

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD – LYON I
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES
FACULTE DE PHARMACIE DE LYON
8, avenue Rockefeller – 69373 LYON Cedex 08

Année 2016

THESE n°28-2016

MEMOIRE
DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES D'
INNOVATION PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE

SOUTENU DEVANT LE JURY INTERREGIONAL LE 20 OCTOBRE 2016

PAR **M^{elle} PATRICIA FREIS**

NEE LE 1^{er} JUILLET 1989 à NANCY (54)

CONFORMEMENT AUX DISPOSITIONS DE L'ARRETE DU 4 OCTOBRE 1988 TIENT LIEU
DE

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**ETUDE DES FACTEURS PRONOSTIQUES DE SURVIE DES
CARCINOMES NEUROENDOCRINES**

JURY

PRESIDENT : Mme FERRARO-PEYRET Carole, Maître de Conférences, Praticien Hospitalier

MEMBRES : M. WALTER Thomas, Professeur d'Université, Praticien Hospitalier
M. FREYER Gilles, Professeur d'Université, Praticien Hospitalier
M. MERLIN Jean-Louis, Professeur d'Université, Praticien Hospitalier
M. FAURE Rémi, Docteur en Pharmacie

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

- | | |
|---|-----------------------|
| • Président de l'Université | M. Frédéric FLEURY |
| • Présidence du Conseil Académique | M. Hamda BEN HADID |
| • Vice-Président du Conseil d'Administration | M. Didier REVEL |
| • Vice-Président de la Commission Recherche | M. Fabrice VALLEE |
| • Vice-Président de la Formation et de la Vie Universitaire | M. Philippe CHEVALIER |

Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

SANTE

- | | |
|---|--|
| • UFR de Médecine Lyon Est | Directeur : M. Jérôme ETIENNE |
| • UFR de Médecine Lyon Sud Charles Mérieux | Directeur : Mme Carole BURILLON |
| • Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques | Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA |
| • UFR d'Odontologie | Directeur : M. Denis BOURGEOIS |
| • Institut des Techniques de Réadaptation | Directeur : M. Yves MATILLON |
| • Département de formation et centre de recherche en Biologie Humaine | Directeur : Anne-Marie SCHOTT |

SCIENCES ET TECHNOLOGIES

- | | |
|--|----------------------------------|
| • Faculté des Sciences et Technologies | Directeur : M. Fabien DE MARCHI |
| • UFR de Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS) | Directeur : M. Yannick VANPOULLE |
| • Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon (ex ISTIL) | Directeur : M. Pascal FOURNIER |
| • I.U.T. LYON 1 | Directeur : M. Christophe VITON |
| • Institut des Sciences Financières et d'Assurance (ISFA) | Directeur : M. Nicolas LEBOISNE |
| • ESPE | Directeur : M. Alain MOUGNIOTTE |

ISPB – Faculté de Pharmacie Lyon

LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE ET PHARMACIE GALENIQUE

• **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**

Monsieur Raphaël TERREUX (Pr)
Monsieur Pierre TOULHOAT (Pr - PAST)
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)
Monsieur Lars-Petter JORDHEIM (MCU-HDR)
Madame Christelle MACHON (AHU)

• **PHARMACIE GALENIQUE -COSMETOLOGIE**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)
Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)
Madame Françoise FALSON (Pr)
Monsieur Hatem FESSI (Pr)
Monsieur Fabrice PIROT (PU - PH)
Monsieur Eyad AL MOUAZEN (MCU)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Ghania HAMDI-DEGOBERT (MCU-HDR)
Monsieur Plamen KIRILOV (MCU)
Monsieur Damien SALMON (AHU)

• **BIOPHYSIQUE**

Monsieur Richard COHEN (PU – PH)
Madame Laurence HEINRICH (MCU)
Monsieur David KRYZA (MCU – PH - HDR)
Madame Sophie LANCELOT (MCU - PH)
Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (MCU-HDR)
Madame Elise LEVIGOUREUX (AHU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

• **DROIT DE LA SANTE**

Monsieur François LOCHER (PU – PH)
Madame Valérie SIRANYAN (MCU - HDR)

• **ECONOMIE DE LA SANTE**

Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU - HDR)
Madame Carole SIANI (MCU – HDR)

Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU)

- **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU - HDR)

- **HYGIENE, NUTRITION, HYDROLOGIE ET ENVIRONNEMENT**

Madame Joëlle GOUDABLE (PU – PH)

- **INGENIERIE APPLIQUEE A LA SANTE ET DISPOSITIFS MEDICAUX**

Monsieur Gilles AULAGNER (PU – PH)

Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)

- **QUALITOLOGIE – MANAGEMENT DE LA QUALITE**

Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBault (MCU)

Monsieur Vincent GROS (MCU-PAST)

Madame Audrey JANOLY-DUMENIL (MCU-PH)

Madame Pascale PREYNAT (MCU PAST)

- **MATHEMATIQUES – STATISTIQUES**

Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU-PH)

Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)

Madame Marie-Paule PAULTRE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

- **CHIMIE ORGANIQUE**

Monsieur Pascal NEBOIS (Pr)

Madame Nadia WALCHSHOFER (Pr)

Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU - HDR)

Madame Christelle MARMINON (MCU)

Madame Sylvie RADIX (MCU - HDR)

Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU - HDR)

- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**

Monsieur Roland BARRET (Pr)

Monsieur Marc LEBORGNE (Pr)

Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU - HDR)

Monsieur Thierry LOMBERGET (MCU - HDR)

Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)

- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**

Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (Pr)

Madame Marie-Emmanuelle HAY DE BETTIGNIES (MCU)

Madame Isabelle KERZAON (MCU)

Monsieur Serge MICHALET (MCU)

- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**

Madame Roselyne BOULIEU (PU – PH)
Madame Magali BOLON-LARGER (MCU - PH)
Madame Christelle CHAUDRAY-MOUCHOUX (MCU - PH)
Madame Céline PRUNET-SPANNO (MCU)
Madame Catherine RIOUFOL (MCU- PH-HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

- **TOXICOLOGIE**

Monsieur Jérôme GUITTON (PU – PH)
Madame Léa PAYEN (PU - PH)
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)
Monsieur Sylvain GOUTELLE (MCU - PH)

- **PHYSIOLOGIE**

Monsieur Christian BARRES (Pr)
Monsieur Daniel BENZONI (Pr)
Madame Kiao Ling LIU (MCU)
Monsieur Ming LO (MCU - HDR)

- **PHARMACOLOGIE**

Monsieur Michel TOD (PU – PH)
Monsieur Luc ZIMMER (PU – PH)
Monsieur Roger BESANCON (MCU)
Monsieur Laurent BOURGUIGNON (MCU - PH)
Madame Evelyne CHANUT (MCU)
Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)
Madame Dominique MARCEL CHATELAIN (MCU - HDR)

- **COMMUNICATION**

Monsieur Ronald GUILLOUX (MCU)

- **ENSEIGNANTS ASSOCIES TEMPORAIRES**

Monsieur Olivier CATALA (Pr - PAST)
Madame Corinne FEUTRIER (MCU-PAST)
Madame Mélanie THUDEROZ (MCU-PAST)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

- **IMMUNOLOGIE**

Monsieur Jacques BIENVENU (PU – PH)
Monsieur Guillaume MONNERET (PU - PH)

Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU - HDR)
Monsieur Sébastien VIEL (AHU)

- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**

Madame Christine VINCIGUERRA (PU - PH)
Madame Brigitte DURAND (MCU - PH)
Monsieur Yohann JOURDY (AHU)

- **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE
AUX BIOTECHNOLOGIES INDUSTRIELLES**

Monsieur Patrick BOIRON (Pr)
Monsieur Jean FRENEY (PU – PH)
Monsieur Frédéric LAURENT (PU – PH - HDR)
Madame Florence MORFIN (PU – PH)
Monsieur Didier BLAHA (MCU)
Madame Ghislaine DESCOURS (MCU - PH)
Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU - PH)
Madame Emilie FROBERT (MCU - PH)
Madame Véronica RODRIGUEZ-NAVA (MCU - HDR)

- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**

Monsieur Philippe LAWTON (Pr)
Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)
Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

- **BIOCHIMIE - BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE**

Madame Pascale COHEN (Pr)
Monsieur Alain PUISIEUX (PU - PH)
Madame Emilie BLOND (MCU - PH)
Monsieur Karim CHIKH (MCU - PH)
Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU – PH - HDR)
Monsieur Boyan GRIGOROV (MCU)
Monsieur Hubert LINCET (MCU - HDR)
Monsieur Olivier MEURETTE (MCU)
Madame Caroline MOYRET-LALLE (MCU – HDR)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Stéphanie SENTIS (MCU)
Monsieur Anthony FOURIER (AHU)

- **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Madame Bénédicte COUPAT-GOUTALAND (MCU)
Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU - HDR)

- **INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)
Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)
Monsieur Philippe LAWTON (Pr)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
Madame Alexandra MONTEMBault (MCU)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Valérie VOIRON (MCU - PAST)

- **Assistants hospitalo-universitaires sur plusieurs départements pédagogiques**

Madame Florence RANCHON

- **Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)**

Madame Charlotte BOUARD (86^{ème} section)
Madame Laure-Estelle CASSAGNES (85^{ème} section)
Monsieur Karim MILADI (85^{ème} section)
Madame Laurence PAGES (87^{ème} section)

Pr : Professeur

PU - PH : Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

MCU : Maître de Conférences des Universités

MCU - PH : Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier

HDR : Habilitation à Diriger des Recherches

AHU : Assistant Hospitalier Universitaire

PAST : Personnel Associé Temps Partiel

Remerciements

Je tiens à remercier **mon président de thèse, Mme Carole Ferraro-Peyret**, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury, pour m'avoir permis de rencontrer et travailler avec le Pr Walter, et pour avoir pris le temps de relire ce travail.

Je remercie **mon directeur de thèse, Mr Thomas Walter**, pour m'avoir proposé ce sujet de mémoire et pour avoir accepté de diriger ce travail. Je vous remercie de votre disponibilité et réactivité pour toutes mes questions, ainsi que pour le temps que vous m'avez accordé, pour l'aide à la construction de l'article et pour les relectures de ce travail.

J'adresse aussi tous mes remerciements à **Messieurs Gilles Freyer, Jean-Louis Merlin et Rémi Faure** pour la faveur qu'ils m'ont faite en acceptant de faire partie de mon jury lors de la soutenance de ce travail. Veuillez trouver ici l'assurance de ma sincère reconnaissance.

J'adresse également tous mes remerciements à **Mme Marie-Christine Rodriguez**, pour sa disponibilité et son aide dans la recherche des dossiers de patients, ainsi que pour son écoute et ses précieux conseils.

Je remercie bien sûr **mes parents**, pour m'avoir toujours poussée à aller plus loin, pour m'avoir soutenue dans mes choix et surtout pour tous vos conseils. Je pense également à **Barbara**, pour qui les études ne font que commencer ... je te souhaite qu'elles t'apportent autant de bons souvenirs qu'à moi.

J'ai une grande pensée pour **toute ma famille, de France et de Slovaquie**, qui m'a toujours encouragée tout au long de ma scolarité, et jusqu'à aujourd'hui, pour l'aboutissement de mes études de Pharmacie.

A **Laurent**, pour tout l'amour et le soutien que tu m'apportes au quotidien, j'ai une grande chance de t'avoir à mes côtés, merci pour tout.

A tous **mes ami(e)s de Lorraine**, qui restent malgré mon éloignement. A **Sophie, Guillaume**, et aux **meilleurs de la fac, Pierre et Kévin**. Merci à vous tous d'être encore là. Comme on dit les vrais amis se comptent sur les doigts d'une main ...

Je remercie également **tous mes collègues (et ami(e)s) du labo**, qui m'ont soutenue tout au long de cette dernière année, assez intense !

Table des matières

Remerciements	7
Liste des tables	10
Abréviations	10
1. Introduction	13
2. Généralités sur les néoplasmes neuroendocrines (NNE)	15
2.1. Les néoplasmes neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques (NNE GEP).....	15
2.1.1. Caractéristiques	15
2.1.2. Epidémiologie	15
2.1.3. Classification	16
2.2. Les carcinomes neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques (CNE GEP)	17
2.2.1. Caractéristiques	17
2.2.2. Carcinogénèse	18
2.2.3. Présentation clinique	19
2.2.4. Diagnostic et explorations préthérapeutiques	20
2.2.5. Prise en charge et traitement	22
2.3. Facteurs pronostiques des NNE.....	29
2.3.1. Facteurs pronostiques des TNE.....	30
2.3.2. Facteurs pronostiques des CNE.....	32
2.4. Facteurs pronostiques biologiques dans les autres tumeurs solides	32
3. Objectifs de l'étude	34

4. Article “Prognostic factors in neuroendocrine carcinoma: biological markers are more useful than histomorphological markers”	35
5. Discussion	35
Annexes	40
Bibliographie	41

Liste des tables

Tableau 1: Classification anatomopathologique OMS 2010 des néoplasmes neuroendocrines (NNE), adaptée selon Heetfeld et al.	17
Tableau 2 : Principaux résultats des chimiothérapies dans les CNE GEP	24

Abréviations

4EBP1	Eukaryotic translation initiation factor 4E-Binding Protein 1
5-HIAA	5-hydroxy-indole-acétique
ACTH	Adrénocorticotrophine
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ASAT	Aspartate aminotransférase
ASCO	American Society of Clinical Oncology
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
CDDP	Cisplatine Cis-diaminedichloroplatine(II)
CDK	Cyclin-Dependent Kinase
CNE	Carcinomes NeuroEndocrines
CRP	C-Reactive Protein
CTC	Cellules Tumorales Circulantes
ECOG-PS	Eastern Cooperative Oncology Group-Performance Status
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
ENETS	European NeuroEndocrine Tumor Society
ER	Estrogen Receptor
HCL	Hospices Civils de Lyon

HER2	Human Epidermal growth factor Receptor 2
HPF	High-power Field
IL	Interleukines
IPP	Inhibiteur de la Pompe à Protons
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
LDH	Lactate Deshydrogénase
mTOR	Mammalian Target Of Rapamycin
NEM1	Néoplasie Endocrinienne Multiple de type 1
NLR	Neutrophil/lymphocyte Ratio
NNE	Néoplasme NeuroEndocrine
NSE	Neuron-Specific Enolase
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PAL	Phosphatase Alcaline
PD1	Programmed cell Death protein 1
PDL1	Programmed Death-Ligand 1
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
PlGF	Placental Growth Factor
PR	Progesterone Receptor
PTHrp	ParaThyroid-Hormone-related protein
RCP	Réunion de Concertation Pluridisciplinaire
RENATEN	REseau National de prise en charge des Tumeurs NeuroEndocrines malignes rares, sporadiques et héréditaires
RT-PCR	Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction
SEER	Surveillance, Epidemiology, and End Results
SRS	Scintigraphie aux Récepteurs de la Somatostatine

TDM	TomoDensitoMétrie
TEP-FDG	Tomographie par Emission de Positrons au ¹⁸ F _{luor} -Fluorodésoxyglucose
TNCD	Thésaurus National de Cancérologie Digestive
TNE GEP	Tumeurs NeuroEndocrines Gastro-Entéro-Pancréatiques
TNM	Tumor-Nodes-Metastasis
UICC	Union for International Cancer Control
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VP-16	Etoposide

1. Introduction

Dans le cadre de mon internat en Pharmacie (DES Innovation Pharmaceutique et Recherche), j'effectue un Doctorat en Sciences sur les tumeurs neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques (TNE GEP), sous la direction du Dr Ferraro-Peyret. J'étudie l'interaction entre le stress du réticulum endoplasmique et l'activation de la voie mTOR dans ces tumeurs.

En parallèle à ce travail de recherche fondamentale, j'ai souhaité aborder l'étude clinique de ces tumeurs, et j'ai donc décidé d'en faire mon mémoire de DES. Ainsi, sous la direction du Pr Walter, oncologue du Service de Gastroentérologie et d'Oncologie Digestive de l'hôpital E. Herriot, j'ai débuté mon travail de mémoire sur l'étude des facteurs pronostiques de survie des carcinomes neuroendocrines (CNE).

Les CNE regroupent un ensemble de tumeurs, rares et très agressives, au sein des tumeurs neuroendocrines. Pourquoi ce groupe spécifique de tumeurs ? De par leur rareté, les études cliniques concernant ces carcinomes sont peu nombreuses, notamment celles permettant de définir de nouveaux facteurs pronostiques. De plus, nous souhaitons étudier l'apport des biomarqueurs moléculaires sur le pronostic des CNE, abordant ainsi un point nouveau non encore décrit dans les CNE.

Au cours de ce travail, réalisé sur une cohorte de patients au sein des Hospices Civils de Lyon (HCL), le Pr Walter a été contacté pour une étude européenne multicentrique, afin de valider un score pronostique pour les CNE. J'ai donc pu participer, par le biais de mon travail de mémoire, à cette étude européenne, qui a été présentée au congrès de l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) en 2016 (Annexe 1), et récompensée du prix du meilleur « Abstract

Young Investigator ». Il est accepté sous réserve des modifications faites, dans le *Journal of National Cancer Institute* (impact factor : 11,4) (Annexe 2).

Mon mémoire de DES est présenté sous forme de thèse-article. Une première partie présentera les TNE puis plus précisément les CNE et situera ce travail dans le contexte scientifique actuel. Ces données bibliographiques ont fait l'objet d'un article dans la revue Hépato-Gastro et Oncologie Digestives (Annexe 3). Dans une deuxième partie, je présenterai les objectifs de l'étude des facteurs pronostiques de survie des CNE, puis l'étude elle-même, sous forme d'article en anglais, désormais en révision dans le journal *Scientific Reports* (impact factor : 5,2) (annexe 4). Enfin, la discussion conclura ce mémoire de DES.

2. Généralités sur les néoplasmes neuroendocrines (NNE)

2.1. Les néoplasmes neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques (NNE GEP)

2.1.1. Caractéristiques

Les NNE GEP représente une famille de tumeurs très hétérogènes, d'origine épithéliale, et qui expriment des marqueurs endocrines comme la chromogranine A et neuroendocrines comme la synaptophysine. Ces tumeurs dérivent de cellules endocrines néoplasiques, et conservent les caractéristiques morphologiques, phénotypiques et fonctionnelles des cellules endocrines normales (1). La synthèse et la sécrétion d'une ou plusieurs hormones ne constituent pas des caractères indispensables aux NNE. Les NNE associés à un syndrome clinique secondaire à une hypersécrétion d'hormones sont qualifiés de tumeurs fonctionnelles.

2.1.2. Epidémiologie

Les NNE GEP sont des tumeurs relativement rares mais leur incidence a augmenté de manière constante ces 40 dernières années. Une revue de la littérature a estimé une augmentation de l'incidence des NNE GEP de 3,6 fois aux Etats-Unis et entre 3,8 et 4,8 fois en Europe entre 1973 et 2007 (2). Néanmoins, cette augmentation peut être le reflet d'une amélioration des techniques d'imagerie endoscopique et radiologique, ou d'un changement de méthode dans l'enregistrement des cas au cours des années. Cette même étude a montré que les sites primitifs les plus fréquents sont l'intestin grêle et le rectum. En France, une étude conduite par 3 centres nationaux de cancérologie sur 13 mois indique que les principales localisations des tumeurs primitives se trouvent dans l'intestin grêle et le côlon pour 43% des cas, le pancréas (32%) ou sont d'origine inconnue dans 11% des cas (3). Les différences entre le genre ou l'ethnie varient en fonction des pays et continents dans lesquels les études ont été conduites.

2.1.3. Classification

Leur grande hétérogénéité, tant du point de vue structurel, fonctionnel ou évolutif, a nécessité la mise en place de classifications. En 2000, l'OMS fait apparaître les NNE GEP dans sa classification (OMS 2000) (4). Celle-ci sera actualisée une première fois en 2004 (5) puis en 2010 (6). La classification OMS 2010 distingue trois catégories de NNE-GEP : les tumeurs neuroendocrines de grade 1 G1, les tumeurs neuroendocrines de grade 2 G2 et les carcinomes neuroendocrines à petites ou grandes cellules (Tableau 1). Sur ce tableau apparaît, en gris, la notion nouvelle de « tumeur neuroendocrine de grade 3 » bien différenciée, que j'expliquerai plus loin. Cette classification se base sur la morphologie cellulaire (le degré de différenciation) et sur le grade, défini par l'index de prolifération (Ki-67) et l'index mitotique. L'index Ki-67 est évalué par comptage du nombre de cellules tumorales dont le noyau est marqué par l'anticorps dirigé contre l'antigène Ki-67 présent sur une protéine nucléaire, dans les cellules en phase G1, S, G2 et M. L'index mitotique permet d'estimer le nombre de mitoses au sein de la prolifération tumorale, à partir d'une coupe tissulaire, dans dix champs au fort grossissement (High Power Field, HPF) et pour une surface déterminée. Le grade tumoral a été repris à l'identique à partir du grade défini par l'ENETS (European NeuroEndocrine Tumor Society) en 2006. Les NNE GEP sont aussi classées selon la classification Tumor-Nodes-Metastasis (TNM).

Tableau 1: Classification anatomopathologique OMS 2010 des néoplasmes neuroendocrines (NNE), adaptée selon Heetfeld et al.

	Morphologie (différenciation)	Grade G1- G3 Ki-67 (%)*	Index mitotique (pour 10 HPF)	Abréviation
Tumeur neuroendocrine Grade 1	Bien différenciée	G1 (≤ 2)	< 2	TNE G1
Tumeur neuroendocrine Grade 2	Bien différenciée	G2 (3-20)	2-20	TNE G2
Tumeur neuroendocrine Grade 3	Bien différenciée	G3 (> 20 %)	> 20	TNE G3
Carcinome neuroendocrine	Peu différenciée (petites ou grandes cellules)	G3 (> 20)	> 20	CNE
* Anticorps MiB1 (Immunotech ®) ; % sur 500 à 2 000 cellules tumorales dans les zones de plus haute densité de cellules marquées. HPF : High Power Field				

Les études concernant les carcinomes neuroendocrines, encore appelés carcinomes neuroendocrines peu différenciés, sont limitées, du fait de leur rareté. Ce sont néanmoins les tumeurs les plus agressives des NNE GEP. Leurs caractéristiques sont développées dans le chapitre suivant.

2.2. Les carcinomes neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques (CNE GEP)

2.2.1. Caractéristiques

Les CNE-GEP sont rares, représentant moins de 1% des cancers de la sphère digestive (7) et 7 à 21% des NNE selon les études (8–10). Leur pronostic est très péjoratif avec des survies médianes spontanées d'environ 6 mois, et qui ne dépassent pas 18 mois chez les patients traités.

Les CNE sont définis selon la classification OMS 2010 (6), par une morphologie peu différenciée, à petites ou grandes cellules, une expression des marqueurs neuroendocrines (chromogranine A et synaptophysine) et une capacité de prolifération élevée (grade 3, Ki-67 $> 20\%$). Ils s'opposent aux TNE bien différenciées (Tableau 1). Par définition, dans cette classification, tous les CNE ont un index de prolifération élevé, Ki-67 $> 20\%$. *A contrario*, les

TNE ont obligatoirement un Ki-67 < 20%. Or la littérature récente décrit une faible proportion (6 à 8%) de TNE bien différenciées avec un index de prolifération élevé (Ki-67 > 20%), alors appelées TNE G3 (en gris dans le Tableau 1) (11–13). Ces publications montrent parallèlement que si l'on considère les carcinomes neuroendocrines, 20 à 30% sont en réalité des TNE G3, présentant effectivement une morphologie bien différenciée, mais avec un Ki-67 > à 20%. Ces TNE G3 sont plus fréquentes dans l'estomac et le pancréas, et ont plus souvent une scintigraphie des récepteurs à la somatostatine (SRS) (Octréoscan®) positive. Sur le plan histologique, les zones de nécrose des TNE G3 sont moins constantes et l'index de prolifération Ki-67 plus faible que dans les CNE, compris entre 20 et 55% (11,12). Il est primordial d'identifier ce sous-groupe car le pronostic de ces tumeurs est nettement plus favorable comparativement à celui des CNE (41-99 mois *versus* 11-17 mois) (13).

2.2.2. Carcinogenèse

L'origine des CNE est encore aujourd'hui controversée. Certaines équipes évoquent une origine à partir de cellules souches multipotentes, d'autres suggèrent une dédifférenciation de TNE bien différenciées (14). Le mécanisme essentiel de l'initiation et de la formation d'un clone néoplasique à partir d'une cellule saine est l'activation de certains oncogènes ou l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs par mutation. Or les principaux oncogènes (SRC, MYC, RAS, FOS, HER2, RET...) et les principaux gènes suppresseurs de tumeurs (p53, BRCA, RB ...) actuellement identifiés ne semblent pas être impliqués dans la tumorigenèse des TNE-GEP.

Concernant les CNE, des mutations des gènes *TP53* et *RB1* ont été rapportées dans 19 échantillons tumoraux de CNE pancréatiques (petites et grandes cellules), confirmées par un marquage P53 anormal et une perte d'expression de la protéine Rb dans 95 et 74% des cas respectivement (15). Des mutations de *KRAS* et *SMAD4* sont en revanche rarement mises en

évidence. L'analyse génomique de cancers du poumon à petites cellules, et sur lesquels les traitements de CNE GEP se basent, a également retrouvé l'inactivation des gènes *TP53* et *RB1*. Il a été rapporté, dans un modèle murin de tumeurs du poumon à petites cellules, que la délétion des gènes *RB1* et *TP53* dans les poumons de souris adultes entraînait le développement de tumeurs très proches des carcinomes pulmonaires à petites cellules (histopathologie identique, expression de marqueurs neuroendocrines et capacité à se disséminer) (16). Dans le même sens, mais cette fois-ci dans un modèle murin sain, la délétion du gène *RB1* dans les voies respiratoires de la souris induisait la prolifération de cellules neuroendocrines (17). Ces études suggèrent donc l'implication des gènes *RB1* et *TP53* dans le développement de cellules neuroendocrines (tumorales ou non).

Des mutations de certains gènes notamment impliqués dans le remodelage de la chromatine (*DAXX*, *ATRX*), ou dans la voie PI3K/Akt/mTOR ont été décrites mais uniquement dans des TNE pancréatiques (18) ou gastro-intestinales bien différenciées (19).

L'étude de Yachida *et al.* rapporte également une surexpression de la protéine Bcl-2 dans 100% des CNE à grandes cellules et dans 50% des CNE à petites cellules du pancréas, mais dans aucune des TNE du pancréas (15). La protéine Bcl-2 est un inhibiteur de l'apoptose, elle peut potentiellement jouer un rôle dans la survenue des CNE. De plus, cette protéine est surexprimée dans les tumeurs du poumon à petites cellules et sa forte expression est associée à une différenciation neuroendocrine (20).

L'analyse génomique des CNE (toutes localisations) devrait aider à identifier des voies de signalisation intervenant dans la carcinogenèse de ces tumeurs.

2.2.3. Présentation clinique

Des données récentes sur la présentation initiale des CNE-GEP ont été rapportées dans deux études rétrospectives et une étude de cohorte française (12,21,22). Contrairement aux TNE bien

différenciées, moins de 5% des CNE sont de découverte fortuite. Ils sont diagnostiqués devant des symptômes de survenue généralement récente avec une altération de l'état général rapide (amaigrissement, fièvre, douleurs, ictère ...) (23). Moins de 3 à 5% des CNE présentent un syndrome sécrétoire et ce syndrome sécrétoire est généralement différent de ceux habituellement rencontrés dans les TNE (sécrétion d'ACTH avec syndrome de Cushing, de PTHrp avec hypercalcémie). Aucun patient n'est identifié comme porteur d'un syndrome de prédisposition génétique.

Plus de 80% des CNE sont métastatiques au moment du diagnostic, avec une médiane de 2 sites métastatiques (75% hépatique, 60% ganglionnaire, 15% pulmonaire, 10-15% péritonéale, 15% os et 5% cérébrale) ; les CNE ont une imagerie par TEP-FDG beaucoup plus fréquemment pathologique (85-90%) qu'avec la SRS (Octréoscan®) (45-50%) (12,21,22). Les principaux sites primitifs trouvés sont les sites oeso-gastrique (25% des cas), pancréatique (25% des cas), colorectal (25% des cas) et de primitif inconnu ou autre primitif (25 % des cas). Les CNE de l'iléon ou de l'appendice sont tout-à-fait exceptionnels.

2.2.4. Diagnostic et explorations préthérapeutiques

L'analyse anatomopathologique sur biopsies est la seule qui permet d'affirmer le diagnostic, et est incontournable avant tout traitement anti-tumoral. Comme toutes TNE, les CNE sont caractérisés par l'expression de marqueurs immunohistochimiques de différenciation neuroendocrine (chromogranine A, synaptophysine, CD56). Dans le cas des CNE, la synaptophysine est généralement positive, alors que la chromogranine A peut être négative (21). La présence d'un marquage positif pour la synaptophysine et la chromogranine A est de bon pronostic (24). Le marquage CD56 n'est pas fait en pratique courante.

La morphologie cellulaire permet de distinguer 2 entités particulières : les CNE à petites cellules et ceux à grandes cellules. Contrairement aux CNE bronchiques, les CNE-GEP à

grandes cellules sont plus fréquents que les CNE à petites cellules (60% versus 40%) (12,21,22).

