se aplicó un PCA sobre la matriz de valores *M*. Se correlacionaron las 10 componentes principales con el  $-\log$  del *p-valor* medio obtenido en cada una de las sondas de metilación. Al igual que en el caso de la expresión, la primera componente principal correlacionó significativamente con la calidad (*coeficiente de correlación* = 0.82; *p-valor*  $< 10^{-6}$ ), por lo que también fue regresada sobre la matriz de metilación utilizando la función *removeBatchEffect* de *limma* (v3.54.0), eliminando así el efecto de la calidad de las muestras en los datos (Figura S1).

### 8.5.3 Obtención de los cambios en el número de copias somáticas (CNVs)

Los datos de CNV se obtuvieron a partir de la matriz de metilación filtrada, normalizada y corregida por la medida de calidad. En primer lugar, se calcularon los segmentos donde existían CNVs mediante el paquete de *ChAMP* (v2.20.1). Partiendo del archivo de segmentos, se ejecutó el programa *GISTIC2* (v2.0.23) usando el genoma de referencia hg19 y un nivel de confianza de 0.99 para identificar las ganancias y pérdidas cromosómicas a nivel de fragmentos<sup>110</sup>. Se anotaron los genes que se encontraron dentro de los límites de los fragmentos obtenidos mediante el paquete de R *BioMart* (v2.54.0).

### 8.5.4 Cálculo del fenotipo de metilación de islas *CpG* (CIMP)

La categorización de las muestras como CIMP alto y bajo se realizó en función de si la mediana de metilación de las muestras, utilizando los valores *M* corregidos por calidad, se

situaba por encima o por debajo de la mediana de los valores del conjunto de muestras. Las muestras con medianas inferiores a la mediana del conjunto de muestras se consideraron con CIMP bajo, mientras que las muestras con valores por encima se consideraron con CIMP alto.

## 8.6 SELECCIÓN Y CREACIÓN DE LAS LISTAS DE GENES ANALIZADAS

De las colecciones de genes disponibles en *MSigDB* (<https://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb/index.jsp>), se seleccionaron todas las listas de genes de las colecciones *Hallmarks*, *BIOCARTA* y *KEGG*, eliminando de esta última colección los sets de genes relacionados con enfermedades no relacionadas con cáncer. Además, se seleccionaron aquellas listas de genes relacionadas con la actividad neuroendocrina, endocrina, insulina, la vía de WNT y NOTCH de la colección de procesos biológicos de *gene ontology* (GOBP), y se hizo una selección de las vías de la colección de *REACTOME* que fueron de interés para el estudio (Tabla 4). Por último, se escogieron firmas de biomarcadores de células normales de los trabajos de Busslinger, Gao, Travaglini y Muraro<sup>111–114</sup>. Los genes de todas las firmas que no coincidieran con el nombre equivalente al que aparecía anotado en la matriz de expresión, fueron sustituidos por el mismo.

**Tabla 4. Colecciones de genes utilizados en el estudio.**

| COLECCIÓN | NÚMERO DE GENES |
|-----------|-----------------|
| Hallmarks | 50              |
| KEGG      | 169             |
| GOBP      | 117             |
| BIOCARTA  | 292             |
| PID       | 196             |
| REACTOME  | 21              |

## 8.7 ANÁLISIS DE LOS FACTORES MULTI-OMICOS (MOFA)

Para el análisis de factores multi-ómicos (*MOFA*), se utilizó el paquete de R *MOFA2* (v1.8.0)<sup>115</sup>. Este análisis se realizó con las 194 muestras con datos de transcriptoma y metiloma.

### 8.7.1 Creación del modelo *MOFA*

Los datos que se introdujeron para generar el modelo fueron los valores de expresión de los genes y de las sondas de metilación con mayor desviación absoluta de la mediana (DAM) entre las diferentes muestras de tumores primarios. Se calculó el DAM a partir de cada origen anatómico de manera independiente, descartando las muestras tumorales de metástasis. Los valores se ordenaron de mayor a menor obteniéndose la posición del ranking que ocupaba cada gen. Por último, se anotó la mediana del ranking y se seleccionaron los 5.000 genes y sondas de metilación con mayor valor. Este método busca evitar el uso de genes altamente variables entre los diferentes tejidos u órganos de procedencia de las muestras tumorales y seleccionar genes con elevada varianza únicamente entre las células tumorales.

Para obtener el modelo se usaron los diferentes tipos de tumor primario (estómago, páncreas, intestino delgado, intestino grueso (colon y recto) y pulmón como variable grupo. Esta modalidad de *MOFA* permite encontrar factores latentes en cada uno de los grupos por separado, pero otorgándoles un valor comparable entre todos ellos. Se usaron 8 factores, que fue el máximo recomendado por el algoritmo, y los parámetros por defecto, exceptuando el modo de convergencia del modelo en modo lento para aumentar la precisión a costa del tiempo de ejecución.

### 8.7.2 Análisis de los factores del modelo *MOFA*

**a) Análisis de la varianza:** se analizó el porcentaje de la varianza explicada de cada ómica en cada origen anatómico, tanto por el modelo de manera general, como por cada uno de los factores.

**b) Relación entre el factor y las variables:** se analizó la relación entre las variables clínico-patológicas y moleculares con cada uno de los factores del modelo. Para estudiar la asociación entre las variables discretas y los factores del modelo, se usó la prueba *Kruskal Wallis*, obteniendo el *q-valor* mediante la corrección del *p-valor* por el método *false discovery rate (FDR)*. Las variables que fueron estadísticamente significativas se analizaron mediante la prueba de Rangos de *Wilcoxon*, corrigiendo por *FDR* en función del número de análisis que se hicieron dentro de cada variable, utilizando el paquete de R *rstatix* (v0.7.1). Este análisis fue repetido estratificando las muestras en base al

origen anatómico. Los gráficos de cajas y bigotes que muestran estos resultados se realizaron mediante el paquete de R *ggplot2* (v2.3.4) y *ggpubr* (v0.5.0), mientras que los gráficos de puntos que indican el valor de los factores en cada muestra diferenciando por tumor primario se realizó con el propio paquete de *MOFA2*. Los mapas de calor que muestran esta información se han realizado usando el paquete de R *ComplexHeatmap* (v2.14.0)<sup>116</sup>.

Para estudiar la relación entre el microambiente y los factores, se realizó un modelo lineal con los *scores* de abundancia de células inmunes, endoteliales y fibroblastos obtenidos en la deconvolución como variables independientes, y cada uno de los factores como variables dependientes. Los resultados se muestran en un mapa de calor obtenido mediante el paquete de R *ComplexHeatmap* (v2.14.0).

El estudio del resto de variables continuas se realizó mediante una prueba de correlación de *Spearman* entre los niveles del factor y la variable. En el caso de características que pudieran tener una relación no lineal con alguno de los factores, se utilizó el paquete de R *nIcor* (v 2.03) para calcular su coeficiente y significancia<sup>117</sup>.

Para la relación entre los factores y la supervivencia global de los pacientes, se construyó un modelo de *Cox* con el paquete de R *survival* (v3.3\_1), utilizando los factores de *MOFA* como covariables del modelo, el tiempo de supervivencia global como variable tiempo y el estatus vital como evento.

**c) Análisis de genes de expresión:** para cada factor se obtuvieron los pesos relativos de cada gen respecto al resto. Esta información permite establecer cuáles son los genes que aportan mayor variabilidad dentro del conjunto de datos de expresión y, por lo tanto, cuales son más representativos de cada factor. La importancia viene dada por el valor absoluto del peso y el signo indica la dirección del factor al que se encuentra asociado cada gen.

Se realizó un análisis de enriquecimiento de listas de genes (GSEA) de los factores para estudiar qué vías de señalización estaban involucradas utilizando el paquete de R *fgsea* (1.24.0)<sup>118</sup>. El ranking se generó realizando una correlación de *Pearson* entre la expresión de los genes y los niveles del factor. De esta forma, se usa la información del transcriptoma completo para el análisis de enriquecimiento y no solo de los 5.000 genes utilizados en el modelo.

**d) Análisis de sitios de metilación:** las sondas de metilación se anotaron indicando la posición y el cromosoma al que está asociada la sonda, según la versión del genoma hg38 y el gen que se encuentra en esa posición. Para ello se utilizó el archivo de anotación *Infinium MethylationEPIC v1.0 B5 Manifest File* disponible en la página oficial de *Illumina* (<https://support.illumina.com/downloads/infinium-methylationepic-v1-0-product-files.html>).

Al igual que en el caso de los genes de expresión, se calculó la importancia de cada una de las sondas en los factores en base al peso relativo que tenían en cada uno de ellos.

## 8.8 CLASIFICACIÓN MOLECULAR

### 8.8.1 Generación de la clasificación

La clasificación molecular se ha realizado usando los valores de algunos de los factores latentes del modelo de *MOFA*. Para la clasificación molecular se eliminaron los factores 3 y 6, ya que fueron asociados con la calidad y con la variabilidad entre las metástasis hepáticas y el resto de las muestras, respectivamente (ver resultados apartado 9.2).

La estratificación de las muestras en función de los factores latentes se realizó mediante el paquete de R *diceR* (v1.2.2). Este paquete permite ensamblar el resultado de varios algoritmos de clasificación. En este caso particular se utilizaron los algoritmos de clasificación jerárquica, *K-means*, DIANA, PAM, modelos gaussianos mixtos, BLOCK, *C-means* y HDBSCAN<sup>119</sup>. Se buscaron entre 2 y 10 grupos (k). Por cada algoritmo y por cada k se realizaron 10.000 repeticiones con un 85% de las muestras. La correlación de *Spearman* fue la medida de distancia escogida para aquellos algoritmos en los que fuera necesario. El resultado de aquellos pacientes que no se utilizaron en cada una de las repeticiones fue imputado por el algoritmo k vecinos próximos (KNN).

Se calculó la matriz de consenso y se eligió el número de grupos óptimo mediante el cálculo del coeficiente de correlación cofenético, cuyo valor más alto se obtenía con 3 grupos. El consenso de los grupos entre los diferentes algoritmos se estableció mediante el método *Cluster-based Similarity Partitioning Algorithm* (CSPA)<sup>120</sup>.

### 8.8.2 Asociación con variables clínicas

Los grupos obtenidos se asociaron con las variables clínicas categóricas utilizando la prueba de *Fisher*. Para el cálculo del *p-valor* se utilizó la simulación de Monte Carlo al analizar una matriz de contingencia mayor a 2x2.

Los mapas de calor en los que se muestran los diferentes grupos obtenidos con la anotación de las características clínicas de los pacientes se realizaron mediante el paquete de R *ComplexHeatmap* (v2.14.0).

Se estudió el efecto pronóstico de los grupos obtenidos utilizando el tiempo de supervivencia global desde el diagnóstico hasta la muerte o última visita con un máximo de 150 meses usando los paquetes de R *survival* (v3.3\_1) y *survminer* (v0.4.9). La estimación de la supervivencia se realizó mediante el método *Kaplan-Meier* y las diferencias entre los distintos subtipos fue analizada mediante la prueba *log-rank*.

Además, se realizaron regresiones de Cox multivariantes teniendo en cuenta los subtipos y diferentes características clínico-patológicas como variables dependientes en cada modelo, y una regresión de Cox multivariante añadiendo las variables que salieron significativas en los modelos anteriores, que fueron la edad, el sexo, el grado, la presencia de metástasis al diagnóstico, el origen del tumor primario y el subtipo molecular. Los gráficos de árboles resultantes fueron realizados con el paquete de R *forestmodel* (v0.6.2).

Por último, se estudió la diferencia en la capacidad predictiva del modelo de Cox multivariante formado únicamente por las variables clínicas (edad, sexo, grado, presencia de metástasis al diagnóstico y origen del tumor primario) respecto al modelo que incluía además la información de la clasificación molecular. Para probar esta diferencia se obtuvo el valor de concordancia o *C-index* de 100 modelos de Cox de ambos casos con un 80% aleatorio de los pacientes del estudio. La diferencia estadística se calculó mediante una prueba de la T de *Student* pareada en la que los pares se establecieron según los pacientes escogidos en cada modelo. El gráfico de cajas y bigotes que muestra estas diferencias fue realizado mediante los paquetes de R *ggplot2* (v2.3.4) y *ggpubr* (v0.5.0).

### 8.8.3 Estudio del microambiente tumoral

Se estudiaron las diferencias en las puntuaciones o *scores* de abundancia inferida de diversas poblaciones celulares entre los distintos grupos, obtenidos mediante el programa *ESTIMATE* y por *MCP counter*, mediante la prueba de *Kruskal Wallis*. Aquellas variables con diferencias significativas fueron analizadas mediante la prueba de rangos de *Wilcoxon* para ver cuáles de los subtipos tenían diferencias entre sí, ajustando por análisis múltiple mediante el método *FDR*. Este último análisis estadístico se realizó a su vez en los distintos tumores primarios. Los gráficos de cajas y bigotes mostrando estos resultados se realizaron mediante los paquetes de R *ggplot2* (v2.3.4) y *ggpubr* (v0.5.0).

### 8.8.4 Análisis de las diferencias en CNVs en los distintos subtipos neuroendocrinos

Los segmentos con alteraciones diferenciales entre los grupos y entre las distintas localizaciones de tumor primario fueron determinados mediante la prueba exacta de *Fisher*, calculando el *p-valor* mediante la simulación de Monte Carlo. Este análisis tuvo en cuenta los valores -2 y -1 como delecciones y los valores +1 y +2 como amplificaciones. El análisis se realizó por un lado teniendo en cuenta todas las delecciones, y por otro lado las amplificaciones para comprobar si algún grupo tenía un enriquecimiento en alguno de los tipos de alteración genómica. También se evaluaron diferencias en cada uno de los tipos de amplificación y delección por separado, ajustando los *p-valores* obtenidos debido a la realización de un análisis múltiple mediante el método *FDR*.

### 8.8.5 Expresión diferencial y análisis funcional

Se realizó un análisis de expresión diferencial mediante el paquete de R *limma* (v3.54.0) para obtener los genes diferencialmente expresados (GDE) entre los 3 subtipos neuroendocrinos (SN) identificados en la clasificación no supervisada<sup>105</sup>. Se obtuvieron GDE del SN2 frente al SN3 con un cambio logarítmico en base 2 (CL2) > 0,2 y un *q-valor* < 0,1 y los GDE entre SN1 vs SN2 y SN1 vs SN3 con un CL2 > 0,5 y un *q-valor* < 0,05. Estos resultados se resumieron en un gráfico de volcán usando el paquete de R *enhancedvolcano* (v1.16.0), un diagrama de Venn mediante el

paquete de R *venndiagram* (v1.7.3) y gráficos de araña utilizando el paquete de R *ggradar* (v0.2.0).

Los GDE se calcularon en toda la cohorte de muestras y en cada uno de los orígenes anatómicos del tumor primario de manera independiente. Las diferencias de expresión de los GDE se representaron con gráficos de cajas y bigotes añadiendo los *q-valores* obtenidos por *limma* usando los paquetes de R *ggplot2* (v2.3.4) y *ggpubr* (v0.5.0).

La lista ordenada de genes resultante entre las diferentes comparaciones fue utilizada para realizar un GSEA mediante el paquete de R *fgsea* (v1.24.0) sobre los conjuntos de genes mencionados en el apartado 8.6. Se definieron como vías de señalización con diferencias significativas aquellas con valores de *q-valor* < 0,05 y se mostraron mediante mapas de calor utilizando el paquete de R *ComplexHeatmap* (v2.14.0).

#### **8.8.6 Estudio de la activación proteica inferida diferencial de los reguladores principales**

El análisis de activación proteica inferida diferencial de los reguladores principales entre los distintos subtipos neuroendocrinos obtenidos en la clasificación, se realizó según el procedimiento descrito en el apartado 8.8.5 utilizando la información obtenida por el método *VIPER*.

#### **8.8.7 Estudio de la metilación en los grupos moleculares obtenidos**

Se obtuvieron las regiones diferencialmente metiladas entre los distintos grupos moleculares mediante los mismos métodos explicados en el apartado 8.8.5. A continuación, se correlacionaron los niveles de metilación con la expresión de los genes anotados en estas regiones mediante el método de *Pearson*, y se calculó el coeficiente de determinación a partir de un modelo lineal donde se definió la expresión como la variable dependiente y la metilación como la variable independiente. Además, se realizó este análisis estratificando por tumor primario en los genes *GIPC2*, *CHGA*, *PIGR*, *NOVA1*, *LGALS4* y *PTPRN*.

Se seleccionaron aquellos genes cuyo coeficiente de correlación de *Pearson* entre su expresión y la metilación de alguna de sus regiones superó el 0.40 en valor absoluto. Para mostrar estos datos se identificó la región de metilación en cada gen con mayor coeficiente de correlación de *Pearson* en valor absoluto, y se realizó un gráfico de barras mostrando el coeficiente de correlación y el *q-valor* ajustado por *FDR*. A estos datos se les añadió un gráfico de líneas indicando el coeficiente de determinación usando el paquete de R *ggplot2* (v2.3.4).

#### 8.8.8 Identificación de los genes con valor pronóstico

Para la identificación de genes cuya expresión pudiera tener valor pronóstico independiente, se aplicó un modelo de *Cox* regularizado por el método de penalización *LASSO* usando el paquete de R *glmnet* (v4.1\_4), introduciendo los genes diferencialmente expresados entre los distintos subtipos neuroendocrinos. Para la obtención del valor *lambda* óptimo, se utilizó el método de validación cruzada con 1.000 iteraciones, escogiendo el *lambda* mínimo que se había repetido el mayor número de veces. Una vez seleccionado el valor de *lambda*, se obtuvieron los genes con coeficientes de correlación distintos a cero. Con los genes identificados se generó un modelo de *Cox* multivariante junto con las variables de edad, sexo, grado, presencia de metástasis al diagnóstico y origen del tumor primario. Las muestras se estratificaron en función de la mediana de expresión de los genes que obtuvieron valores pronósticos independientes en el modelo de regresión de *Cox*, y se realizó un análisis de supervivencia mediante el método de *Kaplan-Meier* en la población general y por subgrupo molecular utilizando los paquetes de R *survival* (v3.3\_1) y *survminer* (v0.4.9). Adicionalmente se mostró la distribución de la expresión de estos genes en los distintos subtipos mediante un gráfico de cajas y bigotes añadiendo los *q-valores* obtenidos por el método de *limma* usando los paquetes de R *ggplot2* (v2.3.4) y *ggpubr* (v0.5.0).

#### 8.8.9 Disponibilidad de código

El código utilizado para la realización de la tesis doctoral está disponible en el repositorio público de GitHub ([https://github.com/Garcia-Carbonero-Lab/Neuroendocrine\\_Classification](https://github.com/Garcia-Carbonero-Lab/Neuroendocrine_Classification))

## 9 RESULTADOS

---

## 9.1 CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

La cohorte de estudio incluye 194 pacientes diagnosticados de TNEs de diferentes orígenes anatómicos: 53 (27,3%) de intestino delgado, 44 (22,7%) pulmonares, 35 (18,0%) pancreáticos, 32 (16,5%) gástricos y 30 (15,5%) de intestino grueso (Tabla 5). En su mayoría, las muestras tumorales disponibles para el estudio procedían de del tumor primario (82,5%), aunque también se incluyeron muestras tumorales de lesiones metastásicas, siendo las más frecuentes las de origen hepático (9,3%) (Tabla 5).

La mediana de edad de la cohorte de estudio es de 56 años (20-85), con una discreta mayor proporción de mujeres (53,1%) (Tabla 5). El 26,8% de los pacientes presentaron enfermedad metastásica al diagnóstico, aunque esta proporción es variable si tenemos en cuenta el origen tumoral (Tabla 5). La cohorte de estudio está compuesta por TNEs bien diferenciados, fundamentalmente de grado G1 (53,1%) y G2 (45,4%), con solo tres casos G3 (1,6%). Un 13,9% de los pacientes tenía niveles elevados de ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en orina, principal metabolito de la serotonina, aunque esta información sólo estaba disponible en el 34% de los pacientes del estudio.

Con una mediana de seguimiento de los pacientes de 112 meses (rango: 17 días-391 meses), la supervivencia global (SG) a los 10 años de la cohorte completa es del 76%. Sin embargo, el pronóstico varía notablemente en función del origen del tumor primario, siendo las tasas de supervivencia más altas en los TNEs gástricos (91% a 10 años), pancreáticos y del intestino delgado (81% a 10 años), y menores en TNEs de origen pulmonar (65% a 10 años) y colorrectal (62% a 10 años) (Figura 2).

Tabla 5. Variables clínico-patológicas de la población de estudio.

| VARIABLE                         | PULMÓN     | ESTÓMAGO   | PÁNCREAS   | I.DELGADO  | COLORRECTAL | TOTAL       |
|----------------------------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|
| <b>Edad</b>                      |            |            |            |            |             |             |
| Mediana                          | 57.6       | 52.3       | 56.2       | 57.3       | 54.0        | 56.0        |
| Rango                            | 19.9-80.3  | 27.6-79.3  | 30.7-78.9  | 33.6-85.5  | 20.1-80.4   | 19.9-85.5   |
| <b>Sexo N (%)</b>                |            |            |            |            |             |             |
| Mujer                            | 27 (61.4%) | 17 (53.1%) | 20 (57.1%) | 28 (52.8%) | 11 (36.7%)  | 103 (53.1%) |
| Hombre                           | 17 (38.6%) | 15 (46.9%) | 15 (42.9%) | 25 (47.2%) | 19 (63.3%)  | 91 (46.9%)  |
| <b>Grado N (%)</b>               |            |            |            |            |             |             |
| G1                               | 18 (40.9%) | 20 (62.5%) | 16 (45.7%) | 32 (60.4%) | 17 (56.7%)  | 103 (53.1%) |
| G2                               | 25 (56.8%) | 12 (37.5%) | 18 (51.4%) | 21 (39.6%) | 12 (40.0%)  | 88 (45.4%)  |
| G3                               | 1 (2.3%)   | 0 (0.0%)   | 1 (2.9%)   | 0 (0.0%)   | 1 (3.3%)    | 3 (1.6%)    |
| <b>Estadio IV al dx N (%)</b>    |            |            |            |            |             |             |
| No                               | 32 (72.7%) | 29(90.6%)  | 26 (74.3%) | 32 (60.4%) | 22(73.3%)   | 141 (72.7%) |
| Sí                               | 12 (27.3%) | 3 (9.4%)   | 8 (22.9%)  | 21 (39.6%) | 8 (26.7%)   | 52 (26.8%)  |
| Desconocido                      | 0 (0.0%)   | 0 (0.0%)   | 1 (2.9%)   | 0 (0.0%)   | 0 (0.0%)    | 1 (0.5%)    |
| <b>5-HIAA alto N (%)</b>         |            |            |            |            |             |             |
| No                               | 25 (56.8%) | 2 (6.3%)   | 6 (17.1%)  | 10 (18.9%) | 8 (26.7%)   | 51 (26.3%)  |
| Sí                               | 6 (13.6%)  | 2 (6.3%)   | 2 (5.7%)   | 16 (30.2%) | 1 (3.3%)    | 27 (13.9%)  |
| Desconocido                      | 13 (29.6%) | 28 (87.5%) | 27 (77.1%) | 27 (50.9%) | 21 (70.0%)  | 116 (59.8%) |
| <b>Loc muestra tumoral N (%)</b> |            |            |            |            |             |             |
| <b>Tumor Primario</b>            | 37 (84.1%) | 31 (96.9%) | 29 (82.9%) | 36 (67.9%) | 27 (90.0%)  | 160 (82.5%) |
| <b>Metástasis</b>                | 7 (15.9)   | 1 (3.1%)   | 6 (17.1%)  | 18(32.1%)  | 3 (10.0%)   | 34 (17.5%)  |
| Hígado                           | 2 (4.6%)   | 0 (0.0%)   | 3 (8.6%)   | 10 (18.9%) | 3 (10.0%)   | 18 (9.3%)   |
| Pulmón                           | 0 (0.0%)   | 0 (0.0%)   | 2 (5.7%)   | 0 (0.0%)   | 0 (0.0%)    | 2 (1.0%)    |
| Ganglio Linfático                | 2 (4.6%)   | 0 (0.0%)   | 0 (0.0%)   | 1 (1.9%)   | 0 (0.0%)    | 3 (1.6%)    |
| Ovario                           | 1 (2.3%)   | 0 (0.0%)   | 0 (0.0%)   | 1 (1.9%)   | 0 (0.0%)    | 2 (1.0%)    |
| Parótida                         | 0 (0.0%)   | 0 (0.0%)   | 0 (0.0%)   | 1 (1.9%)   | 0 (0.0%)    | 1 (0.6%)    |
| Peritoneo                        | 1 (2.3%)   | 1 (3.1%)   | 0 (0.0%)   | 4 (7.5%)   | 0 (0.0%)    | 6 (3.1%)    |
| Piel                             | 1 (2.3%)   | 0 (0.0%)   | 1 (2.9%)   | 0 (0.0%)   | 0 (0.0%)    | 2 (1.0%)    |

Dx: diagnóstico; 5-HIAA: ácido 5-hidroxiindolacético; N: número; Loc: Localización; SG: Supervivencia Global

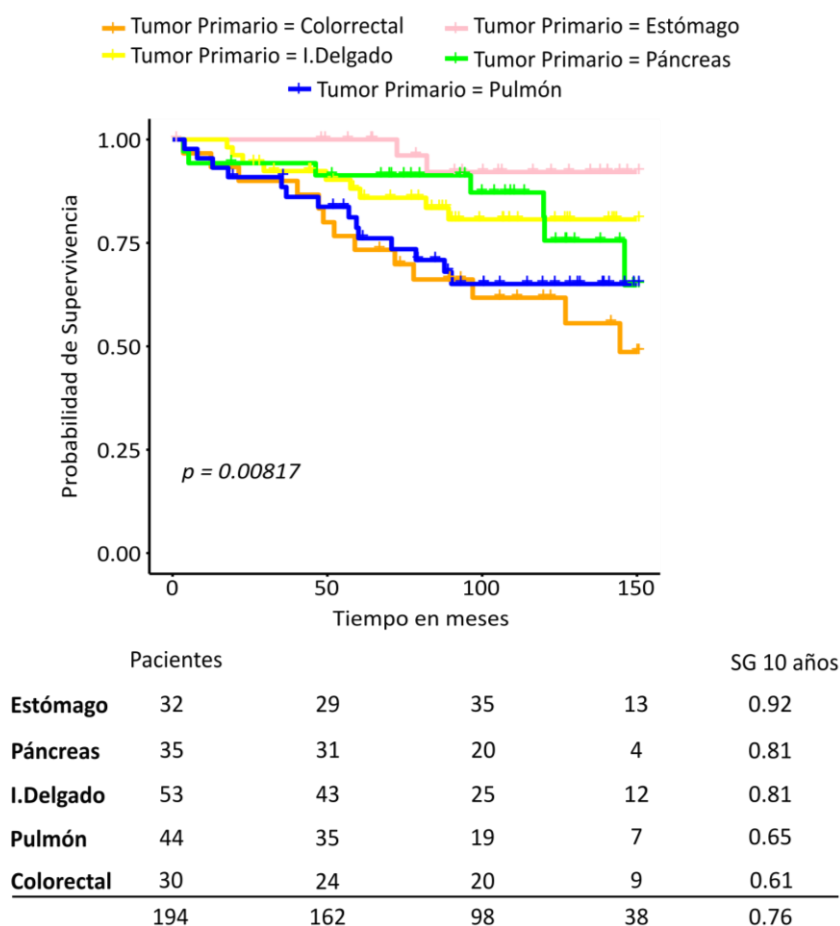


**Figura 2.** La supervivencia global de los pacientes depende de la localización anatómica del tumor primario. Curvas de supervivencia global para los diferentes orígenes anatómicos calculadas mediante el método de *Kaplan-Meier*. Se indica el *p*-valor obtenido mediante la prueba de *log-rank* y los pacientes vivos a los 50, 100 y 150 meses, además de la probabilidad de supervivencia a los 10 años.

## 9.2 DESARROLLO DEL MODELO MOFA

En primer lugar, llevamos a cabo una integración de los datos de expresión y metilación de los 194 TNEs de la población de estudio en un modelo de análisis de factores multi-ómico factorial (*MOFA*) estratificado en función del origen del tumor primario. Como resultado se obtuvo un modelo de 8 factores, siendo estos el número máximo de factores recomendado en función del número de muestras de la población de estudio.

En la Figura 3 se representa la proporción de la varianza explicada por cada factor del modelo *MOFA* en cada ómica, estratificado por localización anatómica del tumor primario. En ella se puede observar cómo, en todos los grupos, el modelo explica una mayor proporción de la

varianza de la metilación: el 44,3% en TNEs pulmonares, 39,1% en TNEs colorrectales, 41,1% en TNEs de intestino delgado, 29,9% en TNEs gástricos y 27,9% en TNEs pancreáticos (Figura 3; Tabla S1). Por otro lado, encontramos que el modelo explica el 27,4%, 27,2%, 24,7%, el 21,7% y el 20,7% de la varianza de los datos de expresión en los TNEs de intestino delgado, estómago, colorrectal, pulmón y páncreas, respectivamente (Figura 3; Tabla S1).

Teniendo en cuenta cada uno de los factores por separado, encontramos que la proporción de la varianza explicada por cada uno de los factores incluidos en el modelo (1-8) era variable. Así, el Factor 1, 2, 4 y 8 explicaban una mayor proporción de varianza de los datos de metilación, mientras que el Factor 3 y 5 aportan más información de los datos de expresión génica. En los factores 6 y 7, la proporción de varianza explicada de ambas ómicas era similar. Además, la información aportada por los factores fue diferente en función del origen del tumor primario: el Factor 1 explica mayor variabilidad de la metilación en TNEs colorrectales; el Factor 2 aporta más información de ambas ómicas en TNEs de intestino delgado y estómago; el Factor 4 en TNEs pulmonares; el Factor 5 en TNEs colorrectales y gástricos; y el Factor 6 en TNEs de páncreas e intestino delgado. A pesar de estas diferencias, y con la excepción del Factor 4 que es exclusivamente pulmonar, todos los factores explican una proporción importante de la varianza de alguna ómica en los diferentes orígenes anatómicos del tumor primario (Figura 3; Tabla S2).

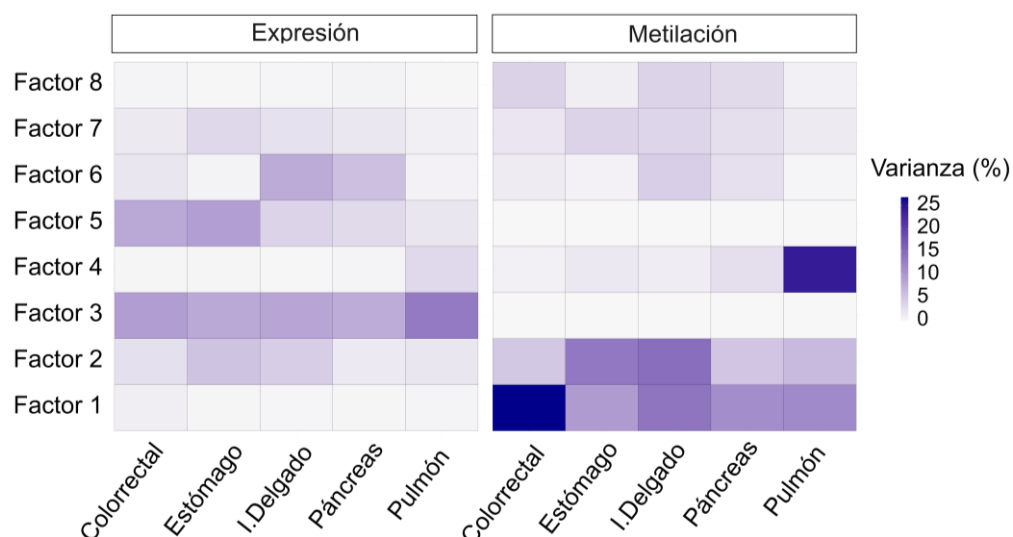


**Figura 3. Varianza explicada por el modelo MOFA.** Mapa de calor representando la proporción de la varianza explicada por cada factor del modelo MOFA en cada ómica estratificado en función del origen del tumor primario.

Posteriormente observamos que los factores latentes del modelo se asociaban significativamente con algunas características clínico-patológicas y moleculares de la enfermedad (sexo, grado, presencia de metástasis al diagnóstico, niveles de 5-HIAA, supervivencia global y CIMP), así como con otras variables relacionadas con el microambiente tumoral y vías de señalización celular (Figura 4; Tabla S3; Tabla S4; Tabla S5; Tabla S6).

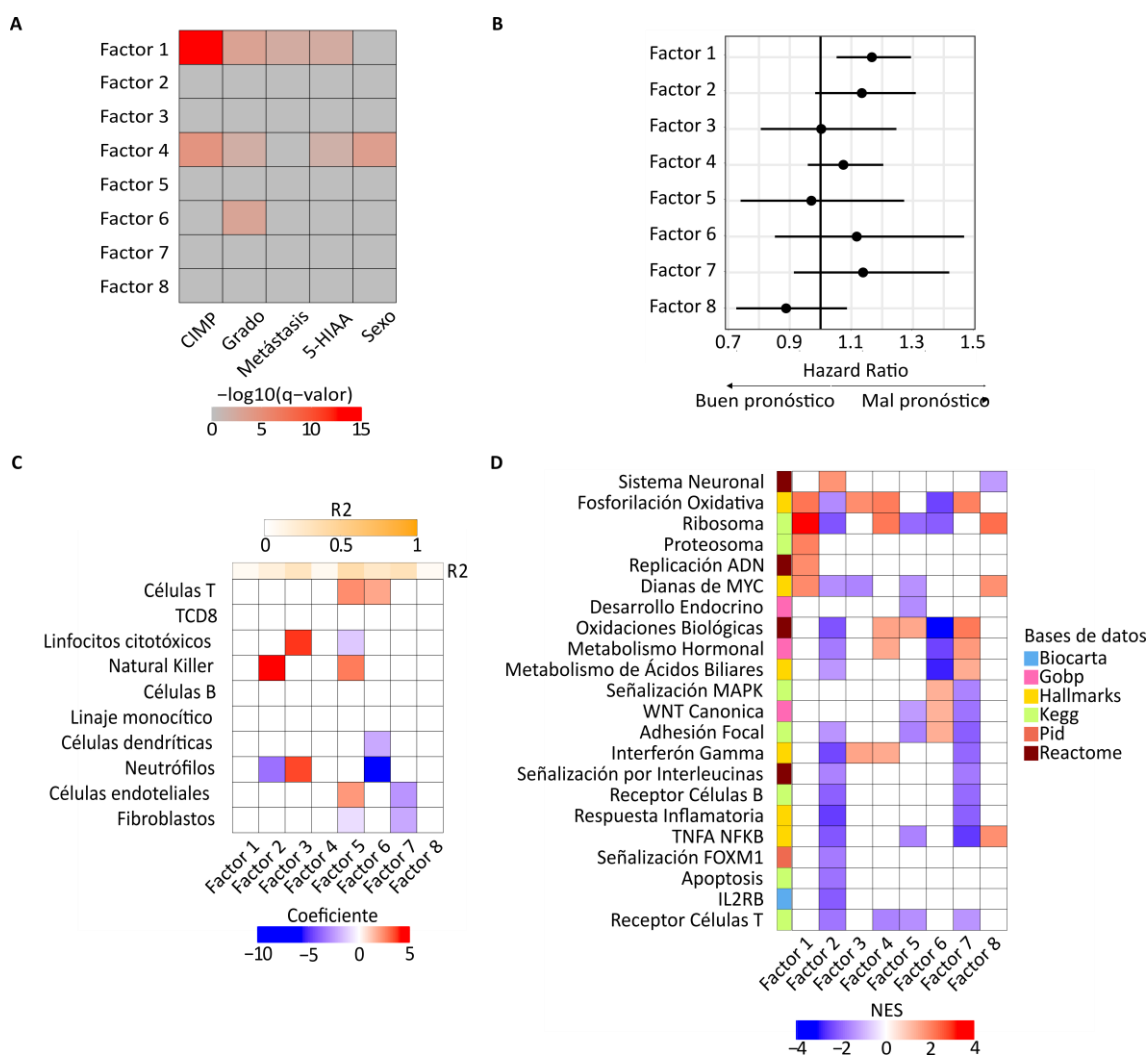


**Figura 4. Los factores del modelo MOFA se asocian con diferentes variables clínico-patológicas y biológicas.** **A)** Mapa de calor representando la asociación entre los factores del modelo MOFA y las principales características clínico-patológicas calculada por la prueba de *Kruskal Wallis*. Se muestra el  $-\log$  de los  $p$ -valores  $< 0,05$  ajustados por *FDR*. **B)** Diagrama de bosque mostrando la asociación de cada uno de los factores del modelo MOFA con el pronóstico de los pacientes representado por el *hazard ratio* y el intervalo de confianza del modelo de regresión de *Cox*. **C)** Mapa de calor que señala la asociación entre las poblaciones celulares inmunes y los factores del modelo MOFA. Se muestra el coeficiente de regresión con un  $p$ -valor  $< 0,05$  en el modelo lineal y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ). **D)** Mapa de calor que representa la asociación entre las vías de señalización específicas y los factores del modelo MOFA. Se muestra el valor del *score* de enriquecimiento normalizado (*NES*) de la serie de genes significativos al realizar un análisis de enriquecimiento de set de genes (*GSEA*).

### 9.2.1 Factor 1

La variabilidad de los datos de metilación explicada por el Factor 1 supera considerablemente la variabilidad de la expresión, especialmente en los TNEs del intestino grueso (Figura 3; Tabla S2).

El Factor 1 muestra una asociación estadísticamente significativa con el grado ( $q\text{-valor} = 2,45*10^{-3}$ ), la presencia de metástasis ( $q\text{-valor} = 9,16*10^{-3}$ ), los niveles de 5-HIAA ( $q\text{-valor} = 0,010$ ) y el CIMP ( $q\text{-valor} = 2,51*10^{-13}$ ) (Figura 4A; Tabla S3). Específicamente para grado, encontramos diferencias para todas las categorías: G1 vs G2 ( $\text{efecto} = 0,23$ ;  $q\text{-valor} = 3,90*10^{-3}$ ); G1 vs G3 ( $\text{efecto} = 0,25$ ;  $q\text{-valor} = 0,017$ ) y G2 vs G3 ( $\text{efecto} = 0,21$ ;  $q\text{-valor} = 0,047$ ) (Figura 5A; Figura S2A; Tabla S7).

Teniendo en cuenta el origen del tumor primario, observamos diferencias significativas en los tumores de intestino delgado entre G1 y G2, con valores más elevados del factor en estos últimos. Sin embargo, las diferencias más relevantes se dan entre los tumores con CIMP alto, que muestran valores más elevados del Factor 1 con respecto a CIMP bajo, independientemente del origen del tumor primario (Figura 5B; Figura S2B; Tabla S8).

Es importante destacar que la metilación de *RASSF1* está entre las variables que más información aportan al Factor 1 (Tabla S9). Además, a pesar de que este factor no explica una gran información de los datos de expresión, observamos una mayor importancia relativa en genes relacionados con la vía de las MAPK o de mTOR, como *MAPK9* o *AKT2* y un enriquecimiento significativo de la vía ribosomal ( $NES = 3,20$ ;  $q\text{-valor} = 5,69*10^{-19}$ ), el proteosoma ( $NES = 2,05$ ;  $q\text{-valor} = 9,94*10^{-3}$ ), la fosforilación oxidativa ( $NES = 2,22$ ;  $q\text{-valor} = 2,79*10^{-8}$ ) y la vía de *MYC* ( $NES = 1,91$ ;  $q\text{-valor} = 7,77*10^{-6}$ ) (Figura 4D; Figura S3; Tabla S6). Además, este factor está estrechamente relacionado con la supervivencia global de los pacientes, asociándose valores más altos del Factor 1 con un pronóstico más desfavorable ( $HR = 1,17$ ;  $p\text{-valor} = 3,48*10^{-3}$ ) (Figura 4B; Tabla S4).

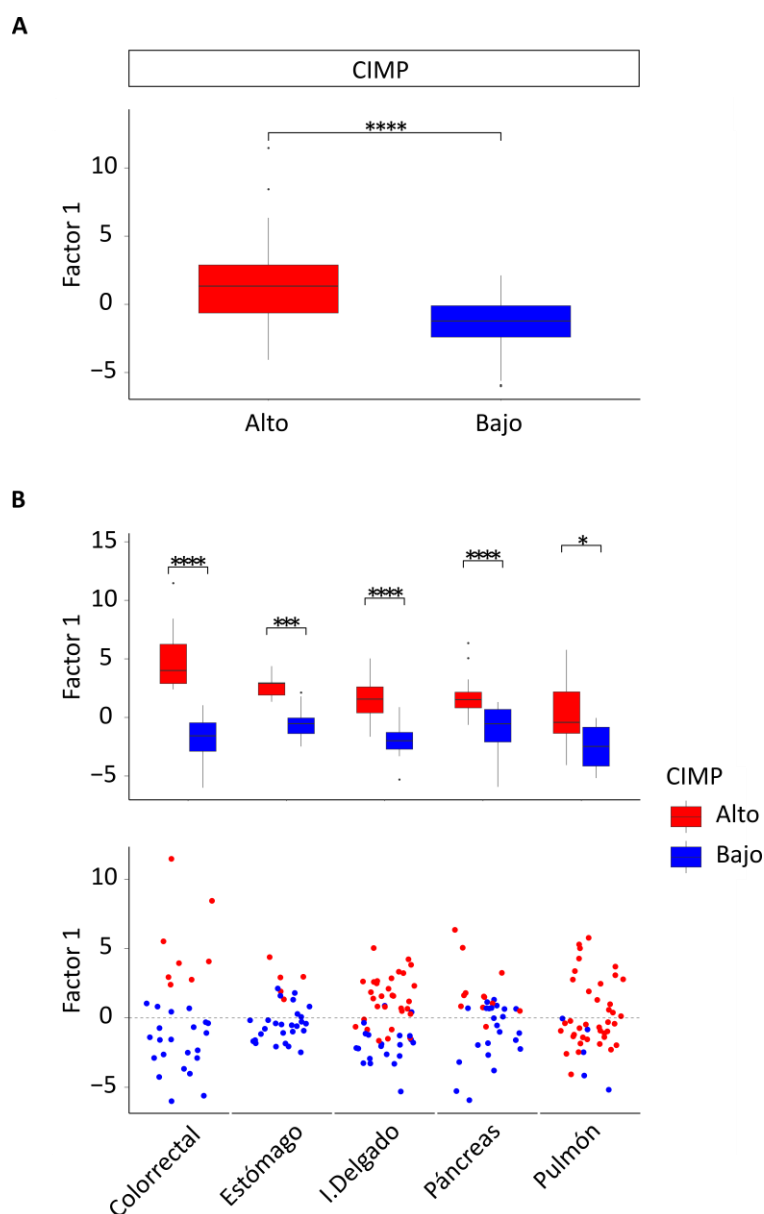


**Figura 5. El Factor 1 está asociado con el fenotipo metilador de los TNEs. A)** Gráfico de cajas y bigotes representando el valor del Factor 1 en función del fenotipo metilador alto o bajo de las islas CpG (CIMP). Se muestra la significancia de la prueba de *Wilcoxon* donde \* = *p*-valor < 0,05; \*\* = *p*-valor < 0,01; \*\*\* = *p*-valor < 0,001 y \*\*\*\* = *p*-valor < 0,0001. **B)** Gráfico de cajas y bigotes representando el valor del Factor 1 según el perfil alto o bajo de CIMP, estratificado en función del origen del tumor primario. Se muestra la significancia de la prueba de *Wilcoxon* donde \* = *q*-valor < 0,05; \*\* = *q*-valor < 0,01; \*\*\* = *q*-valor < 0,001 y \*\*\*\* = *q*-valor < 0,0001. **C)** En la parte inferior se representa un gráfico de puntos que ilustra los valores individuales por muestra del Factor 1 en función del CIMP, estratificando por tumor primario.

### 9.2.2 Factor 2

El Factor 2 explica, en general, mayor varianza de los datos de metilación que de los de expresión, aunque con menor diferencia en comparación con el Factor 1, aportando más información en los tumores de intestino delgado y estómago (Figura 3; Tabla S2).

No encontramos ninguna asociación entre este factor y las variables clínico-patológicas estudiadas (Figura 4A-B; Tabla S3; Tabla S4). Sin embargo, encontramos una relación entre el Factor 2 y la abundancia de células *Natural Killer* (NK) (*coeficiente* = 4,09; *p-valor* =  $3,27 \cdot 10^{-3}$ ) y Neutrófilos (*coeficiente* = -3,57; *p-valor* = 0,033), así como con vías de señalización asociadas al sistema inmune, como la respuesta inflamatoria (*NES* = -2,60; *q-valor* =  $1,02 \cdot 10^{-15}$ ), la vía del interferón gamma (*NES* = -2,46; *q-valor* =  $3,06 \cdot 10^{-13}$ ), el factor de necrosis tumoral (TNF $\alpha$ ) vía NF-KB (*NES* = -2,27; *q-valor* =  $1,29 \cdot 10^{-10}$ ), la señalización por interleucinas (*NES* = -1,67; *q-valor* =  $5,42 \cdot 10^{-7}$ ), el receptor de células B (*NES* = -2,14; *q-valor* =  $7,17 \cdot 10^{-5}$ ) y los receptores de células T (*NES* = -1,86; *q-valor* =  $6,23 \cdot 10^{-4}$ ) (Figura 4C-D; Tabla S5; Tabla S6). En concordancia, es el factor con el coeficiente de correlación más significativo respecto al *score* inmune obtenido por el programa *ESTIMATE* (Figura S4; Tabla S10).

Por otro lado, identificamos biomarcadores clásicos de los TNEs como los miembros de la familia de la cromogranina-secretogranina, con una gran importancia en el lado positivo del factor, entre los que destacan la cromogranina A y B (*CHA* y *CHB*) y las secretograninas III y IV (*SCG3* y *SCG4*) (Figura S3). Además, observamos un mayor enriquecimiento en la misma dirección de genes relacionados con el sistema neuronal (*NES* = 1,76; *q-valor* =  $5,42 \cdot 10^{-7}$ ) y con genes específicos de células neuroendocrinas como las células enterocromafines de intestino delgado (*NES* = 3,18; *q-valor* =  $2,28 \cdot 10^{-45}$ ), gástricas (*NES* = 2,80; *q-valor* =  $3,14 \cdot 10^{-15}$ ) y duodenales (*NES* = 2,35; *q-valor* =  $4,95 \cdot 10^{-7}$ ), células neuroendocrinas de pulmón (*NES* = 3,10; *q-valor* =  $4,56 \cdot 10^{-25}$ ), células X gástricas (*NES* = 2,85; *q-valor* =  $1,14 \cdot 10^{-24}$ ) o células delta pancreáticas (*NES* = 2,72; *q-valor* =  $6,60 \cdot 10^{-24}$ ) (Figura 5; Tabla S11).

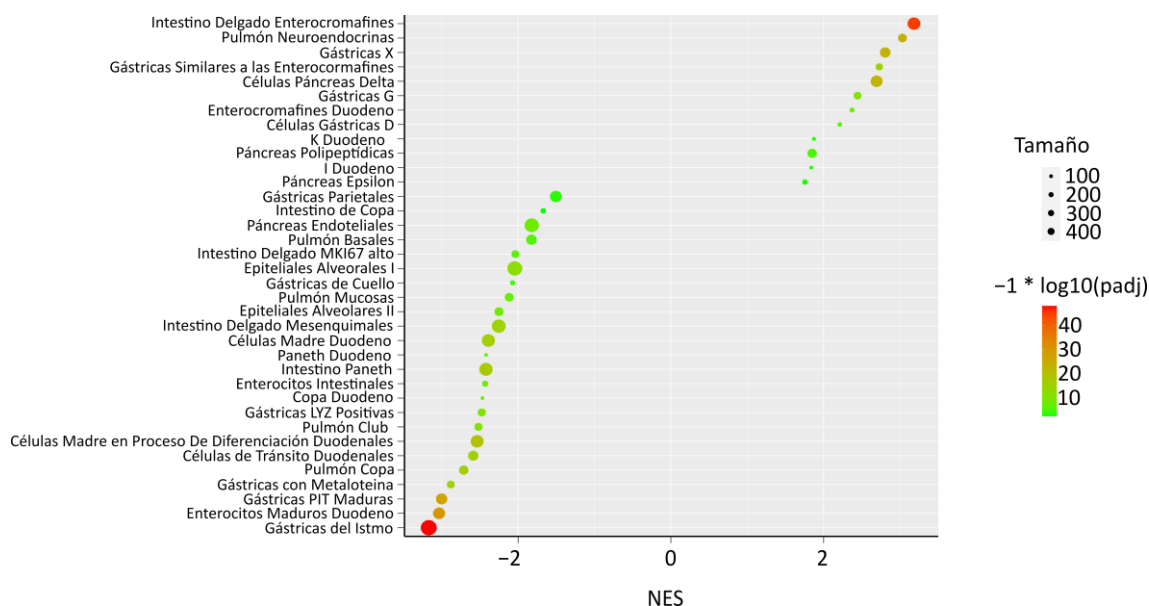


**Figura 6. El Factor 2 está asociado con la diferenciación neuroendocrina de los TNEs.** Gráfico de puntos que representa el *score* de enriquecimiento normalizado (NES) de los conjuntos de genes relacionados con células normales en el Factor 2. La significancia del enriquecimiento está indicada mediante el color (siendo rojo el más significativo) y el número de genes de cada conjunto mediante el tamaño.

### 9.2.3 Factor 3

El Factor 3 explica mayoritariamente datos de expresión génica, con variaciones mínimas entre los diferentes orígenes de tumor primario evaluados. No encontramos asociaciones significativas con las variables clínico-patológicas (Figura 4A-B; Tabla S3, Tabla S4), aunque sí parece relacionado con algunas poblaciones celulares como linfocitos citotóxicos (*coeficiente* = 3,77; *p-valor* =  $1,37 \cdot 10^{-5}$ ) y los neutrófilos (*coeficiente* = -3,57; *p-valor* =  $2,81 \cdot 10^{-4}$ ) (Figura 3C; Tabla S5). Además, se asocia con un enriquecimiento de la fosforilación oxidativa (*NES* = 1,86; *q-valor* =  $2,64 \cdot 10^{-4}$ ), la vía de *MYC* (*NES* = -1,66; *q-valor* =  $6,40 \cdot 10^{-3}$ ) o la vía del interferón gamma (*NES* = 1,51; *q-valor* =  $3,04 \cdot 10^{-2}$ ) (Figura 4D; Tabla S6). Es importante destacar que el Factor 3 muestra una relación no lineal muy significativa con la calidad de los datos de expresión (*p-valor* =  $2,18 \cdot 10^{-13}$ ) (Figura 7).

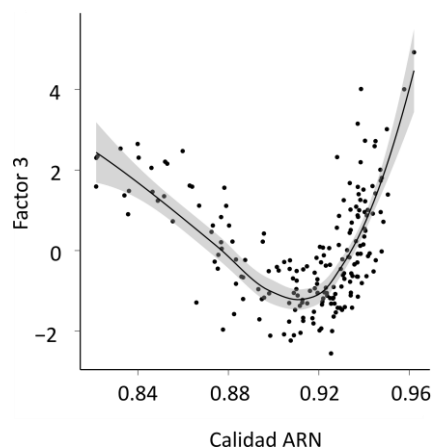


**Figura 7. Relación no lineal entre el Factor 3 y la calidad del ARN de las muestras.** Gráfico de puntos que muestra la relación del Factor 3 con la calidad del ARN junto a la línea resultante del ajuste polinomial usando el método *loess*.

#### 9.2.4 Factor 4

El Factor 4 explica el 24% de la varianza en datos de metilación y el 3,5% de la varianza en datos de expresión en las muestras de origen pulmonar, mientras que la varianza explicada en el resto de los tumores es prácticamente nula (Figura 3, Tabla S2). Se encuentra relacionado con el sexo ( $q\text{-valor} = 5,14 \times 10^{-4}$ ), el grado ( $q\text{-valor} = 0,022$ ), el nivel de 5-HIAA ( $q\text{-valor} = 0,034$ ) y el CIMP ( $q\text{-valor} = 5,68 \times 10^{-5}$ ) (Figura 4A, Tabla S3). Si lo analizamos en función del origen del tumor primario, el grado, el sexo y el nivel de 5-HIAA solo están asociados con el Factor 4 en las muestras de pulmón, y la significancia tras el ajuste por pruebas múltiples se mantiene únicamente en para el sexo, con mayor nivel del Factor 4 en hombres ( $efecto = 0,60$ ;  $q\text{-valor} = 1,20 \times 10^{-4}$ ), y el nivel de 5-HIAA ( $efecto = 0,52$ ;  $q\text{-valor} = 8,64 \times 10^{-3}$ ). Por otro lado, las diferencias entre CIMP alto y bajo son significativas en los TNEs de intestino delgado ( $efecto = 0,58$ ;  $q\text{-valor} = 4,80 \times 10^{-5}$ ) y grueso ( $efecto = 0,52$ ;  $q\text{-valor} = 0,067$ ) a pesar de la poca varianza explicada en estos tumores (Figura 8A,B; Figura S5; Tabla S8).

En relación con los TNEs pulmonares, se identificaron varios genes correlacionados con este factor cuya expresión diferencial era capaz de discriminar los carcinoides pulmonares de subtipo A y B de la clasificación molecular propuesta por Alcalá y colaboradores. (Figura 8C; Tabla S12)<sup>101</sup>.

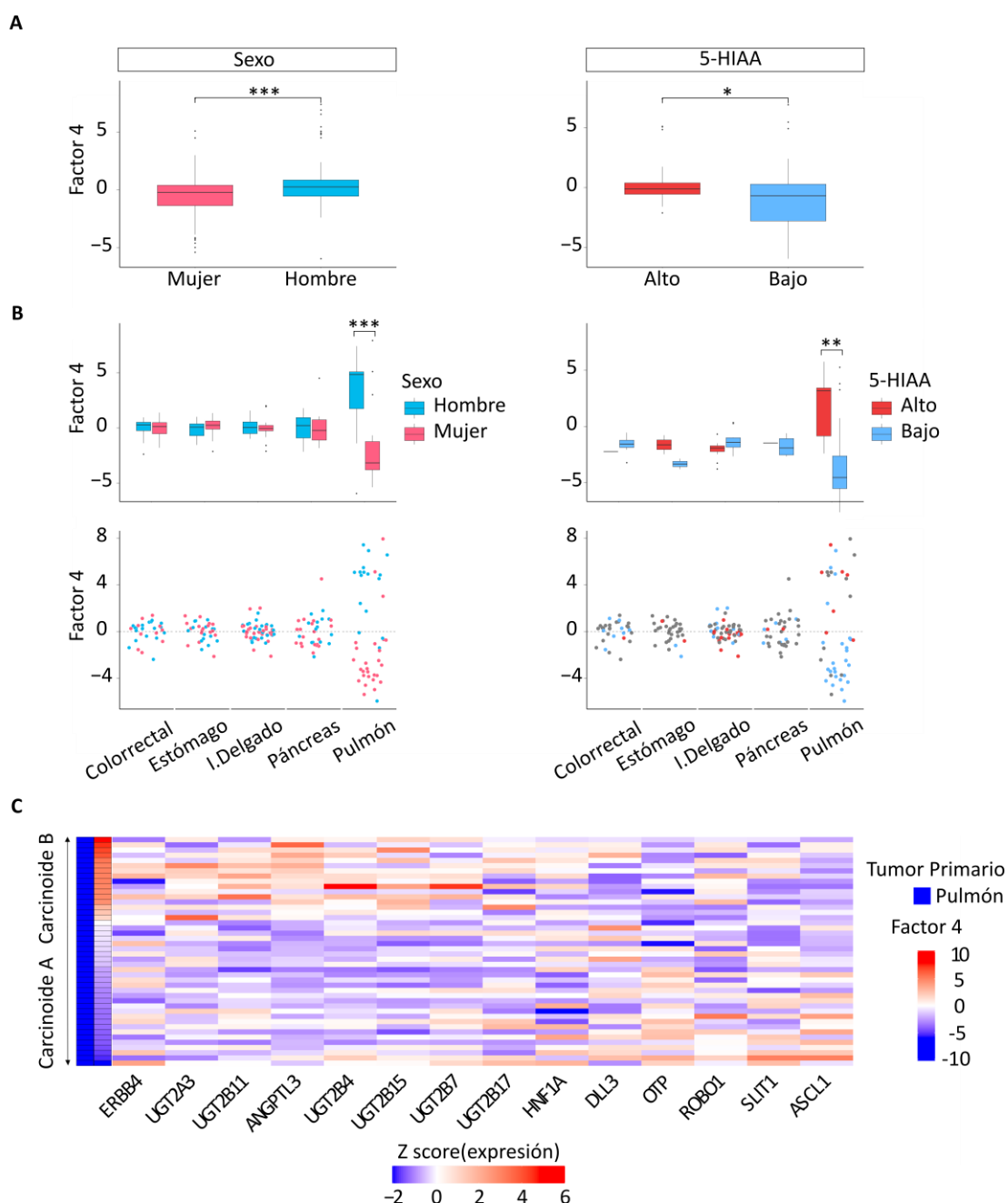


**Figura 8. El factor 4 se asocia con variables clínicas y moleculares únicamente en los TNEs pulmonares.**

**A)** Gráficos de cajas y bigotes representando los valores del Factor 4 en función del sexo (izquierda) y los niveles de 5-HIAA (derecha). Se muestra la significancia de la prueba de Wilcoxon donde  $*$  =  $p$ -valor  $< 0,05$ ;  $**$  =  $p$ -valor  $< 0,01$ ;  $***$  =  $p$ -valor  $< 0,001$  y  $****$  =  $p$ -valor  $< 0,0001$ . **B)** En la parte superior se muestran gráficos de cajas y bigotes que representan los valores del Factor 4 estratificado por origen del tumor primario en función del sexo (izquierda) y de los niveles altos o bajos de 5-HIAA (derecha). Se muestra la significancia de la prueba de Wilcoxon donde  $*$  =  $q$ -valor  $< 0,05$ ;  $**$  =  $q$ -valor  $< 0,01$ ;  $***$  =  $q$ -valor  $< 0,001$  y  $****$  =  $q$ -valor  $< 0,0001$ . En la parte inferior se muestran gráficos de puntos que muestran los valores individuales por muestra del Factor 4 estratificado por origen del tumor primario en función del sexo (izquierda) y del nivel de 5-HIAA (derecha). **C)** Mapa de calor que representa los niveles del Factor 4 de las muestras de origen pulmonar y la expresión de los genes diferencialmente expresados entre los subtipos carcinoide A y carcinoide B de la clasificación propuesta por Alcalá y colaboradores, después de escalarlos a la media y a la desviación estándar (Z score).

### 9.2.5 Factor 5

El Factor 5 explica mayor variabilidad de los datos de expresión de los TNEs gástricos y colorrectales (Figura 3; Tabla S2). No observamos ninguna asociación significativa de este factor con las variables clínico-patológicas (Figura 4A-B; Tabla S3; Tabla S4). Sin embargo, es el factor con un mayor enriquecimiento de diversas poblaciones inmunes, entre las cuales destacan las células NK (*coeficiente* = 2,70; *p-valor* =  $1,36 \cdot 10^{-6}$ ) y las células T (*coeficiente* = 2,38; *p-valor* =  $8,00 \cdot 10^{-5}$ ), y en menor medida fibroblastos (*coeficiente* = -0,85; *p-valor* =  $2,06 \cdot 10^{-4}$ ), células endoteliales (*coeficiente* = 2,16; *p-valor* =  $1,55 \cdot 10^{-3}$ ) y linfocitos citotóxicos (*coeficiente* = -1,36; *p-valor* = 0,019) (Figura 4C; Tabla S5). El factor 5 es, por lo tanto, el que presenta mayor coeficiente de determinación ( $R^2$ ), indicando que es el factor más predecible a través del enriquecimiento de las poblaciones inmunes. Sin embargo, no se observa una correlación significativa con el *score* inmune de *ESTIMATE* (*coeficiente* = -0,15; *p-valor* = 0,09) (Figura S4; Tabla S10). Por otro lado, el factor 5 presenta un enriquecimiento en TNF $\alpha$  vía NF-KB (*NES* = -1,67; *q-valor* =  $6,74 \cdot 10^{-4}$ ) y en el receptor de células T (*NES* = -1,50; *q-valor* =  $4,44 \cdot 10^{-2}$ ). Otras vías enriquecidas en este factor son la del ribosoma (*NES* = -2,01; *q-valor* =  $7,26 \cdot 10^{-4}$ ), la adhesión focal (*NES* = -1,69; *q-valor* =  $7,26 \cdot 10^{-4}$ ), el desarrollo endocrino (*NES* = -1,54; *q-valor* =  $3,60 \cdot 10^{-2}$ ) y las dianas de *MYC* (*NES* = -1,47; *q-valor* =  $1,31 \cdot 10^{-2}$ ) (Figura 4D; Tabla S6).

### 9.2.6 Factor 6

El Factor 6 explica mayoritariamente datos de expresión génica en TNEs de intestino delgado y páncreas (Figura 3; Tabla S2). Se encuentra significativamente asociado al grado (*q-valor* =  $2,16 \cdot 10^{-3}$ ), con diferencias significativas entre G1 y G2 (*efecto* = 0,27; *q-valor* =  $6,20 \cdot 10^{-3}$ ) (Figura 4A; Figura S6A; Tabla S3; Tabla S7). Esta significancia se mantiene cuando se analizan los TNEs de intestino delgado (*efecto* = 0,48; *q-valor* =  $3,06 \cdot 10^{-3}$ ) y colorrectales (*efecto* = 0,60; *q-valor* =  $4,00 \cdot 10^{-3}$ ) por separado (Figura S6B; Tabla S8). Se observa que las muestras que más se diferencian en este factor son aquellas que provienen de metástasis hepáticas, con independencia del origen del tumor primario (Figura 9). De hecho, entre las vías de señalización con mayor enriquecimiento en este factor se encuentran el metabolismo de ácidos biliares (*NES* = -2,93; *q-valor* =  $4,70 \cdot 10^{-20}$ ), el metabolismo hormonal (*NES* = -2,51; *q-valor* =  $8,84 \cdot 10^{-17}$ ), la

fosforilación oxidativa ( $NES = -2,52$ ;  $q\text{-valor} = 5,11 \cdot 10^{-15}$ ) y las oxidaciones biológicas ( $NES = -3,11$ ;  $q\text{-valor} = 8,73 \cdot 10^{-37}$ ), entre otros (Figura 4D; Tabla S6).

Además, en este factor encontramos un enriquecimiento muy significativo de neutrófilos ( $\text{coeficiente} = -7,77$ ;  $p\text{-valor} = 3,35 \cdot 10^{-8}$ ) y más ajustado de células dendríticas ( $\text{coeficiente} = -2,13$ ;  $p\text{-valor} = 0,032$ ) y células T ( $\text{coeficiente} = 1,89$ ;  $p\text{-valor} = 0,036$ ) (Figura 4C; Tabla S5).

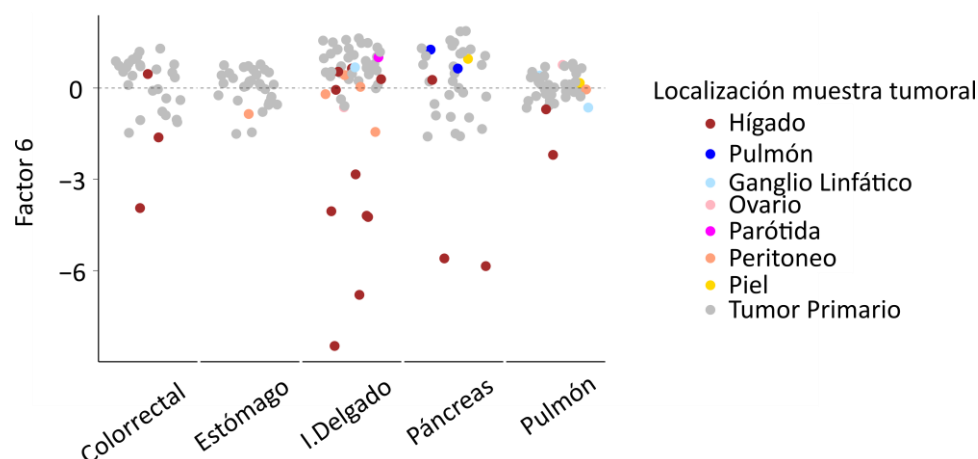


**Figura 9. El Factor 6 diferencia las muestras de origen hepático.** Gráfica de puntos mostrando el valor del Factor 6 estratificado en función del origen del tumor primario, indicando el origen de la muestra tumoral analizada.

### 9.2.7 Factor 7

El Factor 7 explica mayoritariamente los datos de expresión génica y de metilación de TNEs de intestino delgado y estómago. Se encuentra fuertemente asociado con los fibroblastos en el modelo lineal múltiple ( $\text{coeficiente} = -2,16$ ;  $p\text{-valor} = 3,60 \cdot 10^{-10}$ ), así como con las células endoteliales ( $\text{coeficiente} = -2,67$ ;  $p\text{-valor} = 0,007$ ) (Figura 4C; Tabla S5). Además, es el factor con mayor correlación con el score estromal calculado por el programa *ESTIMATE* ( $\text{coeficiente} = -0,49$ ;  $p\text{-valor} = <10^{-15}$ ) (Figura S6; Tabla S10). La vía más enriquecida en este factor es el TNFA vía NF-KB ( $NES = -2,64$ ;  $q\text{-valor} = 1,39 \cdot 10^{-18}$ ), seguida de la respuesta inflamatoria ( $NES = -2,14$ ;  $q\text{-valor} = 2,04 \cdot 10^{-9}$ ), la vía del interferón gamma ( $NES = -2,04$ ;  $q\text{-valor} = 1,01 \cdot 10^{-7}$ ), la señalización por interleucinas ( $NES = -1,80$ ;  $q\text{-value} = 5,89 \cdot 10^{-8}$ ) y la adhesión focal ( $NES = -2,16$ ;  $q\text{-valor} = 1,09 \cdot 10^{-8}$ ), entre otras (Figura 4D; Tabla S6).

### 9.2.8 Factor 8

Este factor es el que contribuye con la menor cantidad de varianza, explicando mayor información de los datos de metilación de los TNEs colorrectales, pancreáticos y de intestino delgado (Figura 3; Tabla S2). No se ha encontrado ninguna asociación con las variables clínico-patológicas ni con las poblaciones celulares (Figura 3A-C). Las vías de señalización más relevantes en el Factor 8 están relacionadas con el ribosoma ( $NES = 2,31$ ;  $q\text{-valor} = 1,12 \cdot 10^{-6}$ ), la vía TNF $\alpha$  vía NF-KB ( $NES = 1,83$ ;  $q\text{-valor} = 2,10 \cdot 10^{-4}$ ), las dianas de MYC ( $NES = 1,82$ ;  $q\text{-valor} = 2,10 \cdot 10^{-4}$ ) y el sistema neuronal ( $NES = -1,34$ ;  $q\text{-valor} = 2,98 \cdot 10^{-2}$ ) (Figura 4D; Tabla S6). Entre los genes más importantes asociados con este factor destaca el gen *ASXL2*, que desempeña un papel relevante en la remodelación de la cromatina (Figura S3).

## 9.3 LA NUEVA CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEFINE TRES SUBTIPOS NEUROENDOCRINOS (SN) DE DIFERENTE PRONÓSTICO

El modelo de *MOFA* desarrollado con 8 Factores ha permitido generar una clasificación molecular de TNEs de distintos orígenes anatómicos integrando datos de expresión y metilación génica. No obstante, tanto el Factor 3 como el 6 han sido eliminados del modelo por su relación con la calidad del ARN de las muestras y con el tejido hepático normal del cual proceden las muestras de metástasis hepáticas, respectivamente (Figura 7; Figura 9). Así, el modelo final se ha elaborado con 6 factores (Factores 1, 2, 4, 5, 7 y 8). La clasificación más robusta (correlación cofenética = 0,94) reveló la existencia de 3 subtipos neuroendocrinos (SNs), que se asocian con distintas características clínico-patológicas relacionadas con la agresividad biológica y el pronóstico de los pacientes (Figura 10, Figura S7; Tabla 6).

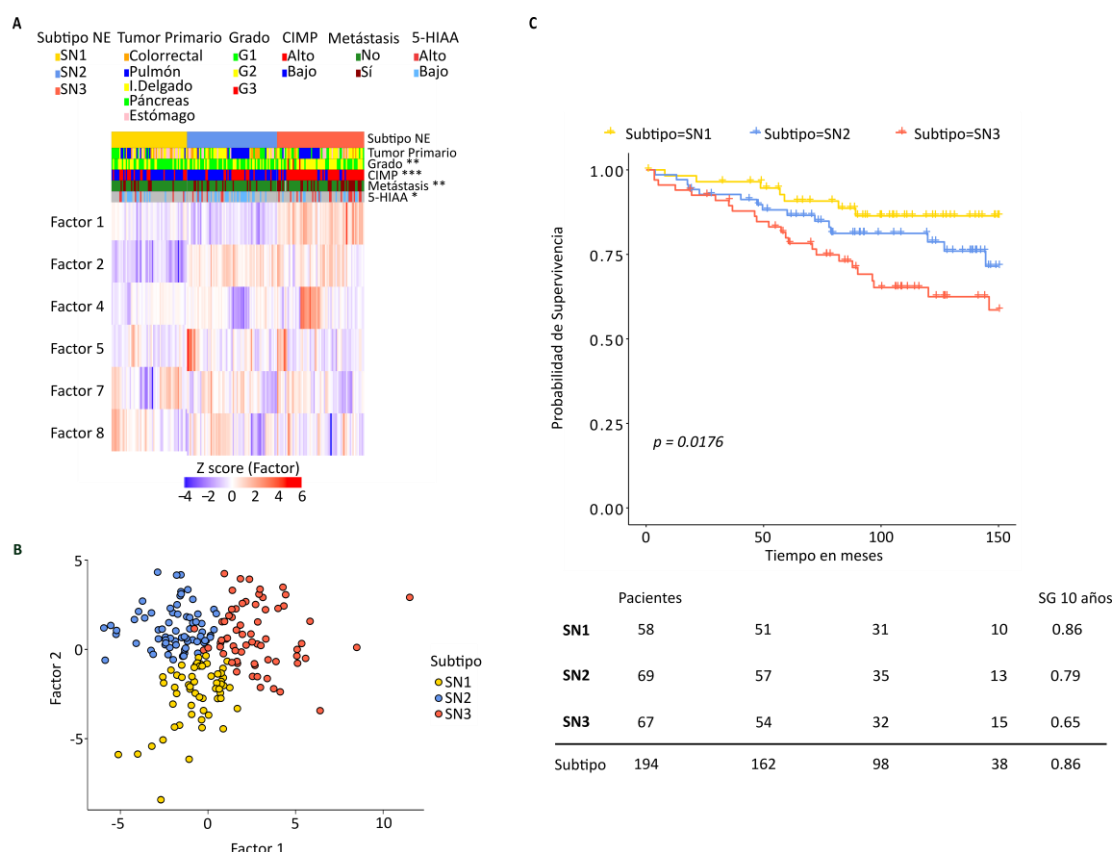


**Figura 10. Los subtipos neuroendocrinos (SNs) están asociados con variables clínico-patológicas relacionadas con la agresividad biológica y con el pronóstico de los pacientes. A)** Mapa de calor que representa el valor de los factores, escalados a la media y desviación estándar, en cada una de las muestras. Los TNEs se agrupan de manera no supervisada en 3 subtipos (SNs) en función de los 6 Factores de la clasificación molecular, y dentro de ella en función de una clasificación jerárquica usando la correlación de *Pearson* como medida de distancia. Se muestran anotadas las variables clínicas, indicando el *q*-valor resultante de la prueba de *Fisher* donde \* = *q*-valor < 0,05; \*\* = *p*-valor < 0,01; \*\*\* = *p*-valor < 0,001 y \*\*\*\* = *p*-valor < 0,0001. **B)** Gráfico de puntos que representa las muestras en función de los valores del Factor 1 y 2 del modelo de *MOFA*, indicando el SN al que pertenece cada una. **C)** Curvas de supervivencia global para los diferentes subtipos neuroendocrinos (SNs) calculadas mediante el método de Kaplan-Meier. Se indica el *p*-valor obtenido mediante la prueba de *log-rank* y el registro de pacientes vivos a los 50, 100 y 150 meses, además de la probabilidad de supervivencia a los 10 años de cada SN. 5-HIAA: ácido 5-hidroxiindolacético; CIMP: fenotipo de metilación en islas CpG; SG: supervivencia global; SN: Subtipo Neuroendocrino.

Aunque la clasificación molecular se ha desarrollado mediante el modelo *MOFA* construido con 6 factores, observamos que los Factores 1 y 2 tienen un mayor peso en la estratificación de las muestras. El Factor 1 muestra una separación entre las muestras del SN3 frente a las del SN1 y SN2, mientras que el Factor 2 diferenciaba los tumores del SN1 respecto de los del SN2 y SN3. Es importante destacar que la mayoría de los TNEs de pulmón con valores elevados del Factor 4 se encuentran en el SN3, mientras que, por el contrario, una gran parte de los TNEs pulmonares con valores bajos de este factor pertenecen al SN2 (Figura 10).

**Tabla 6. Distribución de las variables clínico-patológicas de los pacientes en función de los subtipos neuroendocrinos.** Se muestra el *p*-valor resultante de la prueba de Fisher.

| VARIABLE                         | SN1 N = 58 | SN2 N = 69 | SN3 N = 67 | Total N = 194 | <i>p</i> -valor |
|----------------------------------|------------|------------|------------|---------------|-----------------|
| <b>Edad N (%)</b>                |            |            |            |               | <i>0.100</i>    |
| ≤ 56 años                        | 24 (41.4%) | 41 (59.4%) | 32 (47.8%) | 97 (50.0%)    |                 |
| >56 años                         | 34 (58.6%) | 28 (40.6%) | 35 (52.2%) | 97 (50.0%)    |                 |
| <b>Sexo N (%)</b>                |            |            |            |               | <i>0.502</i>    |
| Mujer                            | 31 (53.4%) | 40 (58.0%) | 32 (47.8%) | 103 (53.1%)   |                 |
| Hombre                           | 27 (46.6%) | 29 (42.0%) | 35 (52.2%) | 91 (46.9%)    |                 |
| <b>T. primario N (%)</b>         |            |            |            |               | <i>0.762</i>    |
| Colorrectal                      | 9 (15.5%)  | 13 (18.9%) | 8 (11.9%)  | 30 (15.5%)    |                 |
| Estómago                         | 14 (24.1%) | 9 (13.0%)  | 9 (13.4%)  | 32 (16.5%)    |                 |
| Pulmón                           | 11 (19.0%) | 17 (24.6%) | 16 (23.9%) | 44 (22.7%)    |                 |
| Páncreas                         | 10 (17.2%) | 11 (16.0%) | 14 (21.0%) | 35 (18.0%)    |                 |
| Intestino Delgado                | 14 (24.1%) | 19 (27.5%) | 20 (29.9%) | 53 (27.3%)    |                 |
| <b>Grado N (%)</b>               |            |            |            |               | <i>5.5e-03</i>  |
| G1                               | 35 (60.3%) | 43 (62.3%) | 25 (37.3%) | 103 (53.1%)   |                 |
| G2                               | 23 (39.7%) | 26 (37.7%) | 39 (58.2%) | 88 (45.4%)    |                 |
| G3                               | 0 (0%)     | 0 (0%)     | 3 (4.5%)   | 3 (1.6%)      |                 |
| <b>Metástasis al dx N (%)</b>    |            |            |            |               | <i>9.0e-03</i>  |
| No                               | 47 (81.0%) | 55 (79.7%) | 39 (58.2%) | 141 (72.7%)   |                 |
| Sí                               | 11 (19.0%) | 14 (20.3%) | 27 (40.3%) | 52 (26.8%)    |                 |
| Desconocido                      | 0 (0%)     | 0 (0%)     | 1(1.5%)    | 1 (0.5%)      |                 |
| <b>5-HIAA N (%)</b>              |            |            |            |               | <i>2.0e-02</i>  |
| Alto                             | 5 (8.6%)   | 6 (8.7%)   | 16 (23.9%) | 24 (12.3%)    |                 |
| Bajo                             | 13 (22.4%) | 25 (36.2%) | 13 (19.4%) | 42 (21.7%)    |                 |
| Desconocido                      | 40 (69.0%) | 38 (55.1%) | 38 (56.7%) | 128 (66.0%)   |                 |
| <b>CIMP N (%)</b>                |            |            |            |               | <i>5.0e-04</i>  |
| Alto                             | 19 (32.8%) | 21 (30.4%) | 55 (82.1%) | 95 (49.0%)    |                 |
| Bajo                             | 39 (67.2%) | 48 (69.6%) | 12 (17.9%) | 99 (51.0%)    |                 |
| <b>Loc muestra tumoral N (%)</b> |            |            |            |               | <i>0.299</i>    |
| Tumor Primario                   | 51 (88.0%) | 60 (87.0%) | 49 (73.1%) | 160 (82.5%)   |                 |
| Metástasis                       | 7 (12.0%)  | 9 (13.0%)  | 18 (26.9%) | 34 (17.5%)    |                 |
| Hígado                           | 5 (8.6%)   | 5 (7.3%)   | 8 (12.0%)  | 18 (9.3%)     |                 |
| Pulmón                           | 0 (0%)     | 0 (0%)     | 2 (3.0%)   | 2 (1.0%)      |                 |
| Ganglio Linfático                | 0 (0%)     | 2 (3.0%)   | 1 (1.5%)   | 3 (2.1%)      |                 |
| Ovario                           | 0 (0%)     | 0 (0%)     | 2 (3.0%)   | 2 (1.0%)      |                 |
| Parótida                         | 0 (0%)     | 1 (1.0%)   | 0 (0%)     | 1 (0.5%)      |                 |
| Peritoneo                        | 1 (1.7%)   | 1 (1.5%)   | 4 (6.0%)   | 6 (3.1%)      |                 |
| Piel                             | 1 (1.7%)   | 0 (0%)     | 1 (1.5%)   | 2 (1.0%)      |                 |

5-HIAA: ácido 5-hidroxindolacético; CIMP: Fenotipo de metilación en islas CpG; dx: diagnóstico; N: Número; Loc: Localización; T: Tumor.

