

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 965 535**

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/6886** (2008.01)

**G16B 99/00** (2009.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.05.2019 PCT/US2019/030282**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **07.11.2019 WO19213321**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.05.2019 E 19796415 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2023 EP 3788167**

54 Título: **Métodos de diagnóstico y tratamiento de pacientes con carcinoma cutáneo de células epidermoides**

30 Prioridad:

**02.05.2018 US 201862665872 P**

**27.09.2018 US 201862737863 P**

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

**15.04.2024**

73 Titular/es:

**CASTLE BIOSCIENCES, INC. (100.0%)**

**2014 San Miguel Drive  
Friendswood, TX 77546, US**

72 Inventor/es:

**COOK, ROBERT WILLIS;  
COVINGTON, KYLE R. y  
MAETZOLD, DEREK**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 965 535 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Métodos de diagnóstico y tratamiento de pacientes con carcinoma cutáneo de células epidermoides

## 5 Campo de la divulgación

La presente divulgación se refiere a métodos para predecir el riesgo de recurrencia y/o metástasis en el carcinoma cutáneo de células epidermoides primario (cSCC).

## 10 Antecedentes

El carcinoma cutáneo de células epidermoides (cSCC) sólo rivaliza con el carcinoma de células basales como el cáncer más común en los EE. UU. Aunque la mayoría de los casos se curan mediante escisión, un subconjunto recurre y se vuelve incurable con el número de muertes que se aproxima al melanoma (Karia et al., J. Am. Acad. Dermatol. 68(6): 957-66 (2013)). A pesar del buen pronóstico general para los pacientes con cSCC, un subgrupo desarrollará recurrencias locales, regionales o a distancia después de la escisión completa del tumor primario. Aquellos con riesgo alto de recurrencia son elegibles para opciones de tratamiento adyuvante. Si bien las características clínicas específicas se asocian con la recurrencia, colectivamente, fallan en identificar el 30-40 % de todas las recurrencias de cSCC y no volverán a aparecer muchos tumores que poseen características de riesgo alto. Se necesitan modelos de predicción con mayores valores predictivos positivos para evitar procedimientos innecesarios. Para abordar la necesidad de factores predictivos más precisos y facilitar estrategias de intervención adecuadas, se utilizó el análisis de expresión génica para determinar una firma asociada con la recurrencia en pacientes con cSCC. El documento US 2013/224192 divulga métodos para el pronóstico de la progresión del cáncer en un paciente que comprenden determinar en una muestra de tejido tumoral el nivel de expresión del gen FERMT1.

25

## Resumen

Subsiste la necesidad en la técnica de un método más objetivo para predecir qué tumores exhiben actividad metastásica agresiva. El desarrollo de una huella molecular precisa, tal como el ensayo de perfil de expresión génica divulgado en el presente documento, sería un avance significativo para el campo. Se utilizó un estudio multicéntrico que utilizó muestras de tejido primario archivadas con captura extensa de datos clínicos asociados (sujetos con cSCC patológicamente confirmado diagnosticado después del 2006, mínimo 2 años de seguimiento, y dos medidas de resultado separadas: metástasis ganglionar/distante y recurrencia local) para identificar perfiles de expresión génica que predicen con precisión el cSCC primario con un riesgo alto de metástasis ganglionar regional/distante, y el cSCC primario con un riesgo alto de recurrencia local después de la eliminación quirúrgica completa.

35

La presente invención proporciona un método para predecir el riesgo de recurrencia, metástasis, o ambas, en un paciente con un tumor de carcinoma cutáneo de células epidermoides (cSCC), el método comprende: (a) aislar ARNm desde una muestra de tumor de cSCC que se ha obtenido del paciente; (b) determinar el nivel de expresión de ALOX12, BBC, BHLHB9, GTPBP2, HDDC3, ID2, LCE2B, LOC100287896, MMP10, MSANTD4, NFASC, NFIC, PDPN, RCHY1, RPP38, RUNX3, TAF6L, TFAP2B, ZNF48, y ZNF496; (c) proporcionar una indicación sobre si el tumor de cSCC tiene un riesgo bajo o un riesgo alto de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas, en base a los niveles de expresión de ALOX12, BBC, BHLHB9, GTPBP2, HDDC3, ID2, LCE2B, LOC100287896, MMP10, MSANTD4, NFASC, NFIC, PDPN, RCHY1, RPP38, RUNX3, TAF6L, TFAP2B, ZNF48, y ZNF496.

45

En algunas realizaciones, el nivel de expresión de cada gen en el conjunto de genes se determina al transcribir inversamente el ARNm aislado en ADNs y medir un nivel de fluorescencia para cada gen en el conjunto de genes mediante un sistema de detección de secuencia de ácidos nucleicos siguiendo la Reacción de Cadena de Polimerasa en Tiempo Real (RT-PCR). En determinadas realizaciones, la muestra de tumor de cSCC se obtiene a partir de una muestra embebida en parafina, fijada con formalina.

50

En otra realización, el método comprende comparar los niveles de expresión de ALOX12, BBC, BHLHB9, GTPBP2, HDDC3, ID2, LCE2B, LOC100287896, MMP10, MSANTD4, NFASC, NFIC, PDPN, RCHY1, RPP38, RUNX3, TAF6L, TFAP2B, ZNF48, y ZNF496 del tumor de cSCC con los niveles de expresión de ALOX12, BBC, BHLHB9, GTPBP2, HDDC3, ID2, LCE2B, LOC100287896, MMP10, MSANTD4, NFASC, NFIC, PDPN, RCHY1, RPP38, RUNX3, TAF6L, TFAP2B, ZNF48, y ZNF496 de un conjunto de entrenamiento predictivo para generar una puntuación de probabilidad del riesgo de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas. En una realización, la puntuación de probabilidad es un análisis bimodal de dos clases, en el que un paciente que tiene un valor entre 0 y 0.499 se designa como clase 1 con un riesgo bajo de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas, y un paciente que tiene un valor entre 0.500 y 1.00 se designa como clase 2 con un mayor riesgo de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas.

60

En determinadas realizaciones, el nivel de expresión de: ALOX12 se reduce, BBC se aumenta, BHLHB9 se reduce, GTPBP2 se reduce, HDDC3 se aumenta, ID2 se reduce, LCE2B se reduce, LOC100287896 se aumenta, MMP10 se reduce, MSANTD4 se reduce, NFASC se reduce, NFIC se reduce, PDPN se aumenta, RCHY1 se aumenta, RPP38 se reduce, RUNX3 se aumenta, TAF6L se aumenta, TFAP2B se reduce, ZNF48 se aumenta, y ZNF496 se aumenta, cuando se compara una muestra de tumor recurrente con una muestra de tumor no recurrente. En otras realizaciones, el aumento

65

o disminución en el nivel de expresión es el nivel genético de una muestra de tumor metastásico versus una muestra de tumor no metastásico.

5 Otros aspectos y realizaciones se divulgan en las reivindicaciones acompañantes y resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y reivindicaciones, con referencia, cuando sea apropiado, a los dibujos acompañantes.

Breve descripción de los dibujos

10 La FIG. 1 muestra el flujo de trabajo del diseño del estudio.

La FIG. 2 muestra la expresión diferencial de 18 genes encontrados que se expresan de manera significativamente diferencial entre casos de cSCC recurrente (Rec) y no recurrente (NR)

15 La FIG. 3 muestra otro flujo de trabajo de diseño de estudio de ejemplo.

La FIG. 4 muestra una curva de supervivencia libre de metástasis para tumores de bajo riesgo, Clase 1, y de riesgo alto, Clase 2, utilizando el conjunto de genes 20-1.

20 Descripción detallada

A pesar del buen pronóstico general para los pacientes con cSCC, un subgrupo desarrollará recurrencias locales, regionales, o a distancia después de la escisión completa del tumor primario. Aquellos con riesgo alto de recurrencia son elegibles para opciones de tratamiento adyuvante. Si bien las características clínicas específicas se asocian con la recurrencia, colectivamente fallan en identificar el 30-40 % de todas las recurrencias de cSCC y no aparecerán muchos tumores que expresan características de riesgo alto. Para abordar la necesidad de factores predictivos más precisos y facilitar estrategias de intervención adecuadas, se utilizó un análisis de expresión génica para determinar una firma asociada con la recurrencia en cSCC. En ese análisis, se seleccionaron 140 genes candidatos para la evaluación de cambios en la expresión génica en casos recurrentes y no recurrentes. Se recolectaron y analizaron un total de 230 tumores primarios de cSCC de acuerdo con un protocolo multicéntrico, aprobado por el IRB. Después del filtrado de calidad, se evaluó la expresión de los genes en 212 muestras. Múltiples subconjuntos de genes se expresaron de manera significativamente diferencial entre casos recurrentes y no recurrentes. Los resultados demuestran que las diferencias en la expresión génica pueden distinguir entre cSCC recurrente y no recurrente. Dichas diferencias en la expresión génica pueden ayudar a identificar a aquellos pacientes que se podrían beneficiar de intervenciones y tratamientos terapéuticos adicionales.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entendería comúnmente un experto con conocimientos básicos en la técnica a la que pertenece la invención reivindicada. Aunque se pueden utilizar métodos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en el presente documento para practicar los métodos y kits divulgados o reivindicados en el presente documento, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. En caso de conflicto, prevalecerá la presente especificación, que incluyen las definiciones. Además, los materiales, métodos, y ejemplos son sólo ilustrativos y no pretenden ser limitantes. Otras características y ventajas de la invención reivindicada serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

45 Como se utilizan en el presente documento, las formas singulares “un”, “una”, y “el” incluyen referentes en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, la referencia a “un ácido nucleico” significa uno o más ácidos nucleicos.

50 Cabe señalar que términos como “preferiblemente”, “comúnmente”, y “normalmente” no se utilizan en el presente documento para limitar el alcance de la invención reivindicada o para implicar que ciertas características son críticas, esenciales, o incluso importantes para la estructura o función de la invención reivindicada. Más bien, estos términos pretenden simplemente resaltar características alternativas o adicionales que se pueden o no utilizar en una realización particular divulgada o reivindicada en el presente documento.

55 Como se utilizan en el presente documento, los términos “polinucleótido”, “nucleótido”, “oligonucleótido”, y “ácido nucleico” se pueden utilizar indistintamente para referirse a un ácido nucleico que comprende ADN, ADNc, ARN, derivados de los mismos, o combinaciones de los mismos.

60 En una realización, se divulga en el presente documento un método para predecir el riesgo de recurrencia, metástasis, o ambas, en un paciente con un tumor de carcinoma cutáneo de células epidermoides (cSCC), el método comprende: (a) aislar ARNm de una muestra de tumor de cSCC que se ha obtenido del paciente; (b) determinar el nivel de expresión de ALOX12, BBC, BHLHB9, GTPBP2, HDDC3, ID2, LCE2B, LOC100287896, MMP10, MSANTD4, NFASC, NFIC, PDPN, RCHY1, RPP38, RUNX3, TAF6L, TFAP2B, ZNF48, y ZNF496; (c) proporcionar una indicación sobre si el tumor de cSCC tiene un riesgo bajo o un riesgo alto de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas, en base a los niveles de expresión de ALOX12, BBC, BHLHB9, GTPBP2, HDDC3, ID2, LCE2B, LOC100287896, MMP10, MSANTD4, NFASC, NFIC, PDPN, RCHY1, RPP38, RUNX3, TAF6L, TFAP2B, ZNF48, y ZNF496.

5 En algunas realizaciones, el nivel de expresión de cada gen en el conjunto de genes se determina al transcribir inversamente el ARNm aislado en ADNc y medir un nivel de fluorescencia para cada gen en el conjunto de genes mediante un sistema de detección de secuencia de ácidos nucleicos siguiendo la Reacción de Cadena de Polimerasa en Tiempo Real (RT-PCR). En determinadas realizaciones, la muestra de tumor de cSCC se obtiene a partir de una muestra embebida en parafina, fijada con formalina.

10 En otra realización, el conjunto de genes comprende los genes ACSBG1, AIM2, ALOX12, ANXA9, APOBEC3G, ARPC2, ATP6AP1, ATP6V0E2, BBC, BHLHB9, BLOC1S1, C1QL4, C21orf59, C3orf70, CCL27, CD163, CEP76, CHI3L1, CHMP2B, CXCL10, CXCR4, CYP2D6 (LOC101929829), DARS, DCT, DDAH1, DSS1, DUXAP8, EGFR, EphB2, FCHSD1, FDFT1, FLG, FN1, GTPBP2, HDDC3, HNRNPL, HOXA10 (HOXA9, MIR196B), HPGD, ID2, IL24, IL2RB, IL7R, INHBA, IPO5P1, KIT, KLK5, KRT17, KRT 18, KRT 19, KRT6B, LAMC2, LCE2B, LIME1 (ZGPAT), LOC100287896, LOC101927502, LOR, LRRC47, MIER2, MIR129-1, MIR3916, MKLN1, MMP1, MMP10, MMP12, MMP13, MMP3, MMP7, MMP9, MRC1, MRPL21, MSANTD4, MYC, NEB, NEFL, NFASC, NFIA, NFIB, NFIC, NOA1, PD1, PDL1, PDPN, PI3, FIG3, PIGBOS1, PIM2, PLAU, PLS3, PTHLH, PTRHD1, RBM33, RCHY1, RNF135, RPL26L1, RPP38, RUNX3, S100A8, S100A9, SEPT3, SERPINB2, SERPINB4, SLC1A3, SLC25A11, SNORD124, SPATA41, SPP1, TAF6L, TFAP2B, THYN1, TMEM41B, TNNC1, TUBB3, TUFM (MIR4721), TYRP1, UGP2, USP7, VIM, YKT6, ZNF48, ZNF496, ZNF839, y/o ZSCAN31.

20 En una realización, el método comprende además comparar los niveles de expresión de ALOX12, BBC, BHLHB9, GTPBP2, HDDC3, ID2, LCE2B, LOC100287896, MMP10, MSANTD4, NFASC, NFIC, PDPN, RCHY1, RPP38, RUNX3, TAF6L, TFAP2B, ZNF48, y ZNF49 de la muestra de tumor de cSCC hasta los niveles de expresión de ALOX12, BBC, BHLHB9, GTPBP2, HDDC3, ID2, LCE2B, LOC100287896, MMP10, MSANTD4, NFASC, NFIC, PDPN, RCHY1, RPP38, RUNX3, TAF6L, TFAP2B, ZNF48, y ZNF49 de un conjunto de entrenamiento predictivo para generar una puntuación de probabilidad del riesgo de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas. En una realización, la puntuación de probabilidad es un análisis bimodal de dos clases, en el que un paciente que tiene un valor entre 0 y 0.499 se designa como clase 1 con un riesgo bajo de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas, y un paciente que tiene un valor entre 0.500 y 1.00 se designa como clase 2 con un mayor riesgo de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas.

30 Como se utiliza en el presente documento, el término "recurrencia" se refiere a la recurrencia o progresión de la enfermedad que puede ocurrir localmente (tal como recurrencia local y enfermedad en tránsito), regionalmente (tal como micrometástasis o macrometástasis ganglionar), o distalmente (tal como cerebro, pulmón y otros tejidos). El riesgo, como se utiliza en el presente documento, incluye riesgo bajo o alto de metástasis de acuerdo con cualquiera de los métodos estadísticos divulgados en el presente documento. En una realización, el riesgo de recurrencia o metástasis para cSCC se puede clasificar desde un riesgo bajo hasta un riesgo alto (por ejemplo, el tumor de cSCC tiene un riesgo graduado desde riesgo bajo hasta riesgo alto o riesgo alto hasta riesgo bajo de recurrencia local, recurrencia locoregional, o metástasis a distancia). En otras realizaciones, riesgo bajo se refiere a una tasa de supervivencia libre de recaída a 5 años, una tasa de supervivencia libre de metástasis a 5 años, o una tasa de supervivencia específica de la enfermedad a 5 años mayor del 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, o más del 95 %, y el riesgo alto se refiere a una tasa de supervivencia libre de recaída a 5 años, una tasa de supervivencia libre de metástasis a 5 años, o una tasa de supervivencia específica de la enfermedad a 5 años de menos del 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, o menos del 5 %.

45 En determinadas realizaciones, las estratificaciones de riesgo se pueden categorizar, por ejemplo, se puede seleccionar un grupo con una designación arbitraria de Clase A en base al riesgo de recurrencia de menos del 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, o menos del 5 %. Se podrá seleccionar un grupo con designación arbitraria Clase B en base a un riesgo del 75 %, 70 %, 65 %, 60 %, 55 %, 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, o cualquier número intermedio. Se podrá seleccionar un grupo con designación arbitraria Clase C en base a un riesgo del 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, o mayor del 95 %. Estas designaciones de clases pueden comprender más de tres grupos o tan solo dos grupos, dependiendo de las características de separación del algoritmo predictivo. Una persona familiarizada con la técnica será capaz de determinar la estrategia de categorización óptima en base a las distribuciones de puntuaciones de probabilidad de clase desarrolladas mediante el modelado.

55 Como se utiliza en el presente documento, el término "metástasis" se refiere a la recurrencia o progresión de la enfermedad que puede ocurrir localmente, regionalmente (tal como metástasis ganglionar), o distalmente (tal como metástasis a distancia al cerebro, pulmón y otros tejidos). La Clase 1 o Clase 2 de metástasis, como se utiliza en el presente documento, incluye riesgo bajo (clase 1; por ejemplo, que tiene una tasa de supervivencia libre de recaída a 5 años, una tasa de supervivencia libre de metástasis a 5 años, o una tasa de supervivencia específica de la enfermedad a 5 años, de más del 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o, más del 95 %) o de riesgo alto (clase 2; por ejemplo, que tiene una tasa de supervivencia libre de metástasis a 5 años, o una tasa de supervivencia específica de la enfermedad a 5 años de menos del 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, o menos del 5 %) de metástasis de acuerdo con cualquiera de los métodos estadísticos divulgados en el presente documento. La Clase A, Clase B o Clase C de metástasis, como se utiliza en el presente documento, incluye metástasis de bajo riesgo (clase A; por ejemplo, que tiene un riesgo de recurrencia de menos del 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, o menos del 5 %), riesgo intermedio (clase B; por ejemplo, que tiene un riesgo de recurrencia del 75 %, 70 %, 65 %, 60 %, 55 %, 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, o cualquier número intermedio) o de riesgo alto (clase C; por ejemplo, que tiene un riesgo de recurrencia del 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, o más del 95 %) de metástasis de acuerdo con cualquiera de los métodos estadísticos divulgados en

el presente documento. El término “metástasis a distancia”, como se utiliza en el presente documento, se refiere a metástasis de un tumor primario de cSCC que se disemina ampliamente. Los pacientes con metástasis a distancia requieren tratamientos agresivos, que pueden erradicar el cSCC metastásico, prolongar la vida, y/o curar a algunos pacientes.

5

Como se utilizan en el presente documento, los términos “recurrencia locorregional” y “recurrencia local” se pueden utilizar indistintamente y se refieren a células cancerosas que se han diseminado al tejido que rodea inmediatamente al tumor primario de cSCC o que no fueron completamente extirpadas o retiradas mediante tratamiento previo o resección quirúrgica. Las recurrencias locorregionales normalmente son resistentes a la quimioterapia y la terapia de radiación. La recurrencia locorregional puede ser difícil de controlar y/o tratar si: (1) el tumor primario de cSCC está ubicado o involucra un órgano o estructura vital que limita el potencial de tratamiento; (2) aparece recurrencia después de la cirugía u otra terapia, porque aunque probablemente no sea resultado de metástasis, las altas tasas de recurrencia indican un tumor de cSCC avanzado; y (3) la presencia de metástasis en los ganglios linfáticos, aunque poco común en el cSCC, indica enfermedad avanzada.

10

15

En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento pueden comprender determinar que el tumor de cSCC tiene un riesgo aumentado de metástasis o una supervivencia general disminuida mediante la combinación con factores de estadificación clínica recomendados por, por ejemplo, el American Joint Committee on Cancer (AJCC), el Brigham Women's Hospital (BWH), o la National Comprehensive Cancer Network (NCCN), para estadificar el tumor primario de cSCC, u otras características histológicas asociadas con el riesgo de metástasis del tumor de cSCC o muerte relacionada con la enfermedad.