Une relecture par les experts du réseau TENpath est préconisée, pour ne pas méconnaître un diagnostic différentiel ou une TNE G3. Les adénocarcinomes peu différenciés peuvent par exemple exprimer la synaptophysine et ressembler à un CNE à grandes cellules. L'étude anatomopathologique permet de définir le grade histologique de la tumeur, par l'évaluation de l'index de prolifération Ki-67 et de l'index mitotique (Tableau 1). La présence de nécrose est également évaluée. Dans les études portant sur les CNE excluant les TNE G3, l'index de prolifération Ki-67 médian est de 70-75% et la nécrose tumorale est très fréquemment présente (60-80%) (12,22).

Le pathologiste doit aussi définir le stade du CNE. Deux classifications TNM sont à ce jour disponibles : la première proposée par l'ENETS, utilisée depuis 2006 (25,26), la seconde proposée par l'UICC, publiée en 2009 (27). La classification TNM UICC est la classification actuellement reconnue internationalement. Elle diffère sur certains points de la classification TNM ENETS, notamment pour les CNE. Ceux-ci sont classés de la même manière que les carcinomes non neuroendocrines de même localisation.

Sur un compte-rendu anatomopathologique doivent apparaître au minimum les informations suivantes : la localisation anatomique, le type de prélèvement, les caractères macroscopiques si disponibles (nombre de tumeurs visibles, taille de chacune d'entre elles), les arguments diagnostiques histologiques (tumeur bien ou peu différenciée, si peu différenciée, le type à petites ou grandes cellules), les arguments diagnostiques immunohistochimiques, le grade histologique, la classification OMS 2010, le niveau d'extension de la tumeur, l'état des limites, la mesure des marges et le stade TNM (28).

En l'absence de site primitif digestif identifié, un primitif bronchique est à rechercher en priorité. En présence de métastases hépatiques, une recherche systématique de métastases extra-

hépatiques (osseuses, médiastinales, mais aussi cérébrales) est effectuée par TDM ou IRM, aux 4 étages cérébro-thoraco-abdomino-pelvien. La SRS n'a pas d'indication dans les CNE contrairement au TEP-FDG qui doit être réalisé.

Sur le plan biologique, le dosage de la chromogranine A est effectué, même si ce dosage est moins informatif que pour les TNE bien différenciées. Les causes les plus fréquentes d'élévation non tumorale de la chromogranine A sont l'insuffisance rénale et toutes les situations d'hypergastrinémie (traitement par inhibiteur de la pompe à protons (IPP), gastrite atrophique fundique liée à une maladie de Biermer ou à une infection à *Helicobacter pylori*) (29). Ce dosage est donc réalisé après 7 jours minimum d'arrêt de traitement par IPP, si le patient est traité. Le dosage de la neuron-specific enolase (NSE) est mieux corrélé au pronostic que la chromogranine A et peut être réalisé pour les CNE. Les dosages de 5-HIAA urinaire et d'autres hormones digestives (gastrine, insuline, glucagon...) ne doivent pas être réalisés, les CNE n'exprimant pas ces hormones.

La recherche de prédisposition génétique (NEM1...) est inutile du fait de l'absence de syndrome de prédisposition génétique associé au CNE.

2.2.5. *Prise en charge et traitement*

La prise en charge des CNE-GEP ne peut être envisagée qu'après un diagnostic histologique, dans l'idéal relu dans le cadre du réseau d'anatomopathologistes experts (TENpath) et discuté en réunion de concertation pluridisciplinaire spécialisée du réseau RENATEN (Réseau National de prise en charge des Tumeurs neuro-ENDocrines malignes rares sporadiques et héréditaires). Elle relève cependant de l'urgence thérapeutique et l'avis expert doit être obtenu dans les plus brefs délais.

Cette mise au point reprend largement le Thésaurus National de Cancérologie Digestive (TNCD) (28). Le traitement de 1^{ère} ligne recommandé est une chimiothérapie à base de sels de

platine associés à de l'étoposide, couramment cisplatine (CDDP) et étoposide. En cas de contre-indication au CDDP, du fait de sa toxicité rénale, cette molécule peut être substituée par du carboplatine, plus soluble et donc moins toxique pour le rein. De plus, le carboplatine est moins émétogène que le CDDP et sera de ce fait mieux toléré. Le carboplatine montre une efficacité similaire dans les CNE GEP (21). Du fait de la rareté de ces tumeurs, peu d'études prospectives sont disponibles (30). Entre 1991 et 2013, 7 études rétrospectives portant sur l'efficacité des chimiothérapies de 1^{ère} ligne chez les patients métastatiques ont été reportées (répertoriées dans le tableau 2). Le niveau de preuve sur lequel repose la prise en charge des CNE-GEP est donc faible et les recommandations reposent beaucoup sur la stratégie thérapeutique validée dans les carcinomes pulmonaires à petites cellules.

Une classification correcte des NNE trouve toute son importance ici. En effet, la chimiosensibilité des TNE G3 à l'association de référence utilisée dans les CNE (platine-étoposide) est significativement inférieure (11,12,31), et les traitements utilisés dans les TNE G2 (témozolomide par exemple) sembleraient plus adaptés pour les TNE G3.

Parallèlement, lorsque l'on considère les CNE, la valeur de l'index de prolifération Ki-67 apparaît comme un facteur prédictif de réponse aux chimiothérapies par sels de platine (cisplatine ou carboplatine) : les carcinomes possédant un Ki-67 entre 20 et 55 % ont un taux de réponse nettement inférieur aux CNE exprimant un Ki-67 supérieur à 55 % (15 % versus 42 %) (21).

Tableau 2 : Principaux résultats des chimiothérapies dans les CNE GEP

Auteur, année, (référence)	Type d'étude	Chimiothérapie	n	RO	SSP médiane (mois)	SG médiane (mois)
Chimiothérapie de 1 ^{ère} ligne dans les CNE-GEP par platine-étoposide						
Moertel, 1991, (32)	Rétrospectif	CDDP-étoposide	18	67%	8	19
Mitry, 1999, (33)	Rétrospectif	CDDP-étoposide	41	42%	9	15
Olsen, 2012, (34)	Rétrospectif	Carbo-étoposide-vincristine	31	52%	6.6	15.3
Hainsworth, 2006, (35)	Phase II	Paclitaxel-carboplatine- étoposide	78	53%	7,5	14,5
Iwasa, 2010, (36)	Rétrospectif	CDDP-étoposide	21	14%	1.8	5.8
Sorbye, 2013, (21)	Rétrospectif	CDDP-étoposide	129	31%	4	12
		Carbo-étoposide	67	30%	4	11
		Carbo-étoposide -vincristine	28	44%	4	10
Chimiothérapie de 1 ^{ère} ligne dans les CNE-GEP par platine-irinotécan (Iri)						
Mani, 2008, (37)	Phase II	Iri-CDDP	20	58%	4	-
Munhoz, 2012, (38)	Rétrospectif	Iri-CDDP	22	36%	3.4	10
Machida, 2012, (39)	Rétrospectif	Iri-CDDP	160	50%	5.2	13.0
		CDDP-étoposide	46	28%	4.0	7.3
Nakano, 2012, (40)	Rétrospectif	Iri-CDDP	50	50%	4.8	-
Chimiothérapie après la 1 ^{ère} ligne dans les CNE-GEP						
Welin, 2011, (30)	Rétrospectif	Témozolomide +/- capécitabine +/- bévacizumab	25	32%	6	22*
Olsen, 2012, (34)	Rétrospectif	Témozolomide	28	0%	2,4	3,5
Hentic, 2012, (31)	Rétrospectif	Folfiri	19	31%	4	18*
Hadoux, 2013, (41)	Rétrospectif	Folfox	21	29%	4,3	9.5
Sorbye, 2013, (21)	Rétrospectif	Temozolomide ou taxotère	100	18%	3**	19*
* Survie globale calculée à partir du diagnostic de la maladie métastatique ; ** Survie sans progression calculé arbitrairement RO, réponse objective ; SSP, survie sans progression ; SG, survie globale.						

2.2.5.1. Prise en charge des CNE localisés

Une chirurgie ne peut être discutée qu'en cas de maladie non métastatique, sans métastase ganglionnaire à distance (TEP-FDG requis dans cette indication), sans risque important de morbi-mortalité et pour un patient dont l'état général doit être conservé. En effet, il faut prendre en compte le risque très élevé de récurrence précoce, même pour des tumeurs au stade localisé (42). Il est ainsi difficile de proposer aux patients une œsogastrectomie, une duodéno-pancréatectomie céphalique, ou une amputation abdomino-périnéale pour des CNE situés au niveau de l'œsophage, de l'ampoule de Vater/tête du pancréas, ou du bas rectum/canal anal en raison du risque iatrogène et du délai potentiel d'initiation d'une chimiothérapie post-opératoire. Briau *et al.* viennent ainsi de rapporter les résultats d'une étude française multicentrique sur la prise en charge de 24 patients avec un CNE ano-rectal localisé (43). Les

15 patients traités par chimiothérapie +/- radiothérapie associée avaient une survie identique aux 9 patients qui avaient été opérés (survie sans progression de 13 et 13,3 mois, $p=0,75$). Parmi les neuf patients traités par chirurgie, malgré une résection R0 chez 8 d'entre eux, 8 (89%) patients ont présenté une récurrence de la maladie. Ces données sont identiques à celles de Smith *et al.* (44) qui retrouvaient un contrôle local de 92% (93% dans l'étude française) avec une approche non chirurgicale par la radiochimiothérapie. Ainsi, si la chirurgie ne permet pas de résection complète, est contre-indiquée ou est considérée comme délabrante, le traitement de référence reste une chimiothérapie de type CDDP-étoposide (4 cycles), éventuellement associée à une radiothérapie (notamment pour les CNE de l'œsophage et du rectum). Très rarement, il peut être discuté une exérèse chirurgicale secondaire.

La place de la chirurgie d'emblée dans la stratégie de prise en charge des CNE localisés est donc très restreinte. Si celle-ci est réalisée ou en cas de découverte histologique d'un CNE sur une résection chirurgicale d'une tumeur dont le diagnostic initial était erroné, il est alors recommandé de réaliser 4 cures de chimiothérapie adjuvante de type CDDP-étoposide, par analogie aux tumeurs bronchiques à petites cellules. Le niveau de preuve est celui d'avis d'expert. Une chimiothérapie péri-opératoire (2-3 cures de CDDP-étoposide avant et après la chirurgie) peut aussi se discuter pour préparer au mieux une chirurgie curative et vérifier l'absence de métastases à distance.

La radiothérapie cérébrale prophylactique pour éviter une évolution métastatique cérébrale, par analogie aux tumeurs bronchiques, peut se discuter (avis d'experts) chez les patients opérés à visée curative d'un CNE GEP, après cette chimiothérapie adjuvante. En pratique elle reste très peu réalisée étant donné son très faible niveau de preuve dans les CNE GEP.

Le suivi post-thérapeutique des CNE localisés traités de manière curative nécessite une surveillance clinique et morphologique (IRM ou TDM, aux 4 étages cérébro-thoraco-abdomino-pelvien) très rapprochée, tous les 2 mois pendant 6 mois, puis tous les 3 mois pendant

1 an, puis tous les 6 mois. L'intérêt du suivi par TEP-FDG n'est pas validé en systématique, mais est discuté au cas par cas.

Au niveau biologique, il est recommandé de doser la chromogranine A et les marqueurs initialement anormaux (NSE par exemple) au même rythme que le suivi clinique. Une élévation des marqueurs n'est pas une indication à changer de traitement s'il n'y a pas de récurrence ou d'augmentation de la masse tumorale. Le même kit de dosage des marqueurs doit être utilisé tout au long de la prise en charge. Il convient de bien faire attention aux situations pouvant faire augmenter le taux de chromogranine A (insuffisance rénale, traitement par IPP...), et devant une élévation, vérifier les conditions de dosage, voire doser la gastrine, avant de conclure à une aggravation de la maladie.

2.2.5.2. Prise en charge des CNE métastatiques

La prise en charge d'un CNE d'emblée métastatique au diagnostic constitue une urgence thérapeutique, avec instauration immédiate d'une chimiothérapie CDDP-étoposide. La chimiosensibilité de ces tumeurs est importante avec des taux de réponse objective variant de 42 à 67% (32,33). La résection chirurgicale de la tumeur primitive et des métastases n'est pas recommandée. L'efficacité de la chimiothérapie est évaluée tous les 2 à 3 cycles jusqu'à un total de 6 cycles, sur le modèle des CNE à petites cellules bronchiques pour lesquels il est démontré que la poursuite de la chimiothérapie au-delà de 6 cycles n'apporte pas de bénéfice. Cependant, la durée médiane de réponse n'est que de 8 à 9 mois, et l'apparition de résistance secondaire quasi constante conduit à une médiane de survie de 15 à 19 mois. Ce standard n'a pas évolué depuis 25 ans, les chimiothérapies « triplettes », avec l'ajout du paclitaxel ou de la vincristine ne semblent pas plus efficaces et sont plus toxiques (35,45) (Tableau 2). Plusieurs études asiatiques proposent de remplacer l'étoposide par de l'irinotecan dès la 1^{ère} ligne de chimiothérapie (37–40).

La surveillance post-thérapeutique repose sur l'imagerie TDM (ou IRM) aux 4 étages cérébro-thoraco-abdomino-pelvien et l'imagerie cérébrale tous les 2 mois, puis selon l'évolutivité. L'intérêt du suivi par TEP-FDG n'est pas démontré.

2.2.5.3. *Traitement de 2^{ème} ligne des CNE métastatiques*

Lors d'une reprise évolutive de la maladie observée au-delà de 6 mois, le traitement repose sur le même schéma. En cas de reprise plus précoce, notamment inférieure à 3 mois, une chimiothérapie de 2^{ème} ligne est recommandée pour les patients dont l'état général reste relativement conservé, même si aucun standard de 2^{ème} ligne n'est établi dans les CNE-GEP.

Il existe 5 études récentes, sur des cohortes limitées de patients, publiées entre 2011 et 2013 (Tableau 2) qui proposent 3 schémas (niveau de la recommandation : avis d'experts dans le TNCD) : Folfiri, association de 5-fluorouracile et d'irinotécan (31), Folfex (acide folinique, 5-fluorouracile, oxaliplatine) / Capox (capecitabine, oxaliplatine) (41) ou un traitement à base de temozolomide (30). Dans les cancers bronchiques à petites cellules, le topotécan dispose d'une AMM en 2^{ème} ligne mais ne semble pas efficace dans les CNE-GEP (34). Le Folfiri est l'association de chimiothérapie la plus réalisée en France en 2^{ème} ligne. Les résultats de la cohorte nationale sur 119 patients recevant une 2^{ème} ligne de traitement montrent que 49% des patients (soit 59 patients) ont reçu le schéma Folfiri (22). Cependant, les survies sans progression avec ces traitements sont seulement de 3 à 4 mois (31). Il est recommandé d'inclure ces patients dans des essais cliniques de phase I en l'absence d'essais thérapeutiques dédiés.

2.2.5.4. *Autres traitements et thérapies ciblées*

Il n'existe à ce jour aucune donnée documentant l'activité anti-tumorale des analogues de la somatostatine, de l'embolisation artérielle hépatique ou de la radiothérapie interne vectorisée,

utilisant les analogues de la somatostatine comme vecteurs de radio-isotopes (¹⁷⁷Lutetium et ⁹⁰Yttrium), dans les CNE, contrairement aux TNE bien différenciées.

Concernant les anti-angiogéniques, les premiers résultats de l'étude française sur les CNE-GEP métastatiques et inopérables, dont l'objectif principal était d'identifier des facteurs moléculaires prédictifs de réponse à un inhibiteur de tyrosine-kinases, le sunitinib (NCT01215578), ont été rapportés en janvier 2016 lors des conférences de l'ASCO. L'activité du sunitinib semble relativement faible (23% de contrôle de la maladie) et surtout présente en cas de tumeurs avec un Ki-67 inférieur à 47%. Cette molécule pourrait aussi être étudiée plus précocement, en entretien après 6 cycles de cisplatine-étoposide, comme cela a été montré dans les carcinomes pulmonaires (46).

Le bevacizumab associé à une chimiothérapie cytotoxique a montré des résultats prometteurs dans les TNE bien différenciées (essai BETTER) (47,48). Son association avec le Folfiri, qui est un des schémas proposés en 2^{ème} ligne dans les CNE-GEP, est efficace et bien tolérée dans le cancer colorectal métastatique (49). Un essai de phase II randomisée (BEVANEC) testant le Folfiri +/- bevacizumab après échec du traitement de 1^{ère} ligne (sels de platine-étoposide) a obtenu un financement public et devrait ouvrir en France fin 2016 (NCT02820857).

Par ailleurs, une étude préclinique a démontré l'effet anti-tumoral d'un inhibiteur de la voie mTOR, l'évérolimus, dans un modèle préclinique de CNE-GEP (50), mais aucun résultat n'est actuellement disponible chez l'homme. Deux études de phase II testant l'évérolimus dans les CNE-GEP sont en cours en Allemagne et en Europe du nord, soit en monothérapie (NCT02113800) soit associé au temozolomide chez des patients atteints d'un CNE-GEP métastatiques, dont le Ki-67 se situe entre 20 et 55 % (NCT02248012).

Concernant les nouvelles molécules, des essais cliniques utilisant des inhibiteurs de Bcl-2 (51) ou de tyrosine kinases (52) dans les CNE pulmonaires n'ont malheureusement pas abouti à des résultats concluants.

Un essai de phase II associant un anti-CDK (le roniciclib) à une chimiothérapie CDDP-étoposide (6 cycles) puis poursuivi en monothérapie en entretien, est réalisé dans les carcinomes pulmonaires à petites cellules et les résultats sont en attente (CONCEPT-SCLC, NCT02161419).

Enfin, l'immunothérapie avec les anti-PD1 et PDL1, prometteuse dans les carcinomes pulmonaires et les mélanomes, pourrait aussi avoir un intérêt dans les CNE-GEP d'autant plus que des résultats préliminaires montrent une forte expression de PD1/PDL1 dans les CNE-GEP (53) ou de primitif cutané (tumeur de Merkel) (54). Un essai de phase II sur une cohorte de 26 carcinomes métastatiques de Merkel, naïfs de tout traitement, a montré des résultats très encourageants avec le pembrolizumab, anti-PD1 (NCT02267603) (55). Le taux de réponse objective est de 56% (4 patients présentent une réponse complète et 10 une réponse partielle) et la survie sans progression à 6 mois s'élève à 67%. Parmi les 14 patients ayant obtenu une réponse au traitement, seuls 2 ont rechuté, et 15% des patients ont présenté des effets secondaires sévères. L'étude de phase II JAVELIN Merkel 200 (NCT02155647), présentée à la rencontre annuelle de l'ASCO de 2016 a montré, dans les carcinomes de Merkel déjà traités, que l'aveluma, anti-PD1, entraîne un taux de réponse objective à 32%, dont 9% avec une réponse complète, et un taux de réponse à 6 mois de 29%.

2.3. Facteurs pronostiques des NNE

L'étude de 35 825 cas de NNE aux Etats-Unis, basée sur les données SEER de 1973 à 2004 reporte une médiane de survie globale de 75 mois pour l'ensemble des NNE (7). Les TNE de

grade 1 présentent une médiane de survie globale de 124 mois, contre 64 mois pour les TNE de grade 2. Enfin, cette étude rapporte que les CNE ont une médiane de survie globale de 10 mois.

2.3.1. Facteurs pronostiques des TNE

Concernant les TNE de grades 1 et 2, plusieurs facteurs pronostiques ont été clairement identifiés. Le stade de la maladie, localisé, régional ou métastasé est un important facteur pronostique. Dans l'étude de Yao *et al.*, la médiane de survie globale des TNE au stade localisé est de 223 mois, contre 111 mois pour les TNE régionales et 33 mois pour les stades métastatiques ($p < 0.001$) (7).

Le site de la tumeur primaire est également un puissant facteur pronostique. Par exemple, les patients présentant une tumeur métastasée au niveau du jéjunum-iléon ont une médiane de survie globale de 56 mois, contre 5 mois pour les patients qui présenteront une tumeur du colon métastasée.

Tous stades confondus, les patients présentant une TNE de grade 1 survivront plus longtemps que les patients ayant une TNE de grade 2.

Enfin, l'âge au diagnostic, le genre et l'ethnie sont des facteurs pronostiques. Les femmes survivent plus longtemps, tous stades confondus, par rapport aux hommes, tout comme les personnes de moins de 30 ans, comparé aux 30-60 ans et aux plus de 60 ans (7).

Une étude faite sur les TNE pancréatiques bien différenciée a montré que la présence de métastases, un Ki-67 supérieure à 2%, l'absence de syndrome sécrétoire (tumeurs non fonctionnelles), une forte expression de la chromogranine A, et la présence de traitement palliatifs sont associés à un mauvais pronostique (56).

En 2013, une étude a déterminé l'intérêt pronostique des cellules tumorales circulantes (CTC) dans les TNE (57). La présence de CTC est associée aux tumeurs de haut grade et à une forte concentration sérique de chromogranine A. La présence d'une ou plusieurs CTC est

associée à une moins bonne survie sans progression et survie globale. L'intérêt et l'efficacité de ce facteur pronostique sont à confirmer dans de futures études cliniques.

Dans le cadre de l'essai clinique de phase III RADIANT-2, Yao *et al.* ont étudié les biomarqueurs chromogranine A et 5-HIAA dans les TNE métastatiques. Les patients dont le taux de chromogranine A est inférieur à 2 fois la valeur limite normale supérieure, le taux de 5-HIAA inférieur à la valeur médiane, et dont les tumeurs sont fonctionnelles ont une plus longue survie sans progression (58). Une concentration sérique en chromogranine A inférieure à 2 fois la valeur limite supérieure est également associée à une plus longue survie globale chez les patients atteints de TNE GEP métastasées (59).

L'expression et la concentration sérique d'un homologue du VEGF, le PlGF, ont été étudiées par Fischer *et al.* La concentration sérique en PlGF, en plus d'être augmentée dans les TNE, serait corrélée à une progression plus rapide dans les TNE intestinales (60).

Une étude rétrospective conduite sur les NNE pancréatiques a montré que l'augmentation de l'un des marqueurs de l'inflammation, la protéine C-réactive (CRP en anglais) est un facteur de mauvais pronostic (61).

D'autres études rapportent quant à elles l'analyse transcriptomique multianalytique comme nouveau marqueur de progression des TNE, d'intérêt significativement supérieur au dosage de la chromogranine A, actuellement fait tout au long du suivi du patient (62,63). Cette signature moléculaire, mesurée dans le sérum du patient par RT-PCR (panel de 51 gènes) puis analysée par une série d'algorithmes, permet d'établir un score. Ce score est doté d'une forte sensibilité (85-98%) et d'une forte spécificité (93-97%), il est corrélé à l'agressivité de la maladie et possède une forte valeur prédictive positive et négative (64). C'est un potentiel biomarqueur pour le pronostic des TNE GEP, et il pourra également être utilisé pour évaluer le taux de réponse aux traitements.

2.3.2. Facteurs pronostiques des CNE

Le pronostic spontané des patients atteints de CNE reste très péjoratif avec une survie médiane en l'absence de traitement de 6 à 7 mois et un taux de survie relative à un an inférieur à 20%. Dans 3 études récentes, la survie médiane était de 10 à 14 mois pour l'ensemble de la population (12,21,22).

Les facteurs identifiés à ce jour comme associés à un mauvais pronostic sont cliniques (altération de l'état général), biologiques (hyperplaquettose, LDH et NSE élevés), et morphologiques (stade de la maladie, nombre de sites métastatiques, présence de métastases cérébrales). L'impact pronostique de la localisation de la tumeur primitive et de la morphologie des cellules (petites *versus* grandes) restent controversés. Le stade reste encore le principal facteur pronostique. Selon les données SEER, la survie médiane de 2546 patients présentant un CNE gastro-intestinal (de 1973 à 2012) était de 38 mois pour les stades localisés, contre 5 mois pour les CNE d'emblée métastatiques (14).

Peu d'études sont aujourd'hui disponibles pour confirmer l'intérêt des dosages biologiques pour le pronostic des CNE. La multi-analyse transcriptomique effectuée par RT-PCR dans les TNE GEP n'a pas, pour le moment, été étendue aux CNE. Une étude sur les CNE a évalué les biomarqueurs moléculaires de la voie de survie mTOR (phospho-mTOR, phospho-eIF4E et phospho-4EBP1). Une forte expression de ces marqueurs est corrélée à une survie plus courte, montrant que la voie mTOR joue un rôle dans la croissance tumorale des CNE (65). Cette voie pourrait constituer une cible thérapeutique des CNE, comme c'est déjà le cas pour les TNE pancréatiques progressives avec l'AMM de l'évérolimus, inhibiteur de mTOR (66).

2.4. Facteurs pronostiques biologiques dans les autres tumeurs solides

Plusieurs études ont confirmé l'intérêt des marqueurs biologiques comme facteurs pronostiques, dans un grand nombre de tumeurs solides.

Parmi ceux-ci, les marqueurs de l'inflammation comme le ratio CRP/albumine, le taux de leucocytes, de neutrophiles, de plaquettes et le ratio neutrophiles/lymphocytes (NLR en anglais) ont été largement étudiés. Certains de ces facteurs entrent en compte pour l'établissement de scores, comme le score pronostique de Glasgow établi sur le taux sérique de CRP et d'albumine (67). Le développement de la plupart des tumeurs solides est suivi par l'activation d'une réponse inflammatoire, créant ainsi un environnement pro-tumoral (68). Cette inflammation peut être secondaire à la nécrose tumorale, qui survient quand la tumeur a épuisé les ressources en nutriments et oxygène de son microenvironnement. Il s'en suit la libération de médiateurs proinflammatoires, qui permettront ainsi la néoangiogenèse et donc la survie des cellules tumorales (69). Un état d'inflammation chronique peut aussi être un facteur de risque de développement de cancer, comme l'inflammation causée par le tabac dans le cancer du poumon (70), l'inflammation chronique causée par l'obésité et la survenue de cancer du foie (71) et du pancréas (72). Ainsi, en 2011, Hanahan a publié une nouvelle étude sur les principales caractéristiques des cancers, et y a ajouté l'inflammation, comme facteur pro-tumoral (73).

Le ratio CRP/albumine a été étudié dans le cancer du poumon à petites cellules, sur une cohorte de 367 patients. Une survie globale plus courte est observée chez les patients présentant un ratio CRP/albumine élevé (74). Une hausse de ce ratio est due à la synthèse importante de CRP, en réponse à la réaction inflammatoire, et à une chute du taux d'albumine, due au détournement du métabolisme de synthèse hépatique en faveur des protéines de l'inflammation.

Une autre étude a démontré qu'une élévation du taux de CRP dans une population d'individus sains est associée à une augmentation du risque de développer un cancer du poumon ou colorectal, mais pas du cancer du sein ou de la prostate. Cependant, le lien de cause à effet n'est pas clair, car selon des études génétiques épidémiologiques, le taux de CRP circulant élevé n'est pas la cause de la survenue du cancer (75). En effet, il se peut que l'augmentation de CRP

soit due au cancer non encore décelé dans cette population ou que ce soit un 3^{ème} facteur, comme l'inflammation, qui augmente le taux de CRP et le risque de cancer en parallèle.

Une augmentation du ratio NLR est un facteur de mauvais pronostic dans les tumeurs solides (76). Une polynucléose neutrophile accompagnée d'une lymphopénie est le reflet d'un déficit dans la réponse immunitaire, favorisant le développement tumoral, les polynucléaires neutrophiles sécrétant des facteurs oncogènes (VEGF, IL, ...). Un ratio NLR élevé est associé à une survie globale plus courte dans le cancer de l'estomac (77) et également dans le cancer des voies biliaires (78).

Une méta-analyse conduite sur les tumeurs solides entre 1978 et 2014 a évalué le potentiel pronostique du taux de LDH (79). L'élévation du taux de LDH (supérieur à la valeur limite normale supérieure) est un facteur de mauvais pronostic sur la survie globale dans les tumeurs solides.

Enfin, le taux de PAL est également corrélé au pronostic dans le cancer du poumon à petites cellules (80) et dans le cancer colorectal (81). Un taux supérieur à 2 fois la valeur limite normale supérieure est associé à une baisse de la survie globale et semble refléter la présence de métastases hépatiques et/ou osseuses.

3. Objectifs de l'étude

Cette étude a pour but d'identifier de nouveaux facteurs pronostiques de survie des CNE-GEP. Après une revue des études rétrospectives existantes sur les CNE, nous avons analysé les données cliniques, histomorphologiques et biologiques de patients atteints de CNE-GEP suivis aux HCL, puis procédé à l'analyse statistique de ces données, afin d'extraire les facteurs pronostiques de survie significatifs. L'analyse moléculaire des tumeurs ne fait pas partie de ce travail mais sera faite ultérieurement.

4. Article “Prognostic factors in neuroendocrine carcinoma: biological markers are more useful than histomorphological markers”

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude sont présentés en annexe 4, sous forme d'article scientifique, actuellement soumis et en révision dans le journal *Scientific Reports*.