El SN3 engloba TNEs con niveles de metilación elevados (82,1%), enriquecidos en tumores de mayor grado (62,7% G2-3) y una mayor proporción de pacientes con enfermedad metastásica al diagnóstico (40,3%) y con altos niveles de 5-HIAA (23,9%) (Figura 10A; Tabla 6). No se observaron diferencias significativas en cuanto a la distribución de la edad, el sexo o el origen del tumor primario entre los distintos SNs, aunque se observó una mayor proporción de TNEs gástricos en el SN1 (24,1%) respecto al SN2 (13,0%) y SN3 (13,4%) (Tabla 6).

Los SNs se asocian también de manera significativa con el pronóstico de los pacientes, siendo el SN1 el que presenta un pronóstico más favorable y el SN3 el que presenta una evolución clínica más agresiva (SG a los 10 años del 86%, 78% y 65%, respectivamente,  $P=0.0018$ ) (Figura 10C). El análisis por sublocalización anatómica muestra la misma tendencia a un peor pronóstico en los pacientes que pertenecían al SN3 en todos los subgrupos (Figura S8). Otras variables clínicas asociadas con un peor pronóstico fueron la edad ( $HR = 1,06$ ;  $p\text{-valor} = 9.06e-05$ ), el sexo masculino ( $HR = 2.06$ ;  $p\text{-valor} = 9,37*10^{-3}$ ), el alto grado ( $p\text{-valor} = 3,01*10^{-4}$ ), con peor pronóstico para los tumores G2 ( $HR = 2,76$ ;  $p\text{-valor} = 5,18*10^{-4}$ ) y G3 ( $HR = 8,54$ ;  $p\text{-valor} = 4,25*10^{-3}$ ) frente a G1, la presencia de metástasis al diagnóstico ( $HR = 4,60$ ;  $p\text{-valor} = 9,10*10^{-8}$ ) y el origen del tumor primario ( $p\text{-valor} = 0,09$ ), mostrando un mayor riesgo de muerte los tumores colorrectales ( $HR = 5,13$ ;  $p\text{-valor} = 0,011$ ) y pulmonares ( $HR = 4,12$ ;  $p\text{-valor} = 0,027$ ) que los gástricos (Tabla S13).

Aunque en el análisis multivariante los SNs no demostraron un valor pronóstico independiente de otras variables clínico-patológicas (Figura S9), la capacidad de discriminación pronóstica del modelo de Cox incorporando la clasificación molecular fue significativamente superior respecto al modelo de Cox construido únicamente con variables clínicas (*Harrell's C-index* medio 0.86,  $p\text{-valor} = 3.19e-30$ ) (Figura 11).

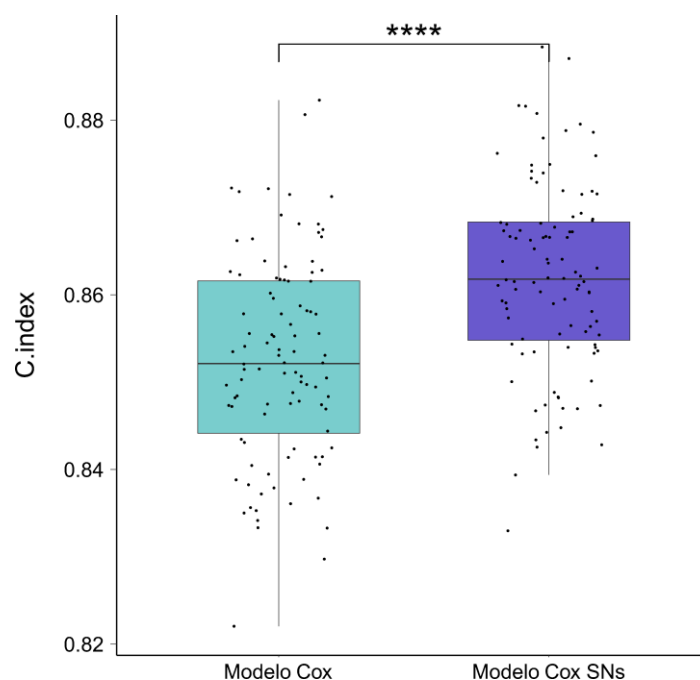


**Figura 11. Diferencia en la predictibilidad de los modelos de Cox al añadir la clasificación molecular.** Gráfico de cajas y bigotes que muestra la medida de concordancia de los modelos de Cox construido a partir únicamente de las variables clínicas (izquierda) y el que incorpora la clasificación molecular (derecha) (*C-index* de 0.85, 0.86 respectivamente). La significancia de estas diferencias se ha calculado mediante una prueba de *T de Student* pareado donde \* = *p*-valor < 0,05; \*\* = *p*-valor < 0,01; \*\*\* = *p*-valor < 0,001 y \*\*\*\* = *p*-valor < 0,0001.

## 9.4 LOS SUBTIPOS NEUROENDOCRINOS MUESTRAN DIFERENTE COMPOSICIÓN CELULAR E INFILTRADO INMUNE

Posteriormente analizamos la composición celular y el infiltrado inmune de los subtipos neuroendocrinos. En primer lugar, observamos diferencias significativas en la pureza tumoral (*q*-valor =  $8,8 \cdot 10^{-4}$ ) y el *score* inmune (*q*-valor =  $1,72 \cdot 10^{-4}$ ) entre los distintos SNs, pero no en el *score* estromal (*q*-valor = 0,20) (Figura S10; Tabla S14), de manera que los subtipos que mostraban una mayor pureza tumoral (SN2 y SN3 vs SN1, *efecto* = 0,30; *q*-valor =  $1,28 \cdot 10^{-3}$ ), presentaban un menor *score* inmune (*efecto* = 0,34; *q*-valor =  $1,93 \cdot 10^{-4}$ ) (Figura S10; Tabla S15).

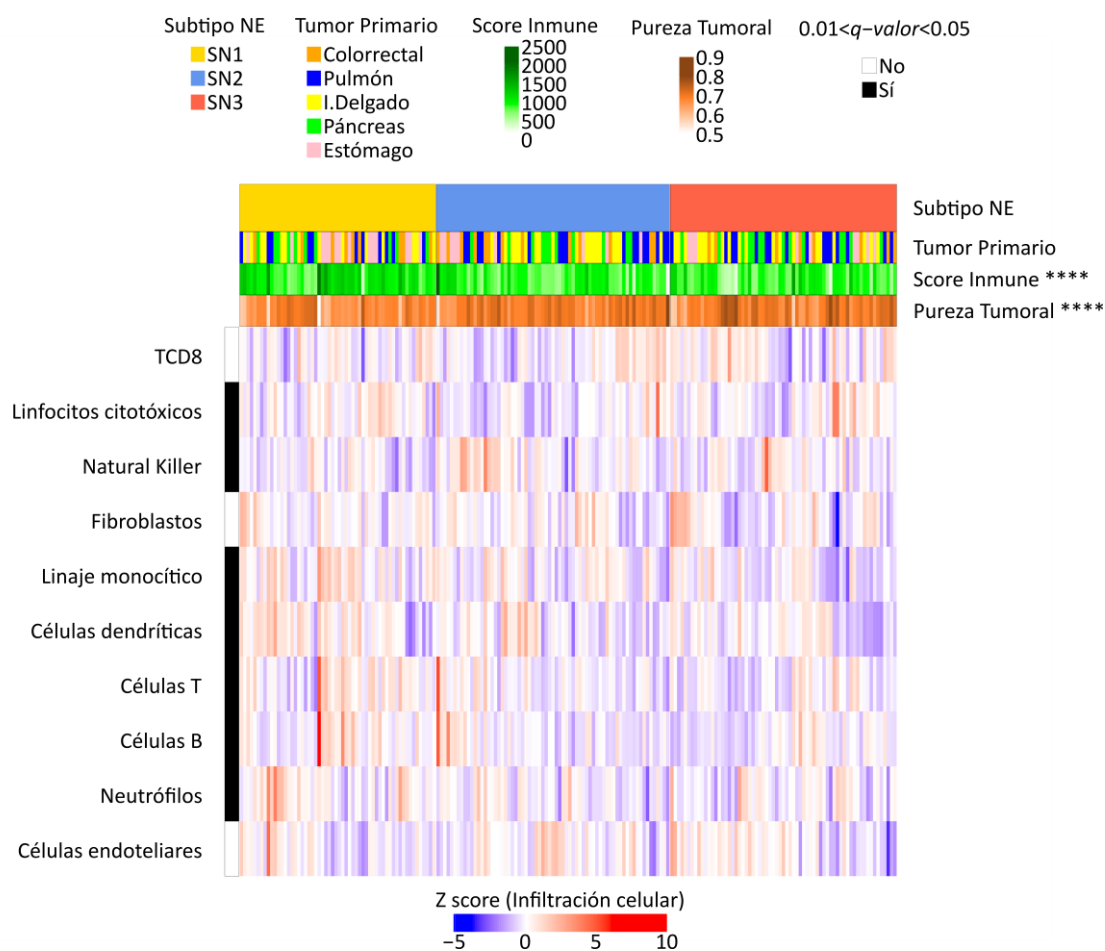


**Figura 12. Los subtipos neuroendocrinos muestran diferente composición celular.** Mapa de calor que muestra el *score* de *Microenvironment Cell Populations-counter* (MCP) de diferentes poblaciones celulares, escalado a la media y desviación estándar, en cada una de las muestras de pacientes con TNEs. Las muestras están agrupadas en función del subtipo neuroendocrino, y dentro de cada grupo están ordenadas según una clasificación jerárquica usando la correlación de *Pearson* como medida de distancia. En la parte superior se ha anotado la clasificación molecular, el origen del tumor primario, y el *score* inmune y la pureza tumoral de cada muestra calculada por el software *ESTIMATE*.

Además, se observaron diferencias significativas entre los SNs en cuanto a la composición de las poblaciones celulares inmunes, como las células T ( $q\text{-valor} = 0,019$ ), las células de linaje monocítico ( $q\text{-valor} = 0,019$ ); las células dendríticas ( $q\text{-valor} = 0,019$ ), los neutrófilos ( $q\text{-valor} = 0,027$ ), las células de linaje B ( $q\text{-valor} = 0,027$ ), las células NK ( $q\text{-valor} = 0,027$ ) y los linfocitos citotóxicos ( $q\text{-valor} = 0,035$ ) (Figura 12; Tabla S16). De manera general, el SN1 presenta una mayor abundancia de células inmunes que los SN2 y SN3. De manera más específica, encontramos un enriquecimiento en el SN1 de células de linaje monocítico (vs SN2: *efecto* = 0,20;  $q\text{-valor} = 0,036$ ; vs SN3: *efecto* = 0,31;  $q\text{-valor} = 1,79 \times 10^{-3}$ ); células dendríticas (vs SN2: *efecto* = 0,22;  $q\text{-valor} = 0,036$ ; vs SN3: *efecto* = 0,27;  $q\text{-valor} = 6 \times 10^{-3}$ ), células T (vs SN2: *efecto* = 0,24;  $q\text{-valor} = 0,010$ ; vs SN3: *efecto* = 0,26;  $q\text{-valor} = 0,010$ ), y neutrófilos (vs SN2: *efecto* = 0,23;  $q\text{-valor} = 0,024$ ; vs SN3: *efecto* = 0,21;  $q\text{-valor} = 0,028$ ), linfocitos citotóxicos (vs SN2: *efecto* = 0,22;

$q\text{-valor} = 0,045$ ), y células de linaje B (vs SN3:  $\text{efecto} = 0,26$ ;  $q\text{-valor} = 9 \cdot 10^{-3}$ ). Es de destacar que la única población celular que se encuentra con menor infiltración en el SN1 con respecto a otros SNs son las células NK, con mayor infiltración en SN2 ( $\text{efecto} = 0,26$ ;  $q\text{-valor} = 0,009$ ) (Figura S11; Tabla S17).

Las diferencias en la composición celular entre los distintos SNs, estratificando por origen del tumor primario quedan representadas en la Figura S12 (Tabla S18).

## **9.5 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS SUBTIPOS NEUROENDOCRINOS**

A continuación, analizamos las diferencias en la cantidad de copias somáticas (CNV), la expresión génica y los niveles de metilación de las islas CpG entre los SNs. Así, el SN3 mostraba un mayor número de CNV y niveles más elevados de metilación en comparación con SN1 y SN2. Además, se pudo apreciar que el perfil de expresión génica del SN1 era diferente al de los otros dos subtipos (Figura 13).

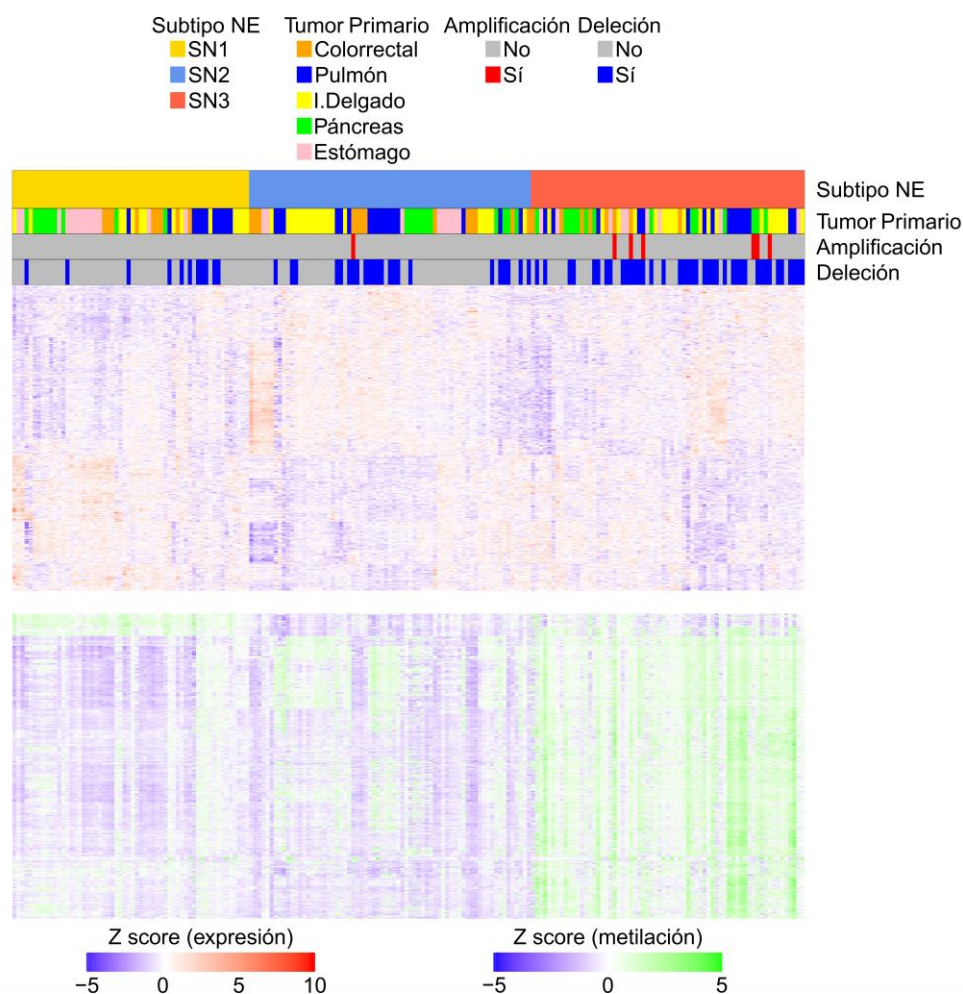


**Figura 13. Caracterización molecular de los subtipos neuroendocrinos.** Mapa de calor que muestra el valor de los genes diferencialmente expresados, escalados a la media y desviación estándar, entre los distintos subtipos neuroendocrinos (SN1 vs SN2:  $q\text{-valor} < 0,05$ , Cambio Logarítmico en base 2 ( $CL2$ )  $> 0,5$ ; SN1 vs SN3  $q\text{-valor} < 0,05$ ,  $CL2 > 0,5$ ; SN2 vs SN3  $q\text{-valor} < 0,1$ ,  $CL2 > 0,2$ ) y las sondas diferencialmente metiladas, escaladas a su media y desviación estándar (SN1 vs SN2  $q\text{-valor} < 0,05$ ,  $CL2 > 2$ ; SN1 vs SN3  $q\text{-valor} < 0,05$ ,  $CL > 2$ ; SN2 vs SN3  $q\text{-valor} < 0,05$ ,  $CL2 > 2$ ). Las muestras se encuentran agrupadas por SN, y dentro de cada grupo según una clasificación jerárquica en función de la expresión de los genes usando la correlación de *Pearson* como medida de distancia. Además, en la parte superior del mapa de calor, se indica el origen del tumor primario, y las amplificaciones y deleciones obtenidas según los datos de metilación.

### 9.5.1 Los subtipos neuroendocrinos se diferencian en la variación del número de copias (CNVs)

Mediante el software *GISTIC2* se identificaron un total de 26 CNVs ( $p\text{-valor} < 0.01$ ), que incluían 25 deleciones y una amplificación situada en el 4p16.3, que comprendía 51 genes (Figura S13; Tabla S19). El SN3 es el que presentaba con mayor frecuencia tanto deleciones (SN3

59.7% vs SN2 33.3% vs SN1 19.0%, ( $p\text{-valor} = 5 \times 10^{-4}$ ) como la amplificación 4p16.3 (SN3 9.0% vs SN2 1.5% vs SN1 0%,  $p\text{-valor} = 0,014$ ) (Tabla S20). Las deleciones con una distribución significativamente diferente entre los SNs fueron las siguientes: 7p13 (6 genes) ( $p\text{-valor} = 0,044$ ), 11q14.1 (9 genes) ( $p\text{-valor} = 0,013$ ), 14q32.31 (98 genes) ( $p\text{-valor} = 0,044$ ), 16q22.3 (2 genes) ( $p\text{-valor} = 0,029$ ), 17q25.3 (3 genes) ( $p\text{-valor} = 0,024$ ), 21q22.3 (6 genes) ( $p\text{-valor} = 0,031$ ) y 22q13.32 (6 genes) ( $p\text{-valor} = 0,018$ ) (Figura 13; Figura 14; Tabla S21; Tabla S22).

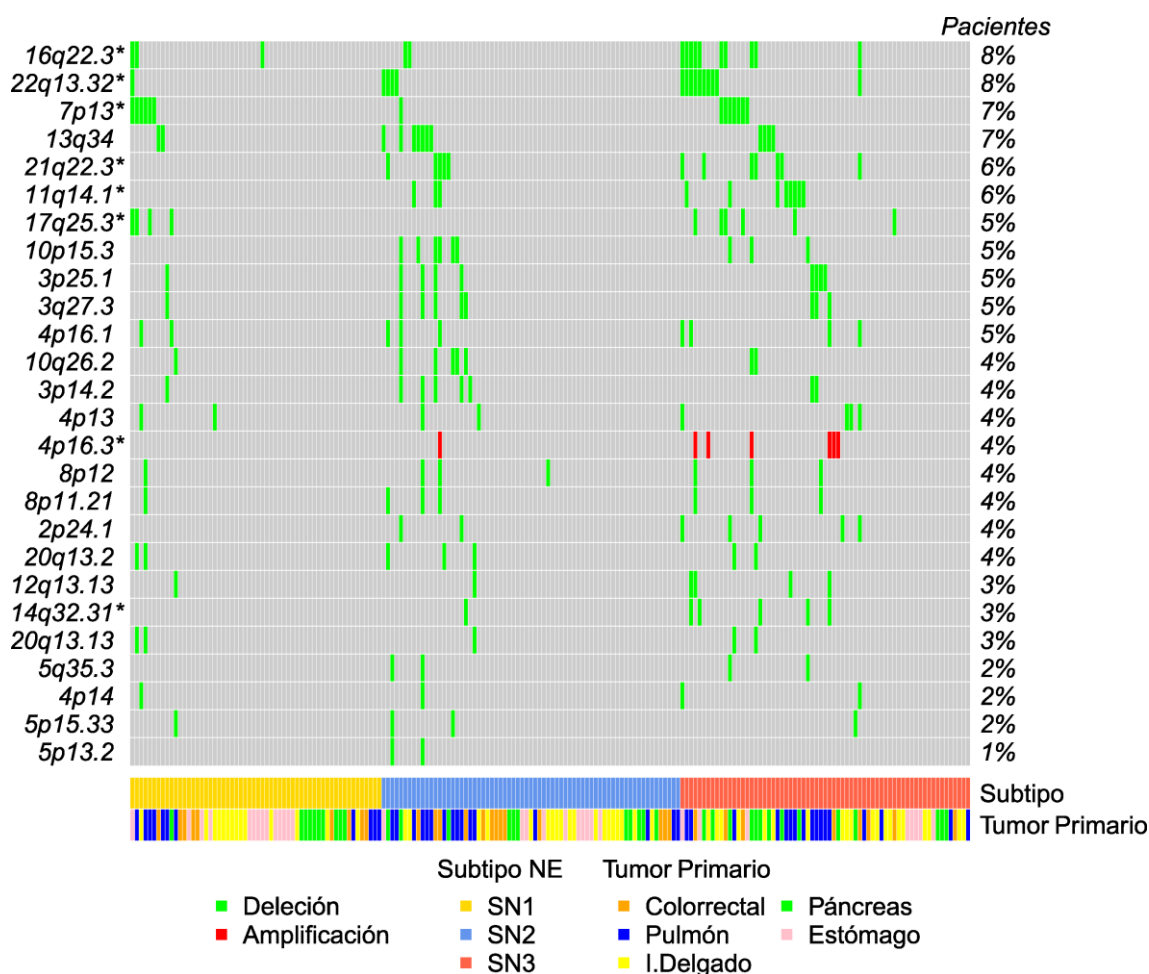


**Figura 14. Los subtipos neuroendocrinos tienen diferencias en la cantidad de CNVs.** Se muestra el porcentaje de CNVs encontrados en la cohorte completa de TNEs, indicando aquellos que tienen diferencias significativas en la prueba de Fisher entre los distintos subtipos neuroendocrinos, donde \* =  $p\text{-valor} < 0,05$ ; \*\* =  $p\text{-valor} < 0,1$ ; \*\*\* =  $p\text{-valor} < 0,01$  y \*\*\*\* =  $p\text{-valor} < 0,001$ .

Al tener en cuenta el origen del tumor primario, observamos que la amplificación 4p16.3 es común en todos los tumores primarios con la excepción de los tumores gástricos, mientras que la delección 11q14.1 es más frecuente en TNEs pulmonares (15,9%), seguida de colorrectales

(6.7%) y pancreáticos (5.7%), mientras que la delección 21q22.3 es más común en TNE pancreáticos, pero está ausente en los TNEs de intestino delgado. El resto de CNVs suceden de manera independiente al origen del tumor primario (Tabla S23).

### 9.5.2 Los subtipos neuroendocrinos muestran diferencias de expresión génica relacionadas con la diferenciación neuroendocrina, el metabolismo y la infiltración inmune.

Con el objetivo de establecer los perfiles transcriptómicos característicos de los SNs, se realizó un análisis de expresión diferencial. Al comparar los perfiles de expresión génica de SN1 y SN3, se identificaron 73 genes diferencialmente expresados ( $CL2 > 0,5$ ;  $q\text{-valor} < 0,05$ ). El grupo SN1 mostraba una sobre-expresión de genes relacionados con el metabolismo de lípidos (*FABP1*, *FABP2*, *APOB*, *ACSL5*), de hidratos de carbono (*ALDOB*, *FBP1*), de grupos hidroxilo (*ADH1B*, *ADH1C*), de fármacos (*GSTA1*, *UGT1A1*, *CES3*, *UGT2B15*, *CYP2C18*) y de genes involucrados en la digestión (*ANPEP*, *SI*, *RNASE1*, *PRSS3*, *SPINK1*) y en el transporte de nutrientes (*SLC15A1*, *SLC2A2*, *SLC26A3*, *TCN1*). También destacaron genes de protección frente a patógenos (*JCHAIN*, *PIGR*, *LYZ*, *IL7R*, *MUC2*, *MUC3A*, *C1S*, *FYB*, *ADAMDEC1*, *GKN1*), y genes relacionados con la angiogénesis (*ASPH*, *ACE2*), adhesión celular (*LGALS4*, *FERMT1*, *CLCA1*), regulación de la transcripción (*ANKRD22*, *TCEA3*, *KLF5*), transmisión de señales (*PIK3C2G*, *DEPDC7*, *ADGRG6*, *GIPC2*) y proliferación celular (*PDGFRA*, *OLFM4*). Otros genes que aparecen más expresados en SN1 son *TMEM123*, *CAPN8* y *FAM177B*. Por otro lado, los TNEs del SN3 presentaban una expresión más elevada de genes relacionados con la actividad neuroendocrina, destacando diversos miembros de la familia de las cromograninas-secretograninas (*CHGA*, *CHGB*, *SCG3* y *SCG5*), genes asociados a actividad neuronal o neuroendocrina (*BEX1*, *DDC*, *RIMS2* y *QPCT*) y la tirosín fosfatasa *PTPRN* relacionada con la vía de la insulina. Además, encontramos una mayor expresión de genes relacionados con la transcripción (*MEIS2*, *TCEAL2*, *NOVA1*, *ANKRD30B*), la metilación y remodelación de la cromatina (*CXXC4*) y con el huso mitótico (*CEP126*). Otros genes sobre-expresados en SN3 respecto a SN1 fueron la chaperona *HSPA4L*, el transportador de aminoácidos *SLC38A11*, el factor de coagulación *F5* y los genes *RAP1GAP2*, *CRYBA2*, *FAM27E3*, *BEAN1-AS1* y *SOGA3* (Figura 15A; FiguraS15B,D Tabla S24).

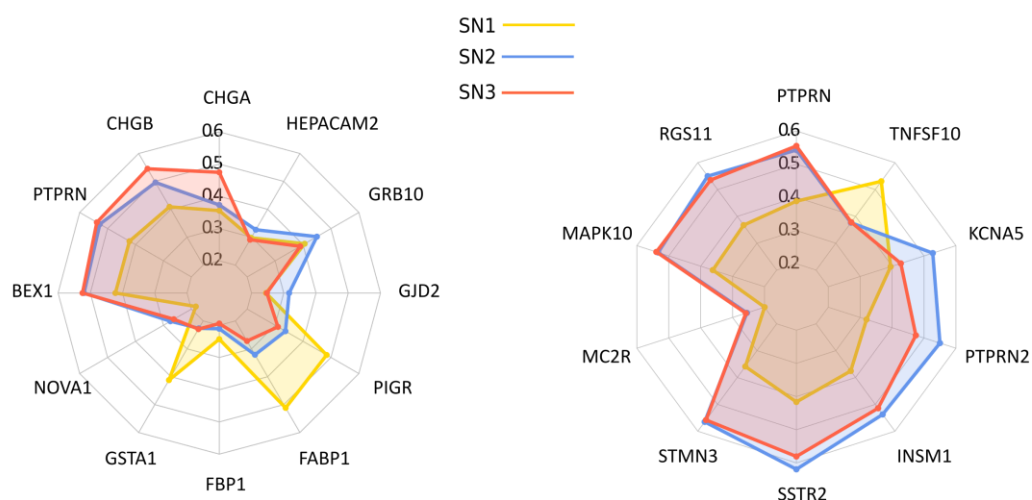
Al analizar las diferencias entre el SN1 y el SN2, se identificaron 57 genes diferencialmente expresados ( $CL2 > 0,5$ ;  $q\text{-valor} < 0,05$ ). Treinta y ocho de los 57 genes eran comunes a los

observados al comparar SN1 vs SN3 (*RAP1GAP2*; *CHGB*; *FABP1*; *FABP2*; *JCHAIN*; *FERMT1*; *BEX1*; *PIK3C2G*; *LGALS4*; *PTPRN*; *ANPEP*; *GSTA1*; *ACSL5*; *CLCA1*; *PIGR*; *DEPDC7*; *SI*; *CES3*; *ALDOB*; *MUC2*; *OLFM4*; *FYB*; *PDGFRA*; *ANKRD22*; *RNASE1*; *TCEAL2*; *IL7R*; *APOB*; *SLC26A3*; *SCG3*; *ADH1B*; *UGT1A1*; *LYZ*; *RIMS2*; *MUC3A*; *ADAMDEC1*; *ACE2*; *UGT2B15*). De los 19 restantes, los genes con mayor expresión en SN2 estaban relacionados con la actividad y/o el desarrollo neuronal y neuroendocrino (*PNMA1*, *PAK3*, *CPE*). Otros genes que se encontraron sobre-expresados en SN2 respecto a SN1 fueron *GNG4*, *CIRBP*, *MS4A8* y *CFC1B*. Por otro lado, los genes sobre-expresados en SN1 respecto a SN2 tenían funciones más relevantes en el metabolismo y transporte de lípidos (*HMGCS2*, *MAL2*), la respuesta inmune (*CTSS*, *IGLL5*, *LCN2*), la ruta de TGFβ (*BMP5*), la transmisión de señales (*ANXA2*, *GPRC5A*), el transporte de ATP (*ABCC3*) y la adhesión celular (*CEACAM5*). Otros genes también sobre-expresados en SN1 respecto a SN2 fueron *NXPE1* y *HOXB-AS3* (Figura 15A; Figura S14A, D; Tabla S25).

Por último, se identificaron 4 genes diferencialmente expresados entre SN2 y SN3, utilizando criterios de filtrado más laxos que en las comparativas previas ( $CL2 > 0,2$ ;  $q\text{-valor} < 0,1$ ), poniendo de manifiesto la mayor similitud en el perfil de expresión entre estos dos grupos. Los genes *GRB10*, *GJD2* y *HEPACAM2* se encontraban sobre-expresados en el subtipo SN2, mientras que el gen *CHGA* tenía una mayor expresión en el subtipo SN3. Es importante destacar que *CHGA* es el único de los cuatro genes que mostró a su vez diferencias significativas entre los grupos SN1 y SN3 (Figura 15A; Figura S14C,D; Tabla S26).

La expresión diferencial entre los SNs de algunos genes representativos en función del origen del tumor primario está representada en la Figura S15 (Tabla S27).

A



B

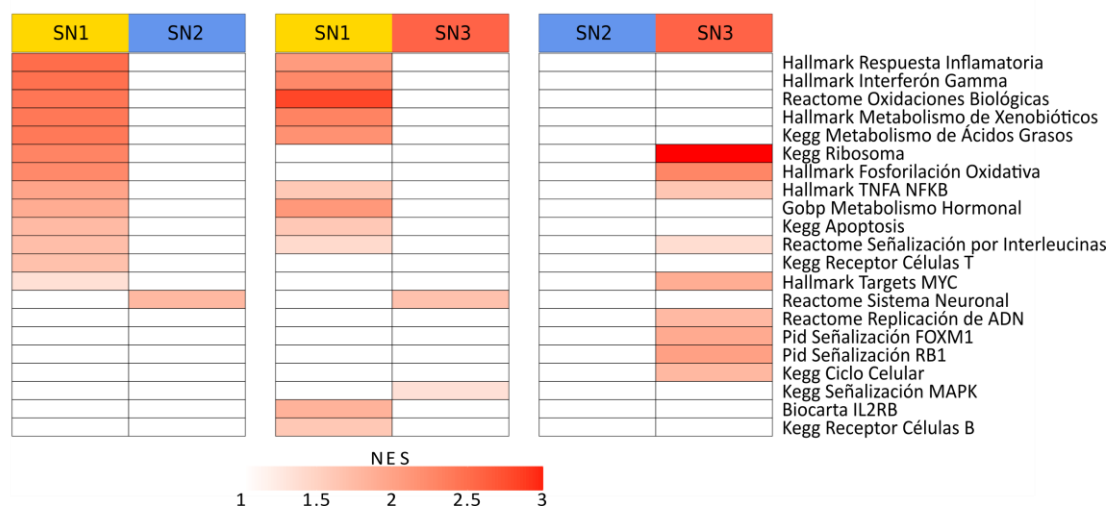


**Figura 15. Genes y vías de señalización diferencialmente expresados en los subtipos neuroendocrinos.**

**A)** A la izquierda se observa un gráfico de araña mostrando la expresión media de algunos genes representativos (*CHGA*, *CHGB*, *PTPRN*, *BEX1*, *NOVA1*, *GSTA1*, *GJD2*, *FBP1*, *FABP1*, *PIGR*, *GJD2*, *GRB10* y *HEPACAM2*) escalados a la media y desviación estándar. En la parte derecha se muestra un gráfico de araña que muestra la activación proteica media inferida escalada a la media y desviación estándar de los genes reguladores (*PTPRN*, *RGS11*, *STMN3*, *INSM1*, *SSTR2*, *MC2R*, *TNFSF10*, *PTPRN2*, *KCNA5*) **B)** Mapa de calor que representa el valor absoluto del *score* de enriquecimiento normalizado (*NES*) de los conjuntos de genes significativos con un *q*-valor < 0,05 proveniente del análisis de enriquecimiento (GSEA) entre los distintos subtipos neuroendocrinos.

De manera complementaria al estudio de expresión diferencial, se realizó un GSEA. En comparación con SN2, tanto SN1 como SN3 presentan un enriquecimiento de genes ribosomales, genes relacionados con la fosforilación oxidativa, dianas de *MYC* y genes involucrados en la vía de señalización de TNF $\alpha$  vía NF-KB y la señalización por interleucinas.

Además, las muestras de SN3 exhiben un enriquecimiento de genes relacionados con el ciclo celular, la replicación del ADN y la señalización a través de *FOXM1* y *RB1*, respecto a los tumores SN2.

Por otro lado, al comparar SN1 con los otros dos subtipos, se observa un enriquecimiento significativo de genes asociados a la vía de señalización de TNF $\alpha$  vía NF-KB, la apoptosis, el receptor de células B, el metabolismo de ácidos grasos, la respuesta inflamatoria, la respuesta de interferón gamma, la señalización por interleucinas, el metabolismo de xenobióticos, el metabolismo hormonal y las oxidaciones biológicas. Además, se observó un enriquecimiento en el conjunto de genes relacionados con el receptor de células T en SN1 respecto a SN2, y en las rutas relacionadas con *IL2RB* y el receptor de células B en SN1 frente a SN3. Por otro lado, tanto SN2 como SN3 tienen están enriquecidos en genes relacionados con el sistema neuronal respecto a SN1, y específicamente SN3 tiene un enriquecimiento de genes involucrados en la vía de las MAPK comparado con SN1 (Figura 15B Tabla S28).

Además, se realizó un GSEA de biomarcadores de células normales, donde observamos que tanto SN2 como SN3 mostraban un enriquecimiento de genes específicos de células neuroendocrinas, al compararlo con SN1. Estos resultados incluyen células enterocromafines del intestino delgado, células neuroendocrinas pulmonares, células gástricas similares a las enterocromafines, células gástricas X, células gástricas D, células delta pancreáticas, células enterocromafines del duodeno, células gástricas G, células polipeptídicas pancreáticas, células duodenales I y células duodenales K. Por otro lado, los tumores de SN1 muestran una mayor expresión de biomarcadores asociados a células con otras funciones no neuroendocrinas.

### **9.5.3 El estudio de la actividad proteica inferida de los principales reguladores biológicos pone de manifiesto diferencias relevantes entre los subtipos neuroendocrinos**

Además de llevar a cabo una expresión diferencial a nivel de gen individual entre los distintos SNs, se analizaron las diferencias en la actividad proteica inferida por el método *VIPER* (*Virtual Inference of Protein-activity by Enriched Regulon analysis*) de diversos reguladores biológicos como factores de transcripción, cofactores de transcripción, proteínas de membrana y mediadores de señalización celular. Los grupos SN1 y SN2 son los que tienen un mayor número de genes con diferencias en la actividad proteica inferida (629) aplicando los criterios de filtro

establecidos ( $CL2 > 2$ ;  $q\text{-valor} < 0,05$ ), de los cuales, 198 también presentaban diferencias en la actividad proteica inferida entre SN1 y SN3.

Dentro de los genes con scores de actividad inferida más altos en SN1 en ambas comparaciones destacan varios grupos funcionales, que incluyen reguladores transcripcionales (*KLF3*, *TCEA3*), de la vía TNF $\alpha$  vía NF-KB (*TNFSF10*, *TXNDC17*), de la proliferación y del ciclo celular (*GRTF1*, *FGFR2*, *CDCA7*, *CASP10*), de la sinapsis (*PSD3*, *VAMP8*) y del sistema inmune (*KLRB1*, *SECTM1*, *F2RL1*, *CD2*, *CCL28*, *SLAMF7*, *ST14*). También se observó mayor activación proteica inferida en los tumores SN1 en el transportador *SLC15A1*, el regulador de metástasis *MACC1*, y las proteínas *UAP1*, *ASPH*, *IQGAP2*, *PSD3*, *CTSZ* y *LPAR5*. Por el contrario, los tumores SN1 tienen menor activación proteica inferida de reguladores de proteínas G (*RGS11*, *DNM1*, *GNG4*, *RAP1GAP2*), formación de microtúbulos (*STMN3*, *BRSK1*), y reguladores de la actividad sináptica (*GABRB3*, *STXBP1*, *DLG4*, *SNAP25*, *SYT7*) y de la actividad neuroendocrina (*RTN1*), reguladores de la transcripción (*MYT1*, *APBB1*, *TCEAL3*, *ZNF705A*, *TCEAL2*, *PROX1*) y el ciclo celular (*CDK5R2*, *TSPYL2*, *RUNDC3A*), genes implicados en los canales de potasio (*KCNH2*, *KCNC3*, *KCNH6*), quinasas (*MAPK10*, *PAK3*), genes involucrados en adhesión celular (*NFASC*, *BCAM*, *CNTN1*, *PCDHA9*), además del transportador *SLC8A2*, la proteína de reparación de ADN *SSBP2*, las fosfatasa *PTPRN* y *PPP2R2B*, entre otros (Figura S16A,B,D; Tabla S30; Tabla S31).

De los 427 genes con diferencias en la actividad proteica inferida exclusivamente entre SN1 y SN2 destacan reguladores de la transcripción (*INSM1*, *ZNF337*, *ZNF334*, *ZNF483*), de la sinapsis (*UNC13A*, *RIMBP2*, *CHRNA2*, *CACNA1D*, *SYT14*), de la cromatina (*BPTF*), de la apoptosis (*TUSC3*), de la señalización celular (*RIIAD1*, *MAP3K9*, *MS4A8*, *AGAP3*, *RGS17*) o el desarrollo neuronal (*EFNB3*). Además, destacan el receptor de somatostatina *SSTR2* y los genes *JPH3*, *ABCA3*, *TUB* entre otros (Figura S16B,D; Tabla S31).

Los genes que presentaban diferencias de actividad inferida únicamente entre SN1 y SN3 fueron 27. Entre los genes con mayor activación en SN1 se encuentran varios relacionados con la regulación inmune (*SYK*, *MYD88*, *CD3D*, *LAX1*, *PRDM1*, *LGALS9*, *IL7R*, *CD96*, *CD68*), el transporte de moléculas (*SLC3A1*, *SLC4A4*, *SLC12A2*) o la angiogénesis (*NOSTRIN*). Otros reguladores con alta actividad inferida en SN1 fueron el receptor de prostaglandinas *PTGER2*, los factores y cofactores de transcripción *TCF21*, *SP1* y *MEIS2*, la tirosín fosfatasa *PTPRK*, el receptor *PDGFRA* y otras proteínas como *DSC2*, *PROM1*, *DUOX2*, *NET1*, *FHL2*, *ZDHHC20* y *TSPAN15*. Por el contrario, en el grupo SN3 había más actividad inferida en genes involucrados en la comunicación neuronal (*NRXN1*, *ENPP5*, *GRIA3*) y la actividad neuroendocrina (*SCG5*), y en

otros reguladores importantes como *CXXC4*, *PCGF2*, *NRCAM*, *TRPC1* o *PEG10* (Figura S17B,D; Tabla S32).

Por último, se identificaron 57 genes reguladores con diferencias de actividad inferida entre los grupos SN2 y SN3 utilizando unos criterios de filtrado menos rigurosos ( $CL2 > 2$ ;  $q\text{-valor} < 0,1$ ). El SN3 presentaba una mayor actividad de genes relacionados con la regulación de la transcripción (*VAX2*, *THOC1*, *TRAF4*, *IRX3*), transducción de señales (*SH3BP2*, *GPR135*), la regulación de la respuesta inmune (*PILRB*), la adhesión celular (*EMP2*), el transporte de moléculas (*LRP12*), la producción de hormonas (*MC2R*), la síntesis de proteínas (*RPS27L*) y la regularización del tráfico vesicular (*ARL4D*). Por el contrario, los genes con mayor actividad inferida en el grupo SN2 estaban relacionados con la regulación de la transcripción (*DDX54*, *ZNF765*, *TLE6*, *GMEB1*, *ZNF7*, *PBXIP1*, *RPS6KA6*), la regulación del sistema inmune (*IL11RA*, *TYROBP*, *CSF1R*, *KIR2DL4*), la señalización celular (*GNGT2*, *PTPN11*, *ADORA2A*, *ADGRG3*, *ADCY6*, *ENPP2*, *DIRAS2*, *PTPRN2*), la actividad neuroendocrina (*SSTR3*, *CHRND*, *RPH3A*), regulación de calcio (*TTYH2*, *CALCA*, *CACNA1A*, *PKD2*), los canales de potasio (*KCNA5*, *KCNN1*, *KCNH7*, *KCNK10*), los transportadores de moléculas e iones (*SLC26A11*, *SLC39A3*, *RRBP1*, *SLC36A2*, *ABCA7*, *SLC4A10*), el metabolismo (*DPEP1*), la regulación de la vía TGF $\beta$  (*GDF6*) y otros genes como *FIBP*, *LRRK1*, *OR51S1*, *OR3A1* y *HAS3* (Figura S18C,D; Tabla S32). Cuatro de estos genes también están diferencialmente activados entre los grupos SN2 (*KCNA5*, *IL11RA*, *PTPRN2*) y SN1 (*RPS27L*) (Figura S19; Tabla 31).

El análisis de la actividad proteica inferida de los principales reguladores biológicos en función del SN, estratificado por origen del tumor primario, está representado en la Figura S18 y la Tabla S33.

#### **9.5.4 Los perfiles de metilación diferencia al SN3 del resto de subtipos moleculares y podría ser el evento epigenético que regula la expresión de algunos genes diferencialmente expresados entre los SNs.**

Los SNs identificados en este estudio muestran diferencias significativas en su patrón de metilación. Globalmente, las muestras del grupo SN3 presentan mayores niveles de metilación en comparación con los otros dos grupos (Figura 10A; Tabla 2). El número de regiones diferencialmente metiladas entre los distintos subgrupos están representadas en la Figura 16.

Las 272 regiones con mayor metilación en SN3 respecto a los otros dos grupos incluyen genes relacionados con la regulación transcripcional (*CHD5*, *HMGA1*, *PITX3*, *TOX2*, *TLE2*, *SMOX*, *SCRT2*, *DDN*, *WWTR1*, *LBXCOR1*, *HIC1*), factores de transcripción (*EMX1*, *CEBPA*, *HNF1B*, *EBF4*, *KLF4*, *FOXN3*, *EGR4*, *SIX2*, *MEIS3*, *EBF1*), kinasas (*MERTK*, *LYN*, *EPHA10*, *MST1R*, *PAK6*), factores de crecimiento (*FGF12*, *IGFBP5*, *ANGPTL2*, *FGFRL1*, *KLB*), proteínas ribosomales (*RPP25*), metiltransferasas (*NSD1*) formación de microtúbulos (*TBCD*, *CCDC8*, *MAPT*, *MAST4*), sistema inmune (*IL1RL2*, *CTSC*, *SOCS3*), adhesión celular (*FMN1*, *SEMA5A*, *CLDN11*, *MDGA1*, *DCHS2*, *LAMA5*, *CLDN6*, *PODXL*, *GJB3*, *MEGF11*), ciclo celular y apoptosis (*CFLAR*, *CASP8*, *CCNA1*) o de la actividad del proteosoma (*USP4*, *PRR5L*, *FBXL16*). También se identificaron genes involucrados en las vías de señalización de WNT (*WNT6*, *DAAM2*, *PPM1N*), Hedgehog (*IHH*), TGF $\beta$  (*LTBP4*, *GDF15*), Notch (*NOTCH1*), insulina (*KAZALD1*) y TNF $\alpha$  (*TNFAIP8*, *TNFRSF10D*). Además, se encontraron genes que participaban en el metabolismo de biomoléculas (*GALM*, *PYGL*, *SARDH*), y en el transporte (*SLC26A5*, *SLC35D3*), en el metabolismo de fármacos (*CYP26C1*, *CYBRD1*, *CYP7B1*) y otros como *RASSF1*(Figura 16; Tabla S36).

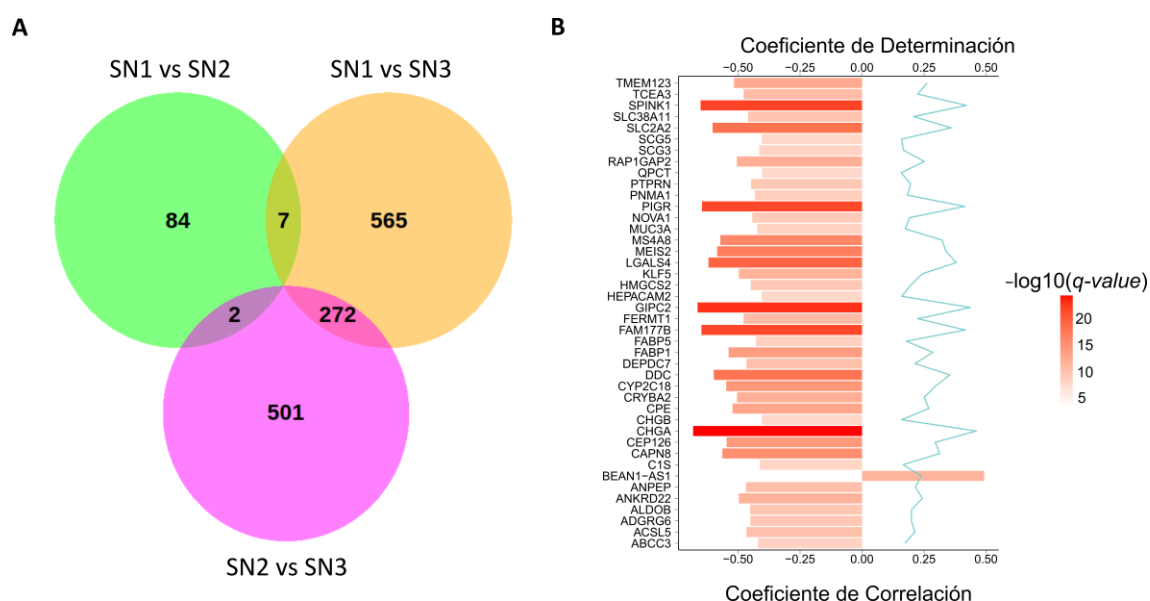


**Figura 16. Regiones diferencialmente metiladas en los subtipos neuroendocrinos y genes potencialmente regulados epigenéticamente.** **A)** Diagrama de Venn que indica las sondas diferencialmente metiladas entre los SNs con un  $CL2 > 2$  y un  $q\text{-valor} < 0,05$ . **B)** Gráfico de barras que muestra el coeficiente de correlación de *Pearson* entre la expresión y la metilación de genes que se encuentran anotados en la misma región, incluyendo aquellos con coeficiente de correlación absoluta  $> 0.40$ . La intensidad del color de las barras indica el  $-\log_{10}$  del  $q\text{-valor}$  correspondiente a la confianza del coeficiente de correlación (a mayor intensidad de rojo menor  $p\text{-valor}$ ). Además, se muestra el coeficiente de determinación obtenido a partir de un modelo lineal donde la expresión es la variable dependiente y la metilación la variable independiente.

Con el fin de identificar qué genes con expresión diferencial podrían estar regulados por procesos de metilación, se analizó la correlación entre la expresión génica y la regulación epigenética de las regiones cromosómicas correspondientes. Así, se encontraron 45 genes cuya expresión se asociaba con la metilación de 148 regiones (correlación absoluta  $> 0,40$ ). La mayoría de las correlaciones eran negativas (93,9%). Entre los genes con correlaciones negativas se encontraban *CHGA*, *GIPC2*, *PIGR*, *LGALS4*, *NOVA1*, *CHGB* y *PTPRN* (Figura 16; Tabla S37). También se observaron correlaciones positivas en algunas regiones (p.ej. *BEAN1-AS1*, *MEIS2*, *DDC* y *NOVA1*) (Figura 16; Tabla S37)

Los análisis exploratorios de correlación entre expresión y metilación en función del origen del tumor primario están representados en la Figura S19 y la Tabla S38.

#### **9.5.5 La expresión de los genes *GIPC2* y *PAK3* tienen valor pronóstico independiente en TNEs de distinto origen anatómico.**

Con el propósito de identificar los genes más relevantes que puedan justificar las diferencias de supervivencia entre los SNs, generamos modelos de Cox regularizados con *Lasso* con la expresión de los genes diferencialmente expresados entre alguno de los SNs.

Ocho genes fueron identificados como variables con potencial valor pronóstico: *GIPC2* (coeficiente =  $-0,21$ ), *PAK3* (coeficiente =  $-0,13$ ), *FAM177B* (coeficiente =  $-0,08$ ), *TCEA3* (coeficiente =  $-0,04$ ), *JCHAIN* (coeficiente =  $-0,01$ ), *CAPN8* (coeficiente =  $7,01 \cdot 10^{-03}$ ), *ANKRD30B* (coeficiente =  $0,04$ ) y *CXXC4* (coeficiente =  $0,08$ ) (Tabla S39).

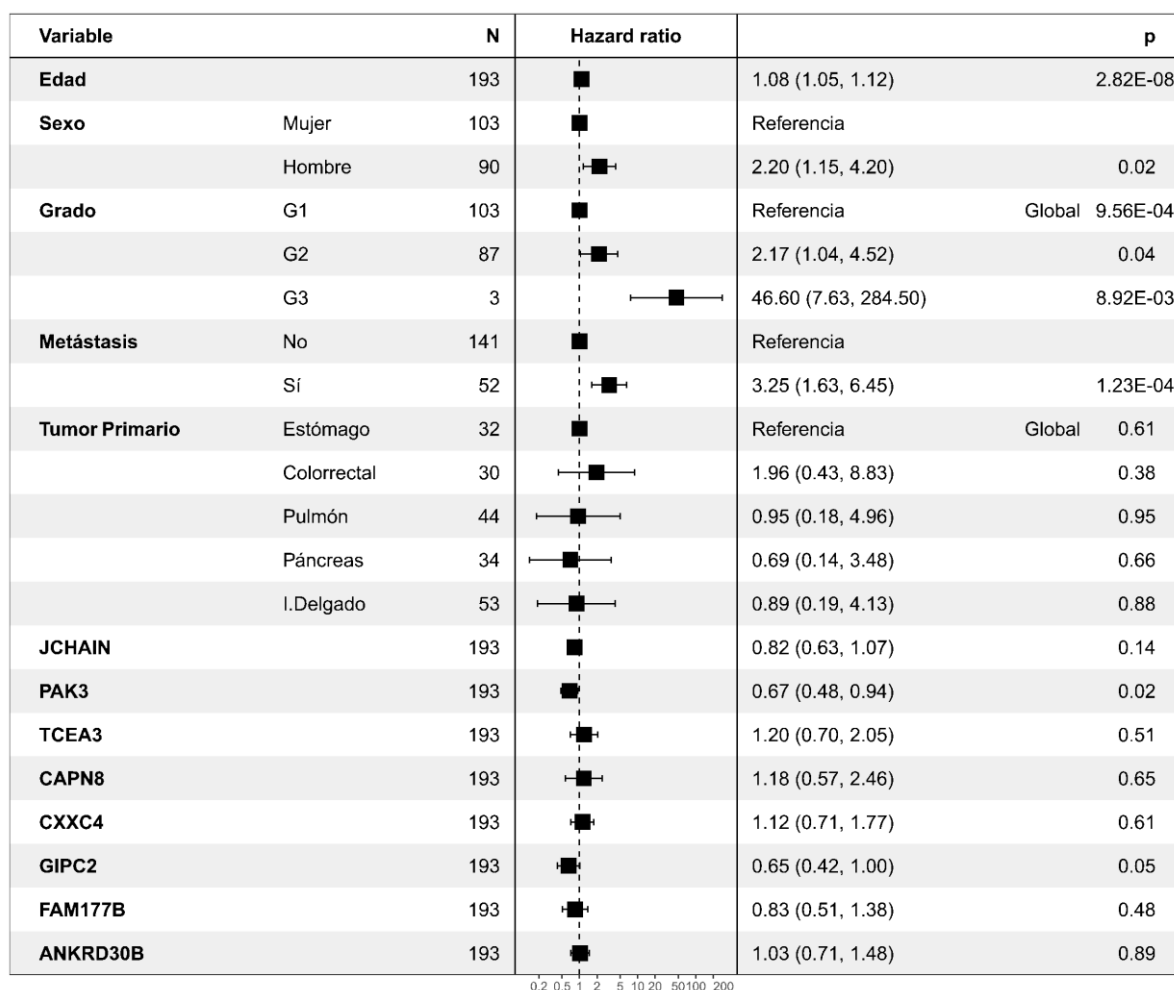


**Figura 17. Modelo de Cox multivariante con las variables clínicas y los genes seleccionados por el modelo regularizado con Lasso.** Gráfico de bosque que muestra los resultados del modelo de Cox multivariante con los genes seleccionados en el modelo de Cox con penalización por Lasso. Dx: Diagnóstico

El modelo multivariante de Cox mostró que la expresión de *GIPC2* ( $HR = 0,65$ ;  $p\text{-valor} = 0,05$ ) y *PAK3* ( $HR = 0,67$ ;  $p\text{-valor} = 0,03$ ) son factores pronósticos independientes de la edad, el sexo, el grado, la presencia de metástasis al diagnóstico y el origen del tumor primario, asociándose una mayor expresión con una mayor supervivencia. Además, la edad ( $HR = 1,08$ ;  $p\text{-valor} = 2,82 \cdot 10^{-8}$ ), el sexo (hombre vs mujer:  $HR = 2,20$ ;  $p\text{-valor} = 0,02$ ), el grado ( $p\text{-valor} = 9,56 \cdot 10^{-10}$ ; G2 vs G1:  $HR = 2,17$ ,  $p\text{-valor} = 0,04$ ; G3 vs G1:  $HR = 46,60$ ,  $p\text{-valor} = 8,92 \cdot 10^{-03}$ ) y la presencia de metástasis al diagnóstico ( $HR = 3,25$ ;  $p\text{-valor} = 1,23 \cdot 10^{-4}$ ) también se mantuvieron como factores pronósticos independientes en el modelo multivariante (Figura 17). En las Figuras S20 y S21 se muestra la expresión de *GIPC2* y *PAK3* por SN, así como la SG según de la expresión de estos genes categorizada en función de la mediana de expresión, en la población global y en cada uno de los SNs.

## 10 DISCUSIÓN

---

Los TNEs son un conjunto singular de tumores que se originan en el sistema neuroendocrino difuso, por lo que presentan una amplia distribución anatómica. A pesar de ello comparten una serie de características clínicas e histopatológicas comunes, como su capacidad de sintetizar y segregar hormonas dando lugar a síndromes clínicos específicos (lo que se conoce como tumores funcionantes), o la expresión de receptores de somatostatina en su superficie celular, que es de una gran utilidad diagnóstica y terapéutica. En general son tumores de baja agresividad biológica, aunque su comportamiento clínico es heterogéneo y no siempre predecible, y tienen una baja carga mutacional y pocas mutaciones recurrentes, jugando la epigenética un papel destacable. Pero las bases moleculares de la enfermedad no se conocen en profundidad, ya que su baja incidencia, junto con su gran dispersión anatómica y heterogeneidad clínica, han limitado sustancialmente su estudio. En este contexto, el objetivo de nuestro trabajo fue desarrollar una clasificación molecular universal de los TNEs independiente de su lugar de origen, y caracterizar los mecanismos biológicos implicados en la evolución clínica de la enfermedad, con el fin de identificar vulnerabilidades compartidas y facilitar el desarrollo de nuevos biomarcadores diagnósticos, pronósticos y/o predictivos, y de nuevas estrategias de tratamiento que eventualmente puedan mejorar el pronóstico de estos pacientes<sup>50,53,121</sup>.

Con este fin, hemos desarrollado una clasificación molecular que integra datos transcriptómicos y metilómicos de muestras tumorales parafinadas procedentes de una cohorte retrospectiva de 194 pacientes con TNEs de diversos orígenes anatómicos (pulmonar, gástrico, pancreático, de intestino delgado y de intestino grueso), utilizando el algoritmo *MOFA*. Como resultado hemos obtenido tres subtipos neuroendocrinos que se asocian de manera significativa con el pronóstico de los pacientes, siendo el SN1 el que presenta un pronóstico más favorable y el SN3 el que presenta una evolución clínica más agresiva (SG a los 10 años del 86%, 78% y 65%, respectivamente,  $p\text{-valor}=0.0018$ ). El SN de peor pronóstico (SN3) se asocia con características clínico-patológicas de mayor agresividad biológica, siendo en este subgrupo mayor la proporción de pacientes con tumores de mayor grado (62,7% G2-3), con enfermedad metastásica al diagnóstico (40.3%) y con altos niveles de 5-HIAA (23,9%). No se observaron diferencias significativas, sin embargo, en cuanto a la distribución de la edad, el sexo o el origen del tumor primario entre los distintos SNs. Esta distribución relativamente homogénea en los SNs de TNEs de distinto origen apoya nuestra hipótesis inicial, reforzando la idea de la existencia de fuentes de variabilidad biológica comunes en los TNEs independientes del origen anatómico, que además se relacionan con el comportamiento clínico observado en los pacientes. El desarrollo

del modelo *MOFA* se ha llevado a cabo en la modalidad de grupo, de manera que el algoritmo ha establecido los factores latentes estratificados por localización anatómica del tumor primario, permitiendo así analizar las alteraciones compartidas y específicas de cada origen tumoral, y evitando que se generen factores latentes que expliquen diferencias biológicas propias del tejido de origen y no específicamente relacionadas con la enfermedad tumoral<sup>115,122</sup>. El modelo se desarrolló inicialmente con 8 factores, si bien tanto el factor 3 como el 6 fueron eliminados del modelo por su relación con la calidad del ARN de las muestras y con el tejido hepático normal del cual proceden las muestras de metástasis hepáticas, respectivamente. Así, el modelo final se elaboró con 6 factores (factores 1, 2, 4, 5, 7 y 8), siendo los factores 1 y 2 los que tienen mayor peso en la estratificación de las muestras. Los 6 factores del modelo final han sido relacionados con variables biológicas o clínicas de los TNEs y, a excepción del Factor 4, las asociaciones encontradas se comparten en todos los grupos independientemente de su origen tumoral. Es de destacar que el Factor 4 parece ser exclusivo de las muestras de origen pulmonar, resaltando la existencia de particularidades en los TNEs pulmonares que los diferencian de los TNEs de origen digestivo, a pesar de presentar otras fuentes de variabilidad comunes. Además, el Factor 4 se relaciona con variables clínicas y moleculares similares a las descritas en la clasificación de los carcinoides pulmonares propuesta por Alcalá y colaboradores<sup>101</sup>. En este estudio, partiendo de datos de transcriptómica y metilómica y aplicando *MOFA*, se desarrolla una clasificación específica de TNEs pulmonares. Como resultado se definen 3 grupos, uno formado por los carcinomas neuroendocrinos de célula grande (CNECG) y otros dos que dividen los TNEs pulmonares en dos subtipos denominados carcinoide A, enriquecido en tumores típicos comparables a G1, y carcinoide B, enriquecido en tumores atípicos similares a G2. Además, encontraron una asociación entre la histología y el sexo, donde la mayoría de los tumores típicos provenían de mujeres y los atípicos de hombres. En concordancia con este estudio, en nuestro modelo el Factor 4 se asocia con el sexo y el grado, siendo los tumores G2 procedentes de hombres los que tienen niveles más elevados del factor, mientras que los que presentan niveles más bajos se corresponden con tumores G1 y tienen una mayor proporción de mujeres. Además, hemos observado que algunos de los genes más expresados en el subtipo carcinoide B, como *ANGPTL3* y varios miembros de la familia enzimática *UGT*, correlacionan positivamente con el Factor 4, mientras que los genes enriquecidos en el subtipo carcinoide A, como *OTP*, *ASCL1*, *SLIT1* y *DLL3*, correlacionan negativamente. Estas similitudes pudieran indicar que este factor está explicando las mismas diferencias biológicas que las aportadas por la clasificación propuesta por Alcalá y colaboradores<sup>101</sup>.

Nuestra clasificación de TNEs define al SN3 como el grupo con peor supervivencia global, caracterizado por presentar tumores con mayor nivel de metilación y mayor número de CNVs que el resto de subtipos. En relación con los CNVs, no hemos identificado algunos descritos en NNEs intestinales por Karpathakis y colaboradores, como la pérdida del cromosoma 18 o las ganancias de los cromosomas 4, 5 y 20, aunque sí otros con menor prevalencia como pérdidas en los cromosomas 22q, 16q, 14q y 13q<sup>87</sup>. En ambos trabajos los grupos con mayor metilación y CNVs se asocian con un enriquecimiento en tumores de mayor agresividad biológica (G3 y estadios IV al diagnóstico) que cursan con peor evolución clínica (supervivencia libre de progresión o supervivencia global). Además, comparten algunos de los genes hipermetilados como *BEAN*, *DAAM2* y *MAT2B*<sup>87</sup>. Lakis y colaboradores proponen subtipos basados en el número de copias somáticas en TNEs pancreáticos. Así, identifican un subgrupo de tumores con múltiples pérdidas cromosómicas, concretamente en el cromosoma 11, aunque también se identificaron deleciones en los cromosomas 1, 2, 3, 6, 8, 10, 15, 16, 21 y 22. Las deleciones del cromosoma 11q se han descrito en TNEs de distinto origen, en concreto en la región 11q.13 (donde se encuentra *MEN1*) y en 11q.14. Esta última alteración es una de las identificadas en nuestro estudio y se encuentra enriquecida en SN3<sup>123,124</sup>. Otros CNVs enriquecidos en SN3 y previamente descritos en otros trabajos fueron la ganancia en 4p16 en TNEs intestinales y las deleciones entre 22q12.3 y 22q13.32 en TNEs pancreáticos metastásicos<sup>125,126</sup>.

En relación a la hipermetilación de los tumores, algunos estudios previos en otras neoplasias también lo han relacionado con un peor pronóstico y proporciones más bajas de poblaciones celulares citotóxicas procedentes de datos de deconvolución<sup>127,128</sup>. Además, otros trabajos focalizados en TNEs intestinales la han asociado con una mayor expresión de Ki67 y de CgA y una peor supervivencia global de los pacientes en TNEs intestinales<sup>129</sup>. En concordancia con estos datos, el gen *CHGA* que codifica para la proteína CgA, se encuentra sobre-expresado en el grupo SN3, con respecto a los otros SNs, que es el subtipo neuroendocrino de peor pronóstico. Los niveles de CgA en sangre también han sido asociados con el estadio y la carga tumoral de los pacientes con TNEs-GEP, de manera que los pacientes con tumores avanzados mostraban los mayores niveles de CgA, y pacientes con niveles más altos de CgA en sangre tienen peor supervivencia<sup>130,131</sup>. A pesar de que estos tumores no presentan grandes diferencias a nivel transcriptómico en comparación con las muestras del SN2, podemos observar que existe un enriquecimiento de genes relacionados con *FOXM1* y del ciclo celular en estos tumores. Estos resultados coinciden con lo que se observa en el grupo con menor supervivencia global, *Proliferative*, descrito por Yang y colaboradores en NNEs pancreáticas<sup>97</sup>.

Otras características relevantes que se han encontrado en el SN3, como la metilación del gen *RASSF1*, han sido previamente asociadas al pronóstico en TNEs. Así, en muestras metastásicas de pacientes con TNEs intestinales se han encontrado altos niveles de metilación de *RASSF1*, en comparación con los tumores primarios, y esto se asocia con peores tasas de supervivencia<sup>132</sup>. Además, *RASSF1* es un gen frecuentemente metilado y asociado a metástasis en nódulos linfáticos en TNEs pancreáticos, así como en tumores atípicos frente a típicos en TNEs pulmonares<sup>133,134</sup>. No obstante, la expresión de *CHGA* y la metilación de *RASSF1A*, no se encontraron entre las variables moleculares seleccionadas por los modelos de regularización de Cox en relación con la supervivencia global en nuestra cohorte de estudio.

La expresión de otros genes, como *GIPC2* y *PAK3*, se encuentran entre las variables biológicas con mayor valor pronóstico independiente en estos pacientes. *GIPC2* es un gen localizado en 1p31 que está involucrado en la formación de complejos de señalización celular y parece tener un papel relevante como supresor tumoral en diferentes contextos tumorales. *GIPC2* se expresa principalmente en las glándulas suprarrenales, los riñones y el colon, y está infra-expresado en cánceres de riñón y de colon, y en la leucemia linfocítica aguda. Altos niveles de expresión de *GIPC2* se han asociado con mejor supervivencia en cáncer colorrectal, relacionándose con una mayor infiltración inmune. Además, en otras NNEs, como feocromocitomas y paragangliomas también se ha confirmado su papel como supresor tumoral mediante la regulación de p27<sup>135-137</sup>. En este trabajo se documentó que *GIPC2* era inactivado por delección e hipermetilación del promotor, y la reducción de la expresión de *GIPC2* se asoció con peor supervivencia libre de enfermedad. De manera consistente, en nuestro estudio la sobre-expresión de *GIPC2* se ha asociado de manera significativa e independiente a un mejor pronóstico de los pacientes. Además, la correlación negativa entre la expresión de *GIPC2* y los perfiles de metilación en los TNEs de origen intestinal, gástrico y pancreático, también sugiere una posible regulación epigenética. En el mismo sentido que *GIPC2*, la sobreexpresión de *PAK3* en nuestro trabajo se asocia de manera significativa con mayores tasas de supervivencia en la población global. *PAK3* pertenece a la familia de proteínas quinasa activadas por p21 (PAK, *p21-activated kinases*) implicadas en supervivencia celular y proliferación, así como en adhesión y motilidad celular<sup>138,139</sup>. Un estudio en gliomas muestra una correlación negativa de la expresión de *PAK3* con la proliferación tumoral y una asociación con una mayor diferenciación neuronal<sup>140</sup>. Sin embargo, en carcinomas neuroendocrinos de timo la expresión de *PAK3* se ha relacionado con una mayor progresión y capacidad de migración celular<sup>141</sup>, sugiriendo un papel dual de este gen dependiente del contexto biológico del tumor. Dada la relevancia de estos dos genes en el pronóstico de los pacientes con TNEs de diversos orígenes anatómicos, sería interesante validar

estos hallazgos en cohortes independientes, así como llevar a cabo estudios funcionales en modelos preclínicos para discernir su papel en la biología de la enfermedad.

El SN2 definido en nuestro estudio engloba pacientes con un pronóstico intermedio, con niveles más bajos de metilación tumoral y sin asociación significativa a ninguna característica clínico-patológica definida. Sin embargo, encontramos 3 genes que muestran diferencias de expresión significativas entre SN3 y SN2 (*GRB10*, *HEPACAM2* y *GJD2*). El gen *GRB10* pertenece a una pequeña familia de proteínas adaptadoras, conocidas por su interacción con receptores tirosina quinasa y moléculas de señalización, entre los que se incluyen los receptores de insulina o de factores de crecimiento similares a la insulina<sup>142</sup>. En el contexto de los TNEs gastrointestinales y pancreáticos, se ha descrito que la expresión *GRB10* se asocia con mecanismos de resistencia a inhibidores de mTOR<sup>143,144</sup>. Por otro lado, *HEPACAM2* está implicado en la regulación del ciclo celular<sup>145</sup>, además de estar relacionada con la secreción de insulina como respuesta a glucosa en líneas  $\beta$  pancreáticas<sup>146</sup>. Por último, *GJD2* es un gen que codifica para la conexina 36, una proteína que forma parte de las uniones GAP intercelulares que es esencial en la regulación de la secreción de la insulina<sup>147</sup>. Además, juega un papel fundamental en la síntesis de epinefrina en células cromafines adrenales<sup>148</sup>.

Algunos de los genes con alta actividad inferida en SN2 también se encontraban involucrados en la vía de la insulina como *PTPRN2*, *INSM1* y *KCNA5*. *PTPRN2* codifica para una tirosina-fosfatasa (PHOGRIN) que juega un papel fundamental en la secreción de insulina mediante la estabilización de IRS2 y en otros procesos de exocitosis<sup>149–151</sup>, y que se ha relacionado con la progresión tumoral en cáncer colorrectal y mamario<sup>152,153</sup>. Por otro lado, *INSM1* (*Insulinoma-associated protein 1*) codifica para un factor de transcripción que está sobre-expresado en varios tipos de tumores neuroendocrinos, habiéndose incorporado a la práctica clínica como biomarcador diagnóstico con mayor sensibilidad y especificidad que los biomarcadores clásicos de TNEs como GcA, sinaptofisina y/o CD56<sup>154</sup>. *INSM1* interviene en la diferenciación neuroendocrina de las células pancreáticas e intestinales y tiene un rol determinante en la vía de la insulina<sup>155,156</sup>. Además, es uno de los genes que se encuentra con mayor expresión dentro del grupo de insulinomas de la clasificación de Sadanandam y colaboradores<sup>94</sup>. Por último, el gen *KCNA5* codifica para un miembro de la subfamilia de los canales de potasio dependientes de voltaje. Además de estar implicado en la restauración del potencial de membrana en reposo de las células  $\beta$  después de la despolarización, también se relaciona con la regulación de la secreción de insulina<sup>157</sup>. En conjunto, la mayor expresión y activación inferida de estos genes en el SN2, sugiere que los TNEs que pertenecen a este grupo tienen una mayor activación de la vía

de la insulina, estrechamente relacionada con procesos de proliferación, diferenciación y supervivencia celular en múltiples tipos tumorales<sup>158</sup>.

El SN1 definido por nuestro clasificador universal constituye el grupo con mejor pronóstico, fuertemente enriquecido en TNEs G1, que son tumores poco proliferativos y de naturaleza más indolente. En general, el SN1 muestra un perfil transcriptómico llamativamente diferente a los otros SNs, con una menor expresión de genes relacionados con la actividad neuroendocrina secretora. Entre los genes infraexpresados en SN1 más relevantes cabe destacar el regulador de la transcripción *BEX1*, el factor de *splicing* alternativo *NOVA1* y la tirosina-fosfatasa *PTPRN*, así como menor activación inferida del receptor de somatostatina *SSTR2*, receptor de somatostatina más sobre-expresado en tumores neuroendocrinos bien diferenciados y una de sus principales dianas terapéuticas<sup>62</sup>. El regulador *BEX1* se ha propuesto como biomarcador específico para diferenciar neoplasias neuroendocrinas, dada su mayor expresión en carcinomas pulmonares con alta diferenciación neuroendocrina, en células tumorales neuroendocrinas en comparación con adenocarcinomas y en carcinoides intestinales en relación al tejido normal adyacente<sup>159–161</sup>. Además, se ha observado que *BEX1* aumenta la capacidad metastásica y proliferativa de líneas celulares de adenocarcinoma de pulmón y de mesotelioma<sup>162</sup>. Por otro lado, el miembro de la maquinaria de regulación de *splicing* alternativo *NOVA 1* se ha asociado a una mayor capacidad proliferativa y se ha propuesto como un biomarcador diagnóstico y una posible diana terapéutica en TNEs pancreáticos<sup>163</sup>. Sin embargo, nuestros resultados sugieren que este gen podría tener también una gran relevancia en TNEs de otras localizaciones anatómicas. Por último, *PTPRN* codifica la proteína conocida como IA-2 que se encuentra especialmente expresada en células neuroendocrinas con actividad secretora en páncreas, intestino delgado, intestino grueso, células adrenales y pituitarias<sup>164,165</sup>. Al igual que *PTPRN2*, que presentaba mayor actividad en SN2, la proteína IA-2 interviene en la estabilización de *IRS2* cuando se produce la exocitosis de insulina y se asocia a mayor proliferación de las células  $\beta$ -pancreáticas<sup>166</sup>. Además, *PTPRN* se ha relacionado con la tumorigénesis en diferentes contextos. Un ejemplo de ello es el trabajo de Karpathakis y colaboradores, donde *PTPRN* se propone como uno de los posibles genes conductores o *drivers* tumorales ya que presenta mayor expresión en TNEs intestinales comparado con tejido normal. Además, en ambos estudios encontramos una correlación inversa entre la expresión y los niveles de metilación del gen, indicando una posible regulación epigenética del mismo<sup>87</sup>. De manera consistente, otros trabajos han descrito una mayor expresión de *PTPRN* en carcinomas neuroendocrinos gastrointestinales y en otros tipos de cánceres no neuroendocrinos como gliomas o adenocarcinoma pulmonar, donde se relaciona con un peor pronóstico y un aumento de la proliferación celular<sup>167–169</sup>. Concretamente, en el

contexto del adenocarcinoma pulmonar, se ha correlacionado la expresión de *PTPRN* con un aumento de la capacidad metastásica y una reducción de la citotoxicidad de las NK y de la expresión de interferón gamma y de  $\text{TNF}\alpha$ <sup>168</sup>. En las muestras tumorales de SN1 hemos encontrado una relación entre la baja expresión de *PTPRN* y un mayor enriquecimiento de firmas génicas relacionadas con la activación de  $\text{TNF}\alpha$ -NFKB, interferón gamma, señalización por interleucinas y receptores de células T y B.

Uno de los rasgos más diferenciales que hemos encontrado en los TNEs que forman el grupo SN1 es el alto nivel de infiltrado inmune, mostrando una mayor abundancia inferida de células T, linfocitos citotóxicos, células dendríticas, neutrófilos y monocitos, mientras que el SN2 estaba enriquecido únicamente en células NK. Este microambiente inmune “hot” de los SN1 se encuentra relacionado con el anteriormente mencionado gen *PTPRN*, cuya expresión está regulada por la vía de interferón gamma y  $\text{TNF}\alpha$ <sup>170</sup>. Asimismo, hemos encontrado que el SN1 presenta una mayor actividad inferida de la proteína TRAIL (gen *TNFSF10*), miembro de la familia de los TNFs implicado en la inducción de apoptosis mediada por caspasas y en la regulación de múltiples células inmunitarias<sup>171–173</sup>. En el mismo sentido, el SN1 muestra un enriquecimiento de genes relacionados con la apoptosis y con la inmunidad celular. Un ejemplo de ello es el gen *PIGR*, miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas, que codifica para el receptor transmembrana de la inmunoglobulina polimérica (pIgR) presente en la mucosa intestinal, que interviene en la secreción de inmunoglobulinas como parte de la respuesta inmune innata<sup>174</sup>. Precisamente un estudio en TNEs pancreáticos ha mostrado que *PIGR* es uno de los genes con mayor diferencia de expresión entre los grupos definidos con menor y mayor abundancia de células inmunes, estando más específicamente relacionado con una mayor infiltración de células T y células T helper<sup>175</sup>.