20

Como se utilizan en el presente documento, los términos “carcinoma cutáneo de células epidermoides” o “cSCC” o “SCC” se refieren a cualquier carcinoma cutáneo de células epidermoides, independientemente del tamaño del tumor, en pacientes sin evidencia clínica o histológica de enfermedad metastásica regional o distante. Se puede obtener una muestra de carcinoma cutáneo de células epidermoides a través de una variedad de métodos de muestreo, como biopsia por punción, biopsia por afeitado, escisión quirúrgica, biopsia con aguja gruesa, biopsia incisional, biopsia por aspiración con aguja fina (FNA) guiada por ultrasonido endoscópico (EUS), biopsia percutánea, y otros medios para extraer ARN del tumor primario de cSCC. Un carcinoma es un tipo de cáncer que se desarrolla a partir de células epiteliales. Específicamente, un carcinoma es un cáncer que comienza en un tejido que recubre las superficies internas o externas del cuerpo, y que surge de células que se originan en la capa germinal endodérmica, mesodérmica y ectodérmica durante la embriogénesis. Los carcinomas de células epidermoides tienen rasgos y características observables que indican diferenciación escamosa (por ejemplo, puentes intercelulares, queratinización, perlas epidermoides). El factor de riesgo más reconocido para cSCC es la exposición a la luz solar; por lo tanto, la mayoría de los tumores cSCC se desarrollan en sitios de la piel expuestos al sol, por ejemplo, el área de la cabeza o el cuello. También se pueden encontrar en la cara, orejas, labios, tronco, brazos, piernas, manos o pies. El carcinoma de células epidermoides es el segundo cáncer de piel más común.

25

30

35

Como se utiliza en el presente documento, “supervivencia general” (OS) se refiere al porcentaje de personas en un estudio o grupo de tratamiento que todavía están vivas durante un cierto período de tiempo después de que se les diagnosticara o comenzara el tratamiento de una enfermedad, tal como el cáncer. La tasa de supervivencia general a menudo se expresa como una tasa de supervivencia a cinco años, que es el porcentaje de personas en un estudio o grupo de tratamiento que están vivas cinco años después de su diagnóstico o del inicio del tratamiento.

40

La frase “medir los niveles de expresión génica” o “determinar los niveles de expresión génica”, como se utiliza en el presente documento, se refiere a determinar o cuantificar el ARN o las proteínas expresadas por el gen o genes. El término “ARN” incluye transcritos de ARNm, y/o variantes de empalme específicas de ARNm. El término “producto de ARN del gen”, como se utiliza en el presente documento, se refiere a transcritos de ARN transcritos a partir del gen y/o variantes de empalme específicas. En algunas realizaciones, el ARNm se convierte en ADNc antes de medir los niveles de expresión génica. Con respecto a las proteínas, la expresión génica se refiere a proteínas traducidas a partir de transcripciones de ARN transcritas del gen. El término “producto de proteína del gen” se refiere a proteínas traducidas a partir de productos de ARN del gen. Se pueden utilizar una serie de métodos para detectar o cuantificar el nivel de productos de ARN del gen o genes dentro de una muestra, que incluyen microarreglos, PCR en tiempo real (RT-PCR; que incluye RT-PCR cuantitativa), ensayos de protección de nucleasas, secuenciación de ARN, y análisis de transferencia Northern. En una realización, el ensayo utiliza el sistema de PCR en Tiempo Real rápido HT7900 APPLIED BIOSYSTEMS™. Además, un experto en la técnica apreciará que se puede utilizar una serie de métodos para determinar la cantidad de un producto de proteína de un gen de los métodos divulgados en el presente documento, que incluyen inmunoensayos tales como transferencias Western, ELISA e inmunoprecipitación seguida de SDS-PAGE e inmunocitoquímica. En determinadas realizaciones, el nivel de expresión de cada gen en el conjunto de genes se determina al transcribir inversamente el ARNm aislado en ADNc y medir un nivel de fluorescencia para cada gen en el conjunto de genes mediante un sistema de detección de secuencia de ácidos nucleicos siguiendo la Reacción de Cadena de Polimerasa en Tiempo Real (RT-PCR).

45

50

55

60

Un experto en la técnica apreciará que se puede utilizar una serie de agentes de detección para determinar la expresión génica. Por ejemplo, para detectar productos de ARN de los biomarcadores, se pueden utilizar sondas, cebadores, secuencias de nucleótidos complementarias o secuencias de nucleótidos que se hibridan con los productos de ARN. En otro ejemplo, para detectar productos de ADNc de los biomarcadores, se pueden utilizar sondas, cebadores, secuencias

65

de nucleótidos complementarias o secuencias de nucleótidos que se hibridan con los productos de ADNc. Para detectar los productos de proteína de los biomarcadores, se pueden utilizar ligandos o anticuerpos que se unen específicamente a los productos de proteína.

5 Como se utiliza en el presente documento, el término "hibridar" se refiere a la interacción de unión no covalente específica de secuencia con un ácido nucleico complementario. En una realización, la hibridación se realiza bajo condiciones de alta rigurosidad. Las condiciones rigurosas apropiadas que promueven la hibridación son conocidas por aquellos expertos en la técnica.

10 Como se utilizan en el presente documento, los términos "sonda" y "cebador" se refieren a una secuencia de ácidos nucleicos que se hibridará con una secuencia diana de ácido nucleico. En un ejemplo, la sonda y/o el cebador se hibridan con un producto de ARN del gen o una secuencia de ácidos nucleicos complementaria. En otro ejemplo, la sonda y/o el cebador se hibridan con un producto de ADNc. La longitud de la sonda o cebador depende de las condiciones de hibridación y de las secuencias de la sonda o cebador y de la secuencia diana del ácido nucleico. En una realización, la sonda o cebador tiene al menos 8, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 400, 500 o más de 500 nucleótidos de longitud. Las sondas y/o cebadores pueden incluir uno o más marcadores. Las sondas y/o cebadores se pueden obtener comercialmente de varios proveedores (por ejemplo, ThermoFisher Scientific). En determinadas realizaciones, una etiqueta puede ser cualquier sustancia capaz de ayudar a una máquina, detector, sensor, dispositivo o al ojo humano potenciado o no potenciado a diferenciar una composición etiquetada de una composición no etiquetada. Los ejemplos de etiquetas incluyen, pero no se limitan a: un isótopo radiactivo o su quelato, tinte (fluorescente o no fluorescente), colorante, enzima o metal no radiactivo. Los ejemplos específicos incluyen, pero no se limitan a: fluoresceína, biotina, digoxigenina, fosfatos alcalinos, biotina, estreptavidina, <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>32</sup>P, <sup>35</sup>S, o cualquier otro compuesto capaz de emitir radiación, rodamina, ácido 4-(4'-dimetilaminofenilazo)benzoico; ácido 4-(4'-dimetilamino-fenilazo)sulfónico (cloruro de sulfonilo); ácido 5-((2-aminoetil)-amino)-naftaleno-1-sulfónico; derivados de psoraleno, haptenos, cianinas, acridinas, derivados de rodol fluorescentes, derivados de colesterol; ácido etilendiaminotetraacético y derivados de los mismos, o cualquier otro compuesto que pueda detectarse diferencialmente. La etiqueta también puede incluir uno o más tintes fluorescentes. Ejemplos de tintes incluyen, pero no se limitan a: CAL-Fluor Red 610, CAL-Fluor Orange 560, dR110, 5-FAM, 6FAM, dR6G, JOE, HEX, VIC, TET, dTAMRA, TAMRA, NED, dROX, PET, BHQ+, Gold540 y LIZ.

20 Como se utiliza en el presente documento, un "sistema de detección de secuencias" es cualquier método computacional en la técnica que se puede utilizar para analizar los resultados de una reacción de PCR. Un ejemplo es el sistema de PCR en Tiempo Real rápido HT7900 APPLIED BIOSYSTEMS™. En determinadas realizaciones, la expresión génica se puede analizar utilizando, por ejemplo, expresión directa de ADN en microarreglo, análisis de secuenciación de Sanger, transferencia Northern, la tecnología NANOSTRING®, análisis en serie de la expresión génica (SAGE), RNA-seq, microarreglos de tejido, o expresión de proteínas con inmunohistoquímica o técnica de transferencia Western. La PCR generalmente implica la mezcla de una muestra de ácido nucleico, dos o más cebadores que se diseñan para reconocer el ADN de plantilla, una ADN polimerasa, que puede ser una ADN polimerasa termoestable como Taq o Pfu, y trifosfato de nucleósido desoxirribosa (dNTP). La PCR con transcripción inversa, la PCR con transcripción inversa cuantitativa, y la PCR con transcripción inversa cuantitativa en tiempo real son otros ejemplos específicos de PCR. En el análisis por PCR en tiempo real, se utilizan reactivos, métodos, sistemas de detección óptica, y dispositivos adicionales conocidos en la técnica que permiten una medición de la magnitud de la fluorescencia en proporción a la concentración de ADN amplificado. En dichos análisis, se puede detectar o medir la incorporación de tinte fluorescente en las hebras amplificadas. En una realización, el nivel de expresión de cada gen en el conjunto de genes se determina al transcribir inversamente el ARNm aislado en ADNc y medir un nivel de fluorescencia para cada gen en el conjunto de genes mediante un sistema de detección de secuencia de ácidos nucleicos siguiendo la Reacción de Cadena de Polimerasa en Tiempo Real (RT-PCR).

30 Como se utiliza en el presente documento, los términos "expresado diferencialmente" o "expresión diferencial" se refieren a una diferencia en el nivel de expresión de los genes que se puede ensayar al medir el nivel de expresión de los productos de los genes, tal como la diferencia en el nivel de transcrito de ARN mensajero expresado (o ADNc convertido) o proteínas expresadas de los genes. En una realización, la diferencia puede ser estadísticamente significativa. El término "diferencia en el nivel de expresión" se refiere a un aumento o disminución en el nivel de expresión medible de un gen determinado medido por la cantidad de transcrito de ARN mensajero (o ADNc convertido) y/o la cantidad de proteína en una muestra cuando se compara con el nivel de expresión medible de un gen dado en un control, o gen o genes de control en la misma muestra (por ejemplo, una muestra no recurrente). En otra realización, la expresión diferencial se puede comparar utilizando la relación del nivel de expresión de un gen o genes dados en comparación con el nivel de expresión del gen o genes dados de un control, en la que la relación no es igual a 1.0. Por ejemplo, un ARN, ADNc o proteína se expresa diferencialmente si la relación del nivel de expresión en una primera muestra en comparación con una segunda muestra es mayor o menor que 1.0. Por ejemplo, una relación mayor que 1, 1.2, 1.5, 1.7, 2, 3, 5, 10, 15, 20 o más de 20 o una relación menor que 1, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.001 o menor que 0.0001. En todavía otra realización, la expresión diferencial se mide utilizando el valor p. Por ejemplo, cuando se utiliza el valor p, se identifica que un biomarcador se expresa diferencialmente entre una primera muestra y una segunda muestra cuando el valor p es menor que 0.1, menor que 0.05, menor que 0.01, menor que 0.005 o menor que 0.001.

65 Los términos "expresión aumentada" o "expresión disminuida", como se utilizan en el presente documento, se refieren a un nivel de expresión de uno o más genes, o transcritos de ARN de pronóstico, o sus correspondientes ADNc, o sus

- 5 productos de expresión que se ha encontrado que se expresan diferencialmente en tumores de cSCC recurrentes versus no recurrentes. Cuanto mayor sea el nivel de expresión de un gen que predominantemente tiene una mayor expresión en tumores de pacientes que tuvieron recurrencia, mayor es la probabilidad de que se espere que el paciente que padece este tumor tenga un resultado clínico deficiente (es decir, mayor riesgo de recurrencia, metástasis, o ambas). Por el contrario, cuanto menor sea el nivel de expresión de un gen que predominantemente ha aumentado su expresión en tumores de pacientes que tienen tumores recurrentes, mayor es la probabilidad de que se espere que el paciente que padece este tumor tenga un resultado clínico prometedor (es decir, menor riesgo de recurrencia, metástasis, o ambas).
- 10
- 15 Las referencias en el presente documento al “mismo” nivel de biomarcador indican que el nivel de biomarcador medido en cada muestra es idéntico (es decir, en comparación con la referencia seleccionada). Las referencias en el presente documento a un nivel “similar” de biomarcador indican que los niveles no son idénticos pero la diferencia entre ellos no es estadísticamente significativa (es decir, los niveles tienen cantidades comparables).
- 20 Como se utilizan en el presente documento, los términos “control” y “estándar” se refieren a un valor específico que se puede utilizar para determinar el valor obtenido de la muestra. En una realización, se puede obtener un conjunto de datos a partir de muestras de un grupo de sujetos que se sabe que tienen un subtipo o carcinoma cutáneo de células epidermoides. Los datos de expresión de los genes en el conjunto de datos se pueden utilizar para crear un valor de control (estándar) que se utiliza al analizar muestras de nuevos sujetos. En dicha realización, el “control” o “estándar” es un valor predeterminado para cada gen o conjunto de genes obtenidos de sujetos con un carcinoma cutáneo de células epidermoides cuyos valores de expresión génica y tipos de tumores se conocen. En determinadas realizaciones de los métodos divulgados en el presente documento, los ejemplos no limitantes de genes de control pueden incluir, pero no se limitan a, BAG6 (ID de sonda: Hs00190383), KMT2D/MLL2 (ID de sonda: Hs00912419\_m1), MDM2 (ID de sonda: Hs00540450\_s1), FXR1 (ID de sonda: Hs01096876\_g1), KMT2C (ID de sonda: Hs01005521\_m1), MDM4 (ID de sonda: Hs00967238\_m1), VIM, y NF1B. En algunas realizaciones, una población de control puede comprender individuos sanos, individuos con cáncer, o una población mixta de individuos con o sin cáncer. En determinadas realizaciones, una población de control puede comprender individuos con cáncer no metastásico o cáncer que no recurrió.
- 25
- 30
- 35 Como se utiliza en el presente documento, el término “normal” cuando se utiliza con respecto a una población de muestra se refiere a un individuo o grupo de individuos que tiene o no tiene una enfermedad o afección particular (por ejemplo, cSCC o cSCC recurrente) y tampoco se sospecha que tenga o esté en riesgo de desarrollar la enfermedad o afección. El término “normal” también se utiliza en el presente documento para calificar un espécimen o muestra biológica (por ejemplo, un fluido biológico) aislado de un individuo o sujeto (o grupo de dichos sujetos) normal o sano, por ejemplo, una “muestra de control normal”. El nivel “normal” de expresión de un marcador es el nivel de expresión del marcador en células en un entorno o situación de respuesta similar, en un paciente que no padece cáncer. Un nivel normal de expresión de un marcador también se puede referir al nivel de expresión de una “muestra de referencia” (por ejemplo, una muestra de un sujeto sano que no tiene la enfermedad asociada al marcador). Una expresión de muestra de referencia puede estar compuesta por un nivel de expresión de uno o más marcadores de una base de datos de referencia. Alternativamente, un nivel “normal” de expresión de un marcador es el nivel de expresión del marcador en células no tumorales en un entorno o situación de respuesta similar del mismo paciente del que se deriva el tumor.
- 40
- 45
- 50 Como se utilizan en el presente documento, los términos “perfil de expresión génica”, “GEP” o “firma del perfil de expresión génica” se refieren a cualquier combinación de genes, los niveles de expresión medidos del transcrito de ARN mensajero, los niveles de ADNc, o los niveles de expresión directa de ADN, o cuyos niveles de inmunohistoquímica se pueden utilizar para distinguir entre dos tejidos y/o células corporales y/o cambios celulares biológicamente diferentes. En determinadas realizaciones, un perfil de expresión génica está compuesto por los niveles de expresión génica de al menos 140, 139, 138, 137, 136, 135, 134, 133, 132, 131, 130, 129, 128, 127, 126, 125, 124, 123, 122, 121, 120, 119, 118, 117, 116, 115, 114, 113, 112, 111, 110, 109, 108, 107, 106, 105, 104, 103, 102, 101, 100, 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 89, 88, 87, 86, 85, 84, 83, 82, 81, 80, 79, 78, 77, 76, 75, 74, 73, 72, 71, 70, 69, 68, 67, 66, 65, 64, 63, 62, 61, 60, 59, 58, 57, 56, 55, 54, 53, 52, 51, 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21 o 20 genes. En una realización, el perfil de expresión génica está compuesto por 56 genes. En otra realización, el perfil de expresión génica está compuesto por 40 genes. En otra realización, el perfil de expresión génica está compuesto por 30 genes. En otra realización, el perfil de expresión génica está compuesto por 20 genes. Opcionalmente se seleccionan genes adicionales para el conjunto de genes del grupo que consiste en: ACSBG1, AIM2, ANXA9, APOBEC3G, ARPC2, ATP6AP1, ATP6V0E2, BLOC1S1, C1QL4, C21orf59, C3orf70, CCL27, CD163, CEP76, CHI3L1, CHMP2B, CXCL10, CXCR4, CYP2D6 (LOC101929829), DARS, DCT, DDAH1, DSS1, DUXAP8, EGFR, EphB2, FCHSD1, FDFT1, FLG, FN1, HNRNPL, HOXA10 (HOXA9, MIR196B), HPGD, IL24, IL2RB, IL7R, INHBA, IPO5P1, KIT, KLK5, KRT17, KRT18, KRT19, KRT6B, LAMC2, LIME1 (ZGPAT), LOC101927502, LOR, LRRC47, MIER2, MIR129-1, MIR3916, MKLN1, MMP1, MMP12, MMP13, MMP3, MMP7, MMP9, MRC1, MRPL21, MYC, NEB, NEFL, NFIA, NFIB, NOA1, PD1, PDL1, PI3, PIG3, PIGBOS1, PIM2, PLAU, PLS3, PTHLH, PTRHD1, RBM33, RNF135, RPL26L1, S100A8, S100A9, SEPT3, SERPINB2, SERPINB4, SLC1A3, SLC25A11, SNORD124, SPATA41, SPP1, THYN1, TMEM41B, TNNC1,
- 60
- 65

5 TUBB3, TUFM (MIR4721), TYRP1, UGP2, USP7, VIM, YKT6, ZNF839, y/o ZSCAN31. En algunas realizaciones, el conjunto de genes comprende 30 genes o 40 genes. En algunas realizaciones, el conjunto de genes comprende además genes de control o genes de normalización seleccionados de: BAG6 (ID de sonda: Hs00190383), KMT2D/MLL2 (ID de sonda: Hs00912419\_m1), MDM2 (ID de sonda: Hs00540450\_s1), FXR1 (ID de sonda: Hs01096876\_g1), KMT2C (ID de sonda: Hs01005521\_m1), MDM4 (ID de sonda: Hs00967238\_m1), VIM, y NF1B.

10 Como se utiliza en el presente documento, el término “conjunto de entrenamiento predictivo” se refiere a una cohorte de tumores de cSCC con resultado clínico conocido para recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas y un perfil de expresión génica conocido, utilizado para definir o establecer todos los demás tumores de cSCC, en base al perfil de expresión génica de cada uno, como tipo de tumor de clase 1 de bajo riesgo o tipo de tumor de clase 2 de riesgo alto. Adicionalmente, en el conjunto de entrenamiento predictivo se incluye la definición de “puntos de umbral”, que son puntos en los que se determina una clasificación de riesgo metastásico, específica para cada nivel de expresión génica individual.

15 Como se utiliza en el presente documento, el término “alterado de manera predictiva” se refiere a cambios en el perfil de expresión génica que predicen la recurrencia local, la metástasis a distancia, el riesgo metastásico o predicen la supervivencia general. La evaluación de riesgos del modelado predictivo se puede medir como: 1) un resultado binario que tiene riesgo de metástasis o supervivencia general que se clasifica como de bajo riesgo (por ejemplo, denominado Clase 1 en el presente) frente a riesgo alto (por ejemplo, denominado Clase 2 en el presente documento); y/o 2) un resultado lineal basado en una puntuación de probabilidad desde 0 hasta 1 que refleja la correlación del perfil de expresión génica de un tumor de cSCC con el perfil de expresión génica de las muestras que comprenden el conjunto de entrenamiento utilizado para predecir el resultado de riesgo. Dentro del rango de puntuación de probabilidad desde 0 hasta 1, una puntuación de probabilidad, por ejemplo, de menos de 0.5 refleja una muestra de tumor con un riesgo bajo de recurrencia local, metástasis o muerte por enfermedad, mientras que una puntuación de probabilidad, por ejemplo, de más de 0.5 refleja una muestra de tumor con un riesgo alto de recurrencia local, metástasis o muerte por enfermedad. La puntuación de probabilidad creciente desde 0 hasta 1 refleja una supervivencia libre de metástasis cada vez menor. En una realización, la puntuación de probabilidad es un análisis bimodal de dos clases, en el que un paciente que tiene un valor entre 0 y 0.499 se designa como clase 1 (riesgo bajo; por ejemplo, que tiene una tasa de supervivencia libre de recaída a 5 años, una tasa de supervivencia libre de metástasis a 5 años, o una tasa de supervivencia específica de la enfermedad a 5 años de más del 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, o más del 95 %) y un paciente que tiene un valor entre 0.500 y 1.00 se designa como clase 2 (riesgo alto; por ejemplo, que tiene una tasa de supervivencia libre de metástasis a 5 años, o una tasa de supervivencia específica de la enfermedad a 5 años de menos del 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, o menos del 5 %).