5. Discussion

Cette étude repose sur la nécessité de trouver des facteurs pronostiques fiables de survie pour les patients atteints de CNE. En effet, le pronostic des patients atteints de NNE est très hétérogène. Il est nécessaire de caractériser au mieux la maladie, afin de différencier les TNE des CNE, d'identifier le grade et de caractériser la morphologie des tumeurs par un examen anatomopathologique, qui sera vérifié par un 2^{ème} avis d'expert dans le cadre du réseau TENpath.

La caractérisation de la maladie repose aussi sur les examens biologiques effectués au diagnostic, puis tout au long du suivi du patient (dosage de la chromogranine A, de la NSE, des enzymes hépatiques ...), ainsi que sur les examens d'imagerie (TEP FDG) qui permettront à l'équipe médicale d'avoir l'idée la plus précise possible du pronostic du patient. L'amélioration de l'évaluation du pronostic permet à l'équipe médicale de préparer au mieux les patients au mauvais pronostic. Ainsi, l'accompagnement de ces patients par les équipes de soin palliatifs pourra être mis en place plus précocement. En outre, le choix de la meilleure stratégie thérapeutique à adopter en fonction de l'état du patient (score ECOG PS) et de son pronostic pourra se faire de manière plus précise à l'issue de la RCP. Enfin, les patients étant mieux

caractérisés, cela facilitera leurs insertions dans les essais cliniques, sur la base de critères d'inclusion et d'exclusion, ou selon des critères pronostiques bien identifiés le cas échéant.

Grâce à cette étude, effectuée sur 100 patients atteints de CNE GEP, nous confirmons l'importance pronostique du score ECOG-PS et du stade avancé (stade IV) métastatique. Du fait de la taille relativement réduite de cette cohorte, et car la majorité des patients étaient déjà au stade IV au diagnostic, ces 2 paramètres ne ressortent pas significatifs dans l'analyse multivariée.

En accord avec l'étude NORDIC de Sorbye *et al.*, nous retrouvons qu'un taux élevé de LDH est un facteur de mauvais pronostic pour les CNE, confirmé également après analyse multivariée (21). L'élévation du taux de LDH peut s'expliquer par l'augmentation de la glycolyse anaérobie, couramment observée dans les tumeurs, et qui entraîne une production accrue de lactates. Les CNE consomment plus de glucose que les cellules normales, confirmé par le taux de réponse positive à la TEP FDG, et sont donc susceptibles de produire plus de lactates. De plus, les CNE sont décrits comme très peu vascularisés (82) et très prolifératifs, caractéristiques pouvant entraîner une hypoxie au sein des tumeurs et métastases, et donc être à l'origine de l'élévation des LDH. D'autres études ont démontré qu'un taux élevé de LDH était de mauvais pronostic dans le cancer du poumon à petites cellules (83) et du sein (84), et dans les CNE pulmonaires (85) et colorectaux (86).

Nous ne confirmons pas la valeur pronostique d'une hyperplaquettose retrouvée dans l'étude NORDIC (21) qui peut traduire un état d'inflammation chronique, car seulement 3 patients présentaient un taux de plaquettes supérieur à la valeur normale. Dans le même sens, le ratio NLR ne ressort pas significatif comme facteur pronostique dans cette étude, comme cela a été démontré dans d'autres tumeurs agressives (cancer des voies biliaires (78) et cancer de l'estomac (77)).

En revanche, l'analyse biologique a permis de distinguer un nouveau facteur pronostique, encore jamais décrit comme tel et confirmé par l'analyse multivariée, l'élévation du taux de transaminases ASAT. L'élévation des transaminases signe en général une atteinte hépatique, qui peut être d'étiologie très diverse. Dans cette étude, elle peut s'expliquer en partie par les métastases hépatiques car 30% des patients avec métastases hépatiques ont un taux d'ASAT élevé, contre 4% chez les patients sans métastases hépatiques.

Étonnamment, le taux d'ALAT, retrouvé supérieur à la valeur médiane dans 50% des cas, et supérieur ou égal à 2 fois la normale dans 24% des cas, n'est pas un facteur pronostic de survie. De même, le taux de PAL, facteur de mauvais pronostic dans le cancer du poumon à petites cellules (80), n'influe pas sur la survie des patients atteints de CNE GEP. Le taux sérique de PAL, provenant principalement du foie et de la dégradation des os par les ostéoblastes, est donc un marqueur de métastases hépatiques ou osseuses. Une étude a démontré, dans le cancer colorectal, que 74% des patients présentant des métastases hépatiques avaient un taux de PAL élevé, comparé à 33% chez les patients sans métastases hépatiques (81).

Cette étude rétrospective possède néanmoins ses limites. Elle est conduite sur un relativement faible nombre de patients, du fait de la rareté des CNE, et car les données des patients ne proviennent que d'une seule institution. Nous n'avons pas pu récupérer toutes les analyses biologiques de chaque patient, car ceux-ci n'ont pas tous été diagnostiqués aux HCL. C'est pourquoi il manque le dosage du taux d'ASAT pour 39% des patients et celui des LDH pour 48% des patients. Ainsi, l'analyse multivariée n'a pu être conduite que sur 39 patients au total. Les résultats de cette étude doivent être confirmés par d'autres études (multicentriques au mieux) sur une plus grande cohorte de patients.

Un des objectifs de cette étude était d'analyser les facteurs moléculaires par immunohistochimie sur biopsies des patients de cette cohorte, afin de voir si certains pourraient ressortir comme facteurs pronostiques des CNE. Malheureusement, du fait de contraintes de service (déménagement, temps humains insuffisants au moment de l'étude et contraintes financières), il n'a pas été possible d'analyser ces marqueurs moléculaires.

Dans de nombreuses autres tumeurs solides, les facteurs moléculaires sont utilisés pour évaluer le pronostic du patient ou pour évaluer la sensibilité aux traitements. Par exemple, dans le cancer du sein, la surexpression des récepteurs hormonaux ER et PR est de bon pronostic (évaluée par marquage immunohistochimique) (87). La présence, au contraire, d'une surexpression de la protéine HER2 (retrouvée chez 15 à 20% des patientes), est en faveur d'un mauvais pronostic. Néanmoins, ces patientes pourront bénéficier d'un traitement à base de trastuzumab, anti-HER2 (87). Ces 3 protéines sont aujourd'hui utilisées en clinique. Enfin, toujours dans le cancer du sein, 2 tests permettant de caractériser les tumeurs de manière moléculaire ont été évalués (MammaPrint® et OncotypeDx™). Ces tests reposent soit sur le système de puces à ADN, soit sur l'analyse par RT-PCR quantitative. L'INCa et la Société française de sénologie et de pathologie mammaire (SFSPM) n'ont cependant pas retrouvé de niveau de preuve suffisant pour ces tests pronostiques (88).

Dans le cancer du poumon, c'est un taux élevé d'EGFR, détecté par hybridation *in situ* en fluorescence, qui est un facteur de mauvais pronostic (87).

Dans le cas du cancer colorectal, c'est la présence d'une mutation sur le gène BRAF (mutation V600E principalement) qui est de mauvais pronostic. Huit à 12% des patients présentent cette mutation (87).

Au niveau circulant, la présence de cellules tumorales circulantes (CTC) est corrélée à une mauvaise survie globale et survie sans progression dans le cancer colorectal (89) et le cancer du sein métastaté (90,91).

Quelques études ont analysé des facteurs moléculaires dans les TNE. En appui à l'étude de Heetfeld *et al.* qui a montré que l'activation de la voie mTOR était corrélée à une survie globale plus courte dans les CNE (65), une autre étude, conduite cette fois-ci dans les TNE métastatiques, a montré que l'activation de cette voie était associée à une plus courte survie sans progression chez les patients traités par évérolimus (92). Une forte expression de ces marqueurs est associée à une survie globale plus courte et pourrait permettre de sélectionner les patients répondeurs aux inhibiteurs de la voie mTOR.

Une étude prospective de phase II a démontré l'intérêt du marquage du récepteur soluble 2 au VEGF (sVEGFR2), pour sélectionner les patients atteints de TNE métastatiques potentiellement répondeurs au traitement pazopanib, ciblant les récepteurs au VEGF (93).

Pour conclure, si les résultats de ces travaux sont confirmés par d'autres études, la présence d'un taux élevé de LDH et d'ASAT pourra être utilisée par l'équipe médicale pour évaluer le pronostic de chaque patient. Ces analyses ont l'avantage d'être rapides, peu coûteuses et directement accessibles. Ainsi, cela permettra d'améliorer la stratégie thérapeutique et l'accompagnement des patients à l'issue du diagnostic, et facilitera l'inclusion dans un essai clinique, en cas de nécessité. Néanmoins, il est primordial de continuer cette étude afin d'identifier de potentiels marqueurs pronostiques moléculaires, dans le but d'améliorer les connaissances sur les CNE et leur pronostic.

Annexes

Annexe 1 : Lamarca A, Walter T, Pavel M, Borbath I, **Freis P**, Nunez B, McNamara M, Hubner R Garcia-Carbonero R, Meyer T, Barriuso J, Valle JW. External validation of a prognostic score in patients (pts) with high-grade gastrointestinal neuroendocrine carcinomas (GI-NECs). ASCO 2016, Chicago le 6 juin 2016, Abstract and poster #4089.

Annexe 2 : Lamarca A, Walter T, Pavel M, Borbath I, **Freis P**, Nunez B, McNamara M, Hubner R Garcia-Carbonero R, Meyer T, Barriuso J, Valle JW. External validation of a prognostic score in patients (pts) with high-grade gastrointestinal neuroendocrine carcinomas (GI-NECs). 2016. Soumis et en révision à *Journal of National Cancer Institute*.

Annexe 3 : **Freis P**, Lombard-Bohas C, Walter T. Carcinomes neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques peu différenciés : quelle prise en charge en 2016 ? *Hépatogastro et Oncologie digestive* 2016 ; 23 : 319-326.

Annexe 4 : **Freis P**, Gailliot E, Rousset P, Hervieu V, Chardon L, Lombard-Bohas C, Walter T. Prognostic factors in neuroendocrine carcinoma: biological markers are more useful than histomorphological markers. 2016. Soumis et en révision à *Scientific Reports*.

Annexe 1 :

Lamarca A, Walter T, Pavel M, Borbath I, **Freis P**, Nunez B, McNamara M, Hubner R Garcia-Carbonero R, Meyer T, Barriuso J, Valle JW.

External validation of a prognostic score in patients (pts) with high-grade gastrointestinal neuroendocrine carcinomas (GI-NECs).

ASCO 2016, Chicago le 6 juin 2016, Abstract #4089

External validation of a prognostic score in patients (pts) with high-grade gastrointestinal neuroendocrine carcinomas (GI-NECs).

Meeting: 2016 ASCO Annual Meeting

Category: Gastrointestinal (Noncolorectal) Cancer

Subcategory: Neuroendocrine/Carcinoid

Session Type and Session Title: Poster Session, Gastrointestinal (Noncolorectal) Cancer

Abstract Number: 4089

Citation: J Clin Oncol 34, 2016 (suppl; abstr 4089)

Author(s): Angela Lamarca, Thomas Walter, Marianne E. Pavel, Ivan Borbath, Patricia Freis, Barbara Nuñez, Alexa Childs, Mairead G McNamara, Richard Hubner, Rocio Garcia-Carbonero, Tim Meyer, Jorge Barriuso, Juan W. Valle;

Department of Medical Oncology, The Christie NHS Foundation Trust, Manchester, United Kingdom; Department of Medical Oncology, Hospices Civils de Lyon, Edouard Herriot Hospital, University of Lyon, Lyon, France; Charité University Medicine Berlin, Berlin, Germany; Department of Gastroenterology, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgium; Department of Medical Oncology, Hospices Civils de Lyon Edouard Herriot Hospital, University of Lyon, Lyon, France; Department of Medical Oncology, Doce de Octubre University Hospital, Madrid, Spain; Department of Medical Oncology, Royal Free London NHS Foundation Trust (ENETS Centre of Excellence), London, United Kingdom; Institute of Cancer Sciences, University of Manchester; Medical Oncology Department, The Christie NHS Foundation Trust, Manchester, United Kingdom; Christie Hospital NHS Foundation Trust, Manchester, United Kingdom; Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid, Spain; UCL Cancer Institute, University College London,, London, United Kingdom; The Christie NHS Foundation Trust, Manchester, United Kingdom

Background: Prognostic markers for risk-stratification of pts with GI-NECs are lacking. We aimed to externally validate our previously-designed prognostic score (Training Cohort [TC]) derived from 109 pts (Lamarca *et al*, ASCO 2015). The score included five variables (presence of liver metastases, alkaline phosphatase (ALK), lactate dehydrogenase (LDH), ECOG performance status (PS) and Ki67) and was able to prognosticate overall survival (OS).

Methods: Pts diagnosed with GI-NECs were identified retrospectively from 5 European centres (April'00 – Dec'15); pts with data for all 5 variables identified from the TC were eligible for the Validation Cohort (VC). To externally validate the score (power: 80% and two-tailed α -error: 0.05), a minimum of 82 pts was required. The primary end-point was OS; Cox regression and Kaplan-Meier estimates were applied; and univariate/multivariable analyses performed.

Results: Of 209 pts identified; 178 were eligible. The median follow-up time was 11.8 months (range 0.2-167.4); 121 pts (68%) had died at time of the analysis. Median age: 58.7 yrs (range 22.2-85.5); 62% were male, 81% metastatic, 18% foregut, 3% midgut, 41% pancreas, 17% hindgut and 21% unknown primary. The median Ki67 was 55% (21-100), ECOG PS 0: 35%, 1: 46%; 66% received chemotherapy. The baseline median ALK and LDH were 133 IU/l (30-2363) and 347 IU/l (107-3786), respectively; there were significant differences ($p < 0.05$) in Ki67 and LDH between TC and VC. The estimated median OS was 16.1 months (95%CI 14.6-19.4). Both score ($p < 0.001$) and stage ($p = 0.002$) were significant in the univariate analysis. On multivariable analysis (adjusted for stage), the score was prognostic for OS (HR 1.4, 95%CI 1.1-1.6; $p = 0.001$) validating previous TC results. The score classified pts into different groups with incremental risk of death: groups A/B (0-2 points; 117 pts (66%); median OS 20.7 months

[95%CI 17.2-28.1]) and C/D (3-6 points; 61 pts (34%); median OS 8.1 months [95%CI 4.8-9.4]).

Conclusions: This international external series validates the capability of our prognostic score to predict OS in pts with GI-NECs; these results may inform clinical decision-making and trial design.

Source URL: <http://meetinglibrary.asco.org/content/163369-176>

External validation of a prognostic score in patients (pts) with high-grade gastrointestinal neuroendocrine carcinomas (GI-NECs).

Angela Lamarca^{1,‡}, Thomas Walter², Marianne Pavel³, Ivan Borbath⁴, Patricia Freis², Barbara Nuñez⁵, Alexa Childs⁶, Mairéad G McNamara^{1,7}, Richard Hubner¹, Rocio Garcia-Carbonero⁵, Tim Meyer⁶, Jorge Barriuso^{1,8,‡,*}, Juan W Valle^{1,7,*}

¹Department of Medical Oncology, The Christie NHS Foundation Trust (ENETS Centre of Excellence), Manchester, United Kingdom; ²Department of Medical Oncology, Hospices Civils de Lyon Edouard Herriot Hospital, University of Lyon, Lyon, France; ³Department of Hepatology and Gastroenterology, Charité University Medicine Berlin, Berlin, Germany; ⁴Department of Gastroenterology, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgium; ⁵Department of Medical Oncology, Doce de Octubre University Hospital, Madrid, Spain; ⁶Department of Medical Oncology, Royal Free London NHS Foundation Trust (ENETS Centre of Excellence), London, United Kingdom; ⁷Institute of Cancer Sciences, University of Manchester, Manchester, United Kingdom; ⁸Faculty of Biology, Medicine and Health, University of Manchester, Manchester, United Kingdom; [‡]Part-funded by Pancreatic Cancer Research Fund and SEOM (Spanish Society of Medical Oncology); ^{*}Part-funded by SEOM (Spanish Society of Medical Oncology); ^{*}These authors contributed equally to this work.

Background

- High grade neuroendocrine carcinomas from the gastrointestinal tract (GI-NEC) are known for their poor prognosis and short survival.
- Prognostic markers are lacking for risk-stratification and identification of patients who may have longer survival and may potentially derive more benefit from active treatment or inclusion in clinical trials.
- A prognostic score was designed previously: the “**Training Cohort**” (Lamarca *et al*, ASCO 2015). Combined information provided by five variables (presence of liver metastases, Alkaline Phosphatase (ALK) (IU/l), Lactate dehydrogenase (LDH) (IU/l), ECOG performance status (PS) and Ki67) was prognostic for overall survival (OS). See Nomogram in [Figure 1](#).

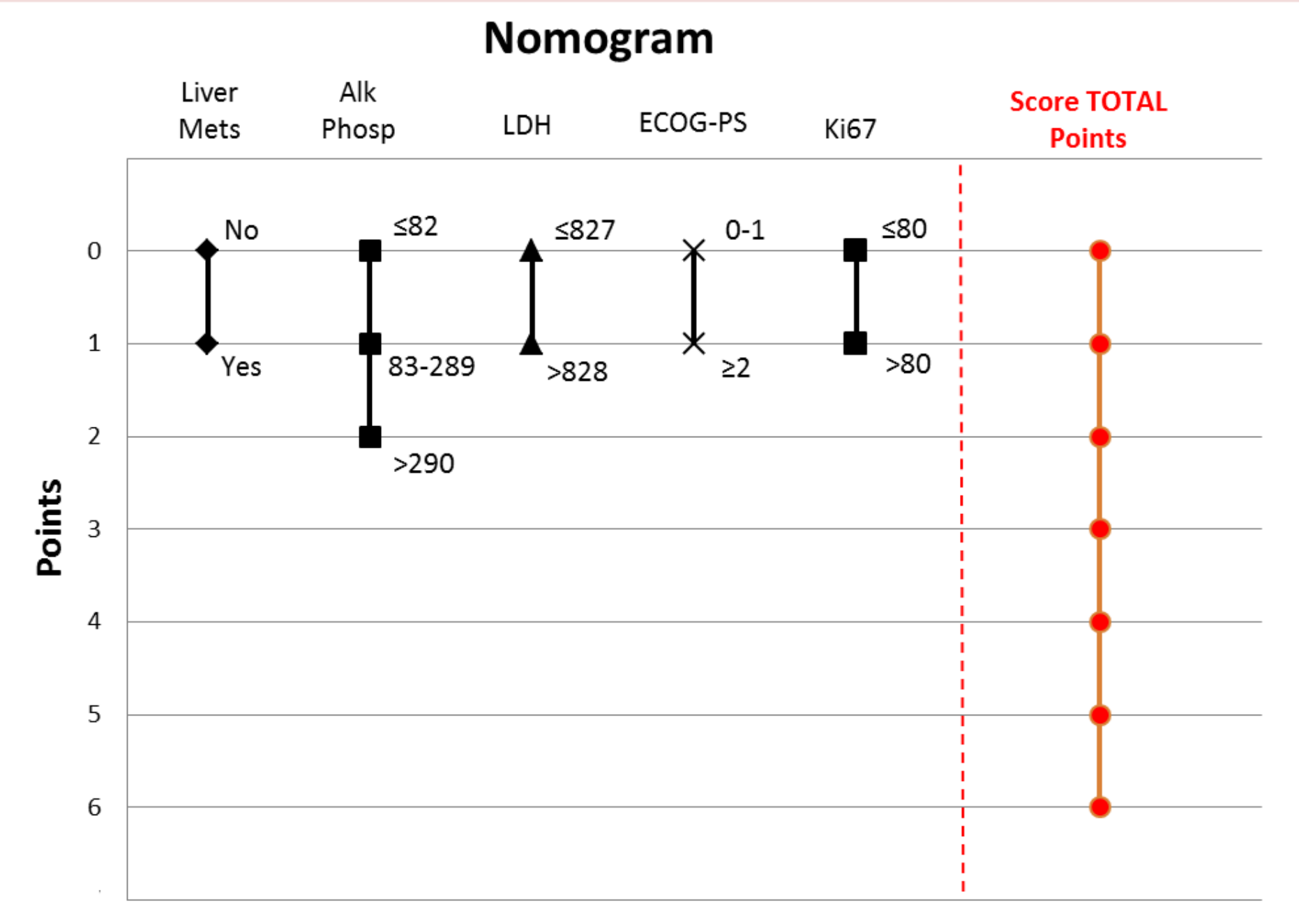


Figure 1: Nomogram for calculation of prognostic score.

Material and Methods

Aim

The aim of this study was to develop a prognostic score for patient survival prediction. The primary end-point was overall survival (OS).

Inclusion criteria

- We collected retrospective data from patients diagnosed with GI-NECs who were seen in five different European Centres with an expertise in NETs between April 2000 and December 2015.
- The previously-designed score was applied. OS was defined as the time between first diagnosis of NEC and death/last follow-up.

Statistical analysis

- To validate the score externally (power: 80% and two-tailed α -error: 0.05), a minimum of 82 pts was required.
- Cox regression, Kaplan Meier and log-rank tests were employed for identification of factors relevant to OS. Univariate and multivariable analyses were performed (stage was considered a variable of interest and was therefore included in the multivariable analysis with all the other factors significant in the univariate analysis (p-value ≤ 0.05)).

Results

Baseline characteristics (validation cohort)

Two-hundred and nine patients were retrospectively collected, 178 were eligible for analysis. Baseline characteristics are shown in [Table 1](#) (characteristics are compared with patients from the Training Cohort).

Variable		Training Cohort (n=109)	External Validation Cohort (n=178)	P-value (differences between cohorts)
Age	Median (range)	67.7 (16.3-84.1)	58.7 (22.2-85.5)	<0.001
Gender	Male	67 (61.47%)	111 (62.4)	0.880
	Female	42 (38.53%)	67 (37.64)	
Stage	Localised	11 (10.09%)	9 (5.06%)	0.060
	Locally advanced	7 (6.42%)	24 (13.48%)	
	Metastatic	91 (83.5%)	145 (81.46%)	
Site of primary tumour	Foregut (n (%))	21 (19.27%)	32 (17.98%)	0.002
	Midgut	5 (4.59%)	6 (3.37%)	
	Pancreas	20 (18.35%)	72 (40.45%)	
	Hindgut	31 (28.44%)	31 (17.42%)	
	Unknown primary	32 (29.36%)	37 (20.79%)	
Site of metastases	Median (range)	1 (0-4)	1 (0-6)	0.2521
	Liver	70 (64.22%)	121 (67.98%)	0.513
	Lungs	10 (9.17%)	11 (11.11%)	0.643
Sodium (mmol/L)	Median (range)	139 (124-145)	138 (129-144)	0.9202
Alkaline Phosphatase (ALK) (IU/l)	Median (range)	109 (45-2035)	133 (30-2363)	0.5450
Lactate dehydrogenase (LDH) (IU/l)	Median (range)	463 (258-11069)	347 (107-3786)	0.002
Ki67 (%)	Median (range)	70 (20-100)	55 (20-100)	0.0137
ECOG performance status	0	28 (25.93%)	63 (35.39%)	0.412
	1	57 (52.78%)	81 (45.51%)	
	2	17 (15.74%)	24 (13.48%)	
	3	6 (5.56%)	10 (5.62%)	
Chemotherapy	Yes	76 (69.72%)	117 (90.70%)	<0.001

Table 1: Baseline characteristics of patients from the Training Cohort and External Validation Cohort.

Overall survival

Median follow-up time was 11.8 months (range 0.2-167.4); 121 patients (68%) had died at the time of data analysis. Estimated median OS (n=178) was 16.1 months (95% CI 14.6-19.4).

Prognostic factors

On univariate analysis the score was identified as a prognostic factor. On multivariable analysis the score was an independent factor for overall survival (HR 1.4, 95%CI 1.1-1.6; p 0.001) when adjusted for stage (variable of interest). See [Table 2](#) for full detail.

Variable		Univariate Analysis		Multivariable analysis	
		HR (95% CI)	P value	HR (95% CI)	P value
Stage (variable of interest)	Localised	Reference	0.002	Reference	-
	Locally advanced	1.02 (95% CI 0.4-2.8)	0.967	0.9 (0.3 – 2.6)	0.891
	Metastatic	2.3 (0.9-5.7)	0.071	0.1 (0.6 – 3.9)	0.350
Lung metastases	No	Reference	-	-	-
	Yes	1.1 (95% CI 0.4-3.1);	0.842	-	-
Sodium	Continuous variable	0.9 (95% CI 0.8-1.05)	0.277	-	-
Score	Continuous variable	1.5 (95% CI 1.2-1.7)	<0.001	1.4 (1.1 – 1.6)	0.001

Table 4: Cox multivariable analysis showed that the developed score was an independent prognostic factor for OS.

Clinical interpretation

- Our score was able to divide the GI-NEC patient population into two groups with significant differences in survival (See [Figure 2](#)):
 - Group A (0-2 points) = 117 pts (66%); median OS 20.7 months (95% CI 17.2-28.1)
 - Group B (3-6 points) = 61 pts (34%); median OS 8.1 months (95% CI 4.8-9.4)
- Both subgroups of patients benefitted from chemotherapy administration.

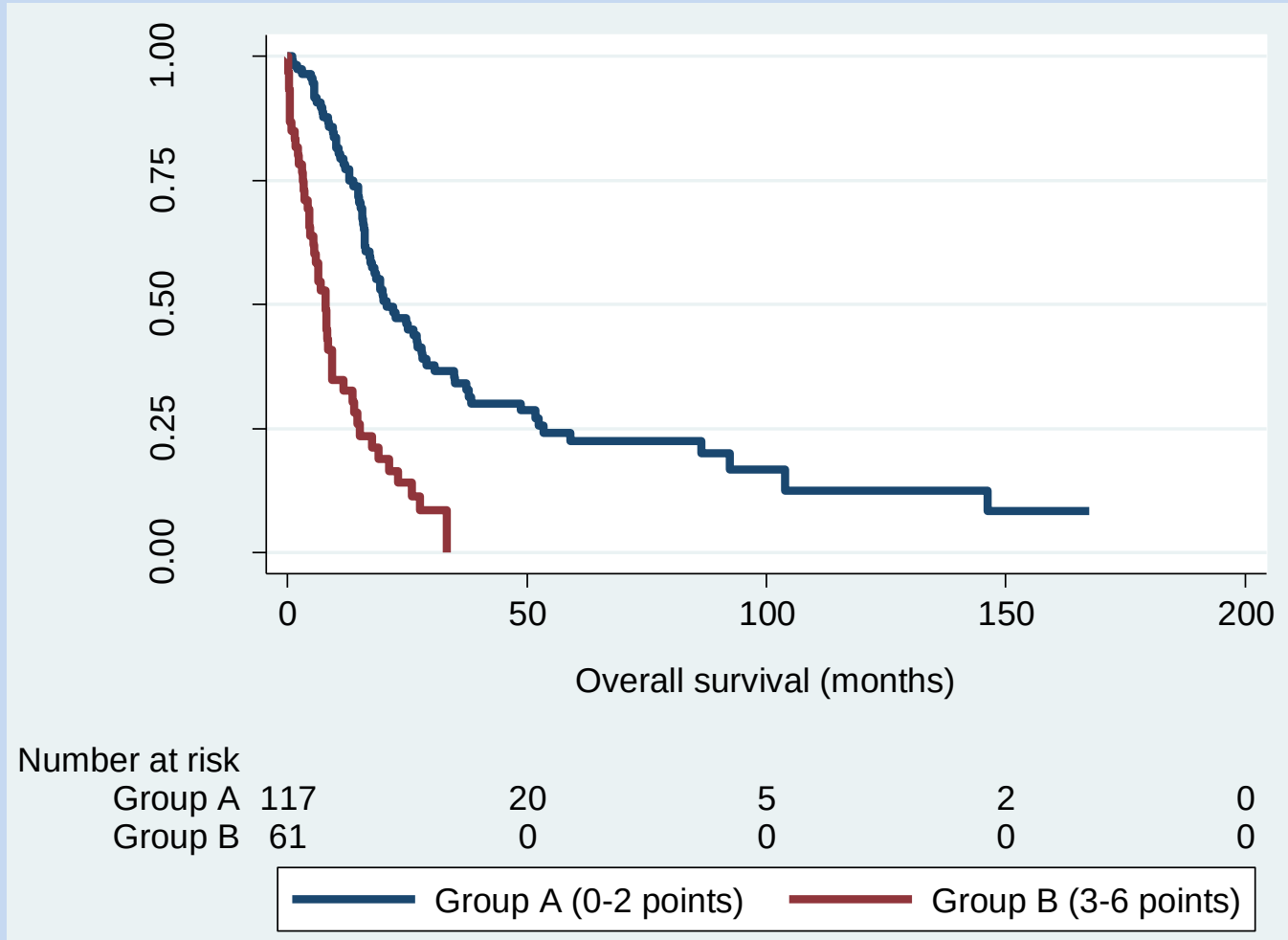


Figure 2: Kaplan Meier-estimated survival for each prognostic group defined by the score.