Los TNEs del SN1 se caracterizan por presentar bajos niveles de expresión de genes relacionados con vías oncogénicas como *PIK3C2G*, y menor actividad proteica inferida en genes involucrados en la división celular como *JNK3* o c-JUN. Estos perfiles transcripcionales podrían justificar a nivel molecular el mejor pronóstico que presentan los pacientes pertenecientes a este SN1, aunque esta hipótesis debe ser desarrollada con estudios moleculares dirigidos y confirmada en otras series de pacientes. *PIK3C2G* es un miembro de la vía de señalización de PI3KC/mTOR, una de las más frecuentemente activadas en cáncer y cuya activación se asocia a un peor pronóstico<sup>95</sup>. Esta ruta oncogénica está implicada en la regulación del metabolismo, el crecimiento, la supervivencia y la proliferación celulares<sup>176,177</sup>. Además, es una de las principales dianas terapéuticas que se han tratado con éxito en neoplasias neuroendocrinas<sup>61,69</sup>, por lo que sería interesante estudiar si existe una relación entre la clasificación molecular aquí planteada y

la respuesta a tratamientos con inhibidores de esta vía con fármacos como el everolimus. En el caso de *JNK3*, el miembro de la familia JNK que más se expresa en células neuronales, su activación se ha asociado a una mayor supervivencia, proliferación y migración celulares<sup>178</sup>. Además, interviene en la proliferación de células  $\beta$ -pancreáticas y se activa ante la ausencia de MEN1, gen supresor implicado en el síndrome de predisposición hereditaria al desarrollo de neoplasias endocrinas múltiples (Síndrome MEN1) y uno de los supresores tumorales más frecuentemente alterados de manera somática en tumores neuroendocrinos bien diferenciados<sup>76,179</sup>.

De manera relevante, los TNEs del SN1 presentan sobreexpresión de genes relacionados con el metabolismo y la digestión de nutrientes. Entre estos genes destaca *GSTA1*, que codifica una proteína glutatión S-transferasa alpha que cataliza el proceso de detoxificación durante el metabolismo de fase II de xenobióticos y que juega también un papel importante en la protección frente las especies reactivas de oxígeno<sup>180</sup>. También se encuentra sobreexpresado *FBP1* que codifica para Fructosa-1,6 Bifosfatasa, enzima que interviene en la gluconeogénesis<sup>181</sup>. Además, *FBP1* se encuentra hipometilado en el SN1, lo que sugiere que está epigenéticamente regulado. Karpathakis y colaboradores también objetivaron que la expresión de *FBP1* estaba epigenéticamente desregulada en TNEs de intestino delgado, observando una mayor expresión de *FBP1* en tejido normal versus tejido tumoral<sup>87</sup>. En nuestro estudio, el SN3 es el que tiene menor expresión de *FBP1* y esto se asocia con un peor pronóstico. Además, estudios en otros tumores han descrito que el silenciamiento de *FBP1* se relaciona con un aumento del efecto *Warburg*, favoreciendo así la adaptación de los tumores a condiciones de hipoxia<sup>182–184</sup>. Esta enzima aumenta la generación de especies reactivas de oxígeno, induciendo la apoptosis, el arresto del ciclo celular y la inhibición de HIF1<sup>182</sup>. En concordancia, los tumores que pertenecen a SN1 muestran un mayor enriquecimiento en genes relacionados con la fosforilación oxidativa respecto a SN2, pero no en comparación con SN3. Los tumores SN1 también muestran un enriquecimiento de genes implicados en el metabolismo de lípidos y mayor expresión de miembros de la familia FABP, que además parecen presentar una regulación epigenética en nuestra cohorte. Estas proteínas son transportadores de ácidos grasos en las células y su papel en cáncer parece relacionado con el tipo de tumor<sup>185</sup>.

Este estudio es el mayor análisis transcriptómico y epigenómico integrado no supervisado realizado hasta la fecha en TNEs. A pesar de su relevancia, el estudio presenta limitaciones que debemos destacar. Entre estas limitaciones se encuentran los sesgos inherentes a los estudios retrospectivos, y los problemas de calidad relacionados con el empleo de muestras tumorales fijadas en formol e incluidas en parafina. La parafina está compuesta por mezclas de

hidrocarburos saturados que solidifican a temperatura ambiente y permite preservar los tejidos durante años. Sin embargo, este compuesto degrada el ARN de la muestra y genera mutaciones en el ADN. Este fenómeno provoca que tanto los datos transcriptómicos como de metilación obtenidos a partir de parafinas puedan estar comprometidos<sup>186–189</sup>. No obstante, el uso de muestras parafinadas se adapta mejor a la realidad clínica estándar de los hospitales, y ha permitido tener una cohorte de pacientes mucho más amplia para poder extraer conclusiones más sólidas. Por otro lado, los datos transcriptómicos de nuestro estudio se han obtenido de *microarrays* de expresión, que al contrario que el *RNAseq* no permite la obtención del transcriptoma completo y es menos sensible para detectar genes con baja y alta expresión. Por ello, sería muy recomendable validar estos resultados en cohortes prospectivas independientes de pacientes utilizando tejido congelado y datos de secuenciación. A pesar de ello, en este trabajo se han identificado fuentes de variabilidad relacionadas con la calidad de los datos ómicos (CP1 de los datos y el Factor 3) que han sido regresadas o eliminadas del modelo. Otro de los retos afrontados en este estudio es el uso de muestras derivadas de tumores primarios y también de metástasis (17.5% del total) de distintas localizaciones anatómicas (hígado, pulmón, nódulos linfáticos, ovario, parótida, peritoneo y piel), que aportan una variabilidad biológica dependiente del tejido de origen más que de la enfermedad de estudio. Por este motivo, la selección de variables se ha realizado únicamente en las muestras derivadas de los tumores primarios y en cada uno de ellos por separado, para más tarde escoger las variables con mayor rango medio en los distintos orígenes. Además, se identificó que el Factor 6 estaba estrechamente relacionado con el tejido hepático por lo que también se eliminó del modelo. Estos datos resaltan la importancia del uso de los algoritmos de reducción de dimensionalidad para la identificación de fuentes de variabilidad no deseadas, permitiendo su eliminación posterior y el desarrollo de un estudio más preciso.

En resumen, hemos desarrollado una clasificación molecular transversal para TNEs de diversos orígenes anatómicos (pulmonar, gástrico, pancreático, de intestino delgado y de intestino grueso) integrando datos transcriptómicos y metilómicos utilizando el algoritmo *MOFA*. Como resultado hemos obtenido tres subtipos neuroendocrinos que se asocian de manera significativa con el pronóstico de los pacientes, siendo el SN1 el que presenta un pronóstico más favorable y el SN3 el que presenta una evolución clínica más agresiva (SG a los 10 años del 86%, 78% y 65%, respectivamente,  $p\text{-valor}=0.0018$ ). Además, se han caracterizado clínica y molecularmente estos subtipos neuroendocrinos, generado hipótesis relacionadas con las bases biológicas de la enfermedad que podrían justificar el diverso comportamiento clínico de los TNEs (Tabla 7). Así, los resultados de este trabajo siembran las bases para el desarrollo de

futuros estudios que permitan entender los mecanismos biológicos implicados en el desarrollo y evolución de la enfermedad, con el fin de identificar vulnerabilidades compartidas y facilitar el desarrollo de nuevos biomarcadores diagnósticos, pronósticos y/o predictivos, y de nuevas estrategias de tratamiento que puedan eventualmente mejorar el pronóstico de estos pacientes.

**Tabla 7. Taxonomía propuesta de los TNEs mostrando las diferencias clínicas y biológicas más relevantes**

| Características               | SN1                                                                                                               | SN2                                                                                                  | SN3                                                                                                  |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Clínicas</b>               | G1                                                                                                                | G1                                                                                                   | G2-G3, metástasis al diagnóstico y 5-HIAA elevado                                                    |
| <b>Pronóstico</b>             | Bueno                                                                                                             | Intermedio                                                                                           | Malo                                                                                                 |
| <b>CIMP</b>                   | Bajo                                                                                                              | Bajo                                                                                                 | Alto                                                                                                 |
| <b>CNVs</b>                   | Bajo                                                                                                              | Bajo                                                                                                 | Alto                                                                                                 |
| <b>Poblaciones celulares</b>  | Enriquecido en células T, linfocitos citotóxicos, células dendríticas, neutrófilos, células B y linaje monocítico | Enriquecido en células <i>Natural Killer</i>                                                         |                                                                                                      |
| <b>Perfil Transcriptómico</b> | Alta expresión de genes relacionados con metabolismo y digestión de nutrientes                                    | Alta expresión de genes relacionados con función neuroendocrina y proliferación<br>PTPRN; NOVA; BEX1 | Alta expresión de genes relacionados con función neuroendocrina y proliferación<br>PTPRN; NOVA; BEX1 |
| <b>Vías de señalización</b>   | Respuesta inflamatoria<br>Interferón gamma<br>Metabolismo de ácidos grasos y hormonas                             |                                                                                                      | Señalización FOXM1<br>Señalización RB1<br>Replicación de ADN<br>Targets MYC<br>Ciclo celular         |

SN: Subtipo Neuroendocrino: CIMP, Fenotipo de metilación en islas CpG; CNV: Variación en el número de copias somática

# CONCLUSIONES

---

1. Hemos desarrollado un modelo de análisis de factores multi-ómico (MOFA) que integra datos de expresión de ARN y metilación de ADN procedentes de muestras tumorales parafinadas de una cohorte retrospectiva de 194 pacientes con TNEs de diferentes localizaciones anatómicas. Este modelo demuestra que los tumores neuroendocrinos procedentes de distintos órganos comparten rasgos moleculares y características biológicas comunes.
2. El modelo multi-ómico con 6 factores ha permitido desarrollar una clasificación de los TNEs en tres subtipos moleculares o subtipos neuroendocrinos (SN) que se asocian de manera significativa con el pronóstico de los pacientes, siendo el SN1 el que presenta un pronóstico más favorable y el SN3 el que presenta una evolución clínica más agresiva (SG a los 10 años del 86%, 78% y 65%, respectivamente,  $p\text{-valor}=0.0018$ ).
3. El subtipo neuroendocrino con mejor pronóstico (SN1) está enriquecido en diversas poblaciones inmunes, y presenta mayor expresión de genes relacionados con el metabolismo y la digestión de nutrientes. El subtipo neuroendocrino con peor pronóstico (SN3) muestra altos niveles de metilación y de CNVs, se asocia con características clínicas de mayor agresividad biológica (G2-3, estadio IV al diagnóstico, mayores niveles de 5-HIAA), y presenta mayor expresión de genes relacionados con la función neuroendocrina y proliferación. Los TNEs con un pronóstico intermedio (SN2) presentan un perfil molecular mixto.
4. La alta expresión de GIPC2 (complejo de señalización celular y supresor de tumores) y *PAK3* (proteínas quinasa activadas por p21) se asocia con una mayor supervivencia, de manera independiente de otros factores pronósticos bien establecidos como la edad, el sexo, el grado, la presencia de metástasis al diagnóstico y el origen del tumor primario.
5. Los genes *PTPRN* (tirosina fosfatasa implicada en la secreción de insulina), *BEX1* (regulador de la transcripción) y *NOVA1* (factor de *splicing* alternativo) son potencialmente relevantes en la biología de los TNEs de diferentes localizaciones.
6. Nuestro trabajo demuestra que los TNEs de distintos orígenes anatómicos comparten características clínicas y moleculares, e identifica rasgos biológicos comunes de potencial utilidad traslacional. Estos resultados, no obstante, deberán ser validados en

estudios funcionales y modelos preclínicos, así como en cohortes independientes de pacientes con TNEs.

## 11 BIBLIOGRAFÍA

---

1. Sanger, F. & Coulson, A. R. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology* **94**, 441–448 (1975).
2. Collins, F. S., Morgan, M. & Patrinos, A. The Human Genome Project: Lessons from Large-Scale Biology. *Science* **300**, 286–290 (2003).
3. Perbal, L. The case of the gene: Postgenomics between modernity and postmodernity. *EMBO Rep* **16**, 777–781 (2015).
4. Wetterstrand, KA. Data from the NHGRI Genome Sequencing Program (GSP).  
[www.genome.gov/sequencingcostsdata](http://www.genome.gov/sequencingcostsdata).
5. Goldfeder, R. L., Wall, D. P., Khoury, M. J., Ioannidis, J. P. A. & Ashley, E. A. Human Genome Sequencing at the Population Scale: A Primer on High-Throughput DNA Sequencing and Analysis. *American Journal of Epidemiology* **186**, 1000–1009 (2017).
6. Heather, J. M. & Chain, B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics* **107**, 1–8 (2016).
7. Li, H. *et al.* The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* **25**, 2078–2079 (2009).
8. Dawkins, R. L., Williamson, J. F., Lester, S. & Dawkins, S. T. Mutation versus polymorphism in evolution. *Genomics* **101**, 211–212 (2013).
9. Pantchev, I., Rakleova, G., Pavlov, A. & Atanassov, A. History of Plant Biotechnology Development. in *Sweeteners* (eds. Merillon, J.-M. & Ramawat, K. G.) 1–35 (Springer International Publishing, 2018). doi:10.1007/978-3-319-32004-5\_25-1.
10. Marks, J. The Origins of Anthropological Genetics. *Current Anthropology* **53**, S161–S172 (2012).
11. Guttmacher, A. E. & Collins, F. S. Genomic Medicine — A Primer. *N Engl J Med* **347**, 1512–1520 (2002).
12. *Molecular cell biology*. (Freeman, 2002).

13. Petrucelli, N., Daly, M. B. & Pal, T. BRCA1- and BRCA2-Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer. in *GeneReviews*® (eds. Adam, M. P. et al.) (University of Washington, Seattle, 1993).
14. Dowty, J. G. *et al.* Cancer Risks for *MLH 1* and *MSH 2* Mutation Carriers. *Human Mutation* **34**, 490–497 (2013).
15. Berger, M. F. & Mardis, E. R. The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine. *Nat Rev Clin Oncol* **15**, 353–365 (2018).
16. Tomas, A., Futter, C. E. & Eden, E. R. EGF receptor trafficking: consequences for signaling and cancer. *Trends in Cell Biology* **24**, 26–34 (2014).
17. Maemondo, M. *et al.* Gefitinib or Chemotherapy for Non–Small-Cell Lung Cancer with Mutated EGFR. *N Engl J Med* **362**, 2380–2388 (2010).
18. Liu, Q. *et al.* EGFR-TKIs resistance via EGFR-independent signaling pathways. *Mol Cancer* **17**, 53 (2018).
19. Vidal, J., Taus, A. & Montagut, C. Dynamic Treatment Stratification Using ctDNA. in *Tumor Liquid Biopsies* (eds. Schaffner, F., Merlin, J.-L. & Von Bubnoff, N.) vol. 215 263–273 (Springer International Publishing, 2020).
20. Olivier, M., Asmis, R., Hawkins, G. A., Howard, T. D. & Cox, L. A. The Need for Multi-Omics Biomarker Signatures in Precision Medicine. *IJMS* **20**, 4781 (2019).
21. Hung, J.-H. & Weng, Z. Analysis of Microarray and RNA-seq Expression Profiling Data. *Cold Spring Harb Protoc* **2017**, pdb.top093104 (2017).
22. Dillies, M.-A. *et al.* A comprehensive evaluation of normalization methods for Illumina high-throughput RNA sequencing data analysis. *Briefings in Bioinformatics* **14**, 671–683 (2013).
23. Sager, M. *et al.* Transcriptomics in cancer diagnostics: developments in technology, clinical research and commercialization. *Expert Review of Molecular Diagnostics* **15**, 1589–1603 (2015).

24. van 't Veer, L. J. *et al.* Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* **415**, 530–536 (2002).
25. Cardoso, F. *et al.* 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer. *N Engl J Med* **375**, 717–729 (2016).
26. Kaklamani, V. A genetic signature can predict prognosis and response to therapy in breast cancer: Onco type DX. *Expert Review of Molecular Diagnostics* **6**, 803–809 (2006).
27. Oliveira, L. J. C., Amorim, L. C., Megid, T. B. C., De Resende, C. A. A. & Mano, M. S. Gene expression signatures in early breast cancer: Better together with clinicopathological features. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **175**, 103708 (2022).
28. Adam, G. *et al.* Machine learning approaches to drug response prediction: challenges and recent progress. *npj Precis. Onc.* **4**, 19 (2020).
29. Libbrecht, M. W. & Noble, W. S. Machine learning applications in genetics and genomics. *Nature Reviews Genetics* **16**, 321–332 (2015).
30. Guinney, J. *et al.* The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med* **21**, 1350–1356 (2015).
31. Beuselinck, B. *et al.* Molecular Subtypes of Clear Cell Renal Cell Carcinoma Are Associated with Sunitinib Response in the Metastatic Setting. *Clin Cancer Res* **21**, 1329–1339 (2015).
32. Collisson, E. A., Bailey, P., Chang, D. K. & Biankin, A. V. Molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* **16**, 207–220 (2019).
33. Modlin, I. M., Drozdov, I. & Kidd, M. The Identification of Gut Neuroendocrine Tumor Disease by Multiple Synchronous Transcript Analysis in Blood. *PLoS ONE* **8**, e63364 (2013).
34. Modlin, I. M. *et al.* The NETest. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* **47**, 485–504 (2018).
35. Bodei, L. *et al.* PRRT neuroendocrine tumor response monitored using circulating transcript analysis: the NETest. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **47**, 895–906 (2020).

- 
36. Chen, B., Khodadoust, M. S., Liu, C. L., Newman, A. M. & Alizadeh, A. A. Profiling Tumor Infiltrating Immune Cells with CIBERSORT. in *Cancer Systems Biology* (ed. von Stechow, L.) vol. 1711 243–259 (Springer New York, 2018).
37. Becht, E. *et al.* Estimating the population abundance of tissue-infiltrating immune and stromal cell populations using gene expression. *Genome Biol* **17**, 218 (2016).
38. Barnes, T. A. & Amir, E. HYPE or HOPE: the prognostic value of infiltrating immune cells in cancer. *Br J Cancer* **117**, 451–460 (2017).
39. Belli, C. *et al.* Targeting the microenvironment in solid tumors. *Cancer Treatment Reviews* **65**, 22–32 (2018).
40. Knight, A., Karapetyan, L. & Kirkwood, J. M. Immunotherapy in Melanoma: Recent Advances and Future Directions. *Cancers* **15**, 1106 (2023).
41. Pelizzola, M. & Ecker, J. R. The DNA methylome. *FEBS Letters* **585**, 1994–2000 (2011).
42. Noble, A. J. *et al.* A validation of Illumina EPIC array system with bisulfite-based amplicon sequencing. *PeerJ* **9**, e10762 (2021).
43. Li, Y. & Tollefsbol, T. O. DNA Methylation Detection: Bisulfite Genomic Sequencing Analysis. in *Epigenetics Protocols* (ed. Tollefsbol, T. O.) vol. 791 11–21 (Humana Press, 2011).
44. Kulis, M. & Esteller, M. DNA Methylation and Cancer. in *Advances in Genetics* vol. 70 27–56 (Elsevier, 2010).
45. Sathianathan, N. J., Butaney, M., Weight, C. J., Kumar, R. & Konety, B. R. Urinary Biomarkers in the Evaluation of Primary Hematuria: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Bladder Cancer* **4**, 353–363 (2018).
46. Schricker, G. *et al.* Clinical performance of an analytically validated assay in comparison to microarray technology to assess PITX2 DNA-methylation in breast cancer. *Sci Rep* **8**, 16861 (2018).

47. White, B. E. *et al.* Incidence and survival of neuroendocrine neoplasia in England 1995–2018: A retrospective, population-based study. *The Lancet Regional Health - Europe* **23**, 100510 (2022).
48. Dasari, A. *et al.* Trends in the Incidence, Prevalence, and Survival Outcomes in Patients With Neuroendocrine Tumors in the United States. *JAMA Oncol* **3**, 1335 (2017).
49. White, B. E. *et al.* Sex Differences in Survival from Neuroendocrine Neoplasia in England 2012–2018: A Retrospective, Population-Based Study. *Cancers* **15**, 1863 (2023).
50. Klöppel, G. Neuroendocrine Neoplasms: Dichotomy, Origin and Classifications. *Visc Med* **33**, 324–330 (2017).
51. Andersson-Rolf, A., Clevers, H. & Dayton, T. L. Diffuse Hormonal Systems. in *Endotext* (eds. Feingold, K. R. *et al.*) (MDText.com, Inc., 2000).
52. Rogoza, O., Megnis, K., Kudrjavceva, M., Gerina-Berzina, A. & Rovite, V. Role of Somatostatin Signalling in Neuroendocrine Tumours. *IJMS* **23**, 1447 (2022).
53. Kidd, M., Modlin, I. M., Bodei, L. & Drozdov, I. Decoding the Molecular and Mutational Ambiguities of Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Neoplasm Pathobiology. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology* **1**, 131–153 (2015).
54. Dimitriadis, G. K., Weickert, M. O., Randeva, H. S., Kaltsas, G. & Grossman, A. Medical management of secretory syndromes related to gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Endocrine-Related Cancer* **23**, R423–R436 (2016).
55. Hofland, J., Kaltsas, G. & de Herder, W. W. Advances in the Diagnosis and Management of Well-Differentiated Neuroendocrine Neoplasms. *Endocrine Reviews* **41**, 371–403 (2020).
56. Rindi, G. *et al.* Overview of the 2022 WHO Classification of Neuroendocrine Neoplasms. *Endocr Pathol* **33**, 115–154 (2022).
57. Asa, S. L., Mete, O., Perry, A. & Osamura, R. Y. Overview of the 2022 WHO Classification of Pituitary Tumors. *Endocr Pathol* **33**, 6–26 (2022).

- 
58. Mete, O. *et al.* Overview of the 2022 WHO Classification of Paragangliomas and Pheochromocytomas. *Endocr Pathol* **33**, 90–114 (2022).
59. Baudin, E. *et al.* Lung and thymic carcinoids: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up☆. *Annals of Oncology* **32**, 439–451 (2021).
60. Pavel, M. *et al.* Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* **31**, 844–860 (2020).
61. Garcia-Carbonero, R. *et al.* Advances in the Treatment of Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Carcinomas: Are we Moving Forward? *Endocrine Reviews* **44**, 724–736 (2023).
62. Günther, T. *et al.* International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CV. Somatostatin Receptors: Structure, Function, Ligands, and New Nomenclature. *Pharmacol Rev* **70**, 763–835 (2018).
63. Hofland, J., Herrera-Martínez, A. D., Zandee, W. T. & De Herder, W. W. Management of carcinoid syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine-Related Cancer* **26**, R145–R156 (2019).
64. Modlin, I. M., Pavel, M., Kidd, M. & Gustafsson, B. I. Review article: somatostatin analogues in the treatment of gastroenteropancreatic neuroendocrine (carcinoid) tumours. *Aliment Pharmacol Ther* **31**, 169–188 (2010).
65. Caplin, M. E. *et al.* Lanreotide in Metastatic Enteropancreatic Neuroendocrine Tumors. *N Engl J Med* **371**, 224–233 (2014).
66. Rinke, A. *et al.* Placebo-Controlled, Double-Blind, Prospective, Randomized Study on the Effect of Octreotide LAR in the Control of Tumor Growth in Patients with Metastatic Neuroendocrine Midgut Tumors (PROMID): Results of Long-Term Survival. *Neuroendocrinology* **104**, 26–32 (2017).

- 
67. Strosberg, J. *et al.* Phase 3 Trial of  $^{177}\text{Lu}$ -Dotatate for Midgut Neuroendocrine Tumors. *N Engl J Med* **376**, 125–135 (2017).
68. Strosberg, J. R. *et al.*  $^{177}\text{Lu}$ -Dotatate plus long-acting octreotide versus high-dose long-acting octreotide in patients with midgut neuroendocrine tumours (NETTER-1): final overall survival and long-term safety results from an open-label, randomised, controlled, phase 3 trial. *The Lancet Oncology* **22**, 1752–1763 (2021).
69. Yao, J. C. *et al.* Everolimus for Advanced Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *N Engl J Med* **364**, 514–523 (2011).
70. Raymond, E. *et al.* Sunitinib Malate for the Treatment of Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *N Engl J Med* **364**, 501–513 (2011).
71. Xu, J. *et al.* Surufatinib in advanced extrapancreatic neuroendocrine tumours (SANET-ep): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *The Lancet Oncology* **21**, 1500–1512 (2020).
72. Chan, J. A. *et al.* Phase II trial of cabozantinib in patients with carcinoid and pancreatic neuroendocrine tumors (pNET). *JCO* **35**, 228–228 (2017).
73. Rizen, E. N. & Phan, A. T. Neuroendocrine Tumors: a Relevant Clinical Update. *Curr Oncol Rep* **24**, 703–714 (2022).
74. Kunz, P. L. *et al.* Randomized Study of Temozolomide or Temozolomide and Capecitabine in Patients With Advanced Pancreatic Neuroendocrine Tumors (ECOG-ACRIN E2211). *JCO* **41**, 1359–1369 (2023).
75. Garcia-Carbonero, R. *et al.* ENETS Consensus Guidelines for High-Grade Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors and Neuroendocrine Carcinomas. *Neuroendocrinology* **103**, 186–194 (2016).
76. Busygina, V. & Bale, A. E. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN1) as a Cancer Predisposition Syndrome: Clues into the Mechanisms of MEN1-related Carcinogenesis.

77. McDonnell, J. E., Gild, M. L., Clifton-Bligh, R. J. & Robinson, B. G. Multiple endocrine neoplasia: an update. *Intern Med J* **49**, 954–961 (2019).
78. Sims, K. B. Von Hippel-Lindau disease: gene to bedside: *Current Opinion in Neurology* **14**, 695–703 (2001).
79. Relles, D., Baek, J., Witkiewicz, A. & Yeo, C. J. Periapillary and Duodenal Neoplasms in Neurofibromatosis Type 1: Two Cases and an Updated 20-Year Review of the Literature Yielding 76 Cases. *J Gastrointest Surg* **14**, 1052–1061 (2010).
80. Dworakowska, D. & Grossman, A. B. Are neuroendocrine tumours a feature of tuberous sclerosis? A systematic review. *Endocrine-Related Cancer* **16**, 45–58 (2009).
81. Scarpa, A. The landscape of molecular alterations in pancreatic and small intestinal neuroendocrine tumours. *Annales d'Endocrinologie* **80**, 153–158 (2019).
82. Jiao, Y. *et al.* *DAXX / ATRX , MEN1 , and mTOR Pathway Genes Are Frequently Altered in Pancreatic Neuroendocrine Tumors. Science* **331**, 1199–1203 (2011).
83. Yachida, S. *et al.* Small Cell and Large Cell Neuroendocrine Carcinomas of the Pancreas are Genetically Similar and Distinct From Well-differentiated Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *American Journal of Surgical Pathology* **36**, 173–184 (2012).
84. Arnold, C. N., Sosnowski, A., Schmitt-Gräff, A., Arnold, R. & Blum, H. E. Analysis of molecular pathways in sporadic neuroendocrine tumors of the gastro-entero-pancreatic system. *Int. J. Cancer* **120**, 2157–2164 (2007).
85. House, M. G. *et al.* Aberrant Hypermethylation of Tumor Suppressor Genes in Pancreatic Endocrine Neoplasms. *Annals of Surgery* **238**, 423–432 (2003).
86. Choi, I.-S. *et al.* Hypomethylation of LINE-1 and Alu in well-differentiated neuroendocrine tumors (pancreatic endocrine tumors and carcinoid tumors). *Mod Pathol* **20**, 802–810 (2007).
87. Karpathakis, A. *et al.* Prognostic Impact of Novel Molecular Subtypes of Small Intestinal Neuroendocrine Tumor. *Clin Cancer Res* **22**, 250–258 (2016).

- 
88. Stålberg, P., Westin, G. & Thirlwell, C. Genetics and epigenetics in small intestinal neuroendocrine tumours. *J Intern Med* **280**, 584–594 (2016).
89. Wang, J. *et al.* Fibrinogen-like Protein 1 Is a Major Immune Inhibitory Ligand of LAG-3. *Cell* **176**, 334–347.e12 (2019).
90. Vijayvergia, N. *et al.* Molecular profiling of neuroendocrine malignancies to identify prognostic and therapeutic markers: a Fox Chase Cancer Center Pilot Study. *Br J Cancer* **115**, 564–570 (2016).
91. Fernandez-Cuesta, L. *et al.* Frequent mutations in chromatin-remodelling genes in pulmonary carcinoids. *Nat Commun* **5**, 3518 (2014).
92. Simbolo, M. *et al.* Lung neuroendocrine tumours: deep sequencing of the four World Health Organization histotypes reveals chromatin-remodelling genes as major players and a prognostic role for *TERT*, *RB1*, *MEN1* and *KMT2D*: Molecular landscape of lung neuroendocrine tumours. *J. Pathol.* **241**, 488–500 (2017).
93. Derks, J. L. *et al.* New Insights into the Molecular Characteristics of Pulmonary Carcinoids and Large Cell Neuroendocrine Carcinomas, and the Impact on Their Clinical Management. *Journal of Thoracic Oncology* **13**, 752–766 (2018).
94. Sadanandam, A. *et al.* A Cross-Species Analysis in Pancreatic Neuroendocrine Tumors Reveals Molecular Subtypes with Distinctive Clinical, Metastatic, Developmental, and Metabolic Characteristics. *Cancer Discov* **5**, 1296–1313 (2015).
95. Australian Pancreatic Cancer Genome Initiative *et al.* Whole-genome landscape of pancreatic neuroendocrine tumours. *Nature* **543**, 65–71 (2017).
96. Lakis, V. *et al.* DNA methylation patterns identify subgroups of pancreatic neuroendocrine tumors with clinical association. *Commun Biol* **4**, 155 (2021).
97. Yang, K. C. *et al.* Proteotranscriptomic classification and characterization of pancreatic neuroendocrine neoplasms. *Cell Reports* **37**, 109817 (2021).

- 
98. Andersson, E. *et al.* Expression profiling of small intestinal neuroendocrine tumors identifies subgroups with clinical relevance, prognostic markers and therapeutic targets. *Mod Pathol* **29**, 616–629 (2016).
99. Simbolo, M. *et al.* Mutational and copy number asset of primary sporadic neuroendocrine tumors of the small intestine. *Virchows Arch* **473**, 709–717 (2018).
100. Simbolo, M. *et al.* Gene Expression Profiling of Lung Atypical Carcinoids and Large Cell Neuroendocrine Carcinomas Identifies Three Transcriptomic Subtypes with Specific Genomic Alterations. *Journal of Thoracic Oncology* **14**, 1651–1661 (2019).
101. Alcala, N. *et al.* Integrative and comparative genomic analyses identify clinically relevant pulmonary carcinoid groups and unveil the supra-carcinoids. *Nat Commun* **10**, 3407 (2019).
102. Laddha, S. V. *et al.* Integrative Genomic Characterization Identifies Molecular Subtypes of Lung Carcinoids. *Cancer Research* **79**, 4339–4347 (2019).
103. Edge, S. B. & Compton, C. C. The American Joint Committee on Cancer: the 7th Edition of the AJCC Cancer Staging Manual and the Future of TNM. *Ann Surg Oncol* **17**, 1471–1474 (2010).
104. Gautier, L., Cope, L., Bolstad, B. M. & Irizarry, R. A. affy--analysis of Affymetrix GeneChip data at the probe level. *Bioinformatics* **20**, 307–315 (2004).
105. Ritchie, M. E. *et al.* limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research* **43**, e47–e47 (2015).
106. Lachmann, A., Giorgi, F. M., Lopez, G. & Califano, A. ARACNe-AP: gene network reverse engineering through adaptive partitioning inference of mutual information. *Bioinformatics* **32**, 2233–2235 (2016).
107. Alvarez, M. J. *et al.* Functional characterization of somatic mutations in cancer using network-based inference of protein activity. *Nat Genet* **48**, 838–847 (2016).

108. Yoshihara, K. *et al.* Inferring tumour purity and stromal and immune cell admixture from expression data. *Nat Commun* **4**, 2612 (2013).
109. Tian, Y. *et al.* ChAMP: updated methylation analysis pipeline for Illumina BeadChips. *Bioinformatics* **33**, 3982–3984 (2017).
110. Mermel, C. H. *et al.* GISTIC2.0 facilitates sensitive and confident localization of the targets of focal somatic copy-number alteration in human cancers. *Genome Biology* **12**, R41 (2011).
111. Gao, S. *et al.* Tracing the temporal-spatial transcriptome landscapes of the human fetal digestive tract using single-cell RNA-sequencing. *Nat Cell Biol* **20**, 721–734 (2018).
112. Travaglini, K. J. *et al.* A molecular cell atlas of the human lung from single-cell RNA sequencing. *Nature* **587**, 619–625 (2020).
113. Busslinger, G. A. *et al.* Human gastrointestinal epithelia of the esophagus, stomach, and duodenum resolved at single-cell resolution. *Cell Reports* **34**, 108819 (2021).
114. Muraro, M. J. *et al.* A Single-Cell Transcriptome Atlas of the Human Pancreas. *Cell Systems* **3**, 385–394.e3 (2016).
115. Argelaguet, R. *et al.* MOFA+: a statistical framework for comprehensive integration of multi-modal single-cell data. *Genome Biol* **21**, 111 (2020).
116. Gu, Z., Eils, R. & Schlesner, M. Complex heatmaps reveal patterns and correlations in multidimensional genomic data. *Bioinformatics* **32**, 2847–2849 (2016).
117. Chitta Ranjan. Package ‘nlcor’: Compute Nonlinear Correlations. (2020)  
doi:10.13140/RG.2.2.33716.68480.
118. Korotkevich, G. *et al.* *Fast gene set enrichment analysis*.  
<http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/060012> (2016) doi:10.1101/060012.
119. Chiu, D. S. & Talhouk, A. diceR: an R package for class discovery using an ensemble driven approach. *BMC Bioinformatics* **19**, 11 (2018).

120. Strehl, A. & Ghosh, J. Cluster ensembles --- a knowledge reuse framework for combining multiple partitions. *JMLR* **3**, 583–617 (2000).
121. Oronsky, B., Ma, P. C., Morgensztern, D. & Carter, C. A. Nothing But NET: A Review of Neuroendocrine Tumors and Carcinomas. *Neoplasia* **19**, 991–1002 (2017).
122. Argelaguet, R. *et al.* Multi-Omics Factor Analysis—a framework for unsupervised integration of multi-omics data sets. *Mol Syst Biol* **14**, (2018).
123. D’Adda, T., Keller, G., Bordi, C. & Höfler, H. Loss of heterozygosity in 11q13-14 regions in gastric neuroendocrine tumors not associated with multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome. *Lab Invest* **79**, 671–677 (1999).
124. Dong, Q. *et al.* Loss of Heterozygosity at 11q13: Analysis of Pituitary Tumors, Lung Carcinoids, Lipomas, and Other Uncommon Tumors in Subjects with Familial Multiple Endocrine Neoplasia Type. **82**, (1997).
125. Wild, A., Langer, P., Celik, I., Chaloupka, B. & Bartsch, D. Chromosome 22q in pancreatic endocrine tumors: identification of a homozygous deletion and potential prognostic associations of allelic deletions. *European Journal of Endocrinology* 507–513 (2002) doi:10.1530/eje.0.1470507.
126. Hashemi, J. *et al.* Copy number alterations in small intestinal neuroendocrine tumors determined by array comparative genomic hybridization. *BMC Cancer* **13**, 505 (2013).
127. Wang, J. *et al.* Meta-Analysis of the Prognostic and Predictive Role of the CpG Island Methylator Phenotype in Colorectal Cancer. *Disease Markers* **2022**, 1–11 (2022).
128. Li, G. *et al.* Development and validation of a CIMP-associated prognostic model for hepatocellular carcinoma. *EBioMedicine* **47**, 128–141 (2019).
129. Verdugo, A. D. *et al.* Global DNA methylation patterns through an array-based approach in small intestinal neuroendocrine tumors. *Endocrine-Related Cancer* **21**, L5–L7 (2014).

130. Tsai, H.-J. *et al.* The Prognostic and Predictive Role of Chromogranin A in Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors – A Single-Center Experience. *Front. Oncol.* **11**, 741096 (2021).
131. Malczewska, A. *et al.* An Assessment of Circulating Chromogranin A as a Biomarker of Bronchopulmonary Neuroendocrine Neoplasia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroendocrinology* **110**, 198–216 (2020).
132. Fotouhi, O. *et al.* Global hypomethylation and promoter methylation in small intestinal neuroendocrine tumors: An in vivo and in vitro study. *Epigenetics* **9**, 987–997 (2014).
133. Pelosi, G. *et al.* Dual Role of RASSF1 as a Tumor Suppressor and an Oncogene in Neuroendocrine Tumors of the Lung. *ANTICANCER RESEARCH* (2010).
134. Amato, E. *et al.* RASSF1 tumor suppressor gene in pancreatic ductal adenocarcinoma: correlation of expression, chromosomal status and epigenetic changes. *BMC Cancer* **16**, 11 (2016).
135. Dong, Y. *et al.* GIPC2 is an endocrine-specific tumor suppressor gene for both sporadic and hereditary tumors of RET- and SDHB-, but not VHL-associated clusters of pheochromocytoma/paraganglioma. *Cell Death Dis* **12**, 444 (2021).
136. Zhao, Z. *et al.* Bioinformatics analysis reveals the clinical significance of GIPC2/GPD1L for colorectal cancer using TCGA database. *Transl Cancer Res TCR* **11**, 761–771 (2022).
137. Kang, M. & Su, Z. Increased expression of GIPC2 in colon adenocarcinoma is associated with a favorable prognosis and high levels of immune cell infiltration. *Oncol Rep* **49**, 66 (2023).
138. Bokoch, G. M. Biology of the p21-Activated Kinases. *Annu. Rev. Biochem.* **72**, 743–781 (2003).
139. Manser, E. *et al.* Molecular Cloning of a New Member of the p21-Cdc42/Rac-activated Kinase (PAK) Family. *Journal of Biological Chemistry* **270**, 25070–25078 (1995).

140. Magne, N. *et al.* PAK3 is a key signature gene of the glioma proneural subtype and affects its proliferation, differentiation and growth. *Cell Oncol.* **44**, 1257–1271 (2021).
141. Liu, R. *et al.* p21-Activated kinase 3 is overexpressed in thymic neuroendocrine tumors (carcinoids) with ectopic ACTH syndrome and participates in cell migration. *Endocr* **38**, 38–47 (2010).
142. Lim, M. A., Riedel, H. & Liu, F. GRB10: MORE THAN A SIMPLE ADAPTOR PROTEIN.
143. Vandamme, T. *et al.* Long-term acquired everolimus resistance in pancreatic neuroendocrine tumours can be overcome with novel PI3K-AKT-mTOR inhibitors. *Br J Cancer* **114**, 650–658 (2016).
144. Beyens, M., Vandamme, T., Peeters, M., Van Camp, G. & Op De Beeck, K. Resistance to targeted treatment of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Endocrine-Related Cancer* **26**, R109–R130 (2019).
145. Chung Moh, M., Hoon Lee, L. & Shen, S. Cloning and characterization of hepaCAM, a novel Ig-like cell adhesion molecule suppressed in human hepatocellular carcinoma. *Journal of Hepatology* **42**, 833–841 (2005).
146. Yamato, E., Tashiro, F. & Miyazaki, J. Microarray Analysis of Novel Candidate Genes Responsible for Glucose-Stimulated Insulin Secretion in Mouse Pancreatic  $\beta$  Cell Line MIN6. *PLoS ONE* **8**, e61211 (2013).
147. Calabrese, A. *et al.* Cx36 and the Function of Endocrine Pancreas. *Cell Communication & Adhesion* **8**, 387–391 (2001).
148. Potolicchio, I. *et al.* Connexin-dependent signaling in neuro-hormonal systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1818**, 1919–1936 (2012).
149. Torii, S. *et al.* The pseudophosphatase phogrin enables glucose-stimulated insulin signaling in pancreatic  $\beta$  cells. *Journal of Biological Chemistry* **293**, 5920–5933 (2018).
150. Torii, S. Expression and Function of IA-2 Family Proteins, Unique Neuroendocrine-specific Protein-tyrosine Phosphatases. *Endocr J* **56**, 639–648 (2009).

151. Sokanovic, S. J. *et al.* Common and female-specific roles of protein tyrosine phosphatase receptors N and N2 in mice reproduction. *Sci Rep* **13**, 355 (2023).
152. Yin, J. & Guo, Y. HOXD13 promotes the malignant progression of colon cancer by upregulating PTPRN2. *Cancer Med* **10**, 5524–5533 (2021).
153. Sengelaub, C. A., Navrazhina, K., Ross, J. B., Halberg, N. & Tavazoie, S. F. PTPRN 2 and PLC  $\beta$ 1 promote metastatic breast cancer cell migration through PI (4,5)P<sub>2</sub>-dependent actin remodeling. *The EMBO Journal* **35**, 62–76 (2016).
154. Lan, M. S. & Breslin, M. B. Structure, expression, and biological function of INSM1 transcription factor in neuroendocrine differentiation. *FASEB j.* **23**, 2024–2033 (2009).
155. Gierl, M. S., Karoulis, N., Wende, H., Strehle, M. & Birchmeier, C. The Zinc-finger factor Insm1 (IA-1) is essential for the development of pancreatic  $\beta$  cells and intestinal endocrine cells. *Genes Dev.* **20**, 2465–2478 (2006).
156. Jia, S. *et al.* Insm1 cooperates with Neurod1 and Foxa2 to maintain mature pancreatic  $\beta$ -cell function. *The EMBO Journal* **34**, 1417–1433 (2015).
157. Jacobson, D. A. & Philipson, L. H. Action potentials and insulin secretion: new insights into the role of Kv channels. *Diabetes Obes Metab* **9**, 89–98 (2007).
158. Hua, H., Kong, Q., Yin, J., Zhang, J. & Jiang, Y. Insulin-like growth factor receptor signaling in tumorigenesis and drug resistance: a challenge for cancer therapy. *J Hematol Oncol* **13**, 64 (2020).
159. Zhang, W. *et al.* Small cell lung cancer tumors and preclinical models display heterogeneity of neuroendocrine phenotypes. *Transl. Lung Cancer Res.* **7**, 32–49 (2018).
160. Hofsl, E., Wheeler, T. E., Langaas, M., Lægreid, A. & Thommesen, L. Identification of novel neuroendocrine-specific tumour genes. *Br J Cancer* **99**, 1330–1339 (2008).
161. Kidd, M., Modlin, I. M. & Drozdov, I. Gene network-based analysis identifies two potential subtypes of small intestinal neuroendocrine tumors. *BMC Genomics* **15**, 595 (2014).

162. Doi, T., Ogawa, H., Tanaka, Y., Hayashi, Y. & Maniwa, Y. Bex1 significantly contributes to the proliferation and invasiveness of malignant tumor cells. *Oncol Lett* **20**, 1–1 (2020).
163. Pedraza-Arevalo, S. *et al.* Spliceosomic dysregulation unveils NOVA1 as a candidate actionable therapeutic target in pancreatic neuroendocrine tumors. *Translational Research* **251**, 63–73 (2023).
164. Xie, J., Zhang, B., Lan, M. S. & Notkins, A. L. Genomic Structure and Promoter Sequence of the Insulin-Dependent Diabetes Mellitus Autoantigen, IA-2 (PTPRN). *Genomics* **54**, 338–343 (1998).
165. Solimena, M. *et al.* ICA 512, an autoantigen of type I diabetes, is an intrinsic membrane protein of neurosecretory granules. *The EMBO Journal* **15**, 2102–2114 (1996).
166. Torii, S. *et al.* Gene Silencing of Phogrin Unveils Its Essential Role in Glucose-Responsive Pancreatic  $\beta$ -Cell Growth. *Diabetes* **58**, 682–692 (2009).
167. Leja, J. *et al.* Novel markers for enterochromaffin cells and gastrointestinal neuroendocrine carcinomas. *Modern Pathology* **22**, 261–272 (2009).
168. Song, X. *et al.* Overexpression of PTPRN Promotes Metastasis of Lung Adenocarcinoma and Suppresses NK Cell Cytotoxicity. *Front. Cell Dev. Biol.* **9**, 622018 (2021).
169. Wang, D. *et al.* Expression and Tumor-Promoting Effect of Tyrosine Phosphatase Receptor Type N (PTPRN) in Human Glioma. *Front. Oncol.* **11**, 676287 (2021).
170. Steinbrenner, H., Nguyen, T.-B.-T., Wohlrab, U., Scherbaum, W. A. & Seissler, J. Effect of Proinflammatory Cytokines on Gene Expression of the Diabetes-Associated Autoantigen IA-2 in INS-1 Cells. *Endocrinology* **143**, 3839–3845 (2002).
171. Falschlehner, C., Schaefer, U. & Walczak, H. Following TRAIL's path in the immune system. *Immunology* **127**, 145–154 (2009).
172. Engels, I. H., Totzke, G., Fischer, U., Schulze-Osthoff, K. & Jänicke, R. U. Caspase-10 Sensitizes Breast Carcinoma Cells to TRAIL-Induced but Not Tumor Necrosis Factor-Induced

- Apoptosis in a Caspase- 3-Dependent Manner. *Molecular and Cellular Biology* **25**, 2808–2818 (2005).
173. Sag, D., Ayyildiz, Z. O., Gunalp, S. & Wingender, G. The Role of TRAIL/DRs in the Modulation of Immune Cells and Responses. *Cancers* **11**, 1469 (2019).
  174. Mazanec, M. B., Nedrud, J. G., Kaetzel, C. S. & Lamm, M. E. A three-tiered view of the role of IgA in mucosal defense. *Immunology Today* **14**, 430–435 (1993).
  175. Wei, M. *et al.* From the Immune Profile to the Immunoscore: Signatures for Improving Postsurgical Prognostic Prediction of Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Front. Immunol.* **12**, 654660 (2021).
  176. Chu, C.-A. *et al.* The Role of Phosphatidylinositol 3-Kinase Catalytic Subunit Type 3 in the Pathogenesis of Human Cancer. *IJMS* **22**, 10964 (2021).
  177. Hoxhaj, G. & Manning, B. D. The PI3K–AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism. *Nat Rev Cancer* **20**, 74–88 (2020).
  178. Cuenda, A. Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPK) in Cancer. in *Reference Module in Biomedical Sciences* B9780128012383649802 (Elsevier, 2018). doi:10.1016/B978-0-12-801238-3.64980-2.
  179. Tenenbaum, M. *et al.* The Map3k12 (Dlk)/JNK3 signaling pathway is required for pancreatic beta-cell proliferation during postnatal development. *Cell. Mol. Life Sci.* **78**, 287–298 (2021).
  180. Sheehan, D., Meade, G., Foley, V. M. & Dowd, C. A. Structure, function and evolution of glutathione transferases : implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. (2001).
  181. Hanson, R. W. & Owen, O. E. Gluconeogenesis. in *Encyclopedia of Biological Chemistry* 381–386 (Elsevier, 2013). doi:10.1016/B978-0-12-378630-2.00040-2.
  182. Liu, G.-M. & Zhang, Y.-M. Targeting FBPAse is an emerging novel approach for cancer therapy. *Cancer Cell Int* **18**, 36 (2018).

183. Li, H. *et al.* Fructose-1,6-bisphosphatase-1 decrease may promote carcinogenesis and chemoresistance in cervical cancer. *Molecular Medicine Reports* **16**, 8563–8571 (2017).
184. Yang, J. *et al.* Loss of FBP1 facilitates aggressive features of hepatocellular carcinoma cells through the Warburg effect. *CARCIN bgw109* (2016) doi:10.1093/carcin/bgw109.
185. McKillop, I. H., Girardi, C. A. & Thompson, K. J. Role of fatty acid binding proteins (FABPs) in cancer development and progression. *Cellular Signalling* **62**, 109336 (2019).
186. Kim, S. *et al.* Deamination Effects in Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Tissue Samples in the Era of Precision Medicine. *The Journal of Molecular Diagnostics* **19**, 137–146 (2017).
187. Evers, D. L., He, J., Kim, Y. H., Mason, J. T. & O’Leary, T. J. Paraffin Embedding Contributes to RNA Aggregation, Reduced RNA Yield, and Low RNA Quality. *The Journal of Molecular Diagnostics* **13**, 687–694 (2011).
188. Fasold, M. & Binder, H. Variation of RNA Quality and Quantity Are Major Sources of Batch Effects in Microarray Expression Data. *Microarrays* **3**, 322–339 (2014).
189. Viljoen, K. S. & Blackburn, J. M. Quality assessment and data handling methods for Affymetrix Gene 1.0 ST arrays with variable RNA integrity. *BMC Genomics* **14**, 14 (2013).

## 12 ANEXOS

---

**Tabla S1.** Proporción de varianza de cada ómica explicada por el modelo de *MOFA*.

| TUMOR PRIMARIO | EXPRESIÓN | METILACIÓN |
|----------------|-----------|------------|
| Colorrectal    | 24.7      | 39.1       |
| Estómago       | 27.2      | 29.9       |
| Pulmón         | 21.7      | 44.3       |
| Páncreas       | 20.7      | 27.9       |
| I.Delgado      | 27.4      | 41.1       |

**Tabla S2.** Proporción de varianza de cada ómica explicada por cada factor del modelo de *MOFA*.

| FACTORES           | EXPRESIÓN | METILACIÓN |
|--------------------|-----------|------------|
| <b>Colorrectal</b> |           |            |
| Factor1            | 0.9       | 26.7       |
| Factor2            | 2.4       | 4.9        |
| Factor3            | 9.4       | 0.01       |
| Factor4            | 0.2       | 0.7        |
| Factor5            | 8.2       | 0.01       |
| Factor6            | 1.7       | 1.2        |
| Factor7            | 1.4       | 1.8        |
| Factor8            | 0.4       | 3.8        |
| <b>Estómago</b>    |           |            |
| Factor1            | 0.2       | 9.6        |
| Factor2            | 5.4       | 13.5       |
| Factor3            | 8.2       | 0.01       |
| Factor4            | 0.2       | 1.5        |
| Factor5            | 9.3       | 0.01       |
| Factor6            | 0.5       | 0.6        |
| Factor7            | 3.3       | 3.7        |
| Factor8            | 0.1       | 1.0        |
| <b>Pulmón</b>      |           |            |
| Factor1            | 0.4       | 11.6       |
| Factor2            | 1.7       | 6.4        |
| Factor3            | 13.3      | <0.1       |
| Factor4            | 3.1       | 24.0       |
| Factor5            | 1.7       | 0.01       |
| Factor6            | 0.6       | 0.3        |
| Factor7            | 0.8       | 1.3        |
| Factor8            | 0.1       | 0.7        |
| <b>Páncreas</b>    |           |            |
| Factor1            | 0.2       | 11.18      |
| Factor2            | 1.4       | 5.19       |
| Factor3            | 7.8       | 0.01       |
| Factor4            | 0.3       | 3.6        |
| Factor5            | 3.0       | <0.001     |
| Factor6            | 5.8       | 2.5        |
| Factor7            | 1.7       | 2.5        |

Continúa en la siguiente página

|                  |     |      |
|------------------|-----|------|
| Factor8          | 0.5 | 3.0  |
| <b>I.Delgado</b> |     |      |
| Factor1          | 0.3 | 13.9 |
| Factor2          | 4.3 | 14.7 |
| Factor3          | 8.5 | 0.01 |
| Factor4          | 0.1 | 1.1  |
| Factor5          | 3.7 | 0.01 |
| Factor6          | 8.0 | 4.2  |
| Factor7          | 2.3 | 3.5  |
| Factor8          | 0.3 | 3.7  |

**Tabla S3.** *P-valores* ajustados por *FDR* resultantes de la prueba *Kruskal Wallis* midiendo diferencias en los valores de los factores entre las distintas categorías de las características clínico-patológicas de naturaleza categórica.

| VARIABLE   | FACTOR1  | FACTOR2 | FACTOR3 | FACTOR4  | FACTOR5 | FACTOR6  | FACTOR7 | FACTOR8 |
|------------|----------|---------|---------|----------|---------|----------|---------|---------|
| Sexo       | 0.793    | 0.911   | 0.951   | 5.14e-04 | 0.221   | 0.423    | 0.158   | 0.799   |
| Grado      | 2.45e-03 | 0.162   | 0.951   | 0.022    | 0.101   | 2.16e-03 | 0.168   | 0.799   |
| Metástasis | 9.16e-03 | 0.196   | 0.516   | 0.487    | 0.063   | 0.069    | 0.432   | 0.767   |
| 5-HIAA     | 0.010    | 0.537   | 0.951   | 0.034    | 0.845   | 0.448    | 0.440   | 0.462   |
| CIMP       | 2.51e-13 | 0.481   | 0.849   | 5.68e-05 | 0.063   | 0.174    | 0.567   | 0.462   |

5HIAA: Ácido 5-hidroxindolacético; CIMP: Fenotipo de metilación en islas CpG

**Tabla S4.** Resultado del modelo de *Cox* construido a partir de los factores del modelo de *MOFA*.

| FACTOR  | HR   | IC BAJO | IC ALTO | P-VALOR  |
|---------|------|---------|---------|----------|
| Factor1 | 1.17 | 1.05    | 1.29    | 3.48e-03 |
| Factor2 | 1.13 | 0.98    | 1.30    | 0.086    |
| Factor3 | 1.01 | 0.81    | 1.76    | 0.984    |
| Factor4 | 1.08 | 0.96    | 1.21    | 0.218    |
| Factor5 | 0.98 | 0.75    | 1.28    | 0.826    |
| Factor6 | 1.13 | 0.86    | 1.49    | 0.422    |
| Factor7 | 1.12 | 0.90    | 1.40    | 0.249    |
| Factor8 | 0.91 | 0.75    | 1.11    | 0.247    |

HR: *Hazard ratio*; IC: Intervalo de confianza

**Tabla S5.** Coeficiente de regresión y *p-valores* resultantes del modelo de regresión lineal entre los factores y las poblaciones del microambiente tumoral.

| CÉLULA COEF(P-VALOR)   | FACTOR1      | FACTOR2        | FACTOR3        | FACTOR4      | FACTOR5         | FACTOR6         | FACTOR7         | FACTOR8      |
|------------------------|--------------|----------------|----------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|
| Células T              | -0.91(0.623) | -1.92(0.198)   | 0.66(0.447)    | 2.56(0.092)  | 2.38(8.00e-05)  | 1.89(0.036)     | -1.28(0.137)    | -0.95(0.273) |
| Células TCD8           | 1.02(0.268)  | 0.63(0.394)    | 0.64(0.137)    | -1.16(0.123) | -0.52(0.076)    | -0.20(0.660)    | -0.10(0.817)    | -0.55(0.201) |
| Linfocitos citotóxicos | 2.25(0.216)  | 1.08(0.460)    | 3.77(1.37e-05) | -2.25(0.132) | -1.36(0.019)    | -0.62(0.480)    | -0.36(0.667)    | -0.56(0.511) |
| NK                     | -0.04(0.983) | 4.09(3.27e-03) | -1.20(0.131)   | 0.03(0.983)  | 2.70(1.36e-06)  | -0.29(0.724)    | 0.27(0.733)     | -0.77(0.336) |
| Linaje B               | -0.80(0.583) | -1.34(0.254)   | 0.31(0.645)    | -1.20(0.312) | -0.49(0.292)    | 1.00(0.157)     | -1.24(0.065)    | -0.50(0.459) |
| Linaje Monocítico      | -2.19(0.211) | -2.38(0.091)   | -0.80(0.326)   | -1.06(0.459) | -0.27(0.627)    | 0.20(0.815)     | 0.42(0.604)     | 1.03(0.206)  |
| Células dendríticas    | -0.13(0.950) | 0.52(0.750)    | 1.85(0.053)    | 0.17(0.918)  | 0.71(0.273)     | -2.13(0.032)    | 0.57(0.547)     | -0.19(0.845) |
| Neutrófilos            | -2.08(0.316) | -3.57(0.033)   | 3.56(2.81e-04) | 2.62(0.124)  | 1.10(0.125)     | -5.77(3.35e-08) | 0.10(0.914)     | 0.65(0.503)  |
| Células endoteliales   | -0.59(0.779) | 0.94(0.581)    | -1.41(0.155)   | 0.60(0.728)  | 2.16(1.55e-03)  | 0.69(0.504)     | -2.67(0.007)    | -0.74(0.453) |
| Fibroblastos           | 0.12(0.862)  | -0.44(0.441)   | -0.45(0.178)   | -0.28(0.632) | -0.85(2.06e-04) | 0.55(0.109)     | -2.16(3.60e-10) | -0.74(0.453) |
| R2                     | 0.06         | 0.16           | 0.28           | 0.07         | 0.37            | 0.25            | 0.31            | 0.05         |

coef: coeficiente; NK: *Natural killer*; R2: coeficiente de determinación.

**Tabla S6.** Vías de señalización enriquecidas en los factores del modelo de MOFA.

| VÍA                              | FACTOR  | P-VALOR  | Q-VALOR  | ES    | NES   | TAMAÑO |
|----------------------------------|---------|----------|----------|-------|-------|--------|
| Hallmark Fosforilación Oxidativa | Factor1 | 5.58e-10 | 2.79e-08 | 0.43  | 2.22  | 183    |
| Dianas de MYC                    | Factor1 | 3.11e-07 | 7.77e-06 | 0.36  | 1.91  | 193    |
| Kegg Ribosoma                    | Factor1 | 3.56e-21 | 5.69e-19 | 0.69  | 3.20  | 86     |
| Kegg Proteosoma                  | Factor1 | 1.86e-04 | 9.94e-03 | 0.50  | 2.05  | 43     |
| Reactome Replicación de ADN      | Factor1 | 6.86e-06 | 1.59e-05 | 0.38  | 1.88  | 127    |
| Biocarta IL2RB                   | Factor2 | 4.51e-06 | 6.62e-04 | -0.60 | -2.21 | 37     |
| Gobp Metabolismo Hormonal        | Factor2 | 2.71e-06 | 1.65e-04 | -0.34 | -1.78 | 234    |
| Hallmark Respuesta Inflamatoria  | Factor2 | 2.05e-17 | 1.02e-15 | -0.51 | -2.60 | 199    |
| Hallmark Interferón Gamma        | Factor2 | 1.22e-14 | 3.06e-13 | -0.49 | -2.46 | 195    |
| Hallmark TNF $\alpha$ NFKB       | Factor2 | 1.03e-11 | 1.29e-10 | -0.45 | -2.27 | 197    |
| Hallmark Fosforilación Oxidativa | Factor2 | 9.05e-04 | 2.16e-03 | -0.31 | -1.57 | 183    |
| Dianas de MYC                    | Factor2 | 1.13e-03 | 2.46e-03 | -0.30 | -1.53 | 193    |
| Hallmark Metabolismo de Ácidos   | Factor2 | 2.05e-02 | 2.93e-02 | -0.30 | -1.40 | 112    |
| Kegg Ribosoma                    | Factor2 | 1.57e-08 | 1.92e-06 | -0.52 | -2.30 | 86     |
| Kegg Receptor Células B          | Factor2 | 2.10e-06 | 7.17e-05 | -0.49 | -2.14 | 75     |
| Kegg Apoptosis                   | Factor2 | 3.72e-05 | 6.23e-04 | -0.43 | -1.90 | 87     |
| Kegg Receptor Células T          | Factor2 | 3.89e-05 | 6.23e-04 | -0.41 | -1.86 | 107    |
| Kegg Adhesión Focal              | Factor2 | 3.47e-03 | 1.73e-02 | -0.29 | -1.43 | 195    |
| Pid FOXM1                        | Factor2 | 3.15e-03 | 2.43e-02 | -0.47 | -1.78 | 39     |
| Reactome Oxidaciones Biológicas  | Factor2 | 1.99e-12 | 1.79e-11 | -0.46 | -2.31 | 203    |
| Reactome Sistema Neuronal        | Factor2 | 1.17e-07 | 5.42e-07 | 0.35  | 1.76  | 408    |
| Reactome Señalización por        | Factor2 | 1.20e-07 | 5.42e-07 | -0.30 | -1.67 | 455    |
| Hallmark Fosforilación Oxidativa | Factor3 | 5.29e-06 | 2.64e-04 | 0.38  | 1.86  | 183    |
| Dianas de MYC                    | Factor3 | 2.56e-04 | 6.40e-03 | -0.35 | -1.66 | 193    |
| Hallmark Interferón Gamma        | Factor3 | 2.43e-03 | 3.04e-02 | 0.31  | 1.51  | 195    |
| Gobp Metabolismo Hormonal        | Factor4 | 3.23e-03 | 4.93e-02 | 0.29  | 1.44  | 234    |
| Hallmark Fosforilación Oxidativa | Factor4 | 4.04e-09 | 2.02e-07 | 0.44  | 2.12  | 183    |
| Hallmark Interferón Gamma        | Factor4 | 1.12e-02 | 4.67e-02 | 0.29  | 1.42  | 195    |
| Kegg Ribosoma                    | Factor4 | 6.71e-08 | 5.37e-06 | 0.51  | 2.17  | 86     |
| Kegg Receptor Células T          | Factor4 | 1.16e-03 | 2.31e-02 | -0.38 | -1.68 | 107    |
| Reactome Oxidaciones Biológicas  | Factor4 | 1.63e-03 | 9.77e-03 | 0.31  | 1.53  | 203    |
| Gobp Desarrollo Endocrino        | Factor5 | 1.18e-03 | 3.60e-02 | -0.31 | -1.54 | 135    |
| Gobp WNT Canonica                | Factor5 | 3.22e-03 | 4.91e-02 | -0.24 | -1.34 | 293    |
| Hallmark TNF $\alpha$ NFKB       | Factor5 | 1.35e-05 | 6.74e-04 | -0.31 | -1.67 | 197    |
| Dianas de MYC                    | Factor5 | 7.84e-04 | 1.31e-02 | -0.28 | -1.47 | 193    |
| Kegg Adhesión Focal              | Factor5 | 9.07e-06 | 7.26e-04 | -0.32 | -1.69 | 195    |
| Kegg Ribosoma                    | Factor5 | 7.95e-06 | 7.26e-04 | -0.42 | -2.01 | 86     |
| Kegg Receptor Células T          | Factor5 | 3.33e-03 | 4.44e-02 | -0.30 | -1.50 | 107    |
| Reactome Oxidaciones Biológicas  | Factor5 | 2.28e-03 | 8.21e-03 | 0.34  | 1.46  | 203    |

Continúa en la siguiente página

|                                  |         |          |          |       |       |     |
|----------------------------------|---------|----------|----------|-------|-------|-----|
| Gobp Metabolismo Hormonal        | Factor6 | 1.45e-18 | 8.84e-17 | -0.57 | -2.51 | 234 |
| Gobp WNT Canonica                | Factor6 | 1.11e-02 | 4.22e-02 | 0.25  | 1.28  | 293 |
| Hallmark Metabolismo de Ácidos   | Factor6 | 2.82e-21 | 4.70e-20 | -0.72 | -2.93 | 112 |
| Hallmark Fosforilación Oxidativa | Factor6 | 5.11e-16 | 5.11e-15 | -0.59 | -2.52 | 183 |
| Kegg Ribosoma                    | Factor6 | 4.07e-07 | 2.71e-06 | -0.56 | -2.18 | 86  |
| Kegg Señalización MAPK           | Factor6 | 8.70e-03 | 2.44e-02 | 0.26  | 1.31  | 264 |
| Kegg Adhesión Focal              | Factor6 | 1.00e-02 | 2.72e-02 | 0.28  | 1.35  | 195 |
| Reactome Oxidaciones Biológicas  | Factor6 | 4.85e-38 | 8.73e-37 | -0.72 | -3.11 | 203 |
| Gobp WNT Canonica                | Factor7 | 6.26e-08 | 7.63e-07 | -0.39 | -1.88 | 293 |
| Gobp Metabolismo Hormonal        | Factor7 | 3.51e-05 | 2.67e-04 | 0.32  | 1.67  | 234 |
| Hallmark TNF $\alpha$ NFKB       | Factor7 | 5.58e-20 | 1.39e-18 | -0.57 | -2.64 | 197 |
| Hallmark Respuesta Inflamatoria  | Factor7 | 2.04e-10 | 2.04e-09 | -0.46 | -2.14 | 199 |
| Hallmark Interferón Gamma        | Factor7 | 1.42e-08 | 1.01e-07 | -0.44 | -2.04 | 195 |
| Hallmark Fosforilación Oxidativa | Factor7 | 2.18e-08 | 1.36e-07 | 0.41  | 2.04  | 183 |
| Hallmark Metabolismo de Ácidos   | Factor7 | 1.84e-02 | 3.54e-02 | 0.30  | 1.38  | 112 |
| Kegg Adhesión Focal              | Factor7 | 6.83e-11 | 1.09e-08 | -0.47 | -2.16 | 195 |
| Kegg Receptor Células B          | Factor7 | 1.41e-05 | 3.02e-04 | -0.50 | -2.01 | 75  |
| Kegg Señalización MAPK           | Factor7 | 5.69e-05 | 6.51e-04 | -0.35 | -1.67 | 264 |
| Kegg Receptor Células T          | Factor7 | 1.77e-02 | 4.89e-02 | -0.34 | -1.44 | 107 |
| Reactome Oxidaciones Biológicas  | Factor7 | 1.95e-10 | 3.51e-09 | 0.43  | 2.16  | 203 |
| Reactome Señalización por        | Factor7 | 6.55e-09 | 5.89e-08 | -0.36 | -1.80 | 455 |
| Dianas de MYC                    | Factor8 | 8.41e-06 | 2.10e-04 | 0.35  | 1.82  | 193 |
| Hallmark TNF $\alpha$ NFKB       | Factor8 | 4.68e-06 | 2.10e-04 | 0.36  | 1.83  | 197 |
| Kegg Ribosoma                    | Factor8 | 7.01e-09 | 1.12e-06 | 0.52  | 2.31  | 86  |
| Reactome Sistema Neuronal        | Factor8 | 4.97e-03 | 2.98e-02 | -0.26 | -1.34 | 408 |

ES: enrichment score; NES:normalized enrichment score

**Tabla S7.** Resultados de la prueba de *Wilcoxon* comparando el valor de los factores entre las diferentes categorías de las variables clínico-patológicas en aquellas asociaciones significativas por la prueba de *Kruskal Wallis*.

| VARIABLE   | FACTOR  | GRUPO1 | GRUPO2 | MEDIANA1 | MEDIANA2 | EFEECTO | P. VALOR | P. VALOR AJUSTADO |
|------------|---------|--------|--------|----------|----------|---------|----------|-------------------|
| Sexo       | Factor4 | Mujer  | Hombre | -0.209   | 0.275    | -0.27   | 1.72e-4  | -                 |
| Grado      | Factor1 | G1     | G2     | -0.838   | 0.385    | -0.23   | 1.28e-03 | 3.90-03           |
| Grado      | Factor1 | G1     | G3     | -0.838   | 2.758    | -0.25   | 0.011    | 0.017             |
| Grado      | Factor1 | G2     | G3     | 0.385    | 2.758    | -0.21   | 0.047    | 0.047             |
| Grado      | Factor4 | G1     | G2     | -0.127   | 0.135    | -0.15   | 0.052    | 0.052             |
| Grado      | Factor4 | G1     | G3     | -0.127   | -2.383   | -0.21   | 0.033    | 0.051             |
| Grado      | Factor4 | G2     | G3     | 0.135    | -2.383   | -0.25   | 0.016    | 0.049             |
| Grado      | Factor6 | G1     | G2     | 0.454    | 0.038    | -0.27   | 2.07e-4  | 6.20e-4           |
| Grado      | Factor6 | G1     | G3     | 0.454    | 1.296    | -0.12   | 0.238    | 0.238             |
| Grado      | Factor6 | G2     | G3     | 0.038    | 1.296    | -0.19   | 0.072    | 0.110             |
| Metástasis | Factor1 | Sí     | No     | 0.702    | -0.635   | 0.20    | 6.13e-03 | -                 |
| 5HIAA      | Factor1 | Alto   | Bajo   | 0.766    | -0.921   | 0.30    | 8.56e-3  | -                 |
| 5HIAA      | Factor4 | Alto   | Bajo   | -0.108   | -0.675   | 0.26    | 0.023    | -                 |
| CIMP       | Factor1 | Bajo   | Alto   | -1.223   | 1.337    | -0.54   | 4.20e-14 | -                 |
| CIMP       | Factor4 | Bajo   | Alto   | 0.275    | -0.545   | 0.32    | 9.50e-06 | -                 |

5HIAA: Ácido 5-hidroxindolacético; CIMP: Fenotipo de metilación en islas CpG

**Tabla S8.** Resultados de la prueba de *Wilcoxon* comparando el valor de los factores significativos en la prueba de *Kruskal Wallis* entre las diferentes categorías de las variables clínico-patológicas en los distintos tipos de tumor primario.

| TUMOR PRIMARIO | FACTOR  | VARIABLE | GRUPO1 | GRUPO2 | MEDIANA1 | MEDIANA2 | EFEECTO | P-VALOR  | P. VALOR AJUSTADO |
|----------------|---------|----------|--------|--------|----------|----------|---------|----------|-------------------|
| Colorrectal    | Factor4 | Sexo     | Hombre | Mujer  | 0.14     | 1.14     | 0.08    | 0.671    | 0.681             |
| Estómago       | Factor4 | Sexo     | Hombre | Mujer  | 2.14     | 3.14     | 0.14    | 0.455    | 0.681             |
| I.Delgado      | Factor4 | Sexo     | Hombre | Mujer  | 8.14     | 9.14     | 0.06    | 0.677    | 0.681             |
| Páncreas       | Factor4 | Sexo     | Hombre | Mujer  | 6.14     | 7.14     | 0.18    | 0.299    | 0.681             |
| Pulmón         | Factor4 | Sexo     | Hombre | Mujer  | 4.14     | 5.14     | 0.60    | 2.40e-05 | 1.20e-04          |
| Colorrectal    | Factor1 | Grado    | G1     | G2     | -0.31    | -1.14    | 0.02    | 0.91     | 0.912             |
| Estómago       | Factor1 | Grado    | G1     | G2     | -0.40    | -0.20    | 0.12    | 0.51     | 0.681             |
| I.Delgado      | Factor1 | Grado    | G1     | G2     | -1.18    | 1.58     | 0.42    | 0.002    | 0.022             |
| Páncreas       | Factor1 | Grado    | G1     | G2     | 0.65     | 0.60     | 0.14    | 0.443    | 0.681             |
| Pulmón         | Factor1 | Grado    | G1     | G2     | -1.33    | 0.04     | 0.29    | 0.019    | 0.112             |
| Colorrectal    | Factor1 | Grado    | G1     | G3     | -0.31    | 2.76     | 0.20    | 0.555    | 0.681             |
| Páncreas       | Factor1 | Grado    | G1     | G3     | 0.65     | 6.35     | 0.40    | 0.117    | 0.322             |
| Pulmón         | Factor1 | Grado    | G1     | G3     | -1.33    | 1.91     | 0.29    | 0.300    | 0.661             |
| Colorrectal    | Factor1 | Grado    | G2     | G3     | -1.14    | 2.76     | 0.30    | 0.461    | 0.681             |
| Páncreas       | Factor1 | Grado    | G2     | G3     | 0.60     | 6.35     | 0.38    | 0.105    | 0.323             |
| Pulmón         | Factor1 | Grado    | G2     | G3     | 0.04     | 1.91     | 0.12    | 0.720    | 0.793             |
| Colorrectal    | Factor4 | Grado    | G1     | G2     | 0.26     | 0.28     | 0.26    | 0.165    | 0.363             |
| Estómago       | Factor4 | Grado    | G1     | G2     | 0.04     | 1.91     | 0.08    | 0.659    | 0.731             |
| I.Delgado      | Factor4 | Grado    | G1     | G2     | 0.26     | 0.28     | 0.15    | 0.260    | 0.422             |
| Páncreas       | Factor4 | Grado    | G1     | G2     | 0.02     | 0.22     | 0.29    | 0.094    | 0.363             |
| Pulmón         | Factor4 | Grado    | G1     | G2     | 0.10     | -0.12    | 0.33    | 0.032    | 0.444             |
| Colorrectal    | Factor4 | Grado    | G1     | G3     | -0.64    | 0.31     | 0.38    | 0.111    | 0.363             |
| Páncreas       | Factor4 | Grado    | G1     | G3     | -2.42    | 1.98     | 0.00    | 1.000    | 1.000             |
| Pulmón         | Factor4 | Grado    | G1     | G3     | 0.26     | -2.38    | 0.21    | 0.500    | 0.612             |
| Colorrectal    | Factor4 | Grado    | G2     | G3     | -0.64    | -0.98    | 0.44    | 0.153    | 0.363             |
| Páncreas       | Factor4 | Grado    | G2     | G3     | -2.42    | -3.85    | 0.34    | 0.210    | 0.396             |
| Pulmón         | Factor4 | Grado    | G2     | G3     | 0.28     | -2.38    | 0.25    | 0.320    | 0.443             |

Continúa en la siguiente página

|             |         |            |      |      |       |       |      |          |          |
|-------------|---------|------------|------|------|-------|-------|------|----------|----------|
| Colorrectal | Factor6 | Grado      | G1   | G2   | 0.31  | -0.98 | 0.60 | 7.34e-04 | 4.00e-03 |
| Estómago    | Factor6 | Grado      | G1   | G2   | 1.98  | -3.85 | 0.17 | 0.345    | 0.554    |
| I.Delgado   | Factor6 | Grado      | G1   | G2   | 0.68  | -0.83 | 0.48 | 3.20e-04 | 3.60e-03 |
| Páncreas    | Factor6 | Grado      | G1   | G2   | 0.13  | -0.08 | 0.12 | 0.506    | 0.622    |
| Pulmón      | Factor6 | Grado      | G1   | G2   | 0.98  | 0.29  | 0.18 | 0.389    | 0.553    |
| Colorrectal | Factor6 | Grado      | G1   | G3   | 0.60  | 0.11  | 0.39 | 0.111    | 0.414    |
| Páncreas    | Factor6 | Grado      | G1   | G3   | 0.00  | 0.09  | 0.30 | 0.352    | 0.554    |
| Pulmón      | Factor6 | Grado      | G1   | G3   | 0.68  | 1.30  | 0.08 | 0.960    | 0.964    |
| Colorrectal | Factor6 | Grado      | G2   | G3   | 0.60  | 1.31  | 0.44 | 0.154    | 0.422    |
| Páncreas    | Factor6 | Grado      | G2   | G3   | 0.00  | 0.02  | 0.25 | 0.421    | 0.583    |
| Pulmón      | Factor6 | Grado      | G2   | G3   | 0.04  | 1.91  | 0.04 | 0.96     | 0.924    |
| Colorrectal | Factor1 | Metástasis | Sí   | No   | 0.26  | 0.28  | 0.30 | 0.107    | 0.182    |
| Estómago    | Factor1 | Metástasis | Sí   | No   | 0.02  | 0.22  | 0.27 | 0.144    | 0.182    |
| I.Delgado   | Factor1 | Metástasis | Sí   | No   | 0.10  | -0.12 | 0.30 | 0.092    | 0.182    |
| Páncreas    | Factor1 | Metástasis | Sí   | No   | -0.64 | 0.31  | 0.21 | 0.134    | 0.182    |
| Pulmón      | Factor1 | Metástasis | Sí   | No   | -2.42 | 1.98  | 0.05 | 0.745    | 0.745    |
| Colorrectal | Factor1 | 5HIAA      | Alto | Bajo | 0.26  | -2.38 | 0.39 | 0.444    | 0.444    |
| Estómago    | Factor1 | 5HIAA      | Alto | Bajo | -0.64 | -0.98 | 0.77 | 0.333    | 0.422    |
| I.Delgado   | Factor1 | 5HIAA      | Alto | Bajo | -2.42 | -3.85 | 0.38 | 0.053    | 0.273    |
| Páncreas    | Factor1 | 5HIAA      | Alto | Bajo | 0.28  | -2.38 | 0.47 | 0.286    | 0.422    |
| Pulmón      | Factor1 | 5HIAA      | Alto | Bajo | 0.31  | -0.98 | 0.28 | 0.394    | 0.321    |
| Colorrectal | Factor4 | 5HIAA      | Alto | Bajo | 1.98  | -3.85 | 0.39 | 0.444    | 0.561    |
| Estómago    | Factor4 | 5HIAA      | Alto | Bajo | 0.68  | -0.83 | 0.77 | 0.333    | 0.561    |
| I.Delgado   | Factor4 | 5HIAA      | Alto | Bajo | 0.13  | -0.08 | 0.43 | 0.027    | 0.067    |
| Páncreas    | Factor4 | 5HIAA      | Alto | Bajo | 0.98  | 0.29  | 0.23 | 0.642    | 0.643    |
| Pulmón      | Factor4 | 5HIAA      | Alto | Bajo | 0.60  | 0.11  | 0.52 | 2.16e-03 | 8.64e-03 |
| Colorrectal | Factor1 | CIMP       | Alto | Bajo | 0.00  | 0.09  | 0.75 | 3.42e-07 | 8.50e-07 |
| Estómago    | Factor1 | CIMP       | Alto | Bajo | 0.68  | 1.30  | 0.58 | 1.19e-04 | 1.50e-04 |
| I.Delgado   | Factor1 | CIMP       | Alto | Bajo | 0.60  | 1.31  | 0.75 | 9.10e-10 | 4.60e-09 |
| Páncreas    | Factor1 | CIMP       | Alto | Bajo | 0.00  | 0.02  | 0.64 | 4.70e-05 | 7.80e-05 |
| Pulmón      | Factor1 | CIMP       | Alto | Bajo | -0.42 | -2.47 | 0.31 | 0.035    | 0.035    |