35 En determinadas realizaciones, la puntuación de probabilidad es un análisis trimodal de tres clases, en el que los pacientes se designan como clase A (riesgo bajo; por ejemplo, que tienen un riesgo de recurrencia de menos del 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, o menos del 5 %), clase B (riesgo intermedio; por ejemplo, que tiene un riesgo de recurrencia del 75 %, 70 %, 65 %, 60 %, 55 %, 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, o cualquier número intermedio) o clase C (riesgo alto; por ejemplo, que tiene un riesgo de recurrencia del 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, o más del 95 %). Para desarrollar un sistema ternario o de tres clases de evaluación de riesgos, donde la Clase A tiene un riesgo bajo de metástasis o muerte por enfermedad, la Clase B tiene un riesgo intermedio, y la Clase C tiene un riesgo alto, el valor de puntuación de probabilidad mediana para todos se determinaron muestras de tumores de bajo o riesgo alto en el conjunto de entrenamiento, y se estableció una desviación estándar de la mediana como límite numérico para definir el riesgo bajo o alto. Por ejemplo, los tumores cSCC de bajo riesgo dentro del sistema de clasificación ternario pueden tener una supervivencia libre de metástasis a 5 años del 100 % (por ejemplo, Clase A; con una puntuación de probabilidad de 0-0.337), en comparación con riesgo alto (por ejemplo, Clase C; con una puntuación de probabilidad de 0.673-1) tumores cSCC que pueden tener una supervivencia libre de metástasis a 5 años del 20 %. Los casos que quedan fuera de una desviación estándar de la mediana de las puntuaciones de probabilidad de riesgo bajo o alto tienen un riesgo intermedio, y los tumores de cSCC de riesgo intermedio (Clase B; con una puntuación de probabilidad de 0.338-0.672) pueden tener una tasa de supervivencia libre de metástasis a 5 años del 55 %.

50 El sistema de estado TNM (Tumor-Nodo-Metástasis) es el sistema de estadificación del cáncer más utilizado entre los médicos y lo mantienen el American Joint Committee on Cancer (AJCC) y la International Union for Cancer Control (UICC). Los sistemas de estadificación del cáncer codifican la extensión del cáncer para proporcionar a los médicos y pacientes los medios para cuantificar el pronóstico de pacientes individuales y comparar grupos de pacientes en ensayos clínicos y que reciben atención estándar en todo el mundo.

60 Se ha informado que las tasas de recurrencia local de cSCC son del 1-10 %, pero pueden llegar hasta el 47 % en pacientes que tienen cSCC con características clínicas de riesgo alto. Si bien la tasa general de metástasis es de ~5 %, esta tasa aumenta hasta ~45 % en pacientes con características clínicas de riesgo alto o que ya han experimentado una recurrencia. Después de que se produce metástasis regional o a distancia, el pronóstico suele ser malo, con tasas de supervivencia a 5 años que varían entre el 26-34 % y tasas de supervivencia a 10 años del 16 %. Aunque los porcentajes generales de pacientes que mueren por cSCC (~1 %) son bajos, se estima que el número absoluto de muertes es igual o mayor que los atribuidos al melanoma, debido al gran número de diagnósticos anuales de cSCC (400,000-700,000 pacientes), y representan la mayoría de las muertes relacionadas con NMSC. De hecho, la recurrencia local y regional de tumores primarios de cSCC sigue siendo una carga para la salud significativa.

El carcinoma cutáneo de células epidermoides proviene de queratinocitos epidérmicos interfoliculares y puede surgir de lesiones precancerosas, las más comunes de las cuales son las queratosis actínicas. Una vez que las células malignas ingresan a la dermis, el cSCC se vuelve invasivo. El carcinoma de células epidermoides puede presentarse como lesiones lisas o hiperqueratinizadas de color rosado o del color de la piel. Pueden presentar ulceración y sangrar cuando están traumatizados. Los factores de riesgo que contribuyen al desarrollo de cSCC incluyen la exposición a la radiación ultravioleta, la radiación ionizante, y los productos químicos, así como el aumento de la edad y el género masculino. Las personas inmunodeprimidas, las que tienen antecedentes de linfoma no Hodgkin, que incluye la leucemia linfocítica crónica, las que tienen ciertas afecciones genéticas de la piel, y las que se han sometido a trasplantes de órganos tienen un riesgo significativamente mayor de desarrollar cSCC. De hecho, este último grupo tiene un riesgo hasta 100 veces mayor que el de la población normal. Algunos fármacos utilizados para tratar otros tipos de cáncer de piel (por ejemplo, carcinoma de células basales (BCC), melanoma), que incluyen los inhibidores de hedgehog, BRAF, y MET, también pueden aumentar la propensión al cSCC. Las lesiones pequeñas y de bajo riesgo se pueden tratar con criocirugía, legrado y electrodesecación, o cirugía, mientras que las lesiones más grandes y de mayor riesgo generalmente se tratan con escisión quirúrgica o cirugía de Mohs. La terapia de radiación se puede utilizar junto con la cirugía si los márgenes no se limpian quirúrgicamente o si hay invasión perineural. Si se produce una recurrencia regional, los ganglios linfáticos son el sitio principal de afectación y representan entre el ~80-85 % de las recurrencias de cSCC, mientras que las metástasis a distancia ocurren en ~15-20 % de los pacientes.

Debido a que el riesgo de recurrencia local en lesiones de carcinoma de células epidermoides de riesgo alto clínico o patológico puede acercarse al 45 %, y el riesgo de metástasis luego aumenta con la recurrencia local, ha habido un mayor interés en identificar con mayor precisión dichas lesiones. Como tal, la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) y el American Joint Committee on Cancer (AJCC) han propuesto recientemente parámetros para distinguir las lesiones de riesgo alto y medidas de seguimiento para estas lesiones. Estas características de riesgo alto incluyen el tamaño y la ubicación del tumor (áreas "enmascaradas" de la cara y/o la oreja y el labio no glabro), aumento del grosor o nivel de Clark, inmunosupresión, lesiones recurrentes, sitios de inflamación crónica o radiación previa, mala diferenciación, e invasión perineural. Sin embargo, las definiciones de cSCC de riesgo alto de diferentes grupos son discordantes: el AJCC clasifica la mayoría de las lesiones como de bajo riesgo y el NCCN clasifica la mayoría como de riesgo alto. Estas discrepancias, especialmente en los grupos T2a y T2b, han llevado a la propuesta de criterios de estadificación alternativos que pueden dilucidar mejor los casos de cSCC de riesgo alto. De hecho, existe una necesidad clínicamente insatisfecha de mejores marcadores para identificar lesiones de riesgo alto, en particular biomarcadores moleculares que puedan evaluarse objetivamente. Los perfiles de expresión génica de pronóstico validados divulgados en el presente documento podrían informar la toma de decisiones clínicas sobre, por ejemplo: (1) estadificación quirúrgica preoperatoria, en base a biopsia por afeitado; (2) radiación adyuvante, estadificación ganglionar, terapia sistémica adyuvante para reducir metástasis regional/distante; y (3) mejorar la identificación de pacientes con cSCC que pueden beneficiarse de intervenciones quirúrgicas, de radiación e inmunoterapia.

El carcinoma de células epidermoides que se prevé que tendrá un mayor riesgo de recurrencia, progresión, o metástasis se puede tratar con un régimen de tratamiento agresivo contra el cáncer. El cSCC avanzado se puede definir bajo dos títulos: (1) enfermedad locorregional; y/o (2) metástasis a distancia. La enfermedad locorregional puede ser difícil de controlar y/o tratar si: (1) el cSCC primario ha invadido estructuras neuronales o vasculares; (2) hay presencia de metástasis en los ganglios linfáticos, lo que indica enfermedad avanzada; o (3) se han detectado metástasis a distancia.

En determinadas realizaciones, el nivel de expresión de: ALOX12 se reduce, BBC se aumenta, BHLHB9 se reduce, GTPBP2 se reduce, HDCC3 se aumenta, ID2 se reduce, LCE2B se reduce, LOC100287896 se aumenta, MMP10 se reduce, MSANTD4 se reduce, NFASC se reduce, NFIC se reduce, PDPN se aumenta, RCHY1 se aumenta, RPP38 se reduce, RUNX3 se aumenta, TAF6L se aumenta, TFAP2B se reduce, ZNF48 se aumenta, y ZNF496 se aumenta, cuando se compara una muestra de tumor recurrente con una muestra de tumor no recurrente.

También se divulga, pero no forma parte de la invención, un método para tratar a un paciente con tumor de carcinoma cutáneo de células epidermoides (cSCC), se divulga en el presente documento el método que comprende: (a) obtener una muestra de tumor de cSCC del paciente y aislar el ARNm de la muestra; (b) determinar el nivel de expresión de al menos 10 genes en un conjunto de genes; en el que los al menos diez genes en el conjunto de genes se seleccionan de: ACSBG1, AIM2, ALOX12, ANXA9, APOBEC3G, ARPC2, ATP6AP1, ATP6V0E2, BBC, BHLHB9, BLOC1S1, C1QL4, C21orf59, C3orf70, CCL27, CD163, CEP76, CHI3L1, CHMP2B, CXCL10, CXCR4, CYP2D6 (LOC101929829), DARS, DCT, DDAH1, DSS1, DUXAP8, EGFR, EphB2, FCHSD1, FDFT1, FLG, FN1, GTPBP2, HDCC3, HNRNPL, HOXA10 (HOXA9, MIR196B), HPGD, ID2, IL24, IL2RB, IL7R, INHBA, IPO5P1, KIT, KLK5, KRT17, KRT 18, KRT 19, KRT6B, LAMC2, LCE2B, LIME1 (ZGPAT), LOC100287896, LOC101927502, LOR, LRRC47, MIER2, MIR129-1, MIR3916, MKLN1, MMP1, MMP10, MMP12, MMP13, MMP3, MMP7, MMP9, MRC1, MRPL21, MSANTD4, MYC, NEB, NEFL, NFASC, NFIA, NFIB, NFIC, NOA1, PD1, PDL1, PDPN, PI3, PIG3, PIGBOS1, PIM2, PLAU, PLS3, PTHLH, PTRHD1, RBM33, RCHY1, RNF135, RPL26L1, RPP38, RUNX3, S100A8, S100A9, SEPT3, SERPINB2, SERPINB4, SLC1A3, SLC25A11, SNORD124, SPATA41, SPP1, TAF6L, TFAP2B, THYN1, TMEM41B, TNNC1, TUBB3, TUFM (MIR4721), TYRP1, UGP2, USP7, VIM, YKT6, ZNF48, ZNF496, ZNF839, y/o ZSCAN31; (c) proporcionar una indicación sobre si el tumor de cSCC tiene un riesgo bajo o un riesgo alto de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas, en base al nivel de expresión de al menos 10 genes generados en la etapa (b); y (d) administrar al paciente un tratamiento agresivo cuando se determina afirmativamente que el paciente tiene un tumor de cSCC con un riesgo alto de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas.

Como se utilizan en el presente documento, los términos “tratamiento”, “tratar” o “que trata” se refieren a un método para reducir los efectos de una enfermedad o afección o síntoma de la enfermedad o afección. Por lo tanto, en los métodos divulgados en el presente documento, el tratamiento se puede referir a una reducción del 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o 100 % en la gravedad de una enfermedad o afección establecida o síntoma de la enfermedad o afección. Por ejemplo, un método de tratamiento de una enfermedad se considera un tratamiento si hay una reducción del 5 % en uno o más síntomas de la enfermedad en un sujeto en comparación con un control. Por lo tanto, la reducción puede ser del 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 % o cualquier porcentaje de reducción entre 5 % y 100 % cuando se compara con los niveles nativos o de control. Se entiende que el tratamiento no se refiere necesariamente a una cura o ablación completa de la enfermedad, afección o síntomas de la enfermedad o afección. Después de encontrar y estadificar un cSCC, un profesional médico o un equipo de profesionales médicos recomendará una o varias opciones de tratamiento. Al determinar un plan de tratamiento, los factores a considerar incluyen el tipo, la ubicación y el estadio del cáncer, así como la salud física general del paciente. Antes del inicio del tratamiento o terapia, todos los pacientes se deben evaluar y manejar por un equipo multidisciplinario con conocimientos y experiencia en cSCC. Los pacientes con cSCC normalmente cuentan con un equipo de atención médica multidisciplinario compuesto por médicos de diferentes especialidades, tal como: un dermatólogo (en particular, un dermatólogo que se especializa en cirugía micrográfica de Mohs), un cirujano ortopédico (en particular, un cirujano que se especializa en enfermedades de los huesos, músculos y articulaciones), un oncólogo quirúrgico, un cirujano torácico, un oncólogo médico, un oncólogo en radiación y/o un fisiatra (o médico rehabilitador). Después de encontrar y estadificar un cSCC, un profesional médico o un equipo de profesionales médicos normalmente recomendarán una o varias opciones de tratamiento, que incluyen una o más de cirugía, radiación, quimioterapia y terapia dirigida.

Los tumores de cSCC de bajo riesgo según se definen en las NCCN Guidelines® involucran: (1) un área menor que 20 mm (para tronco y extremidades) o menor que 10 mm para mejillas, frente, cuero cabelludo, cuello y pretibial; (2) bordes bien definidos; (3) tumor primario de cSCC; (4) crecimiento no rápido; (5) un paciente que no presenta síntomas neurológicos y no se considera inmunodeprimido; (6) de un sitio libre de inflamación crónica; (7) bien o moderadamente diferenciados; (8) libre de subtipos acantolíticos, adenoepidermoides, desmoplásicos o metaplásicos; (9) profundidades de menos de 2 mm; y (10) libre de afectación perineural, linfática o vascular.

Los tumores cSCC de riesgo alto según se definen en las NCCN Guidelines® involucran: (1) un área de más de 20 mm (para tronco y extremidades), mayor de 10 mm para las mejillas, frente, cuero cabelludo, cuello y pretibial, o cualquier cSCC que involucre las “áreas de la máscara” (como la cara central, los párpados, cejas, periorbitario, nariz, labios, mentón, mandíbula, sien u oreja), genitales, manos y pies; (2) bordes pobremente definidos; (3) tumor de cSCC recurrente; (4) crecimiento rápido; (5) de un paciente que tiene síntomas neurológicos o se considera inmunodeprimido; (6) de un sitio con inflamación crónica; (7) pobremente diferenciados; (8) presencia de subtipos acantolíticos, adenoepidermoides, desmoplásicos o metaplásicos; (9) profundidades mayores o iguales a 2 mm; y (10) presencia de afectación perineural, linfática o vascular.

Como se utiliza en el presente documento, el término “régimen de tratamiento agresivo del cáncer” se refiere a un régimen de tratamiento que está determinado por un profesional médico o un equipo de profesionales médicos y puede ser específico para cada paciente. Un tumor de cSCC que se predice que tendrá un riesgo alto de recurrencia o un riesgo alto de metástasis, o una menor probabilidad de supervivencia utilizando los métodos y kits divulgados en el presente documento, se trataría utilizando un régimen de tratamiento del cáncer agresivo. El hecho de que un tratamiento se considere agresivo dependerá generalmente del tipo de cáncer, la edad del paciente, y otros factores conocidos por aquellos expertos en la técnica. Por ejemplo, en el cáncer de mama, la quimioterapia adyuvante es un tratamiento agresivo común que se administra para complementar los estándares menos agresivos de cirugía y terapia hormonal. Aquellos expertos en la técnica están familiarizados con otros tratamientos agresivos y menos agresivos para cada tipo de cáncer. Un régimen de tratamiento agresivo contra el cáncer se define por National Comprehensive Cancer Network (NCCN), y se ha definido en las NCCN Guidelines® como que incluyen uno o más de: 1) formación de imágenes (escaneo CT, PET/CT, MRI, radiografía de tórax), 2) discusión y/u oferta de resección del tumor si se determina que un tumor es resecable (por ejemplo, mediante cirugía micrográfica de Mohs o resección con evaluación de margen circunferencial completa), 3) terapia de radiación (RT), 4) quimiorradiación, 5) quimioterapia, 6) terapia regional de extremidades, 7) cirugía paliativa, 8) terapia sistémica, 9) inmunoterapia y 10) inclusión en ensayos clínicos en curso. Las directrices para la práctica clínica se publican en la National Comprehensive Cancer Network (Cáncer de Piel de Células Epidermoides NCCN Guidelines® Versión 2.2018, actualizada el 5 de octubre de 2017, disponible en la World Wide Web en NCCN.org).

Las opciones terapéuticas adicionales pueden incluir, pero no se limitan a: 1) regímenes de combinación tales como: AD (doxorubicina, dacarbazina); AIM (doxorubicina, ifosfamida, mesna); MAID (mesna, doxorubicina, ifosfamida, dacarbazina); ifosfamida, epirubicina, mesna; gemcitabina y docetaxel; gemcitabina y vinorelbina; gemcitabina y dacarbazina; doxorubicina y olaratumab; metotrexato y vinblastina; tamoxifeno y sulindac; vincristina, dactinomomicina, ciclofosfamida; vincristina, doxorubicina, ciclofosfamida; vincristina, doxorubicina, ciclofosfamida con ifosfamida y etopósido; vincristina, doxorubicina, ifosfamida; topotecán ciclofosfamida; o ifosfamida, doxorubicina; y/o 2) agentes únicos, tales como: cisplatino u otros compuestos metálicos, 5-FU/capecitabina (Xeloda®), cetuximab (Erbix®), pembrolizumab (MK-3475), panitumumab (Vectibix®), dacomitinib (PF-00299804), gefitinib (ZD1839, Iressa), doxorubicina, ifosfamida, epirubicina, gemcitabina, dacarbazina, temozolomida, vinorelbina, eribulina, trabectedina, pazopanib, imatinib, sunitinib, regorafenib, sorafenib, nilotinib, dasatinib, interferón, toremifeno, metotrexato, irinotecán,

topotecán, paclitaxel, nab-paclitaxel (abraxano), docetaxel, bevacizumab, temozolomida, sirolimus (Rapamune®), everolimus, temsirolimus, crizotinib, ceritinib o palbociclib.

Si bien la escisión quirúrgica sigue siendo la base para el tratamiento de pacientes con cSCC operable (Estadio I-III), para los pacientes en Estadio I, la resección en bloque con márgenes negativos generalmente se considera suficiente para el control local a largo plazo. Para aquellos con márgenes de escisión incompletos y/u otras características patológicas desfavorables, se puede recomendar quimioterapia y/o terapia de radiación pre o posoperatoria. Ninguna terapia ha demostrado una eficacia constante para el tratamiento del cSCC extirpado, y las opciones de tratamiento para el cSCC irresecable o avanzado son limitadas.