Conclusion

This international external series validates the capability of our prognostic score to predict OS in pts with GI-NECs; these results may inform clinical decision-making and trial design.

Annexe 2 :

Lamarca A, Walter T, Pavel M, Borbath I, **Freis P**, Nunez B, McNamara M, Hubner R Garcia-Carbonero R, Meyer T, Barriuso J, Valle JW.

External validation of a prognostic score in patients (pts) with high-grade gastrointestinal neuroendocrine carcinomas (GI-NECs).

Article soumis et en révision à *Journal of National Cancer Institute*.

Title

Design and Validation of the GI-NEC Score to Prognosticate Overall Survival in Patients with High-Grade Gastrointestinal Neuroendocrine Carcinomas

Running head

GI-NEC Prognostic Score: Design and Validation

Authors

Angela Lamarca¹, Thomas Walter², Marianne Pavel³, Ivan Borbath⁴, Patricia Freis², Barbara Nuñez⁵, Alexa Childs⁶, Mairéad G McNamara^{1,7}, Richard A Hubner¹, Rocio Garcia-Carbonero⁵, Tim Meyer⁶, Juan W. Valle^{1,7,*}, Jorge Barriuso^{1,8,*}

¹Department of Medical Oncology, The Christie NHS Foundation Trust (ENETS Centre of Excellence), Manchester, United Kingdom

²Department of Medical Oncology, Hospices Civils de Lyon Edouard Herriot Hospital, University of Lyon, Lyon, France

³Department of Hepatology and Gastroenterology, Charité' University Medicine Berlin, Berlin, Germany

⁴Department of Gastroenterology, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgium

⁵Department of Medical Oncology, Doce de Octubre University Hospital, Madrid, Spain

⁶Department of Medical Oncology, Royal Free London NHS Foundation Trust (ENETS Centre of Excellence), London, United Kingdom

⁷Institute of Cancer Sciences, University of Manchester, Manchester, United Kingdom

⁸Faculty of Biology, Medicine and Health, University of Manchester, Manchester, United Kingdom

*These authors contributed equally to this work.

Corresponding author: Juan W Valle & Jorge Barriuso

- Professor Juan W Valle

Institute of Cancer Sciences, University of Manchester, Manchester Academic Health Sciences Centre (MAHSC), Department of Medical Oncology, The Christie NHS Foundation Trust, Wilmslow Road, Manchester M20 4BX; Tel: +44 (0)161 446 8106; Fax: +44 (0)161 446 3468; e-mail: juan.valle@manchester.ac.uk

- Dr. Jorge Barriuso

Faculty of Life Sciences, University of Manchester, Manchester, UK; Dover Street, M13 9PL, Manchester, UK; Phone number: 0044 (0)1612751586; Fax number: 0044 (0)1612751574; Jorge.Barriuso@manchester.ac.uk

Acknowledgments of research support for the study: A Lamarca was part-funded by Pancreatic Cancer Research Fund and SEOM (Spanish Society of Medical Oncology); Jorge Barriuso was part-funded by SEOM (Spanish Society of Medical Oncology). TM is part funded by the NIHR UCLH Biomedical Research Centre. AC is funded by the UCL Comprehensive Cancer Imaging Centre.

List of where and when the study has been presented in part elsewhere: This study has been partially presented at ASCO (American Society of Clinical Oncology) Annual Meeting 2015, UK and Ireland Neuroendocrine Tumour Society (UKINETS) 2015, European Neuroendocrine Tumour Society (ENETS) 2016 and ASCO Annual Meeting 2016 (Merit Award Winner).

Disclaimers: Authors declare no conflict of interest related to this study

Abstract

Background

Prognostic markers for risk-stratification of patients with gastrointestinal high-grade neuroendocrine carcinomas (GI-NECs) are lacking; we designed and validated a prognostic score for overall survival (OS).

Methods

Consecutive patients, diagnosed in five neuroendocrine specialist European Centres were included. Patients were divided into three cohorts: a training cohort (TC), an external validation cohort (EVC) and a prospective validation cohort (PVC). Prognostic factors were identified by using Log-rank test, Cox-regression and logistic regression analyses. The derived score was internally and externally validated.

Results

Of 395 patients screened, 313 were eligible (TC: 109 patients, EVC: 184 patients and PVC: 20 patients). The derived prognostic score included five variables (presence of liver metastases, alkaline phosphatase (ALK), lactate dehydrogenase (LDH), ECOG performance status (PS) and Ki67). On multivariable analysis, the score was prognostic for OS (HR 1.9, 95%CI 1.5-2.4; $p < 0.001$) and had good discrimination (C-index, 0.76) and calibration (mean error, 0.021; percentile 90, 0.037) in the TC. These results were validated in the EVC and PVC; in which it was able to prognosticate for OS when adjusted for other prognostic variables in the multivariable analysis (HR 1.8 (95%CI 1.3-2.5), p -value 0.001 and HR 4.5 (95%CI 1.9-10.9), p -value 0.001, respectively). The score classified patients into two groups with incremental risk of death: group A (0-2 points; 181 patients (58%); median OS 19.4 months [95%CI 16.1-25.1]) and B (3-6 points; 102 patients (42%); median OS 5.2 months [95%CI 3.6-6.9]).

Conclusion

The GI-NEC score identifies two distinct patient cohorts; it provides a tool for clinicians when making treatment decisions and may be used as a stratification factor in future clinical trials.

Introduction

Neuroendocrine malignancies from the gastrointestinal (GI) tract are relatively rare, although the incidence has been rising during recent years (1).

Due to the impact on treatment strategy and survival, patients with neuroendocrine malignancies are classified according to both tumour morphology and assessment of proliferation according to WHO / ENETS guidelines. Morphology is classed as well- or poorly-differentiated; proliferation is assessed objectively by Ki-67 or mitotic count. Malignancies with a Ki-67 index >20% are considered high-grade neuroendocrine carcinomas (NEC-G3) (2-4). Well-differentiated tumours with a proliferation index of >20% have recently been described, so called NET-G3, as a discrete entity with clinical relevance (5, 6).

Gastrointestinal NECs (GI-NECs) represent only 5-10% of all digestive neuroendocrine malignancies (7, 8) and arise mainly from the stomach, pancreas or colon (9-11). They are usually diagnosed in advanced stages, when only palliative treatment is available. In contrast to well-differentiated GI-NETs (1), the median survival of patients with NECs (all stages) is significantly shorter (estimated to be around 12-17 months) due to their aggressive natural history (6, 12). Distant disease is present at initial diagnosis in 57% of patients and impacts on survival: the median survival is 38 months (95% confidence interval [95% CI] 31-45 months), 16 months (95% CI 15-17 months) and 5 months (95% CI 4.7-5.4 months) for patients with localised, locally advanced and metastatic disease, respectively (1, 13).

Management of GI-NECs with advanced disease, is based on systemic cytotoxic chemotherapy due to high mitotic activity and rapid rate of disease progression. Current treatments are based on data from small cell lung cancer, such as cisplatin-etoposide or carboplatin-etoposide (14). First-line treatment for GI-NECs has remained unchanged since the early 1990s, when high tumour response rates were reported with etoposide-platinum combination (41-67%) (15). In addition, a number of small retrospective series have published results of other chemotherapy regimens (temozolomide-based (12, 16), taxane-based (12), 5-FU-based (17, 18) or topotecan (19)) after failure of platinum-etoposide therapy in patients with NECs (12, 16-20). Results from ongoing studies such as the ECOG-ACRIN 2142 trial (NCT02595424), which plans to randomise 126 patients diagnosed with NEC-G3 to first-line cisplatin/etoposide or capecitabine/temozolomide may clarify the most suitable treatment for this population of patients.

Prognostic factors have been reported in small series, but have not been externally validated. These include Ki67 (12), Eastern Cooperative Oncology Group performance status (ECOG-PS) (12, 21), elevated lactate dehydrogenase (LDH) (12, 21), primary site (12, 21, 22), thrombocytosis (12) and tumour morphology (6). It is worth highlighting that survival reported between different series vary from 20 months (16, 18, 20) to 3 months (19) suggesting marked heterogeneity of the patient populations. In addition, clinicians are lacking tools to identify patients who may have longer survival and therefore may benefit from active treatment or inclusion in clinical trials.

In this study, the aim was to design and validate a score prognostic for overall survival (OS) in patients with GI-NECs.

Methods

Three cohorts of patients were analysed: a Training Cohort (score was designed and internally validated), an External Validation Cohort (score was externally validated) and a Prospective Validation Cohort (score was prospectively validated). Approval for data collection was obtained independently by each one of the institutions involved as per local practice.

Patients in cohort 1: Training cohort

All consecutive patients diagnosed with GI-NEC between January 1997 and June 2014 at The Christie NHS Foundation Trust (Manchester, UK) were included in this retrospective cohort. Eligible patients were those with a diagnosis of GI-NEC (including patients with an unknown primary in whom the primary tumour was suspected to be of GI origin) with a Ki67 >20%; and available survival data. Site of primary tumour was classified as foregut (oesophagus, stomach and proximal duodenum; excluding pancreas), midgut (distal duodenum, appendix and proximal colon), pancreas, hindgut (colon and rectum) or unknown primary according to clinical information available. Patients with ECOG-PS 4 and patients with mixed adeno-neuroendocrine carcinoma were excluded. Demographic characteristics together with ECOG-PS, stage (23, 24), primary GI tumour site, sodium, alkaline phosphatase (ALP), LDH and Ki67 at time of first diagnosis were collected for identification of prognostic factors and design of the prognostic score (25, 26). The primary end-point was OS, defined as the time between first diagnosis of NEC and death (or last follow-up with no death).

Patients in cohort 2: External Validation Cohort

Patients diagnosed with GI-NECs who were seen between April 2000 and December 2015 were identified retrospectively in five different European Countries (France, Belgium, Germany, Spain and UK) from centres with expertise in neuroendocrine malignancies. The same inclusion criteria as the Training Cohort were used and the same baseline and demographic characteristics were collected. Patients with missing data in any one of the items included in the score were excluded and considered ineligible. The primary end-point was OS. A sample size for the external validation was estimated to replicate the hazard ratio achieved by the score (as a discrete variable) in the multivariable analysis from the Training Cohort (HR 1.9); a minimum of 82 patients was required to externally validate the score (power: 80% and two-tailed α -error: 0.05).

Patients in cohort 3: Prospective Validation Cohort

The Prospective Validation Cohort included all consecutive patients diagnosed with GI-NECs seen at The Christie NHS Foundation Trust between July 2014 and November 2015. Patients were identified and data was collected prospectively. The same inclusion criteria and data collection items as in the External Validation Cohort were applied; patients with missing data for any of the score items were excluded. The primary end-point was OS.

Description of baseline characteristics and comparison between cohorts

The median, with range and/or 95% CI, was calculated for continuous/discrete variables. Percentages were employed for distribution of categorical variables. Chi-square and T-Tests were used for comparison of baseline characteristics, as appropriate. Comparisons with p-value ≤ 0.05 were considered significant.

Statistical analysis: Design of the prognostic score (Training Cohort)

Statistical analysis was performed with Stata v.12 and RStudio packages.

Cox-regression, Kaplan-Meier, log-rank test and logistic regression were employed for identification of relevant factors impacting on OS. Proportionality of hazards assumption was assessed by graphic methods such as Log-log plot of survival and Kaplan–Meier observed/predicted survival plot. A maximum regression model including all the significant variables in the univariate Cox-regression (defined as p-value ≤ 0.05) and previously-defined “variables of interest” (ECOG-PS, stage and Ki67) was designed. Treatment-related variables (such as administration of chemotherapy or radiological response) were excluded from the maximum regression model. The prognostic score included selected items from the maximum regression model, which were chosen by the *allsets* Stata command (selecting the model with lower Akaike

Information Criterion (AIC), lower number of variables and without duplicated clinical information).

Once the variables to be included in the prognostic score were identified, a score nomogram was built. First, continuous/discrete variables were categorised taking into account the most suitable cutoff according to Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis for prediction of death. Second, Kaplan-Meier curve for prediction of OS, to confirm the tested cutoff as the most informative one in terms of our primary end-point (OS). Finally, the punctuation for each item's category was selected to be proportional to the hazard ratio achieved in the multivariable Cox-regression analysis.

Statistical analysis: Accuracy of prediction of risk of survival: prognostic score compared to the maximum regression model (Training Cohort)

The impact of the score on survival was confirmed by multivariable Cox-regression adjusted for other variables with known prognostic impact that were not included in the score. ROC curve comparison test (by comparison of Area Under the Curve (AUC)) was employed to compare the accuracy of prediction of survival at 3, 6, 9, 12, 18 and 24 months of the maximum model (considered the gold standard) and the prognostic score. Comparisons with p-values ≤ 0.05 were considered significant.

Statistical analysis: internal validation of the prognostic score (Training Cohort)

Internal validation of the score was performed by Bootstrap-corrected Harrell Concordance Index (C-Index) calculation and Resampling Model Calibration. For interpretation of results of the C-Index, an index of 1 was considered to be perfectly discriminating, while a C-Index of 0.5 was as good as a random estimation.

Statistical analysis: external validation of the prognostic score (External and Prospective Validation Cohorts)

The previously-designed score was applied to all patients in the External and Prospective Validation Cohorts. Cox-regression, Kaplan-Meier and log-rank tests were employed to identify factors impacting on OS. Multivariable Cox-regression analyses performed in the Training Cohort were reproduced to validate the impact of the score on OS.

Results

A total of 395 patients were identified and considered for eligibility. Of these, 313 patients with GI-NECs were eligible and included in the final analysis: Training Cohort (109 patients), External Validation Cohort (184 patients) and Prospective Validation Cohort (20 patients) (See CONSORT diagram, Figure 1).

Training Cohort: Patient's baseline characteristics, prognostic factors and design of prognostic score

The Training Cohort included 109 patients; baseline characteristics are summarised in Table 1. By the end of follow-up, 84% of patients had died. The median estimated OS was 11.3 months (95% CI 8.3-14.03).

In addition to Ki67 (p-value 0.145) and ECOG-PS (p-value 0.046 for ECOG-PS 2 compared to ECOG-PS 0), which were previously defined as “variables of interest”; the following seven variables were found to be prognostic for OS by univariate Cox-regression analysis (Table 2; supplementary material; first column): stage (p-value 0.008 for metastatic stage compared to localized stage), LDH (p-value <0.001), sodium (p-value 0.003), ALP (p-value <0.001), number of metastatic sites (p-value 0.021), presence of liver metastases (p-value <0.001) and presence of lung metastases (p-value 0.031). All these variables were included in the multivariable maximum regression model (Table 2; supplementary material; second column).

Following analysis of 511 potential combinations, the most informative reduced model was selected to design the prognostic score. The selected reduced model included five variables (liver metastases, ECOG-PS, Ki67, LDH and ALP (Table 2; supplementary material; third column)) and had the following characteristics: AIC of 71.6, AUC of 0.839 and Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit of 0.977. Punctuation for each item was selected taking into account the HR from the multivariable analysis of the reduced model (Table 2; supplementary material; third column) and Figure 2). According to the sum of the five items, patients could be assigned a minimum of 0 to a maximum of 6 points. Risk of death, increased with each extra point added into the score (Figure 3; supplementary material). Distribution of the prognostic score within TC population is summarized in Table 3; supplementary material.

Internal Validation of the Score and Accuracy of prediction of risk of survival: prognostic score compared to the maximum regression model (Training Cohort)

The score was internally validated showing good discrimination (C-Index of 0.76) and calibration (mean error 0.021; percentile 90 0.037; Figure 4).

There was good accuracy for prediction of risk of survival when compared to the maximum regression model. There were no differences between the prognostic score and the maximum regression model at 3, 6, 9, 12, 18 and 24 months (Figure 5; supplementary material).

Impact of the Score on OS

Multivariable Cox-regression analysis, including the score as one of the variables (Table 4), was performed to assess its impact on survival when adjusted for other variables not included in the score such as sodium (independent prognostic factor identified during the score building process (Table 2; supplementary material; second column) and stage (variable of interest). However lung metastases were another of the independent prognostic factor identified during the score building process (Table 2; supplementary material; second column)), this variable was not included in this multivariable analysis (Table 4), because this clinical information was already provided by other variables such as presence of liver metastases (included in the score) and stage (defined as variable of interest and therefore included in multivariable analysis). The score was an independent prognostic factor for OS (HR 1.9, 95% CI 1.5-2.4; p-value <0.001) when the analysis was adjusted for other variables, such as stage and sodium (Table 4).

External and Prospective Validation of the Score

One hundred and seventy-eight and 20 patients were eligible for inclusion in the External Validation and in the Prospective Validation Cohorts, respectively. Baseline characteristics of these validation cohorts are shown in Table 1. Distribution of the prognostic score within these two population of patients is summarized in Table 3; supplementary material.

The multivariable analysis (including the score as a prognostic variable) performed on the Training Cohort was replicated with each of the validation cohorts (Table 4). The score remained an independent prognostic factor in both validation cohorts when adjusted for stage and sodium (previously showed to be prognostic variables in the univariate analysis).

Deriving the Score in clinical practice

The prognostic score has been defined as a discrete variable, with a range from 0 to 6 points. For applicability in clinical practice, the score classified patients into two groups, with significant differences in OS: group A (0-2 points; good prognosis patients) and group B (3-6 points; poor prognosis patients) (Figure 6). When the multivariable analysis was repeated using the score as a dichotomised variable, the score (group A vs. B) was an independent prognostic factor in all

patient cohorts (Table 4). Distribution of the prognostic score as a dichotomised variable within all populations of patients included in this is summarized in Table 3; supplementary material.

Receipt of chemotherapy had an impact on OS in both prognostic groups and was an independent positive prognostic factor (HR for patients receiving chemotherapy was 0.31 (95% CI 0.2-0.5); p-value <0.001) when adjusted for the prognostic score, stage and sodium in the multivariable analysis. This resulted in the following median OS: Group A treated with chemotherapy (129 patients, median OS 20.7 months (95% CI 16.7-26.4), Group A not treated with chemotherapy (24 patients, median OS 11.9 months (95% CI 4.6-81.1), Group B treated with chemotherapy (55 patients, median OS 8.1 months (95% CI 5.4-10.8), Group B not treated with chemotherapy (26 patients, median OS 2.1 months (95% CI 1.4-2.4).

Discussion

This study represents one of the largest series of patients diagnosed with high grade NECs to date (6, 12). High-grade NECs are known to consist of a heterogeneous population (27), in whom prognosis depends on multiple factors (6, 12, 21), rather than unique variables; thus our interest in developing a prognostic score which would combine the impact of multiple variables (all objective, with the exception of performance status, which is subjective) in one unique measurement.

The final GI-NEC Score showed prognostic impact, and its ability to identify a patient group with an inferior outcome was validated in an external cohort. This study constitutes a collaborative effort between five European Centres with recognised expertise in neuroendocrine malignancies giving credence to the results presented.

The direct application of the GI-NEC Score identified two subgroups, a good prognosis (A) and poor prognosis (B) group with marked differences in OS. The magnitude of difference indicates that this score may not only have a role in determining prognosis and aiding treatment discussion between clinicians and patients, but may also influence clinical trial design with respect to patient stratification.

Both prognostic groups benefitted from treatment with systemic chemotherapy. This benefit was more pronounced in group B patients (4-fold OS increase) than in group A patients (2-fold OS increase); however, differences due to patient selection bias cannot be excluded. Group B identified cases with behaviour similar to Small Cell lung Cancer (SCLC) in terms of prognosis, who may derive the greatest benefit from classical platinum plus etoposide chemotherapy combinations.

The identification of two patient cohorts with apparently-different clinical courses highlights the need to consider different management strategies between them. For instance, patients classified in group A, may be suitable for treatment options beyond platinum-etoposide chemotherapy including alternative chemotherapy combinations for patients with a lower Ki67 or morphologically well-differentiated tumours (6, 12); or locoregional-directed therapy in cases with liver-predominant disease. In essence, although there is often urgency in starting platinum-etoposide chemotherapy in patients with GI-NEC, patients in group A may benefit from case-by-case discussion within a NET multidisciplinary meeting regarding other treatment options. Furthermore, due to the absence of available clinical trials in this setting and the more-favourable survival of this particular group, these patients would be well-suited for early-phase trials.

It is worth mentioning that the most suitable Ki67 cut-off for making clinical management decisions remains unclear. In the NORDIC retrospective study, it was suggested that a Ki67 cut-off of 55% was informative for choosing between platinum-based or temozolomide-based treatment (12). In contrast, the current series identified a different cut-off (80%) as the most informative one with respect to OS (rather than treatment response). These results highlight that it is not advisable to make informed treatment decisions reliant on Ki67 alone. Morphology should also be considered, as suggested by Heetfeld and colleagues (6).

The Group A population still likely constitutes several different subgroups with differing molecular biology. These patients may derive benefit from further characterisation (28). A worldwide collaborative effort to better understand the nature of this pathology should be prioritised by the NET research community.

On the other hand, patients classified in the poor prognosis group, in the absence of other alternatives, may derive the most benefit from therapy traditionally given to patients with SCLC. Our results suggest that in this poor-prognostic subgroup, there is an urgent priority to initiate chemotherapy treatment; which may be less pressing in Group A patients.

This new prognostic tool may become a cornerstone in the stratification of patients for inclusion into clinical trials as a randomisation factor, allowing adjustment for multiple prognostic factors at once. This will allow for efficient reduction of stratification variables and may potentially reduce trial sample size and facilitate subgroup analysis. Trial design may also be influenced to develop distinct therapeutic approaches based on the clinical characteristics of both subgroups when evaluating and introducing new therapies. For instance, if we were to design a trial with new immunotherapies (such as anti-PD1 targeted therapy, which has recently shown benefit in

Merkel cell carcinoma (29)) a different approach may be considered in group B patients with induction chemotherapy before introducing the immunotherapy to achieve clinical control of the disease, thus optimising the use of chemotherapy. However, most patients in group A would not need this sequential approach.

The limitations of this study are the ones which inherently apply to population data which are collected retrospectively (Training Cohort and External Validation Cohort), as shown by imbalances identified between patient cohorts (such as primary tumour site, Ki67 and median OS). Despite of the small sample size of the Prospective Validation cohort, the score retains its prognostic value; however, it would still require confirmation in a longer prospective series, ideally within a clinical trial. In addition, the depth of this analysis is limited to the use of clinical data; i.e. chromogranin-A and neurone-specific enolase, were not included due to data unavailability. The absence of single central pathology review is attenuated by the documented expertise of these centres and their pathology departments. The fact that patients with no survival data or at least one of the score items missing were excluded from the EVC and PVC could introduce a selection bias. Finally, tumour morphology (well differentiated high grade vs. poorly differentiated high grade) was not incorporated into this score due to non-availability of this information for the majority of patients. Patients with the emerging entity of NET-G3 are most likely to be included in Group A; the high Ki67 cut-off employed in this study (80%) may negate this limitation due to the low rate of patients with well-differentiated morphology who would be expected to have a Ki67 of >80% (6).

In summary, in this study, the GI-NEC Score was designed and validated for patients with GI-NECs for prognostication of OS, as a tool to aid clinician selection of patients for treatment or clinical trial inclusion. This score could also be incorporated as a stratification factor in future comparative trials, to assist adjustment for prognostic factors and secure comparability between arms.

REFERENCES

1. Yao JC, Hassan M, Phan A, et al.: One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol* 26:3063-3072, 2008
2. Brenner B, Tang LH, Shia J, et al.: Small cell carcinomas of the gastrointestinal tract: clinicopathological features and treatment approach. *Semin Oncol* 34:43-50, 2007
3. Scoazec JY, Couvelard A: [The new WHO classification of digestive neuroendocrine tumors]. *Ann Pathol* 31:88-92, 2011
4. Rindi G, Arnold R, Bosman FT, et al. Nomenclature and classification of neuroendocrine neoplasms of the digestive system. In: WHO Classification of Tumours of the Digestive System, 4th ed, Bosman TF, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (Eds), International Agency for Research on cancer (IARC), Lyon 2010. p.13, 2013
5. Tang LH, Basturk O, Sue JJ, et al.: A Practical Approach to the Classification of WHO Grade 3 (G3) Well-differentiated Neuroendocrine Tumor (WD-NET) and Poorly Differentiated Neuroendocrine Carcinoma (PD-NEC) of the Pancreas. *Am J Surg Pathol*, 2016
6. Heetfeld M, Chougnat CN, Olsen IH, et al.: Characteristics and treatment of patients with G3 gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms. *Endocr Relat Cancer* 22:657-664, 2015
7. Ahlman H, Nilsson O, McNicol AM, et al.: Poorly-differentiated endocrine carcinomas of midgut and hindgut origin. *Neuroendocrinology* 87:40-46, 2008
8. Bettini R, Boninsegna L, Mantovani W, et al.: Prognostic factors at diagnosis and value of WHO classification in a mono-institutional series of 180 non-functioning pancreatic endocrine tumours. *Ann Oncol* 19:903-908, 2008
9. Brenner B, Tang LH, Klimstra DS, et al.: Small-cell carcinomas of the gastrointestinal tract: a review. *J Clin Oncol* 22:2730-2739, 2004
10. Galanis E, Frytak S, Lloyd RV: Extrapulmonary small cell carcinoma. *Cancer* 79:1729-1736, 1997
11. Lee SS, Lee JL, Ryu MH, et al.: Extrapulmonary small cell carcinoma: single center experience with 61 patients. *Acta Oncol* 46:846-851, 2007
12. Sorbye H, Welin S, Langer SW, et al.: Predictive and prognostic factors for treatment and survival in 305 patients with advanced gastrointestinal neuroendocrine carcinoma (WHO G3): the NORDIC NEC study. *Ann Oncol* 24:152-160, 2013
13. Sorbye H, Strosberg J, Baudin E, et al.: Gastroenteropancreatic high-grade neuroendocrine carcinoma. *Cancer* 120:2814-2823, 2014
14. Mitry E, Baudin E, Ducreux M, et al.: Treatment of poorly differentiated neuroendocrine tumours with etoposide and cisplatin. *Br J Cancer* 81:1351-1355, 1999

15. Moertel CG, Kvols LK, O'Connell MJ, et al.: Treatment of neuroendocrine carcinomas with combined etoposide and cisplatin. Evidence of major therapeutic activity in the anaplastic variants of these neoplasms. *Cancer* 68:227-232, 1991
16. Hadoux J, Malka D, Planchard D, et al.: Post-first-line FOLFOX chemotherapy for grade 3 neuroendocrine carcinoma. *Endocr Relat Cancer* 22:289-298, 2015
17. Hentic O, Hammel P, Couvelard A, et al.: FOLFIRI regimen: an effective second-line chemotherapy after failure of etoposide-platinum combination in patients with neuroendocrine carcinomas grade 3. *Endocr Relat Cancer* 19:751-757, 2012
18. Hadoux J PDGJea: Oxaliplatin-based chemotherapy for grade 3 neuroendocrine carcinoma after failure of platinum-based chemotherapy. European Neuro Endocrine Tumour Society: Abstract J2, 2013., in , 2016
19. Olsen IH, Knigge U, Federspiel B, et al.: Topotecan monotherapy in heavily pretreated patients with progressive advanced stage neuroendocrine carcinomas. *J Cancer* 5:628-632, 2014
20. Welin S, Sorbye H, Sebjornsen S, et al.: Clinical effect of temozolomide-based chemotherapy in poorly differentiated endocrine carcinoma after progression on first-line chemotherapy. *Cancer* 117:4617-4622, 2011
21. Yamaguchi T, Machida N, Morizane C, et al.: Multicenter retrospective analysis of systemic chemotherapy for advanced neuroendocrine carcinoma of the digestive system. *Cancer Sci* 105:1176-1181, 2014
22. Strosberg JR, Cheema A, Weber J, et al.: Prognostic validity of a novel American Joint Committee on Cancer Staging Classification for pancreatic neuroendocrine tumors. *J Clin Oncol* 29:3044-3049, 2011
23. Edge SBD R C C C F A G G F L T A: AJCC Cancer Staging Manual, in , Springer-Verlag New York, 2010
24. Salazar R, Wiedenmann B, Rindi G, et al.: ENETS 2011 Consensus Guidelines for the Management of Patients with Digestive Neuroendocrine Tumors: an update. *Neuroendocrinology* 95:71-73, 2012
25. Maestu I, Pastor M, Gomez-Codina J, et al.: Pretreatment prognostic factors for survival in small-cell lung cancer: a new prognostic index and validation of three known prognostic indices on 341 patients. *Ann Oncol* 8:547-553, 1997
26. Cerny T, Blair V, Anderson H, et al.: Pretreatment prognostic factors and scoring system in 407 small-cell lung cancer patients. *Int J Cancer* 39:146-149, 1987
27. Velayoudom-Cephise FL, Duvillard P, Foucan L, et al.: Are G3 ENETS neuroendocrine neoplasms heterogeneous? *Endocr Relat Cancer* %19;20:649-657, 2013
28. Emily K.Bergsland R R P S J S R M B A O: Genomic profiling to distinguish poorly differentiated neuroendocrine carcinomas arising in different sites. ASCO Annual Meeting 2016 J Clin Oncol 34, 2016 (suppl; abstr 4020), 2016 (abstr)

29. Nghiem PT, Bhatia S, Lipson EJ, et al.: PD-1 Blockade with Pembrolizumab in Advanced Merkel-Cell Carcinoma. N Engl J Med %19., 2016

TABLES

Table 1: Baseline characteristics of cohort of patients included in the study. Overall survival medians are estimated with Kaplan-Meier. Nr: not reached, CI: confidence interval. Normal ranges for laboratory results were as follows sodium 135-145 mmol/L; ALP (alkaline phosphatase) 25-110 IU/L; LDH (lactate dehydrogenase) 200-550 IU/L.