Continúa en la siguiente página

|             |         |      |      |      |       |      |      |          |          |
|-------------|---------|------|------|------|-------|------|------|----------|----------|
| Colorrectal | Factor4 | CIMP | Alto | Bajo | -0.62 | 0.31 | 0.52 | 3.02e-03 | 7.5e-03  |
| Estómago    | Factor4 | CIMP | Alto | Bajo | -0.61 | 0.23 | 0.28 | 0.122    | 0.203    |
| I.Delgado   | Factor4 | CIMP | Alto | Bajo | -0.26 | 0.35 | 0.58 | 9.53e-06 | 4.80e-05 |
| Páncreas    | Factor4 | CIMP | Alto | Bajo | -0.67 | 0.18 | 0.09 | 0.619    | 0.623    |
| Pulmón      | Factor4 | CIMP | Alto | Bajo | -1.43 | 1.75 | 0.15 | 0.347    | 0.434    |

5HIAA: Ácido 5-hidroxindolacético; FMIC: Fenotipo de metilación en islas CpG

**Tabla S9.** Las 20 sondas de metilación con mayor importancia relativa en el Factor 1.

| ID         | IMPORTANCIA | CHR   | INICIO    | FIN       | LOCALIZACIÓN   | GEN             |
|------------|-------------|-------|-----------|-----------|----------------|-----------------|
| cg01263386 | 1.00        | chr19 | 47430328  | 47430330  | Body           | SLC8A2          |
| cg16761581 | 0.96        | chr14 | 24334600  | 24334602  | 1stExon        | ADCY4           |
| cg09934601 | 0.94        | chr7  | 140230107 | 140230109 | NA             | NA              |
| cg26416466 | 0.93        | chr15 | 66254369  | 66254371  | TSS1500        | MEGF11          |
| cg09199129 | 0.88        | chr2  | 30230664  | 30230666  | TSS1500        | LBH             |
| cg23307203 | 0.88        | chr19 | 18388498  | 18388500  | Body           | GDF15           |
| cg04675539 | 0.87        | chr4  | 1763669   | 1763671   | NA             | NA              |
| cg18642271 | 0.87        | chr19 | 45677055  | 45677057  | Body           | GIPR            |
| cg18284089 | 0.86        | chr4  | 152680231 | 152680233 | TSS200         | TMEM154         |
| cg26163537 | 0.85        | chr7  | 50793894  | 50793896  | TSS1500        | GRB10           |
| cg26647617 | 0.85        | chr2  | 73292214  | 73292216  | Body           | EGR4            |
| cg21517389 | 0.84        | chr7  | 50793904  | 50793906  | TSS1500        | GRB10           |
| cg12868424 | 0.84        | chr15 | 41513835  | 41513837  | 1stExon        | LTK             |
| cg16463745 | 0.84        | chr5  | 163503170 | 163503172 | TSS200         | MAT2B           |
| cg05602356 | 0.84        | chr5  | 59039028  | 59039030  | Body           | PDE4D           |
| cg27569446 | 0.83        | chr3  | 50340999  | 50341001  | TSS200         | RASSF1          |
| cg04540383 | 0.83        | chr3  | 50341179  | 50341181  | TSS1500, 3'UTR | RASSF1_ZMYND10  |
| cg11392885 | 0.83        | chr4  | 152679970 | 152679972 | 1stExon        | TMEM154         |
| cg22218735 | 0.82        | chr21 | 44874699  | 44874701  | TSS1500        | PTTG1IP         |
| cg06603943 | 0.82        | chr9  | 127123011 | 127123013 | TSS1500, Body  | ANGPTL2_RALGPS1 |

**Tabla S10.** Coeficiente de correlación de *Pearson* y *p-valor* entre los resultados de *ESTIMATE* y los factores del modelo de *MOFA*.

| FACTOR  | PUREZA TUMORAL |                | SCORE INMUNE |                | SCORE ESTROMAL |                | SCORE <i>ESTIMATE</i> |                |
|---------|----------------|----------------|--------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|----------------|
|         | coeficiente    | <i>p-valor</i> | coeficiente  | <i>p-valor</i> | coeficiente    | <i>p-valor</i> | coeficiente           | <i>p-valor</i> |
| Factor1 | 0.13           | 0.128          | -0.11        | 0.135          | -0.12          | 0.135          | -0.13                 | 0.135          |
| Factor2 | 0.29           | 1.18e-04       | -0.35        | 4.96e-06       | -0.11          | 0.188          | -0.29                 | 1.18e-04       |
| Factor3 | -0.10          | 0.365          | 0.17         | 0.120          | -0.01          | 0.928          | 0.10                  | 0.365          |
| Factor4 | -0.06          | 0.544          | 0.06         | 0.544          | 4.61e-03       | 0.949          | 0.06                  | 0.544          |
| Factor5 | 0.15           | 0.089          | -0.15        | 0.089          | -0.09          | 0.416          | -0.15                 | 0.089          |
| Factor6 | -0.32          | 1.49e-05       | 0.33         | 1.49e-05       | 0.19           | 0.012          | 0.32                  | 1.49e-05       |
| Factor7 | 0.39           | 8.50e-08       | -0.24        | 1.08e-03       | -0.49          | < 1e-15        | -0.39                 | 8.50e-08       |
| Factor8 | 0.05           | 0.616          | -0.11        | 0.615          | 0.05           | 0.616          | -0.05                 | 0.615          |

**Tabla S11.** Enriquecimiento de genes biomarcadores de células normales en el Factor 2.

| TIPO CELULAR                               | P-VALOR  | Q-VALOR  | ES    | NES   | TAMAÑO |
|--------------------------------------------|----------|----------|-------|-------|--------|
| Células Gástricas Del Istmo                | 1.00e-50 | 1.11e-48 | -0.57 | -3.20 | 439    |
| Células I.Delgado Enteroendocrinas         | 6.15e-47 | 2.28e-45 | 0.65  | 3.18  | 278    |
| Enterocitos Maduros Duodeno                | 6.78e-32 | 1.88e-30 | -0.59 | -3.07 | 244    |
| Células Gástricas Pit Maduras              | 1.37e-28 | 2.53e-27 | -0.59 | -3.01 | 214    |
| Células Pulmón Neuroendocrinas             | 2.88e-26 | 4.56e-25 | 0.69  | 3.10  | 122    |
| Células Gástricas X                        | 8.19e-26 | 1.14e-24 | 0.6   | 2.85  | 183    |
| Células Páncreas Delta                     | 5.95e-25 | 6.60e-24 | 0.56  | 2.72  | 239    |
| Células Madre En Proceso De Diferenciación | 2.76e-20 | 2.55e-19 | -0.49 | -2.57 | 281    |
| Células I.Delgado Paneth                   | 1.66e-19 | 1.42e-18 | -0.46 | -2.44 | 303    |
| Célula Madre Duodeno                       | 1.43e-17 | 1.06e-16 | -0.45 | -2.41 | 291    |
| Células Pulmón Copa                        | 2.05e-17 | 1.42e-16 | -0.57 | -2.76 | 144    |
| Células De Tránsito Duodenales             | 7.89e-17 | 5.15e-16 | -0.53 | -2.63 | 174    |
| Células Gástricas Con Metaloteína          | 9.07e-17 | 5.59e-16 | -0.63 | -2.87 | 96     |
| Células Gástricas Enterocromafines         | 5.37e-16 | 3.14e-15 | 0.67  | 2.80  | 81     |
| Células I.Delgado Mesenquimales            | 7.20e-16 | 4.00e-15 | -0.43 | -2.29 | 323    |
| Células Epiteliales Alveolares I           | 5.14e-13 | 2.38e-12 | -0.38 | -2.08 | 379    |
| Células Pulmón Club                        | 3.32e-12 | 1.47e-11 | -0.55 | -2.53 | 107    |
| Células Gástricas Lyz Positivas            | 1.30e-11 | 5.57e-11 | -0.54 | -2.50 | 106    |
| Células Gástricas G                        | 1.43e-11 | 5.88e-11 | 0.58  | 2.48  | 94     |
| Células Epiteliales Alveolares II          | 1.14e-09 | 3.83e-09 | -0.48 | -2.26 | 130    |
| Células Páncreas Endoteliales              | 5.44e-09 | 1.68e-08 | -0.34 | -1.85 | 347    |
| Enterocitos Intestinales                   | 2.78e-08 | 8.11e-08 | -0.6  | -2.46 | 56     |
| Células Pulmón Mucosas                     | 5.22e-08 | 1.45e-07 | -0.45 | -2.11 | 123    |
| Células Copa Duodeno                       | 1.03e-07 | 2.79e-07 | -0.84 | -2.48 | 15     |
| Células EC Duodeno                         | 1.96e-07 | 4.95e-07 | 0.70  | 2.35  | 31     |
| Células Paneth Duodeno                     | 4.36e-07 | 1.03e-06 | -0.83 | -2.43 | 15     |
| Células Pulmón Basales                     | 2.53e-06 | 5.29e-06 | -0.37 | -1.86 | 184    |
| Células I.Delgado Mki67 Alto               | 2.59e-06 | 5.32e-06 | -0.45 | -2.05 | 95     |
| Células Gástricas D                        | 2.73e-06 | 5.42e-06 | 0.69  | 2.22  | 26     |
| Células Páncreas Polipeptídicas            | 7.95e-06 | 1.50e-05 | 0.41  | 1.88  | 142    |
| Células Gástricas De Cuello                | 7.85e-05 | 1.28e-04 | -0.56 | -2.09 | 35     |
| Células Gástricas Parietales               | 6.05e-04 | 8.83e-04 | -0.29 | -1.53 | 230    |
| Células K Duodeno                          | 9.77e-04 | 1.34e-03 | 0.64  | 1.91  | 18     |
| Células Páncreas Epsilon                   | 1.49e-03 | 2.02e-03 | 0.48  | 1.77  | 43     |
| Células I Duodeno                          | 1.98e-03 | 2.64e-03 | 0.65  | 1.85  | 16     |
| Células I.Delgado De Copa                  | 4.60e-03 | 6.00e-03 | -0.44 | -1.7  | 40     |

**Tabla S12.** Correlación de los genes diferencialmente expresados entre los subtipos carcinoide A y carcinoide B propuestos por Alcalá *et al* y el Factor 4 del modelo de MOFA en las muestras de origen pulmonar.

| GEN     | COEFICIENTE DE CORRELACIÓN | P-VALOR  |
|---------|----------------------------|----------|
| ANGPTL3 | 0.58                       | 3.61e-04 |
| UGT2B15 | 0.35                       | 0.061    |
| UGT2B4  | 0.31                       | 0.094    |
| UGT2A3  | 0.28                       | 0.122    |
| UGT2B11 | 0.26                       | 0.148    |
| UGT2B17 | 0.11                       | 0.688    |
| HNF1A   | 0.06                       | 0.902    |
| UGT2B7  | 0.02                       | 0.954    |
| ROBO1   | 0.02                       | 0.954    |
| ERBB4   | 0.01                       | 0.954    |
| DLL3    | -0.16                      | 0.481    |
| SLIT1   | -0.37                      | 0.057    |
| ASCL1   | -0.52                      | 1.75e-03 |
| OTP     | -0.59                      | 3.61e-04 |

**Tabla S13.** Resultado de los modelos de Cox univariantes.

| VARIABLE                      | HR   | IC BAJO | IC ALTO | P-VALOR  |
|-------------------------------|------|---------|---------|----------|
| <b>Subtipo Neuroendocrino</b> |      |         |         | 4.00e-03 |
| SN1                           | Ref  | Ref     | Ref     | Ref      |
| SN2                           | 1.77 | 0.72    | 1.77    | 0.210    |
| SN3                           | 3.50 | 1.53    | 8.04    | 3.06e-03 |
| <b>Edad</b>                   | 1.06 | 1.03    | 1.08    | 9.06e-05 |
| <b>Sexo</b>                   |      |         |         | -        |
| Mujer                         | Ref  | Ref     | Ref     | Ref      |
| Hombre                        | 2.06 | 1.19    | 3.57    | 9.37e-03 |
| <b>Grado</b>                  |      |         |         | 3.01e-04 |
| G1                            | Ref  | Ref     | Ref     | Ref      |
| G2                            | 2.76 | 1.55    | 4.88    | 5.18e-04 |
| G3                            | 8.54 | 1.96    | 37.14   | 4.25e-03 |
| <b>Estadio IV al dx</b>       |      |         |         | -        |
| No                            | Ref  | Ref     | Ref     | Ref      |
| Sí                            | 4.60 | 2.63    | 8.05    | 9.10e-08 |
| <b>Tumor Primario</b>         |      |         |         | 0.09     |
| Estómago                      | Ref  | Ref     | Ref     | Ref      |
| Colorrectal                   | 5.13 | 1.46    | 17.98   | 0.011    |
| Pulmón                        | 4.12 | 1.19    | 14.31   | 0.027    |
| Páncreas                      | 2.68 | 0.71    | 10.13   | 0.146    |
| I.Delgado Delgado             | 2.92 | 0.84    | 10.21   | 0.090    |

Dx: diagnóstico; HR: Hazard Ratio; IC: Intervalo de confianza; Ref: Referencia

**Tabla S14.** Resultado de la prueba de *Kruskal Wallis* comparando los diferentes *scores* del programa *ESTIMATE* entre los subtipos neuroendocrinos indicando el *q-valor*.

| VARIABLE       | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|----------------|----------|----------|
| Score Inmune   | 5.73e-05 | 1.72e-04 |
| Pureza Tumoral | 5.92e-04 | 8.8e-04  |
| Score Estromal | 0.201    | 0.201    |

**Tabla S15.** Resultado de la prueba de *Wilcoxon* comparando los diferentes *scores* del programa *ESTIMATE* entre los subtipos neuroendocrinos.

| VARIABLE       | GRUPO1 | GRUPO2 | MEDIANA1 | MEDIANA2 | EFFECTO | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|----------------|--------|--------|----------|----------|---------|----------|----------|
| Pureza Tumoral | SN1    | SN2    | 0.68     | 0.70     | 0.30    | 6.98e-04 | 1.28e-03 |
| Pureza Tumoral | SN1    | SN3    | 0.68     | 0.70     | 0.30    | 8.55e-04 | 1.28e-03 |
| Pureza Tumoral | SN2    | SN3    | 0.70     | 0.70     | 0.04    | 0.621    | 0.621    |
| Score Inmune   | SN1    | SN2    | 1056.68  | 909.70   | 0.34    | 9.29e-5  | 1.93e-04 |
| Score Inmune   | SN1    | SN3    | 1056.68  | 897.09   | 0.34    | 1.29e-4  | 1.93e-04 |
| Score Inmune   | SN2    | SN3    | 909.70   | 897.09   | 0.01    | 0.882    | 0.882    |

**Tabla S16.** Resultado de la prueba de *Kruskal Wallis* comparando la infiltración de diferentes poblaciones celulares entre los subtipos neuroendocrinos indicando el valor ajustado por *FDR*.

| VARIABLE                      | P-VALOR  | Q-VALOR |
|-------------------------------|----------|---------|
| Células T                     | 5.87e-03 | 0.019   |
| Células T CD8                 | 0.38     | 0.427   |
| Linfocitos citotóxicos        | 0.03     | 0.040   |
| Células NK                    | 0.01     | 0.027   |
| Linaje B                      | 0.01     | 0.027   |
| Linaje monocítico             | 1.99e-03 | 0.0196  |
| Células dendríticas mieloides | 5.89e-03 | 0.019   |
| Neutrófilos                   | 0.02     | 0.027   |
| Células endoteliales          | 0.36     | 0.427   |
| Fibroblastos                  | 0.56     | 0.563   |

NK: *Natural Killer*

**Tabla S17.** Resultado de la prueba de *Wilcoxon* comparando la infiltración de diferentes poblaciones celulares entre los subtipos neuroendocrinos indicando el *q-valor*.

| VARIABLE               | GRUPO1 | GRUPO2 | MEDIANA1 | MEDIANA2 | EFECTO | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|------------------------|--------|--------|----------|----------|--------|----------|----------|
| Células T              | SN1    | SN2    | 6.19     | 6.13     | 0.24   | 7.00e-03 | 0.007    |
| Células T              | SN1    | SN3    | 6.19     | 6.12     | 0.26   | 4.00e-03 | 0.004    |
| Células T              | SN2    | SN3    | 6.13     | 6.12     | 0.04   | 0.608    | 0.608    |
| Células T CD8          | SN1    | SN2    | 6.88     | 6.88     | 0.01   | 0.956    | 0.956    |
| Células T CD8          | SN1    | SN3    | 6.88     | 6.96     | 0.11   | 0.236    | 0.354    |
| Células T CD8          | SN2    | SN3    | 6.88     | 6.96     | 0.10   | 0.235    | 0.354    |
| Linfocitos citotóxicos | SN1    | SN2    | 4.98     | 4.93     | 0.22   | 0.015    | 0.045    |
| Linfocitos citotóxicos | SN1    | SN3    | 4.98     | 4.97     | 0.05   | 0.591    | 0.591    |
| Linfocitos citotóxicos | SN2    | SN3    | 4.93     | 4.97     | 0.18   | 0.038    | 0.057    |
| Células NK             | SN1    | SN2    | 6.02     | 6.07     | 0.26   | 3.00e-03 | 9.00e-03 |
| Células NK             | SN1    | SN3    | 6.02     | 6.03     | 0.12   | 0.165    | 0.165    |
| Células NK             | SN2    | SN3    | 6.07     | 6.03     | 0.15   | 0.090    | 0.135    |
| linaje B               | SN1    | SN2    | 5.83     | 5.79     | 0.18   | 0.045    | 0.067    |
| linaje B               | SN1    | SN3    | 5.83     | 5.77     | 0.26   | 4.00e-03 | 0.012    |
| linaje B               | SN2    | SN3    | 5.79     | 5.77     | 0.06   | 0.497    | 0.497    |
| Linaje monocítico      | SN1    | SN2    | 5.68     | 5.64     | 0.20   | 0.024    | 0.036    |
| Linaje monocítico      | SN1    | SN3    | 5.68     | 5.60     | 0.31   | 5.96e-04 | 1.79e-03 |
| Linaje monocítico      | SN2    | SN3    | 5.64     | 5.60     | 0.12   | 0.147    | 0.147    |
| Células dendríticas    | SN1    | SN2    | 6.41     | 6.37     | 0.22   | 0.014    | 0.014    |
| Células dendríticas    | SN1    | SN3    | 6.41     | 6.36     | 0.27   | 2.00e-03 | 6.00e-03 |
| Células dendríticas    | SN2    | SN3    | 6.37     | 6.36     | 0.05   | 0.580    | 0.580    |
| Neutrófilos            | SN1    | SN2    | 6.44     | 6.38     | 0.23   | 0.008    | 0.024    |
| Neutrófilos            | SN1    | SN3    | 6.44     | 6.41     | 0.21   | 0.019    | 0.028    |
| Neutrófilos            | SN2    | SN3    | 6.38     | 6.41     | 0.02   | 0.787    | 0.787    |

**Tabla S18.** Resultado de la prueba de *Wilcoxon* comparando la infiltración de diferentes poblaciones celulares entre los subtipos neuroendocrinos en cada tumor primario por separado indicando el *q-valor*.

| TUMOR PRIMARIO | VARIABLE      | GRUPO1 | GRUPO2 | MEDIANA1 | MEDIANA2 | EFEECTO | P-VALOR | Q-VALOR |
|----------------|---------------|--------|--------|----------|----------|---------|---------|---------|
| Colorrectal    | Células T     | SN1    | SN2    | 6.24     | 6.18     | 0.12    | 0.623   | 0.853   |
| Estómago       | Células T     | SN1    | SN2    | 6.06     | 6.05     | 0.49    | 0.022   | 0.294   |
| I.Delgado      | Células T     | SN1    | SN2    | 6.16     | 6.12     | 0.30    | 0.083   | 0.323   |
| Páncreas       | Células T     | SN1    | SN2    | 6.16     | 6.14     | 0.05    | 0.863   | 0.968   |
| Pulmón         | Células T     | SN1    | SN2    | 6.29     | 6.13     | 0.01    | 0.964   | 0.968   |
| Colorrectal    | Células T     | SN1    | SN3    | 6.29     | 6.15     | 0.47    | 0.065   | 0.304   |
| Estómago       | Células T     | SN1    | SN3    | 6.16     | 6.11     | 0.43    | 0.046   | 0.294   |
| I.Delgado      | Células T     | SN1    | SN3    | 6.05     | 6.04     | 0.14    | 0.427   | 0.853   |
| Páncreas       | Células T     | SN1    | SN3    | 6.18     | 6.11     | 0.11    | 0.638   | 0.853   |
| Pulmón         | Células T     | SN1    | SN3    | 6.13     | 6.12     | 0.13    | 0.519   | 0.853   |
| Colorrectal    | Células T     | SN2    | SN3    | 6.13     | 6.16     | 0.30    | 0.198   | 0.562   |
| Estómago       | Células T     | SN2    | SN3    | 6.24     | 6.11     | 0.11    | 0.676   | 0.853   |
| I.Delgado      | Células T     | SN2    | SN3    | 6.11     | 6.14     | 0.17    | 0.304   | 0.745   |
| Páncreas       | Células T     | SN2    | SN3    | 6.15     | 6.13     | 0.03    | 0.893   | 0.968   |
| Pulmón         | Células T     | SN2    | SN3    | 6.06     | 6.04     | 0.08    | 0.682   | 0.853   |
| Colorrectal    | Células T CD8 | SN1    | SN2    | 6.98     | 6.87     | 0.12    | 0.603   | 0.75    |
| Estómago       | Células T CD8 | SN1    | SN2    | 6.89     | 6.77     | 0.34    | 0.114   | 0.65    |
| I.Delgado      | Células T CD8 | SN1    | SN2    | 6.95     | 7.01     | 0.15    | 0.425   | 0.70    |
| Páncreas       | Células T CD8 | SN1    | SN2    | 6.82     | 6.96     | 0.09    | 0.716   | 0.76    |
| Pulmón         | Células T CD8 | SN1    | SN2    | 6.97     | 6.88     | 0.28    | 0.157   | 0.65    |
| Colorrectal    | Células T CD8 | SN1    | SN3    | 6.97     | 6.85     | 0.16    | 0.548   | 0.75    |
| Estómago       | Células T CD8 | SN1    | SN3    | 6.82     | 6.94     | 0.22    | 0.319   | 0.65    |
| I.Delgado      | Células T CD8 | SN1    | SN3    | 6.77     | 6.96     | 0.34    | 0.053   | 0.65    |
| Páncreas       | Células T CD8 | SN1    | SN3    | 6.87     | 7.01     | 0.06    | 0.804   | 0.80    |
| Pulmón         | Células T CD8 | SN1    | SN3    | 6.87     | 7.01     | 0.18    | 0.375   | 0.69    |
| Colorrectal    | Células T CD8 | SN2    | SN3    | 6.87     | 6.95     | 0.24    | 0.306   | 0.65    |

Continúa en la siguiente página

|             |                        |     |     |      |      |      |          |       |
|-------------|------------------------|-----|-----|------|------|------|----------|-------|
| Estómago    | Células T CD8          | SN2 | SN3 | 6.98 | 7.01 | 0.11 | 0.677    | 0.76  |
| I.Delgado   | Células T CD8          | SN2 | SN3 | 6.94 | 6.96 | 0.19 | 0.258    | 0.65  |
| Páncreas    | Células T CD8          | SN2 | SN3 | 6.85 | 6.88 | 0.25 | 0.227    | 0.65  |
| Pulmón      | Células T CD8          | SN2 | SN3 | 6.89 | 6.96 | 0.11 | 0.565    | 0.75  |
| Colorrectal | Linfocitos citotóxicos | SN1 | SN2 | 4.91 | 4.93 | 0.01 | 1.000    | 1.000 |
| Estómago    | Linfocitos citotóxicos | SN1 | SN2 | 4.96 | 4.88 | 0.62 | 2.00e-03 | 0.033 |
| I.Delgado   | Linfocitos citotóxicos | SN1 | SN2 | 4.97 | 4.96 | 0.21 | 0.243    | 0.402 |
| Páncreas    | Linfocitos citotóxicos | SN1 | SN2 | 4.93 | 5.01 | 0.43 | 0.054    | 0.134 |
| Pulmón      | Linfocitos citotóxicos | SN1 | SN2 | 5.04 | 4.98 | 0.39 | 0.042    | 0.135 |
| Colorrectal | Linfocitos citotóxicos | SN1 | SN3 | 5.04 | 4.92 | 0.07 | 0.826    | 0.877 |
| Estómago    | Linfocitos citotóxicos | SN1 | SN3 | 4.93 | 4.97 | 0.17 | 0.448    | 0.556 |
| I.Delgado   | Linfocitos citotóxicos | SN1 | SN3 | 4.88 | 4.92 | 0.39 | 0.022    | 0.111 |
| Páncreas    | Linfocitos citotóxicos | SN1 | SN3 | 4.93 | 4.99 | 0.18 | 0.401    | 0.552 |
| Pulmón      | Linfocitos citotóxicos | SN1 | SN3 | 5.05 | 4.96 | 0.46 | 0.023    | 0.112 |
| Colorrectal | Linfocitos citotóxicos | SN2 | SN3 | 5.05 | 4.97 | 0.19 | 0.413    | 0.555 |
| Estómago    | Linfocitos citotóxicos | SN2 | SN3 | 4.91 | 4.99 | 0.47 | 0.051    | 0.136 |
| I.Delgado   | Linfocitos citotóxicos | SN2 | SN3 | 4.97 | 5.01 | 0.28 | 0.082    | 0.187 |
| Páncreas    | Linfocitos citotóxicos | SN2 | SN3 | 4.92 | 4.98 | 0.26 | 0.203    | 0.389 |
| Pulmón      | Linfocitos citotóxicos | SN2 | SN3 | 4.96 | 4.92 | 0.06 | 0.765    | 0.870 |
| Colorrectal | Células NK             | SN1 | SN2 | 6.01 | 6.08 | 0.36 | 0.105    | 0.415 |
| 5Estómago   | Células NK             | SN1 | SN2 | 5.98 | 6.04 | 0.25 | 0.253    | 0.535 |
| I.Delgado   | Células NK             | SN1 | SN2 | 6.05 | 6.08 | 0.24 | 0.174    | 0.494 |
| Páncreas    | Células NK             | SN1 | SN2 | 6.03 | 6.02 | 0.46 | 0.042    | 0.272 |
| Pulmón      | Células NK             | SN1 | SN2 | 6.06 | 6.02 | 0.11 | 0.586    | 0.763 |
| Colorrectal | Células NK             | SN1 | SN3 | 6.06 | 6.07 | 0.14 | 0.619    | 0.764 |
| Estómago    | Células NK             | SN1 | SN3 | 6.03 | 6.09 | 0.22 | 0.318    | 0.535 |
| I.Delgado   | Células NK             | SN1 | SN3 | 6.08 | 6.08 | 0.05 | 0.807    | 0.853 |
| Páncreas    | Células NK             | SN1 | SN3 | 6.04 | 6.08 | 0.33 | 0.116    | 0.412 |
| Pulmón      | Células NK             | SN1 | SN3 | 6.02 | 6.08 | 0.20 | 0.325    | 0.534 |
| Colorrectal | Células NK             | SN2 | SN3 | 6.02 | 6.05 | 0.19 | 0.414    | 0.625 |

*Continúa en la siguiente página*

|             |                   |     |     |      |      |      |          |       |
|-------------|-------------------|-----|-----|------|------|------|----------|-------|
| Estómago    | Células NK        | SN2 | SN3 | 6.01 | 6.08 | 0.68 | 3.00e-03 | 0.056 |
| I.Delgado   | Células NK        | SN2 | SN3 | 6.09 | 6.02 | 0.21 | 0.192    | 0.492 |
| Páncreas    | Células NK        | SN2 | SN3 | 6.07 | 6.02 | 0.09 | 0.694    | 0.795 |
| Pulmón      | Células NK        | SN2 | SN3 | 5.98 | 6.08 | 0.03 | 0.875    | 0.872 |
| Colorrectal | linaje B          | SN1 | SN2 | 5.90 | 5.86 | 0.19 | 0.392    | 0.815 |
| Estómago    | linaje B          | SN1 | SN2 | 5.77 | 5.74 | 0.18 | 0.406    | 0.815 |
| I.Delgado   | linaje B          | SN1 | SN2 | 5.77 | 5.76 | 0.04 | 0.843    | 0.844 |
| Páncreas    | linaje B          | SN1 | SN2 | 5.82 | 5.78 | 0.11 | 0.651    | 0.844 |
| Pulmón      | linaje B          | SN1 | SN2 | 5.93 | 5.84 | 0.26 | 0.183    | 0.668 |
| Colorrectal | linaje B          | SN1 | SN3 | 5.93 | 5.96 | 0.35 | 0.174    | 0.665 |
| Estómago    | linaje B          | SN1 | SN3 | 5.82 | 5.80 | 0.45 | 0.034    | 0.425 |
| I.Delgado   | linaje B          | SN1 | SN3 | 5.74 | 5.78 | 0.08 | 0.643    | 0.844 |
| Páncreas    | linaje B          | SN1 | SN3 | 5.86 | 5.75 | 0.07 | 0.756    | 0.844 |
| Pulmón      | linaje B          | SN1 | SN3 | 5.79 | 5.76 | 0.37 | 0.063    | 0.425 |
| Colorrectal | linaje B          | SN2 | SN3 | 5.79 | 5.77 | 0.14 | 0.555    | 0.844 |
| Estómago    | linaje B          | SN2 | SN3 | 5.90 | 5.75 | 0.26 | 0.302    | 0.815 |
| I.Delgado   | linaje B          | SN2 | SN3 | 5.80 | 5.78 | 0.06 | 0.714    | 0.844 |
| Páncreas    | linaje B          | SN2 | SN3 | 5.96 | 5.84 | 0.16 | 0.437    | 0.815 |
| Pulmón      | linaje B          | SN2 | SN3 | 5.77 | 5.78 | 0.04 | 0.824    | 0.844 |
| Colorrectal | Linaje monocítico | SN1 | SN2 | 5.74 | 5.72 | 0.11 | 0.652    | 0.754 |
| Estómago    | Linaje monocítico | SN1 | SN2 | 5.61 | 5.58 | 0.12 | 0.607    | 0.754 |
| I.Delgado   | Linaje monocítico | SN1 | SN2 | 5.55 | 5.54 | 0.13 | 0.464    | 0.754 |
| Páncreas    | Linaje monocítico | SN1 | SN2 | 5.72 | 5.61 | 0.15 | 0.515    | 0.754 |
| Pulmón      | Linaje monocítico | SN1 | SN2 | 5.64 | 5.60 | 0.49 | 0.012    | 0.064 |
| Colorrectal | Linaje monocítico | SN1 | SN3 | 5.64 | 5.63 | 0.40 | 0.114    | 0.345 |
| Estómago    | Linaje monocítico | SN1 | SN3 | 5.72 | 5.70 | 0.16 | 0.482    | 0.754 |
| I.Delgado   | Linaje monocítico | SN1 | SN3 | 5.58 | 5.62 | 0.38 | 0.034    | 0.147 |
| Páncreas    | Linaje monocítico | SN1 | SN3 | 5.72 | 5.64 | 0.05 | 0.844    | 0.907 |
| Pulmón      | Linaje monocítico | SN1 | SN3 | 5.64 | 5.54 | 0.54 | 0.002    | 0.064 |
| Colorrectal | Linaje monocítico | SN2 | SN3 | 5.64 | 5.55 | 0.24 | 0.304    | 0.655 |

*Continúa en la siguiente página*

|             |                               |     |     |      |      |      |          |          |
|-------------|-------------------------------|-----|-----|------|------|------|----------|----------|
| Estómago    | Linaje monocítico             | SN2 | SN3 | 5.74 | 5.64 | 0.01 | 1.000    | 1.000    |
| I.Delgado   | Linaje monocítico             | SN2 | SN3 | 5.70 | 5.61 | 0.31 | 0.051    | 0.201    |
| Páncreas    | Linaje monocítico             | SN2 | SN3 | 5.63 | 5.60 | 0.25 | 0.221    | 0.561    |
| Pulmón      | Linaje monocítico             | SN2 | SN3 | 5.61 | 5.62 | 0.11 | 0.562    | 0.754    |
| Colorrectal | Células dendríticas mieloides | SN1 | SN2 | 6.48 | 6.39 | 0.25 | 0.261    | 0.482    |
| Estómago    | Células dendríticas mieloides | SN1 | SN2 | 6.41 | 6.33 | 0.12 | 0.601    | 0.606    |
| I.Delgado   | Células dendríticas mieloides | SN1 | SN2 | 6.44 | 6.35 | 0.10 | 0.581    | 0.606    |
| Páncreas    | Células dendríticas mieloides | SN1 | SN2 | 6.34 | 6.36 | 0.40 | 0.072    | 0.355    |
| Pulmón      | Células dendríticas mieloides | SN1 | SN2 | 6.36 | 6.29 | 0.39 | 0.042    | 0.355    |
| Colorrectal | Células dendríticas mieloides | SN1 | SN3 | 6.36 | 6.34 | 0.42 | 0.093    | 0.355    |
| Estómago    | Células dendríticas mieloides | SN1 | SN3 | 6.44 | 6.40 | 0.20 | 0.37     | 0.482    |
| I.Delgado   | Células dendríticas mieloides | SN1 | SN3 | 6.33 | 6.35 | 0.31 | 0.072    | 0.355    |
| Páncreas    | Células dendríticas mieloides | SN1 | SN3 | 6.39 | 6.38 | 0.24 | 0.264    | 0.482    |
| Pulmón      | Células dendríticas mieloides | SN1 | SN3 | 6.41 | 6.36 | 0.24 | 0.232    | 0.482    |
| Colorrectal | Células dendríticas mieloides | SN2 | SN3 | 6.41 | 6.34 | 0.25 | 0.261    | 0.482    |
| Estómago    | Células dendríticas mieloides | SN2 | SN3 | 6.48 | 6.38 | 0.12 | 0.602    | 0.601    |
| I.Delgado   | Células dendríticas mieloides | SN2 | SN3 | 6.40 | 6.35 | 0.10 | 0.583    | 0.601    |
| Páncreas    | Células dendríticas mieloides | SN2 | SN3 | 6.34 | 6.29 | 0.40 | 0.074    | 0.355    |
| Pulmón      | Células dendríticas mieloides | SN2 | SN3 | 6.41 | 6.35 | 0.39 | 0.041    | 0.355    |
| Colorrectal | Neutrófilos                   | SN1 | SN2 | 6.43 | 6.45 | 0.12 | 0.601    | 0.732    |
| Estómago    | Neutrófilos                   | SN1 | SN2 | 6.47 | 6.38 | 0.11 | 0.641    | 0.732    |
| I.Delgado   | Neutrófilos                   | SN1 | SN2 | 6.36 | 6.41 | 0.35 | 0.054    | 0.141    |
| Páncreas    | Neutrófilos                   | SN1 | SN2 | 6.43 | 6.40 | 0.85 | 5.67e-06 | 8.51e-05 |
| Pulmón      | Neutrófilos                   | SN1 | SN2 | 6.44 | 6.40 | 0.08 | 0.682    | 0.732    |
| Colorrectal | Neutrófilos                   | SN1 | SN3 | 6.44 | 6.42 | 0.40 | 0.112    | 0.281    |
| Estómago    | Neutrófilos                   | SN1 | SN3 | 6.43 | 6.37 | 0.45 | 0.034    | 0.124    |
| I.Delgado   | Neutrófilos                   | SN1 | SN3 | 6.38 | 6.46 | 0.25 | 0.156    | 0.281    |
| Páncreas    | Neutrófilos                   | SN1 | SN3 | 6.45 | 6.33 | 0.23 | 0.295    | 0.482    |
| Pulmón      | Neutrófilos                   | SN1 | SN3 | 6.36 | 6.41 | 0.11 | 0.581    | 0.735    |

Continúa en la siguiente página

|             |             |     |     |      |      |      |          |       |
|-------------|-------------|-----|-----|------|------|------|----------|-------|
| Colorrectal | Neutrófilos | SN2 | SN3 | 6.36 | 6.36 | 0.54 | 0.011    | 0.072 |
| Estómago    | Neutrófilos | SN2 | SN3 | 6.43 | 6.33 | 0.36 | 0.143    | 0.281 |
| I.Delgado   | Neutrófilos | SN2 | SN3 | 6.37 | 6.40 | 0.04 | 0.793    | 0.793 |
| Páncreas    | Neutrófilos | SN2 | SN3 | 6.42 | 6.40 | 0.61 | 1.00e-03 | 0.011 |
| Pulmón      | Neutrófilos | SN2 | SN3 | 6.47 | 6.46 | 0.10 | 0.581    | 0.732 |

*Continúa en la siguiente página*

**Tabla S19.** Anotación de los CNVs encontrados en las muestras.

| CITOBANDA | ALTERACIÓN    | LÍMITES REGIÓN            | VALOR Q  |
|-----------|---------------|---------------------------|----------|
| 4p16.3    | Amplificación | chr4:1-2327678            | 5.08e-08 |
| 2p24.1    | Deleción      | chr2:21346746-23933302    | 6.26e-05 |
| 3p25.1    | Deleción      | chr3:15661154-15701124    | 2.66e-01 |
| 3p14.2    | Deleción      | chr3:62542425-63883161    | 2.25e-01 |
| 3q27.3    | Deleción      | chr3:186512953-186866405  | 1.17e-03 |
| 4p16.1    | Deleción      | chr4:7106024-7740633      | 8.77e-03 |
| 4p14      | Deleción      | chr4:38784882-39068457    | 1.59e-01 |
| 4p13      | Deleción      | chr4:41290519-42095012    | 4.62e-02 |
| 5p15.33   | Deleción      | chr5:1036466-1240222      | 4.62e-02 |
| 5p13.2    | Deleción      | chr5:36866630-37005408    | 5.58e-02 |
| 5q35.3    | Deleción      | chr5:178288651-178330363  | 6.61e-05 |
| 7p13      | Deleción      | chr7:42974695-43298834    | 2.26e-01 |
| 8p12      | Deleción      | chr8:30029828-30184397    | 3.69e-02 |
| 8p11.21   | Deleción      | chr8:41481730-41696355    | 2.62e-02 |
| 10p15.3   | Deleción      | chr10:1199051-3152351     | 4.62e-02 |
| 10q26.2   | Deleción      | chr10:127660789-129215353 | 1.38e-03 |
| 11q14.1   | Deleción      | chr11:78366302-82614515   | 1.54e-01 |
| 12q13.13  | Deleción      | chr12:52680162-52730379   | 1.56e-06 |
| 13q34     | Deleción      | chr13:113350495-113569039 | 2.09e-02 |
| 14q32.31  | Deleción      | chr14:101071082-102204241 | 2.42e-01 |
| 16q22.3   | Deleción      | chr16:73127101-73179243   | 2.62e-02 |
| 17q25.3   | Deleción      | chr17:79263606-79315579   | 4.62e-02 |
| 20q13.13  | Deleción      | chr20:46366943-46852504   | 5.75e-02 |
| 20q13.2   | Deleción      | chr20:50046166-50244424   | 1.48e-01 |

**Tabla S20.** Resultado de la prueba de *Fisher* comparando la diferencia de la cantidad de amplificaciones y deleciones encontradas entre los subtipos neuroendocrinos.

| VARIABLE      | SN1 N=58   | SN2 N=69   | SN3 N=67   | Total N=194 | P-VALOR |
|---------------|------------|------------|------------|-------------|---------|
| Amplificación |            |            |            |             | 0.014   |
| No            | 58 (100%)  | 68 (98.5%) | 61 (91.0%) | 187 (96.4%) |         |
| Sí            | 0 (0%)     | 1 (1.5%)   | 6 (9.0%)   | 7 (3.6%)    |         |
| Deleción      |            |            |            |             | 5.00e-4 |
| No            | 47 (81.0%) | 46 (66.7%) | 27 (40.3%) | 120 (61.9%) |         |
| Sí            | 11 (19.0%) | 23 (33.3%) | 40 (59.7%) | 74 (38.1%)  |         |

**Tabla S21.** Distribución de las 26 alteraciones en el número de copias somática encontradas entre los subtipos neuroendocrinos y el *p-valor* resultante de la prueba de Fisher.

| VARIABLE     | SN1 N=58    | SN2 N=69   | SN3 N=67   | Total N=194 | P-VALOR |
|--------------|-------------|------------|------------|-------------|---------|
| 4p16.3       |             |            |            |             | 0.010   |
| Amplificado  | 0 (0%)      | 1 (1.5%)   | 6 (8.7%)   | 7 (3.6%)    |         |
| Normal       | 58 (100%)   | 68 (98.5%) | 61 (91.3%) | 187 (96.4%) |         |
| 11q14.1      |             |            |            |             | 0.013   |
| Delecionado  | 0 (0%)      | 3 (4.4%)   | 8 (11.9%)  | 11 (5.7%)   |         |
| Normal       | 58 (100%)   | 66 (95.6%) | 59 (88.1%) | 183 (94.3%) |         |
| 22q13.32     |             |            |            |             | 0.018   |
| Delecionado  | 1 (1.7%)    | 4 (5.8%)   | 10 (14.9%) | 15 (7.7%)   |         |
| Normal       | 57 (98.3%)  | 65 (94.2%) | 57 (85.1%) | 179 (92.3%) |         |
| 17q25.3      |             |            |            |             | 0.024   |
| Delecionado  | 4 (6.9%)    | 0 (0%)     | 6 (9.0%)   | 10 (5.1%)   |         |
| Normal       | 54 (93.1%)  | 69 (100%)  | 61 (91.0%) | 184 (94.9%) |         |
| 16q22.3      |             |            |            |             | 0.029   |
| 6Delecionado | 2 (3.5%)    | 2 (2.9%)   | 10 (14.9%) | 14 (7.2%)   |         |
| Normal       | 56 (96.5%)  | 67 (97.1%) | 57 (85.1%) | 180 (92.8%) |         |
| 21q22.3      |             |            |            |             | 0.031   |
| Delecionado  | 0 (0%)      | 5 (7.3%)   | 7 (10.5%)  | 12 (6.2%)   |         |
| Normal       | 58 (100%)   | 64 (92.7%) | 60 (89.5%) | 182 (93.8%) |         |
| 7p13         |             |            |            |             | 0.044   |
| Delecionado  | 6 (10.3%)   | 1 (1.5%)   | 7 (10.5%)  | 14 (7.2%)   |         |
| Normal       | 52 (89.7%)  | 68 (98.5%) | 60 (89.5%) | 180 (92.8%) |         |
| 14q32.31     |             |            |            |             | 0.044   |
| Delecionado  | 0 (0%)      | 1 (1.5%)   | 5 (7.5%)   | 6 (3.1%)    |         |
| Normal       | 58 (100%)   | 68 (98.5%) | 62 (92.5%) | 188 (96.9%) |         |
| 10p15.3      |             |            |            |             | 0.057   |
| Delecionado  | 0 (0%)      | 6 (8.7%)   | 3 (4.5%)   | 9 (4.6%)    |         |
| Normal       | 58 (100%)   | 63 (91.3%) | 64 (95.5%) | 185 (95.4%) |         |
| 2p24.1       |             |            |            |             | 0.09    |
| Delecionado  | 0 (0%)      | 2 (2.9%)   | 5 (7.5%)   | 7 (3.6%)    |         |
| Normal       | 58 (100%)   | 67 (97.1%) | 62 (92.5%) | 187 (96.4%) |         |
| 10q26.2      |             |            |            |             | 0.325   |
| Delecionado  | 1 (1.7%)    | 5 (7.3%)   | 2 (3.0%)   | 8 (4.1%)    |         |
| Normal       | 57 (98.3%)  | 64 (92.7%) | 65 (97.0%) | 186 (95.9%) |         |
| 13q34        |             |            |            |             | 0.347   |
| Delecionado  | 2 (3.5%)    | 7 (10.1%)  | 4 (6.0%)   | 13 (6.7%)   |         |
| Normal       | 56 (96.5%)  | 62 (89.9%) | 63 (94.0%) | 181 (93.3%) |         |
| 5p13.2       |             |            |            |             | 0.335   |
| Delecionado  | 0 (0%)      | 2 (2.9%)   | 0 (0%)     | 2 (1.0%)    |         |
| Normal       | 58 (100%)   | 67 (97.1%) | 67 (100%)  | 192 (99.0%) |         |
| 3p14.2       |             |            |            |             | 0.323   |
| Delecionado  | 1 (1.7%)    | 5 (7.3%)   | 2 (3.0%)   | 8 (4.1%)    |         |
| Normal       | 57 (98.3%)  | 64 (92.7%) | 65 (97.0%) | 186 (95.9%) |         |
| 12q13.13     |             |            |            |             | 0.320   |
| Delecionado  | 1 (1.7%)    | 1 (1.5%)   | 4 (6.0%)   | 6 (3.1%)    |         |
| Normal       | 57 (98.23%) | 68 (98.5%) | 63 (94.0%) | 188 (96.9%) |         |

Continúa en la siguiente página

|             |             |            |             |              |       |
|-------------|-------------|------------|-------------|--------------|-------|
| 3q27.3      |             |            |             |              | 0.39  |
| Delecionado | 1 (1.7%)    | 5 (7.3%)   | 3 (4.5%)    | 9 (4.6%)     |       |
| Normal      | 57 (98.3%)  | 64 (92.7%) | 64 (95.5%)  | 185 (95.4%)  |       |
| 3p25.1      |             |            |             |              | 0.415 |
| Delecionado | 1 (1.7%)    | 4 (5.8%)   | 4 (6.0%)    | 9 (4.6%)     |       |
| Normal      | 57 (98.3%)  | 65 (94.2%) | 63 (94.0%)  | 185 (95.4%)  |       |
| 5q35.3      |             |            |             |              | 0.528 |
| Delecionado | 0 (0%)      | 2 (2.9%)   | 2 (2.99%)   | 4 (2.06%)    |       |
| Normal      | 58 (100%)   | 67 (97.1%) | 65 (97.01%) | 190 (97.94%) |       |
| 4p13        |             |            |             |              | 0.649 |
| Delecionado | 2 (3.45%)   | 2 (2.9%)   | 4 (6.0%)    | 8 (4.1%)     |       |
| Normal      | 56 (96.55%) | 67 (97.1%) | 63 (94.0%)  | 186 (95.9%)  |       |
| 8p11.21     |             |            |             |              | 0.799 |
| Delecionado | 1 (1.7%)    | 3 (4.4%)   | 3 (4.5%)    | 7 (3.6%)     |       |
| Normal      | 57 (98.3%)  | 66 (95.6%) | 64 (95.5%)  | 187 (96.4%)  |       |
| 8p12.21     |             |            |             |              | 0.707 |
| Delecionado | 1 (1.7%)    | 3 (4.4%)   | 3 (4.5%)    | 7 (3.6%)     |       |
| Normal      | 57 (98.3%)  | 66 (95.6%) | 64 (95.5%)  | 187 (96.4%)  |       |
| 20q13.13    |             |            |             |              | 0.734 |
| Delecionado | 2 (3.5%)    | 1 (1.5%)   | 2 (3.0%)    | 5 (2.6%)     |       |
| Normal      | 56 (96.5%)  | 68 (98.5%) | 65 (97.0%)  | 189 (97.4%)  |       |
| 4p14        |             |            |             |              | 0.824 |
| Delecionado | 1 (1.7%)    | 1 (1.5%)   | 2 (3.0%)    | 4 (2.1%)     |       |
| Normal      | 57 (98.3%)  | 68 (98.5%) | 65 (97.0%)  | 190 (97.9%)  |       |
| 4p16.1      |             |            |             |              | 0.844 |
| Delecionado | 2 (3.5%)    | 3 (4.4%)   | 4 (6.0%)    | 9 (4.6%)     |       |
| Normal      | 56 (96.5%)  | 66 (95.6%) | 63 (94.0%)  | 185 (95.4%)  |       |
| 5p15.33     |             |            |             |              | 1.000 |
| Delecionado | 1 (1.7%)    | 2 (2.9%)   | 1 (1.5%)    | 4 (2.1%)     |       |
| Normal      | 57 (98.3%)  | 67 (97.1%) | 66 (98.5%)  | 190 (97.9%)  |       |
| 20q13.13    |             |            |             |              | 1.000 |
| Delecionado | 2 (3.5%)    | 3 (4.4%)   | 2 (3.0%)    | 7 (3.6%)     |       |
| Normal      | 56 (96.5%)  | 66 (95.6%) | 65 (97.0%)  | 187 (96.4%)  |       |

**Tabla S22.** Genes anotados en los CNVs con diferencias significativas entre los subtipos neuroendocrinos.

| CITOBANDA | ALTERACIÓN    | GENES                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | NGENES |
|-----------|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 4p16.3    | Amplificación | ZNF595; ZNF718; ZNF876P; ZNF732; ZNF141; MIR571; ABCA11P; ZNF721; PIGG; RN7SL358P; PDE6B; ATP5I; MYL5; MFSD7; PCGF3; CPLX1; GAK; TMEM175; DGKQ; SLC26A1; IDUA; FGFR1; RNF212; TMED11P; SPON2; CTBP1; CTBP1-AS2; MAEA; UVSSA; CRIPAK; NKX1-1; FAM53A; SLBP; TMEM129; TACC3; FGFR3; LETM1; RN7SL671P; WHSC1; SCARNA22; NELFA; MIR943; C4orf48; NAT8L; POLN; HAUS3; COX6B1P5; MXD4; MIR4800; ZFYVE28; RN7SL589P                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 51     |
| 11q14.1   | Deleción      | TENM4; MIR708; MIR5579; RNU6-544P; ARL6IP1P3; MIR4300; FAM181B; PRCP; C11orf82                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 9      |
| 17q25.3   | Deleción      | SLC38A10; LINC00482; TMEM105                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 3      |
| 22q13.32  | Deleción      | MIR3201; FAM19A5; MIR4535; RPL35P8; C22orf34; MIR3667                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 6      |
| 16q22.3   | Deleción      | HCCAT5; C16orf47                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 2      |
| 21q22.3   | Deleción      | TMPRSS2; LINC00111; LINC00479; LINC00112; RIPK4; PRDM15                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 6      |
| 7p13      | Deleción      | MRPL32; HECW1; HECW1-IT1; MIR3943; RNU7-35P; RNU6-575P                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 6      |
| 14q32.31  | Deleción      | hsa-mir-544; hsa-mir 370; DIO3; DIO3OS; MEG8; MIR381HG; RTL1; MIR127; MIR134; MIR136; MIR154; MIR299; MIR323A; MIR337; MIR376; MIR369; MIR376A1; MIR377; MIR379; MIR380; MIR381; MIR382; MIR433; MIR431; MIR329-1; MIR329-2; MIR323B; MIR409; MIR412; MIR41; MIR376B; MIR485; MIR493; MIR432; MIR494; MIR495; MIR496; MIR487A; MIR539; MIR376A2; MIR487B; MIR411; MIR654; MIR655; MIR65; SNORD113-1; SNORD113-2; SNORD113-4; SNORD113-5; SNORD113-6; SNORD113-7; SNORD113-9; SNORD114-1; SNORD114-2; SNORD114-4; SNORD114-5; SNORD114-6; SNORD114-7; SNORD114-8; SNORD114-9; SNORD114-10; SNORD114-11; SNORD114-12; SNORD114-13; SNORD114-14; SNORD114-15; SNORD114-16; SNORD114-17; SNORD114-18; SNORD114-19; SNORD114-20; SNORD114-21; SNORD114-22; SNORD114-23; SNORD114-24; SNORD114-25; SNORD114-26; SNORD114-27; SNORD114-28; SNORD114-29; SNORD114-30; SNORD114-31; MIR758; MIR668; MIR770; MIR300; MIR541; MIR665; MIR543; MIR889; MIR1247; MIR1185-1; MIR1185-2; MIR1197; MIR1193; MEG9; RP1909M7.3 | 98     |

NGenes: Número de gene

**Tabla S23.** Distribución de los CNVs con diferencias significativas entre los subtipos neuroendocrinos entre los distintos tumores primarios.

| VARIABLE    | COLORRECTAL<br>N=30 | ESTÓMAGO<br>N=32 | PULMÓN<br>N=44 | PÁNCREAS<br>N=35 | INTESTINO<br>N=53 | Total N=194 | P-VALOR |
|-------------|---------------------|------------------|----------------|------------------|-------------------|-------------|---------|
| 4p16.3      |                     |                  |                |                  |                   |             | 0.231   |
| Amplificado | 3 (10%)             | 0 (0%)           | 1 (2.3%)       | 2 (5.7%)         | 1 (1.9%)          | 7 (3.6%)    |         |
| Normal      | 27 (90%)            | 32 (100%)        | 43 (97.7%)     | 33 (94.3%)       | 52 (98.1%)        | 187 (96.4%) |         |
| 11q14.1     |                     |                  |                |                  |                   |             | 0.004   |
| Deleciónado | 2 (6.7%)            | 0 (0%)           | 7 (15.9%)      | 2 (5.7%)         | 0 (0%)            | 11 (5.7%)   |         |
| Normal      | 28 (93.3%)          | 32 (100%)        | 37 (84.1%)     | 33 (94.3%)       | 53 (100%)         | 183 (94.3%) |         |
| 17q25.3     |                     |                  |                |                  |                   |             | 0.233   |
| Deleciónado | 4 (13.3%)           | 1 (3.1%)         | 3 (6.8%)       | 1 (2.9%)         | 1 (1.9%)          | 10 (5.2%)   |         |
| Normal      | 26 (86.7%)          | 31 (96.9%)       | 41 (93.2%)     | 34 (97.1%)       | 52 (98.1%)        | 184 (94.8%) |         |
| 22q13.32    |                     |                  |                |                  |                   |             | 0.441   |
| Deleciónado | 1 (3.3%)            | 4 (12.5%)        | 5 (11.4%)      | 3 (8.6%)         | 2 (3.8%)          | 15 (7.7%)   |         |
| Normal      | 29 (96.7%)          | 28 (87.5%)       | 39 (88.6%)     | 32 (91.4%)       | 51 (96.2%)        | 179 (92.3%) |         |
| 16q22.3     |                     |                  |                |                  |                   |             | 0.573   |
| Deleciónado | 2 (6.7%)            | 5 (15.6%)        | 3 (6.8%)       | 2 (5.7%)         | 3 (5.7%)          | 15 (7.7%)   |         |
| Normal      | 28 (93.3%)          | 28 (87.4%)       | 41 (93.2%)     | 33 (94.3%)       | 50 (94.3%)        | 180 (92.3%) |         |
| 21q22.3     |                     |                  |                |                  |                   |             | 0.021   |
| Deleciónado | 2 (6.7%)            | 2 (6.3%)         | 2 (4.5%)       | 6 (17.1%)        | 0 (0%)            | 12 (6.2%)   |         |
| Normal      | 28 (93.3%)          | 30 (93.7%)       | 42 (95.5%)     | 29 (82.9%)       | 53 (100%)         | 182 (93.8%) |         |
| 7p13        |                     |                  |                |                  |                   |             | 0.882   |
| Deleciónado | 2 (6.7%)            | 2 (6.3%)         | 5 (11.4%)      | 2 (5.7%)         | 3 (5.7%)          | 14 (7.2%)   |         |
| Normal      | 28 (93.3%)          | 30 (93.7%)       | 39 (88.6%)     | 33 (94.3%)       | 50 (94.3%)        | 180 (92.8%) |         |
| 14q32.31    |                     |                  |                |                  |                   |             | 0.974   |
| Deleciónado | 1 (3.3%)            | 1 (3.1%)         | 2 (4.5%)       | 1 (2.9%)         | 1 (1.9%)          | 6 (3.1%)    |         |
| Normal      | 29 (96.7%)          | 31 (96.9%)       | 42 (95.5%)     | 34 (97.1%)       | 52 (98.1%)        | 188 (96.9%) |         |

**Tabla S24.** Genes diferencialmente expresados entre SN1 y SN3 con un *p*-valor ajustado < 0,05 y un *CL2* > 0.5.

| GENES    | GRUPO1 | GRUPO2 | CL2   | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|----------|--------|--------|-------|----------|----------|
| CHGA     | SN1    | SN3    | -1.07 | 3.26e-10 | 2.12e-06 |
| RAP1GAP2 | SN1    | SN3    | -0.63 | 1.84e-08 | 5.99e-05 |
| CHGB     | SN1    | SN3    | -1.01 | 2.39e-08 | 6.64e-05 |
| FABP1    | SN1    | SN3    | 1.77  | 2.86e-08 | 6.98e-05 |
| FABP2    | SN1    | SN3    | 0.88  | 1.25e-07 | 1.76e-04 |
| JCHAIN   | SN1    | SN3    | 1.47  | 1.29e-07 | 1.76e-04 |
| FERMT1   | SN1    | SN3    | 0.61  | 1.35e-07 | 1.76e-04 |
| FBP1     | SN1    | SN3    | 0.57  | 1.45e-07 | 1.76e-04 |
| BEX1     | SN1    | SN3    | -1.04 | 1.84e-07 | 2.11e-04 |
| PIK3C2G  | SN1    | SN3    | 1.16  | 2.20e-07 | 2.38e-04 |
| LGALS4   | SN1    | SN3    | 0.77  | 2.42e-07 | 2.41e-04 |
| PTPRN    | SN1    | SN3    | -0.77 | 3.50e-07 | 2.95e-04 |
| ANPEP    | SN1    | SN3    | 1.05  | 4.81e-07 | 3.35e-04 |
| TMEM123  | SN1    | SN3    | 0.58  | 4.99e-07 | 3.35e-04 |
| GSTA1    | SN1    | SN3    | 0.81  | 8.24e-07 | 5.02e-04 |
| ADH1C    | SN1    | SN3    | 0.63  | 9.71e-07 | 5.46e-04 |
| ACSL5    | SN1    | SN3    | 0.53  | 2.19e-06 | 9.75e-04 |
| ASPH     | SN1    | SN3    | 0.54  | 2.25e-06 | 9.75e-04 |
| CLCA1    | SN1    | SN3    | 0.87  | 2.83e-06 | 1.10e-03 |
| TCEA3    | SN1    | SN3    | 0.59  | 3.69e-06 | 1.36e-03 |
| PIGR     | SN1    | SN3    | 1.13  | 3.85e-06 | 1.37e-03 |
| DEPDC7   | SN1    | SN3    | 0.70  | 3.99e-06 | 1.39e-03 |
| SI       | SN1    | SN3    | 0.93  | 4.38e-06 | 1.45e-03 |
| CES3     | SN1    | SN3    | 0.62  | 4.83e-06 | 1.57e-03 |
| CRYBA2   | SN1    | SN3    | -0.57 | 5.35e-06 | 1.71e-03 |
| ALDOB    | SN1    | SN3    | 0.98  | 5.63e-06 | 1.77e-03 |
| CYP2C18  | SN1    | SN3    | 0.52  | 6.31e-06 | 1.88e-03 |
| CAPN8    | SN1    | SN3    | 0.55  | 8.29e-06 | 2.29e-03 |
| SLC15A1  | SN1    | SN3    | 0.71  | 9.32e-06 | 2.49e-03 |
| MUC2     | SN1    | SN3    | 0.66  | 1.23e-05 | 2.74e-03 |
| NOVA1    | SN1    | SN3    | -0.54 | 1.25e-05 | 2.74e-03 |
| OLFM4    | SN1    | SN3    | 1.05  | 1.27e-05 | 2.74e-03 |
| CXXC4    | SN1    | SN3    | -0.52 | 1.30e-05 | 2.74e-03 |
| FYB      | SN1    | SN3    | 0.51  | 1.34e-05 | 2.74e-03 |
| PDGFRA   | SN1    | SN3    | 0.59  | 1.53e-05 | 2.93e-03 |
| F5       | SN1    | SN3    | -0.71 | 1.59e-05 | 3.01e-03 |
| CEP126   | SN1    | SN3    | -0.53 | 1.70e-05 | 3.16e-03 |
| FAM27E3  | SN1    | SN3    | -0.56 | 1.74e-05 | 3.19e-03 |
| ANKRD22  | SN1    | SN3    | 0.65  | 2.44e-05 | 4.10e-03 |

Continúa en la siguiente página

|           |     |     |       |          |          |
|-----------|-----|-----|-------|----------|----------|
| BEAN1-AS1 | SN1 | SN3 | -0.55 | 2.50e-05 | 4.12e-03 |
| RNASE1    | SN1 | SN3 | 0.73  | 3.02e-05 | 4.75e-03 |
| DDC       | SN1 | SN3 | -0.60 | 3.41e-05 | 4.92e-03 |
| GIPC2     | SN1 | SN3 | 0.66  | 3.58e-05 | 5.13e-03 |
| TCEAL2    | SN1 | SN3 | -0.50 | 6.45e-05 | 7.92e-03 |
| ADGRG6    | SN1 | SN3 | 0.56  | 7.10e-05 | 8.29e-03 |
| IL7R      | SN1 | SN3 | 0.84  | 7.66e-05 | 8.66e-03 |
| APOB      | SN1 | SN3 | 0.75  | 7.98e-05 | 8.75e-03 |
| SLC26A3   | SN1 | SN3 | 0.69  | 8.50e-05 | 9.06e-03 |
| SCG3      | SN1 | SN3 | -0.52 | 9.67e-05 | 9.62e-03 |
| ADH1B     | SN1 | SN3 | 0.78  | 1.04e-04 | 1.00e-02 |
| KLF5      | SN1 | SN3 | 0.53  | 1.14e-04 | 1.05e-02 |
| FABP5     | SN1 | SN3 | 0.55  | 1.26e-04 | 1.14e-02 |
| FAM177B   | SN1 | SN3 | 0.53  | 1.47e-04 | 1.26e-02 |
| MEIS2     | SN1 | SN3 | -0.61 | 1.67e-04 | 1.39e-02 |
| UGT1A1    | SN1 | SN3 | 0.76  | 1.88e-04 | 1.50e-02 |
| LYZ       | SN1 | SN3 | 0.86  | 2.11e-04 | 1.62e-02 |
| RIMS2     | SN1 | SN3 | -0.55 | 2.63e-04 | 1.83e-02 |
| SOGA3     | SN1 | SN3 | -0.54 | 3.05e-04 | 1.97e-02 |
| MUC3A     | SN1 | SN3 | 0.63  | 3.36e-04 | 2.09e-02 |
| ANKRD30B  | SN1 | SN3 | -0.57 | 3.51e-04 | 2.16e-02 |
| ADAMDEC1  | SN1 | SN3 | 0.50  | 3.95e-04 | 2.30e-02 |
| ACE2      | SN1 | SN3 | 0.52  | 5.14e-04 | 2.71e-02 |
| GKN1      | SN1 | SN3 | 0.54  | 5.78e-04 | 2.90e-02 |
| SLC38A11  | SN1 | SN3 | -0.75 | 6.01e-04 | 2.99e-02 |
| C1S       | SN1 | SN3 | 0.56  | 7.33e-04 | 3.26e-02 |
| HSPA4L    | SN1 | SN3 | -0.60 | 8.23e-04 | 3.49e-02 |
| QPCT      | SN1 | SN3 | -0.52 | 9.05e-04 | 3.69e-02 |
| TCN1      | SN1 | SN3 | 0.50  | 1.04e-03 | 3.98e-02 |
| PRSS3     | SN1 | SN3 | 0.69  | 1.05e-03 | 3.99e-02 |
| SLC2A2    | SN1 | SN3 | 0.71  | 1.27e-03 | 4.46e-02 |
| SCG5      | SN1 | SN3 | -0.53 | 1.31e-03 | 4.52e-02 |
| SPINK1    | SN1 | SN3 | 0.68  | 1.31e-03 | 4.52e-02 |
| UGT2B15   | SN1 | SN3 | 0.53  | 1.51e-03 | 4.94e-02 |

CL2: Cambio logarítmico en base 2

**Tabla S25.** Genes diferencialmente expresados entre SN1 y SN2 con un *p*-valor ajustado < 0,05 y un CL > 0.5.

| GENES    | GRUPO1 | GRUPO2 | CL2   | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|----------|--------|--------|-------|----------|----------|
| PNMA1    | SN1    | SN2    | -0.50 | 6.30e-10 | 6.14e-06 |
| CTSS     | SN1    | SN2    | 0.50  | 3.76e-08 | 6.67e-05 |
| PTPRN    | SN1    | SN2    | -0.82 | 5.32e-08 | 8.63e-05 |
| FERMT1   | SN1    | SN2    | 0.62  | 6.92e-08 | 9.64e-05 |
| RAP1GAP2 | SN1    | SN2    | -0.59 | 1.06e-07 | 1.02e-04 |
| CES3     | SN1    | SN2    | 0.72  | 1.60e-07 | 1.42e-04 |
| BMP5     | SN1    | SN2    | 0.51  | 2.13e-07 | 1.66e-04 |
| FABP1    | SN1    | SN2    | 1.61  | 3.44e-07 | 2.48e-04 |
| BEX1     | SN1    | SN2    | -1.00 | 4.23e-07 | 2.66e-04 |
| GNG4     | SN1    | SN2    | -0.50 | 6.95e-07 | 3.40e-04 |
| PIGR     | SN1    | SN2    | 1.19  | 1.06e-06 | 4.82e-04 |
| JCHAIN   | SN1    | SN2    | 1.32  | 1.45e-06 | 6.03e-04 |
| FYB      | SN1    | SN2    | 0.55  | 2.10e-06 | 7.84e-04 |
| ACSL5    | SN1    | SN2    | 0.52  | 2.17e-06 | 7.84e-04 |
| MAL2     | SN1    | SN2    | 0.51  | 2.28e-06 | 7.95e-04 |
| IGLL5    | SN1    | SN2    | 0.55  | 3.83e-06 | 1.13e-03 |
| DEPDC7   | SN1    | SN2    | 0.69  | 4.08e-06 | 1.14e-03 |
| GSTA1    | SN1    | SN2    | 0.74  | 4.49e-06 | 1.20e-03 |
| PIK3C2G  | SN1    | SN2    | 1.00  | 5.39e-06 | 1.28e-03 |
| TCEAL2   | SN1    | SN2    | -0.57 | 7.14e-06 | 1.56e-03 |
| LGALS4   | SN1    | SN2    | 0.66  | 7.32e-06 | 1.57e-03 |
| ANXA2    | SN1    | SN2    | 0.50  | 7.38e-06 | 1.57e-03 |
| SCG3     | SN1    | SN2    | -0.60 | 7.92e-06 | 1.64e-03 |
| CLCA1    | SN1    | SN2    | 0.80  | 1.07e-05 | 1.97e-03 |
| ANPEP    | SN1    | SN2    | 0.89  | 1.45e-05 | 2.46e-03 |
| PDGFRA   | SN1    | SN2    | 0.58  | 1.91e-05 | 2.91e-03 |
| FABP2    | SN1    | SN2    | 0.70  | 2.04e-05 | 3.03e-03 |
| ANKRD22  | SN1    | SN2    | 0.65  | 2.51e-05 | 3.30e-03 |
| CIRBP    | SN1    | SN2    | -0.56 | 2.53e-05 | 3.31e-03 |
| ADAMDEC1 | SN1    | SN2    | 0.59  | 3.20e-05 | 3.62e-03 |
| ABCC3    | SN1    | SN2    | 0.54  | 3.22e-05 | 3.62e-03 |
| PAK3     | SN1    | SN2    | -0.75 | 3.27e-05 | 3.62e-03 |
| CHGB     | SN1    | SN2    | -0.72 | 4.40e-05 | 4.31e-03 |
| SLC26A3  | SN1    | SN2    | 0.70  | 7.02e-05 | 5.27e-03 |
| CEACAM5  | SN1    | SN2    | 0.64  | 9.43e-05 | 6.48e-03 |
| LYZ      | SN1    | SN2    | 0.89  | 1.14e-04 | 7.53e-03 |
| MS4A8    | SN1    | SN2    | -0.59 | 1.27e-04 | 8.10e-03 |
| ALDOB    | SN1    | SN2    | 0.81  | 1.55e-04 | 9.26e-03 |
| LCN2     | SN1    | SN2    | 0.50  | 2.59e-04 | 1.25e-02 |

Continúa en la siguiente página

|          |     |     |       |          |          |
|----------|-----|-----|-------|----------|----------|
| RNASE1   | SN1 | SN2 | 0.63  | 2.66e-04 | 1.27e-02 |
| CPE      | SN1 | SN2 | -0.61 | 2.80e-04 | 1.32e-02 |
| MUC2     | SN1 | SN2 | 0.54  | 2.93e-04 | 1.35e-02 |
| ACE2     | SN1 | SN2 | 0.53  | 3.72e-04 | 1.53e-02 |
| UGT2B15  | SN1 | SN2 | 0.60  | 3.86e-04 | 1.56e-02 |
| RIMS2    | SN1 | SN2 | -0.53 | 4.18e-04 | 1.63e-02 |
| ADH1B    | SN1 | SN2 | 0.69  | 4.99e-04 | 1.81e-02 |
| MUC3A    | SN1 | SN2 | 0.61  | 5.40e-04 | 1.89e-02 |
| OLFM4    | SN1 | SN2 | 0.81  | 6.10e-04 | 2.02e-02 |
| APOB     | SN1 | SN2 | 0.63  | 7.14e-04 | 2.24e-02 |
| NXPE1    | SN1 | SN2 | 0.61  | 7.74e-04 | 2.36e-02 |
| SI       | SN1 | SN2 | 0.66  | 8.60e-04 | 2.51e-02 |
| IL7R     | SN1 | SN2 | 0.69  | 9.99e-04 | 2.67e-02 |
| UGT1A1   | SN1 | SN2 | 0.65  | 1.15e-03 | 2.89e-02 |
| GPRC5A   | SN1 | SN2 | 0.55  | 1.37e-03 | 3.17e-02 |
| HMGCS2   | SN1 | SN2 | 0.52  | 1.75e-03 | 3.67e-02 |
| CFC1B    | SN1 | SN2 | -0.60 | 1.87e-03 | 3.79e-02 |
| HOXB-AS3 | SN1 | SN2 | 0.63  | 2.93e-03 | 4.86e-02 |

CL2: Cambio logarítmico en base 2

**Tabla S26.** Genes diferencialmente expresados entre SN2 y SN3 con un *p*-valor ajustado < 0.1 y un *CL* > 0,2.

| GENES    | GRUPO1 | GRUPO2 | CL2   | P-VALOR  | Q-VALOR |
|----------|--------|--------|-------|----------|---------|
| GRB10    | SN2    | SN3    | 0.33  | 5.94e-07 | 0.012   |
| GJD2     | SN2    | SN3    | 0.27  | 6.63e-06 | 0.065   |
| CHGA     | SN2    | SN3    | -0.68 | 1.86e-05 | 0.096   |
| HEPACAM2 | SN2    | SN3    | 0.48  | 1.96e-05 | 0.096   |

CL2: Cambio logarítmico en base 2

**Tabla S27.** Genes diferencialmente expresados con un *p*-valor ajustado por *FDR* <0.05 en al menos uno de los tumores primarios.

| GENES | TUMOR       | GRUPO1 | GRUPO2 | CL2   | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|-------|-------------|--------|--------|-------|----------|----------|
| ABCC3 | Colorrectal | SN1    | SN2    | 0.76  | 6.80e-03 | 3.35e-01 |
| ABCC3 | Colorrectal | SN1    | SN3    | 0.32  | 2.85e-01 | 9.76e-01 |
| ABCC3 | Colorrectal | SN2    | SN3    | -0.44 | 1.16e-01 | 5.14e-01 |
| ABCC3 | Estómago    | SN1    | SN2    | 0.80  | 3.07e-02 | 4.23e-01 |
| ABCC3 | Estómago    | SN1    | SN3    | 0.76  | 3.86e-02 | 4.57e-01 |
| ABCC3 | Estómago    | SN2    | SN3    | -0.04 | 9.27e-01 | 9.97e-01 |
| ABCC3 | I.Delgado   | SN1    | SN2    | 0.76  | 9.11e-05 | 4.93e-02 |
| ABCC3 | I.Delgado   | SN1    | SN3    | 0.46  | 1.23e-02 | 3.49e-01 |
| ABCC3 | I.Delgado   | SN2    | SN3    | -0.30 | 7.29e-02 | 9.05e-01 |
| ABCC3 | Páncreas    | SN1    | SN2    | 0.58  | 2.43e-02 | 4.70e-01 |
| ABCC3 | Páncreas    | SN1    | SN3    | 0.35  | 1.49e-01 | 7.02e-01 |
| ABCC3 | Páncreas    | SN2    | SN3    | -0.24 | 3.08e-01 | 9.98e-01 |
| ABCC3 | Pulmón      | SN1    | SN2    | -0.26 | 3.87e-01 | 8.86e-01 |
| ABCC3 | Pulmón      | SN1    | SN3    | -0.67 | 2.90e-02 | 4.40e-01 |
| ABCC3 | Pulmón      | SN2    | SN3    | -0.41 | 1.25e-01 | 7.99e-01 |
| ACE2  | Colorrectal | SN1    | SN2    | 0.01  | 9.69e-01 | 9.95e-01 |
| ACE2  | Colorrectal | SN1    | SN3    | -0.15 | 5.40e-01 | 9.84e-01 |
| ACE2  | Colorrectal | SN2    | SN3    | -0.16 | 4.84e-01 | 7.99e-01 |
| ACE2  | Estómago    | SN1    | SN2    | 0.79  | 6.98e-02 | 5.23e-01 |
| ACE2  | Estómago    | SN1    | SN3    | 1.17  | 8.88e-03 | 2.86e-01 |
| ACE2  | Estómago    | SN2    | SN3    | 0.38  | 4.19e-01 | 9.40e-01 |
| ACE2  | I.Delgado   | SN1    | SN2    | 1.51  | 3.24e-05 | 3.33e-02 |
| ACE2  | I.Delgado   | SN1    | SN3    | 1.50  | 3.10e-05 | 1.95e-02 |
| ACE2  | I.Delgado   | SN2    | SN3    | -0.01 | 9.69e-01 | 1.00E+00 |
| ACE2  | Páncreas    | SN1    | SN2    | 0.05  | 7.81e-01 | 9.64e-01 |
| ACE2  | Páncreas    | SN1    | SN3    | -0.17 | 3.03e-01 | 7.93e-01 |
| ACE2  | Páncreas    | SN2    | SN3    | -0.21 | 1.77e-01 | 9.98e-01 |
| ACE2  | Pulmón      | SN1    | SN2    | -0.15 | 4.77e-01 | 9.05e-01 |
| ACE2  | Pulmón      | SN1    | SN3    | -0.17 | 4.15e-01 | 8.53e-01 |
| ACE2  | Pulmón      | SN2    | SN3    | -0.02 | 9.00e-01 | 9.95e-01 |
| ACSL5 | Colorrectal | SN1    | SN2    | 0.57  | 1.23e-02 | 3.95e-01 |
| ACSL5 | Colorrectal | SN1    | SN3    | 0.35  | 1.53e-01 | 9.65e-01 |
| ACSL5 | Colorrectal | SN2    | SN3    | -0.22 | 3.36e-01 | 7.05e-01 |
| ACSL5 | Estómago    | SN1    | SN2    | 0.57  | 4.63e-02 | 4.73e-01 |
| ACSL5 | Estómago    | SN1    | SN3    | 0.87  | 3.13e-03 | 1.88e-01 |
| ACSL5 | Estómago    | SN2    | SN3    | 0.30  | 3.21e-01 | 9.38e-01 |
| ACSL5 | I.Delgado   | SN1    | SN2    | 0.94  | 1.04e-04 | 5.34e-02 |
| ACSL5 | I.Delgado   | SN1    | SN3    | 0.93  | 1.17e-04 | 4.15e-02 |
| ACSL5 | I.Delgado   | SN2    | SN3    | -0.02 | 9.31e-01 | 9.98e-01 |
| ACSL5 | Páncreas    | SN1    | SN2    | 0.20  | 3.66e-01 | 8.39e-01 |
| ACSL5 | Páncreas    | SN1    | SN3    | 0.16  | 4.46e-01 | 8.55e-01 |
| ACSL5 | Páncreas    | SN2    | SN3    | -0.04 | 8.41e-01 | 9.98e-01 |
| ACSL5 | Pulmón      | SN1    | SN2    | 0.14  | 4.69e-01 | 9.05e-01 |
| ACSL5 | Pulmón      | SN1    | SN3    | 0.17  | 3.73e-01 | 8.32e-01 |
| ACSL5 | Pulmón      | SN2    | SN3    | 0.03  | 8.41e-01 | 9.92e-01 |