La inmunoterapia utilizando un inhibidor anti-PD1 ha mostrado resultados prometedores en estudios de fase inicial con pacientes con cSCC. Ejemplos de inmunoterapias (que se pueden utilizar solas o en combinación con una o más de resección tumoral si se determina que un tumor es resecable, terapia de radiación, quimiorradiación, quimioterapia, terapia regional de extremidades, cirugía paliativa, terapia sistémica, inmunoterapia adicional, o inclusión en ensayos clínicos en curso), puede incluir, por ejemplo, pembrolizumab (Keytruda®) y nivolumab (Opdivo®), cemiplimab (REGN2810; un anticuerpo monoclonal completamente humano contra la Muerte Programada-1). PD-1 es una proteína de las células T que normalmente ayuda a evitar que las células T ataquen a otras células del cuerpo. Al bloquear PD-1, estos fármacos pueden impulsar la respuesta inmunitaria contra las células cancerosas. Los inhibidores de CTLA-4 (por ejemplo, ipilimumab (Yervoy®)) son otra clase de fármacos que pueden impulsar la respuesta inmunitaria. En algunos casos, la terapia con citocinas (como interferón alfa e interleucina-2) se puede utilizar para impulsar el sistema inmunitario. Los ejemplos de tratamientos basados en interferón e interleucina pueden incluir, pero no se limitan a, aldesleucina (proleucina®), interferón alfa-2b (INTRON®), y el interferón alfa-2b pegilado (Sylvatron®; PEG-INTRON®, PEGASIS). Por ejemplo, se puede utilizar la terapia con virus oncolíticos. Además de matar las células directamente, los virus oncolíticos también pueden alertar al sistema inmunitario para que ataque las células cancerosas. Por ejemplo, talimogén laherparepvec (Imlygic®), también conocido como T-VEC, es un virus oncolítico que se puede utilizar para tratar melanomas. Las inmunoterapias adicionales pueden incluir CV8102.

Adicionalmente, se pueden utilizar terapias dirigidas para tratar a pacientes con cSCC. Por ejemplo, las terapias dirigidas pueden incluir, pero no se limitan a, vemurafenib (Zelboraf®), dabrafenib (Tafinlar®), trametinib (Mekinist®), CLL442 y cobimetinib (Cotellic®). Estos fármacos se dirigen a mutaciones genéticas comunes, tales como la mutación BRAFV600, que se pueden encontrar en un subconjunto de pacientes con cSCC.

En algunas realizaciones, el tumor de cSCC es una muestra congelada. En otra realización, la muestra de cSCC se fija con formalina y se embebe en parafina. En determinadas realizaciones, la muestra de cSCC se toma de una muestra de escisión local amplia embebida en parafina, fijada con formalina. En otra realización, el tumor de cSCC se toma de una muestra de biopsia primaria embebida en parafina, fijada con formalina. La muestra de cSCC se ha obtenido opcionalmente a partir de una biopsia quirúrgica guiada por imágenes, una biopsia por afeitado, una escisión amplia, o una disección de ganglios linfáticos.

En determinadas realizaciones, el análisis de la expresión génica y la determinación del resultado se llevan a cabo utilizando una máquina de base radial y/o análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS), análisis de árbol de partición, análisis de regresión logística (LRA), K-vecino más cercano, redes neuronales, modelos en conjunto, algoritmos de votación u otro enfoque algorítmico. Estas técnicas de análisis tienen en cuenta la gran cantidad de muestras requeridas para generar un conjunto de entrenamiento que permitirá una predicción precisa de los resultados como resultado de puntos de corte establecidos con un conjunto de entrenamiento en proceso o puntos de corte definidos por análisis no algorítmicos pero que cualquier número de enfoques lineales y no lineales puede producir un resultado estadísticamente significativo y clínicamente significativo. Como se utiliza en el presente documento, se entiende en la técnica que el término "análisis de supervivencia de Kaplan-Meier" también se conoce como estimador del límite del producto, que se utiliza para estimar la función de supervivencia a partir de datos de vida útil. En la investigación médica, a menudo se utiliza para medir la fracción de pacientes que viven durante un cierto período de tiempo después del tratamiento. Las bibliotecas MP GENOMICS®, R, Python, que incluyen software SciPy, SciKit y numpy o sistemas tales como TensorFlow, proporcionan una interfaz para utilizar cada uno de los métodos de modelado predictivo divulgados en el presente documento, y no deben limitar las reivindicaciones a métodos realizados solo con software JMP GENOMICS®, R, Python o TensorFlow.

También se divulga, pero no forma parte de la presente invención, un kit que comprende pares de cebadores adecuados para la detección y cuantificación de la expresión de ácidos nucleicos de al menos diez genes divulgados en el presente documento, en el que al menos diez genes se seleccionan de: ACSBG1, AIM2, ALOX12, ANXA9, APOBEC3G, ARPC2, ATP6AP1, ATP6V0E2, BBC, BHLHB9, BLOC1S1, C1QL4, C21orf59, C3orf70, CCL27, CD163, CEP76, CHI3L1, CHMP2B, CXCL10, CXCR4, CYP2D6 (LOC101929829), DARS, DCT, DDAH1, DSS1, DUXAP8, EGFR, EphB2, FCHSD1, FDF1, FLG, FN1, GTPBP2, HDDC3, HNRNPL, HOXA10 (HOXA9, MIR196B), HPGD, ID2, IL24, IL2RB, IL7R, INHBA, IPO5P1, KIT, KLK5, KRT17, KRT18, KRT19, KRT6B, LAMC2, LCE2B, LIME1 (ZGPAT), LOC100287896, LOC101927502, LOR, LRRC47, MIER2, MIR129-1, MIR3916, MKLN1, MMP1, MMP10, MMP12, MMP13, MMP3, MMP7, MMP9, MRC1, MRPL21, MSANTD4, MYC, NEB, NEFL, NFASC, NFIA, NFIB, NFIC, NOA1, PD1, PDL1, PDPN, PI3, PIG3, PIGBOS1, PIM2, PLAU, PLS3, PTHLH, PTRHD1, RBM33, RCHY1, RNF135, RPL26L1, RPP38, RUNX3, S100A8, S100A9, SEPT3, SERPINB2, SERPINB4, SLC1A3, SLC25A11, SNORD124, SPATA41, SPP1, TAF6L, TFAP2B, THYN1, TMEM41B, TNNC1, TUBB3, TUFM (MIR4721), TYRP1, UGP2, USP7, VIM, YKT6, ZNF48, ZNF496, ZNF839, y/o ZSCAN31.

Los pares de cebadores adecuados para la detección y cuantificación de la expresión de ácidos nucleicos de al menos diez genes son pares de cebadores para: ACSBG1, AIM2, ALOX12, ANXA9, APOBEC3G, ARPC2, ATP6AP1, ATP6V0E2, BBC, BHLHB9, BLOC1S1, C1QL4, C21orf59, C3orf70, CCL27, CD163, CEP76, CHI3L1, CHMP2B, CXCL10, CXCR4, CYP2D6 (LOC101929829), DARS, DCT, DDAH1, DSS1, DUXAP8, EGFR, EphB2, FCHSD1, FDFT1, FLG, FN1, GTPBP2, HDCC3, HNRNPL, HOXA10 (HOXA9, MIR196B), HPGD, ID2, IL24, IL2RB, IL7R, INHBA, IPO5P1, KIT, KLK5, KRT17, KRT 18, KRT 19, KRT6B, LAMC2, LCE2B, LIME1 (ZGPAT), LOC100287896, LOC101927502, LOR, LRRC47, MIER2, MIR129-1, MIR3916, MKLN1, MMP1, MMP10, MMP12, MMP13, MMP3, MMP7, MMP9, MRC1, MRPL21, MSANTD4, MYC, NEB, NEFL, NFASC, NFIA, NFIB, NFIC, NOA1, PD1, PDL1, PDPN, PI3, PIG3, PIGBOS1, PIM2, PLAU, PLS3, PTHLH, PTRHD1, RBM33, RCHY1, RNF135, RPL26L1, RPP38, RUNX3, S100A8, S100A9, SEPT3, SERPINB2, SERPINB4, SLC1A3, SLC25A11, SNORD124, SPATA41, SPP1, TAF6L, TFAP2B, THYN1, TMEM41B, TNNC1, TUBB3, TUFM (MIR4721), TYRP1, UGP2, USP7, VIM, YKT6, ZNF48, ZNF496, ZNF839, y/o ZSCAN31. Los pares de cebadores comprenden opcionalmente pares de cebadores para 10 genes, 20 genes, 30 genes, 40 genes o más.

También se divulgan, pero no forman parte de la invención, kits para utilizarse en la evaluación de la expresión de un gen o conjunto de genes en una muestra de cSCC o muestra biológica de un sujeto para evaluar el riesgo de desarrollar recurrencia, metástasis, o ambas. También se divulga, pero no forma parte de la invención, un kit que comprende pares de cebadores adecuados para la detección y cuantificación de la expresión de ácidos nucleicos de al menos diez genes seleccionados de: ACSBG1, AIM2, ALOX12, ANXA9, APOBEC3G, ARPC2, ATP6AP1, ATP6V0E2, BBC, BHLHB9, BLOC1S1, C1QL4, C21orf59, C3orf70, CCL27, CD163, CEP76, CHI3L1, CHMP2B, CXCL10, CXCR4, CYP2D6 (LOC101929829), DARS, DCT, DDAH1, DSS1, DUXAP8, EGFR, EphB2, FCHSD1, FDFT1, FLG, FN1, GTPBP2, HDCC3, HNRNPL, HOXA10 (HOXA9, MIR196B), HPGD, ID2, IL24, IL2RB, IL7R, INHBA, IPO5P1, KIT, KLK5, KRT17, KRT18, KRT19, KRT6B, LAMC2, LCE2B, LIME1 (ZGPAT), LOC100287896, LOC101927502, LOR, LRRC47, MIER2, MIR129-1, MIR3916, MKLN1, MMP1, MMP10, MMP12, MMP13, MMP3, MMP7, MMP9, MRC1, MRPL21, MSANTD4, MYC, NEB, NEFL, NFASC, NFIA, NFIB, NFIC, NOA1, PD1, PDL1, PDPN, PI3, PIG3, PIGBOS1, PIM2, PLAU, PLS3, PTHLH, PTRHD1, RBM33, RCHY1, RNF135, RPL26L1, RPP38, RUNX3, S100A8, S100A9, SEPT3, SERPINB2, SERPINB4, SLC1A3, SLC25A11, SNORD124, SPATA41, SPP1, TAF6L, TFAP2B, THYN1, TMEM41B, TNNC1, TUBB3, TUFM (MIR4721), TYRP1, UGP2, USP7, VIM, YKT6, ZNF48, ZNF496, ZNF839, y/o ZSCAN31.

Los kits pueden incluir cualquier combinación de componentes que facilite la realización de un ensayo. Un kit que facilita la evaluación de la expresión del gen o genes puede incluir reactivos inmunológicos y/o basados en ácidos nucleicos adecuados, así como tampones, reactivos de control y protocolos impresos adecuados. Un "kit" es cualquier artículo de fabricación (por ejemplo, un paquete o recipiente) que comprende al menos un reactivo, por ejemplo, un conjunto de sondas o cebadores, para detectar específicamente un marcador o conjunto de marcadores utilizados en los métodos divulgados en el presente documento. El artículo de fabricación se puede promocionar, distribuir, vender u ofrecer a la venta como una unidad para realizar los métodos divulgados en el presente documento. Los reactivos incluidos en dicho kit comprenden sondas, cebadores o anticuerpos para uso en la detección de uno o más de los genes y/o conjuntos de genes divulgados en el presente documento y que han demostrado ser útiles para predecir la recurrencia, la metástasis, o ambas, en pacientes con cSCC. Los kits que facilitan los métodos basados en ácidos nucleicos pueden incluir además uno o más de los siguientes: ácidos nucleicos específicos tales como oligonucleótidos, reactivos de etiquetado, enzimas que incluyen reactivos de amplificación por PCR tales como Taq o Pfu, transcriptasa inversa u otros, y/o reactivos que facilitan hibridación. Además, los kits divulgados en el presente documento pueden contener preferiblemente instrucciones que describan un ensayo de detección adecuado. Dichos kits se pueden utilizar convenientemente, por ejemplo, en entornos clínicos, para diagnosticar y evaluar pacientes que exhiben síntomas de cáncer, en particular pacientes que exhiben la posible presencia de un carcinoma cutáneo de células epidermoides.

#### Ejemplos

Los Ejemplos que siguen son ilustrativos de realizaciones específicas de la invención reivindicada, y diversos usos de la misma. Se establecen únicamente con fines explicativos, y no se deben interpretar como limitantes del alcance de la invención reivindicada de ninguna manera.

#### Ejemplo 1: preparación de muestras de tumores cSCC y análisis de expresión

a. Preparación de muestras de tumores cSCC y aislamiento de ARN.

Se adquirieron especímenes de tumores de carcinoma de células epidermoides primarias fijadas con formalina y embebidas en parafina (FFPE) dispuestas en secciones de 5 µm en portaobjetos de microscopio de múltiples instituciones según los protocolos aprobados por la Institutional Review Board (IRB). Todo el tejido fue revisado por un patólogo. Se marcó el tejido y se diseccionó el tejido tumoral del portaobjetos utilizando un bisturí desechable estéril, se recogió en un tubo de microcentrifuga y se desparafinizó utilizando xileno. El ARN se aisló de cada espécimen utilizando el kit de ARN QIAGEN QIAasympy (Hilden, Alemania) en el extractor automático de preparación de muestras QIAGEN QIAasympy SP. La cantidad de ARN se evaluó utilizando el sistema NanoDrop™ 8000.

b. Generación de ADNc y análisis RT-PCR.

El ARN aislado de muestras FFPE se convirtió en ADNc utilizando el Kit de Transcripción Inversa de ADNc de Alta Capacidad de Applied Biosystems (Life Technologies Corporation, Grand Island, NY). Antes de realizar el ensayo de RT-PCR, cada muestra de ADNc se sometió a una etapa de preamplificación de 14 ciclos. Las muestras de ADNc preamplificadas se diluyeron 20 veces en tampón TE. Se mezclaron 7.5 µl de cada muestra diluida con 7.5 µl de TaqMan OpenArray Real-Time Mastermix, y la solución se cargó en una tarjeta OpenArray de microfluidos de alto rendimiento personalizada que contenía cebadores específicos para los genes. Cada muestra se procesó por triplicado. La prueba del perfil de expresión génica se realizó en un sistema de PCR en tiempo real ThermoFisher QuantStudio12k Flex (Life Technologies Corporation, Grand Island, NY).

10 C. Análisis de expresiones y asignación de clase.

Los valores de Ct medios se calcularon para conjuntos de muestras por triplicado y los valores  $\Delta C_t$  se calcularon al restar el Ct medio de cada gen discriminante de la media geométrica de los valores Ct medios de todos los genes de control endógenos. Los valores  $\Delta C_t$  se estandarizaron de acuerdo con la media de la expresión de todos los genes discriminantes con una escala equivalente a la desviación estándar. Se realizaron varios métodos de modelado predictivo, que incluyen la máquina de base radial, k-vecino más cercano, árbol de partición, regresión logística, análisis discriminante y puntuación de distancia, y análisis de redes neuronales, utilizando R versión 3.3.2.

20 Ejemplo 2: Firma genética de riesgo metastásico de cSCC y expresión de biomarcadores

El flujo de trabajo del diseño del estudio se muestra en la Figura 1. En primer lugar, para desarrollar el perfil de expresión génica para el pronóstico del cSCC, se utilizaron como conjunto de desarrollo casos con datos clínicos anotados y seguimiento suficiente. Se crearon categorizaciones preespecificadas de pacientes dentro del grupo recurrente y no recurrente, que incluyen los inmunocomprometidos, los inmunocompetentes, aquellos con una cierta cantidad de características de riesgo alto y casos de bajo riesgo. El objetivo era satisfacer el número preespecificado de casos en cada categorización para el desarrollo. Se realizó un modelado predictivo a partir de datos de expresión génica de la cohorte de desarrollo. Luego se validó el modelo predictivo. Se incluyeron 221 casos en el conjunto de desarrollo. (véase Tabla 1). La Tabla 1 muestra los datos demográficos de la cohorte de 221 casos utilizados en este estudio. También se estratifican por no recurrencia o recurrencia. La recurrencia se define como cualquier recurrencia: ganglio local (satelitis a través de ganglios regionales y metástasis a distancia). Tenga en cuenta que los casos con R1 o R2 y recurrencia local en la cicatriz o contiguas a la cicatriz fueron excluidos de este análisis. Se incluyen las características que están asociadas con tumores de mayor riesgo (tales como sexo masculino, sistema inmunitario comprometido, tumor primario de cabeza y cuello, diferenciación deficiente o indiferenciada, Nivel de Clark más alto, invasión perineural e invasión de la grasa subcutánea). Esto después de embargar casos que aún no habían tenido un seguimiento de datos y no cumplían con requisitos de datos de expresión génica muy estrictos.

Tabla 1: Datos demográficos de la cohorte de 221 casos utilizados en los Ejemplos 2 y 3

Característica	Todos (n=221)	No recurrencia (n=196)	Con recurrencia (n=25)	Valor p
Edad: Mediana de años (rango)	74 (43-97)	74 (45-97)	69 (43-91)	n.s.
Media +/- DE	72.8 +/- 11.2	73.3 +/- 10.8	68.6 +/- 13.2	
Cirugía definitiva: Mohs WLE	181 (82 %) 39 (18 %)	161 (82 %) 34 (17 %)	20 (80 %) 5 (20 %)	n.s.
Sexo masculino	164 (74 %)	143 (73 %)	21 (84 %)	n.s.
Paciente inmunocomprometido	30 (14 %)	20 (10 %)	10 (40 %)	p<0.001
Ubicado en la cabeza o el cuello	146 (66%)	129 (66%)	17 (68 %)	n.s.
Diámetro del tumor:				p<0.001
Mediana cm (rango)	1.4 (0-28)	1.15 (0-8.8)	2.9 (0.25-28)	
Media +/- DE	1.88 +/- 2.34	1.62 +/- 1.47	3.89 +/- 5.27	
Estado de diferenciación: Pobre/Indiferenciado	12 (5 %)	9 (5 %)	3 (12 %)	p<0.001
Nivel de Clark IV/V	73 (33 %)	67 (34 %)	6 (24 %)	p<0.001
Invasión perineural presente	12 (5 %)	9 (5 %)	3 (12 %)	p<0.001
Invasión de la grasa subcutánea	22 (10 %)	19 (10 %)	3 (12 %)	P=0.015

Se evaluaron las diferencias de expresión génica (datos de RT-PCR de 73 genes) entre casos de cSCC recurrentes y no recurrentes. Utilizando los datos de expresión génica, se identificaron varios genes de control que tenían una expresión estable en todas las muestras. Estos genes de control se utilizaron luego para normalizar la expresión de los genes restantes. Se investigaron las diferencias en la expresión génica entre los casos recurrentes y no recurrentes para encontrar los genes que son significativos. También se evaluaron diferencias significativas en la expresión génica que se asociaron con recurrencias locales, metástasis regionales, y metástasis a distancia. La Tabla 2 a continuación muestra genes asociados con metástasis regionales/distantes. La expresión génica de los genes discriminantes en la firma (Tabla 2) se evaluó en una cohorte de 240 muestras de cSCC utilizando RT-PCR; 18 de ellas fueron significativas de forma independiente para un valor de p < 0.05 (véase Figura 2). Como se muestra en la Tabla 3 a continuación, de los 63 genes

discriminantes, 18 se alteraron en tumores de cSCC metastásicos en comparación con tumores no metastásicos con un valor de  $p < 0.05$ .