Variable		Training Cohort (n=109)		External Validation Cohort (n=184)		Prospective Validation Cohort (n=20)	
		N	%	N	%	N	%
Age	Median (range)	67.7	16.3- 84.1	59.1	22.2- 85.5	67.7	22.9- 82.7
Gender	Male	67	62	115	63	15	75
	Female	42	38	69	37	5	25
Stage	Localised	11	10	9	5	2	10
	Locally advanced	7	6	26	14	3	15

	Metastatic	91	84	149	81	15	75
Site of primary tumour	Foregut	21	19	33	18	1	5
	Midgut	5	5	8	4	4	20
	Pancreas	20	18	75	41	4	20
	Hindgut	31	28	31	17	5	25
	Unknown primary	32	30	37	20	6	30
Site of metastases	Median (range)	1	0-4	1	0-6	1	0-4
	Liver (Yes)	70	64	123	67	12	60

	Lungs (Yes)	10	9	12	7	3	15
	Lungs (unknown)	0		79		0	
Sodium (mmol/L)	Median (range)	139	124-145	138	129-144	139.5	133-143
	Unknown	0		115		0	
Alkaline Phosphatase (ALP) (IU/l)	Median (range)	109	45-2,03x10 ³	129.5	30-2,3x10 ³	103	64-2,04x10 ³
	Unknown	14		0		0	
	Median (range)	463	258-11,1x10 ³	347	107-3,8x10 ³	450	258-1,4x10 ³

Lactate dehydrogenase (LDH) (IU/l)	Unknown	17		0		0	
Ki67 (%)	Median (range)	70	60-70	55	50-62	80	41-80
	Unknown	15		0		0	
ECOG Performance Status	0	28	26	63	35	3	15
	1	57	52	81	45	10	50
	2	17	16	24	15	3	15
	3	6	5	10	5	4	20

	Unknown	1	1	0	0	0	0
Palliative Chemotherapy	Yes	76	70	118	64	14	70
	Unknown	0	0	49	27	0	0
Follow-up	Median (95% CI)	9.7	7.02- 12.3	11.4	8.6- 14.7	5.01	3.5-12.7
Status	Dead	91	84	127	69	11	55
Overall survival	Median (95% CI)	11.3	8.3- 14.03	16.04	13.7- 19.03	10.1	3.5-nr

Table 4: Multivariable prognostic analysis (Cox regression): the score was shown to be an independent prognostic factor impacting overall survival. Only patients with all data available for all the variables included in the multivariable analysis were included: Training Cohort (79 patients), External validation Cohort (69 patients), Prospective Validation Cohort (20 patients) and all cohorts (168 patients).

Score as a discrete variable		Training Cohort		External Validation Cohort		Prospective Validation Cohort		All Cohorts	
		HR (95% CI)	P-value	HR (95% CI)	P-value	HR (95% CI)	P-value	HR (95% CI)	P-value
Stage	Localised	1 (Ref)	-	1 (Ref)	-	1 (Ref)	-	1 (Ref)	-
	Locally advanced	0.9 (0.2 - 4.9)	0.882	0.9 (0.2-3.7)	0.954	0.2 (0.1-5.6)	0.322	0.9 (0.4-2.3)	0.884
	Metastatic	2.1 (0.7 – 6.1)	0.165	1.04 (0.3-3.8)	0.955	0.11 (0.1-1.7)	0.117	1.3 (0.6-2.9)	0.446
Sodium	Continuous variable	1.02 (0.9 - 1.1)	0.640	0.9 (0.8-1.1)	0.752	0.8 (0.6-1.1)	0.104	1 (0.9-1.1)	0.721
Score	Discrete variable	1.9 (1.5 - 2.4)	< 0.001	1.8 (1.3-2.5)	0.001	4.5 (1.9-10.9)	0.001	1.9 (1.6-2.3)	<0.001
Score as a dichotomised variable		HR (95% CI)	P-value	HR (95% CI)	P-value	HR (95% CI)	P-value	HR (95% CI)	P-value
Stage	Localised	1 (Ref)	-	1 (Ref)	-	1 (Ref)	-	1 (Ref)	-
	Locally advanced	1.3 (0.2 - 7.2)	0.766	0.9 (0.2-3.6)	0.931	0.3 (0.02-7.2)	0.472	0.9 (0.4-2.4)	0.915

	Metastatic	2.6 (0.9 – 7.4)	0.082	1.4 (0.4-4.9)	0.620	0.15 (0.01-2.2)	0.162	1.7 (0.8-3.6)	0.177
Sodium	Continuous variable	0.99 (0.9-1.1)	0.796	0.98 (0.8-1.1)	0.770	0.9 (0.7-1.1)	0.291	0.99 (0.9-1.04)	0.862
Score	Group A (0-2 points)	1 (Ref)	-	1 (Ref)	-	1 (Ref)	-	1 (Ref)	-
	Group B (3-6 points)	3.6 (1.9-6.7)	<0.001	3.6 (1.8-7.3)	<0.001	14.3 (2.3 -90.1)	0.005	3.9 (2.6-6.1)	<0.001

FIGURES

Figure 1: CONSORT diagram: patient flow for each cohort of patients included in the design and validation of the prognostic score. N: number of patients; GI: gastrointestinal; NEC: neuroendocrine carcinoma (high grade); ECOG-PS: Eastern Cooperative Oncology Group performance status; OS: overall survival.

Figure 2: Nomogram for calculation of the prognostic score. Example: patient with ECOG-PS of 1 (0 points), liver metastases (1 point), ALP of 70 (0 points), LDH of 840 (1 point) and Ki67 of 75 (0 points) scores a total of 2 points. ALP: alkaline phosphatase; LDH: lactate dehydrogenase, ECOG-PS: Eastern Cooperative Oncology Group performance status.

Figure 4: The Prognostic Score showed good calibration (Mean (error) = 0.021; Percentile 90= 0.037).

Figure 6: Prognostic score defining two populations of patients with significant differences in overall survival: this is shown when all cohorts are analysed together (**6.A**) and also in each cohort separately: Training Cohort (**6.B**), External Validation Cohort (**6.C**) and Prospective Validation Cohort (**6.D**). Log-rank test p-value is provided, for multivariable Cox Regression p-value please refer to **Table 4**. Only those patients with available data for calculation of the GI-NEC Score (all items were required) and survival data available are represented in these graphics, represented by 283 patients out of the total 313 patients included in All Cohorts, 79 out of 109 in the Training Cohort, 184 out of 184 in the External Validation Cohort and 20 out of 20 in the patients from the Prospective Validation Cohort), patients with at least one of the items or survival data missing (i.e. 30 patients from the Training Cohort (**6.B**) and therefore 30 patients from the All Cohorts (**6.A**)) are excluded.

Figure 1

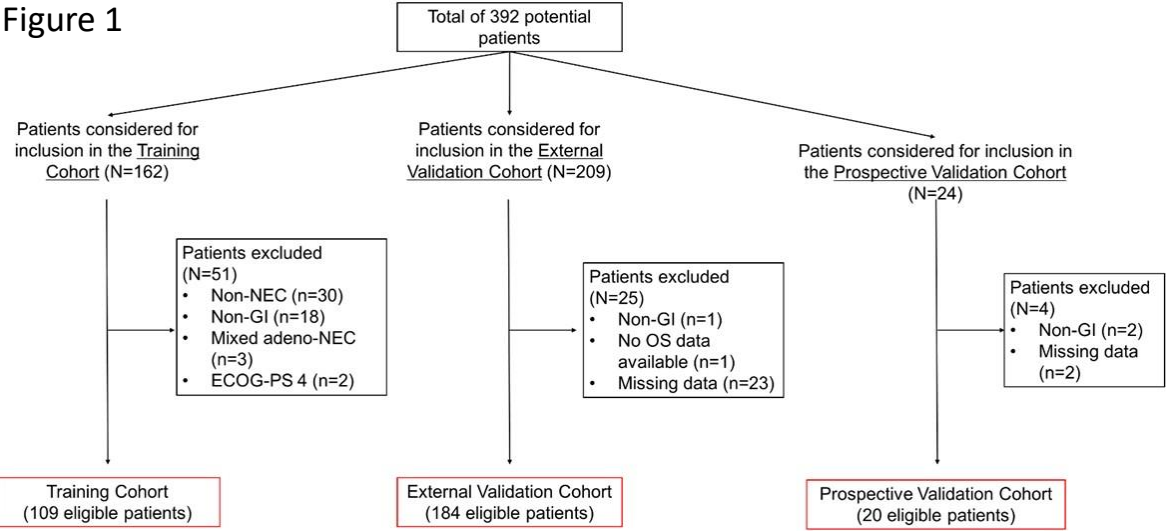


Figure 4

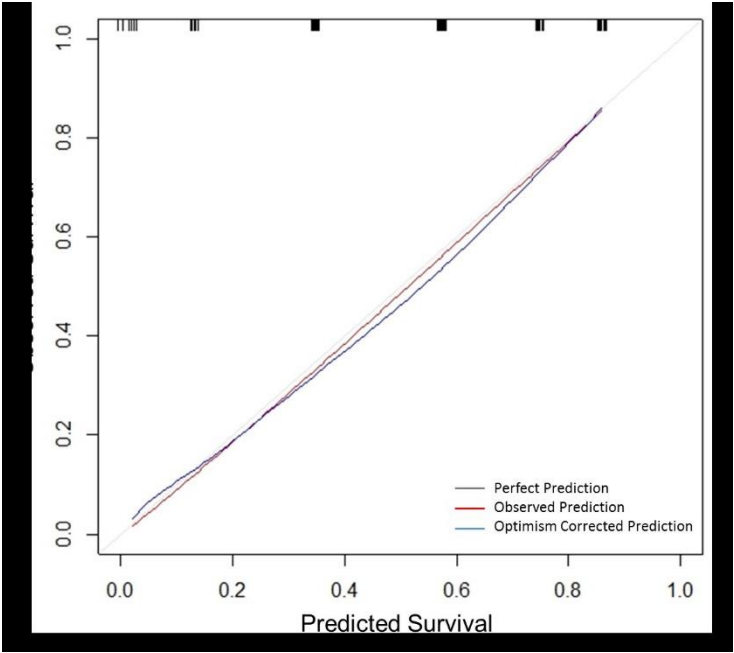
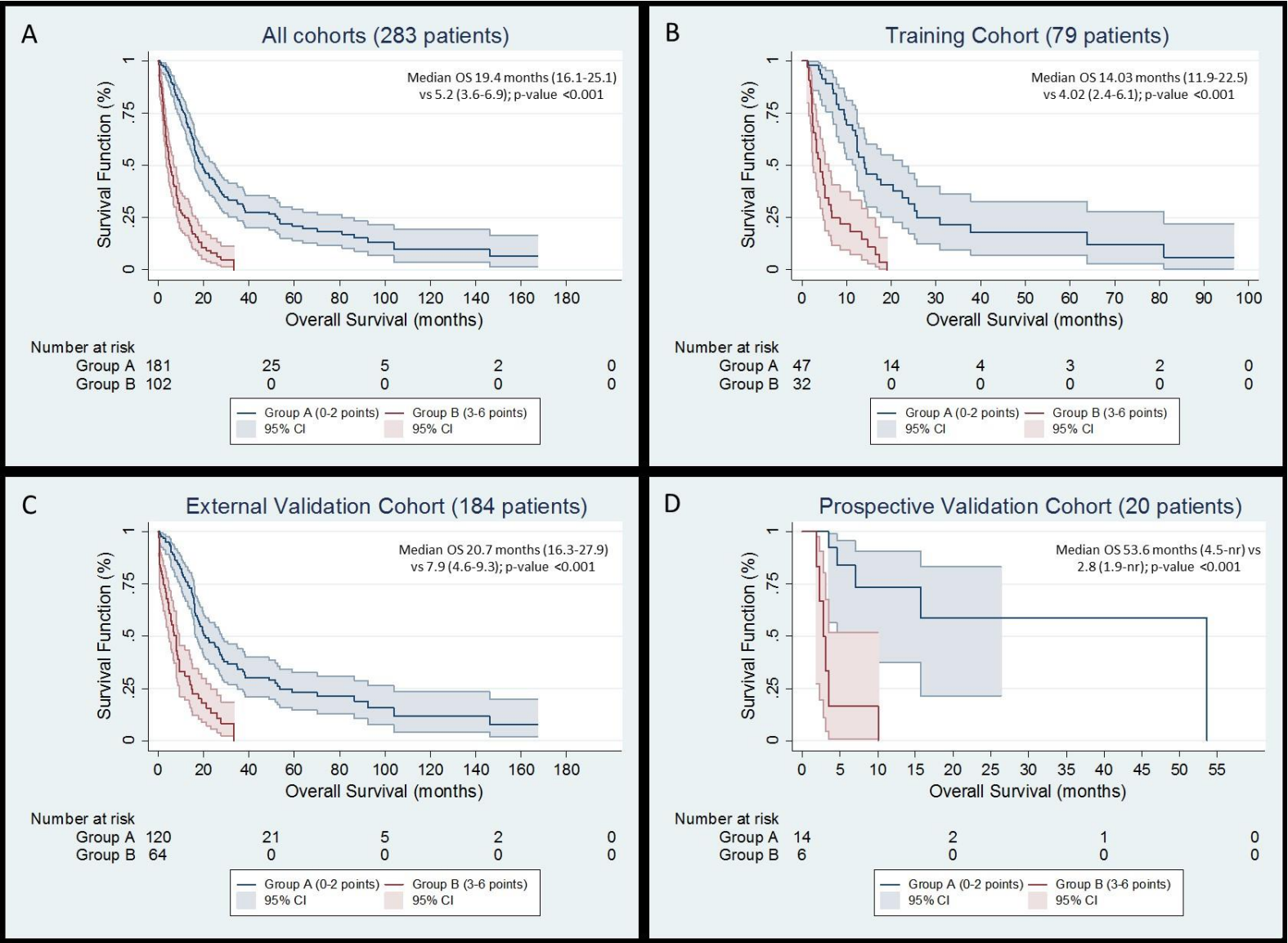


Figure 2

GI-NEC Score
Chart to Estimate Overall Survival in patients with Gastrointestinal Neuroendocrine Carcinomas

	Points	
Presence of Liver Metastases		0 = No 1 = Yes
Alkaline Phosphatase (IU/l)		0 = ≤ 82 1 = 83-289 2 = ≥ 290
Lactate Dehydrogenase (IU/l)		0 = ≤ 827 1 = ≥ 828
ECOG Performance Status		0 = 0 or 1 1 = ≥ 2
Ki67 (%)		0 = $\leq 80\%$ 1 = > 80
TOTAL POINTS SCORED (sum of all items)		
Total of 0-2 points: Group A (good prognosis) Total of 3-6 points: Group B (poor prognosis)		Score Group

Figure 6



Annexe 3 :

Freis P, Lombard-Bohas C, Walter T.

Carcinomes neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques peu différenciés : quelle prise en charge en 2016 ? Hépato Gastro et Oncologie digestive 2016 ;23 : 319-326.

Carcinomes neuroendocrines gastro-entéropancréatiques peu différenciés : quelle prise en charge en 2016 ?

Management of gastroenteropancreatic neuroendocrine carcinoma in 2016

Patricia Freis⁽¹⁾⁽⁴⁾, Catherine Lombard-Bohas⁽²⁾, Thomas Walter⁽²⁾⁽³⁾

¹ Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, service d'anatomopathologie, 69437 Lyon cedex 03, France

² Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, service d'oncologie médicale, Pavillon E, UJOMM, 69437 Lyon cedex 03, France

³ Unité INSERM UMR 1052 CNRS UMR 5286, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon (CRCL), Équipe 4, Faculté de Médecine RTH Laennec, 69372 Lyon Cedex 08

⁴ Unité INSERM UMR 1052 CNRS UMR 5286, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon (CRCL), Équipe 12, Faculté de Médecine RTH Laennec, 69372 Lyon Cedex 08

e-mail : <thomas.walter@chu-lyon.fr>

Résumé

Les carcinomes neuroendocrines gastro-entéropancréatiques (CNE-GEP), à petites ou grandes cellules, sont par définition peu différenciés et d'index de prolifération élevé (de grade 3 avec un Ki67 > 20 %). Plus de 80 % des CNE sont d'emblée métastatiques au diagnostic. Leur pronostic est extrêmement péjoratif, avec une survie médiane sans traitement inférieure à 6 mois. La prise en charge de ces tumeurs relève de l'urgence thérapeutique. L'arsenal thérapeutique reste très limité. La chirurgie première des rares formes localisées est très controversée ; la chimiothérapie associée ou non à la radiothérapie est une alternative souvent préférée, notamment si l'acte chirurgical est délabrant. Le traitement des formes métastatiques repose sur la chimiothérapie. Le traitement de référence est une association de sels de platine (cisplatine ou carboplatine) et d'étoposide, pour un total de 6 cures en cas de réponse à 3 cures. Les réponses objectives sont fréquentes (> 50 % des patients) mais les reprises évolutives quasi constantes. Aucun traitement d'entretien n'est validé à l'issue de 6 cycles initiaux. L'efficacité des traitements de 2^e ligne (Folfiri, Folfox, témozolomide) est très limitée (environ 4 mois de survie sans progression). L'amélioration de la prise en charge des CNE repose sur l'amélioration des connaissances des mécanismes impliqués dans la genèse et la progression de la maladie, et l'inclusion dans des essais cliniques spécifiques encore trop peu nombreux.

■ **Mots clés** : carcinome neuroendocrine peu différencié, petites et grandes cellules, gastro-entéro-pancréatique

Abstract

Small or large cells gastro-enteropancreatic neuroendocrine carcinomas (also known as GEP NEC) are defined as poorly differentiated tumors with a high proliferative index (grade 3 with a Ki67>20%). More than 80% of GEP-NEC are metastatic at diagnosis and their prognosis is poor, as their median overall survival without treatments is below 6 months. They have to be managed rapidly but treatment options are very limited to date. Surgical removal of localized GEP-NEC is very controversial, as associated with very high rate of recurrence. Chemotherapy ± radiotherapy is preferred. Treatment of metastatic diseases relies on platinum-based chemotherapy (cisplatin or carboplatin) associated with etoposide (6 cycles in total). More than 50% of patients have an objective response but relapse occurs for a large majority of them. There is no consensus

Pour citer cet article : Freis P, Lombard-Bohas C, Walter T. Carcinomes neuroendocrines gastro-entéropancréatiques peu différenciés : quelle prise en charge en 2016 ? *Hépatogastro* 2016 ; 23 : 319-326. doi : 10.1684/hpg.2016.1279

**HEPATO-GASTRO
et Oncologie digestive**

Tirés à part : T. Walter

about maintenance treatment. Second line chemotherapy relies on Folfiri, Folfox or temozolomide protocols, but with a limited effectiveness (around 4 months of progression-free survival). To better manage these specific types of tumors, more knowledge on carcinogenesis and progression/invasion mechanisms of GEP-NEC are required, as well as more inclusion of patients in clinical trials.

■ **Key words:** neuroendocrine carcinoma, small and large cells, gastroenteropancreatic

Généralités et définition

Les carcinomes neuroendocrines peu différenciés gastro-entéro-pancréatiques (CNE-GEP) sont rares, représentant moins de 1 % des cancers de la sphère digestive [1] et 7 à 21 % des néoplasmes neuroendocrines selon les études [1]. Leur pronostic est très péjoratif avec des survies médianes spontanées d'environ 6 mois, et qui ne dépassent pas 18 mois chez les patients traités.

Les CNE sont définis selon la classification OMS 2010 [2] par une morphologie peu différenciée, à petites ou grandes cellules, une expression des marqueurs neuroendocrines (chromogranine A et synaptophysine) et une capacité de prolifération élevée (grade 3). Ils s'opposent aux tumeurs neuroendocrines bien différenciées (TNE) (*tableau 1*). Par définition, dans cette classification tous les CNE ont un index de prolifération (index Ki67) > 20 % ; *a contrario*, les tumeurs neuroendocrines ont obligatoirement un index Ki67 < 20 %. Or, la littérature récente décrit une faible proportion (6-8 %) de TNE bien différenciée, mais avec un index de prolifération élevé (Ki67 > 20 %) [3, 4]. Ces publications montrent parallèlement que si l'on considère les néoplasmes neuroendocrines G3, 20-30 % sont en réalité des TNE G3, présentant effectivement une morphologie bien différenciée. Ces TNE G3 sont plus fréquentes dans l'estomac et le pancréas, ont plus souvent une scintigraphie aux récepteurs de la somatostatine (Octréoscan®) positive. Sur le plan histologique, les zones de nécrose sont moins constantes et l'index de prolifération Ki67 plus faible entre 20 et 55 % [3, 4] que dans les CNE.

Il est primordial d'identifier ce sous-groupe (en italique dans le *tableau 1*) car a) le pronostic de ces tumeurs est nettement plus favorable comparativement à celui des CNE (41-99 mois *versus* 17 mois ; $p = 0,34$) [3, 4] ; b) la chimiosensibilité de ce sous-groupe de patients à l'association de référence utilisée dans les CNE (platine-étoposide) [3, 4] est significativement inférieure ; c) les traitements utilisés dans les TNE G2 (témozolomide par exemple) sembleraient plus adaptés. Parallèlement, lorsque l'on considère les CNE, la valeur de l'index de prolifération Ki67 apparaît comme un facteur prédictif de réponse aux chimiothérapies par sels de platine (cisplatine ou carboplatine) : les carcinomes possédant un Ki67 entre 20 et 55 % ont un taux de réponse nettement inférieur aux CNE exprimant un Ki67 supérieur à 55 % (15 % *versus* 42 %) [5].

“ Les carcinomes neuroendocrines sont définis selon la classification OMS 2010, par une morphologie peu différenciée et une capacité de prolifération élevée (grade 3) ”

Carcinogénèse des carcinomes neuroendocrines

L'origine des CNE est encore aujourd'hui controversée. Certaines équipes évoquent une origine à partir de cellules

Tableau 1. Classification anatomopathologique OMS 2010 des tumeurs neuroendocrines (TNE), adapté d'après Heetfeld et al. [4] : est introduit en italique le concept de TNE (bien différenciée) de grade 3.

	Morphologie (différenciation)	Grade G1-G3 Ki-67 (%)*	Abréviation
Tumeur neuroendocrine Grade 1	Bien différenciée	G1 (≤ 2 %)	TNE G1
Tumeur neuroendocrine Grade 2	Bien différenciée	G2 (3 – 20 %)	TNE G2
<i>Tumeur neuroendocrine Grade 3</i>	<i>Bien différenciée</i>	G3 (> 20 %)	<i>TNE G3</i>
Carcinome neuroendocrine	Peu différenciée (petites ou grandes cellules)	G3 (> 20 %)	CNE

*Anticorps MiB1 ; Pourcentage sur 500 à 2 000 cellules tumorales dans les zones de plus haute densité de cellules marquées.

souches multipotentes, d'autres suggèrent une dédifférenciation de TNE bien différenciées [6]. Le mécanisme essentiel de l'initiation et de la formation d'un clone néoplasique à partir d'une cellule saine est l'activation de certains oncogènes ou l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs par mutation. Or, les principaux oncogènes (SRC, MYC, RAS, FOS, HER2, RET...) et les principaux gènes suppresseurs de tumeurs (*p53*, *BRCA*, *RB*...) actuellement identifiés ne semblent pas être impliqués dans la tumorigenèse des TNE-GEP. Concernant les CNE, des mutations des gènes *TP53* et *RB1* ont été rapportées dans une série de 19 échantillons tumoraux de CNE pancréatiques (petites et grandes cellules), confirmées par un marquage P53 et RB anormal dans 95 et 74 % des cas respectivement [7]. Des mutations de *KRAS* et *SMAD4* sont en revanche rarement mises en évidence. L'analyse génomique de cancers du poumon à petites cellules, sur lesquels les traitements de CNE GEP se basent, a également retrouvé l'inactivation des gènes *TP53* et *RB1*. Des mutations de certains gènes (notamment impliqués dans le remodelage de la chromatine (*DAXX*, *ATRX*), ou la voie PI3K/Akt/mTOR) ont été décrites mais uniquement dans des TNE pancréatiques [8] ou gastro-intestinales bien différenciées [9]. L'analyse génomique des CNE (toutes localisations) devrait aider à identifier des voies de signalisation intervenant dans la carcinogenèse de ces tumeurs.

“ La carcinogenèse des carcinomes neuroendocrines peu différenciés est mal connue ”

Présentation clinique

Des données récentes sur la présentation initiale des CNE-GEP ont été rapportées dans deux études rétrospectives et une étude de cohorte française [4, 5, 10]. Contrairement aux TNE bien différenciées, moins de 5 % des CNE sont de découverte fortuite. Ils sont diagnostiqués devant des symptômes de survenue généralement récente avec une altération de l'état général rapide (amaigrissement, fièvre, douleurs, ictère...) [6]. Moins de 3-5 % des CNE présentent un syndrome sécrétoire et ce syndrome sécrétoire est généralement différent de ceux habituellement rencontrés dans les TNE (sécrétion d'ACTH avec syndrome de Cushing, de PTHrp avec hypercalcémie) ; aucun patient n'est identifié comme porteur d'un syndrome de prédisposition génétique. Plus de 80 % des CNE sont métastatiques au moment du diagnostic, avec une médiane de 2 sites métastatiques (75 % hépatiques, 60 % ganglionnaires, 15 % pulmonaires,

10-15 % péritonéaux, 15 % os et 5 % cérébraux) ; les CNE ont une imagerie par TEP-FDG beaucoup plus fréquemment pathologique (85-90 %) qu'avec la scintigraphie des récepteurs à la somatostatine (Octréoscan®) (45-50 %) [5, 10].

Les principaux sites primitifs trouvés sont : œsogastrique (25 % des cas), pancréatique (25 % des cas), colorectal (25 % des cas), primitif inconnu ou autre primitif (25 % des cas). Les CNE de l'iléon ou de l'appendice sont tout à fait exceptionnels.

“ Les carcinomes neuroendocrines sont métastatiques au moment du diagnostic dans plus de 80 % des cas et ils sont très rarement associés à un syndrome sécrétoire ”

Diagnostic et explorations préthérapeutiques

L'analyse anatomopathologique sur biopsies est la seule qui permet d'affirmer le diagnostic, et est incontournable avant tout traitement antitumoral. Comme toute TNE, les CNE sont caractérisés par l'expression de marqueurs immunohistochimiques de différenciation neuroendocrine (chromogranine A, synaptophysine, CD56). La chromogranine A peut cependant être négative (66 % des patients de l'étude NORDIC) [5], en revanche la synaptophysine est quasi constamment exprimée. La morphologie permet de distinguer 2 entités particulières : les CNE à petites cellules et ceux à grandes cellules. Contrairement aux CNE bronchiques, les CNE-GEP à grandes cellules sont plus fréquents que les CNE à petites cellules (60 % *versus* 40 %) [4, 5, 10].

“ L'expression de la chromogranine A peut être négative tandis que la synaptophysine est quasi constamment exprimée ”

Une relecture par les experts du réseau TENpath est préconisée, pour ne pas méconnaître un diagnostic différentiel ou une TNE bien différencié de grade 3 (voir le paragraphe dédié). Les adénocarcinomes peu différenciés peuvent par exemple exprimer la synaptophysine et ressembler à un CNE à grandes cellules. Le pathologiste doit aussi définir le stade du CNE. Deux classifications TNM sont à ce jour disponibles : la première proposée par l'ENETS (European Neuroendocrine Tumor Society), utilisée depuis 2006, la seconde proposée par l'UICC publiée en 2009 [11]. La classification UICC diffère de la classification ENETS pour les CNE qui sont classés comme les carcinomes non neuroendocrines de même

localisation dans la classification UICC. Dans les études portant sur les CNE excluant les TNE bien différenciée de grade 3, l'index de prolifération Ki67 médian est de 70-75 % et la nécrose tumorale est très fréquemment présente (60-80 %) [4, 10].

“ L'index de prolifération Ki67 médian est de 70-75 % et les carcinomes neuroendocrines à grandes cellules sont les plus fréquents ”

En présence de métastases hépatiques, une recherche systématique de métastases extrahépatiques (osseuses, médiastinales, mais aussi cérébrales) est effectuée par TDM ou IRM, aux 4 étages. Un primitif bronchique est à rechercher en priorité en l'absence de sites primitifs digestifs identifiés. L'Octréoscan® n'a pas d'indication dans les CNE contrairement au TEP-FDG qui doit être réalisé.