Continúa en la siguiente página

|        |             |     |     |       |          |          |
|--------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| ALDOB  | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.41 | 2.84e-01 | 7.61e-01 |
| ALDOB  | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.53 | 2.17e-01 | 9.72e-01 |
| ALDOB  | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.12 | 7.59e-01 | 9.21e-01 |
| ALDOB  | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.48  | 2.94e-01 | 7.42e-01 |
| ALDOB  | Estómago    | SN1 | SN3 | 1.11  | 1.86e-02 | 3.67e-01 |
| ALDOB  | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.63  | 2.11e-01 | 9.29e-01 |
| ALDOB  | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 2.47  | 2.56e-06 | 7.11e-03 |
| ALDOB  | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 2.41  | 3.28e-06 | 6.39e-03 |
| ALDOB  | I.Delgado   | SN2 | SN3 | -0.06 | 8.92e-01 | 9.98e-01 |
| ALDOB  | Páncreas    | SN1 | SN2 | 1.10  | 1.78e-02 | 4.43e-01 |
| ALDOB  | Páncreas    | SN1 | SN3 | 1.16  | 8.46e-03 | 4.49e-01 |
| ALDOB  | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.07  | 8.67e-01 | 9.98e-01 |
| ALDOB  | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.26 | 2.77e-01 | 8.49e-01 |
| ALDOB  | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.04  | 8.83e-01 | 9.81e-01 |
| ALDOB  | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.29  | 1.72e-01 | 8.45e-01 |
| ANPEP  | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.01 | 9.56e-01 | 9.92e-01 |
| ANPEP  | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.43 | 1.62e-01 | 9.69e-01 |
| ANPEP  | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.41 | 1.45e-01 | 5.49e-01 |
| ANPEP  | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.68  | 2.11e-01 | 6.82e-01 |
| ANPEP  | Estómago    | SN1 | SN3 | 1.59  | 5.41e-03 | 2.37e-01 |
| ANPEP  | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.91  | 1.34e-01 | 9.29e-01 |
| ANPEP  | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.98  | 1.38e-05 | 2.24e-02 |
| ANPEP  | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 2.14  | 2.78e-06 | 6.02e-03 |
| ANPEP  | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.16  | 6.66e-01 | 9.96e-01 |
| ANPEP  | Páncreas    | SN1 | SN2 | 1.63  | 5.63e-04 | 3.10e-01 |
| ANPEP  | Páncreas    | SN1 | SN3 | 1.10  | 1.03e-02 | 4.62e-01 |
| ANPEP  | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.52 | 1.97e-01 | 9.98e-01 |
| ANPEP  | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.21 | 4.68e-01 | 9.05e-01 |
| ANPEP  | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.24  | 4.17e-01 | 8.53e-01 |
| ANPEP  | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.45  | 8.97e-02 | 7.61e-01 |
| CAPN8  | Colorrectal | SN1 | SN2 | 0.33  | 2.97e-01 | 7.69e-01 |
| CAPN8  | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.34  | 3.32e-01 | 9.78e-01 |
| CAPN8  | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.01  | 9.66e-01 | 9.91e-01 |
| CAPN8  | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.95  | 1.89e-02 | 3.61e-01 |
| CAPN8  | Estómago    | SN1 | SN3 | 1.86  | 2.62e-05 | 3.23e-02 |
| CAPN8  | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.92  | 3.77e-02 | 9.29e-01 |
| CAPN8  | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 0.20  | 2.25e-01 | 7.55e-01 |
| CAPN8  | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 0.32  | 4.79e-02 | 5.21e-01 |
| CAPN8  | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.12  | 3.98e-01 | 9.86e-01 |
| CAPN8  | Páncreas    | SN1 | SN2 | -0.01 | 9.59e-01 | 9.96e-01 |
| CAPN8  | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.08 | 6.54e-01 | 9.26e-01 |
| CAPN8  | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.07 | 6.86e-01 | 9.98e-01 |
| CAPN8  | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.21 | 2.36e-01 | 8.29e-01 |
| CAPN8  | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.39  | 3.51e-02 | 4.65e-01 |
| CAPN8  | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.60  | 4.53e-04 | 1.13e-01 |
| CEP126 | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.29 | 2.64e-01 | 7.46e-01 |
| CEP126 | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.41 | 1.59e-01 | 9.69e-01 |
| CEP126 | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.12 | 6.48e-01 | 8.71e-01 |

Continúa en la siguiente página

|        |             |     |     |       |          |          |
|--------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| CEP126 | Estómago    | SN1 | SN2 | -0.53 | 3.84e-02 | 4.52e-01 |
| CEP126 | Estómago    | SN1 | SN3 | -0.61 | 1.82e-02 | 3.66e-01 |
| CEP126 | Estómago    | SN2 | SN3 | -0.08 | 7.70e-01 | 9.86e-01 |
| CEP126 | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -1.02 | 4.83e-05 | 3.48e-02 |
| CEP126 | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -1.00 | 5.86e-05 | 3.01e-02 |
| CEP126 | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.02  | 9.10e-01 | 9.98e-01 |
| CEP126 | Páncreas    | SN1 | SN2 | -0.41 | 2.35e-01 | 7.58e-01 |
| CEP126 | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.18 | 5.88e-01 | 9.07e-01 |
| CEP126 | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.24  | 4.59e-01 | 9.98e-01 |
| CEP126 | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.09 | 6.78e-01 | 9.50e-01 |
| CEP126 | Pulmón      | SN1 | SN3 | -0.29 | 1.72e-01 | 6.94e-01 |
| CEP126 | Pulmón      | SN2 | SN3 | -0.20 | 2.79e-01 | 8.96e-01 |
| CES3   | Colorrectal | SN1 | SN2 | 0.52  | 9.41e-02 | 6.08e-01 |
| CES3   | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.13  | 7.04e-01 | 9.86e-01 |
| CES3   | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.39 | 2.20e-01 | 6.16e-01 |
| CES3   | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.54  | 1.11e-01 | 5.75e-01 |
| CES3   | Estómago    | SN1 | SN3 | 0.87  | 1.25e-02 | 3.25e-01 |
| CES3   | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.33  | 3.70e-01 | 9.38e-01 |
| CES3   | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.60  | 3.35e-07 | 3.30e-03 |
| CES3   | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 1.26  | 2.44e-05 | 1.88e-02 |
| CES3   | I.Delgado   | SN2 | SN3 | -0.34 | 1.78e-01 | 9.43e-01 |
| CES3   | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.50  | 4.05e-02 | 5.17e-01 |
| CES3   | Páncreas    | SN1 | SN3 | 0.46  | 4.34e-02 | 5.58e-01 |
| CES3   | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.03 | 8.79e-01 | 9.98e-01 |
| CES3   | Pulmón      | SN1 | SN2 | 0.05  | 7.90e-01 | 9.70e-01 |
| CES3   | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.12  | 5.45e-01 | 9.01e-01 |
| CES3   | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.07  | 6.99e-01 | 9.76e-01 |
| CFC1B  | Colorrectal | SN1 | SN2 | -1.27 | 6.22e-03 | 3.28e-01 |
| CFC1B  | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.41  | 4.04e-01 | 9.79e-01 |
| CFC1B  | Colorrectal | SN2 | SN3 | 1.68  | 7.21e-04 | 1.92e-01 |
| CFC1B  | Estómago    | SN1 | SN2 | -0.70 | 2.09e-02 | 3.69e-01 |
| CFC1B  | Estómago    | SN1 | SN3 | -0.56 | 6.21e-02 | 5.31e-01 |
| CFC1B  | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.14  | 6.57e-01 | 9.74e-01 |
| CFC1B  | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -0.53 | 4.70e-02 | 5.39e-01 |
| CFC1B  | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -0.53 | 4.82e-02 | 5.21e-01 |
| CFC1B  | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.01  | 9.72e-01 | 1.00E+00 |
| CFC1B  | Páncreas    | SN1 | SN2 | -1.08 | 5.90e-02 | 5.52e-01 |
| CFC1B  | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.24 | 6.56e-01 | 9.26e-01 |
| CFC1B  | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.84  | 1.07e-01 | 9.98e-01 |
| CFC1B  | Pulmón      | SN1 | SN2 | 0.21  | 5.54e-01 | 9.28e-01 |
| CFC1B  | Pulmón      | SN1 | SN3 | -1.43 | 2.40e-04 | 5.48e-02 |
| CFC1B  | Pulmón      | SN2 | SN3 | -1.65 | 5.40e-06 | 8.76e-03 |
| CHGA   | Colorrectal | SN1 | SN2 | 0.54  | 2.61e-01 | 7.44e-01 |
| CHGA   | Colorrectal | SN1 | SN3 | -1.00 | 6.59e-02 | 9.32e-01 |
| CHGA   | Colorrectal | SN2 | SN3 | -1.54 | 3.41e-03 | 2.61e-01 |
| CHGA   | Estómago    | SN1 | SN2 | -0.75 | 3.47e-02 | 4.37e-01 |
| CHGA   | Estómago    | SN1 | SN3 | -0.88 | 1.36e-02 | 3.32e-01 |
| CHGA   | Estómago    | SN2 | SN3 | -0.14 | 7.17e-01 | 9.79e-01 |

Continúa en la siguiente página

|        |             |     |     |       |          |          |
|--------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| CHGA   | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -0.73 | 1.22e-02 | 3.63e-01 |
| CHGA   | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -0.87 | 2.90e-03 | 1.88e-01 |
| CHGA   | I.Delgado   | SN2 | SN3 | -0.14 | 5.92e-01 | 9.93e-01 |
| CHGA   | Páncreas    | SN1 | SN2 | -0.45 | 1.80e-01 | 7.10e-01 |
| CHGA   | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.90 | 6.47e-03 | 4.28e-01 |
| CHGA   | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.45 | 1.47e-01 | 9.98e-01 |
| CHGA   | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.51 | 7.92e-02 | 7.41e-01 |
| CHGA   | Pulmón      | SN1 | SN3 | -1.72 | 3.19e-07 | 2.04e-03 |
| CHGA   | Pulmón      | SN2 | SN3 | -1.21 | 2.28e-05 | 2.09e-02 |
| CHGB   | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.87 | 2.39e-02 | 4.43e-01 |
| CHGB   | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.52 | 2.12e-01 | 9.72e-01 |
| CHGB   | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.35  | 3.69e-01 | 7.24e-01 |
| CHGB   | Estómago    | SN1 | SN2 | -0.75 | 7.91e-03 | 2.97e-01 |
| CHGB   | Estómago    | SN1 | SN3 | -1.12 | 1.64e-04 | 7.11e-02 |
| CHGB   | Estómago    | SN2 | SN3 | -0.37 | 2.10e-01 | 9.29e-01 |
| CHGB   | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -1.14 | 6.42e-04 | 1.23e-01 |
| CHGB   | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -0.93 | 4.48e-03 | 2.37e-01 |
| CHGB   | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.22  | 4.53e-01 | 9.88e-01 |
| CHGB   | Páncreas    | SN1 | SN2 | -0.87 | 1.74e-02 | 4.39e-01 |
| CHGB   | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.47 | 1.60e-01 | 7.13e-01 |
| CHGB   | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.39  | 2.28e-01 | 9.98e-01 |
| CHGB   | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.04 | 9.26e-01 | 9.91e-01 |
| CHGB   | Pulmón      | SN1 | SN3 | -1.78 | 6.74e-05 | 3.07e-02 |
| CHGB   | Pulmón      | SN2 | SN3 | -1.74 | 1.58e-05 | 1.68e-02 |
| CLCA1  | Colorrectal | SN1 | SN2 | 1.89  | 3.31e-04 | 1.34e-01 |
| CLCA1  | Colorrectal | SN1 | SN3 | 1.21  | 2.93e-02 | 9.11e-01 |
| CLCA1  | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.69 | 1.68e-01 | 5.69e-01 |
| CLCA1  | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.55  | 2.65e-01 | 7.24e-01 |
| CLCA1  | Estómago    | SN1 | SN3 | 1.29  | 1.17e-02 | 3.20e-01 |
| CLCA1  | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.74  | 1.74e-01 | 9.29e-01 |
| CLCA1  | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.32  | 8.94e-04 | 1.40e-01 |
| CLCA1  | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 1.58  | 8.24e-05 | 3.49e-02 |
| CLCA1  | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.26  | 4.48e-01 | 9.88e-01 |
| CLCA1  | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.15  | 4.98e-01 | 8.87e-01 |
| CLCA1  | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.14 | 4.99e-01 | 8.76e-01 |
| CLCA1  | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.28 | 1.57e-01 | 9.98e-01 |
| CLCA1  | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.02 | 9.37e-01 | 9.93e-01 |
| CLCA1  | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.24  | 2.51e-01 | 7.53e-01 |
| CLCA1  | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.26  | 1.69e-01 | 8.45e-01 |
| CRYBA2 | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.22 | 1.92e-01 | 7.02e-01 |
| CRYBA2 | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.05 | 7.71e-01 | 9.90e-01 |
| CRYBA2 | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.17  | 3.39e-01 | 7.07e-01 |
| CRYBA2 | Estómago    | SN1 | SN2 | -0.41 | 9.41e-03 | 3.03e-01 |
| CRYBA2 | Estómago    | SN1 | SN3 | -0.26 | 8.77e-02 | 5.92e-01 |
| CRYBA2 | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.15  | 3.74e-01 | 9.38e-01 |
| CRYBA2 | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -0.47 | 3.08e-02 | 4.75e-01 |
| CRYBA2 | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -0.31 | 1.48e-01 | 6.89e-01 |
| CRYBA2 | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.16  | 4.04e-01 | 9.86e-01 |

Continúa en la siguiente página

|         |             |     |     |       |          |          |
|---------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| CRYBA2  | Páncreas    | SN1 | SN2 | -0.23 | 4.67e-01 | 8.78e-01 |
| CRYBA2  | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.53 | 8.62e-02 | 6.28e-01 |
| CRYBA2  | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.29 | 3.17e-01 | 9.98e-01 |
| CRYBA2  | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.15 | 6.16e-01 | 9.40e-01 |
| CRYBA2  | Pulmón      | SN1 | SN3 | -1.46 | 1.03e-05 | 1.03e-02 |
| CRYBA2  | Pulmón      | SN2 | SN3 | -1.31 | 8.58e-06 | 1.11e-02 |
| CYP2C18 | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.32 | 1.32e-01 | 6.52e-01 |
| CYP2C18 | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.28 | 2.42e-01 | 9.76e-01 |
| CYP2C18 | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.04  | 8.41e-01 | 9.51e-01 |
| CYP2C18 | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.66  | 1.50e-02 | 3.45e-01 |
| CYP2C18 | Estómago    | SN1 | SN3 | 1.03  | 3.64e-04 | 9.20e-02 |
| CYP2C18 | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.36  | 2.16e-01 | 9.29e-01 |
| CYP2C18 | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 0.84  | 2.47e-04 | 7.77e-02 |
| CYP2C18 | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 0.99  | 2.04e-05 | 1.73e-02 |
| CYP2C18 | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.15  | 4.50e-01 | 9.88e-01 |
| CYP2C18 | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.69  | 2.00e-02 | 4.48e-01 |
| CYP2C18 | Páncreas    | SN1 | SN3 | 0.67  | 1.73e-02 | 4.84e-01 |
| CYP2C18 | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.02 | 9.41e-01 | 9.98e-01 |
| CYP2C18 | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.15 | 3.82e-01 | 8.82e-01 |
| CYP2C18 | Pulmón      | SN1 | SN3 | -0.09 | 6.17e-01 | 9.23e-01 |
| CYP2C18 | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.06  | 6.81e-01 | 9.74e-01 |
| DDC     | Colorrectal | SN1 | SN2 | 0.41  | 1.15e-01 | 6.33e-01 |
| DDC     | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.77 | 1.11e-02 | 8.34e-01 |
| DDC     | Colorrectal | SN2 | SN3 | -1.18 | 8.95e-05 | 1.57e-01 |
| DDC     | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.05  | 7.60e-01 | 9.42e-01 |
| DDC     | Estómago    | SN1 | SN3 | -0.06 | 6.89e-01 | 9.48e-01 |
| DDC     | Estómago    | SN2 | SN3 | -0.11 | 5.24e-01 | 9.55e-01 |
| DDC     | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -0.58 | 3.63e-02 | 4.96e-01 |
| DDC     | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -0.32 | 2.37e-01 | 7.66e-01 |
| DDC     | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.26  | 2.94e-01 | 9.76e-01 |
| DDC     | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.05  | 8.71e-01 | 9.82e-01 |
| DDC     | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.47 | 1.46e-01 | 6.97e-01 |
| DDC     | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.52 | 9.68e-02 | 9.98e-01 |
| DDC     | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.31 | 3.37e-01 | 8.63e-01 |
| DDC     | Pulmón      | SN1 | SN3 | -1.47 | 4.40e-05 | 2.58e-02 |
| DDC     | Pulmón      | SN2 | SN3 | -1.16 | 2.31e-04 | 7.62e-02 |
| F5      | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.93 | 2.41e-03 | 2.46e-01 |
| F5      | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.28 | 3.86e-01 | 9.79e-01 |
| F5      | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.65  | 3.29e-02 | 3.69e-01 |
| F5      | Estómago    | SN1 | SN2 | -0.36 | 8.21e-02 | 5.43e-01 |
| F5      | Estómago    | SN1 | SN3 | -0.24 | 2.46e-01 | 7.64e-01 |
| F5      | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.12  | 5.84e-01 | 9.65e-01 |
| F5      | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -0.48 | 1.27e-01 | 6.76e-01 |
| F5      | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -0.31 | 3.14e-01 | 8.14e-01 |
| F5      | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.17  | 5.54e-01 | 9.93e-01 |
| F5      | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.28  | 4.73e-01 | 8.80e-01 |
| F5      | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.81 | 3.59e-02 | 5.40e-01 |
| F5      | Páncreas    | SN2 | SN3 | -1.09 | 4.51e-03 | 9.98e-01 |

Continúa en la siguiente página

|       |             |     |     |       |          |          |
|-------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| F5    | Pulmón      | SN1 | SN2 | 0.12  | 6.98e-01 | 9.54e-01 |
| F5    | Pulmón      | SN1 | SN3 | -1.64 | 4.17e-06 | 7.15e-03 |
| F5    | Pulmón      | SN2 | SN3 | -1.76 | 9.97e-08 | 6.48e-04 |
| FABP1 | Colorrectal | SN1 | SN2 | 2.62  | 5.17e-04 | 1.43e-01 |
| FABP1 | Colorrectal | SN1 | SN3 | 1.73  | 3.01e-02 | 9.11e-01 |
| FABP1 | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.89 | 2.13e-01 | 6.11e-01 |
| FABP1 | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.84  | 2.73e-01 | 7.30e-01 |
| FABP1 | Estómago    | SN1 | SN3 | 2.65  | 1.31e-03 | 1.33e-01 |
| FABP1 | Estómago    | SN2 | SN3 | 1.80  | 3.78e-02 | 9.29e-01 |
| FABP1 | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 3.28  | 4.64e-07 | 3.30e-03 |
| FABP1 | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 3.08  | 1.41e-06 | 3.86e-03 |
| FABP1 | I.Delgado   | SN2 | SN3 | -0.21 | 6.93e-01 | 9.96e-01 |
| FABP1 | Páncreas    | SN1 | SN2 | 1.14  | 8.03e-02 | 5.93e-01 |
| FABP1 | Páncreas    | SN1 | SN3 | 1.08  | 7.91e-02 | 6.15e-01 |
| FABP1 | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.06 | 9.25e-01 | 9.98e-01 |
| FABP1 | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.44 | 3.47e-01 | 8.68e-01 |
| FABP1 | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.11  | 8.11e-01 | 9.70e-01 |
| FABP1 | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.55  | 1.91e-01 | 8.52e-01 |
| FABP2 | Colorrectal | SN1 | SN2 | 0.35  | 1.34e-01 | 6.53e-01 |
| FABP2 | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.20  | 4.37e-01 | 9.82e-01 |
| FABP2 | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.15 | 5.32e-01 | 8.20e-01 |
| FABP2 | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.91  | 5.65e-02 | 4.90e-01 |
| FABP2 | Estómago    | SN1 | SN3 | 1.43  | 4.07e-03 | 2.07e-01 |
| FABP2 | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.51  | 3.24e-01 | 9.38e-01 |
| FABP2 | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.76  | 2.46e-05 | 3.02e-02 |
| FABP2 | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 2.09  | 9.01e-07 | 2.93e-03 |
| FABP2 | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.33  | 3.45e-01 | 9.77e-01 |
| FABP2 | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.00  | 9.80e-01 | 9.98e-01 |
| FABP2 | Páncreas    | SN1 | SN3 | 0.03  | 8.40e-01 | 9.69e-01 |
| FABP2 | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.04  | 8.15e-01 | 9.98e-01 |
| FABP2 | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.01 | 9.55e-01 | 9.94e-01 |
| FABP2 | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.10  | 4.98e-01 | 8.83e-01 |
| FABP2 | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.11  | 4.10e-01 | 9.31e-01 |
| GSTA1 | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.18 | 5.31e-01 | 8.72e-01 |
| GSTA1 | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.18 | 5.91e-01 | 9.84e-01 |
| GSTA1 | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.01  | 9.81e-01 | 9.95e-01 |
| GSTA1 | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.81  | 1.03e-02 | 3.12e-01 |
| GSTA1 | Estómago    | SN1 | SN3 | 1.55  | 8.81e-06 | 3.00e-02 |
| GSTA1 | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.74  | 2.99e-02 | 9.29e-01 |
| GSTA1 | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.51  | 4.90e-05 | 3.48e-02 |
| GSTA1 | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 1.22  | 7.22e-04 | 1.04e-01 |
| GSTA1 | I.Delgado   | SN2 | SN3 | -0.30 | 3.47e-01 | 9.77e-01 |
| GSTA1 | Páncreas    | SN1 | SN2 | 1.21  | 1.46e-03 | 3.36e-01 |
| GSTA1 | Páncreas    | SN1 | SN3 | 1.40  | 1.48e-04 | 2.69e-01 |
| GSTA1 | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.20  | 5.41e-01 | 9.98e-01 |
| GSTA1 | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.04 | 8.62e-01 | 9.82e-01 |
| GSTA1 | Pulmón      | SN1 | SN3 | -0.13 | 6.20e-01 | 9.23e-01 |
| GSTA1 | Pulmón      | SN2 | SN3 | -0.08 | 7.15e-01 | 9.78e-01 |

Continúa en la siguiente página

|        |             |     |     |       |          |          |
|--------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| IGLL5  | Colorrectal | SN1 | SN2 | 1.26  | 2.24e-06 | 4.37e-02 |
| IGLL5  | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.48  | 5.74e-02 | 9.28e-01 |
| IGLL5  | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.77 | 1.75e-03 | 2.50e-01 |
| IGLL5  | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.53  | 3.49e-02 | 4.38e-01 |
| IGLL5  | Estómago    | SN1 | SN3 | 0.75  | 3.55e-03 | 1.97e-01 |
| IGLL5  | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.22  | 4.03e-01 | 9.38e-01 |
| IGLL5  | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 0.38  | 1.38e-01 | 6.89e-01 |
| IGLL5  | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 0.40  | 1.19e-01 | 6.56e-01 |
| IGLL5  | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.02  | 9.47e-01 | 1.00E+00 |
| IGLL5  | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.24  | 2.36e-01 | 7.59e-01 |
| IGLL5  | Páncreas    | SN1 | SN3 | 0.15  | 4.29e-01 | 8.50e-01 |
| IGLL5  | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.09 | 6.31e-01 | 9.98e-01 |
| IGLL5  | Pulmón      | SN1 | SN2 | 0.42  | 1.25e-01 | 7.78e-01 |
| IGLL5  | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.35  | 1.99e-01 | 7.11e-01 |
| IGLL5  | Pulmón      | SN2 | SN3 | -0.07 | 7.87e-01 | 9.87e-01 |
| JCHAIN | Colorrectal | SN1 | SN2 | 2.68  | 1.55e-04 | 1.08e-01 |
| JCHAIN | Colorrectal | SN1 | SN3 | 1.81  | 1.45e-02 | 8.34e-01 |
| JCHAIN | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.87 | 1.89e-01 | 5.90e-01 |
| JCHAIN | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.80  | 1.24e-01 | 5.91e-01 |
| JCHAIN | Estómago    | SN1 | SN3 | 1.90  | 7.06e-04 | 1.15e-01 |
| JCHAIN | Estómago    | SN2 | SN3 | 1.09  | 6.02e-02 | 9.29e-01 |
| JCHAIN | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.96  | 1.78e-04 | 6.56e-02 |
| JCHAIN | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 2.17  | 3.72e-05 | 2.13e-02 |
| JCHAIN | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.20  | 6.47e-01 | 9.96e-01 |
| JCHAIN | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.97  | 4.53e-02 | 5.22e-01 |
| JCHAIN | Páncreas    | SN1 | SN3 | 0.48  | 2.90e-01 | 7.88e-01 |
| JCHAIN | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.50 | 2.60e-01 | 9.98e-01 |
| JCHAIN | Pulmón      | SN1 | SN2 | 0.09  | 8.85e-01 | 9.85e-01 |
| JCHAIN | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.84  | 1.87e-01 | 7.05e-01 |
| JCHAIN | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.75  | 1.86e-01 | 8.51e-01 |
| MEIS2  | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.27 | 3.99e-01 | 8.20e-01 |
| MEIS2  | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.59 | 1.05e-01 | 9.57e-01 |
| MEIS2  | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.32 | 3.34e-01 | 7.04e-01 |
| MEIS2  | Estómago    | SN1 | SN2 | -0.09 | 7.05e-01 | 9.24e-01 |
| MEIS2  | Estómago    | SN1 | SN3 | -0.53 | 2.39e-02 | 3.98e-01 |
| MEIS2  | Estómago    | SN2 | SN3 | -0.44 | 8.14e-02 | 9.29e-01 |
| MEIS2  | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -0.06 | 8.46e-01 | 9.75e-01 |
| MEIS2  | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -0.23 | 4.70e-01 | 8.78e-01 |
| MEIS2  | I.Delgado   | SN2 | SN3 | -0.17 | 5.67e-01 | 9.93e-01 |
| MEIS2  | Páncreas    | SN1 | SN2 | -0.24 | 4.68e-01 | 8.78e-01 |
| MEIS2  | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.12 | 7.04e-01 | 9.39e-01 |
| MEIS2  | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.12  | 6.91e-01 | 9.98e-01 |
| MEIS2  | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.03 | 9.36e-01 | 9.92e-01 |
| MEIS2  | Pulmón      | SN1 | SN3 | -1.57 | 7.29e-05 | 3.18e-02 |
| MEIS2  | Pulmón      | SN2 | SN3 | -1.54 | 1.64e-05 | 1.68e-02 |
| MUC3A  | Colorrectal | SN1 | SN2 | 0.22  | 5.03e-01 | 8.63e-01 |
| MUC3A  | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.71  | 6.16e-02 | 9.31e-01 |
| MUC3A  | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.49  | 1.60e-01 | 5.62e-01 |

Continúa en la siguiente página

|         |             |     |     |       |          |          |
|---------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| MUC3A   | Estómago    | SN1 | SN2 | 1.10  | 8.60e-03 | 3.02e-01 |
| MUC3A   | Estómago    | SN1 | SN3 | 0.96  | 2.00e-02 | 3.77e-01 |
| MUC3A   | Estómago    | SN2 | SN3 | -0.14 | 7.55e-01 | 9.83e-01 |
| MUC3A   | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.65  | 5.54e-07 | 3.30e-03 |
| MUC3A   | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 1.46  | 4.96e-06 | 7.38e-03 |
| MUC3A   | I.Delgado   | SN2 | SN3 | -0.19 | 4.73e-01 | 9.93e-01 |
| MUC3A   | Páncreas    | SN1 | SN2 | -0.30 | 4.99e-01 | 8.87e-01 |
| MUC3A   | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.10 | 8.16e-01 | 9.64e-01 |
| MUC3A   | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.20  | 6.20e-01 | 9.98e-01 |
| MUC3A   | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.06 | 8.68e-01 | 9.84e-01 |
| MUC3A   | Pulmón      | SN1 | SN3 | -0.09 | 7.96e-01 | 9.69e-01 |
| MUC3A   | Pulmón      | SN2 | SN3 | -0.03 | 9.15e-01 | 9.95e-01 |
| OLFM4   | Colorrectal | SN1 | SN2 | 1.39  | 1.25e-02 | 3.96e-01 |
| OLFM4   | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.84  | 1.62e-01 | 9.69e-01 |
| OLFM4   | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.55 | 3.21e-01 | 6.94e-01 |
| OLFM4   | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.77  | 2.32e-01 | 7.04e-01 |
| OLFM4   | Estómago    | SN1 | SN3 | 2.07  | 2.45e-03 | 1.69e-01 |
| OLFM4   | Estómago    | SN2 | SN3 | 1.30  | 7.13e-02 | 9.29e-01 |
| OLFM4   | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.65  | 1.61e-03 | 1.79e-01 |
| OLFM4   | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 2.12  | 7.06e-05 | 3.15e-02 |
| OLFM4   | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.47  | 3.08e-01 | 9.76e-01 |
| OLFM4   | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.07  | 8.52e-01 | 9.78e-01 |
| OLFM4   | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.10 | 7.59e-01 | 9.49e-01 |
| OLFM4   | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.17 | 6.05e-01 | 9.98e-01 |
| OLFM4   | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.23 | 4.52e-01 | 9.05e-01 |
| OLFM4   | Pulmón      | SN1 | SN3 | -0.02 | 9.51e-01 | 9.92e-01 |
| OLFM4   | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.21  | 4.43e-01 | 9.39e-01 |
| PIGR    | Colorrectal | SN1 | SN2 | 2.48  | 2.40e-04 | 1.23e-01 |
| PIGR    | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.98  | 1.56e-01 | 9.69e-01 |
| PIGR    | Colorrectal | SN2 | SN3 | -1.50 | 2.15e-02 | 3.38e-01 |
| PIGR    | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.90  | 1.12e-01 | 5.75e-01 |
| PIGR    | Estómago    | SN1 | SN3 | 1.79  | 2.69e-03 | 1.79e-01 |
| PIGR    | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.89  | 1.56e-01 | 9.29e-01 |
| PIGR    | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.96  | 1.29e-04 | 5.58e-02 |
| PIGR    | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 1.99  | 9.34e-05 | 3.72e-02 |
| PIGR    | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.02  | 9.55e-01 | 1.00E+00 |
| PIGR    | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.30  | 4.72e-01 | 8.79e-01 |
| PIGR    | Páncreas    | SN1 | SN3 | 0.01  | 9.85e-01 | 9.98e-01 |
| PIGR    | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.29 | 4.47e-01 | 9.98e-01 |
| PIGR    | Pulmón      | SN1 | SN2 | 0.05  | 8.84e-01 | 9.85e-01 |
| PIGR    | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.51  | 1.58e-01 | 6.82e-01 |
| PIGR    | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.46  | 1.54e-01 | 8.32e-01 |
| PIK3C2G | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.38 | 2.24e-01 | 7.23e-01 |
| PIK3C2G | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.02 | 9.66e-01 | 9.99e-01 |
| PIK3C2G | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.37  | 2.58e-01 | 6.47e-01 |
| PIK3C2G | Estómago    | SN1 | SN2 | 2.28  | 1.39e-04 | 1.41e-01 |
| PIK3C2G | Estómago    | SN1 | SN3 | 2.62  | 2.00e-05 | 3.00e-02 |
| PIK3C2G | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.35  | 5.57e-01 | 9.60e-01 |

Continúa en la siguiente página

|          |             |     |     |       |          |          |
|----------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| PIK3C2G  | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.00  | 2.72e-02 | 4.53e-01 |
| PIK3C2G  | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 1.18  | 8.92e-03 | 3.11e-01 |
| PIK3C2G  | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.18  | 6.52e-01 | 9.96e-01 |
| PIK3C2G  | Páncreas    | SN1 | SN2 | 1.59  | 2.79e-04 | 2.85e-01 |
| PIK3C2G  | Páncreas    | SN1 | SN3 | 1.31  | 1.21e-03 | 3.48e-01 |
| PIK3C2G  | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.27 | 4.57e-01 | 9.98e-01 |
| PIK3C2G  | Pulmón      | SN1 | SN2 | 0.42  | 3.36e-01 | 8.63e-01 |
| PIK3C2G  | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.49  | 2.66e-01 | 7.62e-01 |
| PIK3C2G  | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.07  | 8.54e-01 | 9.93e-01 |
| PTPRN    | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.63 | 6.37e-02 | 5.62e-01 |
| PTPRN    | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.17 | 6.53e-01 | 9.86e-01 |
| PTPRN    | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.47  | 1.83e-01 | 5.83e-01 |
| PTPRN    | Estómago    | SN1 | SN2 | -0.73 | 4.14e-03 | 2.55e-01 |
| PTPRN    | Estómago    | SN1 | SN3 | -0.67 | 8.03e-03 | 2.80e-01 |
| PTPRN    | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.06  | 8.16e-01 | 9.90e-01 |
| PTPRN    | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -1.18 | 3.38e-04 | 8.58e-02 |
| PTPRN    | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -0.92 | 3.98e-03 | 2.20e-01 |
| PTPRN    | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.26  | 3.55e-01 | 9.80e-01 |
| PTPRN    | Páncreas    | SN1 | SN2 | -0.72 | 5.79e-02 | 5.50e-01 |
| PTPRN    | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.25 | 4.85e-01 | 8.72e-01 |
| PTPRN    | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.47  | 1.71e-01 | 9.98e-01 |
| PTPRN    | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.77 | 2.62e-03 | 4.93e-01 |
| PTPRN    | Pulmón      | SN1 | SN3 | -1.53 | 1.22e-07 | 1.81e-03 |
| PTPRN    | Pulmón      | SN2 | SN3 | -0.76 | 1.10e-03 | 1.68e-01 |
| QPCT     | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.23 | 5.95e-01 | 8.95e-01 |
| QPCT     | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.48  | 3.23e-01 | 9.78e-01 |
| QPCT     | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.71  | 1.18e-01 | 5.18e-01 |
| QPCT     | Estómago    | SN1 | SN2 | -0.63 | 9.35e-03 | 3.03e-01 |
| QPCT     | Estómago    | SN1 | SN3 | -0.85 | 7.04e-04 | 1.15e-01 |
| QPCT     | Estómago    | SN2 | SN3 | -0.22 | 3.86e-01 | 9.38e-01 |
| QPCT     | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -0.78 | 4.08e-03 | 2.45e-01 |
| QPCT     | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -0.54 | 3.92e-02 | 4.89e-01 |
| QPCT     | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.24  | 3.23e-01 | 9.77e-01 |
| QPCT     | Páncreas    | SN1 | SN2 | -0.28 | 4.30e-01 | 8.64e-01 |
| QPCT     | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.16 | 6.44e-01 | 9.24e-01 |
| QPCT     | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.13  | 7.02e-01 | 9.98e-01 |
| QPCT     | Pulmón      | SN1 | SN2 | 0.07  | 8.07e-01 | 9.73e-01 |
| QPCT     | Pulmón      | SN1 | SN3 | -1.10 | 5.21e-04 | 8.06e-02 |
| QPCT     | Pulmón      | SN2 | SN3 | -1.17 | 5.05e-05 | 3.28e-02 |
| RAP1GAP2 | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.91 | 9.23e-05 | 1.08e-01 |
| RAP1GAP2 | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.73 | 3.08e-03 | 8.20e-01 |
| RAP1GAP2 | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.18  | 4.02e-01 | 7.49e-01 |
| RAP1GAP2 | Estómago    | SN1 | SN2 | -0.54 | 2.00e-02 | 3.67e-01 |
| RAP1GAP2 | Estómago    | SN1 | SN3 | -0.85 | 4.69e-04 | 9.93e-02 |
| RAP1GAP2 | Estómago    | SN2 | SN3 | -0.32 | 2.05e-01 | 9.29e-01 |
| RAP1GAP2 | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -0.47 | 1.36e-02 | 3.74e-01 |
| RAP1GAP2 | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -0.80 | 4.65e-05 | 2.49e-02 |
| RAP1GAP2 | I.Delgado   | SN2 | SN3 | -0.33 | 4.95e-02 | 8.92e-01 |
| RAP1GAP2 | Páncreas    | SN1 | SN2 | -0.87 | 2.74e-03 | 3.38e-01 |

Continúa en la siguiente página

|          |             |     |     |       |          |          |
|----------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| RAP1GAP2 | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.53 | 4.70e-02 | 5.65e-01 |
| RAP1GAP2 | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.34  | 1.79e-01 | 9.98e-01 |
| RAP1GAP2 | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.27 | 2.93e-01 | 8.55e-01 |
| RAP1GAP2 | Pulmón      | SN1 | SN3 | -0.25 | 3.34e-01 | 8.10e-01 |
| RAP1GAP2 | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.02  | 9.34e-01 | 9.95e-01 |
| RNASE1   | Colorrectal | SN1 | SN2 | 0.73  | 8.02e-04 | 1.75e-01 |
| RNASE1   | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.18  | 4.10e-01 | 9.80e-01 |
| RNASE1   | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.55 | 1.18e-02 | 3.04e-01 |
| RNASE1   | Estómago    | SN1 | SN2 | 1.06  | 9.33e-04 | 1.90e-01 |
| RNASE1   | Estómago    | SN1 | SN3 | 1.44  | 2.00e-05 | 3.00e-02 |
| RNASE1   | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.39  | 2.40e-01 | 9.29e-01 |
| RNASE1   | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 0.10  | 6.60e-01 | 9.34e-01 |
| RNASE1   | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 0.25  | 2.79e-01 | 7.91e-01 |
| RNASE1   | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.15  | 4.85e-01 | 9.93e-01 |
| RNASE1   | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.66  | 3.60e-01 | 8.36e-01 |
| RNASE1   | Páncreas    | SN1 | SN3 | 0.91  | 1.85e-01 | 7.35e-01 |
| RNASE1   | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.25  | 7.03e-01 | 9.98e-01 |
| RNASE1   | Pulmón      | SN1 | SN2 | 0.69  | 8.48e-03 | 5.86e-01 |
| RNASE1   | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.84  | 1.75e-03 | 1.49e-01 |
| RNASE1   | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.15  | 5.00e-01 | 9.48e-01 |
| SI       | Colorrectal | SN1 | SN2 | 0.08  | 8.68e-01 | 9.73e-01 |
| SI       | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.31  | 5.56e-01 | 9.84e-01 |
| SI       | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.24  | 6.33e-01 | 8.66e-01 |
| SI       | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.95  | 9.89e-02 | 5.64e-01 |
| SI       | Estómago    | SN1 | SN3 | 1.70  | 4.46e-03 | 2.14e-01 |
| SI       | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.75  | 2.31e-01 | 9.29e-01 |
| SI       | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.82  | 4.83e-05 | 3.48e-02 |
| SI       | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 2.06  | 5.10e-06 | 7.38e-03 |
| SI       | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.24  | 5.20e-01 | 9.93e-01 |
| SI       | Páncreas    | SN1 | SN2 | -0.02 | 9.26e-01 | 9.92e-01 |
| SI       | Páncreas    | SN1 | SN3 | 0.10  | 6.43e-01 | 9.24e-01 |
| SI       | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.13  | 5.65e-01 | 9.98e-01 |
| SI       | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.08 | 7.48e-01 | 9.63e-01 |
| SI       | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.04  | 8.66e-01 | 9.78e-01 |
| SI       | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.12  | 5.85e-01 | 9.60e-01 |
| SLC15A1  | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.34 | 4.32e-01 | 8.36e-01 |
| SLC15A1  | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.25 | 6.04e-01 | 9.84e-01 |
| SLC15A1  | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.09  | 8.41e-01 | 9.51e-01 |
| SLC15A1  | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.62  | 9.88e-02 | 5.64e-01 |
| SLC15A1  | Estómago    | SN1 | SN3 | 0.97  | 1.20e-02 | 3.22e-01 |
| SLC15A1  | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.35  | 3.93e-01 | 9.38e-01 |
| SLC15A1  | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.05  | 4.80e-04 | 1.04e-01 |
| SLC15A1  | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 1.70  | 1.16e-07 | 1.56e-03 |
| SLC15A1  | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.65  | 1.40e-02 | 7.84e-01 |
| SLC15A1  | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.83  | 8.23e-03 | 3.82e-01 |
| SLC15A1  | Páncreas    | SN1 | SN3 | 0.61  | 3.54e-02 | 5.38e-01 |
| SLC15A1  | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.21 | 4.38e-01 | 9.98e-01 |
| SLC15A1  | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.02 | 9.28e-01 | 9.91e-01 |
| SLC15A1  | Pulmón      | SN1 | SN3 | -0.01 | 9.64e-01 | 9.95e-01 |

Continúa en la siguiente página

|         |             |     |     |       |          |          |
|---------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| SLC15A1 | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.01  | 9.60e-01 | 9.98e-01 |
| TCEA3   | Colorrectal | SN1 | SN2 | 0.86  | 6.38e-04 | 1.64e-01 |
| TCEA3   | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.21  | 4.20e-01 | 9.82e-01 |
| TCEA3   | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.65 | 9.30e-03 | 2.86e-01 |
| TCEA3   | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.18  | 3.41e-01 | 7.73e-01 |
| TCEA3   | Estómago    | SN1 | SN3 | 0.20  | 2.89e-01 | 7.96e-01 |
| TCEA3   | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.02  | 9.20e-01 | 9.97e-01 |
| TCEA3   | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 0.46  | 1.50e-02 | 3.77e-01 |
| TCEA3   | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 0.75  | 1.37e-04 | 4.52e-02 |
| TCEA3   | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.28  | 9.50e-02 | 9.24e-01 |
| TCEA3   | Páncreas    | SN1 | SN2 | 1.03  | 8.03e-03 | 3.78e-01 |
| TCEA3   | Páncreas    | SN1 | SN3 | 1.02  | 6.06e-03 | 4.24e-01 |
| TCEA3   | Páncreas    | SN2 | SN3 | -0.02 | 9.63e-01 | 9.98e-01 |
| TCEA3   | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.28 | 3.04e-01 | 8.56e-01 |
| TCEA3   | Pulmón      | SN1 | SN3 | 0.49  | 7.79e-02 | 5.81e-01 |
| TCEA3   | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.77  | 2.61e-03 | 2.62e-01 |
| TCEAL2  | Colorrectal | SN1 | SN2 | -0.80 | 1.07e-03 | 1.79e-01 |
| TCEAL2  | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.48 | 6.41e-02 | 9.31e-01 |
| TCEAL2  | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.32  | 1.73e-01 | 5.73e-01 |
| TCEAL2  | Estómago    | SN1 | SN2 | -0.83 | 1.01e-03 | 1.91e-01 |
| TCEAL2  | Estómago    | SN1 | SN3 | -0.76 | 2.18e-03 | 1.67e-01 |
| TCEAL2  | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.06  | 8.01e-01 | 9.89e-01 |
| TCEAL2  | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -0.77 | 1.20e-04 | 5.46e-02 |
| TCEAL2  | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -0.82 | 4.68e-05 | 2.49e-02 |
| TCEAL2  | I.Delgado   | SN2 | SN3 | -0.04 | 7.98e-01 | 9.96e-01 |
| TCEAL2  | Páncreas    | SN1 | SN2 | -0.71 | 5.59e-02 | 5.49e-01 |
| TCEAL2  | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.16 | 6.48e-01 | 9.24e-01 |
| TCEAL2  | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.55  | 1.04e-01 | 9.98e-01 |
| TCEAL2  | Pulmón      | SN1 | SN2 | 0.20  | 4.83e-01 | 9.05e-01 |
| TCEAL2  | Pulmón      | SN1 | SN3 | -0.15 | 6.07e-01 | 9.21e-01 |
| TCEAL2  | Pulmón      | SN2 | SN3 | -0.35 | 1.78e-01 | 8.45e-01 |
| UGT2B15 | Colorrectal | SN1 | SN2 | 0.32  | 2.72e-01 | 7.51e-01 |
| UGT2B15 | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.25  | 4.42e-01 | 9.82e-01 |
| UGT2B15 | Colorrectal | SN2 | SN3 | -0.07 | 8.14e-01 | 9.41e-01 |
| UGT2B15 | Estómago    | SN1 | SN2 | 0.70  | 1.15e-02 | 3.17e-01 |
| UGT2B15 | Estómago    | SN1 | SN3 | 1.07  | 2.57e-04 | 8.33e-02 |
| UGT2B15 | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.37  | 2.12e-01 | 9.29e-01 |
| UGT2B15 | I.Delgado   | SN1 | SN2 | 1.28  | 2.15e-04 | 7.44e-02 |
| UGT2B15 | I.Delgado   | SN1 | SN3 | 1.46  | 2.61e-05 | 1.88e-02 |
| UGT2B15 | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.19  | 5.27e-01 | 9.93e-01 |
| UGT2B15 | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.72  | 1.15e-01 | 6.38e-01 |
| UGT2B15 | Páncreas    | SN1 | SN3 | 0.74  | 8.63e-02 | 6.28e-01 |
| UGT2B15 | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.03  | 9.51e-01 | 9.98e-01 |
| UGT2B15 | Pulmón      | SN1 | SN2 | -0.34 | 2.39e-01 | 8.33e-01 |
| UGT2B15 | Pulmón      | SN1 | SN3 | -1.05 | 6.63e-04 | 8.91e-02 |
| UGT2B15 | Pulmón      | SN2 | SN3 | -0.71 | 7.87e-03 | 4.14e-01 |

CL2: Cambio logarítmico en base 2

**Tabla S28.** Resultados del análisis de GSEA entre los distintos subtipos neuroendocrinos indicando la colección de procedencia de cada set de genes.

| VÍA                                  | GRUPO1 | GRUPO2 | P-VALOR  | Q-VALOR  | ES    | NES   | TAMAÑO |
|--------------------------------------|--------|--------|----------|----------|-------|-------|--------|
| Biocarta IL2RB                       | G1     | G3     | 1.49e-03 | 4.38e-02 | 0.50  | 1.82  | 37     |
| Gobp Metabolismo Hormonal            | G1     | G2     | 6.93e-08 | 4.22e-06 | 0.35  | 1.89  | 234    |
| Gobp Metabolismo Hormonal            | G1     | G3     | 3.30e-10 | 2.01e-08 | 0.41  | 2.09  | 234    |
| Hallmark Respuesta Inflamatoria      | G1     | G2     | 3.00e-14 | 1.42e-12 | 0.46  | 2.50  | 199    |
| Hallmark Respuesta Inflamatoria      | G1     | G3     | 1.40e-08 | 2.34e-07 | 0.41  | 2.06  | 199    |
| Hallmark Interferón Gamma            | G1     | G2     | 5.68e-14 | 1.42e-12 | 0.46  | 2.47  | 195    |
| Hallmark Interferón Gamma            | G1     | G3     | 4.36e-11 | 1.09e-09 | 0.45  | 2.24  | 195    |
| Hallmark Targets MYC                 | G1     | G2     | 1.70e-02 | 2.83e-02 | 0.25  | 1.33  | 193    |
| Hallmark Targets MYC                 | G2     | G3     | 1.75e-06 | 4.37e-05 | -0.36 | -1.88 | 193    |
| Hallmark Fosforilación Oxidativa     | G1     | G2     | 6.87e-10 | 5.73e-09 | 0.43  | 2.24  | 183    |
| Hallmark Fosforilación Oxidativa     | G2     | G3     | 1.05e-10 | 5.24e-09 | -0.43 | -2.27 | 183    |
| Hallmark TNF $\alpha$ NFKB           | G1     | G2     | 1.35e-07 | 8.45e-07 | 0.37  | 1.97  | 197    |
| Hallmark TNF $\alpha$ NFKB           | G1     | G3     | 3.96e-04 | 1.98e-03 | 0.32  | 1.59  | 197    |
| Hallmark TNF $\alpha$ NFKB           | G2     | G3     | 2.60e-04 | 2.17e-03 | -0.30 | -1.62 | 197    |
| Hallmark Metabolismo de Xenobióticos | G1     | G2     | 1.96e-13 | 3.27e-12 | 0.45  | 2.40  | 197    |
| Hallmark Metabolismo de Xenobióticos | G1     | G3     | 7.92e-12 | 3.96e-10 | 0.46  | 2.30  | 197    |
| Kegg Apoptosis                       | G1     | G2     | 6.35e-04 | 3.91e-03 | 0.37  | 1.74  | 87     |
| Kegg Apoptosis                       | G1     | G3     | 3.62e-03 | 1.61e-02 | 0.37  | 1.59  | 87     |
| Kegg Receptor Células T              | G1     | G3     | 4.75e-03 | 2.00e-02 | 0.38  | 1.59  | 75     |
| Kegg Ciclo Celular                   | G2     | G3     | 1.55e-04 | 8.26e-03 | -0.36 | -1.77 | 124    |
| Kegg Metabolismo de Ácidos Grasos    | G1     | G2     | 5.61e-07 | 1.79e-05 | 0.62  | 2.39  | 41     |
| Kegg Metabolismo de Ácidos Grasos    | G1     | G3     | 1.41e-05 | 3.17e-04 | 0.58  | 2.17  | 41     |
| Kegg Señalización MAPK               | G1     | G3     | 1.35e-02 | 4.48e-02 | -0.27 | -1.33 | 264    |
| Kegg Ribosoma                        | G1     | G2     | 3.02e-08 | 1.61e-06 | 0.50  | 2.29  | 86     |
| Kegg Ribosoma                        | G2     | G3     | 2.70e-18 | 4.31e-16 | -0.66 | -3.06 | 86     |
| Kegg Receptor Células T              | G1     | G2     | 6.84e-04 | 4.05e-03 | 0.35  | 1.67  | 107    |
| Pid FOXM1                            | G2     | G3     | 4.57e-04 | 4.23e-02 | -0.50 | -1.90 | 39     |
| Pid RB1                              | G2     | G3     | 2.54e-05 | 4.70e-03 | -0.47 | -2.01 | 64     |

Continúa en la siguiente página

|                                         |    |    |          |          |       |       |     |
|-----------------------------------------|----|----|----------|----------|-------|-------|-----|
| Reactome Oxidaciones Biológicas         | G1 | G2 | 1.64e-14 | 2.95e-13 | 0.46  | 2.42  | 203 |
| Reactome Oxidaciones Biológicas         | G1 | G3 | 2.63e-23 | 4.73e-22 | 0.56  | 2.81  | 203 |
| Reactome Replicación de ADN             | G2 | G3 | 8.83e-05 | 2.27e-04 | -0.36 | -1.75 | 127 |
| Reactome Sistema Neuronal               | G1 | G2 | 1.52e-07 | 5.47e-07 | -0.34 | -1.76 | 408 |
| Reactome Sistema Neuronal               | G1 | G3 | 8.46e-07 | 5.07e-06 | -0.31 | -1.66 | 408 |
| Reactome Señalización por Interleucinas | G1 | G2 | 4.06e-08 | 1.82e-07 | 0.29  | 1.70  | 455 |
| Reactome Señalización por Interleucinas | G1 | G3 | 1.18e-03 | 5.31e-03 | 0.25  | 1.40  | 455 |
| Reactome Señalización por Interleucinas | G2 | G3 | 1.27e-03 | 2.08e-03 | -0.24 | -1.37 | 455 |

ES: *enrichment score*; NES: *normalized enrichment score*

**Tabla S29.** Resultados del análisis de GSEA entre los distintos subtipos neuroendocrinos utilizando set de genes de células normales.

| CÉLULA                                                | GRUPO1 | GRUPO2 | P-VALOR  | Q-VALOR  | ES    | NES   | TAMAÑO |
|-------------------------------------------------------|--------|--------|----------|----------|-------|-------|--------|
| Células Gástricas Del Istmo                           | SN1    | SN2    | 5.18e-46 | 5.45e-44 | 0.53  | 3.09  | 439    |
| Células I.Delgado Enteroendocrinas                    | SN1    | SN2    | 1.59e-35 | 5.89e-34 | -0.59 | -2.91 | 278    |
| Células Gástricas Pit Maduras                         | SN1    | SN2    | 5.47e-25 | 1.01e-23 | 0.55  | 2.94  | 214    |
| Enterocitos Maduros Duodeno                           | SN1    | SN2    | 1.31e-24 | 2.08e-23 | 0.53  | 2.84  | 244    |
| Células Madre En Proceso De Diferenciación Duodenales | SN1    | SN2    | 2.04e-21 | 2.83e-20 | 0.47  | 2.61  | 281    |
| Células Pulmón Copa                                   | SN1    | SN2    | 7.22e-20 | 8.91e-19 | 0.58  | 2.97  | 144    |
| Células Pulmón Neuroendocrinas                        | SN1    | SN2    | 3.16e-17 | 3.19e-16 | -0.61 | -2.7  | 122    |
| Células De Tránsito Duodenales                        | SN1    | SN2    | 2.18e-16 | 2.01e-15 | 0.51  | 2.66  | 174    |
| Células Gástricas Con Metaloteína                     | SN1    | SN2    | 3.31e-16 | 2.83e-15 | 0.62  | 2.93  | 96     |
| Células Gástricas X                                   | SN1    | SN2    | 8.04e-16 | 6.37e-15 | -0.52 | -2.44 | 183    |
| Células Páncreas Delta                                | SN1    | SN2    | 9.20e-15 | 6.81e-14 | -0.48 | -2.33 | 239    |
| Células I.Delgado Paneth                              | SN1    | SN2    | 1.06e-14 | 7.36e-14 | 0.41  | 2.24  | 303    |
| Célula Madre Duodeno                                  | SN1    | SN2    | 4.01e-14 | 2.47e-13 | 0.41  | 2.26  | 291    |
| Células Gástricas Enterocromafines                    | SN1    | SN2    | 7.73e-13 | 4.29e-12 | -0.63 | -2.59 | 81     |
| Células I.Delgado Mesenquimales                       | SN1    | SN2    | 2.06e-10 | 1.00e-09 | 0.35  | 1.95  | 323    |
| Células Gástricas Lyz Positivas                       | SN1    | SN2    | 3.26e-10 | 1.45e-09 | 0.51  | 2.47  | 106    |
| Células Epiteliales Alveolares Ii                     | SN1    | SN2    | 5.56e-10 | 2.37e-09 | 0.47  | 2.34  | 130    |
| Células Paneth Duodeno                                | SN1    | SN2    | 1.48e-09 | 5.88e-09 | 0.88  | 2.67  | 15     |
| Células Pulmón Club                                   | SN1    | SN2    | 2.80e-09 | 1.03e-08 | 0.48  | 2.34  | 107    |
| Células Epiteliales Alveolares I                      | SN1    | SN2    | 3.00e-09 | 1.07e-08 | 0.33  | 1.87  | 379    |
| Células Gástricas G                                   | SN1    | SN2    | 6.77e-09 | 2.28e-08 | -0.53 | -2.27 | 94     |
| Células Copa Duodeno                                  | SN1    | SN2    | 1.46e-08 | 4.64e-08 | 0.85  | 2.6   | 15     |
| Células Pulmón Mucosas                                | SN1    | SN2    | 1.96e-08 | 5.87e-08 | 0.46  | 2.25  | 123    |
| Células Gástricas Parietales                          | SN1    | SN2    | 2.88e-07 | 8.00e-07 | 0.35  | 1.86  | 230    |
| Células I.Delgado Mki67 Alto                          | SN1    | SN2    | 2.88e-06 | 7.09e-06 | 0.44  | 2.1   | 95     |
| Enterocitos Intestinales                              | SN1    | SN2    | 3.72e-06 | 8.98e-06 | 0.53  | 2.3   | 56     |
| Células EC Duodeno                                    | SN1    | SN2    | 1.07e-05 | 2.43e-05 | -0.64 | -2.13 | 31     |
| Células Pulmón Basales                                | SN1    | SN2    | 7.22e-05 | 1.43e-04 | 0.33  | 1.72  | 184    |

Continúa en la siguiente página

|                                    |     |     |          |          |       |       |     |
|------------------------------------|-----|-----|----------|----------|-------|-------|-----|
| Células Gástricas De Cuello        | SN1 | SN2 | 2.25e-04 | 4.09e-04 | 0.53  | 2.07  | 35  |
| Células Páncreas Endoteliales      | SN1 | SN2 | 5.59e-04 | 9.39e-04 | 0.26  | 1.46  | 347 |
| Células Gástricas D                | SN1 | SN2 | 1.79e-03 | 2.79e-03 | -0.56 | -1.81 | 26  |
| Células I Duodeno                  | SN1 | SN2 | 3.43e-03 | 5.08e-03 | -0.63 | -1.76 | 16  |
| Células Páncreas Polipeptídicas    | SN1 | SN2 | 7.00e-03 | 9.96e-03 | -0.33 | -1.47 | 142 |
| Células K Duodeno                  | SN1 | SN2 | 2.20e-02 | 3.06e-02 | -0.53 | -1.54 | 18  |
| Enterocitos Maduros Duodeno        | SN1 | SN3 | 3.72e-32 | 1.74e-30 | 0.59  | 3.03  | 244 |
| Células I.Delgado Enteroendocrinas | SN1 | SN3 | 4.69e-32 | 1.74e-30 | -0.58 | -2.9  | 278 |
| Células Gástricas Del Itsmo        | SN1 | SN3 | 2.39e-30 | 6.63e-29 | 0.49  | 2.64  | 439 |
| Células Gástricas Pit Maduras      | SN1 | SN3 | 7.62e-25 | 1.41e-23 | 0.57  | 2.87  | 214 |
| Células I.Delgado Paneth           | SN1 | SN3 | 1.21e-16 | 1.67e-15 | 0.45  | 2.35  | 303 |
| Células Gástricas Con Meotaloteina | SN1 | SN3 | 2.96e-16 | 3.65e-15 | 0.64  | 2.88  | 96  |
| Células Pulmón Neuroendocrinas     | SN1 | SN3 | 6.19e-16 | 6.87e-15 | -0.58 | -2.64 | 122 |
| Células Pulmón Copa                | SN1 | SN3 | 2.79e-15 | 2.82e-14 | 0.55  | 2.65  | 144 |
| Células I.Delgado Mesenquimales    | SN1 | SN3 | 1.74e-13 | 1.61e-12 | 0.41  | 2.16  | 323 |
| Células Gástricas X                | SN1 | SN3 | 6.14e-12 | 5.24e-11 | -0.49 | -2.31 | 183 |
| Enterocitos Intestinales           | SN1 | SN3 | 1.51e-11 | 1.11e-10 | 0.67  | 2.72  | 56  |
| Células Páncreas Delta             | SN1 | SN3 | 8.23e-11 | 5.71e-10 | -0.43 | -2.12 | 239 |
| Células Gástricas Enterocromafines | SN1 | SN3 | 3.45e-10 | 2.26e-09 | -0.59 | -2.48 | 81  |
| Células Epiteliales Alveolares Ii  | SN1 | SN3 | 5.01e-10 | 3.09e-09 | 0.48  | 2.29  | 130 |
| Células Epiteliales Alveolares I   | SN1 | SN3 | 3.21e-09 | 1.62e-08 | 0.35  | 1.86  | 379 |
| Células Paneth Duodeno             | SN1 | SN3 | 5.48e-09 | 2.59e-08 | 0.87  | 2.47  | 15  |
| Células Copa Duodeno               | SN1 | SN3 | 2.59e-08 | 1.15e-07 | 0.85  | 2.41  | 15  |
| Células Gástricas De Cuello        | SN1 | SN3 | 4.89e-08 | 2.09e-07 | 0.68  | 2.48  | 35  |
| Células Pulmón Mucosas             | SN1 | SN3 | 7.70e-07 | 2.76e-06 | 0.44  | 2.06  | 123 |
| Células Páncreas Polipeptídicas    | SN1 | SN3 | 8.20e-07 | 2.84e-06 | -0.42 | -1.97 | 142 |
| Células Gástricas G                | SN1 | SN3 | 6.23e-06 | 1.92e-05 | -0.46 | -2.02 | 94  |
| Células Gástricas D                | SN1 | SN3 | 2.72e-05 | 7.55e-05 | -0.65 | -2.13 | 26  |
| Células EC Duodeno                 | SN1 | SN3 | 8.43e-05 | 1.95e-04 | -0.6  | -2.07 | 31  |
| Células I.Delgado De Copa          | SN1 | SN3 | 5.42e-04 | 1.14e-03 | 0.5   | 1.88  | 40  |
| Células Gástricas Lyz Positivas    | SN1 | SN3 | 1.21e-03 | 2.40e-03 | 0.36  | 1.64  | 106 |

Continúa en la siguiente página

|                                                       |     |     |          |          |       |       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|-----|----------|----------|-------|-------|-----|
| Células Madre En Proceso De Diferenciación Duodenales | SN1 | SN3 | 2.08e-03 | 4.04e-03 | 0.27  | 1.42  | 281 |
| Células I Duodeno                                     | SN1 | SN3 | 2.93e-03 | 5.60e-03 | -0.64 | -1.85 | 16  |
| Células Páncreas Endoteliales                         | SN1 | SN3 | 6.29e-03 | 1.18e-02 | 0.25  | 1.33  | 347 |
| Células K Duodeno                                     | SN1 | SN3 | 1.05e-02 | 1.90e-02 | -0.56 | -1.67 | 18  |
| Células De Tránsito Duodenales                        | SN1 | SN3 | 1.70e-02 | 3.00e-02 | 0.27  | 1.35  | 174 |
| Célula Madre Duodeno                                  | SN1 | SN3 | 1.93e-02 | 3.28e-02 | 0.25  | 1.3   | 291 |
| Células Pulmón Club                                   | SN1 | SN3 | 2.75e-02 | 4.19e-02 | 0.3   | 1.38  | 107 |
| Células I.Delgado MKI67 Alto                          | SN1 | SN3 | 2.85e-02 | 4.21e-02 | 0.3   | 1.37  | 95  |
| Células Madre En Proceso De Diferenciación Duodenales | SN2 | SN3 | 3.88e-17 | 4.30e-15 | -0.44 | -2.4  | 281 |
| Células De Tránsito Duodenales                        | SN2 | SN3 | 1.77e-16 | 9.85e-15 | -0.5  | -2.58 | 174 |
| Célula Madre Duodeno                                  | SN2 | SN3 | 3.31e-14 | 1.23e-12 | -0.41 | -2.21 | 291 |
| Células Pulmón Club                                   | SN2 | SN3 | 3.02e-10 | 5.59e-09 | -0.5  | -2.37 | 107 |
| Células Gástricas Lyz Positivas                       | SN2 | SN3 | 2.27e-09 | 3.60e-08 | -0.49 | -2.31 | 106 |
| Células Gástricas Del Itsmo                           | SN2 | SN3 | 1.85e-07 | 1.83e-06 | -0.29 | -1.66 | 439 |
| Células Gástricas Parietales                          | SN2 | SN3 | 1.98e-07 | 1.83e-06 | -0.35 | -1.88 | 230 |
| Células I.Delgado Enteroendocrinas                    | SN2 | SN3 | 2.79e-07 | 2.38e-06 | 0.37  | 1.81  | 278 |
| Células Páncreas Delta                                | SN2 | SN3 | 1.85e-06 | 1.37e-05 | 0.37  | 1.78  | 239 |
| Células Pulmón Basales                                | SN2 | SN3 | 2.19e-05 | 1.28e-04 | -0.34 | -1.75 | 184 |
| Células Gástricas X                                   | SN2 | SN3 | 3.00e-04 | 1.67e-03 | 0.35  | 1.63  | 183 |
| Células I.Delgado MKI67 Alto                          | SN2 | SN3 | 1.15e-03 | 5.81e-03 | -0.36 | -1.65 | 95  |
| Células Pulmón Neuroendocrinas                        | SN2 | SN3 | 7.27e-03 | 2.52e-02 | 0.34  | 1.49  | 122 |

ES: enrichment score; NES:normalized enrichment score

**Tabla S30:** Las 100 proteínas con mayor diferencia estadística entre los grupos SN1 y SN2 con un *p*-valor ajustado  $< 0,05$  y un *CL2*  $> 2$ .

| PROTEINAS | GRUPO1 | GRUPO2 | CL2   | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|-----------|--------|--------|-------|----------|----------|
| RGS11     | SN1    | SN2    | -3.87 | 9.31e-15 | 3.21e-11 |
| STMN3     | SN1    | SN2    | -3.22 | 1.09e-14 | 3.21e-11 |
| CDK5R2    | SN1    | SN2    | -3.17 | 1.84e-14 | 3.21e-11 |
| RIMBP2    | SN1    | SN2    | -2.70 | 2.39e-14 | 3.21e-11 |
| NFASC     | SN1    | SN2    | -3.26 | 2.55e-14 | 3.21e-11 |
| PTPRN     | SN1    | SN2    | -3.68 | 3.37e-14 | 3.53e-11 |
| STXBP1    | SN1    | SN2    | -3.64 | 2.02e-13 | 1.82e-10 |
| UNC13A    | SN1    | SN2    | -2.02 | 2.54e-13 | 2.00e-10 |
| RTN1      | SN1    | SN2    | -3.49 | 2.86e-13 | 2.00e-10 |
| SCAMP5    | SN1    | SN2    | -2.96 | 4.27e-13 | 2.49e-10 |
| APBB1     | SN1    | SN2    | -4.27 | 4.54e-13 | 2.49e-10 |
| UAP1      | SN1    | SN2    | 2.19  | 4.75e-13 | 2.49e-10 |
| ZNF705A   | SN1    | SN2    | -2.30 | 5.22e-13 | 2.52e-10 |
| EFNB3     | SN1    | SN2    | -2.15 | 8.94e-13 | 4.02e-10 |
| SDC1      | SN1    | SN2    | 3.00  | 1.09e-12 | 4.36e-10 |
| DNM1      | SN1    | SN2    | -3.24 | 1.11e-12 | 4.36e-10 |
| SNAP25    | SN1    | SN2    | -2.77 | 1.22e-12 | 4.46e-10 |
| KCNH6     | SN1    | SN2    | -3.72 | 1.28e-12 | 4.46e-10 |
| UNC79     | SN1    | SN2    | -3.72 | 1.44e-12 | 4.76e-10 |
| PSD3      | SN1    | SN2    | 2.52  | 1.51e-12 | 4.76e-10 |
| PTPRN2    | SN1    | SN2    | -2.26 | 2.02e-12 | 6.06e-10 |
| TCEAL2    | SN1    | SN2    | -3.38 | 2.15e-12 | 6.15e-10 |
| ZNF337    | SN1    | SN2    | -2.07 | 2.66e-12 | 7.29e-10 |
| SLC8A2    | SN1    | SN2    | -2.77 | 3.23e-12 | 8.28e-10 |
| GNG4      | SN1    | SN2    | -3.38 | 3.29e-12 | 8.28e-10 |
| KCNH2     | SN1    | SN2    | -3.69 | 3.47e-12 | 8.38e-10 |
| TCEAL3    | SN1    | SN2    | -3.24 | 3.59e-12 | 8.38e-10 |
| GRTP1     | SN1    | SN2    | 2.35  | 4.38e-12 | 9.84e-10 |
| RUNDC3A   | SN1    | SN2    | -3.38 | 6.58e-12 | 1.40e-09 |
| BPTF      | SN1    | SN2    | -2.24 | 6.66e-12 | 1.40e-09 |
| TNFSF10   | SN1    | SN2    | 2.97  | 7.38e-12 | 1.50e-09 |
| KCNC3     | SN1    | SN2    | -2.75 | 9.10e-12 | 1.79e-09 |
| JPH3      | SN1    | SN2    | -2.14 | 1.13e-11 | 2.16e-09 |
| MAPK10    | SN1    | SN2    | -3.09 | 1.49e-11 | 2.75e-09 |
| DLG4      | SN1    | SN2    | -3.37 | 1.68e-11 | 3.02e-09 |
| GABRB3    | SN1    | SN2    | -3.66 | 2.10e-11 | 3.68e-09 |
| BCAM      | SN1    | SN2    | -3.06 | 2.85e-11 | 4.38e-09 |
| SSTR2     | SN1    | SN2    | -2.17 | 3.47e-11 | 5.20e-09 |
| ABCA3     | SN1    | SN2    | -2.00 | 3.71e-11 | 5.43e-09 |
| TXNDC17   | SN1    | SN2    | 2.92  | 5.07e-11 | 7.26e-09 |
| CTS2      | SN1    | SN2    | 2.54  | 5.25e-11 | 7.33e-09 |
| ASPH      | SN1    | SN2    | 2.19  | 6.02e-11 | 8.06e-09 |
| AHR       | SN1    | SN2    | 3.04  | 8.40e-11 | 1.08e-08 |
| PRDX1     | SN1    | SN2    | 2.74  | 9.41e-11 | 1.15e-08 |
| CHRNA2    | SN1    | SN2    | -2.90 | 9.49e-11 | 1.15e-08 |

Continúa en la siguiente página

|          |     |     |       |          |          |
|----------|-----|-----|-------|----------|----------|
| CBLB     | SN1 | SN2 | 3.44  | 1.30e-10 | 1.51e-08 |
| PROX1    | SN1 | SN2 | -2.42 | 1.56e-10 | 1.75e-08 |
| CASP10   | SN1 | SN2 | 3.35  | 1.70e-10 | 1.87e-08 |
| ZNF334   | SN1 | SN2 | -2.01 | 1.81e-10 | 1.97e-08 |
| SYT7     | SN1 | SN2 | -2.87 | 2.03e-10 | 2.16e-08 |
| TCEA3    | SN1 | SN2 | 2.83  | 2.16e-10 | 2.27e-08 |
| RIIAD1   | SN1 | SN2 | -2.20 | 2.35e-10 | 2.43e-08 |
| SSBP2    | SN1 | SN2 | -2.64 | 2.76e-10 | 2.80e-08 |
| CACNA1D  | SN1 | SN2 | -3.31 | 3.06e-10 | 3.06e-08 |
| ZNF217   | SN1 | SN2 | 2.61  | 3.21e-10 | 3.15e-08 |
| RAP1GAP2 | SN1 | SN2 | -2.48 | 3.26e-10 | 3.16e-08 |
| SLAMF7   | SN1 | SN2 | 2.93  | 3.58e-10 | 3.37e-08 |
| CNTN1    | SN1 | SN2 | -2.23 | 3.65e-10 | 3.37e-08 |
| INSM1    | SN1 | SN2 | -2.59 | 3.68e-10 | 3.37e-08 |
| KLRB1    | SN1 | SN2 | 3.73  | 3.70e-10 | 3.37e-08 |
| PPP2R2B  | SN1 | SN2 | -2.97 | 3.80e-10 | 3.41e-08 |
| ABCC3    | SN1 | SN2 | 2.98  | 4.23e-10 | 3.75e-08 |
| BRSK1    | SN1 | SN2 | -2.25 | 5.07e-10 | 4.43e-08 |
| PCDHA9   | SN1 | SN2 | -3.31 | 6.09e-10 | 5.25e-08 |
| MACC1    | SN1 | SN2 | 2.86  | 6.35e-10 | 5.40e-08 |
| TIAM2    | SN1 | SN2 | 3.04  | 6.83e-10 | 5.73e-08 |
| TLR3     | SN1 | SN2 | 2.36  | 7.23e-10 | 5.99e-08 |
| CD2      | SN1 | SN2 | 3.61  | 7.62e-10 | 6.15e-08 |
| SAMHD1   | SN1 | SN2 | 2.04  | 8.67e-10 | 6.82e-08 |
| ZNF483   | SN1 | SN2 | -2.84 | 9.26e-10 | 7.20e-08 |
| ZNF570   | SN1 | SN2 | -2.50 | 1.08e-09 | 8.18e-08 |
| MYT1     | SN1 | SN2 | -2.30 | 1.11e-09 | 8.20e-08 |
| VAMP8    | SN1 | SN2 | 2.36  | 1.14e-09 | 8.31e-08 |
| ANXA2    | SN1 | SN2 | 3.25  | 1.20e-09 | 8.55e-08 |
| PAK3     | SN1 | SN2 | -2.76 | 1.32e-09 | 9.25e-08 |
| F2RL1    | SN1 | SN2 | 3.22  | 1.34e-09 | 9.26e-08 |
| MAP3K9   | SN1 | SN2 | -2.12 | 1.40e-09 | 9.48e-08 |
| RHOT2    | SN1 | SN2 | -2.32 | 1.74e-09 | 1.14e-07 |
| CD3G     | SN1 | SN2 | 3.40  | 1.78e-09 | 1.14e-07 |
| FGFR2    | SN1 | SN2 | 2.85  | 1.92e-09 | 1.22e-07 |
| SYT14    | SN1 | SN2 | -2.91 | 1.99e-09 | 1.25e-07 |
| TFG      | SN1 | SN2 | 2.92  | 2.05e-09 | 1.26e-07 |
| KLF3     | SN1 | SN2 | 2.12  | 2.07e-09 | 1.26e-07 |
| CDCA7    | SN1 | SN2 | 2.79  | 2.14e-09 | 1.27e-07 |
| LPAR5    | SN1 | SN2 | 3.22  | 2.14e-09 | 1.27e-07 |
| MS4A8    | SN1 | SN2 | -2.15 | 2.15e-09 | 1.27e-07 |
| CCL28    | SN1 | SN2 | 2.86  | 2.30e-09 | 1.34e-07 |
| TUSC3    | SN1 | SN2 | -2.56 | 2.37e-09 | 1.37e-07 |
| SLC15A1  | SN1 | SN2 | 2.35  | 2.54e-09 | 1.44e-07 |
| AGAP3    | SN1 | SN2 | -2.14 | 2.84e-09 | 1.59e-07 |
| PLCE1    | SN1 | SN2 | 2.29  | 2.86e-09 | 1.59e-07 |
| FCRL2    | SN1 | SN2 | 3.36  | 3.15e-09 | 1.72e-07 |
| IQGAP2   | SN1 | SN2 | 2.77  | 3.17e-09 | 1.72e-07 |

Continúa en la siguiente página

|        |     |     |       |          |          |
|--------|-----|-----|-------|----------|----------|
| TUB    | SN1 | SN2 | -2.10 | 3.21e-09 | 1.73e-07 |
| ATP11B | SN1 | SN2 | 2.13  | 3.80e-09 | 2.02e-07 |
| RGS17  | SN1 | SN2 | -2.82 | 3.93e-09 | 2.07e-07 |
| ST14   | SN1 | SN2 | 2.81  | 3.98e-09 | 2.07e-07 |
| MYO1E  | SN1 | SN2 | 2.66  | 3.98e-09 | 2.07e-07 |
| TSPYL2 | SN1 | SN2 | -2.70 | 4.06e-09 | 2.10e-07 |

CL2: Cambio logarítmico en base 2

**Tabla S31.** Las 100 proteínas con mayor diferencia estadística entre los grupos SN1 y SN3 con un *p*-valor ajustado  $< 0,05$  y un CL2  $> 2$ .