Tabla 2: 63 genes candidatos para la firma de GEP para predecir el riesgo metastásico y/o la recurrencia en tumores cSCC

5

Símbolo genético	Valor p	Recurrencia media	No Recurrencia media
LOR	0.000	0.310	2.935
KRT18	0.000	0.454	-1.081
LCE2B	0.000	0.447	2.490
EphB2	0.001	-1.846	-2.648
FLG	0.001	-4.104	-1.594
DCT	0.001	-5.696	-3.003
TFAP2B	0.001	-6.571	-3.836
NEB	0.002	-3.495	-2.807
TYRP1	0.006	-5.869	-3.709
MMP3	0.006	-2.887	-5.159
MMP7	0.010	-3.915	-5.568
MMP1	0.014	2.290	0.970
INHBA	0.016	-1.203	-2.222
ACSBG1	0.024	-3.613	-2.489
USP7	0.029	0.689	1.076
APOBEC3G	0.035	-3.800	-4.260
NFIB	0.036	-2.623	-2.385
ANXA9	0.050	-8.007	-7.059
RCHY1	0.055	-2.418	-2.665
PDPN	0.056	1.672	1.251
ALOX12	0.066	-4.112	-3.688
YKT6	0.070	1.449	1.140
PLAU	0.091	1.873	1.913
ID2	0.110	-0.921	-0.550
MMP10	0.119	-0.067	-1.164
HPGD	0.141	-6.830	-5.781
FN1	0.147	1.594	1.186
HNRNPL	0.156	-0.036	0.085
AIM2	0.159	-4.093	-4.610
MMP13	0.178	-7.096	-8.365
BBC	0.179	-7.464	-7.738
EGFR	0.189	0.908	0.705
SPP1	0.200	-0.144	-1.332
SERPINB4	0.251	-11.815	-10.852
NEFL	0.292	-2.876	-1.321
NFASC	0.301	-3.832	-3.738
PI3	0.324	4.686	4.847
PIG3	0.333	-3.420	-3.698
LAMC2	0.350	0.480	0.196
ARPC2	0.353	-0.053	-0.006
AADAC	0.379	-16.094	-15.629
IL24	0.387	-3.969	-4.629
S100A8	0.388	3.838	3.936
CCL27	0.398	-12.922	-13.230
PTHLH	0.401	0.777	0.907
S100A9	0.457	7.525	7.534
DDAH1	0.461	-5.660	-5.216
PDL1	0.471	-3.067	-3.124
DSS1	0.477	-5.722	-5.442
KRT19	0.486	-2.982	-3.853
KIT	0.529	-2.391	-2.415
TUBB3	0.599	-4.541	-5.167
MYC	0.631	-3.816	-3.749
CHI3L1	0.653	-0.029	0.025
MMP9	0.684	1.649	1.733
CXCR4	0.742	-8.733	-8.858
ATP6V0E2	0.750	-8.562	-8.519

Símbolo genético	Valor p	Recurrencia media	No Recurrencia media
CXCL10	0.785	-3.039	-3.184
PD1	0.825	-1.878	-1.870
IL7R	0.872	-8.524	-8.094
MMP12	0.919	-2.958	-3.225
CEP76	0.981	-4.361	-4.656

Tabla 3: 18 genes incluidos en una firma de GEP capaces de predecir la recurrencia en cSCC

Símbolo genético	Valor p	Recurrencia media	No Recurrencia media
ACSBG1	0.024	-3.613	-2.489
ANXA9	0.050	-8.007	-7.059
APOBEC3G	0.035	-3.800	-4.260
DCT	0.001	-5.696	-3.003
EphB2	0.001	-1.846	-2.648
FLG	0.001	-4.104	-1.594
INHBA	0.016	-1.203	-2.222
KRT18	0.000	0.454	-1.081
LCE2B	0.000	0.447	2.490
LOR	0.000	0.310	2.935
MMP1	0.014	2.290	0.970
MMP3	0.006	-2.887	-5.159
MMP7	0.010	-3.915	-5.568
NEB	0.002	-3.495	-2.807
NFIB	0.036	-2.623	-2.385
TFAP2B	0.001	-6.571	-3.836
TYRP1	0.006	-5.869	-3.709
USP7	0.029	0.689	1.076

Ejemplo 3: Estudios de desarrollo del conjunto de entrenamiento inicial y comparación con la cohorte de validación.

5

Se utilizó la versión 3.3.2 de R para entrenar múltiples modelos predictivos (por ejemplo, múltiples métodos de aprendizaje automático, como redes neuronales, máquina de impulso de gradiente, impulso de modelo lineal generalizado, función de base radial, clasificación basada en reglas, clasificación de árbol de decisión, y/o análisis discriminante lineal regularizado) frente a los valores de Ct normalizados obtenidos del análisis RT-PCR en 181 casos de cSCC seleccionados al azar de los 240 casos del conjunto combinado. El promedio de los principales modelos predictivos fue más sensible que los modelos del Hospital Brigham and Women's (BWH) o del American Joint Committee on Cancer (AJCC), con una mínima pérdida de especificidad. Estos resultados muestran que el cSCC recurrente y no recurrente se puede identificar a través de perfiles de expresión génica y la expresión génica se puede utilizar para identificar pacientes con cSCC con un mayor riesgo de recurrencia. Una prueba de pronóstico validada podría informar la toma de decisiones clínicas sobre la estadificación quirúrgica preoperatoria (por ejemplo, en base a una biopsia por afeitado), el enfoque quirúrgico (BSGC) o la radiación adyuvante para reducir la recurrencia local, y la radiación adyuvante, la estadificación ganglionar y la terapia sistémica adyuvante para reducir la metástasis regional/distante. Dicha prueba podría mejorar dichas decisiones de intervención y ayudar a determinar qué pacientes pueden beneficiarse de modalidades terapéuticas adicionales.

10

15

20

Tabla 4: Modelado predictivo: recurrencia local

Recurrencia local	Ejemplo 2 del GEP	BWH	AJCCv7	AJCCv8
Sensibilidad	75 %	17 %	0 %	39 %
Especificidad	92 %	90 %	99.5 %	79 %
valor predictivo negativo (VPN)	98 %	92 %	92 %	94 %
valor predictivo positivo (VPP)	50 %	13 %	94 %	14 %

Tabla 5: Modelado predictivo: metástasis

Metástasis regional/distante	Ejemplo 2 del GEP	BWH	AJCCv7	AJCCv8
Sensibilidad	83 %	23 %	0 %	46 %
Especificidad	95 %	90 %	100 %	79 %
valor predictivo negativo (VPN)	99 %	95 %	94 %	96 %
valor predictivo positivo (VPP)	53 %	13 %	0 %	12 %

Ejemplo 4: Prueba de perfil de expresión génica de pronóstico en cSCC en pacientes con una o más características de riesgo alto

25

Identificar un perfil de expresión génica que prediga con precisión: (1) cSCC primario con un riesgo alto de metástasis ganglionar/distante regional; y (2) cSCC primario con riesgo alto de recurrencia local después de la eliminación quirúrgica completa, se realizó un estudio multicéntrico utilizando muestras de tejido primario archivadas con una captura extensa de datos clínicos asociados. El enfoque utiliza genes candidatos específicos de la literatura combinados con genes de un tamiz de microarreglos de enfoque global. Las muestras provienen de sujetos con cSCC patológicamente confirmado diagnosticado después de 2006, mínimo 3 años de seguimiento o evento (véase Tablas 6 y 7). Se midieron dos resultados separados: (1) metástasis ganglionar/distante; y (2) recurrencia local. Las métricas de precisión demuestran que la firma de expresión génica tiene valor pronóstico en una cohorte independiente (véase Tabla 8 y Figura 4). La prueba de pronóstico podría informar la toma de decisiones clínicas sobre: (1) estadificación quirúrgica preoperatoria, basada en biopsia por afeitado; y (2) radiación adyuvante, estadificación ganglionar, terapia sistémica adyuvante para reducir metástasis regional/distante.

Tabla 6: Datos demográficos para el estadio de desarrollo del Ejemplo 4.

Característica	Todos (n=122)	No metastásico (n=108)	Metástasis regional/distante (n=14)
Edad: Mediana de años (rango)	74 (49-97)	74 (50-97)	74.5 (49-91)
Cirugía definitiva: Mohs	99 (82 %) #	88 (82 %) #	11 (79 %)
Sexo masculino	94 (77 %)	81 (75 %)	13 (93 %)
Paciente inmunocomprometido	17 (14 %)	13 (12 %)	4 (29 %)
Ubicado en la cabeza o el cuello	87 (71 %)	77 (71 %)	10 (71 %)
Diámetro del tumor: Media +/- DE	2.0 +/- 2.9	1.5 +/- 1.3	5.8 +/- 6.7***
Estado de diferenciación:			
Poco diferenciados	5 (4 %)	4 (4 %)	1 (7 %)
Nivel de Clark IV/V	45 (37 %)	40 (37 %)	5 (36 %)
Invasión perineural presente	7 (6 %)	6 (6 %)	1 (7 %)
Invasión de la grasa subcutánea	7 (6 %)	4 (4 %)	3 (21 %) **
#1 caso con tipo de cirugía desconocido; Prueba Wilcoxon F o Chi-cuadrado p **<0.01 ***<0.001			

Tabla 7: Datos demográficos para el estadio de validación del Ejemplo 4.

Característica	Todos (n=107)	No Cumplido (n=90)	Regional/distante conocido (n=17)
Edad: Mediana de años (rango)	72 (30-93)	72.5 (45-93)	72 (30-88)
Cirugía definitiva: Mohs	# 86 (81 %)	76 (84 %)	10 (63 %) #*
Sexo masculino	78 (73 %)	64 (71 %)	14 (82 %)
Paciente inmunocomprometido	12 (11 %)	10 (11 %)	2 (12 %)
Ubicado en la cabeza o el cuello	76 (71 %)	62 (69 %)	14 (82 %)
Diámetro del tumor: Media +/- DE	1.9 +/- 1.7	1.9 +/- 1.2	3.3 +/- 2.6**
Estado de diferenciación:			
Pobremente diferenciados	13 (12 %)	6 (7 %)	7 (42 %)***
Nivel de Clark IV/V	32 (30 %)	25 (28 %)	7(41 %)
Invasión perineural presente	9 (8 %)	3 (3 %)	6 (35 %)***
Invasión de la grasa subcutánea.	17 (16 %)	11 (12 %)	6 (35 %) *
#1 caso con tipo de cirugía desconocido; Wilcoxon F o prueba de Chi-cuadrado p *<0.05 **<0.01 ***<0.001			

Tabla 8: Modelado predictivo

Métrica	Ejemplo 4 del GEP	AJCC 8	BWH
Sensibilidad	53 %	53 %	41 %
Especificidad	93 %	87 %	88 %
valor predictivo negativo (VPN)	91 %	91 %	89 %
valor predictivo positivo (VPP)	60 %	43 %	39 %

Ejemplo 5: Firma de expresión génica de pronóstico para la evaluación de riesgos en cSCC con un subanálisis en la región de la cabeza y el cuello

Identificar un perfil de expresión génica que prediga con precisión: (1) cSCC primario con un riesgo alto de metástasis ganglionar/distante regional; y (2) cSCC primario con riesgo alto de recurrencia local después de la eliminación quirúrgica completa, se realizó un estudio multicéntrico utilizando muestras de tejido primario archivadas con una captura extensa de datos clínicos asociados. El enfoque utiliza genes candidatos específicos de la literatura combinados con genes de un tamiz de microarreglos de enfoque global. Las muestras provienen de sujetos con cSCC patológicamente confirmado diagnosticado después de 2006, mínimo 3 años de seguimiento o evento (véase Tabla 9). Se midieron dos resultados

separados: (1) metástasis ganglionar/distante; y (2) recurrencia local. Las métricas de precisión para todos los casos de cSCC de cabeza y cuello sugieren que la firma de expresión génica tiene valor pronóstico en una cohorte independiente (véase Tabla 10). La firma de pronóstico con un VPP sólido para enfermedades de riesgo alto mejorará la identificación de pacientes con cSCC que pueden beneficiarse de intervenciones quirúrgicas, de radiación e inmunoterapia.

5

Tabla 9: Datos demográficos: subanálisis de cabeza y cuello

Característica de la caja de cabeza y cuello	No metastásico (n=34)	Metástasis (n=9)
Edad: Mediana de años (rango)	75 (49-89)	77 (49-89)
Cirugía definitiva: Mohs	33 (97 %)	8 (89 %)
Sexo masculino	31 (91 %)	8 (89 %)
Diámetro del tumor: Media cm +/- DE	2.52 +/- 1.35	5.89 +/- 8.36
Estado de diferenciación:		
Pobre/Indiferenciado	2 (6 %)	2 (22 %)
Nivel de Clark IV/V	4 (12 %)	1 (11 %)
Invasión perineural presente	4 (12 %)	0 (0 %)
Invasión de la grasa subcutánea	7 (21 %)	1 (11 %)

Tabla 10: Modelado predictivo: subanálisis de cabeza y cuello

Métrica	Todos (n = 107)		H&N (n = 76)	
	Ejemplo 5 del GEP	BWH	GEP este estudio	BWH
Sensibilidad	53 %	41 %	43 %	43 %
Especificidad	93 %	88 %	94 %	89 %
valor predictivo negativo (VPN)	91 %	89 %	88 %	87 %
valor predictivo positivo (VPP)	60 %	39 %	60 %	46 %

10

Tabla 11: Genes incluidos en los conjuntos de genes que son capaces de predecir el riesgo de recurrencia y/o metástasis

Nombre del gen	Identificador de sonda (ThermoFisher)	Mediana recurrente	Mediana no recurrente	Mediana delta *	valor p
KRT6B	Hs00745492_s1	5.522	7.091	-1.569	0.000070
LOR	Hs01894962_s1	1.970	4.492	-2.522	0.000265
FLG	Hs00856927_g1	-2.724	0.303	-3.027	0.000291
LCE2B	Hs04194422_s1	1.153	3.665	-2.512	0.000809
PLS3	Hs00543973_m1	-0.416	0.080	-0.497	0.001048
SERPINB2	Hs01010736_m1	0.304	1.455	-1.150	0.001277
KLK5	Hs00202752_m1	1.170	3.239	-2.069	0.001468
KRT18	Hs01920599_gH	0.975	-0.238	1.213	0.002094
BBC	Hs00248075_m1	-4.614	-5.334	0.720	0.002663
MIR3916	Hs04232205_s1	-0.709	-1.334	0.625	0.002734
LOC100287896	Hs01931732_s1	-2.224	-2.796	0.572	0.003547
TFAP2B	Hs01560931_m1	-4.288	-2.456	-1.832	0.004135
HPGD	Hs00960591_m1	-5.491	-3.113	-2.378	0.007656
CHMP2B	Hs00387770_m1	-3.117	-2.591	-0.526	0.008827
ANXA9	Hs01070154_m1	-5.583	-4.284	-1.299	0.009038
ID2	Hs00747379_m1	-0.345	0.493	-0.838	0.009695
EphB2	Hs00362096_m1	-1.124	-1.614	0.491	0.012203
NEB	Hs00189880_m1	-2.611	-1.904	-0.706	0.014937
FDFT1	Hs00926053_m1	-1.589	-0.657	-0.932	0.017046
USP7	Hs00931763_m1	1.509	1.960	-0.452	0.017046
TAF6L	Hs01008033_m1	-0.699	-0.961	0.262	0.018195
ACSBG1	Hs01025572_m1	-2.992	-1.336	-1.657	0.026077
HNRNPL	Hs00704853_s1	0.776	0.980	-0.204	0.031337
ARPC2	Hs01031740_m1	0.715	1.147	-0.432	0.031337
DUXAP8	Hs04942686_m1	-6.816	-9.507	2.691	0.039746
PIM2	Hs01546752_g1	-1.160	-1.752	0.592	0.050944
KRT17	Hs00356958_m1	6.944	7.254	-0.310	0.053874
APOBEC3G	Hs00222415_m1	-2.574	-3.024	0.450	0.056942
DSS1	Hs00428732_m1	-4.131	-3.182	-0.949	0.056942
EGFR	Hs01076090_m1	1.598	1.332	0.266	0.069464
SERPINB4	Hs01691258_g1	-12.838	-8.116	-4.722	0.070706
UGP2	Hs00900510_m1	-1.783	-1.437	-0.346	0.073246
SPATA41	Hs03028557_s1	-12.073	-13.333	1.261	0.077195

ES 2 965 535 T3

Nombre del gen	Identificador de sonda (ThermoFisher)	Mediana recurrente	Mediana no recurrente	Mediana delta *	valor p
SNORD124	Hs03464469_s1	-2.848	-2.958	0.110	0.082729
PI3	Hs00964384_g1	5.550	6.140	-0.589	0.085614
LIM1-ZGPAT	Hs00738791_g1	-4.044	-4.312	0.267	0.090094
MMP3	Hs00968305_m1	-1.478	-2.397	0.919	0.099619
S100A8	Hs00374264_g1	4.237	5.014	-0.777	0.104673
PTRHD1	Hs00415546_m1	-1.338	-1.216	-0.122	0.109930
MMP7	Hs01042796ml	-2.399	-3.937	1.538	0.115392
TMEM41B	Hs01379134_m1	-1.979	-1.562	-0.417	0.119151
SPP1	Hs00959010_m1	1.650	0.427	1.224	0.121066
RBM33	Hs00997579_m1	1.600	1.349	0.251	0.152768
NFIB	Hs01029174ml	-1.757	-1.633	-0.124	0.159806
NEFL	Hs00196245_m1	-0.069	0.561	-0.631	0.162206
NFIC	Hs00232157_m1	-0.500	-0.300	-0.200	0.167086
DCT	Hs01098278_m1	-3.033	-1.300	-1.733	0.174613
RCHY1	Hs00996236_m1	-1.807	-2.038	0.231	0.177178
ZSCAN31	Hs00372831_g1	-3.639	-2.926	-0.713	0.179770
IPO5P1	Hs05052601_s1	-2.927	-3.231	0.303	0.179770
RUNX3	hs00231709_m1	-0.927	-1.342	0.415	0.204381
MKLN1	Hs00992679_m1	-0.787	-0.930	0.144	0.204381
ATP6V0E2	Hs04189864_m1	-5.596	-6.247	0.651	0.207260
YKT6	Hs00559914_m1	2.007	1.788	0.220	0.210168
FCHSD1	Hs00703025_s1	-6.048	-5.195	-0.854	0.216073
MMP1	Hs00899658_m1	3.156	2.381	0.774	0.225153
CEP76	Hs00950371_m1	-3.743	-3.455	-0.288	0.225153
TUFM-MIR4721	Hs00944507_g1	2.465	2.281	0.184	0.228239
AIM2	Hs00915710_m1	-2.525	-2.720	0.195	0.244123
PTHLH	Hs00174969_m1	0.986	1.833	-0.848	0.264188
BHLHB9	Hs01089557_s1	-14.090	-12.657	-1.433	0.264188
CD163	Hs00174705_m1	-0.829	-1.156	0.327	0.307655
ZNF839	Hs00901350_g1	-1.060	-1.316	0.256	0.307655
BLOC1S1	Hs00155241_m1	-1.061	-0.787	-0.273	0.311480
HDDC3	Hs00826827_g1	-1.299	-1.567	0.267	0.319223
TNNC1	Hs00896999_g1	-7.015	-5.911	-1.105	0.323141
S100A9	Hs00610058_m1	8.071	8.385	-0.314	0.327091
TUBB3	Hs00801390_s1	-3.190	-2.711	-0.479	0.331071
KIT	Hs00174029_m1	-1.168	-1.574	0.406	0.351443
FN1	Hs01549976_m1	2.302	1.859	0.443	0.364039
INHBA	Hs01081598_m1	-1.107	-1.166	0.060	0.368299
PIGBOS1	Hs05036222_s1	-0.970	-1.132	0.162	0.372591
THYN1	Hs01553775_g1	0.011	-0.219	0.230	0.376913
HOXA10-HOXA9-MIR196B	Hs00365956_m1	-3.574	-2.521	-1.053	0.412594
MYC	Hs00153408_m1	-2.553	-2.337	-0.215	0.440624
IL24	Hs01114274_m1	-3.039	-3.394	0.355	0.455038
NFIA	Hs00379134_m1	-0.852	-0.709	-0.143	0.499836
RPL26L1	Hs01631495_s1	-6.405	-6.603	0.198	0.504954
ZNF48	Hs00399035_m1	-3.340	-3.577	0.237	0.520473
MIER2	Hs00380101_m1	-0.275	-0.382	0.108	0.530953
MMP13	Hs00942584_m1	-4.547	-5.058	0.511	0.536233
TYRP1	Hs00167051_m1	-2.547	-2.510	-0.037	0.546872
VIM	Hs00958111_m1	4.763	4.373	0.390	0.552231
LRRC47	Hs00975850_m1	0.130	0.070	0.060	0.552231
ALOX12	Hs00167524_m1	-3.032	-2.563	-0.469	0.590445
PLAU	Hs01547054_m1	3.212	2.870	0.342	0.612814
IL7R	Hs00902334_m1	-4.480	-4.820	0.340	0.624137
DARS	Hs00962398_m1	2.314	2.486	-0.172	0.624137
LOC101927502	Hs05033260_s1	-8.529	-8.227	-0.302	0.624137
MIR129-1	Hs03302824_pri	-12.122	-13.033	0.910	0.647050
PD1	Hs00240906_m1	-1.233	-1.099	-0.134	0.652832

Nombre del gen	Identificador de sonda (ThermoFisher)	Mediana recurrente	Mediana no recurrente	Mediana delta *	valor p
CYP2D6-LOC101929829	Hs03043789_g1	-5.343	-5.128	-0.215	0.676166
GTPBP2	Hs01051445_g1	-2.289	-2.127	-0.163	0.687952
CXCL10	Hs00171042_m1	-1.850	-1.595	-0.255	0.693874
SLC1A3	Hs00904817_m1	-2.518	-2.534	0.016	0.699815
RNF135	Hs00260480_m1	-0.694	-0,725	0.030	0.711752
NOA1	Hs00260452_m1	-2.426	-2.528	0.102	0.747977
ZNF496	Hs00262107_m1	-1.484	-1.549	0.065	0.760181
MMP12	Hs00159178_m1	-2.301	-2.567	0.266	0,772445
C3orf70	Hs01395177_m1	-4.175	-4.227	0.052	0.784767
LAMC2	Hs01043717_m1	0.874	1.000	-0.126	0.797143
MMP10	Hs00233987_m1	-0.255	0.441	-0.696	0.803350
C1QL4	Hs00884853_s1	-10.397	-10.511	0.113	0.822045
C21orf59	Hs00937509_m1	0.903	0.829	0.074	0.822045
KRT19	Hs01051611_gH	-3.414	-2.626	-0,788	0.828299
PDL1	Hs00204257_m1	-2.051	-2.218	0.166	0.847127
SLC25A11	Hs01087946_g1	0.664	0.641	0.024	0.847127
MRC1	Hs00267207_m1	-5.005	-5.020	0.015	0.853423
PIG3	Hs00936519_m1	-3.104	-2.896	-0.207	0.853423
IL2RB	Hs00386692_m1	-1.702	-1.592	-0.110	0.878697
ATP6AP1	Hs05016463_s1	0.173	0.183	-0.011	0.878697
MSANTD4	Hs00411188_gl	-3.627	-3.612	-0.015	0.929591
MRPL21	Hs00698959_m1	0.665	0.664	0.002	0.929591
CXCR4	Hs00607978_s1	-5.555	-5.868	0.313	0.935977
RPP38	Hs00705626_s1	-4.839	-4.719	-0.120	0.935977
SEPT3	Hs00251883_m1	-5.165	-5.094	-0.071	0.942368
PDPN	Hs00366766_m1	1.995	1.893	0.102	0.948762
CCL27	Hs00171157_m1	-12.962	-11.407	-1.555	0.967963
CHI3L1	Hs01072228_m1	0.794	0.689	0.105	0.974368
DDAH1	Hs00201707_m1	-3.775	-3.568	-0.207	0.980774
MMP9	Hs00957562_m1	2.233	2.368	-0.135	0.987182
NFASC	Hs00978280_m1	-2.781	-2.716	-0.066	0.993591

\* Los valores positivos indican un AUMENTO en la expresión génica en el cáncer recurrente cuando se compara con el control no recurrente; y los valores negativos indican una DISMINUCIÓN en la expresión génica en el cáncer recurrente cuando se compara con el control no recurrente.