“ L'Octréoscan® n'a pas d'indication dans les carcinomes neuroendocrines contrairement au TEP-FDG qui doit être réalisé ”

Sur le plan biologique, le dosage de la chromogranine A est effectué après 7 jours minimum d'arrêt de traitement par IPP (si patient traité), même s'il est moins informatif que dans les TNE bien différenciées. Le dosage de la NSE et des LDH est mieux corrélé au pronostic de la maladie que celui de la chromogranine A [5, 10]. Le dosage de 5-HIAA urinaires et d'autres hormones digestives (gastrine, insuline, glucagon...) ne doit pas être réalisé, les CNE n'exprimant pas ces hormones. La recherche de prédisposition génétique (NEM1...) est inutile, du fait de l'absence de syndrome de prédisposition génétique associé au CNE.

“ Le dosage de la NSE et des LDH a une meilleure valeur pronostique que celui de la chromogranine A ”

“ Il n'y a pas de syndrome de prédisposition génétique associé aux carcinomes neuroendocrines ”

Pronostic

Le pronostic spontané des patients atteints de CNE reste très péjoratif avec une survie médiane en l'absence de traitement de 6 à 7 mois et un taux de survie relative à un an inférieur à 20 %. Dans 3 études récentes, la survie médiane était de 10-

14 mois pour l'ensemble de la population [4, 5, 10]. Les facteurs identifiés comme associés à un mauvais pronostic sont cliniques (altération de l'état général), biologiques (hyperplaquetose, LDH et NSE élevés) et morphologiques (stade de la maladie, nombre de sites métastatiques, présence de métastases cérébrales). L'impact pronostique de la localisation de la tumeur primitive et la morphologie des cellules (petites versus grandes) restent controversés. Le stade reste le principal facteur pronostique. Selon les données SEER, la survie médiane de 2 546 patients présentant un CNE gastro-intestinal (de 1973 à 2012) était de 38 mois pour les stades localisés, contre 5 mois pour les CNE d'emblée métastatiques [6].

“ La survie médiane est de 10-14 mois et le stade TNM reste le principal facteur pronostique ”

Prise en charge thérapeutique

La prise en charge des CNE-GEP ne peut être envisagée qu'après un diagnostic histologique, dans l'idéal relu dans le cadre du réseau d'anatomopathologistes experts (TENpath) et discutée en réunion de concertation pluridisciplinaire spécialisée du réseau RENATEN (Réseau National de prise en charge des Tumeurs neuro-Endocrines malignes rares sporadiques et héréditaires). Elle relève cependant de l'urgence thérapeutique et l'avis expert doit être obtenu dans les plus brefs délais. Cette mise au point reprend largement le *Thésaurus National de Cancérologie Digestive* (www.tncd.org). Le traitement de 1^{re} ligne recommandé est une chimiothérapie à base de sels de platine associé à de l'étoposide. Du fait de la rareté de ces tumeurs, peu d'études prospectives sont disponibles. Entre 1991 et 2013, 7 études rétrospectives portant sur l'efficacité des chimiothérapies de 1^{re} ligne chez les patients métastatiques ont été reportées (répertoriées dans la revue de Sorbye *et al.* [6]). Le niveau de preuve sur lequel repose la prise en charge des CNE-GEP, est donc faible et les recommandations reposent beaucoup sur la stratégie thérapeutique validée dans les carcinomes pulmonaires à petites cellules.

Prise en charge des carcinomes neuroendocrines localisés

Une chirurgie ne peut être discutée qu'en cas de maladie non métastatique, sans métastase ganglionnaire à distance (TEP-FDG requis dans cette indication), sans risque important de morbi-mortalité et pour un patient dont l'état général doit être conservé. En effet, il faut prendre en compte le risque très élevé de récurrence précoce, même pour

des tumeurs au stade localisé. Il est ainsi difficile de proposer aux patients une œsogastrectomie, une duodéno-pancréatectomie céphalique, ou une amputation abdomino-périnéale pour des CNE situés au niveau de l'œsophage, de l'ampoule de Vater/tête du pancréas, ou du bas rectum/canal anal en raison du risque iatrogène et du délai potentiel d'initiation d'une chimiothérapie post-opératoire. Brieau *et al.* viennent ainsi de rapporter les résultats d'une étude française multicentrique sur la prise en charge de 24 patients avec un CNE anorectal localisé [12]. Les 15 patients traités par chimiothérapie $\pm$ radiothérapie associée avaient une survie identique aux 9 patients qui avaient été opérés (survie sans progression de 13 et 13,3 mois, $p = 0,75$). Parmi les 9 patients traités par chirurgie, malgré une résection R0 chez 8 d'entre eux, 8 (89 %) patients ont présenté une récurrence de la maladie. Ces données sont identiques à celles de Smith *et al.* [13] qui retrouvaient un contrôle local de 93 % (92 % dans l'étude française) avec une approche non chirurgicale par la radiochimiothérapie. Ainsi, si la chirurgie ne permet pas de résection complète ou est contre-indiquée ou est considérée comme délabrante, le traitement de référence reste une chimiothérapie de type CDDP-étoposide, éventuellement associée à une radiothérapie (notamment œsophage, rectum). Très rarement, il peut être discuté une exérèse chirurgicale secondaire.

La place de la chirurgie d'emblée dans la stratégie de prise en charge des GEP-NET localisée est donc très restreinte. Si celle-ci est réalisée ou en cas de découverte histologique d'un CNE sur une résection chirurgicale d'une tumeur dont le diagnostic initial était erroné, il est alors recommandé de réaliser 4 cures de chimiothérapie adjuvante de type cisplatine (ou carboplatine en cas de contre-indication au cisplatine) associé à l'étoposide, par analogie aux tumeurs bronchiques à petites cellules (www.tncd.org). Le niveau de preuve est celui d'avis d'expert. Une chimiothérapie péri-opératoire (2-3 cures de platine-étoposide avant et après la chirurgie) peut aussi se discuter pour préparer au mieux une chirurgie curative et vérifier l'absence de métastase à distance. La radiothérapie cérébrale prophylactique pour éviter une évolution métastatique cérébrale, par analogie aux tumeurs bronchiques, peut se discuter (avis d'experts) chez les patients opérés à visée curative d'un CNE-GEP, après cette chimiothérapie adjuvante. En pratique, elle reste très peu réalisée étant donné son très faible niveau de preuve dans les CNE digestifs.

“ La chirurgie première reste très controversée dans les formes localisées compte tenu du haut risque de récurrence. Le traitement de référence reste une chimiothérapie de type platine-étoposide, voire une radiochimiothérapie ”

Le suivi post-thérapeutique des CNE localisés traités de manière curative nécessite une surveillance clinique, biologique (NSE) et morphologique (IRM ou TDM, aux 4 étages cérébro-thoraco-abdominopelvien) très rapprochée, tous les 2 mois pendant 6 mois, puis tous les 3 mois pendant 1 an, puis tous les 6 mois (www.tncd.org). L'intérêt du suivi par PET-FDG n'est pas validé en systématique, mais est discuté au cas par cas.

Prise en charge des carcinomes neuroendocrines métastatiques

La prise en charge d'un CNE d'emblée métastatique au diagnostic constitue une urgence thérapeutique, avec instauration immédiate d'une chimiothérapie à base de sels de platine (cisplatine ou à défaut carboplatine) et étoposide. La chimiosensibilité de ces tumeurs est importante avec des taux de réponse objective variant de 42 à 67 % [14, 15]. La résection chirurgicale de la tumeur primitive et des métastases n'est pas recommandée. L'efficacité de la chimiothérapie est évaluée tous les 2-3 cycles jusqu'à un total de 6 cycles, sur le modèle des CNE à petites cellules bronchiques pour lesquels il est démontré que la poursuite de la chimiothérapie au-delà de 6 cycles n'apporte pas de bénéfice. Cependant, la durée médiane de réponse n'est que de 8-9 mois, et l'apparition de résistances secondaires quasi constante conduit à une médiane de survie de 15 à 19 mois. Ce standard n'a pas évolué depuis 25 ans, les chimiothérapies « triplettes », avec l'ajout du paclitaxel ou de la vincristine ne semblent pas plus efficaces et sont plus toxiques [16, 17] (tableau 2). En cas de contre-indication au cisplatine, il est recommandé de le remplacer par du carboplatine, qui montre une efficacité similaire dans les CNE digestives [5]. Plusieurs études asiatiques proposent de remplacer l'étoposide par de l'irinotecan dès la première ligne de chimiothérapie [6, 18-20]. La surveillance post-thérapeutique repose sur l'imagerie TDM (ou IRM) thoraco-abdomino-pelvienne et cérébrale tous les 2 mois puis selon l'évolutivité. L'intérêt du suivi par TEP-FDG n'est pas démontré.

“ Le traitement d'un carcinome neuroendocrine peu différencié métastatique est une urgence thérapeutique et repose sur une chimiothérapie à base de sel de platine et étoposide ”

Deuxième ligne des CNE métastatiques

Lors d'une reprise évolutive de la maladie observée au-delà de 6 mois, le traitement repose sur le même schéma. En cas de reprise plus précoce, notamment < 3 mois, une chimiothérapie de seconde ligne est recommandée pour

Tableau 2. Principaux résultats des chimiothérapies dans les carcinomes neuroendocrines digestifs.

Auteur, année, référence	Type d'étude	Chimiothérapie	n	RO	SSP médiane (mois)	SG médiane (mois)
Chimiothérapie de première ligne dans les CNE-GEP par platine-étoposide						
Moertel, 1991, [14]	Rétrospectif	CDDP-étoposide	18	67 %	8	19
Mitry, 1999, [15]	Rétrospectif	CDDP-étoposide	41	42 %	9	15
Olsen, 2012, [16]	Rétrospectif	Carbo-étoposide-vincristine	31	52 %	6,6	15,3
Hainsworth, 2006, [17]	Phase II	Paclitaxel-carboplatine-étoposide	78	53 %	7,5	14,5
Sorbye, 2013, [5]	Rétrospectif	CDDP-étoposide	129	31 %	4	12
		Carbo-étoposide	67	30 %	4	11
		Carbo-étoposide-vincristine	28	44 %	4	10
Chimiothérapie de première ligne dans les CNE-GEP par platine-irinotécan (Iri)						
Mani 2008, [19]	Phase II	Iri-CDDP	20	58 %	4	-
Munhoz 2013, [18]	Rétrospectif	Iri-CDDP	28	46 %	3,7	11,7
Machida, 2012, [20]	Rétrospectif	Iri-CDDP	160	50 %	5,2	13,0
		CDDP-étoposide	46	28 %	4,0	7,3
Chimiothérapie après la première ligne dans les CNE-GEP						
Welin, 2011, [23]	Rétrospectif	Témozolomide ± capécitabine ± bévacizumab	25	32 %	6	22*
Olsen, 2012, [24]	Rétrospectif	Témozolomide	28	0 %	2,4	3,5
Hentic, 2012, [21]	Rétrospectif	Folfiri	19	31 %	4	18*
Hadoux, 2013, [22]	Rétrospectif	Folfox	21	29 %	4,3	9,5
Sorbye, 2013, [5]	Rétrospectif	Témozolomide ou taxotère	100	18 %	3**	19*

* Survie globale calculée à partir du diagnostic de la maladie métastatique ; ** Survie sans progression calculée arbitrairement.
RO, réponse objective ; SSP, survie sans progression ; SG, survie globale.

les patients dont l'état général reste relativement conservé, même si aucun standard n'est établi en 2^e ligne dans les CNE-GEP. Il existe 5 études récentes, sur des cohortes limitées de patients, publiées entre 2011 et 2013 (*tableau 2*). Trois schémas sont proposés (niveau de la recommandation : avis d'experts dans le TNCD) : Folfiri [21] ou Folfox/Capox [22] ou à base de témozolomide [23]. Dans les cancers bronchiques à petites cellules, le topotécan dispose d'une AMM en 2^e ligne mais ne semble pas efficace dans les CNE-GEP. Le Folfiri est l'association de chimiothérapie la plus réalisée en France en 2^e ligne (résultats de la cohorte nationale sur 119 patients recevant une 2^e ligne de traitement, 59 ont reçu du Folfiri [10]). Cependant, les survies sans progression avec ces traitements sont seulement de 3-4 mois [21-24]. Il est recommandé d'inclure ces patients dans des essais cliniques de phase I en l'absence d'essais thérapeutiques dédiés.

Autres traitements et thérapies ciblées

Il n'existe à ce jour aucune donnée documentant l'activité antitumorale des analogues de la somatostatine, de l'embolisation artérielle hépatique ou de la radiothérapie vectorisée interne, utilisant les analogues de la somatostatine comme vecteurs de radio-isotopes (¹⁷⁷Lutetium et ⁹⁰Yttrium), dans les CNE, contrairement aux TNE bien différenciées.

Concernant les antiangiogéniques, les premiers résultats de l'étude française sur les CNE-GEP, dont l'objectif principal était d'identifier des facteurs moléculaires prédictifs de réponse à un inhibiteur de tyrosine-kinases, le sunitinib (NCT01215578), ont été rapportés en janvier 2016 (ASCO GI). Son activité semble relativement faible (23 % de contrôle de la maladie) et surtout présent en cas de tumeur avec un Ki67 < 47 %. Cette molécule pourrait

aussi être étudiée plus précocement, en entretien après 6 cycles de cisplatine-étoposide, comme cela a été montré dans les carcinomes pulmonaires. Le bévazumab associé à une chimiothérapie cytotoxique a montré des résultats prometteurs dans les TNE bien différenciées (essai BETTER). L'efficacité du bévazumab a également été suggérée chez des patients avec un CNE, mais jamais dans le cadre d'une phase II. Son association avec le Folfiri, qui est un des schémas proposés en 2^e ligne dans les CNE-GEP, est efficace et bien tolérée dans le cancer colorectal métastatique. Un essai de phase II-randomisée (BEVANE) testant le Folfiri $\pm$ bévazumab après échec d'une première ligne platine-étoposide a obtenu un financement public et devrait ouvrir en France en 2016.

Par ailleurs, une étude préclinique a démontré l'effet antitumoral d'un inhibiteur de la voie mTOR, l'évérolimus, dans un modèle préclinique de CNE-GEP [25], mais aucun résultat n'est actuellement disponible chez l'homme. Deux études de phase II testant l'évérolimus dans les CNE-GEP sont en cours en Allemagne et en Europe du Nord, soit en monothérapie (NCT02113800), soit associé au témozolomide chez des patients atteints d'un CNE-GEP métastatiques, dont le Ki67 se situe entre 20 et 55 % (NCT02248012).

Concernant les nouvelles molécules, des essais cliniques utilisant des inhibiteurs de Bcl-2, de tyrosine kinase dans les CNE pulmonaires n'ont malheureusement pas abouti à des résultats concluants. Un essai associant un anti-CDK (le roniciclib) à une chimiothérapie ciplatine-étoposide (6 cycles) puis poursuivi en monothérapie en entretien, semblent montrer des résultats intéressants dans les

carcinomes pulmonaires, les résultats de la phase II randomisée sont en attente. Enfin, l'immunothérapie avec les anti-PD1 et PDL1, prometteuse dans les carcinomes pulmonaires et les mélanomes, pourrait aussi avoir un intérêt dans les CNE-GEP d'autant plus que des résultats préliminaires montrent une forte expression de PD1/PDL1 dans les CNE-GEP ou de primitif cutané (tumeur de Merkel) dans lequel un essai de phase II est en cours.

Liens d'intérêts : PF déclare n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article. CLB : honoraires reçus de la part d'Ipsen, Novartis, Pfizer, Sanofi et Keocyt. TW : honoraires reçus de la part d'Ipsen, Novartis, Pfizer, Celgen et Keocyt.

Références

Les références importantes apparaissent en gras.

1. Yao JC, Hassan M, Phan A, et al. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol* 2008 ; 26 : 3063-72.
2. Rindi GKD, Arnold R, Klöppel G, Bosman FT, Komminoth P, Capella C, Solcia E. Nomenclature and classification of neuroendocrine neoplasms of the digestive system. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, editors. WHO classification of tumours of the digestive system. Lyon : IARC, 2010
3. Velayoudom-Cephise FL, Duvillard P, Foucan L, et al. Are G3 ENETS neuroendocrine neoplasms heterogeneous? *Endoc Relat Cancer* 2013 ; 20 : 649-57.
4. Heetfeld M, Chougnet CN, Olsen IH, et al. Characteristics and treatment of patients with G3 gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms. *Endoc Relat Cancer* 2015 ; 22 : 657-64.
5. Sorbye H, Welin S, Langer SW, et al. Predictive and prognostic factors for treatment and survival in 305 patients with advanced gastrointestinal neuroendocrine carcinoma (WHO G3) : the NORDIC NEC study. *Ann Oncol* 2013 ; 24 : 152-60.
6. Sorbye H, Strosberg J, Baudin E, Klimstra DS, Yao JC. Gastroenteropancreatic high-grade neuroendocrine carcinoma. *Cancer* 2014 ; 120 : 2814-23.
7. Yachida S, Vakiani E, White CM, et al. Small cell and large cell neuroendocrine carcinomas of the pancreas are genetically similar and distinct from well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol* 2012 ; 36 : 173-84.
8. Jiao Y, Shi C, Edil BH, et al. DAXX/ATRX, MEN1, and mTOR pathway genes are frequently altered in pancreatic neuroendocrine tumors. *Science* 2011 ; 331 : 1199-203.
9. Banck MS, Kanwar R, Kulkarni AA, et al. The genomic landscape of small intestine neuroendocrine tumors. *J Clin Invest* 2013 ; 123 : 2502-8.
10. Walter T, Baudin E, Le Malicot K, et al. Characteristics, prognosis and treatments of 294 patients with poorly differentiated neuroendocrine carcinoma : The FFCD-GTE national cohort. *J Clin Oncol* 2015 ; 33 (suppl ; abstr 4095).
11. Sobin LH, Wittekind C. *TNM Classification of malignant tumours*, Seventh edition, Wiley-Blackwell, 2009
12. Brieau B, Lepere C, Walter T, et al. Radiochemotherapy Versus Surgery in Nonmetastatic Anorectal Neuroendocrine Carcinoma : A Multicenter Study by the Association des Gastro-Enterologues Oncologues. *Medicine* 2015 ; 94 : e1864.
13. Smith JD, Reidy DL, Goodman KA, Shia J, Nash GM. A retrospective review of 126 high-grade neuroendocrine carcinomas of the colon and rectum. *Ann Surg Oncol* 2014 ; 21 : 2956-62.
14. Moertel CG, Kvols LK, O'Connell MJ, Rubin J. Treatment of neuroendocrine carcinomas with combined etoposide and cisplatin. Evidence of major

Take home messages

- Les carcinomes neuroendocrines digestifs sont rares, le plus souvent symptomatiques au diagnostic.
- Ils sont dans plus de 80 % des cas découverts au stade métastatique.
- La prise en charge thérapeutique repose sur une chimiothérapie à base de sels de platine à réaliser en urgence.
- Le principal diagnostic différentiel est représenté par une tumeur neuroendocrine bien différenciée de grade 3, dont le pronostic et la prise en charge sont très différents.
- L'arsenal thérapeutique pour les carcinomes neuroendocrines gastro-entéropancréatiques reste très limité et l'activité de recherche clinique doit être une priorité.

therapeutic activity in the anaplastic variants of these neoplasms. *Cancer* 1991 ; 68 : 227-32.

15. Mitry E, Baudin E, Ducreux M, *et al.* Treatment of poorly differentiated neuroendocrine tumours with etoposide and cisplatin. *Br J Cancer* 1999 ; 81 : 1351-5.

16. Olsen IH, Langer SW, Jepsen I, *et al.* First-line treatment of patients with disseminated poorly differentiated neuroendocrine carcinomas with carboplatin, etoposide, and vincristine : a single institution experience. *Acta Oncol* 2012 ; 51 : 97-100.

17. Hainsworth JD, Spigel DR, Litchy S, Greco FA. Phase II trial of paclitaxel, carboplatin, and etoposide in advanced poorly differentiated neuroendocrine carcinoma : a Minnie Pearl Cancer Research Network Study. *J Clin Oncol* 2006 ; 24 : 3548-54.

18. Munhoz RR, Ferrari AR, Braghiroli MI, *et al.* Combination of irinotecan and a platinum agent for poorly differentiated neuroendocrine carcinomas. *Rare tumors* 2013 ; 5 : e39.

19. Mani MA, Jacobs C, Wolff RA, Ajani JA, Yao JC, Phan AT. A phase II study of irinotecan and cisplatin for metastatic or unresectable high grade neuroendocrine carcinoma. *J Clin Oncol* 2008 ; 26 (suppl ; abstr 1550).

20. Machida NYT, Kasuga A. Multicenter retrospective analysis of systemic chemotherapy for advanced poorly differentiated neuroendocrine carcinoma of the digestive system. *J Clin Oncol* 2012 ; 30 (suppl ; abstr 4046).

21. Hentic O, Hammel P, Couvelard A, *et al.* FOLFIRI regimen : an effective second-line chemotherapy after failure of etoposide-platinum combination in patients with neuroendocrine carcinomas grade 3. *Endoc Relat Cancer* 2012 ; 19 : 751-7.

22. Hadoux J, Malka D, Planchard D, *et al.* Post-first-line FOLFOX chemotherapy for grade 3 neuroendocrine carcinoma. *Endoc Relat Cancer* 2015 ; 22 : 289-98.

23. Welin S, Sorbye H, Sebjornsen S, Knappskog S, Busch C, Oberg K. Clinical effect of temozolomide-based chemotherapy in poorly differentiated endocrine carcinoma after progression on first-line chemotherapy. *Cancer* 2011 ; 117 : 4617-22.

24. Olsen IH, Sorensen JB, Federspiel B, *et al.* Temozolomide as second or third line treatment of patients with neuroendocrine carcinomas. *Scient World J* 2012 ; 170496.

25. Bollard J, Couderc C, Blanc M, *et al.* Antitumor effect of everolimus in preclinical models of high-grade gastroenteropancreatic neuroendocrine carcinomas. *Neuroendocrinology* 2013 ; 97 : 331-40.

Annexe 4 :

Freis P, Graillot E, Rousset P, Hervieu V, Chardon L, Lombard-Bohas C, Walter T.

Prognostic factors in neuroendocrine carcinoma: biological markers are more useful than histomorphological markers.

Article soumis et en révision à *Scientific Reports*.

Prognostic factors in neuroendocrine carcinoma: biological markers are more useful than histomorphological markers

Patricia Freis^{1,6}, Emmanuelle Graillot², Pascal Rousset³, Valérie Hervieu¹, Laurence Chardon⁴, Catherine Lombard-Bohas², Thomas Walter^{2,5,*}

¹Hospices Civils de Lyon, Hôpital Edouard Herriot, Service Central d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, 69437 Lyon cedex 03, France

²Hospices Civils de Lyon, Hôpital Edouard Herriot, Service de Gastroentérologie et d'Oncologie Digestive, 69437 Lyon cedex 03, France

³Hospices Civils de Lyon, Hôpital Edouard Herriot, Radiologie, 69437 Lyon cedex 03, France

⁴Hospices Civils de Lyon, Hôpital Edouard Herriot, Service de Biochimie, 69437 Lyon cedex 03, France

⁵University of Lyon, Université Lyon 1, France

⁶Equipe Signalisation de l'Immunité Innée et Oncogénèse, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, UMR Inserm 1052 CNRS 5286, 69373 Lyon cedex 08, France

*Corresponding author: thomas.walter@chu-lyon.fr

Pavillon E, UJOMM, Hôpital Edouard Herriot, 69437 Lyon Cedex 03, France

Fax number: (33) 4 72 11 91 53

Phone number: (33) 4 72 11 00 94

Running head: Prognostic of neuroendocrine carcinoma

Keywords: Gastrointestinal cancer, neuroendocrine carcinoma, Ki-67 index, prognosis, biological and haematological features, LDH, AST

Electronic word count:

Manuscript word count: 4485 words

Manuscript word count (excluding abstract, references, methods and figure legends): 2447 words

Number of manuscript pages: 19

1 figure and 4 tables

Number of references: 24

Abstract

Gastroenteropancreatic neuroendocrine carcinomas (GEP-NEC) are very aggressive type of cancer, for which prognostic factors are lacking. We analysed clinical and histomorphological prognostic markers of overall survival (OS), completed with a record of biological and haematological data of GEP-NEC patients, diagnosed between December 2002 and December 2015. The median OS was 16 months (95% CI 13.9-18.1). After univariate analysis, performance status (PS) ≥ 2 and stage IV were associated with a worse outcome (9 months and 14 months, respectively), as well as patients with LDH and AST levels ≥ 2 ULN (9 months and 8 months, respectively). After multivariate analysis, LDH and AST levels were the only factors which remain statistically significant, associated with a better survival: HR of 0.36 ($p=0.04$) and 0.31 ($p=0.03$), respectively. When patients had high LDH and AST levels, OS was 20 months, when they had high LDH or AST levels, 13 months and 8 months in groups of patients with low LDH and AST levels ($p < 0.001$). Therefore, biological data appeared to be more relevant prognostic factors than usual factors described in other studies (PS, stage, Ki-67). Considering LDH and AST levels at diagnosis could help physicians to predict survival and to stratify patients for clinical trials.

Introduction

Gastroenteropancreatic neuroendocrine carcinomas (GEP-NEC) represent less than 1% of digestive cancers and 7 to 21% of neuroendocrine neoplasms ¹. In the 2010 World Health Organisation (WHO) classification, NEC are defined as poorly differentiated tumours, with small or large cells, expressing neuroendocrine markers chromogranin A (CgA) and synaptophysin, and with a high proliferative index (grade 3 with a Ki-67 > 20%).

NEC prognosis is poor, as patients usually present with metastatic disease at diagnosis (more than 80% of patients) and because of the relative lack of effective therapy. The prognosis varies based on disease stage at diagnosis. Indeed, based on Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) data on 2546 patients with gastrointestinal NEC, Sorbye *et al.* evaluated that the median survival of patients with localized disease was 38 months, of those with regional disease 16 months, and of those with distant disease 5 months ². To date, prognostic survival factors have been rarely explored in NEC. Some authors have investigated biological data as prognostic factors in neuroendocrine tumour (NET) and NEC patients, including lactate dehydrogenase (LDH) ^{3,4}, CgA ^{3,4}, neuron-specific enolase (NSE)⁴, platelets, haemoglobin, white blood cell count, alkaline phosphatase (ALP), and C-reactive protein (CRP) ³.

Several studies in other aggressive cancer types have described biological characteristics as prognostic tools, such as LDH and ALP levels in small cell lung cancer ^{5,6} or neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in biliary tract and gastric cancers ^{7,8}. Recent studies have also reported the potential of blood transcript analysis as predictive and prognostic marker of progression in well differentiated NET ^{9,10}, but it was not studied in NEC patients. Moreover, molecular analysis, such as P53 and RB proteins staining are probably promising in NEC ¹¹, but these analyses are not already available and validated for survival prognosis in NEC.

In this context, we decided to conduct a retrospective study to evaluate usual relevant clinical and histomorphological prognostic markers of overall survival in patients with NEC, completed with biological and haematological data, which are convenient and directly available for the physician.

Results

Patient characteristics

A total of 109 patients referred to the Edouard Herriot hospital (Lyon, France) between 2002 and 2015 for GEP-NEC were identified. Nine patients were excluded because of: well-differentiated NET (n=6) and unavailable medical file (n=3). Therefore, one hundred patients were included in the study.

The median age at diagnosis was 64 years (mean 63 years, range 30-89 years) and 67% were male. The most frequent primary tumour locations were: duodenum-pancreas (30%), colon-rectum (26%), unknown location (24%), and oesophagus-stomach (15%). Symptoms at diagnosis were also collected. Pain (57%) and weight loss (40%) were common features. Bowel disorders (20%), icterus (13%), and mass syndrome (6%) were less frequently reported. Thirty-one percent had an Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG-PS) ≥ 2 . Only 1 patient presented a functioning tumour with ACTH secretion. The majority of patients had stage IV disease (81%), according to the presence of at least 1 metastatic site. The most common metastatic sites were liver (56%) and distant lymph nodes (50%). Somatostatin Receptor Scintigraphy (SRS) was performed in 24 patients (24% of the population), and it was positive in 48% of these; fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) was performed in 46 patients (46% of population) and was positive in 91% of these. Primary tumour resection was performed in 28% of the population (Table 1), and 42% of them presented a stage I-III tumour.

Increased (≥ 2 ULN) levels of CgA were found in 41% of the 44 patients with data, increased NSE was found in 59% of the 44 patients with data, and LDH in 29% of the 52 with data. Among the 15 patients with an elevated LDH level (Table 2), 60% presented liver metastasis. Median ALP level was at the ULN. Increased AST levels were found in 19/61 of those with data (31%; Table 2), among whom 89% had liver metastasis. Thirty percent of patients with liver metastasis had high AST level, and only 4% patients without liver metastases had high AST level. The median values for complete blood

cell count and coagulation factors (fibrinogen, PT, aPTT) were normal, except for fibrinogen which was near the ULN (Table 2).

Histological analysis was performed on primary tumour site (63%) or on metastatic site (36%). Large cell NEC was the most prevalent morphology (59%). Synaptophysin staining was positive for almost all patients with data (98%) and nearly three-quarters of CgA staining was positive for 92% with data. The median level of Ki-67 index was 70% (20-100%). Necrosis status was recorded in 58 patients, and 86% of them were positive (Table 3).