| PROTEINAS | GRUPO1 | GRUPO2 | CL2   | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|-----------|--------|--------|-------|----------|----------|
| RGS11     | SN1    | SN3    | -3.66 | 2.12e-13 | 1.33e-09 |
| PTPRN     | SN1    | SN3    | -3.43 | 1.54e-12 | 3.68e-09 |
| STMN3     | SN1    | SN3    | -2.91 | 1.90e-12 | 3.68e-09 |
| GABRB3    | SN1    | SN3    | -3.88 | 2.35e-12 | 3.68e-09 |
| PPP2R2B   | SN1    | SN3    | -3.35 | 4.23e-12 | 3.68e-09 |
| STXBP1    | SN1    | SN3    | -3.43 | 4.32e-12 | 3.68e-09 |
| UAP1      | SN1    | SN3    | 2.10  | 4.35e-12 | 3.68e-09 |
| RUNDC3A   | SN1    | SN3    | -3.43 | 4.68e-12 | 3.68e-09 |
| ASPH      | SN1    | SN3    | 2.33  | 5.96e-12 | 4.16e-09 |
| DNM1      | SN1    | SN3    | -3.09 | 1.27e-11 | 8.00e-09 |
| NFASC     | SN1    | SN3    | -2.82 | 2.59e-11 | 1.48e-08 |
| TNFSF10   | SN1    | SN3    | 2.86  | 4.68e-11 | 2.45e-08 |
| MYT1      | SN1    | SN3    | -2.51 | 5.57e-11 | 2.69e-08 |
| SLC8A2    | SN1    | SN3    | -2.60 | 6.50e-11 | 2.74e-08 |
| BCAM      | SN1    | SN3    | -3.01 | 6.96e-11 | 2.74e-08 |
| TCEAL3    | SN1    | SN3    | -3.02 | 8.39e-11 | 2.98e-08 |
| ATP1A3    | SN1    | SN3    | -2.15 | 8.52e-11 | 2.98e-08 |
| ZNF705A   | SN1    | SN3    | -2.03 | 1.48e-10 | 4.92e-08 |
| SLC15A1   | SN1    | SN3    | 2.56  | 1.64e-10 | 4.98e-08 |
| TCEAL2    | SN1    | SN3    | -3.06 | 1.66e-10 | 4.98e-08 |
| IQGAP2    | SN1    | SN3    | 3.01  | 2.27e-10 | 6.48e-08 |
| KCNH2     | SN1    | SN3    | -3.32 | 3.22e-10 | 8.43e-08 |
| GRTP1     | SN1    | SN3    | 2.09  | 6.38e-10 | 1.61e-07 |
| CDK5R2    | SN1    | SN3    | -2.50 | 7.30e-10 | 1.77e-07 |
| SSBP2     | SN1    | SN3    | -2.59 | 7.85e-10 | 1.83e-07 |
| DLG4      | SN1    | SN3    | -3.05 | 9.32e-10 | 2.02e-07 |
| RTN1      | SN1    | SN3    | -2.87 | 1.00e-09 | 2.13e-07 |
| BRSK1     | SN1    | SN3    | -2.22 | 1.00e-09 | 2.13e-07 |
| SCAMP5    | SN1    | SN3    | -2.45 | 1.11e-09 | 2.19e-07 |
| TCEA3     | SN1    | SN3    | 2.70  | 1.38e-09 | 2.56e-07 |
| CDCA7     | SN1    | SN3    | 2.85  | 1.39e-09 | 2.56e-07 |
| PTGER2    | SN1    | SN3    | 2.92  | 1.57e-09 | 2.74e-07 |
| FGFR2     | SN1    | SN3    | 2.88  | 1.76e-09 | 2.98e-07 |
| PSD3      | SN1    | SN3    | 2.11  | 2.12e-09 | 3.31e-07 |
| TSPYL2    | SN1    | SN3    | -2.77 | 2.18e-09 | 3.31e-07 |
| TXNDC17   | SN1    | SN3    | 2.65  | 2.21e-09 | 3.31e-07 |
| KCNC3     | SN1    | SN3    | -2.39 | 2.26e-09 | 3.31e-07 |

Continúa en la siguiente página

|          |     |     |       |          |          |
|----------|-----|-----|-------|----------|----------|
| CXXC4    | SN1 | SN3 | -2.68 | 2.55e-09 | 3.65e-07 |
| SNAP25   | SN1 | SN3 | -2.29 | 2.69e-09 | 3.76e-07 |
| KLF3     | SN1 | SN3 | 2.11  | 2.75e-09 | 3.77e-07 |
| KLRB1    | SN1 | SN3 | 3.54  | 3.00e-09 | 3.96e-07 |
| NRXN1    | SN1 | SN3 | -2.79 | 3.24e-09 | 4.15e-07 |
| KCNH6    | SN1 | SN3 | -3.06 | 3.25e-09 | 4.15e-07 |
| VAMP8    | SN1 | SN3 | 2.30  | 3.30e-09 | 4.15e-07 |
| RAP1GAP2 | SN1 | SN3 | -2.33 | 3.36e-09 | 4.15e-07 |
| SECTM1   | SN1 | SN3 | 3.87  | 4.24e-09 | 4.94e-07 |
| ENPP5    | SN1 | SN3 | -3.14 | 4.70e-09 | 5.38e-07 |
| CNTN1    | SN1 | SN3 | -2.08 | 5.00e-09 | 5.58e-07 |
| PCGF2    | SN1 | SN3 | -2.47 | 5.54e-09 | 6.01e-07 |
| F2RL1    | SN1 | SN3 | 3.11  | 5.78e-09 | 6.17e-07 |
| CASP10   | SN1 | SN3 | 3.04  | 6.24e-09 | 6.44e-07 |
| NRCAM    | SN1 | SN3 | -2.52 | 6.52e-09 | 6.53e-07 |
| CD2      | SN1 | SN3 | 3.41  | 6.53e-09 | 6.53e-07 |
| APBB1    | SN1 | SN3 | -3.36 | 6.77e-09 | 6.65e-07 |
| GRIA3    | SN1 | SN3 | -2.75 | 8.69e-09 | 8.04e-07 |
| NOSTRIN  | SN1 | SN3 | 2.64  | 9.51e-09 | 8.55e-07 |
| SLC3A1   | SN1 | SN3 | 2.00  | 9.90e-09 | 8.78e-07 |
| PCDHA9   | SN1 | SN3 | -3.07 | 1.02e-08 | 8.88e-07 |
| UNC79    | SN1 | SN3 | -2.96 | 1.07e-08 | 9.14e-07 |
| DSC2     | SN1 | SN3 | 3.17  | 1.08e-08 | 9.14e-07 |
| SYK      | SN1 | SN3 | 3.07  | 1.09e-08 | 9.14e-07 |
| PROM1    | SN1 | SN3 | 2.27  | 1.14e-08 | 9.17e-07 |
| SMOC1    | SN1 | SN3 | -2.01 | 1.25e-08 | 9.95e-07 |
| TRPC1    | SN1 | SN3 | -2.02 | 1.28e-08 | 1.01e-06 |
| CCL28    | SN1 | SN3 | 2.73  | 1.36e-08 | 1.05e-06 |
| GNG4     | SN1 | SN3 | -2.71 | 1.45e-08 | 1.11e-06 |
| PPARG    | SN1 | SN3 | 2.48  | 2.17e-08 | 1.62e-06 |
| MAPK10   | SN1 | SN3 | -2.52 | 2.37e-08 | 1.71e-06 |
| ST14     | SN1 | SN3 | 2.64  | 3.25e-08 | 2.26e-06 |
| PAK3     | SN1 | SN3 | -2.51 | 3.25e-08 | 2.26e-06 |
| FHL2     | SN1 | SN3 | 2.60  | 3.30e-08 | 2.26e-06 |
| MACC1    | SN1 | SN3 | 2.53  | 3.82e-08 | 2.56e-06 |
| MYD88    | SN1 | SN3 | 2.94  | 4.64e-08 | 3.04e-06 |
| CD3D     | SN1 | SN3 | 3.09  | 4.97e-08 | 3.23e-06 |
| MEIS2    | SN1 | SN3 | -2.13 | 5.14e-08 | 3.29e-06 |
| CTS2     | SN1 | SN3 | 2.09  | 5.18e-08 | 3.29e-06 |
| DUOX2    | SN1 | SN3 | 2.04  | 5.33e-08 | 3.33e-06 |
| LIPH     | SN1 | SN3 | 2.56  | 5.41e-08 | 3.33e-06 |
| SYT7     | SN1 | SN3 | -2.43 | 5.84e-08 | 3.51e-06 |
| SLC4A4   | SN1 | SN3 | 2.26  | 5.88e-08 | 3.51e-06 |
| SLAMF7   | SN1 | SN3 | 2.51  | 6.32e-08 | 3.68e-06 |
| LAX1     | SN1 | SN3 | 3.10  | 6.57e-08 | 3.79e-06 |
| PRDM1    | SN1 | SN3 | 2.75  | 7.04e-08 | 3.99e-06 |
| LGALS9   | SN1 | SN3 | 2.79  | 7.19e-08 | 4.02e-06 |
| TCF21    | SN1 | SN3 | 3.07  | 7.22e-08 | 4.02e-06 |

Continúa en la siguiente página

|         |     |     |       |          |          |
|---------|-----|-----|-------|----------|----------|
| PROX1   | SN1 | SN3 | -2.01 | 7.57e-08 | 4.17e-06 |
| ZDHHC20 | SN1 | SN3 | 2.40  | 7.62e-08 | 4.17e-06 |
| SCG5    | SN1 | SN3 | -2.21 | 7.83e-08 | 4.21e-06 |
| RHOT2   | SN1 | SN3 | -2.07 | 8.16e-08 | 4.29e-06 |
| PEG10   | SN1 | SN3 | -2.39 | 9.22e-08 | 4.64e-06 |
| NET1    | SN1 | SN3 | 2.78  | 9.41e-08 | 4.70e-06 |
| PDGFRA  | SN1 | SN3 | 2.98  | 9.51e-08 | 4.71e-06 |
| SLC12A2 | SN1 | SN3 | 3.11  | 1.01e-07 | 4.91e-06 |
| IL7R    | SN1 | SN3 | 3.19  | 1.03e-07 | 5.00e-06 |
| PTPRK   | SN1 | SN3 | 2.48  | 1.05e-07 | 5.02e-06 |
| LPAR5   | SN1 | SN3 | 2.83  | 1.29e-07 | 6.00e-06 |
| TSPAN15 | SN1 | SN3 | 2.68  | 1.30e-07 | 6.00e-06 |
| CD96    | SN1 | SN3 | 2.78  | 1.36e-07 | 6.23e-06 |
| CD68    | SN1 | SN3 | 2.57  | 1.49e-07 | 6.76e-06 |
| SP1     | SN1 | SN3 | 2.40  | 1.58e-07 | 7.12e-06 |

CL2: Cambio logarítmico en base 2

**Tabla S32.** Proteínas diferencialmente activadas entre los grupos SN2 y SN3 con un *p*-valor ajustado < 0.1 y un CL2 > 1.

| GENES   | GRUPO1 | GRUPO2 | CL2   | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|---------|--------|--------|-------|----------|----------|
| CSF1R   | SN2    | SN3    | 1.62  | 3.36e-05 | 6.02e-02 |
| CHRNA2  | SN2    | SN3    | 1.35  | 4.07e-05 | 6.02e-02 |
| NRF1    | SN2    | SN3    | -1.22 | 4.38e-05 | 6.02e-02 |
| TTYH2   | SN2    | SN3    | 2.09  | 5.65e-05 | 6.02e-02 |
| FIBP    | SN2    | SN3    | 1.46  | 6.10e-05 | 6.02e-02 |
| PTPN11  | SN2    | SN3    | 1.91  | 6.69e-05 | 6.02e-02 |
| SH3BP2  | SN2    | SN3    | -1.04 | 8.12e-05 | 6.39e-02 |
| ENPP2   | SN2    | SN3    | 1.44  | 1.38e-04 | 6.77e-02 |
| IRX3    | SN2    | SN3    | -1.19 | 1.99e-04 | 6.77e-02 |
| ZNF7    | SN2    | SN3    | 1.23  | 2.01e-04 | 6.77e-02 |
| OR52N2  | SN2    | SN3    | 1.96  | 2.11e-04 | 6.77e-02 |
| KCNK10  | SN2    | SN3    | 1.13  | 2.29e-04 | 6.77e-02 |
| SLC36A2 | SN2    | SN3    | 1.15  | 2.47e-04 | 6.77e-02 |
| ADGRG3  | SN2    | SN3    | 1.78  | 2.49e-04 | 6.77e-02 |
| OR51S1  | SN2    | SN3    | 1.26  | 2.54e-04 | 6.77e-02 |
| PILRB   | SN2    | SN3    | -1.04 | 2.81e-04 | 6.77e-02 |
| HAS3    | SN2    | SN3    | 1.19  | 2.81e-04 | 6.77e-02 |
| PBXIP1  | SN2    | SN3    | 1.18  | 2.88e-04 | 6.77e-02 |
| EMP2    | SN2    | SN3    | -1.03 | 3.04e-04 | 6.77e-02 |
| DIRAS2  | SN2    | SN3    | 1.25  | 3.08e-04 | 6.77e-02 |
| ADORA2A | SN2    | SN3    | 1.79  | 3.74e-04 | 7.84e-02 |
| GDF6    | SN2    | SN3    | 1.70  | 3.90e-04 | 7.93e-02 |
| SLC4A10 | SN2    | SN3    | 1.05  | 4.13e-04 | 8.05e-02 |

Continúa en la siguiente página

|          |     |     |       |          |          |
|----------|-----|-----|-------|----------|----------|
| LRP12    | SN2 | SN3 | -1.19 | 4.57e-04 | 8.05e-02 |
| CALCA    | SN2 | SN3 | 1.50  | 5.02e-04 | 8.05e-02 |
| PTPRN2   | SN2 | SN3 | 1.01  | 5.49e-04 | 8.05e-02 |
| ABCA7    | SN2 | SN3 | 1.12  | 5.49e-04 | 8.05e-02 |
| GNGT2    | SN2 | SN3 | 2.06  | 5.73e-04 | 8.05e-02 |
| PKD2     | SN2 | SN3 | 1.09  | 5.77e-04 | 8.05e-02 |
| SLC39A3  | SN2 | SN3 | 1.46  | 5.87e-04 | 8.05e-02 |
| ARL4D    | SN2 | SN3 | -1.41 | 6.00e-04 | 8.05e-02 |
| KCNH7    | SN2 | SN3 | 1.17  | 6.14e-04 | 8.05e-02 |
| GMEB1    | SN2 | SN3 | 1.27  | 6.34e-04 | 8.14e-02 |
| KCNA5    | SN2 | SN3 | 1.63  | 6.64e-04 | 8.33e-02 |
| RPS6KA6  | SN2 | SN3 | 1.01  | 6.79e-04 | 8.33e-02 |
| KIR2DL4  | SN2 | SN3 | 1.19  | 6.88e-04 | 8.33e-02 |
| LRRK1    | SN2 | SN3 | 1.31  | 7.50e-04 | 8.57e-02 |
| SLC26A11 | SN2 | SN3 | 2.00  | 7.75e-04 | 8.57e-02 |
| ZNF765   | SN2 | SN3 | 1.35  | 7.81e-04 | 8.57e-02 |
| TYROBP   | SN2 | SN3 | 1.56  | 8.29e-04 | 8.57e-02 |
| RPH3A    | SN2 | SN3 | 1.14  | 8.65e-04 | 8.57e-02 |
| DDX54    | SN2 | SN3 | 1.65  | 8.66e-04 | 8.57e-02 |
| RPS27L   | SN2 | SN3 | -1.29 | 8.70e-04 | 8.57e-02 |
| CACNA1A  | SN2 | SN3 | 1.29  | 8.74e-04 | 8.57e-02 |
| KCNN1    | SN2 | SN3 | 1.58  | 8.85e-04 | 8.57e-02 |
| MC2R     | SN2 | SN3 | -1.25 | 9.62e-04 | 9.09e-02 |
| TLE6     | SN2 | SN3 | 1.34  | 1.00e-03 | 9.09e-02 |
| GPR135   | SN2 | SN3 | -1.79 | 1.02e-03 | 9.09e-02 |
| VAX2     | SN2 | SN3 | -1.04 | 1.04e-03 | 9.09e-02 |
| RRBP1    | SN2 | SN3 | 1.19  | 1.04e-03 | 9.09e-02 |
| DPEP1    | SN2 | SN3 | 1.18  | 1.09e-03 | 9.09e-02 |
| THOC1    | SN2 | SN3 | -1.10 | 1.12e-03 | 9.09e-02 |
| TRAF4    | SN2 | SN3 | -1.13 | 1.14e-03 | 9.09e-02 |
| ADCY6    | SN2 | SN3 | 1.49  | 1.15e-03 | 9.09e-02 |
| SSTR3    | SN2 | SN3 | 1.49  | 1.16e-03 | 9.09e-02 |
| IL11RA   | SN2 | SN3 | 1.91  | 1.35e-03 | 9.90e-02 |
| OR3A1    | SN2 | SN3 | 1.26  | 1.35e-03 | 9.90e-02 |

**Tabla S33.** Análisis de actividad proteica diferencial entre los subtipos neuroendocrinos en cada tumor primario por separado de las proteínas de interés.

| GENES  | TUMOR PRIMARIO | GRUPO1 | GRUPO2 | CL2   | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|--------|----------------|--------|--------|-------|----------|----------|
| INSM1  | Colorrectal    | SN1    | SN2    | -3.32 | 9.25e-04 | 3.44e-02 |
| INSM1  | Colorrectal    | SN1    | SN3    | -1.52 | 1.45e-01 | 6.63e-01 |
| INSM1  | Colorrectal    | SN2    | SN3    | 1.80  | 6.41e-02 | 2.02e-01 |
| INSM1  | Estómago       | SN1    | SN2    | -2.62 | 6.03e-03 | 9.06e-02 |
| INSM1  | Estómago       | SN1    | SN3    | -2.50 | 8.57e-03 | 9.18e-02 |
| INSM1  | Estómago       | SN2    | SN3    | 0.12  | 9.00e-01 | 9.67e-01 |
| INSM1  | Pulmón         | SN1    | SN2    | -1.26 | 1.95e-01 | 5.13e-01 |
| INSM1  | Pulmón         | SN1    | SN3    | -0.54 | 5.83e-01 | 8.27e-01 |
| INSM1  | Pulmón         | SN2    | SN3    | 0.73  | 4.05e-01 | 1.00E+00 |
| INSM1  | Páncreas       | SN1    | SN2    | -2.89 | 1.30e-03 | 1.17e-01 |
| INSM1  | Páncreas       | SN1    | SN3    | -2.07 | 1.23e-02 | 3.91e-01 |
| INSM1  | Páncreas       | SN2    | SN3    | 0.82  | 2.91e-01 | 8.10e-01 |
| INSM1  | I.Delgado      | SN1    | SN2    | -2.86 | 3.63e-04 | 1.47e-02 |
| INSM1  | I.Delgado      | SN1    | SN3    | -2.11 | 6.37e-03 | 7.33e-02 |
| INSM1  | I.Delgado      | SN2    | SN3    | 0.75  | 2.78e-01 | 9.99e-01 |
| KCNA5  | Colorrectal    | SN1    | SN2    | -2.83 | 2.38e-02 | 1.82e-01 |
| KCNA5  | Colorrectal    | SN1    | SN3    | 1.58  | 2.46e-01 | 7.34e-01 |
| KCNA5  | Colorrectal    | SN2    | SN3    | 4.41  | 1.18e-03 | 1.19e-01 |
| KCNA5  | Estómago       | SN1    | SN2    | -3.15 | 2.41e-02 | 1.75e-01 |
| KCNA5  | Estómago       | SN1    | SN3    | -0.30 | 8.25e-01 | 9.76e-01 |
| KCNA5  | Estómago       | SN2    | SN3    | 2.85  | 6.08e-02 | 7.38e-01 |
| KCNA5  | Pulmón         | SN1    | SN2    | -1.12 | 2.02e-01 | 5.23e-01 |
| KCNA5  | Pulmón         | SN1    | SN3    | -0.85 | 3.35e-01 | 6.80e-01 |
| KCNA5  | Pulmón         | SN2    | SN3    | 0.27  | 7.34e-01 | 1.00E+00 |
| KCNA5  | Páncreas       | SN1    | SN2    | -2.74 | 1.96e-02 | 1.76e-01 |
| KCNA5  | Páncreas       | SN1    | SN3    | -1.84 | 9.14e-02 | 3.98e-01 |
| KCNA5  | Páncreas       | SN2    | SN3    | 0.90  | 3.92e-01 | 8.50e-01 |
| KCNA5  | I.Delgado      | SN1    | SN2    | -2.30 | 1.83e-02 | 1.46e-01 |
| KCNA5  | I.Delgado      | SN1    | SN3    | -0.94 | 3.21e-01 | 5.78e-01 |
| KCNA5  | I.Delgado      | SN2    | SN3    | 1.36  | 1.19e-01 | 9.99e-01 |
| MAPK10 | Colorrectal    | SN1    | SN2    | -3.86 | 2.89e-03 | 6.39e-02 |
| MAPK10 | Colorrectal    | SN1    | SN3    | -1.99 | 1.46e-01 | 6.64e-01 |
| MAPK10 | Colorrectal    | SN2    | SN3    | 1.87  | 1.41e-01 | 3.10e-01 |
| MAPK10 | Estómago       | SN1    | SN2    | -3.43 | 5.33e-03 | 8.67e-02 |
| MAPK10 | Estómago       | SN1    | SN3    | -4.28 | 7.49e-04 | 2.46e-02 |
| MAPK10 | Estómago       | SN2    | SN3    | -0.85 | 5.10e-01 | 8.09e-01 |
| MAPK10 | Pulmón         | SN1    | SN2    | -1.21 | 1.20e-01 | 4.48e-01 |
| MAPK10 | Pulmón         | SN1    | SN3    | -1.75 | 2.79e-02 | 2.82e-01 |
| MAPK10 | Pulmón         | SN2    | SN3    | -0.55 | 4.30e-01 | 1.00E+00 |
| MAPK10 | Páncreas       | SN1    | SN2    | -3.23 | 2.52e-03 | 1.17e-01 |
| MAPK10 | Páncreas       | SN1    | SN3    | -1.64 | 8.97e-02 | 3.98e-01 |
| MAPK10 | Páncreas       | SN2    | SN3    | 1.59  | 9.23e-02 | 6.85e-01 |
| MAPK10 | I.Delgado      | SN1    | SN2    | -3.63 | 1.22e-05 | 2.78e-03 |
| MAPK10 | I.Delgado      | SN1    | SN3    | -2.80 | 4.29e-04 | 1.43e-02 |

Continúa en la siguiente página

|        |             |     |     |       |          |          |
|--------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| MAPK10 | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.83  | 2.30e-01 | 9.99e-01 |
| MC2R   | Colorrectal | SN1 | SN2 | -1.03 | 1.22e-01 | 3.56e-01 |
| MC2R   | Colorrectal | SN1 | SN3 | -0.76 | 3.02e-01 | 7.68e-01 |
| MC2R   | Colorrectal | SN2 | SN3 | 0.27  | 6.91e-01 | 8.09e-01 |
| MC2R   | Estómago    | SN1 | SN2 | -0.19 | 7.63e-01 | 8.61e-01 |
| MC2R   | Estómago    | SN1 | SN3 | -0.09 | 8.87e-01 | 9.90e-01 |
| MC2R   | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.10  | 8.85e-01 | 9.60e-01 |
| MC2R   | Pulmón      | SN1 | SN2 | -1.11 | 1.54e-01 | 4.79e-01 |
| MC2R   | Pulmón      | SN1 | SN3 | -6.29 | 2.65e-10 | 1.67e-06 |
| MC2R   | Pulmón      | SN2 | SN3 | -5.17 | 2.04e-09 | 1.28e-05 |
| MC2R   | Páncreas    | SN1 | SN2 | 0.33  | 7.05e-01 | 8.29e-01 |
| MC2R   | Páncreas    | SN1 | SN3 | -0.92 | 2.69e-01 | 5.32e-01 |
| MC2R   | Páncreas    | SN2 | SN3 | -1.26 | 1.26e-01 | 7.16e-01 |
| MC2R   | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -1.63 | 2.99e-02 | 1.92e-01 |
| MC2R   | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -1.02 | 1.65e-01 | 4.17e-01 |
| MC2R   | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.61  | 3.61e-01 | 9.99e-01 |
| PTPRN  | Colorrectal | SN1 | SN2 | -4.12 | 2.80e-04 | 2.00e-02 |
| PTPRN  | Colorrectal | SN1 | SN3 | -2.08 | 7.53e-02 | 6.01e-01 |
| PTPRN  | Colorrectal | SN2 | SN3 | 2.05  | 5.83e-02 | 1.92e-01 |
| PTPRN  | Estómago    | SN1 | SN2 | -4.30 | 2.49e-04 | 3.42e-02 |
| PTPRN  | Estómago    | SN1 | SN3 | -4.40 | 1.91e-04 | 1.60e-02 |
| PTPRN  | Estómago    | SN2 | SN3 | -0.10 | 9.33e-01 | 9.78e-01 |
| PTPRN  | Pulmón      | SN1 | SN2 | -1.72 | 3.47e-02 | 3.35e-01 |
| PTPRN  | Pulmón      | SN1 | SN3 | -3.83 | 1.87e-05 | 7.83e-03 |
| PTPRN  | Pulmón      | SN2 | SN3 | -2.11 | 4.85e-03 | 5.38e-01 |
| PTPRN  | Páncreas    | SN1 | SN2 | -3.68 | 8.59e-04 | 1.17e-01 |
| PTPRN  | Páncreas    | SN1 | SN3 | -2.27 | 2.32e-02 | 3.91e-01 |
| PTPRN  | Páncreas    | SN2 | SN3 | 1.40  | 1.41e-01 | 7.24e-01 |
| PTPRN  | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -4.61 | 1.36e-05 | 2.78e-03 |
| PTPRN  | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -3.80 | 2.01e-04 | 9.74e-03 |
| PTPRN  | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.81  | 3.61e-01 | 9.99e-01 |
| PTPRN2 | Colorrectal | SN1 | SN2 | -2.41 | 2.11e-03 | 5.28e-02 |
| PTPRN2 | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.03  | 9.70e-01 | 9.90e-01 |
| PTPRN2 | Colorrectal | SN2 | SN3 | 2.44  | 2.59e-03 | 1.19e-01 |
| PTPRN2 | Estómago    | SN1 | SN2 | -3.01 | 6.71e-04 | 4.25e-02 |
| PTPRN2 | Estómago    | SN1 | SN3 | -2.10 | 1.31e-02 | 1.20e-01 |
| PTPRN2 | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.91  | 3.10e-01 | 7.38e-01 |
| PTPRN2 | Pulmón      | SN1 | SN2 | -1.58 | 1.87e-02 | 3.04e-01 |
| PTPRN2 | Pulmón      | SN1 | SN3 | -1.17 | 8.16e-02 | 4.27e-01 |
| PTPRN2 | Pulmón      | SN2 | SN3 | 0.41  | 4.84e-01 | 1.00E+00 |
| PTPRN2 | Páncreas    | SN1 | SN2 | -2.31 | 1.85e-03 | 1.17e-01 |
| PTPRN2 | Páncreas    | SN1 | SN3 | -1.55 | 2.29e-02 | 3.91e-01 |
| PTPRN2 | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.76  | 2.37e-01 | 7.88e-01 |
| PTPRN2 | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -2.06 | 5.97e-04 | 1.89e-02 |
| PTPRN2 | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -1.03 | 7.09e-02 | 2.84e-01 |
| PTPRN2 | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 1.03  | 4.99e-02 | 9.53e-01 |
| RGS11  | Colorrectal | SN1 | SN2 | -4.36 | 1.29e-03 | 4.15e-02 |
| RGS11  | Colorrectal | SN1 | SN3 | -2.86 | 4.61e-02 | 5.61e-01 |

Continúa en la siguiente página

|         |             |     |     |       |          |          |
|---------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| RGS11   | Colorrectal | SN2 | SN3 | 1.49  | 2.50e-01 | 4.33e-01 |
| RGS11   | Estómago    | SN1 | SN2 | -5.18 | 2.83e-05 | 1.80e-02 |
| RGS11   | Estómago    | SN1 | SN3 | -4.81 | 7.66e-05 | 1.58e-02 |
| RGS11   | Estómago    | SN2 | SN3 | 0.37  | 7.58e-01 | 9.07e-01 |
| RGS11   | Pulmón      | SN1 | SN2 | -2.17 | 3.25e-02 | 3.32e-01 |
| RGS11   | Pulmón      | SN1 | SN3 | -3.77 | 4.46e-04 | 4.42e-02 |
| RGS11   | Pulmón      | SN2 | SN3 | -1.60 | 7.70e-02 | 1.00E+00 |
| RGS11   | Páncreas    | SN1 | SN2 | -3.29 | 2.33e-03 | 1.17e-01 |
| RGS11   | Páncreas    | SN1 | SN3 | -2.07 | 3.65e-02 | 3.91e-01 |
| RGS11   | Páncreas    | SN2 | SN3 | 1.22  | 1.95e-01 | 7.73e-01 |
| RGS11   | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -4.46 | 1.47e-06 | 1.64e-03 |
| RGS11   | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -4.12 | 5.31e-06 | 2.09e-03 |
| RGS11   | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.34  | 6.53e-01 | 9.99e-01 |
| SSTR2   | Colorrectal | SN1 | SN2 | -2.33 | 4.73e-03 | 8.36e-02 |
| SSTR2   | Colorrectal | SN1 | SN3 | 0.28  | 7.46e-01 | 9.28e-01 |
| SSTR2   | Colorrectal | SN2 | SN3 | 2.61  | 2.50e-03 | 1.19e-01 |
| SSTR2   | Estómago    | SN1 | SN2 | -2.08 | 2.56e-03 | 6.61e-02 |
| SSTR2   | Estómago    | SN1 | SN3 | -2.17 | 1.74e-03 | 3.80e-02 |
| SSTR2   | Estómago    | SN2 | SN3 | -0.09 | 8.97e-01 | 9.65e-01 |
| SSTR2   | Pulmón      | SN1 | SN2 | -1.63 | 1.60e-02 | 3.04e-01 |
| SSTR2   | Pulmón      | SN1 | SN3 | -1.66 | 1.54e-02 | 2.22e-01 |
| SSTR2   | Pulmón      | SN2 | SN3 | -0.03 | 9.60e-01 | 1.00E+00 |
| SSTR2   | Páncreas    | SN1 | SN2 | -3.15 | 1.21e-04 | 1.17e-01 |
| SSTR2   | Páncreas    | SN1 | SN3 | -1.90 | 9.39e-03 | 3.91e-01 |
| SSTR2   | Páncreas    | SN2 | SN3 | 1.25  | 7.21e-02 | 6.68e-01 |
| SSTR2   | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -1.85 | 4.06e-03 | 5.87e-02 |
| SSTR2   | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -2.16 | 8.57e-04 | 2.14e-02 |
| SSTR2   | I.Delgado   | SN2 | SN3 | -0.30 | 5.91e-01 | 9.99e-01 |
| STMN3   | Colorrectal | SN1 | SN2 | -3.94 | 4.05e-04 | 2.24e-02 |
| STMN3   | Colorrectal | SN1 | SN3 | -1.71 | 1.35e-01 | 6.47e-01 |
| STMN3   | Colorrectal | SN2 | SN3 | 2.23  | 3.80e-02 | 1.60e-01 |
| STMN3   | Estómago    | SN1 | SN2 | -4.04 | 1.11e-04 | 2.42e-02 |
| STMN3   | Estómago    | SN1 | SN3 | -4.47 | 2.86e-05 | 1.58e-02 |
| STMN3   | Estómago    | SN2 | SN3 | -0.43 | 6.75e-01 | 8.77e-01 |
| STMN3   | Pulmón      | SN1 | SN2 | -1.96 | 1.32e-02 | 3.04e-01 |
| STMN3   | Pulmón      | SN1 | SN3 | -2.92 | 4.31e-04 | 4.42e-02 |
| STMN3   | Pulmón      | SN2 | SN3 | -0.96 | 1.66e-01 | 1.00E+00 |
| STMN3   | Páncreas    | SN1 | SN2 | -3.21 | 1.10e-03 | 1.17e-01 |
| STMN3   | Páncreas    | SN1 | SN3 | -2.43 | 7.36e-03 | 3.91e-01 |
| STMN3   | Páncreas    | SN2 | SN3 | 0.77  | 3.60e-01 | 8.37e-01 |
| STMN3   | I.Delgado   | SN1 | SN2 | -3.08 | 7.15e-05 | 6.45e-03 |
| STMN3   | I.Delgado   | SN1 | SN3 | -2.64 | 4.54e-04 | 1.46e-02 |
| STMN3   | I.Delgado   | SN2 | SN3 | 0.43  | 5.08e-01 | 9.99e-01 |
| TNFSF10 | Colorrectal | SN1 | SN2 | 3.02  | 4.95e-04 | 2.43e-02 |
| TNFSF10 | Colorrectal | SN1 | SN3 | 1.73  | 5.56e-02 | 5.82e-01 |
| TNFSF10 | Colorrectal | SN2 | SN3 | -1.29 | 1.18e-01 | 2.81e-01 |
| TNFSF10 | Estómago    | SN1 | SN2 | 2.82  | 1.22e-02 | 1.25e-01 |
| TNFSF10 | Estómago    | SN1 | SN3 | 3.09  | 6.53e-03 | 7.72e-02 |

Continúa en la siguiente página

|         |           |     |     |       |          |          |
|---------|-----------|-----|-----|-------|----------|----------|
| TNFSF10 | Estómago  | SN2 | SN3 | 0.27  | 8.21e-01 | 9.33e-01 |
| TNFSF10 | Pulmón    | SN1 | SN2 | 0.75  | 3.94e-01 | 6.79e-01 |
| TNFSF10 | Pulmón    | SN1 | SN3 | 1.73  | 5.69e-02 | 3.81e-01 |
| TNFSF10 | Pulmón    | SN2 | SN3 | 0.98  | 2.21e-01 | 1.00E+00 |
| TNFSF10 | Páncreas  | SN1 | SN2 | 3.09  | 2.20e-03 | 1.17e-01 |
| TNFSF10 | Páncreas  | SN1 | SN3 | 2.22  | 1.74e-02 | 3.91e-01 |
| TNFSF10 | Páncreas  | SN2 | SN3 | -0.88 | 3.18e-01 | 8.22e-01 |
| TNFSF10 | I.Delgado | SN1 | SN2 | 4.77  | 4.39e-08 | 1.38e-04 |
| TNFSF10 | I.Delgado | SN1 | SN3 | 4.58  | 8.58e-08 | 3.34e-04 |
| TNFSF10 | I.Delgado | SN2 | SN3 | -0.18 | 7.88e-01 | 9.99e-01 |

CL2: Cambio logarítmico en base 2

**Tabla S34.** Sondas de metilación con diferencias estadísticas entre los SN2 y los otros subtipos neuroendocrinos.

| SONDA      | CHR   | PRINCIPIO | FIN      | GENES  | REGIÓN | GRUPO1 | GRUPO2 | CL2   | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|------------|-------|-----------|----------|--------|--------|--------|--------|-------|----------|----------|
| cg00393504 | chr3  | 73592817  | 73592819 | PDZRN3 | Body   | SN2    | SN3    | -2.03 | 1.77e-15 | 3.54e-15 |
| cg00393504 | chr3  | 73592817  | 73592819 | PDZRN3 | Body   | SN1    | SN3    | 0.16  | 5.32e-01 | 8.91e-01 |
| cg00393504 | chr3  | 73592817  | 73592819 | PDZRN3 | Body   | SN1    | SN2    | 2.19  | 2.10e-16 | 4.20e-16 |
| cg21542081 | chr15 | 33956176  | 33956178 | AVEN   | Body   | SN2    | SN3    | -2.10 | 1.29e-13 | 1.29e-13 |
| cg21542081 | chr15 | 33956176  | 33956178 | AVEN   | Body   | SN1    | SN3    | 0.04  | 8.91e-01 | 8.91e-01 |
| cg21542081 | chr15 | 33956176  | 33956178 | AVEN   | Body   | SN1    | SN2    | 2.13  | 3.43e-13 | 3.43e-13 |

CL2: Cambio logarítmico en base 2

**Tabla S35.** Sondas de metilación con diferencias estadísticas entre los SN1 y los otros subtipos neuroendocrinos.

| SONDA      | CHR   | PRINCIPIO | FIN      | GENES | REGIÓN | GRUPO1 | GRUPO2 | CL2   | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|------------|-------|-----------|----------|-------|--------|--------|--------|-------|----------|----------|
| cg00290667 | chr2  | 95388651  | 95388653 | NA    | NA     | SN1    | SN2    | 2.29  | 1.03e-18 | 7.18e-18 |
| cg00290667 | chr2  | 95388651  | 95388653 | NA    | NA     | SN2    | SN3    | -0.17 | 4.64e-01 | 8.12e-01 |
| cg00290667 | chr2  | 95388651  | 95388653 | NA    | NA     | SN1    | SN3    | 2.12  | 2.25e-16 | 2.63e-16 |
| cg02470777 | chr14 | 98501726  | 98501728 | NA    | NA     | SN2    | SN3    | 0.05  | 8.11e-01 | 9.41e-01 |
| cg02470777 | chr14 | 98501726  | 98501728 | NA    | NA     | SN1    | SN3    | 2.19  | 8.18e-18 | 1.87e-17 |
| cg02470777 | chr14 | 98501726  | 98501728 | NA    | NA     | SN1    | SN2    | 2.14  | 2.67e-17 | 6.23e-17 |
| cg03201106 | chr20 | 56976695  | 56976697 | NA    | NA     | SN2    | SN3    | 0.21  | 3.96e-01 | 8.12e-01 |
| cg03201106 | chr20 | 56976695  | 56976697 | NA    | NA     | SN1    | SN2    | 2.15  | 7.02e-16 | 1.23e-15 |
| cg03201106 | chr20 | 56976695  | 56976697 | NA    | NA     | SN1    | SN3    | 2.36  | 3.62e-18 | 1.27e-17 |
| cg09912746 | chr2  | 79511418  | 79511420 | NA    | NA     | SN2    | SN3    | -0.49 | 7.73e-02 | 5.41e-01 |
| cg09912746 | chr2  | 79511418  | 79511420 | NA    | NA     | SN1    | SN3    | -2.61 | 1.98e-17 | 2.77e-17 |
| cg09912746 | chr2  | 79511418  | 79511420 | NA    | NA     | SN1    | SN2    | -2.12 | 1.16e-12 | 1.16e-12 |
| cg13740339 | chr9  | 94638474  | 94638476 | FBP1  | Body   | SN1    | SN3    | -2.23 | 2.63e-18 | 1.27e-17 |
| cg13740339 | chr9  | 94638474  | 94638476 | FBP1  | Body   | SN2    | SN3    | -0.03 | 8.93e-01 | 9.41e-01 |

Continúa en la siguiente página

|            |       |           |           |      |      |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|------|------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg13740339 | chr9  | 94638474  | 94638476  | FBP1 | Body | SN1 | SN2 | -2.20 | 4.18e-18 | 1.46e-17 |
| cg24098688 | chr11 | 116869697 | 116869699 | SIK3 | Body | SN1 | SN3 | 2.18  | 1.73e-14 | 1.73e-14 |
| cg24098688 | chr11 | 116869697 | 116869699 | SIK3 | Body | SN2 | SN3 | -0.02 | 9.41e-01 | 9.41e-01 |
| cg24098688 | chr11 | 116869697 | 116869699 | SIK3 | Body | SN1 | SN2 | 2.20  | 7.51e-15 | 8.76e-15 |
| cg26228614 | chr1  | 46735724  | 46735726  | NA   | NA   | SN1 | SN3 | -2.39 | 1.07e-17 | 1.87e-17 |
| cg26228614 | chr1  | 46735724  | 46735726  | NA   | NA   | SN1 | SN2 | -2.15 | 4.35e-15 | 6.10e-15 |
| cg26228614 | chr1  | 46735724  | 46735726  | NA   | NA   | SN2 | SN3 | -0.24 | 3.32e-01 | 8.12e-01 |

CL2: Cambio logarítmico en base 2

**Tabla S36.** Sondas de metilación con diferencias estadísticas entre los SN3 y los otros subtipos neuroendocrinos

| SONDA      | CHR   | PRINCIPIO | FIN       | GENES  | REGIÓN  | GRUPO1 | GRUPO2 | CL2   | P-VALOR  | Q-VALOR  |
|------------|-------|-----------|-----------|--------|---------|--------|--------|-------|----------|----------|
| cg00282347 | chr1  | 6180979   | 6180981   | CHD5   | TSS1500 | SN2    | SN3    | -2.43 | 8.91e-15 | 2.33e-14 |
| cg00282347 | chr1  | 6180979   | 6180981   | CHD5   | TSS1500 | SN1    | SN3    | -2.55 | 6.86e-15 | 1.87e-14 |
| cg00544436 | chr6  | 34235786  | 34235788  | HMGA1  | TSS1500 | SN2    | SN3    | -2.15 | 8.07e-12 | 1.04e-11 |
| cg00544436 | chr6  | 34235786  | 34235788  | HMGA1  | TSS1500 | SN1    | SN3    | -2.23 | 1.20e-11 | 1.46e-11 |
| cg00674896 | chr2  | 102188115 | 102188117 | IL1RL2 | Body    | SN1    | SN3    | -2.64 | 6.19e-14 | 1.21e-13 |
| cg00674896 | chr2  | 102188115 | 102188117 | IL1RL2 | Body    | SN2    | SN3    | -3.22 | 2.30e-20 | 6.00e-19 |
| cg00858599 | chr20 | 3240282   | 3240284   | NA     | NA      | SN2    | SN3    | -2.06 | 5.80e-13 | 9.06e-13 |
| cg00858599 | chr20 | 3240282   | 3240284   | NA     | NA      | SN1    | SN3    | -2.49 | 3.06e-16 | 1.29e-15 |
| cg00866399 | chr2  | 72920922  | 72920924  | EMX1   | Body    | SN2    | SN3    | -2.60 | 2.23e-10 | 2.39e-10 |
| cg00866399 | chr2  | 72920922  | 72920924  | EMX1   | Body    | SN1    | SN3    | -2.29 | 6.02e-08 | 6.09e-08 |
| cg00922785 | chr10 | 102242237 | 102242239 | PITX3  | TSS1500 | SN2    | SN3    | -2.17 | 4.25e-14 | 8.70e-14 |
| cg00922785 | chr10 | 102242237 | 102242239 | PITX3  | TSS1500 | SN1    | SN3    | -2.17 | 3.58e-13 | 5.56e-13 |
| cg00960700 | chr17 | 82751273  | 82751275  | TBCD   | TSS1500 | SN1    | SN3    | -2.11 | 9.82e-11 | 1.09e-10 |
| cg00960700 | chr17 | 82751273  | 82751275  | TBCD   | TSS1500 | SN2    | SN3    | -2.13 | 1.20e-11 | 1.50e-11 |
| cg00987461 | chr12 | 104050227 | 104050229 | GLT8D2 | TSS200  | SN2    | SN3    | -2.16 | 2.41e-12 | 3.37e-12 |

|            |       |           |           |                 |                  |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|-----------------|------------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg00987461 | chr12 | 104050227 | 104050229 | GLT8D2          | TSS200           | SN1 | SN3 | -2.46 | 4.00e-14 | 8.43e-14 |
| cg01070065 | chr1  | 32248421  | 32248423  | FAM167B         | Body             | SN2 | SN3 | -2.11 | 9.94e-16 | 3.51e-15 |
| cg01070065 | chr1  | 32248421  | 32248423  | FAM167B         | Body             | SN1 | SN3 | -2.18 | 1.61e-15 | 5.20e-15 |
| cg01263386 | chr19 | 47430328  | 47430330  | SLC8A2          | Body             | SN1 | SN3 | -3.09 | 3.96e-14 | 8.42e-14 |
| cg01263386 | chr19 | 47430328  | 47430330  | SLC8A2          | Body             | SN2 | SN3 | -2.87 | 1.80e-13 | 3.13e-13 |
| cg01310473 | chr7  | 77199850  | 77199852  | CCDC146_FGL2    | Body, TSS200     | SN1 | SN3 | -2.32 | 1.40e-12 | 1.91e-12 |
| cg01310473 | chr7  | 77199850  | 77199852  | CCDC146_FGL2    | Body, TSS200     | SN2 | SN3 | -2.32 | 1.55e-13 | 2.74e-13 |
| cg01399826 | chr5  | 52725993  | 52725995  | NA              | NA               | SN2 | SN3 | -2.47 | 2.63e-12 | 3.63e-12 |
| cg01399826 | chr5  | 52725993  | 52725995  | NA              | NA               | SN1 | SN3 | -2.83 | 3.63e-14 | 7.84e-14 |
| cg01437571 | chr19 | 33301241  | 33301243  | CEBPA           | 3'UTR            | SN2 | SN3 | -2.58 | 5.94e-19 | 9.51e-18 |
| cg01437571 | chr19 | 33301241  | 33301243  | CEBPA           | 3'UTR            | SN1 | SN3 | -2.54 | 2.97e-17 | 1.84e-16 |
| cg01869273 | chr2  | 111899371 | 111899373 | MERTK           | Body             | SN2 | SN3 | -2.58 | 6.63e-22 | 3.26e-20 |
| cg01869273 | chr2  | 111899371 | 111899373 | MERTK           | Body             | SN1 | SN3 | -2.77 | 7.18e-23 | 4.88e-21 |
| cg01894183 | chr7  | 129785342 | 129785344 | NA              | NA               | SN2 | SN3 | -2.10 | 2.24e-08 | 2.28e-08 |
| cg01894183 | chr7  | 129785342 | 129785344 | NA              | NA               | SN1 | SN3 | -2.54 | 1.42e-10 | 1.55e-10 |
| cg01901210 | chr5  | 126423098 | 126423100 | GRAMD3          | Body             | SN2 | SN3 | -2.74 | 3.33e-18 | 3.23e-17 |
| cg01901210 | chr5  | 126423098 | 126423100 | GRAMD3          | Body             | SN1 | SN3 | -2.98 | 2.44e-19 | 3.16e-18 |
| cg01908338 | chr1  | 3067960   | 3067962   | FLJ42875_PRDM16 | TSS1500, TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.74 | 1.33e-15 | 4.48e-15 |
| cg01908338 | chr1  | 3067960   | 3067962   | FLJ42875_PRDM16 | TSS1500, TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.45 | 3.52e-12 | 4.47e-12 |
| cg01955239 | chr13 | 96994642  | 96994644  | OXGR1           | TSS1500          | SN2 | SN3 | -2.30 | 7.51e-14 | 1.45e-13 |
| cg01955239 | chr13 | 96994642  | 96994644  | OXGR1           | TSS1500          | SN1 | SN3 | -2.46 | 1.98e-14 | 4.77e-14 |
| cg01981762 | chr10 | 102410960 | 102410962 | PSD             | Body             | SN2 | SN3 | -2.45 | 3.82e-18 | 3.46e-17 |
| cg01981762 | chr10 | 102410960 | 102410962 | PSD             | Body             | SN1 | SN3 | -2.38 | 3.45e-16 | 1.40e-15 |
| cg02101773 | chr20 | 20366948  | 20366950  | INSM1           | TSS1500          | SN2 | SN3 | -2.14 | 4.21e-11 | 4.88e-11 |
| cg02101773 | chr20 | 20366948  | 20366950  | INSM1           | TSS1500          | SN1 | SN3 | -2.53 | 1.80e-13 | 2.98e-13 |
| cg02228815 | chr15 | 31392927  | 31392929  | NA              | NA               | SN1 | SN3 | -2.54 | 3.08e-16 | 1.29e-15 |
| cg02228815 | chr15 | 31392927  | 31392929  | NA              | NA               | SN2 | SN3 | -2.85 | 9.75e-21 | 3.31e-19 |

Continúa en la siguiente página

|            |       |           |           |         |         |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|---------|---------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg02316596 | chr11 | 120564269 | 120564271 | NA      | NA      | SN1 | SN3 | -2.33 | 2.77e-15 | 8.48e-15 |
| cg02316596 | chr11 | 120564269 | 120564271 | NA      | NA      | SN2 | SN3 | -2.32 | 2.63e-16 | 1.13e-15 |
| cg02335804 | chr17 | 37745247  | 37745249  | HNF1B   | TSS200  | SN1 | SN3 | -2.56 | 1.79e-13 | 2.98e-13 |
| cg02335804 | chr17 | 37745247  | 37745249  | HNF1B   | TSS200  | SN2 | SN3 | -2.14 | 7.70e-11 | 8.62e-11 |
| cg02410887 | chr8  | 55879238  | 55879240  | LYN     | TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.37 | 4.35e-17 | 2.47e-16 |
| cg02410887 | chr8  | 55879238  | 55879240  | LYN     | TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.05 | 1.26e-14 | 3.05e-14 |
| cg02696790 | chr15 | 74958655  | 74958657  | RPP25   | TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.60 | 2.71e-14 | 5.94e-14 |
| cg02696790 | chr15 | 74958655  | 74958657  | RPP25   | TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.27 | 8.28e-11 | 9.27e-11 |
| cg03011535 | chr20 | 43916153  | 43916155  | TOX2    | 5'UTR   | SN2 | SN3 | -2.19 | 1.78e-09 | 1.83e-09 |
| cg03011535 | chr20 | 43916153  | 43916155  | TOX2    | 5'UTR   | SN1 | SN3 | -2.58 | 1.91e-11 | 2.27e-11 |
| cg03027876 | chr15 | 33068349  | 33068351  | FMN1    | TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.43 | 2.11e-19 | 4.27e-18 |
| cg03027876 | chr15 | 33068349  | 33068351  | FMN1    | TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.22 | 8.33e-16 | 3.06e-15 |
| cg03148858 | chr19 | 3047979   | 3047981   | TLE2    | TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.39 | 6.13e-17 | 3.40e-16 |
| cg03148858 | chr19 | 3047979   | 3047981   | TLE2    | TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.43 | 3.40e-16 | 1.40e-15 |
| cg03183608 | chr11 | 88338591  | 88338593  | CTSC    | TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.62 | 2.49e-18 | 2.18e-17 |
| cg03183608 | chr11 | 88338591  | 88338593  | CTSC    | TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.11 | 5.19e-14 | 1.04e-13 |
| cg03208426 | chr10 | 93062579  | 93062581  | CYP26C1 | Body    | SN2 | SN3 | -2.17 | 2.39e-09 | 2.45e-09 |
| cg03208426 | chr10 | 93062579  | 93062581  | CYP26C1 | Body    | SN1 | SN3 | -2.19 | 6.85e-09 | 7.00e-09 |
| cg03315007 | chr1  | 2205627   | 2205629   | C1orf86 | 5'UTR   | SN1 | SN3 | -2.55 | 8.01e-14 | 1.49e-13 |
| cg03315007 | chr1  | 2205627   | 2205629   | C1orf86 | 5'UTR   | SN2 | SN3 | -2.59 | 3.18e-15 | 9.71e-15 |
| cg03380964 | chr4  | 152046068 | 152046070 | NA      | NA      | SN1 | SN3 | -2.67 | 8.91e-15 | 2.35e-14 |
| cg03380964 | chr4  | 152046068 | 152046070 | NA      | NA      | SN2 | SN3 | -2.16 | 2.26e-11 | 2.70e-11 |
| cg03576469 | chr19 | 46413803  | 46413805  | CCDC8   | TSS200  | SN2 | SN3 | -2.13 | 4.53e-13 | 7.25e-13 |
| cg03576469 | chr19 | 46413803  | 46413805  | CCDC8   | TSS200  | SN1 | SN3 | -2.44 | 4.40e-15 | 1.23e-14 |
| cg03702236 | chr5  | 9546642   | 9546644   | SEMA5A  | TSS1500 | SN1 | SN3 | -3.26 | 4.96e-21 | 1.35e-19 |
| cg03702236 | chr5  | 9546642   | 9546644   | SEMA5A  | TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.45 | 1.76e-14 | 4.14e-14 |
| cg03962809 | chr2  | 201118475 | 201118477 | CFLAR   | 5'UTR   | SN2 | SN3 | -2.26 | 5.55e-11 | 6.34e-11 |

|            |       |           |           |                    |                |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|--------------------|----------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg03962809 | chr2  | 201118475 | 201118477 | CFLAR              | 5'UTR          | SN1 | SN3 | -2.51 | 4.20e-12 | 5.29e-12 |
| cg04003850 | chr3  | 192408375 | 192408377 | FGF12              | 5'UTR          | SN1 | SN3 | -2.03 | 4.20e-06 | 4.23e-06 |
| cg04003850 | chr3  | 192408375 | 192408377 | FGF12              | 5'UTR          | SN2 | SN3 | -2.81 | 9.32e-11 | 1.03e-10 |
| cg04241582 | chr5  | 163503299 | 163503301 | MAT2B              | 1stExon        | SN1 | SN3 | -3.22 | 3.36e-21 | 1.14e-19 |
| cg04241582 | chr5  | 163503299 | 163503301 | MAT2B              | 1stExon        | SN2 | SN3 | -2.08 | 1.50e-11 | 1.83e-11 |
| cg04362586 | chr2  | 45004642  | 45004644  | NA                 | NA             | SN2 | SN3 | -2.28 | 3.12e-10 | 3.32e-10 |
| cg04362586 | chr2  | 45004642  | 45004644  | NA                 | NA             | SN1 | SN3 | -2.36 | 4.24e-10 | 4.53e-10 |
| cg04387240 | chr6  | 165989210 | 165989212 | LOC441177_C6orf176 | Body, TSS1500  | SN1 | SN3 | -2.53 | 5.15e-18 | 3.89e-17 |
| cg04387240 | chr6  | 165989210 | 165989212 | LOC441177_C6orf176 | Body, TSS1500  | SN2 | SN3 | -2.59 | 5.28e-20 | 1.20e-18 |
| cg04525852 | chr4  | 124711382 | 124711384 | ANKRD50            | 5'UTR          | SN2 | SN3 | -2.14 | 9.44e-18 | 7.45e-17 |
| cg04525852 | chr4  | 124711382 | 124711384 | ANKRD50            | 5'UTR          | SN1 | SN3 | -2.15 | 8.50e-17 | 4.45e-16 |
| cg04528704 | chr12 | 122204575 | 122204577 | B3GNT4             | 5'UTR          | SN2 | SN3 | -2.23 | 5.51e-15 | 1.53e-14 |
| cg04528704 | chr12 | 122204575 | 122204577 | B3GNT4             | 5'UTR          | SN1 | SN3 | -2.29 | 1.40e-14 | 3.50e-14 |
| cg04540383 | chr3  | 50341179  | 50341181  | RASSF1_ZMYND10     | TSS1500, 3'UTR | SN1 | SN3 | -2.74 | 8.05e-13 | 1.14e-12 |
| cg04540383 | chr3  | 50341179  | 50341181  | RASSF1_ZMYND10     | TSS1500, 3'UTR | SN2 | SN3 | -2.46 | 1.31e-11 | 1.63e-11 |
| cg04555220 | chr5  | 9546582   | 9546584   | SEMA5A             | TSS1500        | SN2 | SN3 | -2.17 | 9.59e-18 | 7.45e-17 |
| cg04555220 | chr5  | 9546582   | 9546584   | SEMA5A             | TSS1500        | SN1 | SN3 | -2.37 | 6.59e-19 | 6.64e-18 |
| cg04675539 | chr4  | 1763669   | 1763671   | NA                 | NA             | SN1 | SN3 | -3.22 | 1.73e-17 | 1.12e-16 |
| cg04675539 | chr4  | 1763669   | 1763671   | NA                 | NA             | SN2 | SN3 | -2.57 | 3.42e-13 | 5.68e-13 |
| cg04681810 | chr12 | 30822814  | 30822816  | NA                 | NA             | SN1 | SN3 | -2.42 | 2.94e-14 | 6.66e-14 |
| cg04681810 | chr12 | 30822814  | 30822816  | NA                 | NA             | SN2 | SN3 | -2.45 | 1.21e-15 | 4.20e-15 |
| cg04854343 | chr20 | 2750913   | 2750915   | EBF4               | Body           | SN1 | SN3 | -2.39 | 5.52e-14 | 1.09e-13 |
| cg04854343 | chr20 | 2750913   | 2750915   | EBF4               | Body           | SN2 | SN3 | -2.12 | 1.87e-12 | 2.67e-12 |
| cg04885832 | chr5  | 177133263 | 177133265 | NSD1               | TSS1500        | SN1 | SN3 | -2.11 | 5.98e-13 | 8.76e-13 |
| cg04885832 | chr5  | 177133263 | 177133265 | NSD1               | TSS1500        | SN2 | SN3 | -2.26 | 1.91e-15 | 6.06e-15 |
| cg05180208 | chr1  | 37754082  | 37754084  | EPHA10             | Body           | SN1 | SN3 | -2.41 | 3.64e-13 | 5.63e-13 |
| cg05180208 | chr1  | 37754082  | 37754084  | EPHA10             | Body           | SN2 | SN3 | -2.14 | 1.11e-11 | 1.41e-11 |

Continúa en la siguiente página

|            |       |           |           |                 |               |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|-----------------|---------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg05602356 | chr5  | 59039028  | 59039030  | PDE4D           | Body          | SN1 | SN3 | -2.30 | 1.09e-10 | 1.20e-10 |
| cg05602356 | chr5  | 59039028  | 59039030  | PDE4D           | Body          | SN2 | SN3 | -3.17 | 7.34e-19 | 1.05e-17 |
| cg05908587 | chr14 | 69259533  | 69259535  | GALNTL1         | TSS1500       | SN1 | SN3 | -2.20 | 1.46e-12 | 1.99e-12 |
| cg05908587 | chr14 | 69259533  | 69259535  | GALNTL1         | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.11 | 1.07e-12 | 1.59e-12 |
| cg05985303 | chr2  | 218858981 | 218858983 | WNT6            | TSS1500       | SN1 | SN3 | -2.45 | 5.82e-20 | 9.15e-19 |
| cg05985303 | chr2  | 218858981 | 218858983 | WNT6            | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.52 | 3.12e-22 | 2.83e-20 |
| cg06089705 | chr2  | 60557656  | 60557658  | NA              | NA            | SN1 | SN3 | -2.26 | 3.30e-12 | 4.28e-12 |
| cg06089705 | chr2  | 60557656  | 60557658  | NA              | NA            | SN2 | SN3 | -2.26 | 3.81e-13 | 6.24e-13 |
| cg06160809 | chr2  | 216694964 | 216694966 | IGFBP5          | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.25 | 1.09e-11 | 1.33e-11 |
| cg06160809 | chr2  | 216694964 | 216694966 | IGFBP5          | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.29 | 7.04e-13 | 1.08e-12 |
| cg06521550 | chr3  | 49904036  | 49904038  | MST1R           | TSS200        | SN2 | SN3 | -2.15 | 1.25e-08 | 1.27e-08 |
| cg06521550 | chr3  | 49904036  | 49904038  | MST1R           | TSS200        | SN1 | SN3 | -2.71 | 1.41e-11 | 1.71e-11 |
| cg06545019 | chr9  | 107488330 | 107488332 | KLF4            | Body          | SN2 | SN3 | -2.33 | 5.85e-16 | 2.18e-15 |
| cg06545019 | chr9  | 107488330 | 107488332 | KLF4            | Body          | SN1 | SN3 | -2.39 | 1.77e-15 | 5.60e-15 |
| cg06603943 | chr9  | 127123011 | 127123013 | ANGPTL2_RALGPS1 | TSS1500, Body | SN1 | SN3 | -2.09 | 3.28e-09 | 3.35e-09 |
| cg06603943 | chr9  | 127123011 | 127123013 | ANGPTL2_RALGPS1 | TSS1500, Body | SN2 | SN3 | -2.70 | 8.46e-15 | 2.23e-14 |
| cg06616077 | chr20 | 4149883   | 4149885   | SMOX            | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.25 | 9.89e-15 | 2.56e-14 |
| cg06616077 | chr20 | 4149883   | 4149885   | SMOX            | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.13 | 1.91e-14 | 4.36e-14 |
| cg06621373 | chr19 | 33303783  | 33303785  | LOC80054_CEBPA  | Body, TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.83 | 3.27e-24 | 6.20e-22 |
| cg06621373 | chr19 | 33303783  | 33303785  | LOC80054_CEBPA  | Body, TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.82 | 1.91e-22 | 1.04e-20 |
| cg06687640 | chr5  | 160133684 | 160133686 | NA              | NA            | SN1 | SN3 | -2.39 | 1.27e-13 | 2.22e-13 |
| cg06687640 | chr5  | 160133684 | 160133686 | NA              | NA            | SN2 | SN3 | -2.51 | 8.57e-16 | 3.07e-15 |
| cg06788072 | chr14 | 89429619  | 89429621  | FOXN3           | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.26 | 3.48e-17 | 2.20e-16 |
| cg06788072 | chr14 | 89429619  | 89429621  | FOXN3           | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.63 | 3.31e-20 | 5.62e-19 |
| cg06868622 | chr20 | 675243    | 675245    | SCRT2           | Body          | SN1 | SN3 | -2.51 | 1.17e-13 | 2.06e-13 |
| cg06868622 | chr20 | 675243    | 675245    | SCRT2           | Body          | SN2 | SN3 | -2.23 | 3.51e-12 | 4.77e-12 |
| cg06962944 | chr20 | 43916087  | 43916089  | TOX2            | TSS200        | SN1 | SN3 | -2.27 | 1.03e-11 | 1.27e-11 |

|            |       |           |           |              |                |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|--------------|----------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg06962944 | chr20 | 43916087  | 43916089  | TOX2         | TSS200         | SN2 | SN3 | -2.11 | 3.80e-11 | 4.43e-11 |
| cg07035145 | chr14 | 50943970  | 50943972  | PYGL         | Body           | SN1 | SN3 | -2.48 | 8.22e-18 | 5.88e-17 |
| cg07035145 | chr14 | 50943970  | 50943972  | PYGL         | Body           | SN2 | SN3 | -2.28 | 9.31e-17 | 4.78e-16 |
| cg07126617 | chr3  | 170419894 | 170419896 | CLDN11       | TSS1500        | SN2 | SN3 | -2.07 | 3.63e-13 | 5.99e-13 |
| cg07126617 | chr3  | 170419894 | 170419896 | CLDN11       | TSS1500        | SN1 | SN3 | -2.26 | 4.23e-14 | 8.79e-14 |
| cg07207099 | chr3  | 49277302  | 49277304  | USP4_C3orf62 | 3'UTR, TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.62 | 1.46e-18 | 1.73e-17 |
| cg07207099 | chr3  | 49277302  | 49277304  | USP4_C3orf62 | 3'UTR, TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.59 | 5.62e-17 | 3.06e-16 |
| cg07482202 | chr16 | 695686    | 695688    | FBXL16       | Body           | SN1 | SN3 | -2.84 | 4.34e-11 | 5.01e-11 |
| cg07482202 | chr16 | 695686    | 695688    | FBXL16       | Body           | SN2 | SN3 | -2.14 | 1.23e-07 | 1.24e-07 |
| cg07786776 | chr17 | 42098270  | 42098272  | NA           | NA             | SN2 | SN3 | -2.18 | 2.08e-11 | 2.49e-11 |
| cg07786776 | chr17 | 42098270  | 42098272  | NA           | NA             | SN1 | SN3 | -2.42 | 1.70e-12 | 2.28e-12 |
| cg07814289 | chr9  | 128218780 | 128218782 | DNM1         | Body           | SN1 | SN3 | -2.58 | 3.56e-15 | 1.04e-14 |
| cg07814289 | chr9  | 128218780 | 128218782 | DNM1         | Body           | SN2 | SN3 | -2.20 | 1.03e-12 | 1.53e-12 |
| cg08114542 | chr9  | 75087476  | 75087478  | NMRK1_OSTF1  | 5'UTR, TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.57 | 1.05e-13 | 1.88e-13 |
| cg08114542 | chr9  | 75087476  | 75087478  | NMRK1_OSTF1  | 5'UTR, TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.29 | 2.60e-12 | 3.61e-12 |
| cg08118159 | chr19 | 40549301  | 40549303  | SPTBN4       | Body           | SN2 | SN3 | -2.31 | 1.04e-13 | 1.93e-13 |
| cg08118159 | chr19 | 40549301  | 40549303  | SPTBN4       | Body           | SN1 | SN3 | -2.58 | 3.87e-15 | 1.12e-14 |
| cg08308459 | chr2  | 38666018  | 38666020  | GALM         | 5'UTR          | SN1 | SN3 | -2.36 | 1.16e-16 | 5.73e-16 |
| cg08308459 | chr2  | 38666018  | 38666020  | GALM         | 5'UTR          | SN2 | SN3 | -2.24 | 1.79e-16 | 8.26e-16 |
| cg08494905 | chr6  | 37696205  | 37696207  | MDGA1        | Body           | SN1 | SN3 | -2.27 | 2.84e-13 | 4.51e-13 |
| cg08494905 | chr6  | 37696205  | 37696207  | MDGA1        | Body           | SN2 | SN3 | -2.13 | 6.98e-13 | 1.08e-12 |
| cg08611163 | chr1  | 6206299   | 6206301   | RNF207       | 5'UTR          | SN1 | SN3 | -2.20 | 3.13e-12 | 4.08e-12 |
| cg08611163 | chr1  | 6206299   | 6206301   | RNF207       | 5'UTR          | SN2 | SN3 | -2.16 | 9.69e-13 | 1.46e-12 |
| cg08704509 | chr5  | 126423116 | 126423118 | GRAMD3       | Body           | SN2 | SN3 | -2.52 | 3.22e-15 | 9.74e-15 |
| cg08704509 | chr5  | 126423116 | 126423118 | GRAMD3       | Body           | SN1 | SN3 | -2.84 | 3.78e-17 | 2.19e-16 |
| cg08799173 | chr6  | 41505469  | 41505471  | NA           | NA             | SN1 | SN3 | -3.07 | 1.37e-19 | 1.96e-18 |
| cg08799173 | chr6  | 41505469  | 41505471  | NA           | NA             | SN2 | SN3 | -2.71 | 2.63e-17 | 1.74e-16 |

Continúa en la siguiente página

|            |       |           |           |                     |               |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|---------------------|---------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg08842200 | chr4  | 154333338 | 154333340 | DCHS2               | Body          | SN1 | SN3 | -1.99 | 1.31e-09 | 1.35e-09 |
| cg08842200 | chr4  | 154333338 | 154333340 | DCHS2               | Body          | SN2 | SN3 | -2.74 | 5.97e-17 | 3.38e-16 |
| cg09016822 | chr6  | 30744618  | 30744620  | IER3                | TSS200        | SN1 | SN3 | -2.14 | 5.54e-14 | 1.09e-13 |
| cg09016822 | chr6  | 30744618  | 30744620  | IER3                | TSS200        | SN2 | SN3 | -2.22 | 7.70e-16 | 2.79e-15 |
| cg09028204 | chr20 | 45101166  | 45101168  | KCNS1               | TSS200        | SN2 | SN3 | -2.29 | 1.95e-12 | 2.75e-12 |
| cg09028204 | chr20 | 45101166  | 45101168  | KCNS1               | TSS200        | SN1 | SN3 | -2.61 | 3.06e-14 | 6.87e-14 |
| cg09130785 | chr1  | 6603703   | 6603705   | KLHL21              | TSS1500       | SN1 | SN3 | -2.39 | 4.92e-13 | 7.32e-13 |
| cg09130785 | chr1  | 6603703   | 6603705   | KLHL21              | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.13 | 1.13e-11 | 1.43e-11 |
| cg09416400 | chr5  | 126423154 | 126423156 | GRAMD3              | TSS200        | SN2 | SN3 | -2.41 | 1.94e-16 | 8.81e-16 |
| cg09416400 | chr5  | 126423154 | 126423156 | GRAMD3              | TSS200        | SN1 | SN3 | -2.45 | 9.46e-16 | 3.34e-15 |
| cg09492887 | chr7  | 103445530 | 103445532 | SLC26A5             | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.16 | 7.49e-14 | 1.40e-13 |
| cg09492887 | chr7  | 103445530 | 103445532 | SLC26A5             | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.22 | 1.65e-15 | 5.36e-15 |
| cg09768110 | chr11 | 36376003  | 36376005  | PRR5L               | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.51 | 1.00e-12 | 1.38e-12 |
| cg09768110 | chr11 | 36376003  | 36376005  | PRR5L               | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.16 | 8.65e-11 | 9.64e-11 |
| cg09830769 | chr6  | 165989264 | 165989266 | LINC00602_LINC00473 | Body, TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.52 | 1.14e-16 | 5.72e-16 |
| cg09830769 | chr6  | 165989264 | 165989266 | LINC00602_LINC00473 | Body, TSS1500 | SN2 | SN3 | -3.07 | 4.56e-24 | 6.20e-22 |
| cg09831553 | chr20 | 62368184  | 62368186  | LAMA5               | TSS1500       | SN1 | SN3 | -2.43 | 6.59e-14 | 1.27e-13 |
| cg09831553 | chr20 | 62368184  | 62368186  | LAMA5               | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.33 | 4.87e-14 | 9.82e-14 |
| cg09934601 | chr7  | 140230107 | 140230109 | NA                  | NA            | SN2 | SN3 | -2.90 | 7.62e-17 | 4.11e-16 |
| cg09934601 | chr7  | 140230107 | 140230109 | NA                  | NA            | SN1 | SN3 | -2.92 | 6.81e-16 | 2.57e-15 |
| cg10127483 | chr1  | 109467351 | 109467353 | SYPL2               | Body          | SN2 | SN3 | -2.03 | 5.94e-14 | 1.17e-13 |
| cg10127483 | chr1  | 109467351 | 109467353 | SYPL2               | Body          | SN1 | SN3 | -2.07 | 2.07e-13 | 3.37e-13 |
| cg10279487 | chr17 | 78359206  | 78359208  | SOCS3               | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.44 | 1.31e-15 | 4.46e-15 |
| cg10279487 | chr17 | 78359206  | 78359208  | SOCS3               | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.36 | 8.65e-14 | 1.60e-13 |
| cg10288510 | chr1  | 213985383 | 213985385 | NA                  | NA            | SN2 | SN3 | -2.41 | 1.11e-13 | 2.05e-13 |
| cg10288510 | chr1  | 213985383 | 213985385 | NA                  | NA            | SN1 | SN3 | -2.45 | 4.58e-13 | 6.84e-13 |
| cg10307145 | chr14 | 76329841  | 76329843  | NA                  | NA            | SN1 | SN3 | -2.14 | 6.09e-11 | 6.91e-11 |

|            |       |           |           |                     |                  |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|---------------------|------------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg10307145 | chr14 | 76329841  | 76329843  | NA                  | NA               | SN2 | SN3 | -2.39 | 6.27e-14 | 1.23e-13 |
| cg10322504 | chr20 | 3248592   | 3248594   | NA                  | NA               | SN2 | SN3 | -2.25 | 9.92e-12 | 1.27e-11 |
| cg10322504 | chr20 | 3248592   | 3248594   | NA                  | NA               | SN1 | SN3 | -2.43 | 2.83e-12 | 3.74e-12 |
| cg10325678 | chr6  | 39792864  | 39792866  | DAAM2               | TSS200           | SN2 | SN3 | -2.08 | 5.86e-11 | 6.64e-11 |
| cg10325678 | chr6  | 39792864  | 39792866  | DAAM2               | TSS200           | SN1 | SN3 | -2.55 | 4.75e-14 | 9.64e-14 |
| cg10514733 | chr11 | 120564212 | 120564214 | GRIK4               | TSS1500          | SN2 | SN3 | -2.15 | 5.53e-13 | 8.72e-13 |
| cg10514733 | chr11 | 120564212 | 120564214 | GRIK4               | TSS1500          | SN1 | SN3 | -2.30 | 2.01e-13 | 3.30e-13 |
| cg10567964 | chr1  | 205343566 | 205343568 | KLHDC8A             | Body             | SN1 | SN3 | -2.09 | 9.47e-15 | 2.48e-14 |
| cg10567964 | chr1  | 205343566 | 205343568 | KLHDC8A             | Body             | SN2 | SN3 | -2.59 | 5.51e-22 | 3.26e-20 |
| cg10601625 | chr8  | 41713103  | 41713105  | ANK1                | Body             | SN2 | SN3 | -2.51 | 2.38e-17 | 1.62e-16 |
| cg10601625 | chr8  | 41713103  | 41713105  | ANK1                | Body             | SN1 | SN3 | -2.71 | 3.03e-18 | 2.57e-17 |
| cg10731149 | chr2  | 171522175 | 171522177 | CYBRD1              | TSS200           | SN2 | SN3 | -2.24 | 3.97e-13 | 6.42e-13 |
| cg10731149 | chr2  | 171522175 | 171522177 | CYBRD1              | TSS200           | SN1 | SN3 | -2.51 | 1.20e-14 | 3.02e-14 |
| cg10876207 | chr14 | 69259479  | 69259481  | GALNTL1             | TSS1500          | SN2 | SN3 | -2.19 | 3.31e-11 | 3.90e-11 |
| cg10876207 | chr14 | 69259479  | 69259481  | GALNTL1             | TSS1500          | SN1 | SN3 | -2.87 | 4.86e-16 | 1.89e-15 |
| cg10907062 | chr1  | 6206149   | 6206151   | LOC102724450_RNF207 | TSS1500, 1stExon | SN2 | SN3 | -2.06 | 1.63e-12 | 2.33e-12 |
| cg10907062 | chr1  | 6206149   | 6206151   | LOC102724450_RNF207 | TSS1500, 1stExon | SN1 | SN3 | -2.24 | 3.11e-13 | 4.89e-13 |
| cg10923719 | chr1  | 19643703  | 19643705  | NBL1_MINOS1-NBL1    | TSS1500, 5'UTR   | SN2 | SN3 | -2.09 | 8.12e-14 | 1.54e-13 |
| cg10923719 | chr1  | 19643703  | 19643705  | NBL1_MINOS1-NBL1    | TSS1500, 5'UTR   | SN1 | SN3 | -2.17 | 1.20e-13 | 2.10e-13 |
| cg10938374 | chr6  | 30744280  | 30744282  | IER3                | Body             | SN1 | SN3 | -2.61 | 3.31e-15 | 9.78e-15 |
| cg10938374 | chr6  | 30744280  | 30744282  | IER3                | Body             | SN2 | SN3 | -2.45 | 9.06e-15 | 2.35e-14 |
| cg11271605 | chr7  | 88306966  | 88306968  | STEAP4              | TSS200           | SN2 | SN3 | -2.34 | 4.16e-12 | 5.55e-12 |
| cg11271605 | chr7  | 88306966  | 88306968  | STEAP4              | TSS200           | SN1 | SN3 | -2.26 | 1.15e-10 | 1.26e-10 |
| cg11348293 | chr2  | 219061611 | 219061613 | IHH                 | TSS1500          | SN2 | SN3 | -2.14 | 5.94e-10 | 6.21e-10 |
| cg11348293 | chr2  | 219061611 | 219061613 | IHH                 | TSS1500          | SN1 | SN3 | -2.37 | 7.03e-11 | 7.93e-11 |
| cg11361698 | chr9  | 133738420 | 133738422 | SARDH               | 5'UTR            | SN1 | SN3 | -2.75 | 6.25e-19 | 6.54e-18 |
| cg11361698 | chr9  | 133738420 | 133738422 | SARDH               | 5'UTR            | SN2 | SN3 | -2.24 | 9.59e-15 | 2.42e-14 |