Tabla 12: Precisión de los conjuntos de genes utilizados para predecir el riesgo de recurrencia y/o metástasis

Conjunto de genes	Sensibilidad	Especificidad	PPV	VPN	AUC	Kappa
20-1	0.4958	0.9481	0.5931	0.9370	0.8604	0.4537
20-2	0.5208	0.9333	0.5869	0.9385	0.8101	0.4524
20-3	0.4438	0.9472	0.5829	0.9292	0.8131	0.4147
20-4	0.4708	0.9324	0.5688	0.9318	0.8766	0.4084
20-5	0.4833	0.9324	0.4990	0.9335	0.8242	0.4033
20-6	0.4542	0.9389	0.5722	0.9306	0.8275	0.3991
20-7	0.5396	0.9065	0.4634	0.9395	0.8384	0.3934
20-8	0.3917	0.9537	0.5922	0.9238	0.7275	0.3783
20-9	0.4396	0.9259	0.5132	0.9274	0.8220	0.3673
20-10	0.3708	0.9556	0.5888	0.9228	0.7970	0.3621
20-11	0.4542	0.9241	0.4625	0.9299	0.7701	0.3615
20-12	0.4292	0.9324	0.4984	0.9280	0.7876	0.3613
20-13	0.3896	0.9472	0.5367	0.9234	0.8228	0.3605
20-14	0.4146	0.9343	0.5150	0.9254	0.7698	0.3600
20-15	0.4417	0.9278	0.4798	0.9299	0.7799	0.3553
20-16	0.4271	0.9278	0.4667	0.9262	0.7650	0.3506
20-17	0.4146	0.9287	0.4673	0.9248	0.7613	0.3506
20-18	0.4563	0.9139	0.4518	0.9297	0.8198	0.3491
20-19	0.4188	0.9315	0.5352	0.9270	0.8132	0.3489
20-20	0.4229	0.9296	0.4484	0.9264	0.7674	0.3438
20-21	0.4396	0.9231	0.4449	0.9290	0.8336	0.3420

ES 2 965 535 T3

Conjunto de genes	Sensibilidad	Especificidad	PPV	VPN	AUC	Kappa
20-22	0.4354	0.9194	0.4282	0.9268	0.8127	0.3418
20-23	0.3563	0.9537	0.5608	0.9213	0.7605	0.3379
20-24	0.3896	0.9296	0.4846	0.9221	0.7662	0.3357
20-25	0.3896	0.9370	0.4919	0.9218	0.8326	0.3354
30-1	0.4021	0.9648	0.6285	0.9275	0.8091	0.3893
30-2	0.4771	0.9204	0.4672	0.9335	0.8005	0.3739
30-3	0.4438	0.9287	0.4984	0.9287	0.8083	0.3685
30-4	0.4208	0.9306	0.5525	0.9270	0.8064	0.3613
30-5	0.4000	0.9407	0.5432	0.9255	0.7804	0.3513
30-6	0.4542	0.9167	0.4574	0.9288	0.7920	0.3480
30-7	0.3875	0.9407	0.5049	0.9240	0.8209	0.3378
30-8	0.3792	0.9454	0.5218	0.9225	0.7739	0.3375
30-9	0.3542	0.9593	0.5714	0.9207	0.6822	0.3347
30-10	0.4458	0.9157	0.4271	0.9281	0.7544	0.3339
30-11	0.4167	0.9213	0.4288	0.9245	0.7915	0.3329
30-12	0.3813	0.9380	0.4732	0.9216	0.7236	0.3318
30-13	0.3229	0.9565	0.6146	0.9170	0.7093	0.3243
30-14	0.3729	0.9361	0.4768	0.9222	0.7127	0.3187
30-15	0.4042	0.9176	0.3988	0.9225	0.7716	0.3103
30-16	0.3667	0.9306	0.4688	0.9195	0.7127	0.3052
30-17	0.3375	0.9426	0.4744	0.9178	0.6708	0.3025
30-18	0.3813	0.9213	0.4323	0.9205	0.8029	0.2996
30-19	0.4146	0.9102	0.3787	0.9241	0.7652	0.2984
30-20	0.3667	0.9296	0.4427	0.9199	0.7452	0.2954
30-21	0.3583	0.9306	0.4480	0.9197	0.7475	0.2900
30-22	0.3625	0.9241	0.4685	0.9181	0.7671	0.2897
30-23	0.3833	0.9194	0.3956	0.9199	0.7480	0.2891
30-24	0.3417	0.9380	0.4473	0.9187	0.7222	0.2885
30-25	0.3979	0.9120	0.3898	0.9221	0.7419	0.2868
40-1	0.4688	0.9481	0.6105	0.9334	0.8198	0.4340
40-2	0.4021	0.9435	0.5360	0.9242	0.7960	0.3565
40-3	0.3792	0.9426	0.5311	0.9230	0.7486	0.3354
40-4	0.3563	0.9509	0.5030	0.9200	0.7427	0.3325
40-5	0.4125	0.9278	0.4898	0.9257	0.8127	0.3300
40-6	0.3896	0.9361	0.4924	0.9235	0.7824	0.3294
40-7	0.3854	0.9324	0.4662	0.9219	0.7421	0.3248
40-8	0.3646	0.9398	0.5220	0.9212	0.7262	0.3228
40-9	0.3583	0.9380	0.5303	0.9199	0.7621	0.3189
40-10	0.3500	0.9472	0.4906	0.9201	0.7059	0.3161
40-11	0.3938	0.9222	0.4707	0.9225	0.7623	0.3143
40-12	0.3417	0.9500	0.5070	0.9188	0.7769	0.3115
40-13	0.3896	0.9296	0.4195	0.9233	0.7851	0.3047
40-14	0.3479	0.9407	0.4750	0.9178	0.8177	0.3036
40-15	0.3729	0.9269	0.4124	0.9206	0.6769	0.3034
40-16	0.3646	0.9343	0.4224	0.9200	0.7467	0.2989
40-17	0.3792	0.9222	0.4296	0.9204	0.7539	0.2983
40-18	0.3208	0.9435	0.5381	0.9152	0.6774	0.2980
40-19	0.3688	0.9194	0.4660	0.9192	0.6873	0.2940
40-20	0.3854	0.9204	0.4162	0.9224	0.8275	0.2939
40-21	0.3833	0.9167	0.3896	0.9215	0.7007	0.2904
40-22	0.3625	0.9185	0.4270	0.9177	0.6769	0.2904
40-23	0.3313	0.9343	0.4227	0.9160	0.6716	0.2836
40-24	0.3438	0.9407	0.4236	0.9193	0.6736	0.2799
40-25	0.3250	0.9389	0.4582	0.9160	0.6687	0.2774

Tabla 13: Conjuntos de genes de ejemplo utilizados para predecir el riesgo de recurrencia y/o metástasis

Conjunto de genes	Identificadores de sonda utilizados para cada conjunto de genes (identificadores de sonda de ThermoFisher Scientific).
20-1	"Hs00705626_s1" "Hs00248075_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00366766_m1" "Hs01051445_g1" "Hs00996236_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00262107_m1" "Hs01931732_s1" "Hs00399035_m1" "Hs00231709_m1"

ES 2 965 535 T3

Conjunto de genes	Identificadores de sonda utilizados para cada conjunto de genes (identificadores de sonda de ThermoFisher Scientific).
	"Hs00411188_g1" "Hs00978280_m1" "Hs00826827_g1" "Hs00232157_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00233987_m1" "Hs01008033_m1" "Hs04194422_s1"
20-2	"Hs00884853_s1" "Hs01920599_gH" "Hs00996236_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00942584_m1" "Hs01042796_m1" "Hs00964384_g1" "Hs05052601_s1" "Hs00356958_m1" "Hs00901350_g1" "Hs01691258_g1" "Hs00992679_m1" "Hs01051611_gH" "Hs04194422_s1" "Hs01089557_s1" "Hs01087946_g1" "Hs05036222_s1" "Hs00856927_g1"
20-3	"Hs00248075_m1" "Hs00251883_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00356958_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00202752_m1" "Hs00950371_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00362096_m1" "Hs01043717_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00826827_g1" "Hs01010736_m1" "Hs00167524_m1" "Hs01031740_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00201707_m1" "Hs00738791_g1" "Hs00962398_m1" "Hs00543973_m1"
20-4	"Hs00962398_m1" "Hs01920599_gH" "Hs01025572_m1" "Hs00159178_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00167524_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00386692_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00996236_m1" "Hs01031740_m1" "Hs01010736_m1" "Hs00900510_m1" "Hs00826827_g1" "Hs01008033_m1" "Hs00415546_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00801390_s1" "Hs01072228_m1" "Hs01547054_m1"
20-5	"Hs00411188_g1" "Hs00248075_m1" "Hs00202752_m1" "Hs00747379_m1" "Hs01042796_m1" "Hs01920599_gH" "Hs0114274_m1" "Hs00942584_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00978280_m1" "Hs00543973_m1" "Hs00826827_g1" "Hs01560931_m1" "Hs00931763_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00174029_m1" "Hs01029174_m1" "Hs00415546_m1" "Hs00964384_g1"
20-6	"Hs00975850_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00202752_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00926053_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00992679_m1" "Hs00251883_m1" "Hs00415546_m1" "Hs00960591_m1" "Hs00901350_g1" "Hs00747379_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00936519_m1" "Hs03043789_g1" "Hs01560931_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00957562_m1" "Hs00248075_m1" "Hs01549976_m1"
20-7	"Hs04194422_s1" "Hs00262107_m1" "Hs01546752_g1" "Hs01920599_gH" "Hs04189864_m1" "Hs01089557_s1" "Hs01560931_m1" "Hs00705626_s1" "Hs01043717_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00856927_g1" "Hs01029174_m1" "Hs00543973_m1" "Hs01395177_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00174029_m1" "Hs00387770_m1" "Hs01894962_s1" "Hs00745492_s1"
20-8	"Hs01560931_m1" "Hs00738791_g1" "Hs00856927_g1" "Hs00362096_m1" "Hs00826827_g1" "Hs01098278_m1" "Hs00975850_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00260452_m1" "Hs04194422_s1" "Hs01043717_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00703025_s1" "Hs00896999_g1" "Hs00167051_m1" "Hs00942584_m1" "Hs01087946_g1" "Hs00411188_g1" "Hs00747379_m1" "Hs05016463_s1"
20-9	"Hs00362096_m1" "Hs00942584_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00884853_s1" "Hs00248075_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00996236_m1" "Hs00747379_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00959010_m1" "Hs00372831_g1" "Hs04194422_s1" "Hs01043717_m1" "Hs00399035_m1" "Hs01051611_gH" "Hs01042796_m1" "Hs00968305_m1" "Hs00260452_m1" "Hs01031740_m1"
20-10	"Hs05033260_s1" "Hs00233987_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00992679_m1" "Hs00926053_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00202752_m1" "Hs01549976_m1" "Hs00415546_m1" "Hs01072228_m1" "Hs01691258_g1" "Hs00387770_m1" "Hs00380101_m1" "Hs00231709_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00543973_m1" "Hs00386692_m1" "Hs00705626_s1" "Hs00196245_m1" "Hs01081598_m1"
20-11	"Hs0114274_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00738791_g1" "Hs00931763_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00362096_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00411188_g1" "Hs00900510_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00233987_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00826827_g1" "Hs00856927_g1" "Hs00232157_m1" "Hs01010736_m1" "Hs00704853_s1" "Hs00959010_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00915710_m1"
20-12	"Hs00992679_m1" "Hs00159178_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00958111_m1" "Hs00901350_g1" "Hs00931763_m1" "Hs00233987_m1" "Hs01549976_m1" "Hs01894962_s1" "Hs01089557_s1" "Hs00171157_m1" "Hs00153408_m1" "Hs00248075_m1" "Hs03464469_s1" "Hs04194422_s1" "Hs00745492_s1" "Hs00366766_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00957562_m1" "Hs01025572_m1"
20-13	"Hs01379134_m1" "Hs00362096_m1" "Hs05052601_s1" "Hs00959010_m1" "Hs00251883_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00856927_g1" "Hs00167524_m1" "Hs00159178_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00356958_m1" "Hs01042796_m1" "Hs03464469_s1" "Hs01029174_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00610058_m1" "Hs01070154_m1" "Hs00703025_s1" "Hs00964384_g1" "Hs00705626_s1"
20-14	"Hs00362096_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00931763_m1" "Hs01081598_m1"

ES 2 965 535 T3

Conjunto de genes	Identificadores de sonda utilizados para cada conjunto de genes (identificadores de sonda de ThermoFisher Scientific).
	"Hs01560931_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00543973_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00856927_g1" "Hs03043789_g1" "Hs01089557_s1" "Hs01051445_g1" "Hs00747379_m1" "Hs01114274_m1" "Hs00826827_g1" "Hs00936519_m1" "Hs00960591_m1" "Hs00201707_m1" "Hs00899658_m1" "Hs04189864_m1"
20-15	"Hs00856927_g1" "Hs04942686_m1" "Hs00248075_m1" "Hs01029174_m1" "Hs00992679_m1" "Hs00975850_m1" "Hs03464469_s1" "Hs00167524_m1" "Hs01691258_g1" "Hs00960591_m1" "Hs01089557_s1" "Hs04194422_s1" "Hs01114274_m1" "Hs00901350_g1" "Hs00936519_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00411188_g1" "Hs00900510_m1" "Hs00174969_m1" "Hs01070154_m1"
20-16	"Hs00826827_g1" "Hs00738791_g1" "Hs00698959_m1" "Hs00153408_m1" "Hs00167051_m1" "Hs00365956_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00167524_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00610058_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00705626_s1" "Hs00362096_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00997579_m1" "Hs00559914_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00944507_g1" "Hs00379134_m1"
20-17	"Hs00232157_m1" "Hs00543973_m1" "Hs05052601_s1" "Hs00196245_m1" "Hs01042796_m1" "Hs00411188_g1" "Hs00899658_m1" "Hs00374264_g1" "Hs01894962_s1" "Hs04194422_s1" "Hs03464469_s1" "Hs00992679_m1" "Hs00901350_g1" "Hs00362096_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00167524_m1" "Hs01089557_s1" "Hs01931732_s1" "Hs01549976_m1" "Hs01395177_m1"
20-18	"Hs00884853_s1" "Hs00167524_m1" "Hs00978280_m1" "Hs00747379_m1" "Hs01931732_s1" "Hs00931763_m1" "Hs04942686_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00856927_g1" "Hs00248075_m1" "Hs00901350_g1" "Hs00415546_m1" "Hs01089557_s1" "Hs01025572_m1" "Hs00231709_m1" "Hs00386692_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00202752_m1" "Hs01029174_m1" "Hs00942584_m1"
20-19	"Hs01547054_m1" "Hs00960591_m1" "Hs03464469_s1" "Hs01560931_m1" "Hs00153408_m1" "Hs00233987_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00366766_m1" "Hs00248075_m1" "Hs01010736_m1" "Hs00251883_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00610058_m1" "Hs00900510_m1" "Hs01008033_m1" "Hs00978280_m1" "Hs00260452_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00196245_m1" "Hs05052601_s1"
20-20	"Hs01098278_m1" "Hs01072228_m1" "Hs01691258_g1" "Hs00387770_m1" "Hs00543973_m1" "Hs01920599_gH" "Hs04189864_m1" "Hs05033260_s1" "Hs00856927_g1" "Hs00366766_m1" "Hs03043789_g1" "Hs04194422_s1" "Hs00202752_m1" "Hs00936519_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00958111_m1" "Hs00251883_m1" "Hs00704853_s1" "Hs00738791_g1" "Hs00962398_m1"
20-21	"Hs01042796_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00884853_s1" "Hs00958111_m1" "Hs00411188_g1" "Hs05052601_s1" "Hs01920599_gH" "Hs00248075_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00251883_m1" "Hs00202752_m1" "Hs01008033_m1" "Hs00201707_m1" "Hs01051445_g1" "Hs00950371_m1" "Hs01029174_m1" "Hs00232157_m1" "Hs01087946_g1" "Hs00267207_m1"
20-22	"Hs00559914_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00978280_m1" "Hs01920599_gH" "Hs01560931_m1" "Hs00365956_m1" "Hs00610058_m1" "Hs01008033_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00975850_m1" "Hs00204257_m1" "Hs00950371_m1" "Hs00705626_s1" "Hs01089557_s1" "Hs00196245_m1" "Hs01042796_m1" "Hs00174029_m1" "Hs01546752_g1" "Hs01098278_m1" "Hs00231709_m1"
20-23	"Hs04194422_s1" "Hs01089557_s1" "Hs00155241_m1" "Hs00942584_m1" "Hs05033260_s1" "Hs01546752_g1" "Hs01920599_gH" "Hs01560931_m1" "Hs00387770_m1" "Hs00399035_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00931763_m1" "Hs00231709_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00233987_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00978280_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00411188_g1" "Hs00201707_m1"
20-24	"Hs00232157_m1" "Hs01010736_m1" "Hs00704853_s1" "Hs00167051_m1" "Hs00738791_g1" "Hs00975850_m1" "Hs00362096_m1" "Hs00826827_g1" "Hs00233987_m1" "Hs00950371_m1" "Hs00204257_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00196245_m1" "Hs01042796_m1" "Hs00174029_m1" "Hs00705626_s1" "Hs00856927_g1" "Hs01051445_g1" "Hs00399035_m1" "Hs05036222_s1"
20-25	"Hs00233987_m1" "Hs00380101_m1" "Hs00167524_m1" "Hs04189864_m1" "Hs00543973_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00856927_g1" "Hs00155241_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00703025_s1" "Hs00231709_m1" "Hs00365956_m1" "Hs00204257_m1" "Hs01395177_m1" "Hs00968305_m1" "Hs00374264_g1" "Hs00248075_m1" "Hs00202752_m1" "Hs00801390_s1" "Hs03464469_s1"
30-1	"Hs00387770_m1" "Hs00155241_m1" "Hs00251883_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00428732_m1" "Hs00992679_m1" "Hs00705626_s1" "Hs00356958_m1" "Hs00960591_m1" "Hs00171157_m1" "Hs01072228_m1" "Hs01051445_g1" "Hs00232157_m1" "Hs00233987_m1" "Hs04232205_s1" "Hs00559914_m1"