Overall survival and prognostic factors

The median (range) duration of follow-up was 13 (1-91) months and the median overall survival (OS) was 16 months (95% CI 13.9-18.1; Figure 1a). After univariate analysis, the following clinical, biological, and morphological factors were associated with shorter OS: ECOG-PS ≥ 2 , stage IV disease (Table 1), LDH ≥ 2 ULN, and AST ≥ 2 ULN (Table 2). The other factors investigated, such as inflammation markers (low albumin level, high CRP level and high NLR ratio) were not prognostic factors in the present study. Patients with a Ki-67 $< 55\%$ (median OS: 22 months; 95% CI 10.2-33.8) had a longer overall survival than patients with a Ki-67 $\geq 55\%$ (median OS: 14 months; 95% CI 12.0-16.0), but this difference was not significant ($p=0.06$) (Table 3). Primary tumour resection was associated with better median OS (25 months, 95% CI 14.1-35.9), compared to non-resected patients, (13 months, 95% CI 11.4-14.6; $p=0.004$) (Table 1), but was not included into the multivariate analysis because this treatment is not a prognostic factor already presents at diagnosis. The resection of metastasis had no impact on OS (Table 1).

For the multivariate analysis, we selected factors statistically significant after univariate analysis, namely ECOG PS, stage, AST and LDH levels. As shown in Table 1 and Table 2, ECOG-PS data was available for 64 patients, stage data for all patients, AST data for 61, and LDH data for 52 patients. The multivariate analysis was performed on 39 patients who had no missing values. However, we compared median OS of patients with all data available ($n=39$) with patients who had at least one missing data ($n=61$). The median OS for the 2 groups did not differ (15 (95% CI 11.9-18.1) versus 16

(95% CI 12.7-19.3) months, $p=0.51$). After Cox regression, we found that elevated LDH (HR 0.36, 95% CI 0.13-0.97; $p=0.04$) and AST (HR 0.31, 95% CI 0.11-0.91; $p=0.03$) levels were significantly associated with better survival (Table 4, and Figure 1b and c). After stratification of patients on their median OS, 3 groups of patients were clearly separated into prognosis groups. The OS was 20 months (95% CI 3.9-36.1) when neither AST nor LDH levels were above 2 ULN, 13 months (95% CI 7.6-18.4) when AST or LDH level were above 2 ULN, and 8 months (95% CI 0.0-19.0) when AST and LDH were above 2 ULN ($p<0.001$; Figure 2d).

Discussion

The aim of this study was to analyse in a GEP-NEC cohort several prognostic factors, including a review of biological factors, in addition to other characteristics already observed at baseline in this tumour type, namely clinical, morphological, and histological factors. Searching for additional prognostic factors is essential in NEC, as clinicians are lacking tools to identify patients who may have longer survival and therefore may benefit more than one line of treatment and/or inclusion in clinical trials.

By multivariate analysis, when adjusted for other variables, including ECOG-PS and stage, AST and LDH levels independently predicted the OS of patients with NEC. If confirmed by other studies, stratification of patients based on AST and LDH levels could help physicians to predict survival and separate patients into groups for clinical trials. In the present study, median OS for patients with high AST and LDH levels, high AST or LDH levels, and low AST and LDH levels significantly differs from each other. The NORDIC study, performed in 12 Nordic University Hospitals and 308 eligible patients also demonstrated that elevated LDH level is a negative prognostic factors³, as well as a study on 100 colorectal NEC performed in a single cancer centre in Texas¹⁴. Both studies did not analysed all liver enzymes, as we did in the present study. Therefore, this is the first report of an association between elevated transaminase and poor prognosis. A high LDH level can be explained by the reliance of tumour cells on increased glycolysis that results in increased lactate production instead of aerobic respiration in the mitochondria, even under oxygen-sufficient conditions (a process also known as the Warburg effect)

¹⁵. As NEC positively respond to FDG-PET means that they consume high dose of glucose and therefore produce more lactate than normal cells. Moreover, these tumours are poorly vascularized and highly proliferative ¹⁶, two factors that could promote hypoxia within tumours. These conditions (high consumption of glucose and hypoxia environment) lead to higher LDH levels. More generally, high LDH level is known to be a factor of poor prognosis in other cancers, such as lung ¹⁷ and breast cancer ¹⁸, and two other studies in NEC (pulmonary ¹⁹ and colorectal ¹⁴) also reported high LDH serum levels. Among 61 patients with AST data at diagnosis available, 31% had $AST \geq 2$ ULN and they were associated to poorer outcome in multivariate analysis. The rise of AST serum levels is, at least in part, explained by liver involvement as the proportion of patients with high AST levels was 31% among those with liver metastases *versus* 4% in those without liver metastases.

Very recently, one study performed on 149 pancreatic neuroendocrine neoplasms demonstrated that CRP level is a new prognostic factor for survival ²⁰. This is, to date, the only study that analysed an inflammatory marker as prognostic tool in neuroendocrine neoplasms. The CRP/albumin ratio is also a prognostic factor for survival in small cell lung cancer ²¹. The NLR reflects immunity status of patients and a high NLR is associated to poorer survival in biliary tract cancer ⁸ and in gastric cancer ⁷. Based on these studies, we analysed CRP, albumin and NLR levels in our NEC cohort. Neither CRP nor albumin nor NLR levels were prognostic factors in our population.

Among histological characteristics, and accordingly to other studies, there was no difference between small or large cell tumours in the present study ^{3,22-24}. The NORDIC study described the cut-off of 55% for Ki-67 as a prognosis factor for NEC ³, we therefore analysed OS regarding this factor, and patients with a Ki-67 above 55% did have a shorter OS, but this difference was not significant. Primary tumour resection but not metastatic resection, was associated with better OS after univariate analysis and remains an option for the treatment of local NEC.

The limitations of this study are the ones which inherently apply to population data which are collected retrospectively. In addition, data were collected in a single institution. A lack of acute information regarding the mitotic index conducts to the suppression of this parameter. This study was performed on a small number of patients, due to the rarity of the disease and compared to other studies

performed in multiple institutions. Moreover, biological data are not available for all patients, which decreases the power of the multivariate analysis. However, the median OS between the group of patients with all data available and the group with at least one missing data was similar, which means that both population are close, based on median OS analysis.

In conclusion, we here describe that patients could be stratify into 3 groups, thanks to combination of 2 variables, LDH and AST levels, which can help physicians to predict survival and to choose eligible patients for clinical trials. The results of this study have to be confirm with a prospective study, ideally in a multicentre setting.

Patients and methods

Population

Patients with NEC were identified from our neuroendocrine registry (ENETS centre of Excellence), including gastroenteropancreatic and unknown location of primary tumours, and diagnosed between December 2002 and December 2015. The diagnosis of NEC was confirmed according to WHO 2010 classification with: i) a poorly differentiated carcinoma (small-cell or large-cell), ii) a grade 3 tumour (Ki-67 > 20 % and/or mitotic index > 20 mitotic count per 10 HPF (2 mm²)), and iii) immunohistochemical detection of at least two neuroendocrine markers including CgA and synaptophysin ¹². Our database is registered and local research ethics committee approved the study. All patients signed an informed consent.

Clinical, morphological and histological data

The following clinical features were recorded for all patients at diagnosis: age, gender, and presence or absence of symptoms within the 3 months before diagnosis of NEC. Weight loss was defined as the occurrence of a > 5% decrease in weight within the 3 months before diagnosis. Morphological data collected included primary and metastatic locations, TNM stage, number of metastatic sites, uptake

on somatostatin receptor scintigraphy (SRS, recorded as positive/negative) with indium-111-pentetreotide, and uptake on ^{18}F -fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET, recorded as positive/negative). Pathological data included cell size (small *versus* large), Ki-67 index, and presence of necrosis. Immunohistochemistry of CgA and synaptophysin were recorded as positive and negative. Evaluation of Ki-67 expression was performed in at least 2000 tumour cells, according to the current recommendations for GEP neuroendocrine tumours ¹³.

Biological data

Biological data were collected as follows: serum plasma levels of chromogranin A (CgA, normal < 98 µg/L), neuron-specific enolase (NSE, normal < 12.5 µg/L), lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin, albumin, C-reactive protein (CRP), fibrinogen, prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT), haemoglobin (Hb), leukocytes, lymphocytes, neutrophils, and platelets. The neutrophils-to-lymphocytes ratio (NLR) was calculated and was considered high if $\text{NLR} \geq 3$ ^{7,8}. CgA, NSE, and LDH levels were considered high if they were twice above the upper limit of normal (ULN).

Statistical analysis

Categorical variables were expressed as percentages and continuous variables were expressed as median with range. OS was calculated from the date of diagnosis to the date of death or last follow-up. OS were assessed using Kaplan–Meier method and comparisons were performed using the log-rank test. For continuous variables, the cut-off level chosen was their median value and we explored cut-offs described in the literature for Ki-67 (55%) ³, CgA (2 ULN) ^{3,4}, NSE (2 ULN) ⁴, LDH (2 ULN) ^{3,4}, and NLR (>3) ^{7,8}. Only variables with a *P* value of < 0.05 according to univariate analysis were introduced in the Cox model. Relative risks were expressed as hazard ratios (HRs) with 95% confidence intervals (CIs). A *P* value of < 0.05 was considered statistically significant. The cut-off date for the final analysis

was 1 May 2016. All statistical analyses were performed using Statistical Package for Social Sciences version 17.0 (SPSS, Chicago, IL, US).

References

1. Yao, J. C. *et al.* One hundred years after ‘carcinoid’: epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J. Clin. Oncol.* **26**, 3063–3072 (2008).
2. Sorbye, H., Strosberg, J., Baudin, E., Klimstra, D. S. & Yao, J. C. Gastroenteropancreatic high-grade neuroendocrine carcinoma. *Cancer* **120**, 2814–2823 (2014).
3. Sorbye, H. *et al.* Predictive and prognostic factors for treatment and survival in 305 patients with advanced gastrointestinal neuroendocrine carcinoma (WHO G3): the NORDIC NEC study. *Ann. Oncol.* **24**, 152–160 (2013).
4. Walter T, Tougeron D, Baudin E, Le Malicot K, Lecomte T, Guigay J, Hentic O, Manfredi S, Bonnet I, Guimbaud R *et al.* “Characteristics, prognosis and treatments of 294 patients with poorly differentiated neuroendocrine carcinoma.” *J. Clin. Oncol.*
5. Hermes, A., Gatzemeier, U., Waschki, B. & Reck, M. Lactate dehydrogenase as prognostic factor in limited and extensive disease stage small cell lung cancer - a retrospective single institution analysis. *Respir Med* **104**, 1937–1942 (2010).
6. Kang, E. J. *et al.* Prognostic Factors and Skeletal-Related Events in Patients with Small Cell Lung Cancer with Bone Metastases at the Time of Diagnosis. *Oncology* **90**, 103–111 (2016).
7. Grenader, T. *et al.* Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in advanced oesophago-gastric cancer: exploratory analysis of the REAL-2 trial. *Ann. Oncol.* **27**, 687–692 (2016).
8. McNamara, M. G. *et al.* Neutrophil/lymphocyte ratio as a prognostic factor in biliary tract cancer. *Eur. J. Cancer* **50**, 1581–1589 (2014).
9. Pavel, M. *et al.* NET Blood Transcript Analysis defines the Crossing of the Clinical Rubicon: When Stable Disease becomes Progressive. *Neuroendocrinology* (2016). doi:10.1159/000446025
10. Modlin, I. M., Bodei, L. & Kidd, M. Neuroendocrine tumor biomarkers: From monoanalytes to transcripts and algorithms. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* **30**, 59–77 (2016).

11. 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. *Am. J. Surg. Pathol.* **36**, 173–184 (2012).
12. Baudin, E. *et al.* Neuron-specific enolase and chromogranin A as markers of neuroendocrine tumours. *Br. J. Cancer* **78**, 1102–1107 (1998).
13. Rindi, G. *et al.* TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch.* **449**, 395–401 (2006).
14. Conte, B. *et al.* High-Grade Neuroendocrine Colorectal Carcinomas: A Retrospective Study of 100 Patients. *Clin Colorectal Cancer* **15**, e1-7 (2016).
15. Warburg, O. On the Origin of Cancer Cells. *Science* **123**, 309–314 (1956).
16. Cros, J. & Couvelard, A. Contribution of angiogenesis and rationale for use of targeted therapies in digestive neuroendocrine tumours. *Cancéro dig.* **4**, 76–82 (2012).
17. Zhang, X. *et al.* Prognostic significance of serum LDH in small cell lung cancer: A systematic review with meta-analysis. *Cancer Biomark* **16**, 415–423 (2016).
18. Agrawal, A., Gandhe, M. B., Gupta, D. & Reddy, M. V. R. Preliminary Study on Serum Lactate Dehydrogenase (LDH)-Prognostic Biomarker in Carcinoma Breast. *J Clin Diagn Res* **10**, BC06-08 (2016).
19. Iyoda, A. *et al.* Clinical characterization of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma and large cell carcinoma with neuroendocrine morphology. *Cancer* **91**, 1992–2000 (2001).
20. Wiese, D. *et al.* C-Reactive Protein as a New Prognostic Factor for Survival in Patients With Pancreatic Neuroendocrine Neoplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **101**, 937–944 (2016).
21. Zhou, T. *et al.* Ratio of C-Reactive Protein/Albumin is An Inflammatory Prognostic Score for Predicting Overall Survival of Patients with Small-cell Lung Cancer. *Sci Rep* **5**, 10481 (2015).
22. Shia, J. *et al.* Is non-small cell type high-grade neuroendocrine carcinoma of the tubular gastrointestinal tract a distinct disease entity? *Am. J. Surg. Pathol.* **32**, 719–731 (2008).
23. Maru, D. M. *et al.* Retrospective study of clinicopathologic features and prognosis of high-grade neuroendocrine carcinoma of the esophagus. *Am. J. Surg. Pathol.* **32**, 1404–1411 (2008).

24. Bernick, P. E. *et al.* Neuroendocrine carcinomas of the colon and rectum. *Dis. Colon Rectum* **47**, 163–169 (2004).

Acknowledgements

We thank Dr Philip Robinson (DRCI, Hospices Civils de Lyon) for help in manuscript preparation.

Author contributions statements

Conception and design: PF, TW; collection and assembly of data: PF, TW, CL, PR, VH; data analysis, interpretation and manuscript writing: PF, TW; and final approval for the manuscript: all authors.

Declaration of interests

The authors declare that there is no conflict of interest that could be perceived as prejudicing the impartiality of the research reported.

Competing Financial Interests statement

This research did not receive any specific grant from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sector.

Figure legends

Figure 1: Overall survival (OS) among the population with GEP-NEC (a), and according to serum AST (b), serum LDH (c) levels, and combining AST and LDH (d).

Tables

Table 1: Clinical data and univariate analysis of overall survival.

	n (%)	Median OS, months (95% CI)	P value
All patients	100 (100)	16 (13.9-18.1)	-
Age at diagnosis (years) ^a	64 (30-89)	-	0.26
Gender: male	67 (67)	-	0.74
Primary tumour location (n=100)			0.88
Unknown	24 (24)	15 (11.9-18.1)	
Oesophagus	4 (4)	16 (0.0-38.5)	
Stomach	11 (11)	16 (3.6-28.4)	
Duodenum	7 (7)	14 (0.0-28.4)	
Pancreas	23 (23)	19 (12.3-25.7)	
Jejunum	1 (1)	11 (-)	
Colon	10 (10)	12 (3.2-20.8)	
Rectum	16 (16)	16 (3.5-28.5)	
Anal canal	2 (2)	18 (-)	
Other ^b	2 (2)	16 (11.7-20.3)	
Clinical symptoms at diagnosis (n=89)			
Pain	51 (57)	-	0.96
Weight loss	36 (40)	-	0.52
Bowel disorders	18 (20)	-	0.41
Icterus	12 (13)	-	0.16
Mass syndrome	5 (6)	-	0.76
ECOG-PS (n=64)			0.02
< 2	44 (69)	18 (14.0-22.0)	
≥ 2	20 (31)	9 (7.0-11.0)	
Functioning tumours (n=94)	1, ACTH (1)	-	0.23
Stage (n=100)			0.02
I-III	19 (19)	25 (9.9-40.1)	
IV	81 (81)	14 (11.5-16.5)	
Number of metastatic sites (n=100)			0.11
0	19 (19)	25 (9.9-40.1)	
1	42 (42)	14 (12.4-15.6)	
2	22 (22)	12 (0.0-25.4)	
> 2	17 (17)	12 (8.5-15.5)	
Location of metastatic sites (n=100)			
Liver	56 (56)	-	0.11
Lymph nodes	50 (50)	-	0.71
Bone	11 (11)	-	0.99
Lung	11 (11)	-	0.18
Peritoneal	6 (6)	-	0.47
Adrenal gland	4 (4)	-	0.64
Brain	4 (4)	-	0.28
Other ^c	7 (7)	-	0.88
Nuclear imaging			
SRS uptake (n=24)	11 (48)	-	0.11
FDG-PET uptake (n=46)	42 (91)	-	0.33
Primary tumour resection (n=100)			0.004
Yes	28 (28)	25 (14.1-35.9)	
No	72 (72)	13 (11.4-14.6)	
Metastasis resection (n=100)			0.32
Yes	11 (11)	27 (8.5-45.5)	
No	89 (89)	15 (12.6-17.4)	

Abbreviations: ACTH, Adrenocorticotrophic hormone; CI, confidence interval; ECOG-PS, Eastern Cooperative Oncology Group Performance status; FDG-PET, fluorodeoxyglucose positron emission tomography; OS, overall survival; SRS, Somatostatin receptor scintigraphy; Notes: ^aMedian (range); ^bOther primary tumor sites: appendix (1), gallbladder (1); ^cOther locations of metastasis: kidney (1), muscle (1), cutaneous (2), pancreas (3), thyroid gland (1), breast (1), ovary (1).

Table 2: Biological data and univariate analysis of overall survival (patients were separated on the median value of each marker).

	Median (range)	Median OS, months (95% CI)	P value
CgA, µg/L (n=44)	156.5 (20.0-11192.0)	-	0.64
CgA < 2 ULN ^a	26 (59)	16 (14.1-17.9)	0.85
CgA ≥ 2 ULN ^a	18 (41)	14 (9.4-18.6)	
NSE, µg/L (n=44)	34.1 (6.6-956.1)		0.12
NSE < 2 ULN ^a	18 (41)	17 (13.6-20.4)	0.13
NSE ≥ 2 ULN ^a	26 (59)	13 (8.1-17.9)	
LDH, IU/L (n=52)	338 (130-2722)	-	0.33
LDH < 2 ULN ^a	37 (71)	19 (13.4-24.6)	<0.001
LDH ≥ 2 ULN ^a	15 (29)	9 (8.0-10.0)	
ALP, IU/L (n=59)	141 (30-2362)	-	0.64
ALT, IU/L (n=58)	29 (6-487)	-	0.55
AST, IU/L (n=61)	29.5 (7.0-376.0)	-	0.58
AST < 2 ULN ^a	42 (69)	18 (13.1-22.9)	0.001
AST ≥ 2 ULN ^a	19 (31)	8 (0.9-15.1)	
Total bilirubin, µmol/L (n=58)	9.5 (2.0-493.0)	-	0.74
Albumin, g/L (n=52)	37.9 (20.3-45.0)	-	0.58
CRP, mg/L (n=53)	18.9 (0.6-224.5)	-	0.29
Fibrinogen, g/L (n=53)	4.5 (1.9-7.4)	-	0.24
PT, % (n=55)	96 (20-111)	-	0.29
aPTT, ratio (n=47)	1.0 (0.8-3.9)	-	0.87
Hb, g/L (n=63)	126.0 (49.1-159.0)	-	0.86
Leukocytes, G/L (n=63)	7.4 (2.1-27.2)	-	0.66
Lymphocytes, G/L (n=61)	1.5 (0.5-6.0)	-	0.10
Neutrophils, G/L (n=61)	5.5 (0.4-23.9)	-	0.85
Neutrophil/Lymphocyte ratio (n=61)	3.6 (0.2-21.7)	-	0.16
NLR < 3 ^a	23 (38)	16 (8.0-24.0)	0.35
NLR ≥ 3 ^a	38 (62)	16 (13.5-18.5)	
Platelets, G/L (n=63)	273 (81-816)		0.85

Abbreviations: aPTT, activated partial thromboplastin time; AST, aspartate aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; ALT, alanin aminotransferase; CgA, chromogranin A; CI, confidence interval; CRP, C-reactive protein; Hb, hemoglobin; LDH, lactate dehydrogenase; NLR, neutrophil-to-lymphocyte ratio; NSE, Neuron-specific enolase; OS, overall survival; PT, prothrombin time, ULN, upper limit of normal; Notes: ^a n (%)

Table 3: Histological data and univariate analysis of overall survival.

	n (%)	Median OS, months (95% CI)	P value
Morphological size (n=82)			0.79
Small cell	34 (41)	16 (8.5-23.5)	
Large cell	48 (59)	15 (13.0-17.0)	
Synaptophysin staining (n=81)			0.12
Positive	79 (98)	16 (13.5-18.5)	
Negative	2 (2)	6 (-)	
CgA staining (n=92)			0.97
Positive	66 (72)	16 (12.8-19.2)	
Negative	26 (28)	13 (10.6-15.4)	
Ki-67 (n=89) ^a	70 (20-100)	-	0.58
< 55%	23 (26)	22 (10.2-33.8)	0.06
≥ 55%	66 (74)	14 (12.0-16.0)	
Presence of necrosis (n=58)			0.08
Yes	50 (86)	14 (11.0-17.0)	
No	8 (14)	Not reached	

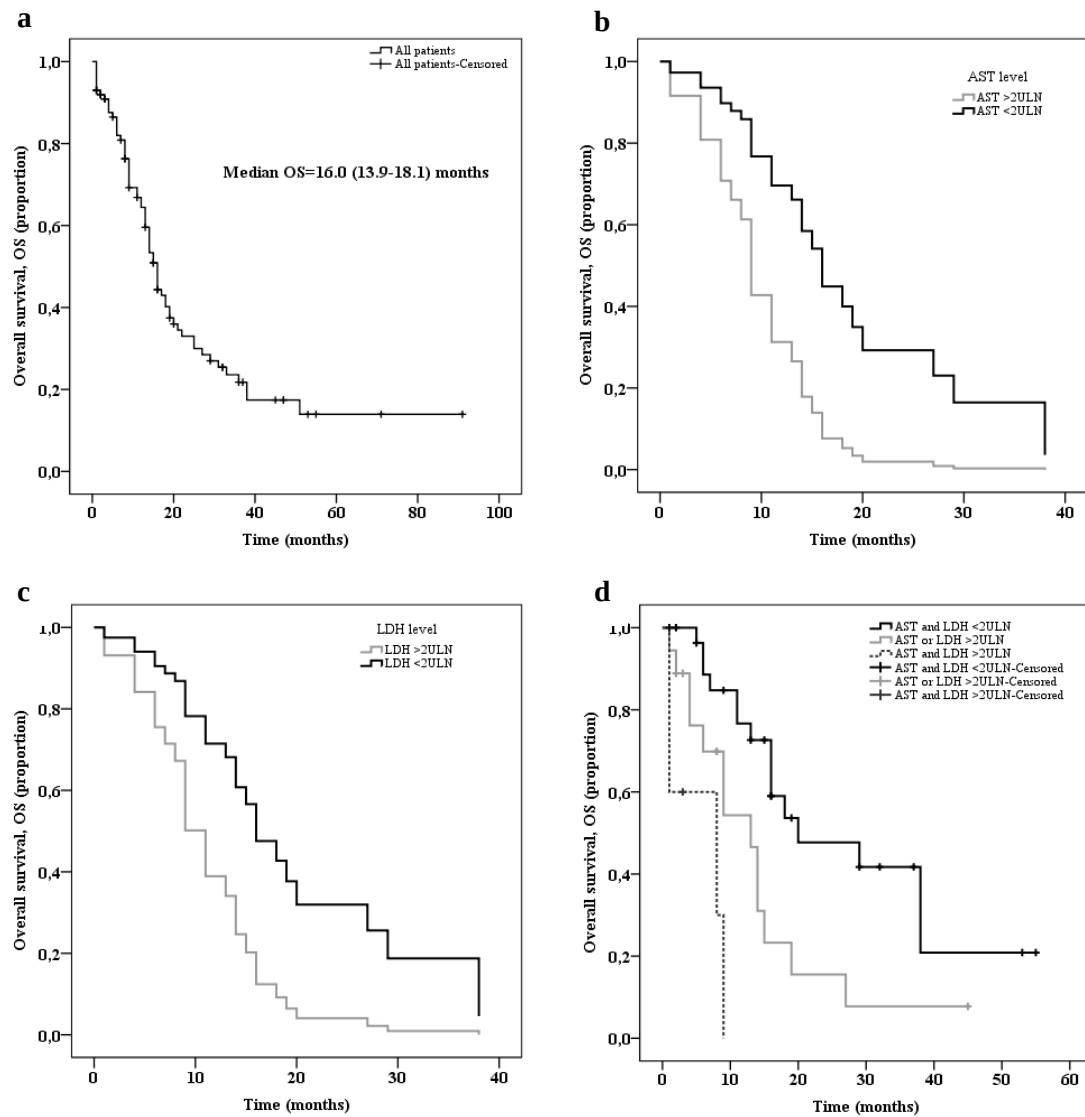
Abbreviations: CgA, chromogranin A; CI, confidence interval; OS, overall survival; Notes: ^a Median (range)

Table 4: Multivariate Cox regression analysis of the prognosis factors in patients with GEP-NEC.

	Hazard ratio (95% CI)	P value
ECOG-PS, < 2 vs. $\geq$ 2	0.82 (0.22-3.06)	0.77
Stage, I-III vs. IV	0.75 (0.25-2.27)	0.62
LDH, < 2 ULN vs. $\geq$ 2 ULN	0.36 (0.13-0.97)	0.04
AST, < 2 ULN vs. $\geq$ 2 ULN	0.31 (0.11-0.91)	0.03

Abbreviations: AST, aspartate aminotransferase; CI, confidence interval; ECOG-PS, Eastern Cooperative Oncology Group Performance status; LDH, lactate dehydrogenase; ULN, upper limit of normal

Figure 1



Bibliographie

1. Scoazec J-Y. [Endocrine tumors: biology and physiopathology]. *Ann Pathol.* déc 2005;25(6):447-61.
2. Fraenkel M, Kim M, Faggiano A, de Herder WW, Valk GD, Knowledge NETwork. Incidence of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours: a systematic review of the literature. *Endocr Relat Cancer.* juin 2014;21(3):R153-163.
3. Lombard-Bohas C, Mitry E, O'Toole D, Louvet C, Pillon D, Cadiot G, et al. Thirteen-month registration of patients with gastroenteropancreatic endocrine tumours in France. *Neuroendocrinology.* 2009;89(2):217-22.
4. Solcia E, Klöppel G, Sobin LH, Williams ED. Histological typing of endocrine tumours. 2nd ed. Berlin ; New York: Springer; 2000. 160 p. (International histological classification of tumours).
5. DeLellis RA, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, International Academy of Pathology, International Association for the Study of Lung Cancer, éditeurs. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. Lyon: IARC Press; 2004. 320 p. (World Health Organization classification of tumours).
6. Rindi G, Petrone G, Inzani F. The 2010 WHO Classification of Digestive Neuroendocrine Neoplasms: a Critical Appraisal four years after Its Introduction. *Endocr Pathol.* 5 avr 2014;25(2):186-92.
7. Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, et al. One hundred years after « carcinoid »: epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol.* 20 juin 2008;26(18):3063-72.
8. Lepage C, Bouvier AM, Phelip JM, Hatem C, Vernet C, Faivre J. Incidence and management of malignant digestive endocrine tumours in a well defined French population. *Gut.* 4 janv 2004;53(4):549-53.
9. Lepage C, Ciccolallo L, De Angelis R, Bouvier AM, Faivre J, Gatta G, et al. European disparities in malignant digestive endocrine tumours survival. *Int J Cancer.* 15 juin 2010;126(12):2928-34.
10. Niederle MB, Hackl M, Kaserer K, Niederle B. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours: the current incidence and staging based on the WHO and European Neuroendocrine Tumour Society classification: an analysis based on prospectively collected parameters. *Endocr Relat Cancer.* déc 2010;17(4):909-18.
11. Vélayoudom-Céphise F-L, Duvillard P, Foucan L, Hadoux J, Chougnet CN, Leboulleux S, et al. Are G3 ENETS neuroendocrine neoplasms heterogeneous? *Endocr Relat Cancer.* oct 2013;20(5):649-57.
12. Heetfeld M, Chougnet CN, Olsen IH, Rinke A, Borbath I, Crespo G, et al. Characteristics and treatment of patients with G3 gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms. *Endocr Relat Cancer.* août 2015;22(4):657-64.