Continúa en la siguiente página

|            |       |           |           |                          |                           |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|--------------------------|---------------------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg11392885 | chr4  | 152679970 | 152679972 | TMEM154                  | 1stExon                   | SN1 | SN3 | -2.96 | 1.16e-21 | 5.28e-20 |
| cg11392885 | chr4  | 152679970 | 152679972 | TMEM154                  | 1stExon                   | SN2 | SN3 | -2.72 | 1.85e-20 | 5.60e-19 |
| cg11639161 | chr19 | 45499421  | 45499423  | PPM1N                    | Body                      | SN1 | SN3 | -2.24 | 1.60e-15 | 5.20e-15 |
| cg11639161 | chr19 | 45499421  | 45499423  | PPM1N                    | Body                      | SN2 | SN3 | -2.02 | 4.15e-14 | 8.55e-14 |
| cg11726911 | chr1  | 6181059   | 6181061   | CHD5                     | TSS1500                   | SN1 | SN3 | -3.00 | 1.11e-17 | 7.53e-17 |
| cg11726911 | chr1  | 6181059   | 6181061   | CHD5                     | TSS1500                   | SN2 | SN3 | -2.40 | 2.46e-13 | 4.16e-13 |
| cg11756518 | chr6  | 107488724 | 107488726 | SOBP                     | TSS1500                   | SN2 | SN3 | -2.40 | 1.34e-18 | 1.66e-17 |
| cg11756518 | chr6  | 107488724 | 107488726 | SOBP                     | TSS1500                   | SN1 | SN3 | -2.08 | 6.44e-14 | 1.25e-13 |
| cg11986813 | chr10 | 42933695  | 42933697  | NA                       | NA                        | SN1 | SN3 | -2.39 | 3.26e-11 | 3.77e-11 |
| cg11986813 | chr10 | 42933695  | 42933697  | NA                       | NA                        | SN2 | SN3 | -2.28 | 3.40e-11 | 3.99e-11 |
| cg12109291 | chr2  | 45004977  | 45004979  | NA                       | NA                        | SN1 | SN3 | -2.50 | 2.17e-10 | 2.34e-10 |
| cg12109291 | chr2  | 45004977  | 45004979  | NA                       | NA                        | SN2 | SN3 | -2.39 | 2.35e-10 | 2.51e-10 |
| cg12139725 | chr1  | 37754108  | 37754110  | EPHA10                   | Body                      | SN2 | SN3 | -2.55 | 1.07e-14 | 2.66e-14 |
| cg12139725 | chr1  | 37754108  | 37754110  | EPHA10                   | Body                      | SN1 | SN3 | -2.83 | 3.58e-16 | 1.41e-15 |
| cg12174341 | chr8  | 41566822  | 41566824  | NA                       | NA                        | SN2 | SN3 | -2.30 | 7.70e-17 | 4.11e-16 |
| cg12174341 | chr8  | 41566822  | 41566824  | NA                       | NA                        | SN1 | SN3 | -2.12 | 7.20e-14 | 1.37e-13 |
| cg12277495 | chr16 | 66428280  | 66428282  | BEAN                     | 5'UTR                     | SN2 | SN3 | -2.18 | 1.65e-10 | 1.79e-10 |
| cg12277495 | chr16 | 66428280  | 66428282  | BEAN                     | 5'UTR                     | SN1 | SN3 | -2.70 | 9.78e-14 | 1.77e-13 |
| cg12328140 | chr9  | 136546949 | 136546951 | NOTCH1_LINC01573_MIR4674 | TSS1500, TSS1500, TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.96 | 3.83e-21 | 1.16e-19 |
| cg12328140 | chr9  | 136546949 | 136546951 | NOTCH1_LINC01573_MIR4674 | TSS1500, TSS1500, TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.38 | 3.94e-16 | 1.55e-15 |
| cg12467264 | chr5  | 175773067 | 175773069 | NA                       | NA                        | SN1 | SN3 | -3.30 | 4.12e-15 | 1.18e-14 |
| cg12467264 | chr5  | 175773067 | 175773069 | NA                       | NA                        | SN2 | SN3 | -2.50 | 1.65e-10 | 1.79e-10 |
| cg12486308 | chr19 | 40600444  | 40600446  | LTBP4                    | TSS1500                   | SN2 | SN3 | -2.30 | 9.61e-15 | 2.42e-14 |
| cg12486308 | chr19 | 40600444  | 40600446  | LTBP4                    | TSS1500                   | SN1 | SN3 | -2.37 | 1.84e-14 | 4.51e-14 |
| cg12486659 | chr4  | 1012419   | 1012421   | FGFRL1                   | 5'UTR                     | SN1 | SN3 | -2.32 | 3.57e-13 | 5.56e-13 |
| cg12486659 | chr4  | 1012419   | 1012421   | FGFRL1                   | 5'UTR                     | SN2 | SN3 | -2.36 | 1.69e-14 | 4.01e-14 |
| cg12966367 | chr3  | 50340975  | 50340977  | RASSF1                   | TSS200                    | SN2 | SN3 | -2.19 | 5.55e-13 | 8.72e-13 |

|            |       |           |           |                   |             |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|-------------------|-------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg12966367 | chr3  | 50340975  | 50340977  | RASSF1            | TSS200      | SN1 | SN3 | -2.36 | 1.48e-13 | 2.53e-13 |
| cg13299477 | chr19 | 3047763   | 3047765   | TLE2              | TSS200      | SN2 | SN3 | -2.44 | 2.29e-18 | 2.38e-17 |
| cg13299477 | chr19 | 3047763   | 3047765   | TLE2              | TSS200      | SN1 | SN3 | -2.37 | 2.19e-16 | 9.46e-16 |
| cg13376515 | chr4  | 185536579 | 185536581 | PDLIM3            | TSS1500     | SN2 | SN3 | -2.18 | 9.72e-17 | 4.90e-16 |
| cg13376515 | chr4  | 185536579 | 185536581 | PDLIM3            | TSS1500     | SN1 | SN3 | -2.25 | 1.88e-16 | 8.66e-16 |
| cg13379827 | chr1  | 65003098  | 65003100  | NA                | NA          | SN2 | SN3 | -2.33 | 1.21e-10 | 1.32e-10 |
| cg13379827 | chr1  | 65003098  | 65003100  | NA                | NA          | SN1 | SN3 | -3.10 | 1.55e-15 | 5.16e-15 |
| cg13578408 | chr7  | 8435853   | 8435855   | NXPH1             | Body        | SN2 | SN3 | -2.18 | 1.35e-12 | 1.98e-12 |
| cg13578408 | chr7  | 8435853   | 8435855   | NXPH1             | Body        | SN1 | SN3 | -2.46 | 3.15e-14 | 7.01e-14 |
| cg13641815 | chr14 | 105487083 | 105487085 | CRIP1             | 5'UTR       | SN1 | SN3 | -2.39 | 6.92e-13 | 9.86e-13 |
| cg13641815 | chr14 | 105487083 | 105487085 | CRIP1             | 5'UTR       | SN2 | SN3 | -2.67 | 2.02e-16 | 9.01e-16 |
| cg13698196 | chr12 | 51864108  | 51864110  | NA                | NA          | SN2 | SN3 | -2.41 | 1.35e-17 | 9.67e-17 |
| cg13698196 | chr12 | 51864108  | 51864110  | NA                | NA          | SN1 | SN3 | -2.33 | 1.44e-15 | 4.84e-15 |
| cg14000000 | chr6  | 26521734  | 26521736  | HCG11             | Body        | SN2 | SN3 | -2.28 | 1.40e-14 | 3.33e-14 |
| cg14000000 | chr6  | 26521734  | 26521736  | HCG11             | Body        | SN1 | SN3 | -2.51 | 8.85e-16 | 3.21e-15 |
| cg14121142 | chr12 | 48997579  | 48997581  | DDN               | Body        | SN2 | SN3 | -2.47 | 3.16e-14 | 6.78e-14 |
| cg14121142 | chr12 | 48997579  | 48997581  | DDN               | Body        | SN1 | SN3 | -2.85 | 1.41e-16 | 6.84e-16 |
| cg14202850 | chr17 | 45897502  | 45897504  | MAPT_LOC100130148 | 5'UTR, Body | SN1 | SN3 | -2.46 | 1.28e-11 | 1.56e-11 |
| cg14202850 | chr17 | 45897502  | 45897504  | MAPT_LOC100130148 | 5'UTR, Body | SN2 | SN3 | -2.31 | 3.06e-11 | 3.64e-11 |
| cg14507088 | chr9  | 127928119 | 127928121 | PIP5KL1           | Body        | SN1 | SN3 | -2.32 | 3.70e-14 | 7.92e-14 |
| cg14507088 | chr9  | 127928119 | 127928121 | PIP5KL1           | Body        | SN2 | SN3 | -2.16 | 1.24e-13 | 2.25e-13 |
| cg14618624 | chr16 | 3018380   | 3018382   | CLDN6             | TSS200      | SN2 | SN3 | -2.19 | 1.84e-14 | 4.25e-14 |
| cg14618624 | chr16 | 3018380   | 3018382   | CLDN6             | TSS200      | SN1 | SN3 | -2.18 | 2.40e-13 | 3.87e-13 |
| cg14631706 | chr18 | 37524570  | 37524572  | BRUNOL4           | Body        | SN2 | SN3 | -2.52 | 1.49e-12 | 2.16e-12 |
| cg14631706 | chr18 | 37524570  | 37524572  | BRUNOL4           | Body        | SN1 | SN3 | -2.69 | 5.99e-13 | 8.76e-13 |
| cg14767203 | chr2  | 179860377 | 179860379 | ZNF385B           | 5'UTR       | SN2 | SN3 | -2.10 | 6.25e-12 | 8.22e-12 |
| cg14767203 | chr2  | 179860377 | 179860379 | ZNF385B           | 5'UTR       | SN1 | SN3 | -2.31 | 6.80e-13 | 9.79e-13 |

Continúa en la siguiente página

|            |       |           |           |                     |              |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|---------------------|--------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg14845772 | chr2  | 201257925 | 201257927 | CASP8               | TSS200       | SN2 | SN3 | -2.33 | 6.52e-11 | 7.36e-11 |
| cg14845772 | chr2  | 201257925 | 201257927 | CASP8               | TSS200       | SN1 | SN3 | -2.99 | 4.75e-15 | 1.32e-14 |
| cg14896357 | chr4  | 151407879 | 151407881 | FAM160A1            | TSS1500      | SN1 | SN3 | -2.49 | 7.22e-19 | 7.01e-18 |
| cg14896357 | chr4  | 151407879 | 151407881 | FAM160A1            | TSS1500      | SN2 | SN3 | -2.32 | 4.29e-18 | 3.70e-17 |
| cg14962032 | chr2  | 201257945 | 201257947 | CASP8               | 5'UTR        | SN2 | SN3 | -2.53 | 3.17e-14 | 6.78e-14 |
| cg14962032 | chr2  | 201257945 | 201257947 | CASP8               | 5'UTR        | SN1 | SN3 | -2.90 | 1.92e-16 | 8.70e-16 |
| cg15017244 | chr17 | 50562206  | 50562208  | CACNA1G-AS1_CACNA1G | TSS200, Body | SN1 | SN3 | -2.66 | 9.43e-16 | 3.34e-15 |
| cg15017244 | chr17 | 50562206  | 50562208  | CACNA1G-AS1_CACNA1G | TSS200, Body | SN2 | SN3 | -2.23 | 7.87e-13 | 1.20e-12 |
| cg15165084 | chr5  | 126423598 | 126423600 | GRAMD3              | 5'UTR        | SN1 | SN3 | -3.14 | 9.35e-17 | 4.80e-16 |
| cg15165084 | chr5  | 126423598 | 126423600 | GRAMD3              | 5'UTR        | SN2 | SN3 | -3.23 | 9.38e-19 | 1.28e-17 |
| cg15311460 | chr11 | 406996    | 406998    | SIGIRR              | Body         | SN2 | SN3 | -2.09 | 2.37e-18 | 2.38e-17 |
| cg15311460 | chr11 | 406996    | 406998    | SIGIRR              | Body         | SN1 | SN3 | -2.17 | 4.49e-18 | 3.49e-17 |
| cg15381221 | chr9  | 134456625 | 134456627 | NA                  | NA           | SN1 | SN3 | -2.64 | 2.12e-13 | 3.43e-13 |
| cg15381221 | chr9  | 134456625 | 134456627 | NA                  | NA           | SN2 | SN3 | -2.20 | 9.11e-11 | 1.01e-10 |
| cg15769184 | chr2  | 73291905  | 73291907  | EGR4                | Body         | SN1 | SN3 | -2.34 | 5.48e-13 | 8.10e-13 |
| cg15769184 | chr2  | 73291905  | 73291907  | EGR4                | Body         | SN2 | SN3 | -2.77 | 4.35e-18 | 3.70e-17 |
| cg15849864 | chr15 | 73369300  | 73369302  | HCN4                | TSS200       | SN2 | SN3 | -2.63 | 6.72e-16 | 2.47e-15 |
| cg15849864 | chr15 | 73369300  | 73369302  | HCN4                | TSS200       | SN1 | SN3 | -2.24 | 1.67e-11 | 2.01e-11 |
| cg16088539 | chr6  | 44076705  | 44076707  | NA                  | NA           | SN2 | SN3 | -2.43 | 5.81e-14 | 1.15e-13 |
| cg16088539 | chr6  | 44076705  | 44076707  | NA                  | NA           | SN1 | SN3 | -2.73 | 1.13e-15 | 3.89e-15 |
| cg16331051 | chr2  | 75561425  | 75561427  | FAM176A             | 5'UTR        | SN2 | SN3 | -2.26 | 4.47e-11 | 5.15e-11 |
| cg16331051 | chr2  | 75561425  | 75561427  | FAM176A             | 5'UTR        | SN1 | SN3 | -2.65 | 2.64e-13 | 4.23e-13 |
| cg16463745 | chr5  | 163503170 | 163503172 | MAT2B               | TSS200       | SN1 | SN3 | -3.78 | 9.06e-25 | 2.46e-22 |
| cg16463745 | chr5  | 163503170 | 163503172 | MAT2B               | TSS200       | SN2 | SN3 | -2.28 | 3.59e-12 | 4.86e-12 |
| cg16524960 | chr16 | 69107441  | 69107443  | HAS3                | 5'UTR        | SN2 | SN3 | -2.36 | 3.45e-14 | 7.22e-14 |
| cg16524960 | chr16 | 69107441  | 69107443  | HAS3                | 5'UTR        | SN1 | SN3 | -2.27 | 1.86e-12 | 2.49e-12 |
| cg16657340 | chr7  | 131558027 | 131558029 | PODXL               | TSS1500      | SN1 | SN3 | -2.54 | 9.30e-13 | 1.30e-12 |

|            |       |           |           |                    |               |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|--------------------|---------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg16657340 | chr7  | 131558027 | 131558029 | PODXL              | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.71 | 3.60e-15 | 1.08e-14 |
| cg16761581 | chr14 | 24334600  | 24334602  | ADCY4              | 1stExon       | SN1 | SN3 | -2.72 | 4.14e-14 | 8.67e-14 |
| cg16761581 | chr14 | 24334600  | 24334602  | ADCY4              | 1stExon       | SN2 | SN3 | -3.17 | 3.68e-19 | 6.68e-18 |
| cg16789592 | chr17 | 44005937  | 44005939  | PYY_NAGS           | TSS1500, Body | SN1 | SN3 | -2.76 | 1.98e-16 | 8.84e-16 |
| cg16789592 | chr17 | 44005937  | 44005939  | PYY_NAGS           | TSS1500, Body | SN2 | SN3 | -2.33 | 1.85e-13 | 3.21e-13 |
| cg16918905 | chr2  | 219496886 | 219496888 | NA                 | NA            | SN1 | SN3 | -2.62 | 3.35e-18 | 2.77e-17 |
| cg16918905 | chr2  | 219496886 | 219496888 | NA                 | NA            | SN2 | SN3 | -2.49 | 5.45e-18 | 4.49e-17 |
| cg17067528 | chr6  | 30744739  | 30744741  | IER3               | TSS200        | SN2 | SN3 | -2.18 | 3.97e-10 | 4.20e-10 |
| cg17067528 | chr6  | 30744739  | 30744741  | IER3               | TSS200        | SN1 | SN3 | -3.23 | 1.62e-17 | 1.08e-16 |
| cg17257571 | chr2  | 214808731 | 214808733 | LOC101928103_BARD1 | TSS1500, Body | SN2 | SN3 | -2.38 | 1.92e-18 | 2.09e-17 |
| cg17257571 | chr2  | 214808731 | 214808733 | LOC101928103_BARD1 | TSS1500, Body | SN1 | SN3 | -2.65 | 2.54e-20 | 4.60e-19 |
| cg17272224 | chr2  | 45010745  | 45010747  | SIX2               | TSS1500       | SN1 | SN3 | -2.16 | 6.59e-10 | 6.92e-10 |
| cg17272224 | chr2  | 45010745  | 45010747  | SIX2               | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.26 | 1.97e-11 | 2.40e-11 |
| cg17801983 | chr19 | 18225788  | 18225790  | PDE4C              | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.12 | 2.20e-19 | 4.27e-18 |
| cg17801983 | chr19 | 18225788  | 18225790  | PDE4C              | TSS1500       | SN1 | SN3 | -2.19 | 5.18e-19 | 5.63e-18 |
| cg17854416 | chr22 | 37324605  | 37324607  | NA                 | NA            | SN1 | SN3 | -2.36 | 4.68e-11 | 5.35e-11 |
| cg17854416 | chr22 | 37324605  | 37324607  | NA                 | NA            | SN2 | SN3 | -2.17 | 2.23e-10 | 2.39e-10 |
| cg17900356 | chr3  | 53156576  | 53156578  | NA                 | NA            | SN1 | SN3 | -2.36 | 9.48e-11 | 1.06e-10 |
| cg17900356 | chr3  | 53156576  | 53156578  | NA                 | NA            | SN2 | SN3 | -2.68 | 4.34e-14 | 8.81e-14 |
| cg18141830 | chr6  | 136920946 | 136920948 | SLC35D3            | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.37 | 7.89e-15 | 2.10e-14 |
| cg18141830 | chr6  | 136920946 | 136920948 | SLC35D3            | TSS1500       | SN1 | SN3 | -2.11 | 1.49e-11 | 1.80e-11 |
| cg18221122 | chr10 | 101062837 | 101062839 | KAZALD1            | Body          | SN1 | SN3 | -2.25 | 9.37e-13 | 1.30e-12 |
| cg18221122 | chr10 | 101062837 | 101062839 | KAZALD1            | Body          | SN2 | SN3 | -2.49 | 4.91e-16 | 1.85e-15 |
| cg18227293 | chr9  | 136701453 | 136701455 | NA                 | NA            | SN2 | SN3 | -2.65 | 2.65e-16 | 1.13e-15 |
| cg18227293 | chr9  | 136701453 | 136701455 | NA                 | NA            | SN1 | SN3 | -2.59 | 1.19e-14 | 3.02e-14 |
| cg18284089 | chr4  | 152680231 | 152680233 | TMEM154            | TSS200        | SN2 | SN3 | -2.60 | 1.14e-18 | 1.47e-17 |
| cg18284089 | chr4  | 152680231 | 152680233 | TMEM154            | TSS200        | SN1 | SN3 | -2.88 | 2.32e-20 | 4.51e-19 |

Continúa en la siguiente página

|            |       |           |           |              |               |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|--------------|---------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg18353028 | chr8  | 64756955  | 64756957  | CYP7B1       | Body          | SN2 | SN3 | -2.40 | 1.13e-17 | 8.56e-17 |
| cg18353028 | chr8  | 64756955  | 64756957  | CYP7B1       | Body          | SN1 | SN3 | -2.18 | 2.90e-14 | 6.66e-14 |
| cg18511007 | chr7  | 94394509  | 94394511  | COL1A2       | TSS200        | SN1 | SN3 | -2.43 | 1.78e-14 | 4.40e-14 |
| cg18511007 | chr7  | 94394509  | 94394511  | COL1A2       | TSS200        | SN2 | SN3 | -2.32 | 2.03e-14 | 4.56e-14 |
| cg18642271 | chr19 | 45677055  | 45677057  | GIPR         | Body          | SN2 | SN3 | -2.87 | 2.71e-17 | 1.76e-16 |
| cg18642271 | chr19 | 45677055  | 45677057  | GIPR         | Body          | SN1 | SN3 | -3.21 | 3.85e-19 | 4.37e-18 |
| cg19258034 | chr19 | 40549218  | 40549220  | SPTBN4       | Body          | SN2 | SN3 | -2.23 | 1.34e-11 | 1.66e-11 |
| cg19258034 | chr19 | 40549218  | 40549220  | SPTBN4       | Body          | SN1 | SN3 | -2.85 | 6.40e-16 | 2.45e-15 |
| cg19280586 | chr15 | 67832858  | 67832860  | LBXCOR1      | Body          | SN1 | SN3 | -2.56 | 3.85e-13 | 5.89e-13 |
| cg19280586 | chr15 | 67832858  | 67832860  | LBXCOR1      | Body          | SN2 | SN3 | -2.21 | 3.23e-11 | 3.82e-11 |
| cg19326153 | chr12 | 45216920  | 45216922  | ANO6_PLEKHA9 | Body, TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.51 | 9.57e-18 | 6.68e-17 |
| cg19326153 | chr12 | 45216920  | 45216922  | ANO6_PLEKHA9 | Body, TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.10 | 2.02e-14 | 4.56e-14 |
| cg19536127 | chr2  | 47177146  | 47177148  | CALM2        | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.16 | 5.89e-13 | 9.16e-13 |
| cg19536127 | chr2  | 47177146  | 47177148  | CALM2        | TSS1500       | SN1 | SN3 | -2.50 | 2.83e-15 | 8.55e-15 |
| cg19597031 | chr5  | 163504464 | 163504466 | MAT2B        | Body          | SN2 | SN3 | -2.09 | 6.30e-12 | 8.24e-12 |
| cg19597031 | chr5  | 163504464 | 163504466 | MAT2B        | Body          | SN1 | SN3 | -3.37 | 2.68e-23 | 2.43e-21 |
| cg19615406 | chr10 | 114404952 | 114404954 | AFAP1L2      | TSS200        | SN2 | SN3 | -2.23 | 1.45e-16 | 6.79e-16 |
| cg19615406 | chr10 | 114404952 | 114404954 | AFAP1L2      | TSS200        | SN1 | SN3 | -2.39 | 3.78e-17 | 2.19e-16 |
| cg19642421 | chr12 | 130954191 | 130954193 | GPR133       | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.16 | 4.47e-13 | 7.19e-13 |
| cg19642421 | chr12 | 130954191 | 130954193 | GPR133       | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.33 | 1.09e-13 | 1.93e-13 |
| cg19746307 | chr3  | 4869003   | 4869005   | NA           | NA            | SN2 | SN3 | -2.24 | 1.88e-13 | 3.23e-13 |
| cg19746307 | chr3  | 4869003   | 4869005   | NA           | NA            | SN1 | SN3 | -2.23 | 1.73e-12 | 2.31e-12 |
| cg19786733 | chr4  | 39447509  | 39447511  | KLB          | Body          | SN1 | SN3 | -2.43 | 5.56e-12 | 6.94e-12 |
| cg19786733 | chr4  | 39447509  | 39447511  | KLB          | Body          | SN2 | SN3 | -2.86 | 1.28e-16 | 6.20e-16 |
| cg19834552 | chr5  | 126423293 | 126423295 | GRAMD3       | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.61 | 4.19e-15 | 1.19e-14 |
| cg19834552 | chr5  | 126423293 | 126423295 | GRAMD3       | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.46 | 9.24e-15 | 2.37e-14 |
| cg19839026 | chr14 | 50943782  | 50943784  | PYGL         | Body          | SN2 | SN3 | -2.26 | 3.77e-12 | 5.07e-12 |

|            |       |           |           |                 |               |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|-----------------|---------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg19839026 | chr14 | 50943782  | 50943784  | PYGL            | Body          | SN1 | SN3 | -2.87 | 1.66e-16 | 7.77e-16 |
| cg20039048 | chr11 | 8283754   | 8283756   | NA              | NA            | SN2 | SN3 | -2.62 | 4.86e-17 | 2.94e-16 |
| cg20039048 | chr11 | 8283754   | 8283756   | NA              | NA            | SN1 | SN3 | -2.36 | 1.78e-13 | 2.98e-13 |
| cg20242280 | chr17 | 66830065  | 66830067  | NA              | NA            | SN1 | SN3 | -2.58 | 1.37e-10 | 1.50e-10 |
| cg20242280 | chr17 | 66830065  | 66830067  | NA              | NA            | SN2 | SN3 | -2.35 | 8.21e-10 | 8.55e-10 |
| cg20410995 | chr1  | 89198861  | 89198863  | GBP4            | 1stExon       | SN2 | SN3 | -2.09 | 1.60e-13 | 2.81e-13 |
| cg20410995 | chr1  | 89198861  | 89198863  | GBP4            | 1stExon       | SN1 | SN3 | -2.19 | 1.54e-13 | 2.61e-13 |
| cg20418725 | chr2  | 201257750 | 201257752 | CASP8           | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.17 | 6.38e-12 | 8.30e-12 |
| cg20418725 | chr2  | 201257750 | 201257752 | CASP8           | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.68 | 1.66e-15 | 5.31e-15 |
| cg20773651 | chr19 | 12092213  | 12092215  | ZNF788          | TSS200        | SN1 | SN3 | -2.28 | 2.77e-14 | 6.44e-14 |
| cg20773651 | chr19 | 12092213  | 12092215  | ZNF788          | TSS200        | SN2 | SN3 | -2.14 | 8.30e-14 | 1.57e-13 |
| cg21101720 | chr17 | 29613490  | 29613492  | ANKRD13B        | Body          | SN2 | SN3 | -2.42 | 6.44e-15 | 1.77e-14 |
| cg21101720 | chr17 | 29613490  | 29613492  | ANKRD13B        | Body          | SN1 | SN3 | -2.45 | 3.53e-14 | 7.68e-14 |
| cg21249376 | chr9  | 27528433  | 27528435  | MOBK12B         | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.62 | 2.37e-14 | 5.25e-14 |
| cg21249376 | chr9  | 27528433  | 27528435  | MOBK12B         | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -3.22 | 1.88e-18 | 1.73e-17 |
| cg21353284 | chr1  | 34782190  | 34782192  | GJB3            | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.05 | 4.12e-15 | 1.20e-14 |
| cg21353284 | chr1  | 34782190  | 34782192  | GJB3            | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.26 | 2.19e-16 | 9.46e-16 |
| cg21500799 | chr8  | 143160944 | 143160946 | LY6H            | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.36 | 5.17e-15 | 1.45e-14 |
| cg21500799 | chr8  | 143160944 | 143160946 | LY6H            | TSS1500       | SN1 | SN3 | -2.45 | 7.69e-15 | 2.07e-14 |
| cg21517389 | chr7  | 50793904  | 50793906  | GRB10           | TSS1500       | SN1 | SN3 | -2.61 | 2.95e-15 | 8.81e-15 |
| cg21517389 | chr7  | 50793904  | 50793906  | GRB10           | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.20 | 1.62e-12 | 2.33e-12 |
| cg21638110 | chr10 | 124741571 | 124741573 | FAM53B          | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.25 | 1.91e-18 | 1.73e-17 |
| cg21638110 | chr10 | 124741571 | 124741573 | FAM53B          | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.04 | 5.13e-17 | 3.03e-16 |
| cg21713473 | chr4  | 154742158 | 154742160 | NA              | NA            | SN1 | SN3 | -2.38 | 3.39e-14 | 7.51e-14 |
| cg21713473 | chr4  | 154742158 | 154742160 | NA              | NA            | SN2 | SN3 | -2.24 | 8.12e-14 | 1.54e-13 |
| cg21951391 | chr3  | 149656901 | 149656903 | WWTR1-AS1_WWTR1 | TSS1500, Body | SN1 | SN3 | -2.29 | 1.88e-14 | 4.56e-14 |
| cg21951391 | chr3  | 149656901 | 149656903 | WWTR1-AS1_WWTR1 | TSS1500, Body | SN2 | SN3 | -2.19 | 1.79e-14 | 4.16e-14 |

Continúa en la siguiente página

|            |       |           |           |               |               |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|---------------|---------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg21972990 | chr6  | 41505324  | 41505326  | NA            | NA            | SN1 | SN3 | -2.30 | 3.43e-19 | 4.05e-18 |
| cg21972990 | chr6  | 41505324  | 41505326  | NA            | NA            | SN2 | SN3 | -2.18 | 6.82e-19 | 1.03e-17 |
| cg22218735 | chr21 | 44874699  | 44874701  | PTTG1IP       | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.56 | 1.26e-16 | 6.20e-16 |
| cg22218735 | chr21 | 44874699  | 44874701  | PTTG1IP       | TSS1500       | SN1 | SN3 | -3.01 | 6.06e-20 | 9.15e-19 |
| cg22673999 | chr6  | 37784524  | 37784526  | NA            | NA            | SN1 | SN3 | -2.48 | 3.02e-13 | 4.78e-13 |
| cg22673999 | chr6  | 37784524  | 37784526  | NA            | NA            | SN2 | SN3 | -2.48 | 3.00e-14 | 6.53e-14 |
| cg22772896 | chr6  | 37784296  | 37784298  | NA            | NA            | SN2 | SN3 | -2.75 | 1.22e-15 | 4.20e-15 |
| cg22772896 | chr6  | 37784296  | 37784298  | NA            | NA            | SN1 | SN3 | -2.61 | 1.90e-13 | 3.14e-13 |
| cg22776618 | chr2  | 219495204 | 219495206 | LOC100996693  | TSS1500       | SN2 | SN3 | -2.41 | 7.20e-22 | 3.26e-20 |
| cg22776618 | chr2  | 219495204 | 219495206 | LOC100996693  | TSS1500       | SN1 | SN3 | -2.41 | 2.28e-20 | 4.51e-19 |
| cg22783363 | chr8  | 23164039  | 23164041  | TNFRSF10D     | TSS200        | SN1 | SN3 | -2.79 | 2.66e-19 | 3.29e-18 |
| cg22783363 | chr8  | 23164039  | 23164041  | TNFRSF10D     | TSS200        | SN2 | SN3 | -2.19 | 3.39e-14 | 7.15e-14 |
| cg23307203 | chr19 | 18388498  | 18388500  | GDF15         | Body          | SN2 | SN3 | -2.86 | 1.91e-15 | 6.06e-15 |
| cg23307203 | chr19 | 18388498  | 18388500  | GDF15         | Body          | SN1 | SN3 | -2.27 | 4.78e-10 | 5.04e-10 |
| cg23581541 | chr20 | 2750529   | 2750531   | EBF4          | Body          | SN1 | SN3 | -3.12 | 2.24e-20 | 4.51e-19 |
| cg23581541 | chr20 | 2750529   | 2750531   | EBF4          | Body          | SN2 | SN3 | -2.65 | 5.79e-17 | 3.35e-16 |
| cg23592730 | chr17 | 35243775  | 35243777  | SLFN5         | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.42 | 3.55e-16 | 1.44e-15 |
| cg23592730 | chr17 | 35243775  | 35243777  | SLFN5         | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.61 | 6.05e-17 | 3.23e-16 |
| cg23621112 | chr15 | 40252518  | 40252520  | PAK6_C15orf56 | TSS1500, Body | SN2 | SN3 | -2.53 | 2.43e-20 | 6.00e-19 |
| cg23621112 | chr15 | 40252518  | 40252520  | PAK6_C15orf56 | TSS1500, Body | SN1 | SN3 | -2.25 | 8.24e-16 | 3.06e-15 |
| cg23882545 | chr2  | 201257929 | 201257931 | CASP8         | 5'UTR         | SN1 | SN3 | -2.98 | 3.54e-16 | 1.41e-15 |
| cg23882545 | chr2  | 201257929 | 201257931 | CASP8         | 5'UTR         | SN2 | SN3 | -2.42 | 1.51e-12 | 2.18e-12 |
| cg23917399 | chr5  | 119356055 | 119356057 | TNFAIP8       | Body          | SN2 | SN3 | -2.29 | 3.23e-14 | 6.87e-14 |
| cg23917399 | chr5  | 119356055 | 119356057 | TNFAIP8       | Body          | SN1 | SN3 | -2.37 | 4.55e-14 | 9.38e-14 |
| cg24015249 | chr9  | 121736353 | 121736355 | DAB2IP        | Body          | SN2 | SN3 | -2.20 | 2.23e-12 | 3.13e-12 |
| cg24015249 | chr9  | 121736353 | 121736355 | DAB2IP        | Body          | SN1 | SN3 | -2.19 | 2.04e-11 | 2.41e-11 |
| cg24044762 | chr1  | 9824539   | 9824541   | CLSTN1        | TSS200        | SN1 | SN3 | -3.06 | 2.37e-15 | 7.33e-15 |

|            |       |           |           |         |         |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|---------|---------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg24044762 | chr1  | 9824539   | 9824541   | CLSTN1  | TSS200  | SN2 | SN3 | -2.36 | 6.59e-11 | 7.41e-11 |
| cg24154053 | chr13 | 36430852  | 36430854  | CCNA1   | TSS1500 | SN1 | SN3 | -3.07 | 2.91e-21 | 1.13e-19 |
| cg24154053 | chr13 | 36430852  | 36430854  | CCNA1   | TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.94 | 2.72e-21 | 1.06e-19 |
| cg24183958 | chr7  | 50792475  | 50792477  | GRB10   | 5'UTR   | SN2 | SN3 | -2.08 | 1.32e-14 | 3.17e-14 |
| cg24183958 | chr7  | 50792475  | 50792477  | GRB10   | 5'UTR   | SN1 | SN3 | -2.20 | 8.38e-15 | 2.24e-14 |
| cg24204282 | chr11 | 45923368  | 45923370  | GYLTL1B | Body    | SN2 | SN3 | -2.34 | 7.23e-15 | 1.97e-14 |
| cg24204282 | chr11 | 45923368  | 45923370  | GYLTL1B | Body    | SN1 | SN3 | -2.35 | 5.54e-14 | 1.09e-13 |
| cg24206256 | chr5  | 163503181 | 163503183 | MAT2B   | TSS200  | SN2 | SN3 | -2.07 | 1.83e-11 | 2.23e-11 |
| cg24206256 | chr5  | 163503181 | 163503183 | MAT2B   | TSS200  | SN1 | SN3 | -3.46 | 7.83e-24 | 1.06e-21 |
| cg24310434 | chr4  | 82043158  | 82043160  | NA      | NA      | SN1 | SN3 | -2.36 | 1.08e-14 | 2.78e-14 |
| cg24310434 | chr4  | 82043158  | 82043160  | NA      | NA      | SN2 | SN3 | -2.16 | 8.57e-14 | 1.61e-13 |
| cg24494876 | chr19 | 47418143  | 47418145  | MEIS3   | Body    | SN1 | SN3 | -2.15 | 1.62e-12 | 2.19e-12 |
| cg24494876 | chr19 | 47418143  | 47418145  | MEIS3   | Body    | SN2 | SN3 | -2.13 | 2.71e-13 | 4.55e-13 |
| cg24800655 | chr12 | 132489354 | 132489356 | FBRSL1  | TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.22 | 1.00e-09 | 1.07e-09 |
| cg24800655 | chr12 | 132489354 | 132489356 | FBRSL1  | TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.16 | 5.85e-10 | 6.15e-10 |
| cg25020459 | chr21 | 45982229  | 45982231  | COL6A1  | Body    | SN2 | SN3 | -2.62 | 1.84e-17 | 1.28e-16 |
| cg25020459 | chr21 | 45982229  | 45982231  | COL6A1  | Body    | SN1 | SN3 | -2.93 | 2.23e-19 | 3.04e-18 |
| cg25399309 | chr5  | 67166464  | 67166466  | MAST4   | Body    | SN1 | SN3 | -2.21 | 3.74e-13 | 5.75e-13 |
| cg25399309 | chr5  | 67166464  | 67166466  | MAST4   | Body    | SN2 | SN3 | -2.55 | 1.32e-17 | 9.67e-17 |
| cg25402480 | chr12 | 53325992  | 53325994  | NA      | NA      | SN1 | SN3 | -2.60 | 6.18e-15 | 1.70e-14 |
| cg25402480 | chr12 | 53325992  | 53325994  | NA      | NA      | SN2 | SN3 | -2.12 | 1.17e-11 | 1.47e-11 |
| cg25477891 | chr2  | 119431392 | 119431394 | TMEM37  | TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.68 | 6.82e-12 | 8.44e-12 |
| cg25477891 | chr2  | 119431392 | 119431394 | TMEM37  | TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.02 | 3.35e-08 | 3.38e-08 |
| cg25509184 | chr7  | 117479327 | 117479329 | CFTR    | TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.56 | 7.28e-14 | 1.38e-13 |
| cg25509184 | chr7  | 117479327 | 117479329 | CFTR    | TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.29 | 1.88e-12 | 2.67e-12 |
| cg25520679 | chr17 | 2055826   | 2055828   | HIC1    | TSS1500 | SN1 | SN3 | -2.51 | 1.58e-13 | 2.66e-13 |
| cg25520679 | chr17 | 2055826   | 2055828   | HIC1    | TSS1500 | SN2 | SN3 | -2.22 | 5.33e-12 | 7.03e-12 |

Continúa en la siguiente página

|            |       |           |           |              |                |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|--------------|----------------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg25604994 | chr2  | 201118540 | 201118542 | CFLAR        | 5'UTR          | SN1 | SN3 | -2.60 | 3.90e-13 | 5.93e-13 |
| cg25604994 | chr2  | 201118540 | 201118542 | CFLAR        | 5'UTR          | SN2 | SN3 | -2.55 | 1.24e-13 | 2.25e-13 |
| cg25682097 | chr14 | 105487780 | 105487782 | CRIP1        | Body           | SN1 | SN3 | -2.09 | 1.27e-15 | 4.32e-15 |
| cg25682097 | chr14 | 105487780 | 105487782 | CRIP1        | Body           | SN2 | SN3 | -2.22 | 1.73e-18 | 1.96e-17 |
| cg25694349 | chr12 | 132489319 | 132489321 | FBRSL1       | TSS1500        | SN2 | SN3 | -2.55 | 9.62e-13 | 1.45e-12 |
| cg25694349 | chr12 | 132489319 | 132489321 | FBRSL1       | TSS1500        | SN1 | SN3 | -2.30 | 4.41e-10 | 4.68e-10 |
| cg25771013 | chr7  | 25950114  | 25950116  | MIR148A      | TSS200         | SN1 | SN3 | -2.27 | 7.98e-11 | 8.97e-11 |
| cg25771013 | chr7  | 25950114  | 25950116  | MIR148A      | TSS200         | SN2 | SN3 | -2.03 | 1.00e-09 | 1.00e-09 |
| cg26022214 | chr5  | 159094956 | 159094958 | EBF1         | Body           | SN2 | SN3 | -2.15 | 7.32e-12 | 9.48e-12 |
| cg26022214 | chr5  | 159094956 | 159094958 | EBF1         | Body           | SN1 | SN3 | -2.28 | 3.83e-12 | 4.85e-12 |
| cg26163537 | chr7  | 50793894  | 50793896  | GRB10        | TSS1500        | SN2 | SN3 | -2.08 | 4.25e-10 | 4.48e-10 |
| cg26163537 | chr7  | 50793894  | 50793896  | GRB10        | TSS1500        | SN1 | SN3 | -2.70 | 3.53e-14 | 7.68e-14 |
| cg26345046 | chr13 | 36430482  | 36430484  | CCNA1        | TSS1500        | SN2 | SN3 | -2.20 | 1.35e-12 | 1.98e-12 |
| cg26345046 | chr13 | 36430482  | 36430484  | CCNA1        | TSS1500        | SN1 | SN3 | -2.23 | 5.66e-12 | 7.03e-12 |
| cg26416466 | chr15 | 66254369  | 66254371  | MEGF11       | TSS1500        | SN2 | SN3 | -2.72 | 3.12e-16 | 1.31e-15 |
| cg26416466 | chr15 | 66254369  | 66254371  | MEGF11       | TSS1500        | SN1 | SN3 | -3.03 | 7.32e-18 | 5.38e-17 |
| cg26426447 | chr11 | 118264243 | 118264245 | MPZL2        | 1stExon        | SN1 | SN3 | -2.41 | 1.80e-17 | 1.14e-16 |
| cg26426447 | chr11 | 118264243 | 118264245 | MPZL2        | 1stExon        | SN2 | SN3 | -2.21 | 2.16e-16 | 9.48e-16 |
| cg26647617 | chr2  | 73292214  | 73292216  | EGR4         | Body           | SN2 | SN3 | -2.69 | 4.31e-16 | 1.65e-15 |
| cg26647617 | chr2  | 73292214  | 73292216  | EGR4         | Body           | SN1 | SN3 | -2.26 | 2.21e-11 | 2.60e-11 |
| cg26723002 | chr8  | 56212769  | 56212771  | PLAG1_CHCHD7 | TSS1500, 5'UTR | SN1 | SN3 | -2.80 | 7.97e-21 | 1.97e-19 |
| cg26723002 | chr8  | 56212769  | 56212771  | PLAG1_CHCHD7 | TSS1500, 5'UTR | SN2 | SN3 | -2.19 | 2.65e-15 | 8.20e-15 |
| cg26870192 | chr6  | 136920923 | 136920925 | SLC35D3      | TSS1500        | SN2 | SN3 | -2.47 | 3.63e-16 | 1.45e-15 |
| cg26870192 | chr6  | 136920923 | 136920925 | SLC35D3      | TSS1500        | SN1 | SN3 | -2.17 | 2.72e-12 | 3.61e-12 |
| cg26942275 | chr7  | 94394512  | 94394514  | COL1A2       | TSS200         | SN2 | SN3 | -2.17 | 4.38e-15 | 1.25e-14 |
| cg26942275 | chr7  | 94394512  | 94394514  | COL1A2       | TSS200         | SN1 | SN3 | -2.45 | 5.55e-17 | 3.06e-16 |
| cg27290624 | chr3  | 194487711 | 194487713 | NA           | NA             | SN1 | SN3 | -2.16 | 6.72e-10 | 7.03e-10 |

|            |       |           |           |         |        |     |     |       |          |          |
|------------|-------|-----------|-----------|---------|--------|-----|-----|-------|----------|----------|
| cg27290624 | chr3  | 194487711 | 194487713 | NA      | NA     | SN2 | SN3 | -2.82 | 4.13e-16 | 1.60e-15 |
| cg27399414 | chr1  | 9824534   | 9824536   | CLSTN1  | TSS200 | SN2 | SN3 | -2.13 | 1.11e-10 | 1.22e-10 |
| cg27399414 | chr1  | 9824534   | 9824536   | CLSTN1  | TSS200 | SN1 | SN3 | -2.84 | 9.81e-16 | 3.42e-15 |
| cg27426707 | chr17 | 50562223  | 50562225  | CACNA1G | Body   | SN1 | SN3 | -2.47 | 4.31e-18 | 3.44e-17 |
| cg27426707 | chr17 | 50562223  | 50562225  | CACNA1G | Body   | SN2 | SN3 | -2.10 | 4.15e-15 | 1.20e-14 |
| cg27569446 | chr3  | 50340999  | 50341001  | RASSF1  | TSS200 | SN2 | SN3 | -2.80 | 2.62e-15 | 8.20e-15 |
| cg27569446 | chr3  | 50340999  | 50341001  | RASSF1  | TSS200 | SN1 | SN3 | -2.66 | 4.03e-13 | 6.09e-13 |
| cg27637521 | chr17 | 78359120  | 78359122  | SOCS3   | 5'UTR  | SN1 | SN3 | -2.48 | 2.33e-14 | 5.50e-14 |
| cg27637521 | chr17 | 78359120  | 78359122  | SOCS3   | 5'UTR  | SN2 | SN3 | -2.34 | 8.83e-17 | 4.62e-16 |

CL2: Cambio logarítmico en base 2

**Tabla S37.** Genes y sondas con correlaciones absolutas mayores a 0,4.

| SONDA      | CHR   | PRINCIPIO | FIN       | GENES   | REGIÓN  | CORRELACIÓN | P-VALOR  | Q-VALOR  | R2   |
|------------|-------|-----------|-----------|---------|---------|-------------|----------|----------|------|
| cg26947773 | chr14 | 92925874  | 92925876  | CHGA    | Body    | -0.68       | 9.06e-28 | 1.35e-24 | 0.46 |
| cg04657569 | chr14 | 92929753  | 92929755  | CHGA    | Body    | -0.67       | 3.00e-26 | 2.24e-23 | 0.44 |
| cg19433225 | chr1  | 78047312  | 78047314  | GIPC2   | Body    | -0.66       | 6.24e-26 | 3.10e-23 | 0.44 |
| cg02244697 | chr5  | 147829469 | 147829471 | SPINK1  | Body    | -0.65       | 9.32e-25 | 3.48e-22 | 0.42 |
| cg00196377 | chr1  | 222739118 | 222739120 | FAM177B | 5'UTR   | -0.65       | 1.95e-24 | 5.83e-22 | 0.42 |
| cg01309011 | chr1  | 206940197 | 206940199 | PIGR    | Body    | -0.65       | 2.98e-24 | 7.41e-22 | 0.41 |
| cg04811554 | chr1  | 222739661 | 222739663 | FAM177B | 5'UTR   | -0.63       | 4.96e-23 | 1.06e-20 | 0.40 |
| cg19419519 | chr19 | 38813057  | 38813059  | LGALS4  | 5'UTR   | -0.62       | 6.50e-22 | 1.21e-19 | 0.38 |
| cg17054995 | chr19 | 38813288  | 38813290  | LGALS4  | TSS200  | -0.62       | 9.68e-22 | 1.60e-19 | 0.38 |
| cg13529020 | chr1  | 206940989 | 206940991 | PIGR    | 5'UTR   | -0.61       | 2.22e-21 | 3.32e-19 | 0.37 |
| cg20785560 | chr1  | 78045550  | 78045552  | GIPC2   | TSS1500 | -0.61       | 5.02e-21 | 6.80e-19 | 0.37 |
| cg18397726 | chr14 | 92929118  | 92929120  | CHGA    | Body    | -0.60       | 1.22e-20 | 1.51e-18 | 0.36 |
| cg03464896 | chr3  | 171027174 | 171027176 | SLC2A2  | TSS200  | -0.60       | 1.51e-20 | 1.73e-18 | 0.36 |

Continúa en la siguiente página

|            |       |           |           |         |         |       |          |          |      |
|------------|-------|-----------|-----------|---------|---------|-------|----------|----------|------|
| cg12227337 | chr7  | 50497621  | 50497623  | DDC     | Body    | -0.60 | 3.63e-20 | 3.87e-18 | 0.35 |
| cg20953047 | chr1  | 206946676 | 206946678 | PIGR    | TSS1500 | -0.59 | 5.78e-20 | 5.75e-18 | 0.35 |
| cg16945152 | chr19 | 38813361  | 38813363  | LGALS4  | TSS1500 | -0.59 | 1.29e-19 | 1.20e-17 | 0.35 |
| cg21177426 | chr15 | 37094384  | 37094386  | MEIS2   | Body    | -0.58 | 3.79e-19 | 3.33e-17 | 0.34 |
| cg25616356 | chr14 | 92931628  | 92931630  | CHGA    | Body    | -0.58 | 8.92e-19 | 7.39e-17 | 0.33 |
| cg04420917 | chr19 | 38813352  | 38813354  | LGALS4  | TSS1500 | -0.57 | 3.13e-18 | 2.46e-16 | 0.32 |
| cg03830910 | chr11 | 60701194  | 60701196  | MS4A8   | Body    | -0.57 | 3.42e-18 | 2.55e-16 | 0.32 |
| cg09826056 | chr1  | 78045675  | 78045677  | GIPC2   | TSS1500 | -0.56 | 1.25e-17 | 8.84e-16 | 0.31 |
| cg27235315 | chr1  | 223666225 | 223666227 | CAPN8   | TSS1500 | -0.56 | 1.30e-17 | 8.84e-16 | 0.31 |
| cg04144768 | chr7  | 50560456  | 50560458  | DDC     | 5'UTR   | -0.56 | 2.36e-17 | 1.53e-15 | 0.31 |
| cg16731016 | chr19 | 38812865  | 38812867  | LGALS4  | 1stExon | -0.55 | 9.66e-17 | 6.01e-15 | 0.30 |
| cg18174075 | chr10 | 94683407  | 94683409  | CYP2C18 | TSS200  | -0.55 | 1.44e-16 | 8.59e-15 | 0.30 |
| cg19829887 | chr11 | 101916421 | 101916423 | CEP126  | , Body  | -0.55 | 1.82e-16 | 1.05e-14 | 0.29 |
| cg00961792 | chr1  | 206947061 | 206947063 | PIGR    | TSS1500 | -0.54 | 2.16e-16 | 1.20e-14 | 0.29 |
| cg26565451 | chr2  | 88128765  | 88128767  | FABP1   | TSS1500 | -0.54 | 5.99e-16 | 3.19e-14 | 0.29 |
| cg14196507 | chr10 | 94683625  | 94683627  | CYP2C18 | 1stExon | -0.53 | 9.48e-16 | 4.88e-14 | 0.28 |
| cg22827524 | chr1  | 222737403 | 222737405 | FAM177B | 5'UTR   | -0.53 | 1.09e-15 | 5.44e-14 | 0.28 |
| cg19249749 | chr1  | 223665442 | 223665444 | CAPN8   | 1stExon | -0.53 | 1.30e-15 | 6.24e-14 | 0.28 |
| cg23704150 | chr1  | 223665649 | 223665651 | CAPN8   | 1stExon | -0.53 | 3.24e-15 | 1.51e-13 | 0.27 |
| cg02377544 | chr15 | 37096157  | 37096159  | MEIS2   | Body    | -0.52 | 5.57e-15 | 2.52e-13 | 0.27 |
| cg13653793 | chr4  | 165384082 | 165384084 | CPE     | Body    | -0.52 | 5.76e-15 | 2.53e-13 | 0.27 |
| cg20998753 | chr7  | 50556947  | 50556949  | DDC     | 5'UTR   | -0.52 | 6.41e-15 | 2.73e-13 | 0.27 |
| cg21497935 | chr1  | 78045797  | 78045799  | GIPC2   | TSS200  | -0.52 | 7.32e-15 | 3.03e-13 | 0.27 |
| cg09710316 | chr3  | 171027081 | 171027083 | SLC2A2  | TSS200  | -0.52 | 8.36e-15 | 3.37e-13 | 0.27 |
| cg07750463 | chr1  | 223655533 | 223655535 | CAPN8   | Body    | -0.52 | 1.05e-14 | 4.12e-13 | 0.26 |
| cg07906103 | chr1  | 206942326 | 206942328 | PIGR    | 5'UTR   | -0.52 | 1.09e-14 | 4.17e-13 | 0.26 |
| cg01237738 | chr11 | 102451324 | 102451326 | TMEM123 | Body    | -0.52 | 1.34e-14 | 5.00e-13 | 0.26 |

|            |       |           |           |           |          |       |          |          |      |
|------------|-------|-----------|-----------|-----------|----------|-------|----------|----------|------|
| cg09662920 | chr1  | 78045748  | 78045750  | GIPC2     | TSS200   | -0.51 | 1.85e-14 | 6.72e-13 | 0.26 |
| cg10505659 | chr19 | 38813168  | 38813170  | LGALS4    | TSS200   | -0.51 | 3.17e-14 | 1.12e-12 | 0.26 |
| cg16578108 | chr17 | 2928790   | 2928792   | RAP1GAP2  | Body     | -0.50 | 6.15e-14 | 2.13e-12 | 0.25 |
| cg23092714 | chr2  | 218991495 | 218991497 | CRYBA2    | Body     | -0.50 | 6.67e-14 | 2.26e-12 | 0.25 |
| cg26925408 | chr5  | 147833184 | 147833186 | SPINK1    | TSS1500  | -0.50 | 6.97e-14 | 2.31e-12 | 0.25 |
| cg14478118 | chr11 | 102453599 | 102453601 | TMEM123   | TSS1500  | -0.50 | 1.12e-13 | 3.63e-12 | 0.25 |
| cg01561719 | chr10 | 88852097  | 88852099  | ANKRD22   | TSS200   | -0.50 | 1.68e-13 | 5.32e-12 | 0.24 |
| cg12960031 | chr13 | 73054900  | 73054902  | KLF5      | TSS200   | -0.50 | 1.75e-13 | 5.43e-12 | 0.24 |
| cg16353152 | chr11 | 60701356  | 60701358  | MS4A8     | Body     | -0.49 | 2.23e-13 | 6.78e-12 | 0.24 |
| cg26510945 | chr19 | 38814459  | 38814461  | LGALS4    | TSS1500  | -0.49 | 2.55e-13 | 7.60e-12 | 0.24 |
| cg15471456 | chr16 | 66477379  | 66477381  | BEAN1-AS1 | TSS1500, | 0.49  | 3.08e-13 | 9.02e-12 | 0.24 |
| cg04899273 | chr10 | 94683437  | 94683439  | CYP2C18   | TSS200   | -0.49 | 3.65e-13 | 1.05e-11 | 0.24 |
| cg08677916 | chr15 | 37052400  | 37052402  | MEIS2     | Body     | 0.49  | 4.52e-13 | 1.27e-11 | 0.24 |
| cg24848259 | chr1  | 223639636 | 223639638 | CAPN8     | Body     | -0.49 | 6.64e-13 | 1.83e-11 | 0.23 |
| cg05092387 | chr15 | 36897205  | 36897207  | MEIS2     | Body     | 0.49  | 7.08e-13 | 1.92e-11 | 0.23 |
| cg09107315 | chr1  | 78045803  | 78045805  | GIPC2     | TSS200   | -0.48 | 1.16e-12 | 3.09e-11 | 0.23 |
| cg14123409 | chr17 | 2928608   | 2928610   | RAP1GAP2  | Body     | -0.48 | 1.39e-12 | 3.64e-11 | 0.23 |
| cg06286920 | chr2  | 218992444 | 218992446 | CRYBA2    | Body     | -0.48 | 1.53e-12 | 3.92e-11 | 0.23 |
| cg08501301 | chr17 | 2928451   | 2928453   | RAP1GAP2  | Body     | -0.48 | 1.69e-12 | 4.27e-11 | 0.23 |
| cg09539538 | chr20 | 6123567   | 6123569   | FERMT1    | TSS200   | -0.48 | 1.87e-12 | 4.65e-11 | 0.22 |
| cg12023170 | chr1  | 23425267  | 23425269  | TCEA3     | TSS1500  | -0.48 | 1.93e-12 | 4.72e-11 | 0.22 |
| cg05677013 | chr1  | 206937564 | 206937566 | PIGR      | Body     | -0.48 | 2.10e-12 | 5.05e-11 | 0.22 |
| cg03483267 | chr20 | 6122359   | 6122361   | FERMT1    | 5'UTR    | -0.47 | 2.70e-12 | 6.40e-11 | 0.22 |
| cg21713424 | chr7  | 50468253  | 50468255  | DDC       | Body     | 0.47  | 2.92e-12 | 6.80e-11 | 0.22 |
| cg25064712 | chr10 | 88851888  | 88851890  | ANKRD22   | 1stExon  | -0.47 | 3.06e-12 | 7.03e-11 | 0.22 |
| cg24169326 | chr17 | 2928003   | 2928005   | RAP1GAP2  | Body     | -0.47 | 3.56e-12 | 8.06e-11 | 0.22 |
| cg03055653 | chr16 | 66476397  | 66476399  | BEAN1-AS1 | Body,    | 0.47  | 4.87e-12 | 1.09e-10 | 0.22 |

Continúa en la siguiente página

|            |       |           |           |           |         |       |          |          |      |
|------------|-------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|----------|----------|------|
| cg00258409 | chr4  | 165378789 | 165378791 | CPE       | TSS200  | -0.47 | 5.15e-12 | 1.13e-10 | 0.22 |
| cg23251790 | chr1  | 223666246 | 223666248 | CAPN8     | TSS1500 | -0.47 | 5.32e-12 | 1.14e-10 | 0.22 |
| cg01965508 | chr1  | 206947282 | 206947284 | PIGR      | TSS1500 | -0.47 | 5.33e-12 | 1.14e-10 | 0.22 |
| cg16887333 | chr15 | 89803691  | 89803693  | ANPEP     | Body    | -0.47 | 5.98e-12 | 1.26e-10 | 0.21 |
| cg22959118 | chr16 | 66471045  | 66471047  | BEAN1-AS1 | Body,   | 0.47  | 6.88e-12 | 1.43e-10 | 0.21 |
| cg18665384 | chr1  | 222736666 | 222736668 | FAM177B   | TSS1500 | -0.47 | 7.11e-12 | 1.45e-10 | 0.21 |
| cg14930775 | chr10 | 112373898 | 112373900 | ACSL5     | TSS1500 | -0.47 | 7.56e-12 | 1.51e-10 | 0.21 |
| cg07675337 | chr11 | 33015027  | 33015029  | DEPDC7    | TSS1500 | -0.47 | 7.57e-12 | 1.51e-10 | 0.21 |
| cg24451422 | chr1  | 23424716  | 23424718  | TCEA3     | 1stExon | -0.47 | 8.17e-12 | 1.59e-10 | 0.21 |
| cg14729814 | chr20 | 6094549   | 6094551   | FERMT1    | Body    | -0.47 | 8.18e-12 | 1.59e-10 | 0.21 |
| cg15657076 | chr16 | 66476482  | 66476484  | BEAN1-AS1 | TSS200, | 0.46  | 8.95e-12 | 1.71e-10 | 0.21 |
| cg21915904 | chr17 | 2926475   | 2926477   | RAP1GAP2  | Body    | -0.46 | 1.07e-11 | 2.02e-10 | 0.21 |
| cg06177627 | chr1  | 23424714  | 23424716  | TCEA3     | 1stExon | -0.46 | 1.43e-11 | 2.66e-10 | 0.21 |
| cg12753297 | chr2  | 164955733 | 164955735 | SLC38A11  | TSS1500 | -0.46 | 1.60e-11 | 2.94e-10 | 0.21 |
| cg03818395 | chr10 | 88852470  | 88852472  | ANKRD22   | TSS1500 | -0.46 | 1.84e-11 | 3.34e-10 | 0.21 |
| cg19010490 | chr15 | 37095925  | 37095927  | MEIS2     | Body    | -0.46 | 1.91e-11 | 3.43e-10 | 0.21 |
| cg15692360 | chr20 | 6123619   | 6123621   | FERMT1    | TSS200  | -0.45 | 3.29e-11 | 5.84e-10 | 0.20 |
| cg15400703 | chr14 | 92924848  | 92924850  | CHGA      | Body    | -0.45 | 3.87e-11 | 6.75e-10 | 0.20 |
| cg06785864 | chr5  | 147836739 | 147836741 | SPINK1    | 5'UTR   | -0.45 | 3.89e-11 | 6.75e-10 | 0.20 |
| cg02212687 | chr9  | 101432004 | 101432006 | ALDOB     | 5'UTR   | -0.45 | 4.07e-11 | 6.98e-10 | 0.20 |
| cg12808267 | chr6  | 142300737 | 142300739 | ADGRG6    | TSS1500 | -0.45 | 4.49e-11 | 7.61e-10 | 0.20 |
| cg10007211 | chr1  | 119768963 | 119768965 | HMGCS2    | TSS200  | -0.45 | 5.53e-11 | 9.20e-10 | 0.20 |
| cg14281591 | chr13 | 73061938  | 73061940  | KLF5      | Body    | -0.45 | 5.55e-11 | 9.20e-10 | 0.20 |
| cg24482350 | chr1  | 119767397 | 119767399 | HMGCS2    | Body    | -0.45 | 5.74e-11 | 9.41e-10 | 0.20 |
| cg20962960 | chr7  | 50543988  | 50543990  | DDC       | Body    | -0.45 | 5.84e-11 | 9.41e-10 | 0.20 |
| cg17426905 | chr7  | 50544354  | 50544356  | DDC       | 5'UTR   | -0.45 | 5.87e-11 | 9.41e-10 | 0.20 |
| cg03970036 | chr2  | 219309509 | 219309511 | PTPRN     | TSS200  | -0.45 | 6.37e-11 | 1.00e-09 | 0.20 |

|            |       |           |           |          |         |       |          |          |      |
|------------|-------|-----------|-----------|----------|---------|-------|----------|----------|------|
| cg04912843 | chr1  | 78046171  | 78046173  | GIPC2    | 1stExon | -0.45 | 7.55e-11 | 1.19e-09 | 0.19 |
| cg13976683 | chr1  | 119768918 | 119768920 | HMGCS2   | 1stExon | -0.44 | 8.33e-11 | 1.29e-09 | 0.19 |
| cg06350766 | chr14 | 92925504  | 92925506  | CHGA     | Body    | -0.44 | 8.42e-11 | 1.30e-09 | 0.19 |
| cg16007063 | chr7  | 50508287  | 50508289  | DDC      | Body    | -0.44 | 9.18e-11 | 1.40e-09 | 0.19 |
| cg14593639 | chr6  | 142300890 | 142300892 | ADGRG6   | TSS1500 | -0.44 | 1.02e-10 | 1.54e-09 | 0.19 |
| cg27528351 | chr7  | 50561369  | 50561371  | DDC      | 5'UTR   | -0.44 | 1.05e-10 | 1.56e-09 | 0.19 |
| cg04974854 | chr14 | 26596060  | 26596062  | NOVA1    | Body    | -0.44 | 1.06e-10 | 1.56e-09 | 0.19 |
| cg11924169 | chr14 | 26595547  | 26595549  | NOVA1    | ExonBnd | -0.44 | 1.20e-10 | 1.75e-09 | 0.19 |
| cg18188807 | chr7  | 50541429  | 50541431  | DDC      | Body    | -0.44 | 1.27e-10 | 1.84e-09 | 0.19 |
| cg12316002 | chr20 | 6094640   | 6094642   | FERMT1   | Body    | -0.44 | 1.81e-10 | 2.58e-09 | 0.19 |
| cg02105856 | chr1  | 206946438 | 206946440 | PIGR     | 5'UTR   | -0.44 | 1.81e-10 | 2.58e-09 | 0.19 |
| cg14452346 | chr5  | 147832468 | 147832470 | SPINK1   | TSS1500 | -0.44 | 1.85e-10 | 2.60e-09 | 0.19 |
| cg12877169 | chr15 | 36891659  | 36891661  | MEIS2    | 3'UTR   | 0.44  | 2.26e-10 | 3.15e-09 | 0.19 |
| cg23243277 | chr2  | 218991600 | 218991602 | CRYBA2   | Body    | -0.43 | 2.85e-10 | 3.94e-09 | 0.18 |
| cg09238801 | chr14 | 73712397  | 73712399  | PNMA1    | 1stExon | -0.43 | 3.03e-10 | 4.15e-09 | 0.18 |
| cg14837607 | chr1  | 223654357 | 223654359 | CAPN8    | Body    | -0.43 | 3.53e-10 | 4.78e-09 | 0.18 |
| cg03607648 | chr2  | 233760283 | 233760285 | UGT1A1   | Body    | -0.43 | 3.56e-10 | 4.78e-09 | 0.18 |
| cg07820742 | chr1  | 23425023  | 23425025  | TCEA3    | TSS1500 | -0.43 | 4.36e-10 | 5.80e-09 | 0.18 |
| cg04435807 | chr10 | 88850764  | 88850766  | ANKRD22  | Body    | -0.43 | 4.92e-10 | 6.50e-09 | 0.18 |
| cg06033387 | chr1  | 23425088  | 23425090  | TCEA3    | TSS1500 | -0.43 | 4.97e-10 | 6.51e-09 | 0.18 |
| cg05346287 | chr7  | 50544185  | 50544187  | DDC      | 5'UTR   | -0.43 | 5.04e-10 | 6.53e-09 | 0.18 |
| cg24998222 | chr8  | 81281972  | 81281974  | FABP5    | Body    | -0.43 | 5.13e-10 | 6.59e-09 | 0.18 |
| cg26474881 | chr17 | 2966008   | 2966010   | RAP1GAP2 | Body    | -0.43 | 5.64e-10 | 7.19e-09 | 0.18 |
| cg26758396 | chr20 | 6123626   | 6123628   | FERMT1   | TSS200  | -0.43 | 5.90e-10 | 7.46e-09 | 0.18 |
| cg07718903 | chr20 | 6123613   | 6123615   | FERMT1   | TSS200  | -0.43 | 6.18e-10 | 7.75e-09 | 0.18 |
| cg22113854 | chr2  | 218991631 | 218991633 | CRYBA2   | Body    | -0.42 | 6.58e-10 | 8.18e-09 | 0.18 |
| cg04850842 | chr14 | 26553973  | 26553975  | NOVA1    | Body    | 0.42  | 7.04e-10 | 8.68e-09 | 0.18 |

Continúa en la siguiente página

|            |       |           |           |          |         |       |          |          |      |
|------------|-------|-----------|-----------|----------|---------|-------|----------|----------|------|
| cg17323828 | chr1  | 23424828  | 23424830  | TCEA3    | TSS200  | -0.42 | 7.77e-10 | 9.50e-09 | 0.17 |
| cg26027665 | chr7  | 100949260 | 100949262 | MUC3A    | TSS200  | -0.42 | 8.48e-10 | 1.03e-08 | 0.17 |
| cg14592673 | chr17 | 50691393  | 50691395  | ABCC3    | 3'UTR   | -0.42 | 1.14e-09 | 1.37e-08 | 0.17 |
| cg11043571 | chr4  | 165379923 | 165379925 | CPE      | Body    | -0.42 | 1.18e-09 | 1.41e-08 | 0.17 |
| cg12060906 | chr1  | 223545437 | 223545439 | CAPN8    | Body    | -0.42 | 1.21e-09 | 1.44e-08 | 0.17 |
| cg04753771 | chr6  | 142302464 | 142302466 | ADGRG6   | Body    | -0.42 | 1.46e-09 | 1.72e-08 | 0.17 |
| cg07804276 | chr2  | 218992166 | 218992168 | CRYBA2   | Body    | -0.41 | 1.84e-09 | 2.15e-08 | 0.17 |
| cg26929536 | chr15 | 51681262  | 51681264  | SCG3     | TSS200  | -0.41 | 1.86e-09 | 2.16e-08 | 0.17 |
| cg10523105 | chr14 | 73712272  | 73712274  | PNMA1    | 1stExon | -0.41 | 2.00e-09 | 2.30e-08 | 0.17 |
| cg26365969 | chr7  | 50558600  | 50558602  | DDC      | 5'UTR   | -0.41 | 2.18e-09 | 2.48e-08 | 0.17 |
| cg03198733 | chr12 | 7060279   | 7060281   | C1S      | TSS1500 | -0.41 | 2.31e-09 | 2.61e-08 | 0.17 |
| cg16421850 | chr20 | 6094504   | 6094506   | FERMT1   | Body    | -0.41 | 2.71e-09 | 3.04e-08 | 0.16 |
| cg11111332 | chr7  | 50545154  | 50545156  | DDC      | 5'UTR   | -0.41 | 2.77e-09 | 3.08e-08 | 0.16 |
| cg03271650 | chr10 | 112376122 | 112376124 | ACSL5    | TSS200  | -0.41 | 3.36e-09 | 3.71e-08 | 0.16 |
| cg02631113 | chr8  | 81281930  | 81281932  | FABP5    | Body    | -0.41 | 4.37e-09 | 4.79e-08 | 0.16 |
| cg02909097 | chr17 | 2939911   | 2939913   | RAP1GAP2 | Body    | -0.41 | 4.41e-09 | 4.80e-08 | 0.16 |
| cg11058951 | chr7  | 93226415  | 93226417  | HEPACAM2 | 1stExon | -0.40 | 4.72e-09 | 5.10e-08 | 0.16 |
| cg07062764 | chr3  | 171026750 | 171026752 | SLC2A2   | 5'UTR   | -0.40 | 4.87e-09 | 5.23e-08 | 0.16 |
| cg05737860 | chr15 | 32677273  | 32677275  | SCG5     | Body    | -0.40 | 5.00e-09 | 5.33e-08 | 0.16 |
| cg20851464 | chr20 | 5914651   | 5914653   | CHGB     | Body    | -0.40 | 5.00e-09 | 5.33e-08 | 0.16 |
| cg16920551 | chr10 | 112376314 | 112376316 | ACSL5    | 5'UTR   | -0.40 | 5.52e-09 | 5.80e-08 | 0.16 |
| cg23627908 | chr5  | 147833047 | 147833049 | SPINK1   | 5'UTR   | -0.40 | 5.82e-09 | 6.07e-08 | 0.16 |
| cg08786077 | chr2  | 37344588  | 37344590  | QPCT     | TSS200  | -0.40 | 5.93e-09 | 6.14e-08 | 0.16 |
| cg01478198 | chr2  | 233761637 | 233761639 | UGT1A1   | Body    | -0.40 | 6.77e-09 | 6.96e-08 | 0.16 |
| cg16166796 | chr2  | 219309478 | 219309480 | PTPRN    | TSS200  | -0.40 | 6.89e-09 | 7.04e-08 | 0.16 |
| cg24496666 | chr1  | 78046294  | 78046296  | GIPC2    | 1stExon | -0.40 | 7.23e-09 | 7.34e-08 | 0.16 |
| cg22379609 | chr20 | 5914612   | 5914614   | CHGB     | Body    | -0.40 | 7.52e-09 | 7.59e-08 | 0.16 |

**Tabla S38.** Correlación entre los genes de interés en los diferentes tumores primarios por separado con las sondas de metilación con una correlación absoluta > 0,4 en todos los tumores.

| SONDA      | CHR   | PRINCIPIO | FIN       | GENES  | TEJIDO PRIMARIO | REGIÓN | CORRELACIÓN | P-VALOR  | Q-VALOR  | R2    |
|------------|-------|-----------|-----------|--------|-----------------|--------|-------------|----------|----------|-------|
| cg01309011 | chr1  | 206940197 | 206940199 | PIGR   | I.Delgado       | Body   | -0.67       | 4.15e-08 | 5.15e-06 | 0.44  |
| cg01309011 | chr1  | 206940197 | 206940199 | PIGR   | Pulmón          | Body   | -0.34       | 2.21e-02 | 1.54e-01 | 0.10  |
| cg01309011 | chr1  | 206940197 | 206940199 | PIGR   | Colorrectal     | Body   | -0.65       | 1.03e-04 | 1.31e-02 | 0.40  |
| cg01309011 | chr1  | 206940197 | 206940199 | PIGR   | Estómago        | Body   | -0.63       | 9.73e-05 | 3.09e-03 | 0.38  |
| cg01309011 | chr1  | 206940197 | 206940199 | PIGR   | Páncreas        | Body   | 0.13        | 4.66e-01 | 7.42e-01 | -0.01 |
| cg04974854 | chr14 | 26596060  | 26596062  | NOVA1  | I.Delgado       | Body   | -0.36       | 7.43e-03 | 3.77e-02 | 0.12  |
| cg04974854 | chr14 | 26596060  | 26596062  | NOVA1  | Pulmón          | Body   | -0.47       | 1.32e-03 | 2.46e-02 | 0.20  |
| cg04974854 | chr14 | 26596060  | 26596062  | NOVA1  | Colorrectal     | Body   | -0.34       | 6.48e-02 | 3.36e-01 | 0.09  |
| cg04974854 | chr14 | 26596060  | 26596062  | NOVA1  | Estómago        | Body   | 0.04        | 8.19e-01 | 9.02e-01 | -0.03 |
| cg04974854 | chr14 | 26596060  | 26596062  | NOVA1  | Páncreas        | Body   | -0.30       | 7.80e-02 | 3.31e-01 | 0.06  |
| cg03970036 | chr2  | 219309509 | 219309511 | PTPRN  | I.Delgado       | TSS200 | -0.54       | 3.35e-05 | 6.86e-04 | 0.27  |
| cg03970036 | chr2  | 219309509 | 219309511 | PTPRN  | Pulmón          | TSS200 | -0.24       | 1.13e-01 | 3.94e-01 | 0.04  |
| cg03970036 | chr2  | 219309509 | 219309511 | PTPRN  | Colorrectal     | TSS200 | -0.48       | 7.87e-03 | 1.14e-01 | 0.20  |
| cg03970036 | chr2  | 219309509 | 219309511 | PTPRN  | Estómago        | TSS200 | -0.63       | 1.10e-04 | 3.34e-03 | 0.38  |
| cg03970036 | chr2  | 219309509 | 219309511 | PTPRN  | Páncreas        | TSS200 | 0.05        | 7.93e-01 | 9.17e-01 | -0.03 |
| cg19419519 | chr19 | 38813057  | 38813059  | LGALS4 | I.Delgado       | 5'UTR  | -0.13       | 3.58e-01 | 5.53e-01 | 0.00  |
| cg19419519 | chr19 | 38813057  | 38813059  | LGALS4 | Pulmón          | 5'UTR  | -0.22       | 1.56e-01 | 4.55e-01 | 0.02  |
| cg19419519 | chr19 | 38813057  | 38813059  | LGALS4 | Colorrectal     | 5'UTR  | -0.07       | 7.13e-01 | 8.95e-01 | -0.03 |
| cg19419519 | chr19 | 38813057  | 38813059  | LGALS4 | Estómago        | 5'UTR  | -0.50       | 3.54e-03 | 3.88e-02 | 0.23  |
| cg19419519 | chr19 | 38813057  | 38813059  | LGALS4 | Páncreas        | 5'UTR  | -0.47       | 4.83e-03 | 7.09e-02 | 0.19  |
| cg19433225 | chr1  | 78047312  | 78047314  | GIPC2  | I.Delgado       | Body   | -0.51       | 1.08e-04 | 1.55e-03 | 0.24  |
| cg19433225 | chr1  | 78047312  | 78047314  | GIPC2  | Pulmón          | Body   | -0.35       | 1.98e-02 | 1.41e-01 | 0.10  |
| cg19433225 | chr1  | 78047312  | 78047314  | GIPC2  | Colorrectal     | Body   | -0.23       | 2.23e-01 | 5.77e-01 | 0.02  |

Continúa en la siguiente página

|            |       |          |          |       |             |      |       |          |          |       |
|------------|-------|----------|----------|-------|-------------|------|-------|----------|----------|-------|
| cg19433225 | chr1  | 78047312 | 78047314 | GIPC2 | Estómago    | Body | -0.70 | 8.48e-06 | 5.75e-04 | 0.47  |
| cg19433225 | chr1  | 78047312 | 78047314 | GIPC2 | Páncreas    | Body | -0.50 | 2.23e-03 | 4.81e-02 | 0.23  |
| cg20851464 | chr20 | 5914651  | 5914653  | CHGB  | I.Delgado   | Body | -0.52 | 7.80e-05 | 1.22e-03 | 0.25  |
| cg20851464 | chr20 | 5914651  | 5914653  | CHGB  | Pulmón      | Body | -0.40 | 6.55e-03 | 6.74e-02 | 0.14  |
| cg20851464 | chr20 | 5914651  | 5914653  | CHGB  | Colorrectal | Body | -0.33 | 7.81e-02 | 3.60e-01 | 0.07  |
| cg20851464 | chr20 | 5914651  | 5914653  | CHGB  | Estómago    | Body | -0.11 | 5.51e-01 | 7.39e-01 | -0.02 |
| cg20851464 | chr20 | 5914651  | 5914653  | CHGB  | Páncreas    | Body | -0.28 | 1.07e-01 | 3.83e-01 | 0.05  |
| cg26947773 | chr14 | 92925874 | 92925876 | CHGA  | I.Delgado   | Body | -0.59 | 2.84e-06 | 1.06e-04 | 0.34  |
| cg26947773 | chr14 | 92925874 | 92925876 | CHGA  | Pulmón      | Body | -0.56 | 7.16e-05 | 5.19e-03 | 0.30  |
| cg26947773 | chr14 | 92925874 | 92925876 | CHGA  | Colorrectal | Body | -0.73 | 4.35e-06 | 2.17e-03 | 0.52  |
| cg26947773 | chr14 | 92925874 | 92925876 | CHGA  | Estómago    | Body | -0.44 | 1.12e-02 | 7.90e-02 | 0.17  |
| cg26947773 | chr14 | 92925874 | 92925876 | CHGA  | Páncreas    | Body | -0.40 | 1.60e-02 | 1.47e-01 | 0.14  |

**Tabla S39.** Variables seleccionadas por el modelo de Cox regularizado con *Lasso* introduciendo la información de los genes diferencialmente expresados entre los subtipos neuroendocrinos.

| GEN      | COEFICIENTE |
|----------|-------------|
| GIPC2    | -0.21       |
| PAK3     | -0.13       |
| FAM177B  | -0.08       |
| TCEA3    | -0.04       |
| JCHAIN   | -0.01       |
| CAPN8    | 7.01e-03    |
| ANKRD30B | 0.04        |
| CXXC4    | 0.08        |

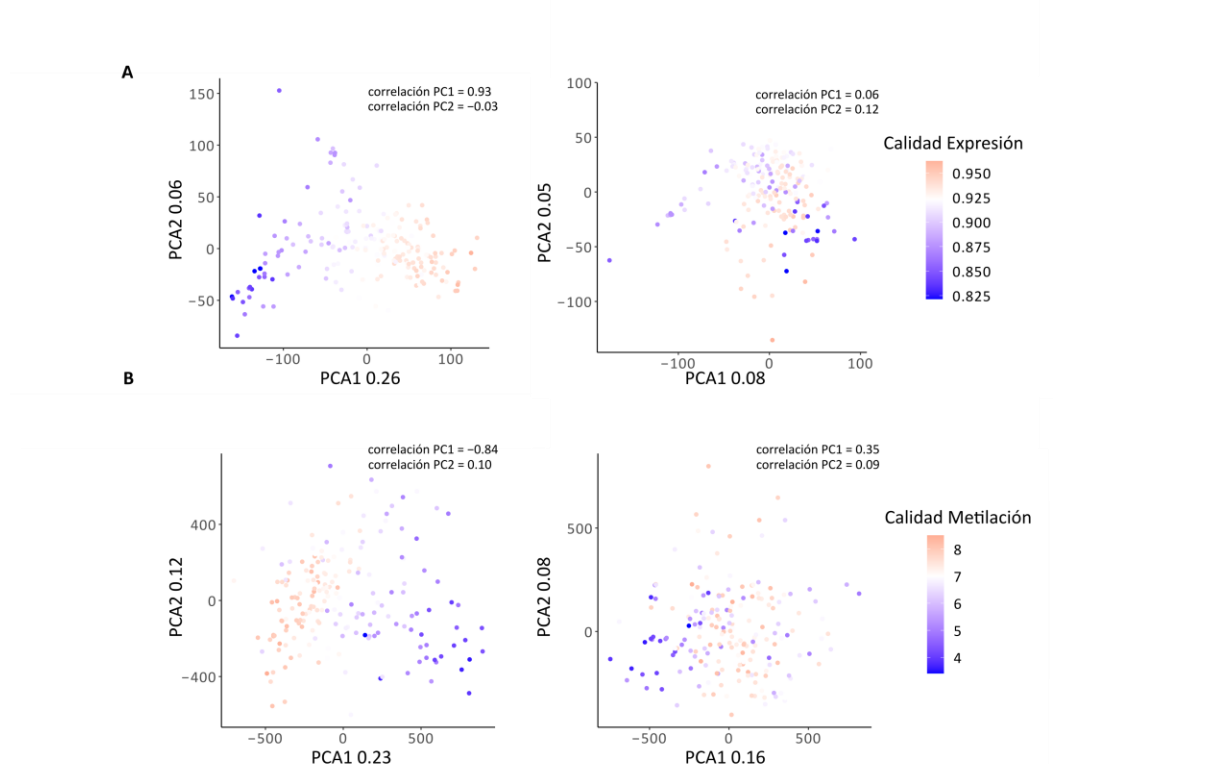


**Figura S1. La calidad de los datos transcriptómicos y metilómicos están asociados a las componentes principales.** Gráfica de puntos que representa las dos componentes principales de cada muestra, coloreando los valores de calidad situando el blanco en el valor de la mediana de **A)** los datos de expresión antes de corregir la calidad (izquierda) y después de corregir la calidad (derecha) **B)** Los datos de metilación antes de corregir por la calidad (izquierda) y después de corregir por la calidad (derecha).