ES 2 965 535 T3

Conjunto de genes	Identificadores de sonda utilizados para cada conjunto de genes (identificadores de sonda de ThermoFisher Scientific).
	"Hs00931763_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00171042_m1" "Hs01089557_s1" "Hs04194422_s1" "Hs03464469_s1" "Hs00944507_g1" "Hs00196245_m1" "Hs00950371_m1" "Hs01395177_m1" "Hs01070154_m1" "Hs01051611_gH" "Hs00399035_m1" "Hs00703025_s1"
30-2	"Hs00937509_m1" "Hs00379134_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00248075_m1" "Hs01920599_gH" "Hs04194422_s1" "Hs03043789_g1" "Hs00610058_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00705626_s1" "Hs00362096_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00372831_g1" "Hs01072228_m1" "Hs01379134_m1" "Hs01076090_m1" "Hs04189864_m1" "Hs00957562_m1" "Hs01931732_s1" "Hs00856927_g1" "Hs01546752_g1" "Hs00171157_m1" "Hs00992679_m1" "Hs00931763_m1" "Hs00411188_g1" "Hs01008033_m1" "Hs00387770_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00231709_m1"
30-3	"Hs00411188_g1" "Hs01395177_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00379134_m1" "Hs00960591_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00232157_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00248075_m1" "Hs01010736_m1" "Hs00167524_m1" "Hs01691258_g1" "Hs00260452_m1" "Hs01070154_m1" "Hs00196245_m1" "Hs00747379_m1" "Hs01547054_m1" "Hs00950371_m1" "Hs00962398_m1" "Hs01087946_g1" "Hs00262107_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00978280_m1" "Hs00428732_m1" "Hs00944507_g1" "Hs00387770_m1" "Hs00399035_m1" "Hs00738791_g1" "Hs00698959_m1" "Hs01549976_m1"
30-4	"Hs00415546_m1" "Hs00705626_s1" "Hs00204257_m1" "Hs00174969_m1" "Hs00745492_s1" "Hs01920599_gH" "Hs00387770_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00958111_m1" "Hs01076090_m1" "Hs00379134_m1" "Hs00196245_m1" "Hs00232157_m1" "Hs01549976_m1" "Hs00801390_s1" "Hs00399035_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00607978_s1" "Hs00960591_m1" "Hs00171157_m1" "Hs05033260_s1" "Hs00233987_m1" "Hs00904817_m1" "Hs01031740_m1" "Hs05016463_s1" "Hs00153408_m1" "Hs00968305_m1" "Hs00174029_m1" "Hs00944507_g1" "Hs00248075_m1"
30-5	"Hs05033260_s1" "Hs00362096_m1" "Hs00559914_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00968305_m1" "Hs00931763_m1" "Hs04942686_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00899658_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00958111_m1" "Hs05016463_s1" "Hs03464469_s1" "Hs01931732_s1" "Hs01076090_m1" "Hs00992679_m1" "Hs00901350_g1" "Hs00937509_m1" "Hs00960591_m1" "Hs01114274_m1" "Hs01043717_m1" "Hs00167524_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00204257_m1" "Hs00703025_s1" "Hs01549976_m1" "Hs01031740_m1" "Hs00262107_m1" "Hs00957562_m1" "Hs01029174_m1"
30-6	"Hs00958111_m1" "Hs00411188_g1" "Hs05036222_s1" "Hs00386692_m1" "Hs00745492_s1" "Hs01010736_m1" "Hs00997579_m1" "Hs00222415_m1" "Hs03464469_s1" "Hs00233987_m1" "Hs01547054_m1" "Hs00202752_m1" "Hs01025572_m1" "Hs00379134_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00926053_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00705626_s1" "Hs01920599_gH" "Hs00171042_m1" "Hs03043789_g1" "Hs00610058_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00362096_m1" "Hs00380101_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00801390_s1" "Hs00374264_g1" "Hs00964384_g1" "Hs00240906_m1"
30-7	"Hs00704853_s1" "Hs01560931_m1" "Hs01379134_m1" "Hs00958111_m1" "Hs00386692_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00167524_m1" "Hs03302824_pri" "Hs00248075_m1" "Hs00387770_m1" "Hs00978280_m1" "Hs00379134_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00992679_m1" "Hs01931732_s1" "Hs00380101_m1" "Hs00705626_s1" "Hs00155241_m1" "Hs05033260_s1" "Hs01089557_s1" "Hs00171157_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00937509_m1" "Hs00374264_g1" "Hs00240906_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00174705_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00372831_g1"
30-8	"Hs00202752_m1" "Hs00231709_m1" "Hs00366766_m1" "Hs00201707_m1" "Hs00826827_g1" "Hs00856927_g1" "Hs00174969_m1" "Hs00387770_m1" "Hs00167524_m1" "Hs01031740_m1" "Hs03464469_s1" "Hs01025572_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00950371_m1" "Hs00610058_m1" "Hs01920599_gH" "Hs01051445_g1" "Hs00975850_m1" "Hs00978280_m1" "Hs00167051_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00704853_s1" "Hs00902334_m1" "Hs01553775_g1" "Hs00962398_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00356958_m1" "Hs01087946_g1" "Hs01029174_m1" "Hs00747379_m1"
30-9	"Hs00362096_m1" "Hs01560931_m1" "Hs04942686_m1" "Hs05033260_s1" "Hs00958111_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00607978_s1" "Hs01549976_m1" "Hs00262107_m1" "Hs00968305_m1" "Hs00233987_m1"

ES 2 965 535 T3

Conjunto de genes	Identificadores de sonda utilizados para cada conjunto de genes (identificadores de sonda de ThermoFisher Scientific).
	"Hs00904817_m1" "Hs00356958_m1" "Hs00900510_m1" "Hs00174969_m1" "Hs04194422_s1" "Hs01043717_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00171042_m1" "Hs00379134_m1" "Hs00559914_m1" "Hs04232205_s1" "Hs00957562_m1" "Hs00167051_m1" "Hs05052601_s1" "Hs00380101_m1" "Hs01546752_g1" "Hs00801390_s1" "Hs01070154_m1"
30-10	"Hs00380101_m1" "Hs03464469_s1" "Hs00372831_g1" "Hs05052601_s1" "Hs04189864_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00968305_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00159178_m1" "Hs00386692_m1" "Hs00937509_m1" "Hs00960591_m1" "Hs00543973_m1" "Hs01894962_s1" "Hs00233987_m1" "Hs01051445_g1" "Hs01560931_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00232157_m1" "Hs00387770_m1" "Hs01025572_m1" "Hs01395177_m1" "Hs00801390_s1" "Hs00884853_s1" "Hs01072228_m1" "Hs00201707_m1" "Hs00996236_m1" "Hs01114274_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00167051_m1"
30-11	"Hs00801390_s1" "Hs01920599_gH" "Hs00931763_m1" "Hs00262107_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00399035_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00171157_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00362096_m1" "Hs00915710_m1" "Hs00174969_m1" "Hs00900510_m1" "Hs00387770_m1" "Hs00428732_m1" "Hs00607978_s1" "Hs00380101_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00958111_m1" "Hs01070154_m1" "Hs00543973_m1" "Hs00937509_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00968305_m1" "Hs01072228_m1" "Hs01042796_m1"
30-12	"Hs00745492_s1" "Hs00950371_m1" "Hs00233987_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00379134_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00826827_g1" "Hs00978280_m1" "Hs00904817_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00899658_m1" "Hs01008033_m1" "Hs00931763_m1" "Hs00365956_m1" "Hs03302824_pri" "Hs00428732_m1" "Hs00975850_m1" "Hs01894962_s1" "Hs00703025_s1" "Hs01072228_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00958111_m1" "Hs00944507_g1" "Hs01010736_m1" "Hs00996236_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00387770_m1" "Hs01547054_m1" "Hs00610058_m1" "Hs01087946_g1"
30-13	"Hs00856927_m1" "Hs00915710_m1" "Hs00379134_m1" "Hs00233987_m1" "Hs01008033_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00559914_m1" "Hs00904817_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00386692_m1" "Hs00704853_s1" "Hs00978280_m1" "Hs00415546_m1" "Hs00399035_m1" "Hs00374264_g1" "Hs01560931_m1" "Hs01546752_g1" "Hs00231709_m1" "Hs00387770_m1" "Hs00964384_g1" "Hs00698959_m1" "Hs00196245_m1" "Hs01395177_m1" "Hs01076090_m1" "Hs00201707_m1" "Hs03302824_pri" "Hs00703025_s1" "Hs01114274_m1" "Hs01631495_s1"
30-14	"Hs00380101_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00428732_m1" "Hs03302824_pri" "Hs01031740_m1" "Hs00171042_m1" "Hs01549976_m1" "Hs00260452_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00411188_g1" "Hs00167524_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00356958_m1" "Hs00559914_m1" "Hs00262107_m1" "Hs03464469_s1" "Hs00801390_s1" "Hs00202752_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00196245_m1" "Hs00960591_m1" "Hs01546752_g1" "Hs01087946_g1" "Hs01547054_m1" "Hs00260480_m1" "Hs01070154_m1" "Hs00267207_m1" "Hs00174705_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00387770_m1"
30-15	"Hs00960591_m1" "Hs00231709_m1" "Hs00251883_m1" "Hs00387770_m1" "Hs00356958_m1" "Hs00196245_m1" "Hs00174969_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00559914_m1" "Hs00962398_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00826827_g1" "Hs01025572_m1" "Hs00801390_s1" "Hs03043789_g1" "Hs00950371_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00202752_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00944507_g1" "Hs00978280_m1" "Hs01894962_s1" "Hs00204257_m1" "Hs00174029_m1" "Hs00703025_s1" "Hs01051611_gH" "Hs00958111_m1" "Hs00262107_m1" "Hs00167524_m1" "Hs01098278_m1"
30-16	"Hs00944507_g1" "Hs05016463_s1" "Hs03464469_s1" "Hs00167051_m1" "Hs00900510_m1" "Hs00904817_m1" "Hs04232205_s1" "Hs00356958_m1" "Hs00957562_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00931763_m1" "Hs01043717_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00992679_m1" "Hs00380101_m1" "Hs01549976_m1" "Hs00559914_m1" "Hs01560931_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00703025_s1" "Hs00248075_m1" "Hs01081598_m1" "Hs00428732_m1" "Hs00968305_m1" "Hs00705626_s1" "Hs00386692_m1" "Hs00174705_m1" "Hs00251883_m1" "Hs00415546_m1"
30-17	"Hs00543973_m1" "Hs00159178_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00399035_m1" "Hs01029174_m1" "Hs00705626_s1" "Hs03302824_pri" "Hs01051611_gH"

ES 2 965 535 T3

Conjunto de genes	Identificadores de sonda utilizados para cada conjunto de genes (identificadores de sonda de ThermoFisher Scientific).
	"Hs05033260_s1" "Hs01560931_m1" "Hs00167524_m1" "Hs01042796_m1" "Hs05052601_s1" "Hs00944507_g1" "Hs00978280_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00171042_m1" "Hs00251883_m1" "Hs00960591_m1" "Hs01072228_m1" "Hs03043789_g1" "Hs00233987_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00801390_s1" "Hs00992679_m1" "Hs01010736_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00896999_g1" "Hs00826827_g1" "Hs00231709_m1"
30-18	"Hs01920599_gH" "Hs00248075_m1" "Hs00411188_g1" "Hs01560931_m1" "Hs00900510_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00202752_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00222415_m1" "Hs01089557_s1" "Hs05052601_s1" "Hs00960591_m1" "Hs00958111_m1" "Hs01379134_m1" "Hs00380101_m1" "Hs00856927_g1" "Hs04189864_m1" "Hs01031740_m1" "Hs01042796_m1" "Hs01098278_m1" "Hs01395177_m1" "Hs00950371_m1" "Hs01691258_g1" "Hs00899658_m1" "Hs00962398_m1" "Hs00240906_m1" "Hs00399035_m1" "Hs00428732_m1" "Hs04942686_m1"
30-19	"Hs00428732_m1" "Hs01560931_m1" "Hs01025572_m1" "Hs00232157_m1" "Hs01089557_s1" "Hs01043717_m1" "Hs00705626_s1" "Hs00884853_s1" "Hs00543973_m1" "Hs00992679_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00745492_s1" "Hs01031740_m1" "Hs01076090_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00189880_m1" "Hs00231709_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00171042_m1" "Hs00415546_m1" "Hs01894962_s1" "Hs04189864_m1" "Hs00174969_m1" "Hs00610058_m1" "Hs00153408_m1" "Hs01379134_m1" "Hs00915710_m1" "Hs01395177_m1"
30-20	"Hs00267207_m1" "Hs00366766_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00231709_m1" "Hs01098278_m1" "Hs05016463_s1" "Hs00155241_m1" "Hs00900510_m1" "Hs00975850_m1" "Hs04194422_s1" "Hs01114274_m1" "Hs01072228_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00747379_m1" "Hs00944507_g1" "Hs00705626_s1" "Hs00202752_m1" "Hs00978280_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00196245_m1" "Hs04189864_m1" "Hs01025572_m1" "Hs05052601_s1" "Hs00380101_m1" "Hs01081598_m1" "Hs00372831_g1" "Hs00167051_m1" "Hs00232157_m1" "Hs01553775_g1" "Hs00738791_g1"
30-21	"Hs00174705_m1" "Hs01042796_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00372831_g1" "Hs03302824_pri" "Hs05033260_s1" "Hs04189864_m1" "Hs00992679_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00159178_m1" "Hs00196245_m1" "Hs05052601_s1" "Hs01031740_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00975850_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00171042_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00380101_m1" "Hs00559914_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00202752_m1" "Hs00937509_m1" "Hs00978280_m1" "Hs00936519_m1" "Hs00222415_m1" "Hs00365956_m1" "Hs00379134_m1"
30-22	"Hs00380101_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00171042_m1" "Hs00411188_g1" "Hs00248075_m1" "Hs00559914_m1" "Hs00826827_g1" "Hs01894962_s1" "Hs01098278_m1" "Hs00232157_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00975850_m1" "Hs00356958_m1" "Hs00543973_m1" "Hs01029174_m1" "Hs00159178_m1" "Hs05052601_s1" "Hs04194422_s1" "Hs01025572_m1" "Hs00950371_m1" "Hs00167524_m1" "Hs01072228_m1" "Hs00900510_m1" "Hs00705626_s1" "Hs01114274_m1" "Hs00904817_m1" "Hs00231709_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00155241_m1" "Hs01081598_m1"
30-23	"Hs00964384_g1" "Hs00899658_m1" "Hs00374264_g1" "Hs00399035_m1" "Hs00703025_s1" "Hs00415546_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00387770_m1" "Hs00826827_g1" "Hs01395177_m1" "Hs00202752_m1" "Hs00171042_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00937509_m1" "Hs05016463_s1" "Hs00233987_m1" "Hs01114274_m1" "Hs01042796_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00957562_m1" "Hs00196245_m1" "Hs01560931_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00222415_m1" "Hs04194422_s1" "Hs01931732_s1" "Hs00884853_s1" "Hs00978280_m1" "Hs00959010_m1" "Hs00559914_m1"
30-24	"Hs01042796_m1" "Hs00801390_s1" "Hs00960591_m1" "Hs00992679_m1" "Hs00978280_m1" "Hs00937509_m1" "Hs01931732_s1" "Hs01560931_m1" "Hs05016463_s1" "Hs00171157_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00260452_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00232157_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00904817_m1" "Hs00202752_m1" "Hs00958111_m1" "Hs00968305_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00607978_s1" "Hs04942686_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00365956_m1" "Hs00944507_g1" "Hs01043717_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00704853_s1" "Hs00610058_m1" "Hs04194422_s1"
30-25	"Hs00738791_g1" "Hs04232205_s1" "Hs00362096_m1" "Hs00260452_m1"

ES 2 965 535 T3

Conjunto de genes	Identificadores de sonda utilizados para cada conjunto de genes (identificadores de sonda de ThermoFisher Scientific).
	"Hs01547054_m1" "Hs00196245_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00964384_g1" "Hs00415546_m1" "Hs00202752_m1" "Hs03043789_g1" "Hs00997579_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00174029_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00899658_m1" "Hs00251883_m1" "Hs00915710_m1" "Hs01042796_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00222415_m1" "Hs01081598_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00705626_s1" "Hs00356958_m1" "Hs00204257_m1" "Hs00926053_m1" "Hs05052601_s1" "Hs00372831_g1"
40-1	"Hs00262107_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00159178_m1" "Hs00975850_m1" "Hs00366766_m1" "Hs00543973_m1" "Hs00231709_m1" "Hs00372831_g1" "Hs00745492_s1" "Hs01072228_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00174029_m1" "Hs00171157_m1" "Hs01029174_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00801390_s1" "Hs00958111_m1" "Hs01098278_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00233987_m1" "Hs00374264_g1" "Hs04189864_m1" "Hs00155241_m1" "Hs00610058_m1" "Hs03464469_s1" "Hs00386692_m1" "Hs00964384_g1" "Hs01025572_m1" "Hs01546752_g1" "Hs01395177_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00937509_m1" "Hs00704853_s1" "Hs03028557_s1" "Hs00747379_m1" "Hs00904817_m1" "Hs00362096_m1" "Hs01087946_g1" "Hs01031740_m1" "Hs00978280_m1"
40-2	"Hs00231709_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00174969_m1" "Hs01029174_m1" "Hs05036222_s1" "Hs00262107_m1" "Hs00856927_g1" "Hs05052601_s1" "Hs00233987_m1" "Hs00559914_m1" "Hs01931732_s1" "Hs01560931_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00543973_m1" "Hs01010736_m1" "Hs00174029_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00204257_m1" "Hs00374264_g1" "Hs04942686_m1" "Hs00411188_g1" "Hs00380101_m1" "Hs01051611_gH" "Hs01089557_s1" "Hs00901350_g1" "Hs01081598_m1" "Hs00738791_g1" "Hs01025572_m1" "Hs00248075_m1" "Hs01894962_s1" "Hs00957562_m1" "Hs00189880_m1" "Hs00937509_m1" "Hs00362096_m1" "Hs00962398_m1" "Hs00171042_m1" "Hs01076090_m1" "Hs00801390_s1"
40-3	"Hs00978280_m1" "Hs00900510_m1" "Hs00411188_g1" "Hs00174969_m1" "Hs00171157_m1" "Hs01546752_g1" "Hs04194422_s1" "Hs00826827_g1" "Hs01010736_m1" "Hs01043717_m1" "Hs00931763_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00703025_s1" "Hs00559914_m1" "Hs03302824_pri" "Hs01087946_g1" "Hs00950371_m1" "Hs01051445_g1" "Hs00202752_m1" "Hs00380101_m1" "Hs01553775_g1" "Hs00232157_m1" "Hs00698959_m1" "Hs01098278_m1" "Hs03464469_s1" "Hs00884853_s1" "Hs00926053_m1" "Hs00936519_m1" "Hs00745492_s1" "Hs01560931_m1" "Hs00362096_m1" "Hs00204257_m1" "Hs00240906_m1" "Hs00366766_m1" "Hs00260480_m1" "Hs01549976_m1" "Hs00997579_m1" "Hs00738791_g1" "Hs01114274_m1" "Hs03043789_g1"
40-4	"Hs00899658_m1" "Hs00543973_m1" "Hs00260452_m1" "Hs00233987_m1" "Hs03302824_pri" "Hs04189864_m1" "Hs01089557_s1" "Hs05036222_s1" "Hs00428732_m1" "Hs00374264_g1" "Hs00958111_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00964384_g1" "Hs00900510_m1" "Hs00747379_m1" "Hs01087946_g1" "Hs05033260_s1" "Hs00607978_s1" "Hs04942686_m1" "Hs00937509_m1" "Hs00380101_m1" "Hs00386692_m1" "Hs00155241_m1" "Hs01114274_m1" "Hs03028557_s1" "Hs00240906_m1" "Hs01546752_g1" "Hs00975850_m1" "Hs00610058_m1" "Hs01631495_s1" "Hs00174029_m1" "Hs00411188_g1" "Hs00559914_m1" "Hs03043789_g1" "Hs00698959_m1" "Hs00703025_s1" "Hs00745492_s1" "Hs00387770_m1" "Hs01008033_m1"
40-5	"Hs00607978_s1" "Hs01031740_m1" "Hs00174969_m1" "Hs01114274_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00931763_m1" "Hs00996236_m1" "Hs01395177_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00387770_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00248075_m1" "Hs01546752_g1" "Hs00705626_s1" "Hs01920599_gH" "Hs00801390_s1" "Hs05052601_s1" "Hs00960591_m1" "Hs01076090_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00262107_m1" "Hs00944507_g1" "Hs00174705_m1" "Hs01089557_s1" "Hs01029174_m1" "Hs01051445_g1" "Hs00362096_m1" "Hs00399035_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00978280_m1" "Hs01043717_m1" "Hs03028557_s1" "Hs00233987_m1" "Hs00704853_s1" "Hs01008033_m1" "Hs00543973_m1" "Hs00251883_m1" "Hs01691258_g1" "Hs00155241_m1" "Hs01042796_m1"
40-6	"Hs01931732_s1" "Hs00174705_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00174969_m1" "Hs00950371_m1" "Hs00374264_g1" "Hs00232157_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00884853_s1" "Hs00411188_g1" "Hs01089557_s1" "Hs00196245_m1" "Hs01029174_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00379134_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00738791_g1" "Hs00960591_m1" "Hs00171042_m1" "Hs05016463_s1" "Hs01025572_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00428732_m1" "Hs00705626_s1"