13. Coriat R, Walter T, Terris B, Couvelard A, Ruszniewski P. Gastroenteropancreatic Well-Differentiated Grade 3 Neuroendocrine Tumors: Review and Position Statement. *The Oncologist*. 8 juill 2016;theoncologist.2015-0476.
14. Sorbye H, Strosberg J, Baudin E, Klimstra DS, Yao JC. Gastroenteropancreatic high-grade neuroendocrine carcinoma. *Cancer*. 15 sept 2014;120(18):2814-23.
15. Yachida S, Vakiani E, White CM, Zhong Y, Saunders T, Morgan R, et al. Small cell and large cell neuroendocrine carcinomas of the pancreas are genetically similar and distinct from well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol*. févr 2012;36(2):173-84.
16. Meuwissen R, Linn SC, Linnoila RI, Zevenhoven J, Mooi WJ, Berns A. Induction of small cell lung cancer by somatic inactivation of both Trp53 and Rb1 in a conditional mouse model. *Cancer Cell*. sept 2003;4(3):181-9.
17. Wikenheiser-Brokamp KA. Rb family proteins differentially regulate distinct cell lineages during epithelial development. *Development*. sept 2004;131(17):4299-310.
18. Jiao Y, Shi C, Edil BH, de Wilde RF, Klimstra DS, Maitra A, et al. DAXX/ATRX, MEN1 and mTOR Pathway Genes are Frequently Altered in Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Science*. 4 mars 2011;331(6021):1199-203.
19. Banck MS, Kanwar R, Kulkarni AA, Boora GK, Metge F, Kipp BR, et al. The genomic landscape of small intestine neuroendocrine tumors. *J Clin Invest*. 3 juin 2013;123(6):2502-8.
20. Jiang SX, Kameya T, Sato Y, Yanase N, Yoshimura H, Kodama T. Bcl-2 protein expression in lung cancer and close correlation with neuroendocrine differentiation. *Am J Pathol*. mars 1996;148(3):837-46.
21. Sorbye H, Welin S, Langer SW, Vestermark LW, Holt N, Osterlund P, et al. Predictive and prognostic factors for treatment and survival in 305 patients with advanced gastrointestinal neuroendocrine carcinoma (WHO G3): the NORDIC NEC study. *Ann Oncol*. janv 2013;24(1):152-60.
22. Walter T, Tougeron D, Baudin E, Le Malicot K, Lecomte T, Guigay J, Hentic O, Manfredi S, Bonnet I, Guimbaud R et al. "Characteristics, prognosis and treatments of 294 patients with poorly differentiated neuroendocrine carcinoma." *Journal of Clinical Oncology*.
23. Smith J, Reidy-Lagunes D. The management of extrapulmonary poorly differentiated (high-grade) neuroendocrine carcinomas. *Semin Oncol*. févr 2013;40(1):100-8.
24. Faggiano A, Sabourin J-C, Ducreux M, Lumbroso J, Duvillard P, Leboulleux S, et al. Pulmonary and extrapulmonary poorly differentiated large cell neuroendocrine carcinomas. *Cancer*. 15 juill 2007;110(2):265-74.
25. Rindi G, Klöppel G, Alhman H, Caplin M, Couvelard A, de Herder WW, et al. TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch*. oct 2006;449(4):395-401.

26. Rindi G, Klöppel G, Couvelard A, Komminoth P, Körner M, Lopes JM, et al. TNM staging of midgut and hindgut (neuro) endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch.* oct 2007;451(4):757-62.
27. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C, International Union against Cancer, éditeurs. *TNM classification of malignant tumours*. 7th ed. 2009. Chichester, West Sussex, UK ; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2010. 310 p.
28. Cadiot G, Baudin E, Couvelard A, Dromain C, Lepage C, Lombard-Bohas C, Poncet G, Ruszniewski P, Smith D. «Tumeurs neuro-endocrines». *Thésaurus National de Cancérologie Digestive*, 03-2016, [En ligne] [cité 6 sept 2016] <http://www.tncd.org>.
29. Vezzosi D, Walter T, Laplanche A, Raoul JL, Dromain C, Ruszniewski P, et al. Chromogranin A measurement in metastatic well-differentiated gastroenteropancreatic neuroendocrine carcinoma: screening for false positives and a prospective follow-up study. *Int J Biol Markers*. juin 2011;26(2):94-101.
30. Welin S, Sorbye H, Sebjornsen S, Knappskog S, Busch C, Öberg K. Clinical effect of temozolomide-based chemotherapy in poorly differentiated endocrine carcinoma after progression on first-line chemotherapy. *Cancer*. 15 oct 2011;117(20):4617-22.
31. Hentic O, Hammel P, Couvelard A, Rebours V, Zappa M, Palazzo M, et al. FOLFIRI regimen: an effective second-line chemotherapy after failure of etoposide–platinum combination in patients with neuroendocrine carcinomas grade 3. *Endocr Relat Cancer*. 12 janv 2012;19(6):751-7.
32. Moertel CG, Kvols LK, O'Connell MJ, Rubin J. Treatment of neuroendocrine carcinomas with combined etoposide and cisplatin. Evidence of major therapeutic activity in the anaplastic variants of these neoplasms. *Cancer*. 15 juill 1991;68(2):227-32.
33. Mitry E, Baudin E, Ducreux M, Sabourin J-C, Rufié P, Aparicio T, et al. Treatment of poorly differentiated neuroendocrine tumours with etoposide and cisplatin. *Br J Cancer*. déc 1999;81(8):1351-5.
34. Olsen IH, Knigge U, Federspiel B, Hansen CP, Skov A, Kjær A, et al. Topotecan Monotherapy in Heavily Pretreated Patients with Progressive Advanced Stage Neuroendocrine Carcinomas. *Journal of Cancer*. 2014;5(8):628-32.
35. Hainsworth JD, Spigel DR, Litchy S, Greco FA. Phase II Trial of Paclitaxel, Carboplatin, and Etoposide in Advanced Poorly Differentiated Neuroendocrine Carcinoma: A Minnie Pearl Cancer Research Network Study. *JCO*. 8 janv 2006;24(22):3548-54.
36. Iwasa S, Morizane C, Okusaka T, Ueno H, Ikeda M, Kondo S, et al. Cisplatin and etoposide as first-line chemotherapy for poorly differentiated neuroendocrine carcinoma of the hepatobiliary tract and pancreas. *Jpn J Clin Oncol*. avr 2010;40(4):313-8.
37. Mani MA, Shroff RT, Jacobs C, Wolff RA, Ajani JA, Yao JC, et al. A phase II study of irinotecan and cisplatin for metastatic or unresectable high grade neuroendocrine carcinoma. *ASCO Meeting Abstracts*. 20 mai 2008;26(15_suppl):15550.
38. Ramella Munhoz R, de Mendonça Rego JF, de Celis Ferrari AR, Ignez Braghiroli M, Mendonça Bariani G, Marcelo Hoff P, et al. Combination of Irinotecan and a Platinum

Agent for Poorly Differentiated Neuroendocrine Carcinomas. *Rare Tumors* [Internet]. 4 sept 2013 [cité 6 sept 2016];5(3). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3804814/>

39. Machida N, Yamaguchi T, Kasuga A, Takahashi H, Sudo K, Nishina T, et al. Multicenter retrospective analysis of systemic chemotherapy for advanced poorly differentiated neuroendocrine carcinoma of the digestive system. *J Clin Oncol* [Internet]. 2012 [cité 6 sept 2016];30(suppl; abstr 4046). Disponible sur: <http://meetinglibrary.asco.org/content/97356-114>
40. Nakano K, Takahashi S, Yuasa T, Nishimura N, Mishima Y, Sakajiri S, et al. Feasibility and efficacy of combined cisplatin and irinotecan chemotherapy for poorly differentiated neuroendocrine carcinomas. *Jpn J Clin Oncol*. août 2012;42(8):697-703.
41. Hadoux J, Malka D, Planchard D, Scoazec JY, Caramella C, Guigay J, et al. Post-first-line FOLFOX chemotherapy for grade 3 neuroendocrine carcinoma. *Endocr Relat Cancer*. juin 2015;22(3):289-98.
42. Brenner B, Tang LH, Klimstra DS, Kelsen DP. Small-Cell Carcinomas of the Gastrointestinal Tract: A Review. *JCO*. 7 janv 2004;22(13):2730-9.
43. Brieu B, Lepère C, Walter T, Lecomte T, Guimbaud R, Manfredi S, et al. Radiochemotherapy Versus Surgery in Nonmetastatic Anorectal Neuroendocrine Carcinoma. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 23 oct 2015 [cité 6 sept 2016];94(42). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4620767/>
44. Smith JD, Reidy DL, Goodman KA, Shia J, Nash GM. A Retrospective Review of 126 High-Grade Neuroendocrine Carcinomas of the Colon and Rectum. *Ann Surg Oncol*. sept 2014;21(9):2956-62.
45. Olsen IH, Langer SW, Jepsen I, Assens M, Federspiel B, Hasselby JP, et al. First-line treatment of patients with disseminated poorly differentiated neuroendocrine carcinomas with carboplatin, etoposide, and vincristine: a single institution experience. *Acta Oncol*. janv 2012;51(1):97-100.
46. Schneider BJ, Gadgeel SM, Ramnath N, Wozniak AJ, Dy GK, Daignault S, et al. Phase II trial of sunitinib maintenance therapy after platinum-based chemotherapy in patients with extensive-stage small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. juin 2011;6(6):1117-20.
47. Ducreux M, Dahan L, Smith D, O'Toole D, Lepère C, Dromain C, et al. Bevacizumab combined with 5-FU/streptozocin in patients with progressive metastatic well-differentiated pancreatic endocrine tumours (BETTER trial)--a phase II non-randomised trial. *Eur J Cancer*. déc 2014;50(18):309-106.
48. Mitry E, Walter T, Baudin E, Kurtz J-E, Ruszniewski P, Dominguez-Tinajero S, et al. Bevacizumab plus capecitabine in patients with progressive advanced well-differentiated neuroendocrine tumors of the gastro-intestinal (GI-NETs) tract (BETTER trial)--a phase II non-randomised trial. *Eur J Cancer*. déc 2014;50(18):3107-15.
49. Pietrantonio F, Perrone F, Braud F de, Castano A, Maggi C, Bossi I, et al. Activity of temozolomide in patients with advanced chemorefractory colorectal cancer and MGMT promoter methylation. *Ann Oncol*. 2 janv 2014;25(2):404-8.

50. Bollard J, Couderc C, Blanc M, Poncet G, Lepinasse F, Hervieu V, et al. Antitumor Effect of Everolimus in Preclinical Models of High-Grade Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Carcinomas. *Neuroendocrinology*. 2013;97(4):331-40.
51. Rudin CM, Salgia R, Wang X, Hodgson LD, Masters GA, Green M, et al. Randomized Phase II Study of Carboplatin and Etoposide With or Without the bcl-2 Antisense Oligonucleotide Oblimersen for Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer: CALGB 30103. *JCO*. 20 févr 2008;26(6):870-6.
52. Dy GK, Miller AA, Mandrekar SJ, Aubry M-C, Langdon RM, Morton RF, et al. A phase II trial of imatinib (ST1571) in patients with c-kit expressing relapsed small-cell lung cancer: a CALGB and NCCTG study. *Ann Oncol*. 11 janv 2005;16(11):1811-6.
53. Kim ST, Ha SY, Lee S, Ahn S, Lee J, Park SH, et al. The Impact of PD-L1 Expression in Patients with Metastatic GEP-NETs. *J Cancer*. 2016;7(5):484-9.
54. Lipson EJ, Vincent JG, Loyo M, Kagohara LT, Luber BS, Wang H, et al. PD-L1 expression in the Merkel cell carcinoma microenvironment: association with inflammation, Merkel cell polyomavirus and overall survival. *Cancer Immunol Res*. juill 2013;1(1):54-63.
55. Nghiem PT, Bhatia S, Lipson EJ, Kudchadkar RR, Miller NJ, Annamalai L, et al. PD-1 Blockade with Pembrolizumab in Advanced Merkel-Cell Carcinoma. *New England Journal of Medicine*. 30 juin 2016;374(26):2542-52.
56. Boyar Cetinkaya R, Vatn M, Aabakken L, Bergestuen DS, Thiis-Evensen E. Survival and prognostic factors in well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors. *Scand J Gastroenterol*. juin 2014;49(6):734-41.
57. Khan MS, Kirkwood A, Tsigani T, Garcia-Hernandez J, Hartley JA, Caplin ME, et al. Circulating Tumor Cells As Prognostic Markers in Neuroendocrine Tumors. *JCO*. 20 janv 2013;31(3):36-72.
58. Yao JC, Hainsworth JD, Wolin EM, Pavel ME, Baudin E, Gross D, et al. Multivariate analysis including biomarkers in the phase III RADIANT-2 study of octreotide LAR plus everolimus (E+O) or placebo (P+O) among patients with advanced neuroendocrine tumors (NET). *J Clin Oncol [Internet]*. 2012 [cité 6 sept 2016];30(suppl 4; abstr 157). Disponible sur: <http://meetinglibrary.asco.org/content/88080-115>
59. Chou W-C. Baseline and dynamic plasma chromogranin A (CgA) level to predict clinical outcome and tumor response in Asian patients with gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor (GEP-NET). *J Clin Oncol [Internet]*. 2013 [cité 6 sept 2016];31(suppl; abstr e15151). Disponible sur: <http://meetinglibrary.asco.org/content/118131-132>
60. Fischer C, Pape U-F, Neumann T, Detjen KM, Hilfenhaus G, Hess G, et al. Prognostic relevance of circulating PIGF levels in patients with neuroendocrine tumors. *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)*. 20 mai 2012;30(15_suppl):4128.
61. Wiese D, Kampe K, Waldmann J, Heverhagen AE, Bartsch DK, Fendrich V. C-Reactive Protein as a New Prognostic Factor for Survival in Patients With Pancreatic Neuroendocrine Neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab*. mars 2016;101(3):937-44.

62. Modlin IM, Drozdov I, Kidd MS. A multitranscript blood neuroendocrine tumor molecular signature to identify treatment efficacy and disease progress. *J Clin Oncol* [Internet]. 2013 [cité 6 sept 2016];31(suppl; abstr 4137). Disponible sur: <http://meetinglibrary.asco.org/content/115116-132>
63. Pavel M, Jann H, Prasad V, Drozdov I, Modlin IM, Kidd M. NET Blood Transcript Analysis defines the Crossing of the Clinical Rubicon: When Stable Disease becomes Progressive. *Neuroendocrinology*. 15 avr 2016;
64. Modlin IM, Bodei L, Kidd M. Neuroendocrine tumor biomarkers: From monoanalytes to transcripts and algorithms. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. janv 2016;30(1):59-77.
65. Heetfeld M, Kasajima A, Koch A, Milone F, Steffen I, Dietel M, et al. Poorly differentiated neuroendocrine carcinoma (NEC G3): Prognostic factors and potential novel targets. *ASCO Meeting Abstracts*. 20 mai 2013;31(15_suppl):e15071.
66. Yao JC, Shah MH, Ito T, Bohas CL, Wolin EM, Van Cutsem E, et al. Everolimus for Advanced Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *N Engl J Med*. 10 févr 2011;364(6):514-23.
67. McMillan DC. Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. mai 2009;12(3):223-6.
68. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 24 juill 2008;454(7203):436-44.
69. Karin M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature*. 25 mai 2006;441(7092):431-6.
70. Takahashi H, Ogata H, Nishigaki R, Broide DH, Karin M. Tobacco smoke promotes lung tumorigenesis by triggering IKKbeta- and JNK1-dependent inflammation. *Cancer Cell*. 19 janv 2010;17(1):89-97.
71. Park EJ, Lee JH, Yu G-Y, He G, Ali SR, Holzer RG, et al. Dietary and genetic obesity promote liver inflammation and tumorigenesis by enhancing IL-6 and TNF expression. *Cell*. 22 janv 2010;140(2):197-208.
72. Khasawneh J, Schulz MD, Walch A, Rozman J, Angelis MH de, Klingenspor M, et al. Inflammation and mitochondrial fatty acid β -oxidation link obesity to early tumor promotion. *PNAS*. 3 mars 2009;106(9):3354-9.
73. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 4 mars 2011;144(5):646-74.
74. Zhou T, Zhan J, Hong S, Hu Z, Fang W, Qin T, et al. Ratio of C-Reactive Protein/Albumin is An Inflammatory Prognostic Score for Predicting Overall Survival of Patients with Small-cell Lung Cancer. *Sci Rep*. 2015;5:10481.
75. Allin KH, Nordestgaard BG. Elevated C-reactive protein in the diagnosis, prognosis, and cause of cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci*. août 2011;48(4):155-70.

76. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, et al. Prognostic Role of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Solid Tumors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 6 janv 2014;106(6):dju124.
77. Grenader T, Waddell T, Peckitt C, Oates J, Starling N, Cunningham D, et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in advanced oesophago-gastric cancer: exploratory analysis of the REAL-2 trial. *Ann Oncol.* avr 2016;27(4):687-92.
78. McNamara MG, Templeton AJ, Maganti M, Walter T, Horgan AM, McKeever L, et al. Neutrophil/lymphocyte ratio as a prognostic factor in biliary tract cancer. *Eur J Cancer.* juin 2014;50(9):1581-9.
79. Zhang J, Yao Y-H, Li B-G, Yang Q, Zhang P-Y, Wang H-T. Prognostic value of pretreatment serum lactate dehydrogenase level in patients with solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2015;5:9800.
80. Kang EJ, Lee SY, Kim HJ, Min KH, Hur GY, Shim JJ, et al. Prognostic Factors and Skeletal-Related Events in Patients with Small Cell Lung Cancer with Bone Metastases at the Time of Diagnosis. *Oncology.* 2016;90(2):103-11.
81. Saif MW, Alexander D, Wicox CM. Serum Alkaline Phosphatase Level as a Prognostic Tool in Colorectal Cancer: A Study of 105 patients. *J Appl Res.* 2005;5(1):88-95.
82. Cros J, Couvelard A. Contribution of angiogenesis and rationale for use of targeted therapies in digestive neuroendocrine tumours. *Cancéro dig.* 2012;4(2):76-82.
83. Zhang X, Guo M, Fan J, Lv Z, Huang Q, Han J, et al. Prognostic significance of serum LDH in small cell lung cancer: A systematic review with meta-analysis. *Cancer Biomark.* 4 mars 2016;16(3):415-23.
84. Agrawal A, Gandhe MB, Gupta D, Reddy MVR. Preliminary Study on Serum Lactate Dehydrogenase (LDH)-Prognostic Biomarker in Carcinoma Breast. *J Clin Diagn Res.* mars 2016;10(3):BC06-08.
85. Iyoda A, Hiroshima K, Toyozaki T, Haga Y, Fujisawa T, Ohwada H. Clinical characterization of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma and large cell carcinoma with neuroendocrine morphology. *Cancer.* 1 juin 2001;91(11):1992-2000.
86. Conte B, George B, Overman M, Estrella J, Jiang Z-Q, Mehrvarz Sarshekeh A, et al. High-Grade Neuroendocrine Colorectal Carcinomas: A Retrospective Study of 100 Patients. *Clin Colorectal Cancer.* juin 2016;15(2):e1-7.
87. Féré C, André F, Soria J-C. Molecular circuits of solid tumors: prognostic and predictive tools for bedside use. *Nat Rev Clin Oncol.* juill 2010;7(7):367-80.
88. © uPA/PAI-1, Oncotype DX™, MammaPrint® - Valeurs pronostique et prédictive pour une utilité clinique dans la prise en charge du cancer du sein, collection état des lieux et des connaissances, ouvrage collectif édité par l'INCa, Noulogne-Billancourt. INCa; 2013.
89. Huang X, Gao P, Song Y, Sun J, Chen X, Zhao J, et al. Meta-analysis of the prognostic value of circulating tumor cells detected with the CellSearch System in colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2015;15:202.

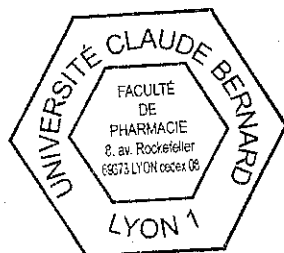
90. Giuliano M, Giordano A, Jackson S, Hess KR, De Giorgi U, Mego M, et al. Circulating tumor cells as prognostic and predictive markers in metastatic breast cancer patients receiving first-line systemic treatment. *Breast Cancer Research*. 2011;13:R67.
91. Bidard F-C, Peeters DJ, Fehm T, Nolé F, Gisbert-Criado R, Mavroudis D, et al. Clinical validity of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer: a pooled analysis of individual patient data. *The Lancet Oncology*. avr 2014;15(4):406-14.
92. Benslama N, Bollard J, Vercherat C, Massoma P, Roche C, Hervieu V, et al. Prediction of response to everolimus in neuroendocrine tumors: evaluation of clinical, biological and histological factors. *Invest New Drugs*. 26 mai 2016;34(5):654-62.
93. Grande E, Capdevila J, Castellano D, Teulé A, Durán I, Fuster J, et al. Pazopanib in pretreated advanced neuroendocrine tumors: a phase II, open-label trial of the Spanish Task Force Group for Neuroendocrine Tumors (GETNE). *Ann Oncol*. 9 janv 2015;26(9):1987-93.

Lyon, le 20 octobre 2016

**MEMOIRE D'INTERNAT DU DIPLOME D'ETUDES
SPECIALISEES DE :
INNOVATION PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE**

TITRE : Etude des facteurs pronostiques de survie des carcinomes neuroendocrines.

N° de Thèse : 28-2016	Dr. C. FERRARO-PEYRET	20 octobre 2016
N° Etudiant : 11213913	Pr T. WALTER	14 heures
Madame FREIS PATRICIA	Pr. G. FREYER	Salle des Thèses 1
Né(e) le : 1er juillet 1989	Dr. R. FAURE	
	Pr. J-L. MERLIN	



P/La Directrice
La Directrice et par délégation
Pr. Stephanie BRIANCON
La Directrice
Professeur Christine VINCIGUERRA

CONCLUSIONS

MEMOIRE SOUTENU PAR M^{lle} Patricia FREIS

Les carcinomes neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques (CNE-GEP) sont des tumeurs rares, représentant moins de 1% des cancers de la sphère digestive et 7 à 21% des néoplasmes neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques. Ils se caractérisent par un haut degré de prolifération (Ki-67 > 20%), les rendant très agressifs, et une morphologie peu différenciée. Le pronostic des CNE-GEP est très péjoratif, avec, selon les études, des médianes de survie de 4 à 6 mois pour les stades avancés (métastatiques) sans traitement, et allant jusqu'à 6 à 19 mois pour les patients recevant la chimiothérapie conventionnelle de 1^{ère} ligne, à base de sels de platine et d'étoposide. Seules quelques études ont permis de décrire différents facteurs pronostiques des CNE-GEP. On distingue les facteurs de mauvais pronostics cliniques, comme le stade avancé de la maladie, la présence d'un performance status élevé au diagnostic, et le site de la tumeur primaire. Quelques facteurs histomorphologiques, comme le Ki-67 < 55% et la présence d'un marquage positif pour la chromogranine A et la synaptophysine sont de bon pronostic. Dernièrement, des facteurs biologiques comme un taux de LDH élevé, ou la présence d'une thrombocytose au diagnostic se sont révélés être de mauvais pronostic pour le patient atteints de CNE GEP. Les facteurs tels que la présence de transcrits sanguins ou de cellules tumorales circulantes ont été étudiés, mais seulement dans les TNE-GEP.

Notre objectif était d'analyser, de manière la plus complète possible, l'ensemble des caractéristiques cliniques, histomorphologiques et biologiques de patients atteints de CNE GEP, afin de déterminer de nouveaux facteurs pronostiques. Par la suite, nous souhaitions également analyser différents facteurs moléculaires.

Dans cette étude, nous avons analysé de façon rétrospective 100 patients atteints de CNE-GEP, diagnostiqués entre 2002 et 2015. Ces patients étaient âgés de 64 (30-89) ans au diagnostic, et 67% étaient des hommes. Après le recueil des données, nous avons procédé à l'analyse statistique. Le temps médian de suivi était de 13 (1-91) mois et la médiane de survie s'élevait à 16 mois (IC 95% 13.9-18.1). Après analyse univariée, la présence d'un ECOG-PS ≥ 2 , la présence d'un stade IV, l'absence de résection de la tumeur primaire, le taux de LDH et/ou d'ASAT supérieur à 2 fois la valeur limite normale supérieure étaient des facteurs de mauvais pronostic pour le patient. Nous

n'avons pas inclus la résection de la tumeur primaire pour la suite de l'analyse car il ne s'agit pas d'un facteur présent au diagnostic, mais d'une action à but curatif. Les taux de LDH et/ou d'ASAT supérieurs à 2 fois la valeur limite normale supérieure restaient significativement associés à un mauvais pronostic après l'analyse multivariée avec un HR de 0,36 (IC 95% 0,13-0,97, $p=0,04$) pour le taux de LDH et 0,31 (CI 95% 0,11-0,91, $p=0,03$) pour le taux d'ASAT. Ainsi, nous avons pu séparer les patients en 3 catégories : taux de LDH et d'ASAT élevés, taux de LDH ou d'ASAT élevés et taux de LDH et d'ASAT normaux, dont les médianes de survie étaient significativement différentes. En tenant compte des taux de LDH et d'ASAT au diagnostic, il est donc possible d'évaluer le pronostic du patient.

En conclusion, nous avons identifié les facteurs pronostiques sur une cohorte de patients atteints de CNE-GEP, et caractérisé l'importance de tenir compte de facteurs biologiques comme le taux de LDH et d'ASAT. Il convient de confirmer ces résultats sur une plus grande cohorte de patients, idéalement au niveau national voire européen. Néanmoins, ces résultats démontrent l'intérêt d'évaluer les facteurs biologiques au diagnostic, tels que le taux de LDH et d'ASAT, afin d'aider l'équipe médicale à choisir au mieux le traitement et les soins à prodiguer au patient lors des réunions de concertations pluridisciplinaires spécialisées (RENATEN).

Le président du Jury,
(Nom et Signature)

Carole Ferraro Leydet
Leydet

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

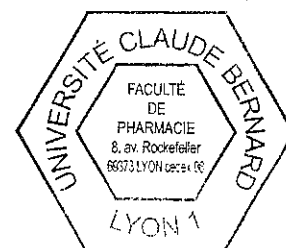
Lyon, le

Vu, La Directrice de l'ISPB – Faculté de Pharmacie de Lyon

Pour le Président de l'Université Claude Bernard

Professeur Christine VINCIGUERRA

La Directrice et par délégation
La directrice adjointe
Pr. Stéphanie CHIANCON



L'ISPB – Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon I n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses : ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

FREIS Patricia

Etude des facteurs pronostiques de survie des carcinomes neuroendocrines

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2016, 48 p.

RESUME

Les carcinomes neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques (CNE-GEP) sont des tumeurs rares, représentant moins de 1% des cancers de la sphère digestive et 7-21% des néoplasmes neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques. Ils se caractérisent par un haut degré de prolifération (Ki-67 > 20%), les rendant très agressifs, et une morphologie peu différenciée. Le pronostic des CNE-GEP est très péjoratif, avec, selon les études, des médianes de survie de 4 à 6 mois pour les stades avancés (métastatiques) sans traitement, et allant jusque 6 à 19 mois pour les patients traités. Seules quelques études ont permis de décrire différents facteurs pronostiques des CNE-GEP.

Notre objectif était d'analyser, de manière la plus complète possible, l'ensemble des caractéristiques cliniques, histomorphologiques et biologiques de patients atteints de CNE GEP, afin de déterminer de nouveaux facteurs pronostiques. Par la suite, nous souhaitions également analyser différents facteurs moléculaires.

Dans cette étude, nous avons analysés de façon rétrospective 100 patients atteints de CNE-GEP, diagnostiqués entre 2002 et 2015. Après analyse univariée, la présence d'un ECOG-PS ≥ 2 , la présence d'un stade IV, l'absence de résection de la tumeur primaire, le taux de LDH et/ou d'ASAT supérieur à 2 fois la valeur limite normale supérieure étaient des facteurs de mauvais pronostic pour le patient. Les taux de LDH et/ou d'ASAT supérieurs à 2 fois la valeur limite normale supérieure restaient significativement associés à un mauvais pronostic après l'analyse multivariée. En tenant compte des taux de LDH et d'ASAT au diagnostic, il est donc possible d'évaluer le pronostic du patient.

Il convient de confirmer ces résultats sur une plus grande cohorte de patients, idéalement au niveau national voire européen. Néanmoins, ces résultats démontrent l'intérêt d'évaluer les facteurs biologiques au diagnostic, tels que le taux de LDH et d'ASAT, afin d'aider l'équipe médicale à choisir au mieux le traitement et les soins à prodiguer au patient lors des réunions de concertations pluridisciplinaires spécialisées (RENATEN).

MOTS CLES

Carcinomes neuroendocrines
Tumeurs gastro-entéro-pancréatiques
Marqueurs pronostiques
Etude rétrospective

JURY

M. WALTER Thomas, Professeur d'Université, Praticien Hospitalier
M. FREYER Gilles, Professeur d'Université, Praticien Hospitalier
M. MERLIN Jean-Louis, Professeur d'Université, Praticien Hospitalier
Mme FERRARO-PEYRET Carole, Maître de Conférences, Praticien Hospitalier
M. FAURE Rémi, Docteur en Pharmacie

DATE DE SOUTENANCE

Jeudi 20 octobre 2016

ADRESSE DE L'AUTEUR

4, rue des pierres plantées – 69001 Lyon