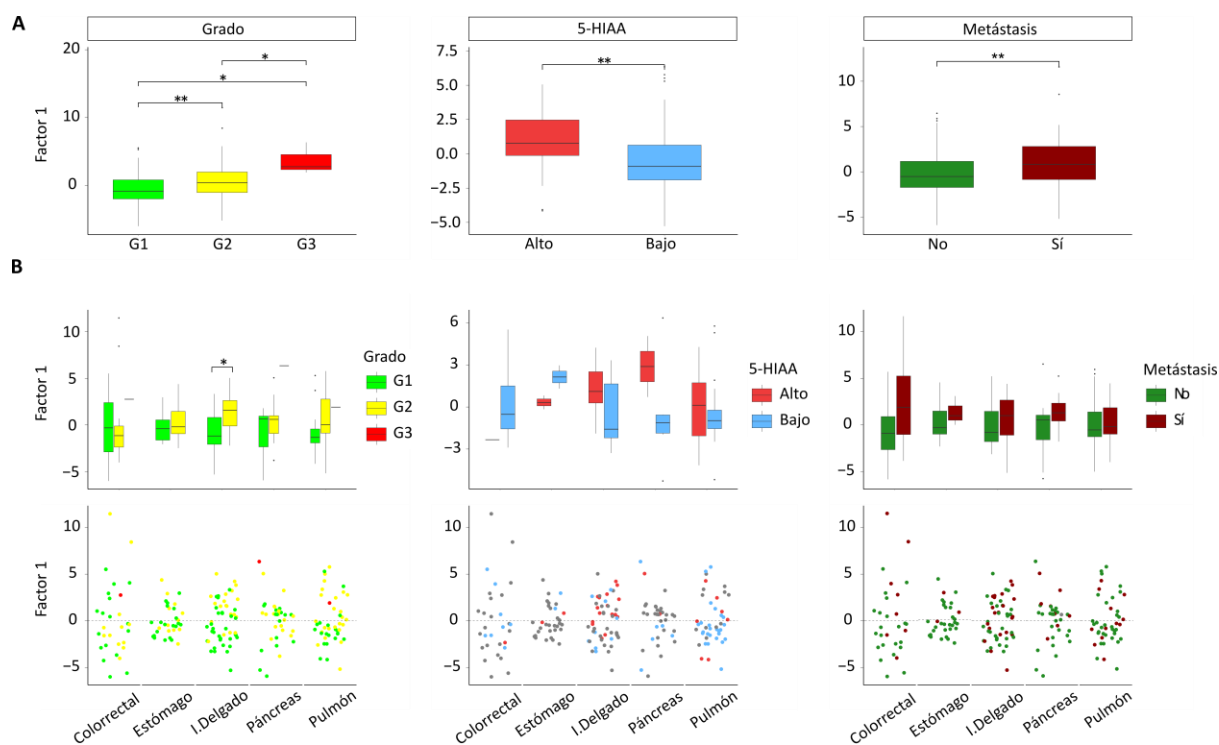


**Figura S2. El Factor 1 está asociado con el grado tumoral, los niveles de 5-HIAA y el estadio de los pacientes con TNEs. A)** Gráficos de cajas y bigotes representando los valores del Factor 1. A la izquierda se muestra la distribución de los valores del Factor 1 diferenciando los tumores en función del grado, en el centro de los niveles de 5-HIAA y a la derecha, de la presencia de metástasis al diagnóstico. En todos los casos, se muestra la significancia de la prueba de *Wilcoxon* donde \* = *p*-valor < 0,05; \*\* = *p*-valor < 0,01; \*\*\* = *p*-valor < 0,001 y \*\*\*\* = *p*-valor < 0,0001. **B)** En la parte superior se observan gráficos de cajas y bigotes que representan los valores del Factor 1 estratificando por tumor primario. De izquierda a derecha se observa que los tumores se encuentran diferenciados a su vez en base al grado, los niveles de 5-HIAA y la presencia de metástasis al diagnóstico. En todos los casos se muestra la significancia de la prueba de *Wilcoxon* donde \* = *q*-valor < 0,05; \*\* = *q*-valor < 0,01; \*\*\* = *q*-valor < 0,001 y \*\*\*\* = *q*-valor < 0,0001. En la parte inferior se representan gráficos de puntos que ilustran los valores individuales por muestra del Factor 1 estratificando por tumor primario. De izquierda a derecha se observa que los tumores se encuentran diferenciados a su vez en base al grado, los niveles de 5-HIAA y la presencia de metástasis al diagnóstico.

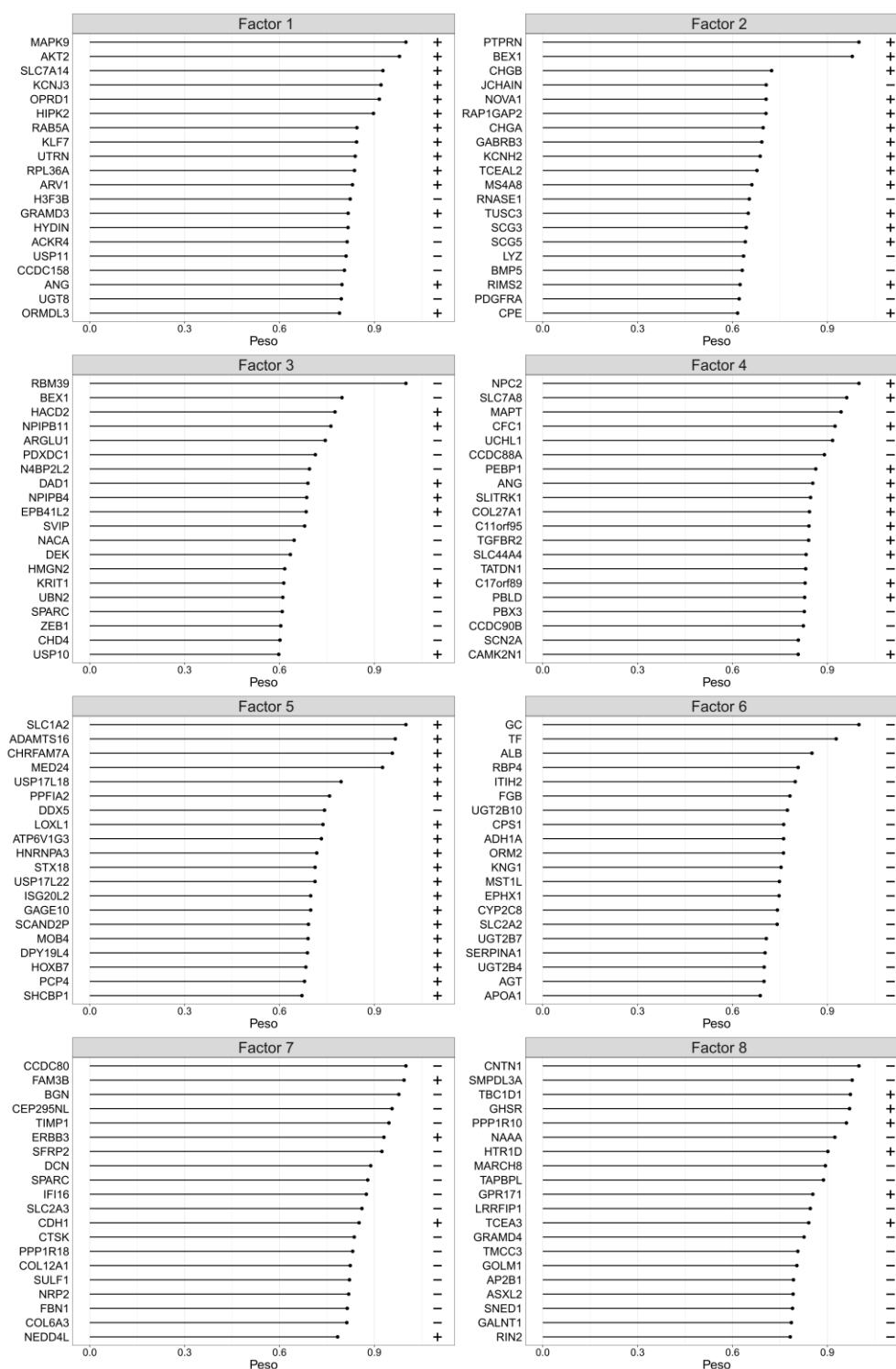


**Figura S3. Los 20 genes más relevantes en los Factores de MOFA.** La importancia relativa de los 20 genes con mayor peso en cada uno de los factores del modelo de MOFA, indicando el sentido del factor.

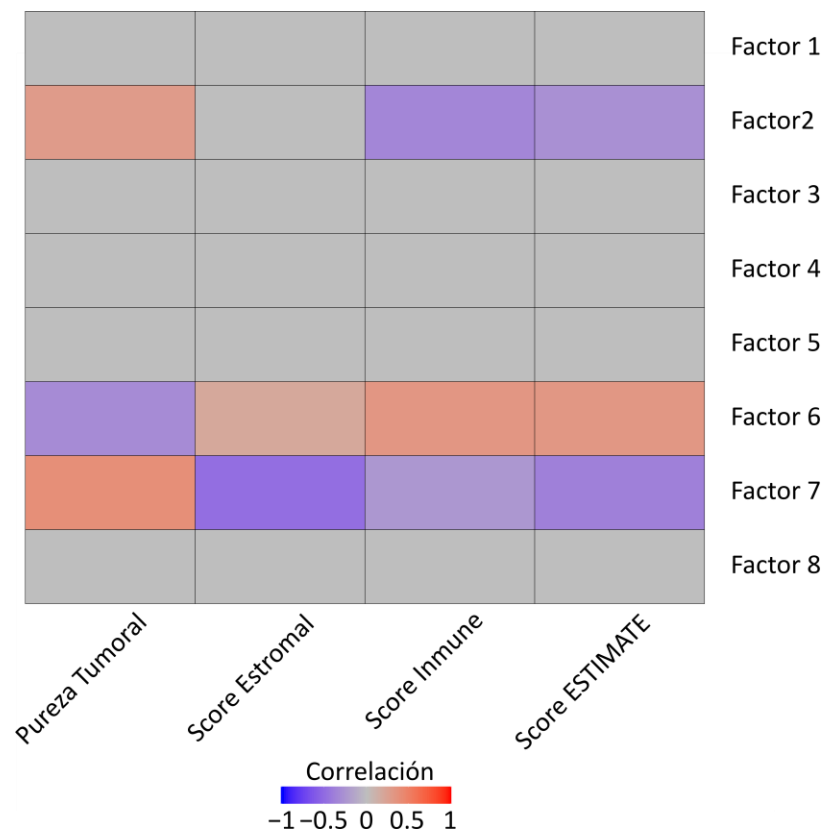


**Figura S4. Diversos Factores del modelo de *MOFA* correlacionan con los *scores* de *ESTIMATE*.** Mapa de calor que muestra la correlación entre los resultados del programa *ESTIMATE* y los factores del modelo de *MOFA*.

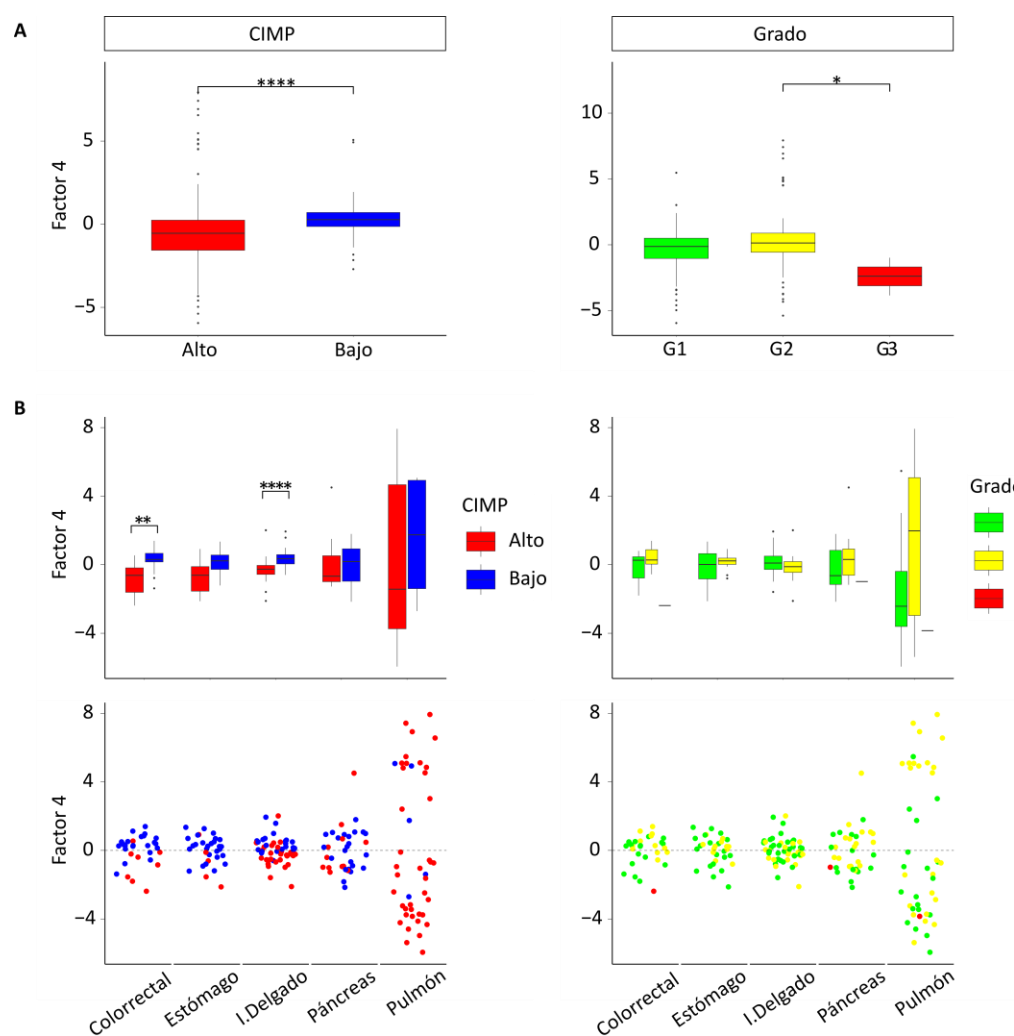


**Figura S5. El Factor 4 está asociado al CIMP y al grado de los TNEs.** **A)** Gráficos de cajas y bigotes representando los valores del Factor 4 en función del CIMP (izquierda) y del grado (derecha). Se muestra la significancia de la prueba de *Wilcoxon* donde \* =  $p\text{-valor} < 0,05$ ; \*\* =  $p\text{-valor} < 0,1$ ; \*\*\* =  $p\text{-valor} < 0,01$  y \*\*\*\* =  $p\text{-valor} < 0,001$ . **B)** En la parte superior se observan gráficos de cajas y bigotes que representan los valores del Factor 4 estratificando por tumor primario según el CIMP (izquierda) y el grado (derecha). Se muestra la significancia de la prueba de *Wilcoxon* donde \* =  $q\text{-valor} < 0,05$ ; \*\* =  $q\text{-valor} < 0,01$ ; \*\*\* =  $q\text{-valor} < 0,001$  y \*\*\*\* =  $q\text{-valor} < 0,0001$ . En la parte inferior se muestran gráficos de puntos que muestran los valores individuales por muestra del Factor 4 estratificando por tumor primario según el CIMP (izquierda) y el grado (derecha).

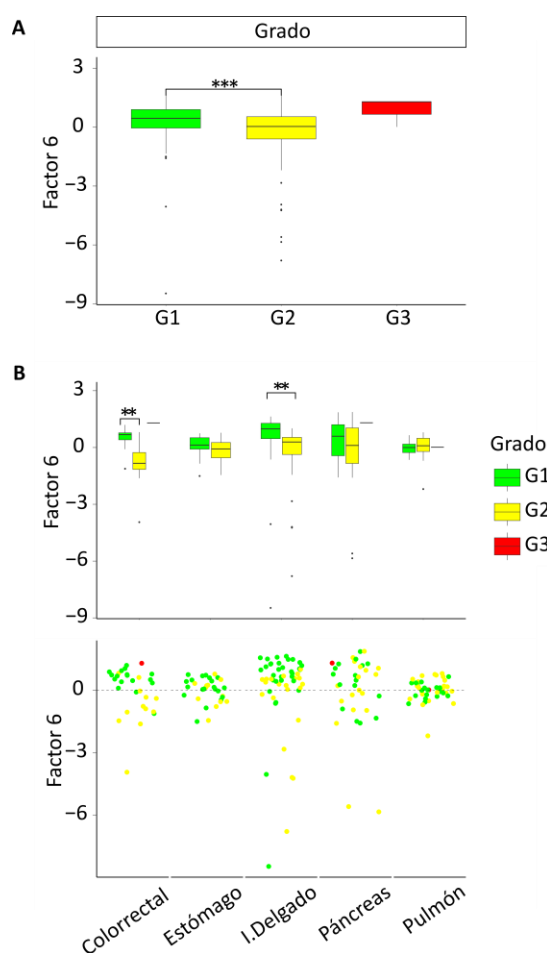


**Figura S6. El Factor 6 está asociado al grado de TNEs. A)** Gráficos de cajas y bigotes representando los valores del Factor 4 en función del CIMP. Se muestra la significancia de la prueba de *Wilcoxon* donde \* =  $p\text{-valor} < 0,05$ ; \*\* =  $p\text{-valor} < 0,1$ ; \*\*\* =  $p\text{-valor} < 0,01$  y \*\*\*\* =  $p\text{-valor} < 0,001$ . **B)** En la parte superior se observan gráficos de cajas y bigotes que representan los valores del Factor 4 estratificando por tumor primario según el CIMP. Se muestra la significancia de la prueba de *Wilcoxon* donde \* =  $q\text{-valor} < 0,05$ ; \*\* =  $q\text{-valor} < 0,01$ ; \*\*\* =  $q\text{-valor} < 0,001$  y \*\*\*\* =  $q\text{-valor} < 0,0001$ . En la parte inferior se muestran gráficos de puntos que muestran los valores individuales por muestra del Factor 4 estratificando por tumor primario según el CIMP.

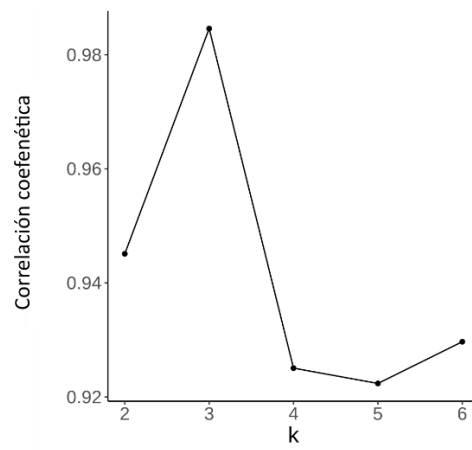


**Figura S7. Correlación cofenética.** Gráfica de puntos y líneas que muestra la correlación cofenética de las clasificaciones obtenidas con diferente número de grupos (k).

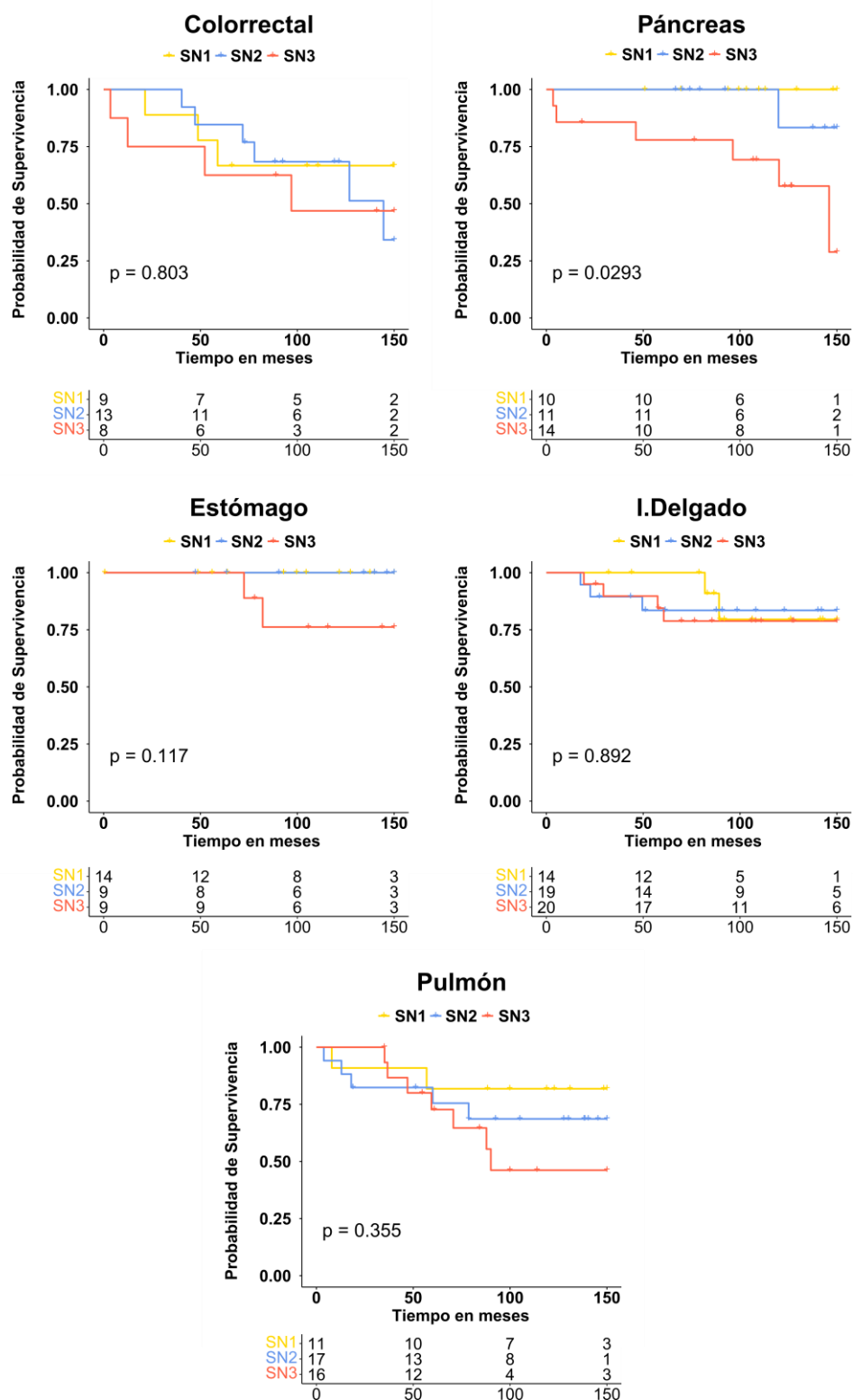


**Figura S8. Diferencias en la supervivencia global de los SNs en los distintos tumores primarios.** Curvas de supervivencia global para los diferentes subtipos neuroendocrinos (SN) calculadas mediante el método de Kaplan-Meier en cada tumor primario por separado. Se indica el  $p$ -valor obtenido mediante la prueba de *log-rank* y la tabla donde se muestra el número de pacientes vivos registrados en el momento del diagnóstico, a los 50, 100 y 150 meses.

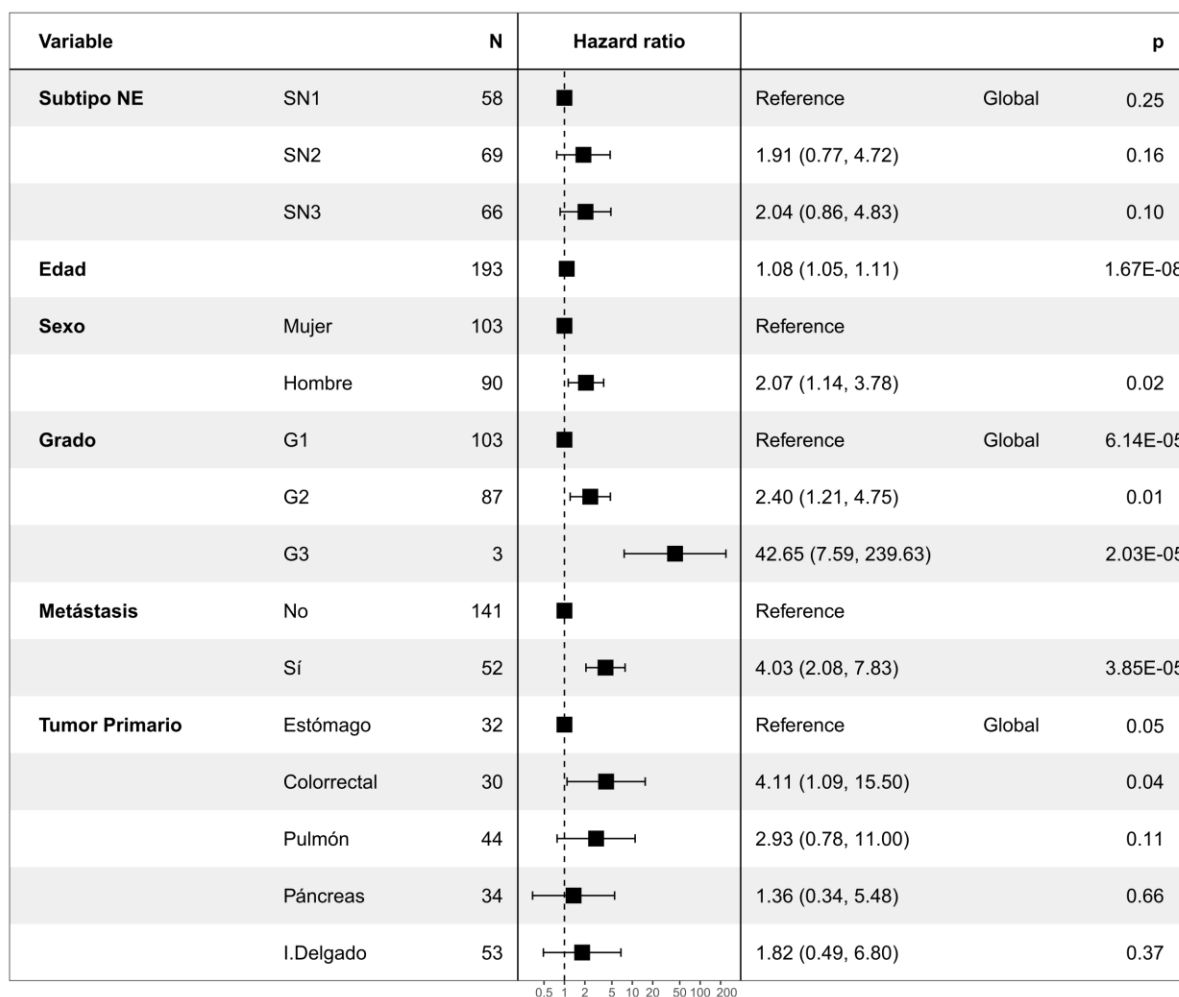


**Figura S9 Modelo de Cox multivariante.** Resultados del modelo multivariante de Cox construido con las variables subtipo neuroendocrino, edad, sexo, grado, metástasis al diagnóstico y tumor primario.

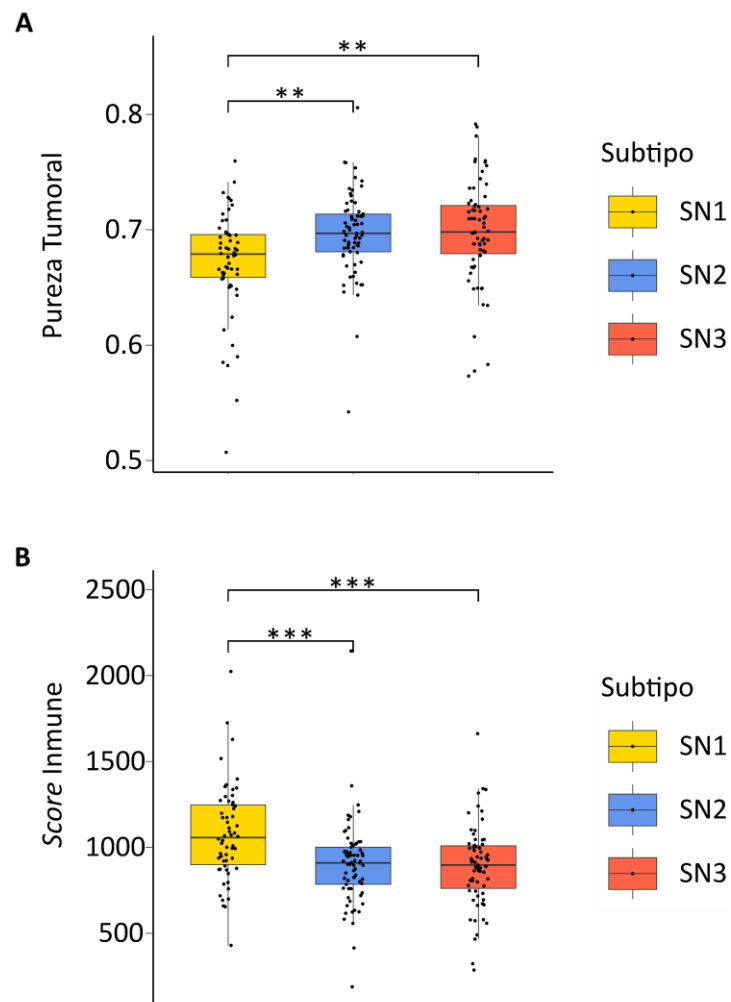


**Figura S10. Los subtipos neuroendocrinos se diferencian en la pureza tumoral y el score inmune calculado por *ESTIMATE*.** **A)** Gráficos de cajas y bigotes donde se muestran las diferencias en la pureza tumoral calculados por *ESTIMATE* en los distintos subtipos neuroendocrinos. La significancia de estas diferencias se ha calculado mediante una prueba de *Wilcoxon* y ajustado por *FDR* en cada variable donde \* = *q-valor* < 0,05; \*\* = *q-valor* < 0,01; \*\*\* = *q-valor* < 0,001 y \*\*\*\* = *q-valor* < 0,0001. **B)** Gráficos de cajas y bigotes donde se muestran las diferencias en el score inmune calculados por *ESTIMATE* en los distintos subtipos neuroendocrinos. La significancia de estas diferencias se ha calculado mediante una prueba de *Wilcoxon* y ajustado por *FDR* en cada variable donde \* = *q-valor* < 0,05; \*\* = *q-valor* < 0,01; \*\*\* = *q-valor* < 0,001 y \*\*\*\* = *q-valor* < 0,0001.

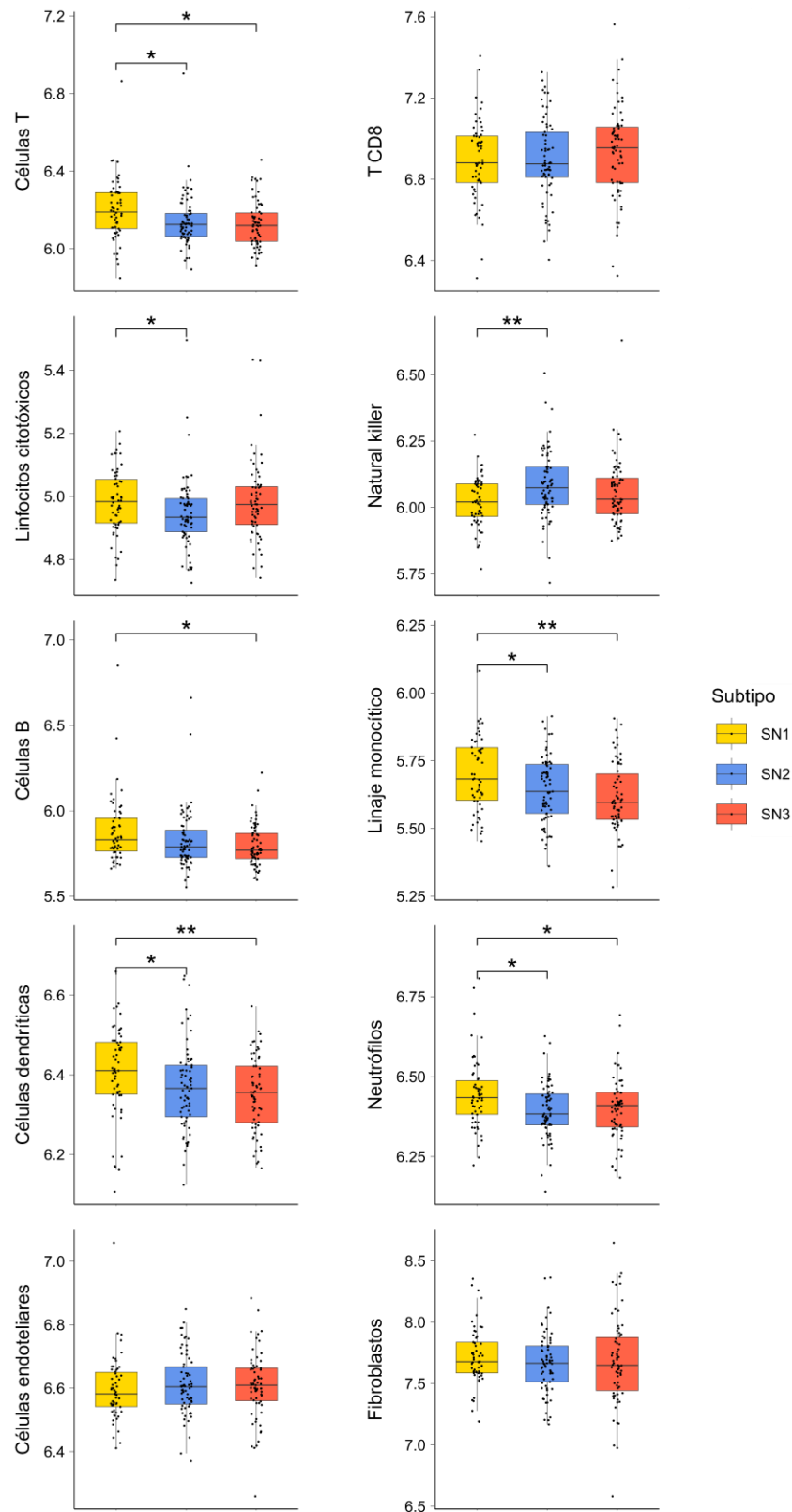


**Figura S11. Diferencias en la infiltración inmune entre los subtipos neuroendocrinos.** Gráficos de cajas y bigotes donde se muestran las diferencias en la infiltración de las diferentes poblaciones celulares en los distintos subtipos neuroendocrinos. La significancia de estas diferencias se ha calculado mediante una prueba de *Wilcoxon* y ajustado por *FDR* dentro de cada población donde \* = *q*-valor < 0,05; \*\* = *q*-valor < 0,01; \*\*\* = *q*-valor < 0,001 y \*\*\*\* = *q*-valor < 0,0001.

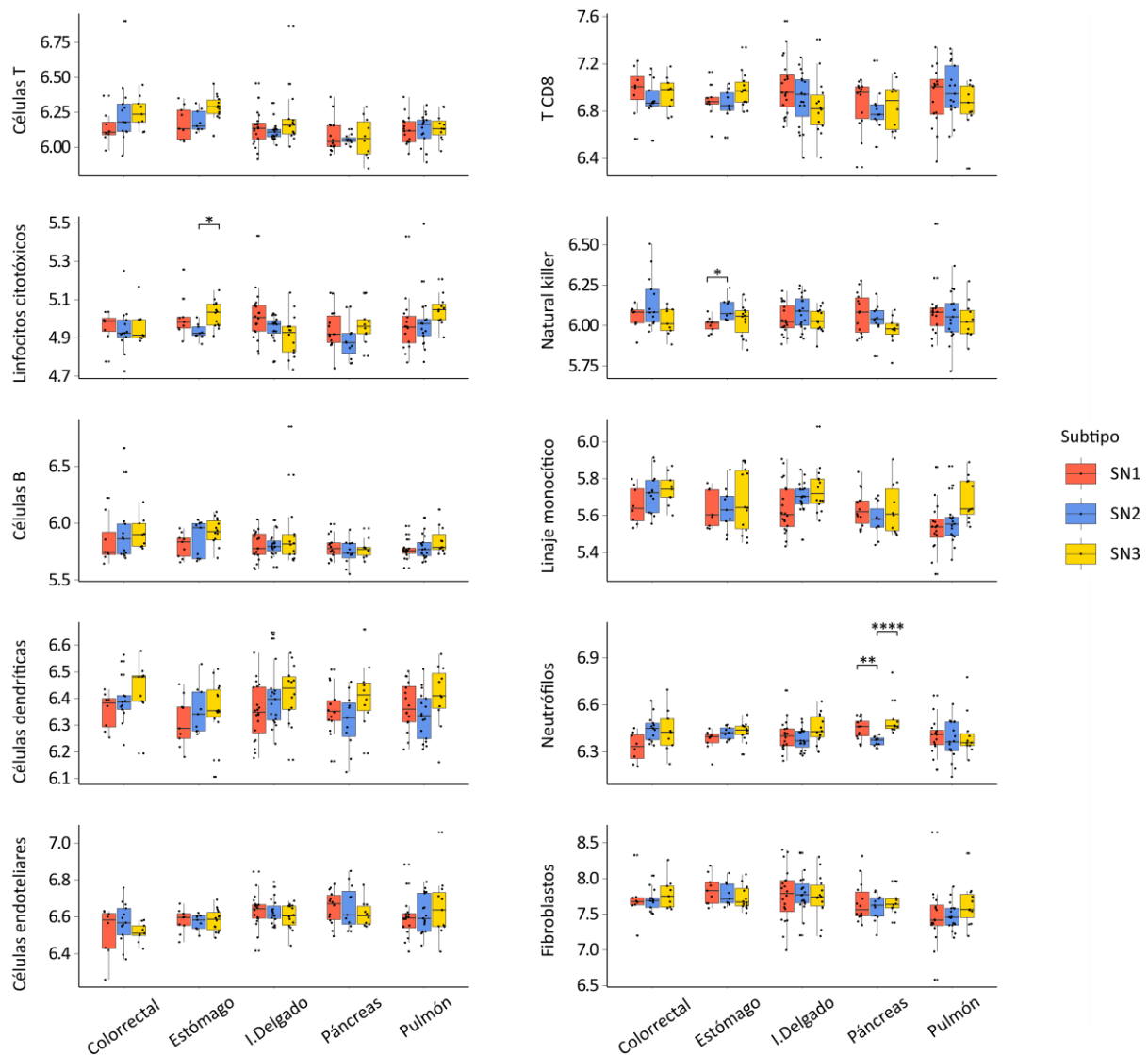


**Figura S12. Diferencias en la infiltración inmune entre los subtipos neuroendocrinos en los distintos tumores primarios.** Gráficos de cajas y bigotes donde se muestran las diferencias en la infiltración de las diferentes poblaciones celulares diferenciando por tumor primario en los distintos subtipos neuroendocrinos. La significancia de estas diferencias se ha calculado mediante una prueba de Wilcoxon y ajustado por FDR dentro de cada población donde \* =  $q\text{-valor} < 0,05$ ; \*\* =  $q\text{-valor} < 0,01$ ; \*\*\* =  $q\text{-valor} < 0,001$  y \*\*\*\* =  $q\text{-valor} < 0,0001$ .

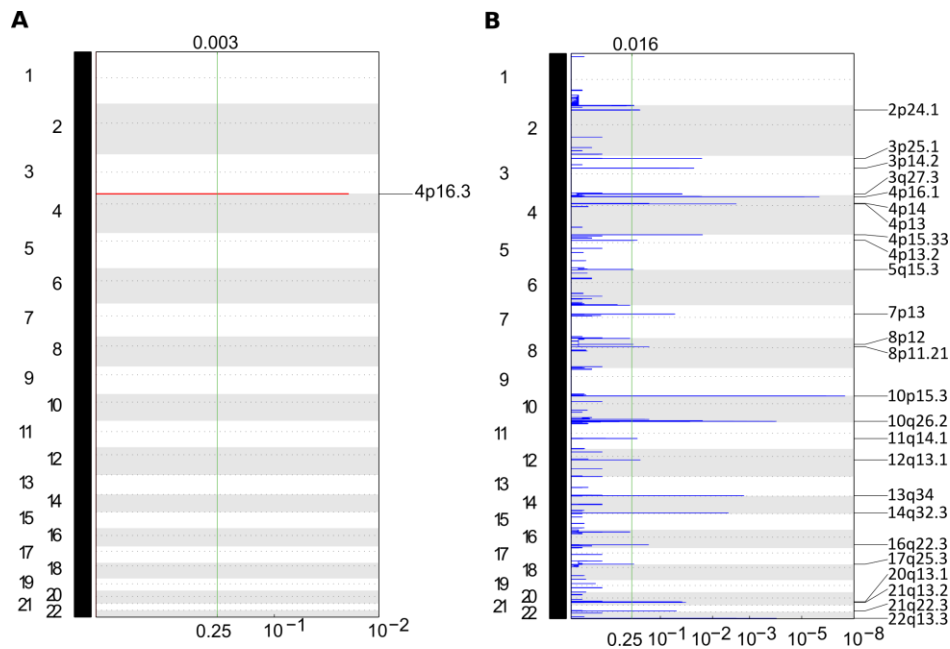


**Figura S13. Variaciones en el número de copias (CNVs) encontradas en las muestras.** CNVs encontrados en las muestras de tumor neuroendocrino con una confianza mayor a 0,99 a partir de los datos de metilación donde **A)** muestra las amplificaciones y **B)** las deleciones.

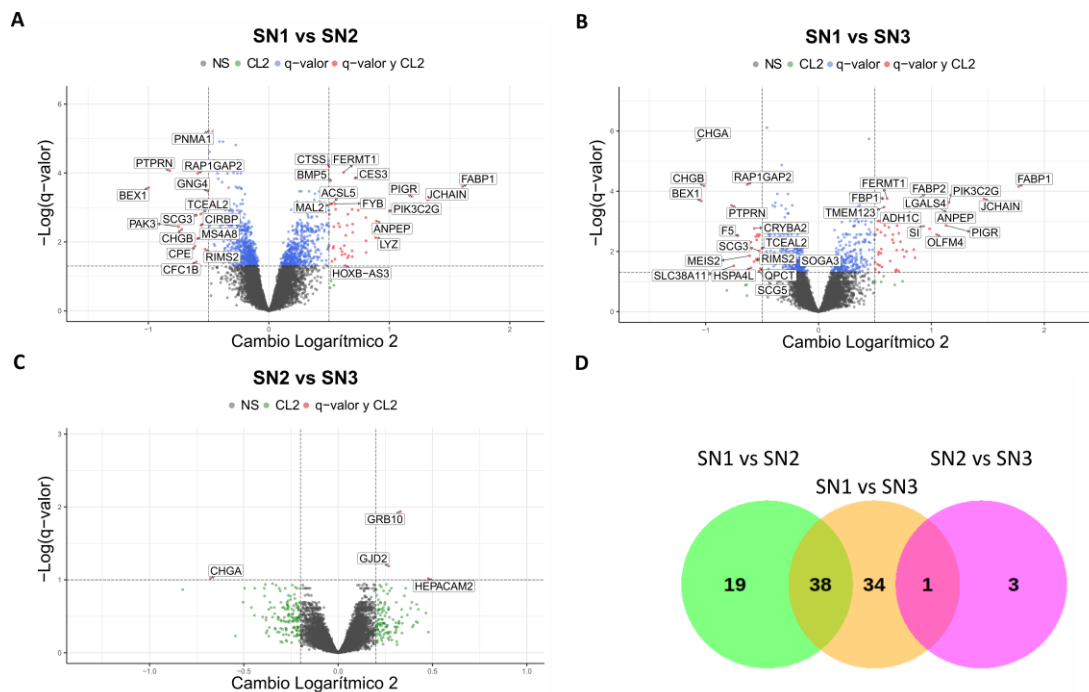


**Figura S14. Genes diferencialmente expresados en los subtipos neuroendocrinos.** **A)** Gráfico de volcán que muestra los genes diferencialmente expresados entre SN1 y SN2 con un  $q$ -valor  $< 0,05$  y un  $CL2 > 0,5$ . **B)** Gráfico de volcán que muestra los genes diferencialmente expresados entre SN1 y SN3 con un  $q$ -valor  $< 0,05$  y un  $CL2 > 0,5$ . **C)** Gráfico de volcán que muestra los genes diferencialmente expresados entre SN2 y SN3 con un  $q$ -valor  $< 0,1$  y un  $CL2 > 0,2$ . **D)** Diagrama de Venn que muestra la intersección de los genes diferencialmente expresados entre los distintos SN

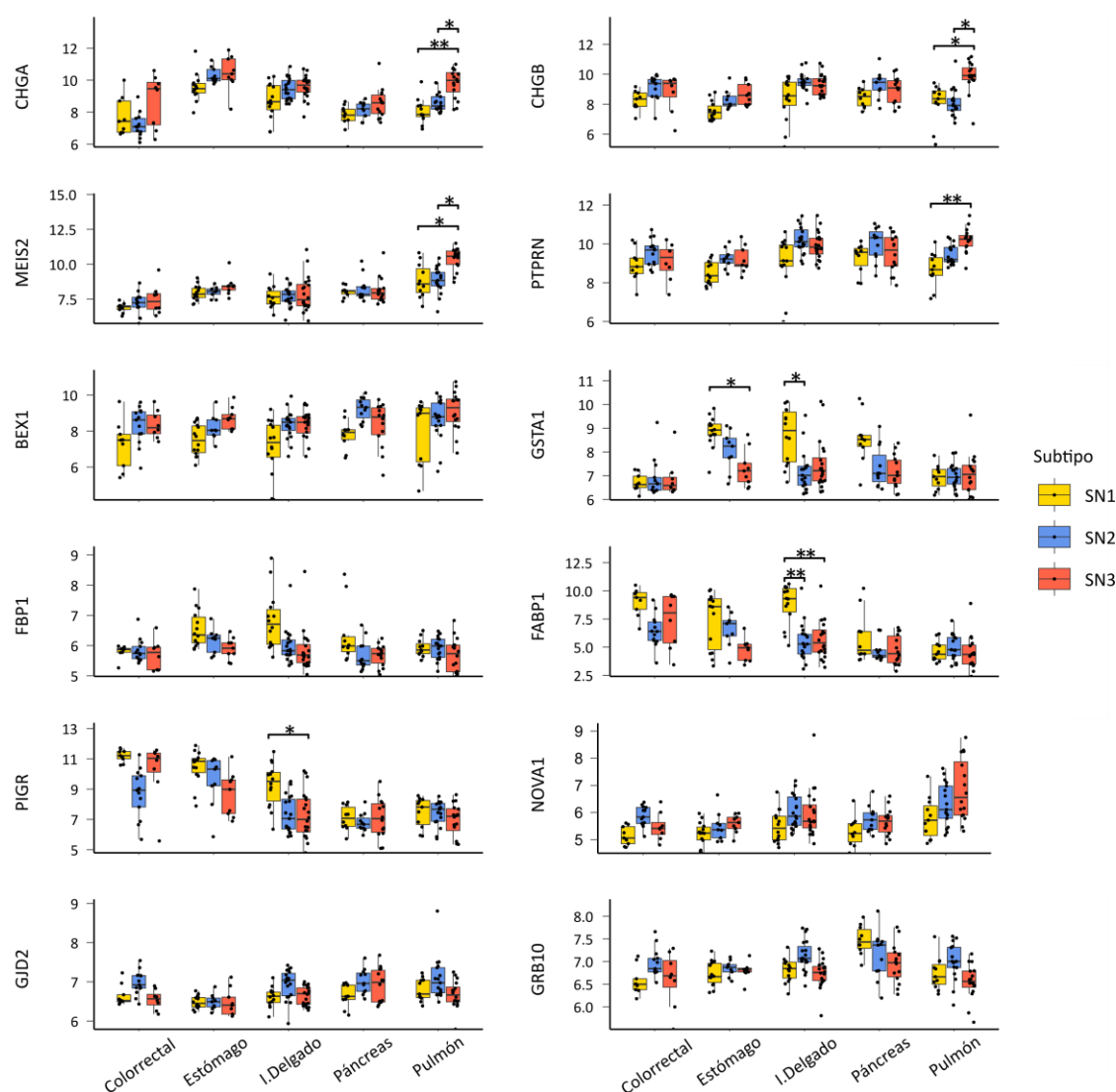


**Figura S15 Expresión diferencial de los genes de interés entre los subtipos neuroendocrinos en cada tumor primario por separado.** Gráficos de cajas y bigotes donde se muestran las diferencias en la expresión de los genes *CHGA*, *CHGB*, *PTPRN*, *BEX1*, *GSTA1*, *FBP1*, *FABP1*, *PIGR*, *NOVA1*, *GJD2*, *GRB10* y *HEPACAM2* diferenciando por tumor primario en los distintos subtipos neuroendocrinos. La significancia de estas diferencias se ha calculado usando *limma* sobre todos los genes dentro de cada tumor primario y ajustado por *FDR*, donde \* = *q*-valor < 0,05; \*\* = *q*-valor < 0,01; \*\*\* = *q*-valor < 0,001 y \*\*\*\* = *q*-valor < 0,0001.

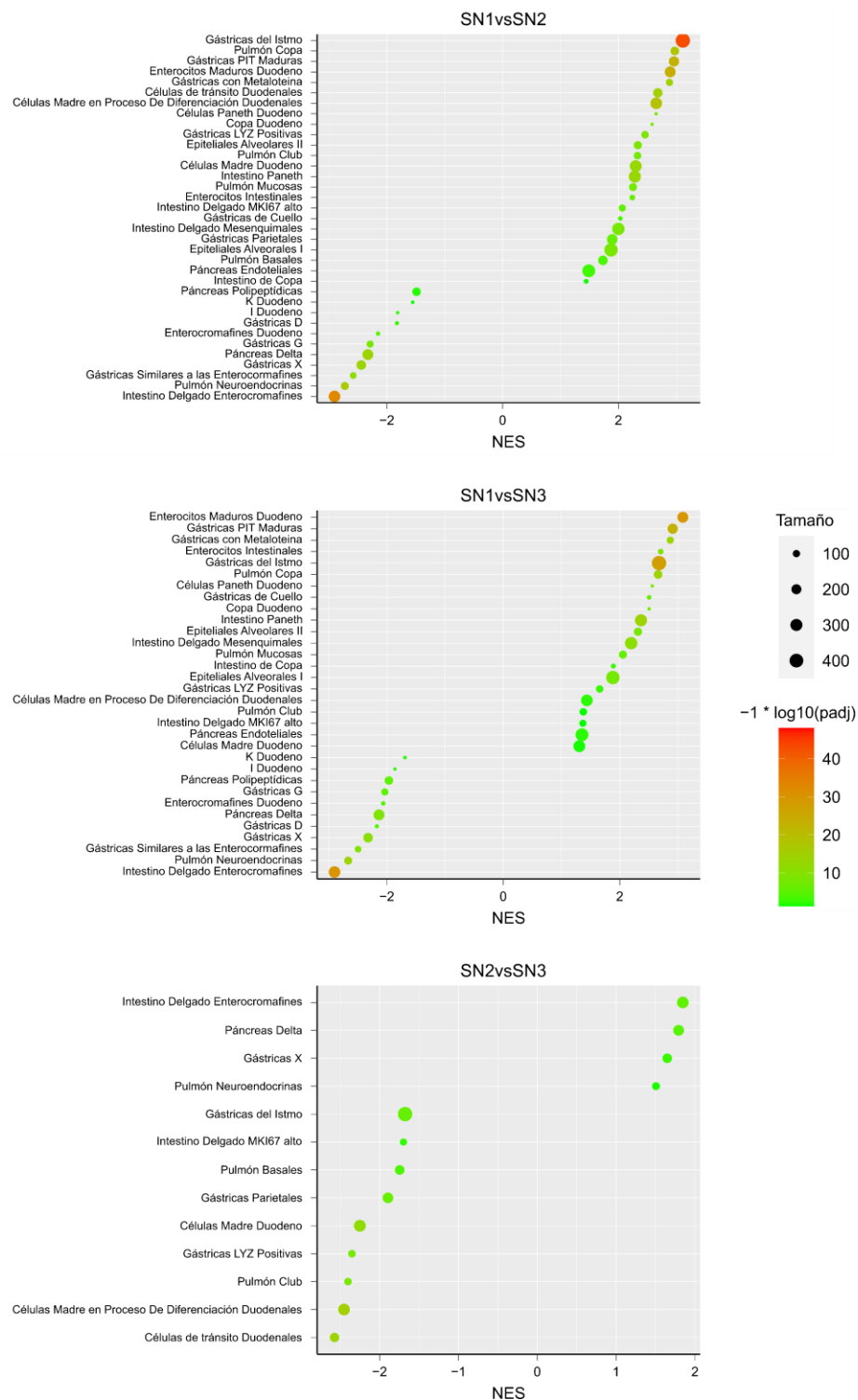


**Figura S16. Enriquecimiento de biomarcadores de células normales en los subtipos neuroendocrinos.** Resultado del GSEA entre los subtipos neuroendocrinos usando genes biomarcadores de células normales indicando el NES en el eje de las x, el  $-\log_{10}$  del *q*-valor en la coloración de los puntos y el tamaño del set de genes como tamaño de los puntos.

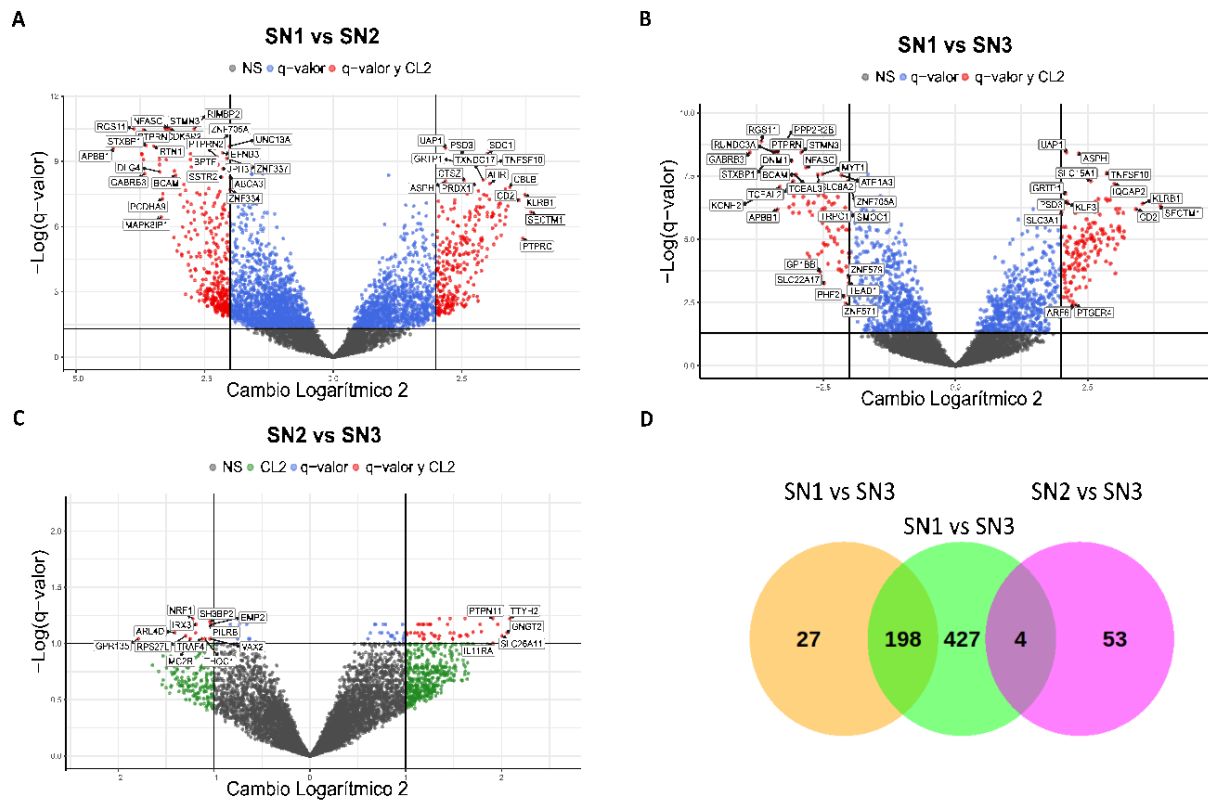


**Figura S17. Reguladores diferencialmente activados en los subtipos neuroendocrinos. A)** Gráfico de volcán que muestra los genes con diferencias en la actividad proteica predicha entre SN1 y SN2 con un  $q$ -valor  $<0,05$  y un  $CL2 > 2$ . **B)** Gráfico de volcán que muestra los genes con diferencias en la actividad proteica predicha entre SN1 y SN3 con un  $q$ -valor  $<0,05$  y un  $CL2 > 2$ . **C)** Gráfico de volcán que muestra los genes con diferencias en la actividad proteica predicha entre SN2 y SN3 con un  $q$ -valor  $<0,1$  y un  $CL2 > 1$ . **D)** Diagrama de Venn que muestra la intersección de los genes con diferencias en la actividad proteica predicha mostrados en los gráficos de volcán.

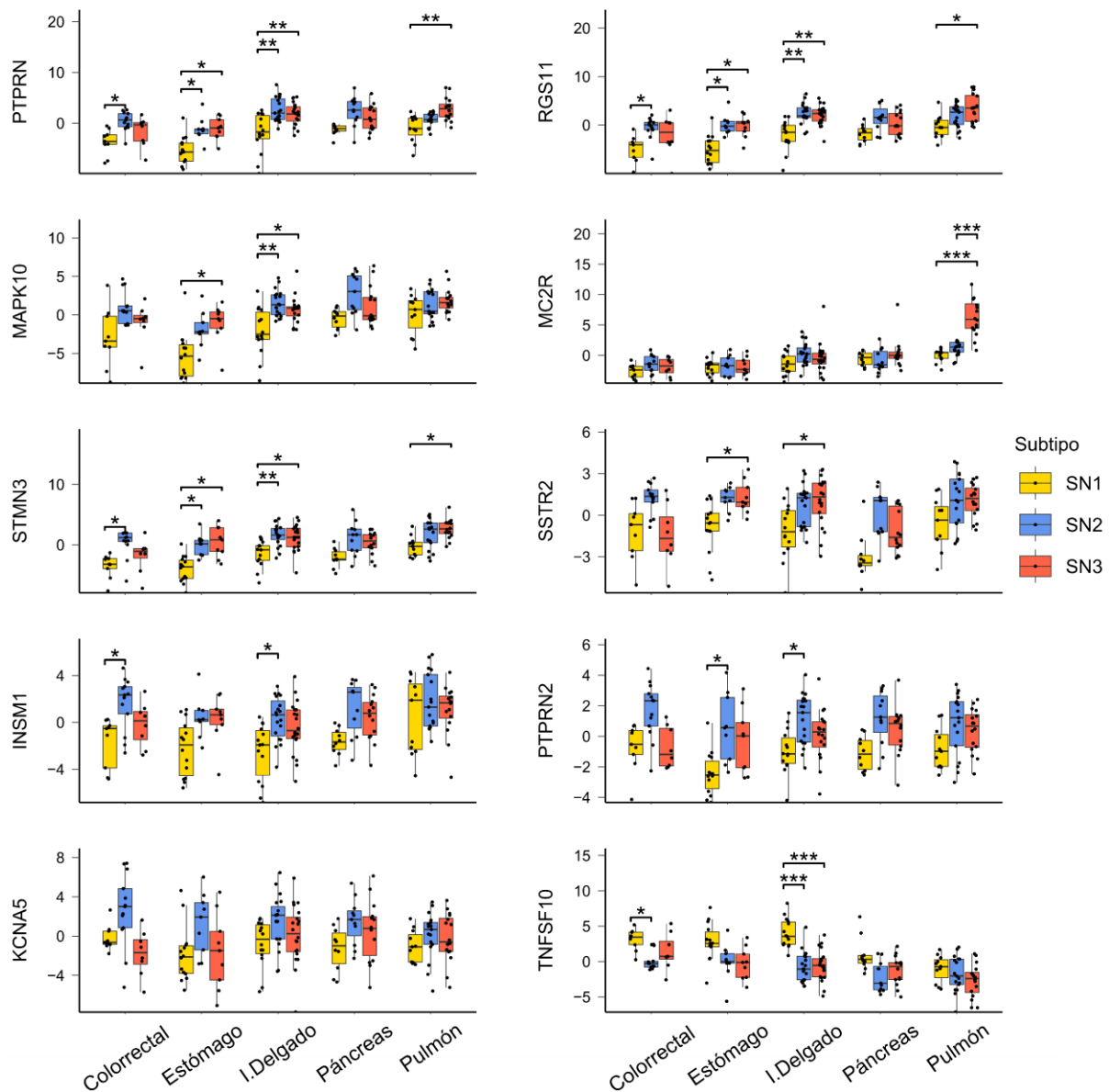


**Figura S18. Activación diferencial de las proteínas de interés entre los subtipos neuroendocrinos en cada tumor primario por separado.** Gráficos de cajas y bigotes donde se muestran las diferencias en la activación proteica predicha de los genes *PTPRN*, *RGS11*, *MAPK10*, *MC2R*, *STMN3*, *SSTR2*, *INSM1*, *PTPRN1*, *KCNA5* y *TNFSF10* diferenciando por tumor primario entre los distintos subtipos neuroendocrinos. La significancia de estas diferencias se ha calculado usando *limma* sobre todos los genes dentro de cada tumor primario y ajustado por *FDR*, donde \* = *q*-valor < 0,05; \*\* = *q*-valor < 0,01; \*\*\* = *q*-valor < 0,001 y \*\*\*\* = *q*-valor < 0,0001.

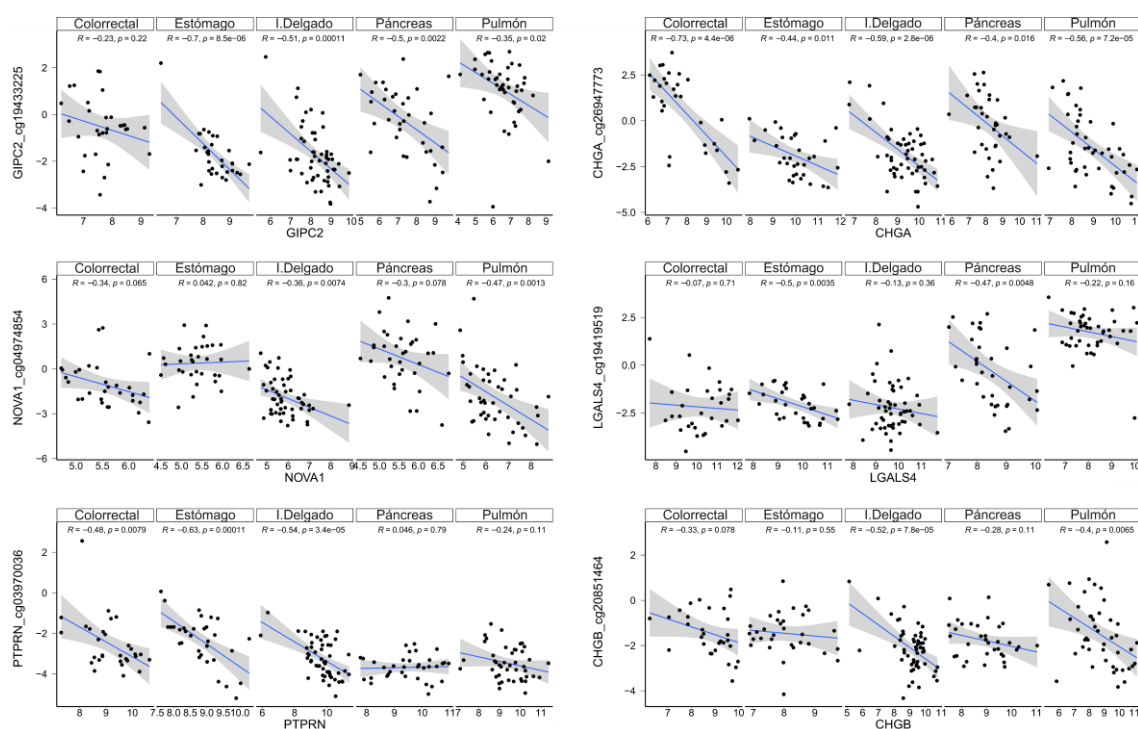


**Figura. S19** Correlación entre la expresión y la metilación de los genes de interés en cada tumor primario por separado. Correlación entre la expresión de *GIPC2*, *CHGA*, *PIGR*, *NOVA1*, *LGALS4* y *PTPRN* y la metilación de las sondas anotadas en el mismo gen en cada tumor primario por separado. el R indica el coeficiente de correlación y el p el *p*-valor simple.

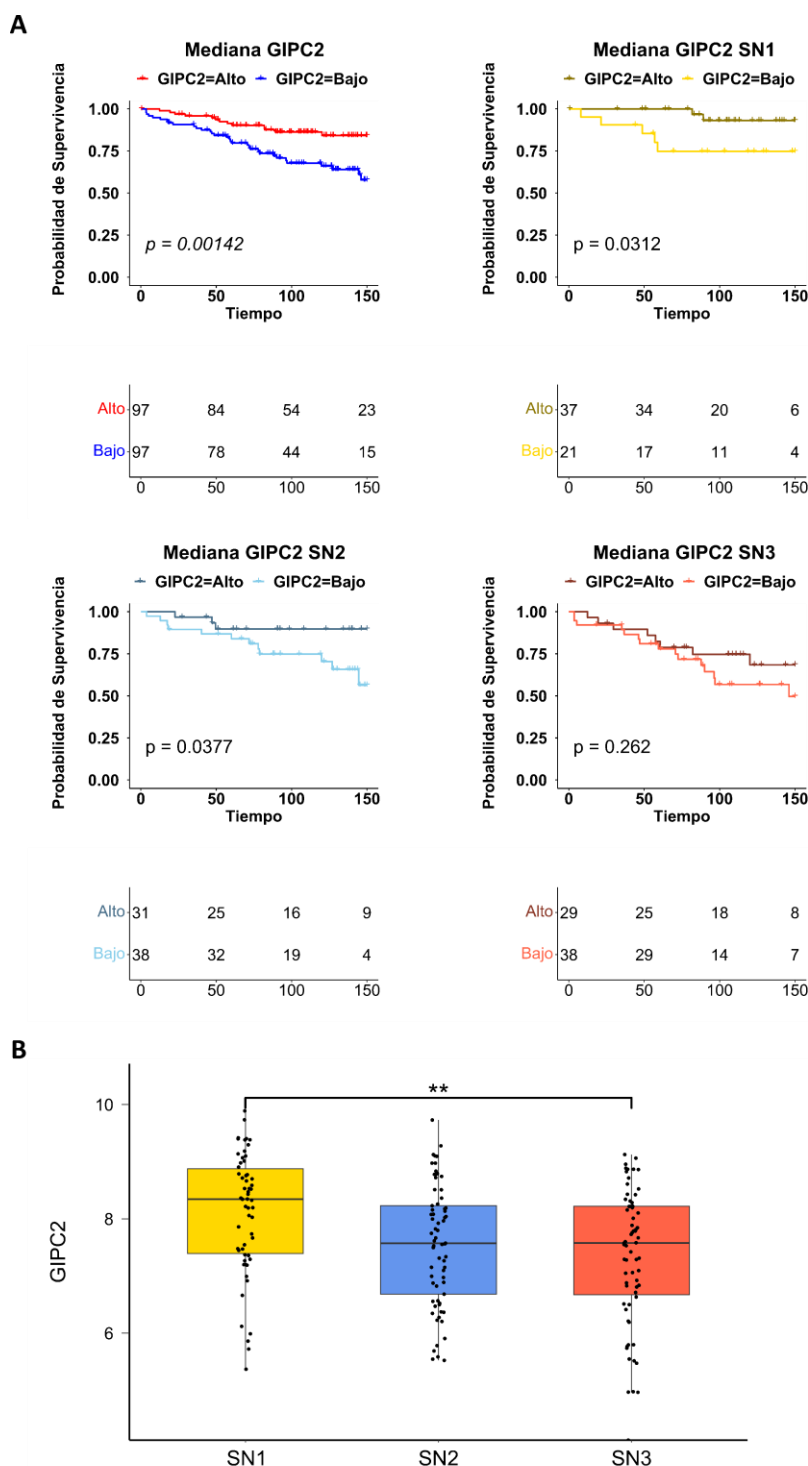


**Figura S20 Supervivencia global en función de la expresión de *GIPC2*.** **A)** Curvas de supervivencia global de los pacientes en función de la expresión alta o baja de *GIPC2*, donde alto se considera un valor por encima de la mediana y bajo por debajo de la misma en la población general y diferenciando por subtipo neuroendocrino. Las curvas de supervivencia se han obtenido mediante el método de *Kaplan Meyer*, indicando el *p*-valor resultante de la prueba de *log rank*. **B)** Gráficos de cajas y bigotes que muestran la distribución de los valores de expresión del gen *GIPC2* en cada subtipo neuroendocrino. Las diferencias de expresión entre los subtipos neuroendocrinos se han calculado usando *limma* ajustado por *FDR*, donde \* = *q*-valor < 0,05; \*\* = *q*-valor < 0,01; \*\*\* = *q*-valor < 0,001 y \*\*\*\* = *q*-valor < 0,0001.

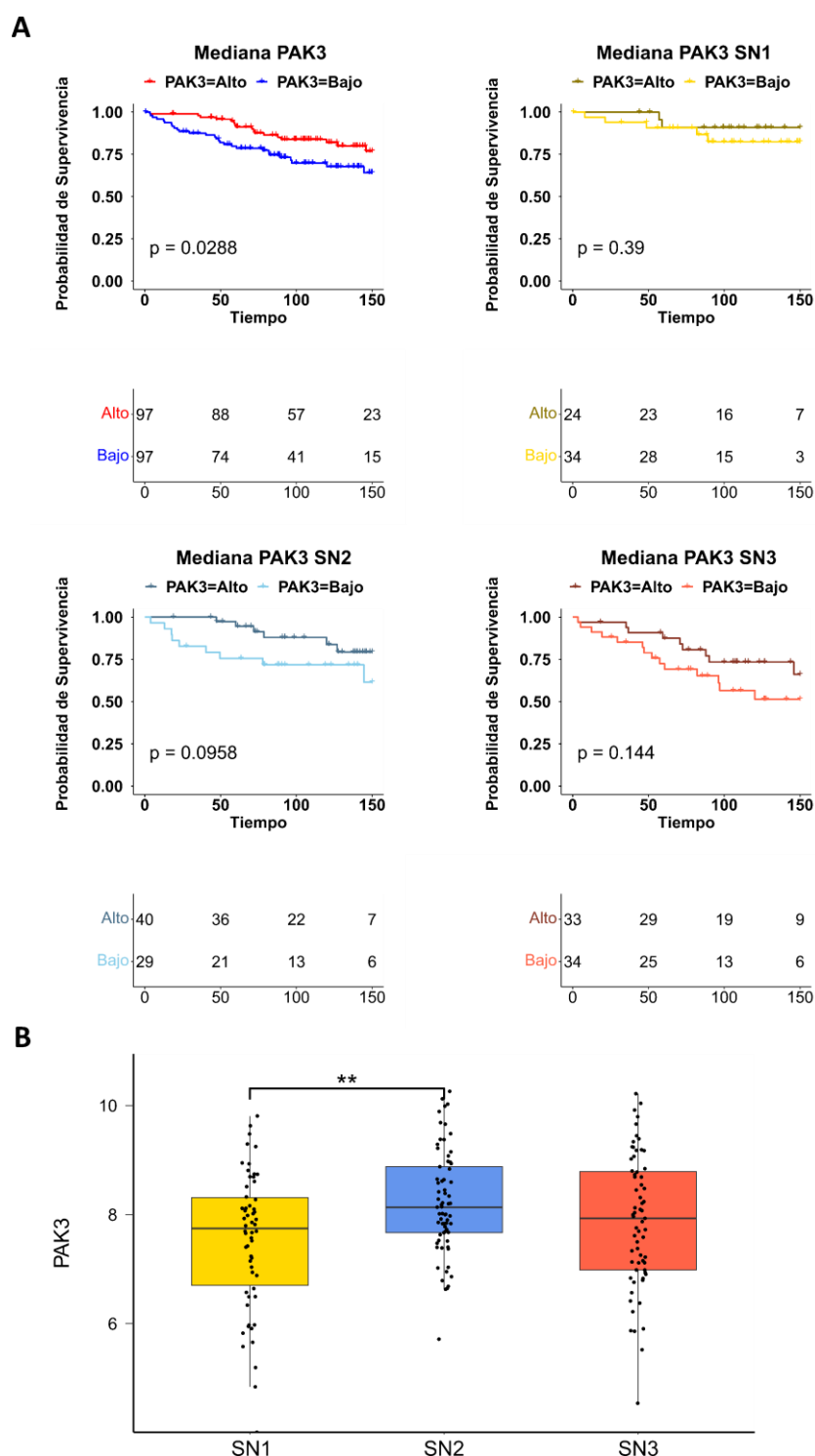


**Figura S21. Supervivencia global en función de la expresión de *PAK3*.** **A)** Curvas de supervivencia global de los pacientes en función de la expresión alta o baja de *PAK3*, dónde alto se considera un valor por encima de la mediana y bajo por debajo de la misma en la población general y diferenciando por subtipo neuroendocrino. Las curvas de supervivencia se han obtenido mediante el método de *Kaplan Meyer*, indicando el *p*-valor resultante de la prueba de *log rank*. **B)** Gráficos de cajas y bigotes que muestran la distribución de los valores de expresión del gen *PAK3* en cada subtipo neuroendocrino. Las diferencias de expresión entre los subtipos neuroendocrinos se han calculado usando *limma* ajustado por *FDR*, donde \* = *q*-valor < 0,05; \*\* = *q*-valor < 0,01; \*\*\* = *q*-valor < 0,001 y \*\*\*\* = *q*-valor < 0,0001.