ES 2 965 535 T3

Conjunto de genes	Identificadores de sonda utilizados para cada conjunto de genes (identificadores de sonda de ThermoFisher Scientific).
	"Hs01114274_m1" "Hs00153408_m1" "Hs00944507_g1" "Hs00171157_m1" "Hs00962398_m1" "Hs00975850_m1" "Hs00997579_m1" "Hs00931763_m1" "Hs01379134_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00703025_s1" "Hs01553775_g1" "Hs00365956_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00559914_m1" "Hs00992679_m1"
40-7	"Hs00387770_m1" "Hs01031740_m1" "Hs00356958_m1" "Hs00959010_m1" "Hs01395177_m1" "Hs00705626_s1" "Hs01010736_m1" "Hs00703025_s1" "Hs00801390_s1" "Hs01894962_s1" "Hs00233987_m1" "Hs00174029_m1" "Hs00196245_m1" "Hs01051445_g1" "Hs00153408_m1" "Hs01081598_m1" "Hs00411188_g1" "Hs01089557_s1" "Hs01920599_gH" "Hs00901350_g1" "Hs00950371_m1" "Hs00997579_m1" "Hs00415546_m1" "Hs00884853_s1" "Hs00155241_m1" "Hs00915710_m1" "Hs03302824_pri" "Hs01025572_m1" "Hs00698959_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00936519_m1" "Hs00992679_m1" "Hs00704853_s1" "Hs00960591_m1" "Hs00968305_m1" "Hs00380101_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00201707_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00366766_m1"
40-8	"Hs00155241_m1" "Hs01025572_m1" "Hs01087946_g1" "Hs00204257_m1" "Hs01395177_m1" "Hs05052601_s1" "Hs00962398_m1" "Hs03028557_s1" "Hs05033260_s1" "Hs00610058_m1" "Hs00174029_m1" "Hs05036222_s1" "Hs04189864_m1" "Hs00543973_m1" "Hs01081598_m1" "Hs01894962_s1" "Hs00738791_g1" "Hs00171042_m1" "Hs00957562_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00231709_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00703025_s1" "Hs01089557_s1" "Hs00374264_g1" "Hs01010736_m1" "Hs00901350_g1" "Hs00174969_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00996236_m1" "Hs05016463_s1" "Hs00415546_m1" "Hs00362096_m1" "Hs00704853_s1" "Hs00975850_m1" "Hs00174705_m1" "Hs00251883_m1" "Hs00196245_m1" "Hs00222415_m1" "Hs01931732_s1"
40-9	"Hs00267207_m1" "Hs00904817_m1" "Hs01087946_g1" "Hs00233987_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00196245_m1" "Hs03302824_pri" "Hs01089557_s1" "Hs00936519_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00559914_m1" "Hs00171157_m1" "Hs00900510_m1" "Hs00174705_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00950371_m1" "Hs01043717_m1" "Hs00960591_m1" "Hs01546752_g1" "Hs00957562_m1" "Hs00372831_g1" "Hs01029174_m1" "Hs00937509_m1" "Hs00411188_g1" "Hs05016463_s1" "Hs00705626_s1" "Hs00232157_m1" "Hs00174029_m1" "Hs00978280_m1" "Hs05052601_s1" "Hs05033260_s1" "Hs01920599_gH" "Hs00231709_m1" "Hs01098278_m1" "Hs01081598_m1" "Hs00997579_m1" "Hs01051445_g1" "Hs04232205_s1" "Hs00884853_s1" "Hs00738791_g1"
40-10	"Hs01076090_m1" "Hs00387770_m1" "Hs01031740_m1" "Hs00196245_m1" "Hs03464469_s1" "Hs04232205_s1" "Hs00884853_s1" "Hs00174969_m1" "Hs00607978_s1" "Hs04942686_m1" "Hs00931763_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00960591_m1" "Hs01920599_gH" "Hs01546752_g1" "Hs00997579_m1" "Hs01087946_g1" "Hs01560931_m1" "Hs00950371_m1" "Hs01549976_m1" "Hs00747379_m1" "Hs01081598_m1" "Hs01691258_g1" "Hs00231709_m1" "Hs00399035_m1" "Hs00428732_m1" "Hs00543973_m1" "Hs00240906_m1" "Hs00372831_g1" "Hs00703025_s1" "Hs00171042_m1" "Hs01043717_m1" "Hs01025572_m1" "Hs00222415_m1" "Hs00937509_m1" "Hs00267207_m1" "Hs00915710_m1" "Hs00366766_m1" "Hs00610058_m1"
40-11	"Hs00610058_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00901350_g1" "Hs01051611_gH" "Hs01087946_g1" "Hs05052601_s1" "Hs03028557_s1" "Hs00248075_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00738791_g1" "Hs00374264_g1" "Hs00543973_m1" "Hs04189864_m1" "Hs00698959_m1" "Hs05036222_s1" "Hs00962398_m1" "Hs00362096_m1" "Hs03043789_g1" "Hs03302824_pri" "Hs00380101_m1" "Hs00232157_m1" "Hs01553775_g1" "Hs01547054_m1" "Hs00174705_m1" "Hs00936519_m1" "Hs00386692_m1" "Hs00926053_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00960591_m1" "Hs01098278_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00202752_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00428732_m1" "Hs01072228_m1" "Hs00884853_s1" "Hs00931763_m1" "Hs00964384_g1" "Hs00826827_g1" "Hs00155241_m1"
40-12	"Hs00174705_m1" "Hs00698959_m1" "Hs01546752_g1" "Hs00262107_m1" "Hs03464469_s1" "Hs00996236_m1" "Hs00960591_m1" "Hs00387770_m1" "Hs00204257_m1" "Hs00801390_s1" "Hs00610058_m1" "Hs01631495_s1" "Hs01081598_m1" "Hs00240906_m1" "Hs01553775_g1" "Hs00362096_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00248075_m1" "Hs01894962_s1" "Hs01089557_s1" "Hs00747379_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00267207_m1" "Hs01010736_m1" "Hs00901350_g1" "Hs03302824_pri" "Hs01547054_m1" "Hs00386692_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00399035_m1" "Hs00189880_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00356958_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00380101_m1" "Hs04942686_m1"

ES 2 965 535 T3

Conjunto de genes	Identificadores de sonda utilizados para cada conjunto de genes (identificadores de sonda de ThermoFisher Scientific).
	"Hs00174969_m1" "Hs00968305_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00366766_m1"
40-13	"Hs01546752_g1" "Hs01920599_gH" "Hs00801390_s1" "Hs01560931_m1" "Hs04194422_s1" "Hs01081598_m1" "Hs00251883_m1" "Hs00559914_m1" "Hs00262107_m1" "Hs00374264_g1" "Hs00543973_m1" "Hs00171157_m1" "Hs00937509_m1" "Hs01029174_m1" "Hs00174969_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00705626_s1" "Hs05016463_s1" "Hs01553775_g1" "Hs00704853_s1" "Hs01691258_g1" "Hs00167524_m1" "Hs00962398_m1" "Hs00978280_m1" "Hs00248075_m1" "Hs00386692_m1" "Hs00959010_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00884853_s1" "Hs00174705_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00379134_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00202752_m1" "Hs00189880_m1" "Hs00365956_m1" "Hs03302824_pri" "Hs00926053_m1" "Hs01395177_m1" "Hs04189864_m1"
40-14	"Hs00747379_m1" "Hs00362096_m1" "Hs00386692_m1" "Hs01089557_s1" "Hs01029174_m1" "Hs00960591_m1" "Hs00248075_m1" "Hs01547054_m1" "Hs01631495_s1" "Hs00189880_m1" "Hs00167524_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00240906_m1" "Hs01087946_g1" "Hs00884853_s1" "Hs00899658_m1" "Hs00380101_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00936519_m1" "Hs00856927_g1" "Hs01043717_m1" "Hs00915710_m1" "Hs00231709_m1" "Hs00964384_g1" "Hs00387770_m1" "Hs00155241_m1" "Hs01081598_m1" "Hs00926053_m1" "Hs00366766_m1" "Hs00171042_m1" "Hs01031740_m1" "Hs00959010_m1" "Hs01546752_g1" "Hs00233987_m1" "Hs01042796_m1" "Hs00896999_g1" "Hs00374264_g1" "Hs04232205_s1" "Hs00201707_m1"
40-15	"Hs00703025_s1" "Hs01087946_g1" "Hs05016463_s1" "Hs00167524_m1" "Hs00543973_m1" "Hs01010736_m1" "Hs05052601_s1" "Hs00957562_m1" "Hs00856927_g1" "Hs04232205_s1" "Hs01029174_m1" "Hs00251883_m1" "Hs01931732_s1" "Hs00262107_m1" "Hs00374264_g1" "Hs01560931_m1" "Hs00174969_m1" "Hs00937509_m1" "Hs00222415_m1" "Hs00801390_s1" "Hs00959010_m1" "Hs00231709_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00411188_g1" "Hs01051445_g1" "Hs00174029_m1" "Hs01553775_g1" "Hs01072228_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00415546_m1" "Hs00705626_s1" "Hs00387770_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00153408_m1" "Hs00196245_m1" "Hs00884853_s1" "Hs04189864_m1" "Hs00936519_m1" "Hs00958111_m1" "Hs00607978_s1"
40-16	"Hs01920599_gH" "Hs04189864_m1" "Hs0114274_m1" "Hs01395177_m1" "Hs00374264_g1" "Hs00174029_m1" "Hs00958111_m1" "Hs03028557_s1" "Hs00856927_g1" "Hs00153408_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00607978_s1" "Hs00201707_m1" "Hs00155241_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00610058_m1" "Hs00964384_g1" "Hs04942686_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00174969_m1" "Hs00944507_g1" "Hs00248075_m1" "Hs00362096_m1" "Hs00174705_m1" "Hs01043717_m1" "Hs00260452_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00380101_m1" "Hs00559914_m1" "Hs00159178_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00399035_m1" "Hs01931732_s1" "Hs00703025_s1" "Hs00738791_g1" "Hs00826827_g1" "Hs00997579_m1" "Hs00204257_m1" "Hs01070154_m1"
40-17	"Hs00978280_m1" "Hs01553775_g1" "Hs01029174_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00386692_m1" "Hs00738791_g1" "Hs01089557_s1" "Hs00365956_m1" "Hs00607978_s1" "Hs00248075_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00962398_m1" "Hs00196245_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00167524_m1" "Hs04942686_m1" "Hs00201707_m1" "Hs00915710_m1" "Hs01549976_m1" "Hs00901350_g1" "Hs04194422_s1" "Hs00997579_m1" "Hs01031740_m1" "Hs00904817_m1" "Hs01631495_s1" "Hs00153408_m1" "Hs00975850_m1" "Hs00428732_m1" "Hs00366766_m1" "Hs04232205_s1" "Hs01547054_m1" "Hs00900510_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00356958_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00415546_m1" "Hs00362096_m1" "Hs00937509_m1" "Hs00958111_m1"
40-18	"Hs00201707_m1" "Hs04942686_m1" "Hs04194422_s1" "Hs00899658_m1" "Hs00260452_m1" "Hs01043717_m1" "Hs00262107_m1" "Hs01070154_m1" "Hs01029174_m1" "Hs00856927_g1" "Hs01098278_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00944507_g1" "Hs00372831_g1" "Hs00356958_m1" "Hs01051611_gH" "Hs00380101_m1" "Hs01076090_m1" "Hs00703025_s1" "Hs00251883_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00171157_m1" "Hs00386692_m1" "Hs05016463_s1" "Hs00167524_m1" "Hs01089557_s1" "Hs00171042_m1" "Hs00745492_s1" "Hs00610058_m1" "Hs00884853_s1" "Hs00958111_m1" "Hs04189864_m1" "Hs00704853_s1" "Hs00543973_m1" "Hs00374264_g1" "Hs01087946_g1" "Hs00415546_m1" "Hs05036222_s1" "Hs00904817_m1" "Hs01072228_m1"
40-19	"Hs01072228_m1" "Hs00915710_m1" "Hs00174705_m1" "Hs00356958_m1" "Hs00174029_m1" "Hs00958111_m1" "Hs00248075_m1" "Hs01553775_g1"

ES 2 965 535 T3

Conjunto de genes	Identificadores de sonda utilizados para cada conjunto de genes (identificadores de sonda de ThermoFisher Scientific).
	"Hs01098278_m1" "Hs00957562_m1" "Hs00937509_m1" "Hs00960591_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00387770_m1" "Hs01547054_m1" "Hs00698959_m1" "Hs00399035_m1" "Hs00607978_s1" "Hs04942686_m1" "Hs00240906_m1" "Hs00962398_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00267207_m1" "Hs00996236_m1" "Hs00704853_s1" "Hs00365956_m1" "Hs00196245_m1" "Hs00959010_m1" "Hs00884853_s1" "Hs01691258_g1" "Hs00950371_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00174969_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00964384_g1" "Hs00738791_g1" "Hs00543973_m1" "Hs00171042_m1" "Hs04189864_m1" "Hs00415546_m1"
40-20	"Hs00559914_m1" "Hs00856927_g1" "Hs00232157_m1" "Hs01029174_m1" "Hs00978280_m1" "Hs01051445_g1" "Hs01031740_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00174705_m1" "Hs00153408_m1" "Hs00362096_m1" "Hs00944507_g1" "Hs00260452_m1" "Hs00937509_m1" "Hs00826827_g1" "Hs00248075_m1" "Hs01043717_m1" "Hs01070154_m1" "Hs01076090_m1" "Hs01560931_m1" "Hs01920599_gH" "Hs00543973_m1" "Hs00380101_m1" "Hs00997579_m1" "Hs03043789_g1" "Hs00901350_g1" "Hs03302824_pri" "Hs00399035_m1" "Hs00747379_m1" "Hs01114274_m1" "Hs04232205_s1" "Hs05016463_s1" "Hs00387770_m1" "Hs00366766_m1" "Hs04194422_s1" "Hs01008033_m1" "Hs01395177_m1" "Hs00904817_m1" "Hs03464469_s1" "Hs01894962_s1"
40-21	"Hs00826827_g1" "Hs00899658_m1" "Hs01076090_m1" "Hs00411188_g1" "Hs05036222_s1" "Hs00171042_m1" "Hs00926053_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00174029_m1" "Hs00902334_m1" "Hs00958111_m1" "Hs00153408_m1" "Hs01081598_m1" "Hs01051445_g1" "Hs04189864_m1" "Hs00962398_m1" "Hs00155241_m1" "Hs00380101_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00171157_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00174969_m1" "Hs01114274_m1" "Hs00705626_s1" "Hs01920599_gH" "Hs00428732_m1" "Hs01031740_m1" "Hs05016463_s1" "Hs01549976_m1" "Hs00931763_m1" "Hs00703025_s1" "Hs00960591_m1" "Hs05052601_s1" "Hs00937509_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00968305_m1" "Hs01087946_g1" "Hs00959010_m1" "Hs01089557_s1"
40-22	"Hs00904817_m1" "Hs00260480_m1" "Hs00856927_g1" "Hs01894962_s1" "Hs00171042_m1" "Hs00171157_m1" "Hs01098278_m1" "Hs00202752_m1" "Hs01076090_m1" "Hs00964384_g1" "Hs00155241_m1" "Hs00950371_m1" "Hs01042796_m1" "Hs00826827_g1" "Hs00958111_m1" "Hs00899658_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00926053_m1" "Hs01029174_m1" "Hs00174029_m1" "Hs01081598_m1" "Hs00159178_m1" "Hs00975850_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00251883_m1" "Hs00372831_g1" "Hs00957562_m1" "Hs00610058_m1" "Hs01043717_m1" "Hs05033260_s1" "Hs01920599_gH" "Hs00543973_m1" "Hs01560931_m1" "Hs00901350_g1" "Hs00705626_s1" "Hs05016463_s1" "Hs00260452_m1" "Hs01553775_g1" "Hs00153408_m1" "Hs00962398_m1"
40-23	"Hs00801390_s1" "Hs00174969_m1" "Hs00959010_m1" "Hs00968305_m1" "Hs01547054_m1" "Hs01072228_m1" "Hs00262107_m1" "Hs01114274_m1" "Hs00937509_m1" "Hs01051611_gH" "Hs01920599_gH" "Hs01031740_m1" "Hs00399035_m1" "Hs00962398_m1" "Hs00233987_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00826827_g1" "Hs01010736_m1" "Hs03302824_pri" "Hs01549976_m1" "Hs00901350_g1" "Hs00975850_m1" "Hs00904817_m1" "Hs00380101_m1" "Hs00387770_m1" "Hs04232205_s1" "Hs00240906_m1" "Hs00997579_m1" "Hs01560931_m1" "Hs01631495_s1" "Hs05052601_s1" "Hs00738791_g1" "Hs00171157_m1" "Hs00232157_m1" "Hs00978280_m1" "Hs00372831_g1" "Hs00704853_s1" "Hs00745492_s1" "Hs00936519_m1" "Hs00204257_m1"
40-24	"Hs01549976_m1" "Hs00260480_m1" "Hs01031740_m1" "Hs05052601_s1" "Hs05016463_s1" "Hs00196245_m1" "Hs01025572_m1" "Hs01042796_m1" "Hs00944507_g1" "Hs00171157_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00962398_m1" "Hs00428732_m1" "Hs00543973_m1" "Hs01560931_m1" "Hs01087946_g1" "Hs00960591_m1" "Hs04189864_m1" "Hs00826827_g1" "Hs00380101_m1" "Hs01691258_g1" "Hs00386692_m1" "Hs00374264_g1" "Hs00745492_s1" "Hs00884853_s1" "Hs00411188_g1" "Hs00936519_m1" "Hs00240906_m1" "Hs00232157_m1" "Hs01098278_m1" "Hs03302824_pri" "Hs00248075_m1" "Hs00801390_s1" "Hs01553775_g1" "Hs03464469_s1" "Hs00738791_g1" "Hs01631495_s1" "Hs00703025_s1" "Hs00896999_g1" "Hs01010736_m1"
40-25	"Hs04189864_m1" "Hs00386692_m1" "Hs00926053_m1" "Hs00260452_m1" "Hs00610058_m1" "Hs00958111_m1" "Hs00704853_s1" "Hs00380101_m1" "Hs00543973_m1" "Hs00167524_m1" "Hs00747379_m1" "Hs00428732_m1" "Hs00559914_m1" "Hs00738791_g1" "Hs00260480_m1" "Hs00703025_s1" "Hs00975850_m1" "Hs01025572_m1" "Hs01098278_m1" "Hs01560931_m1"

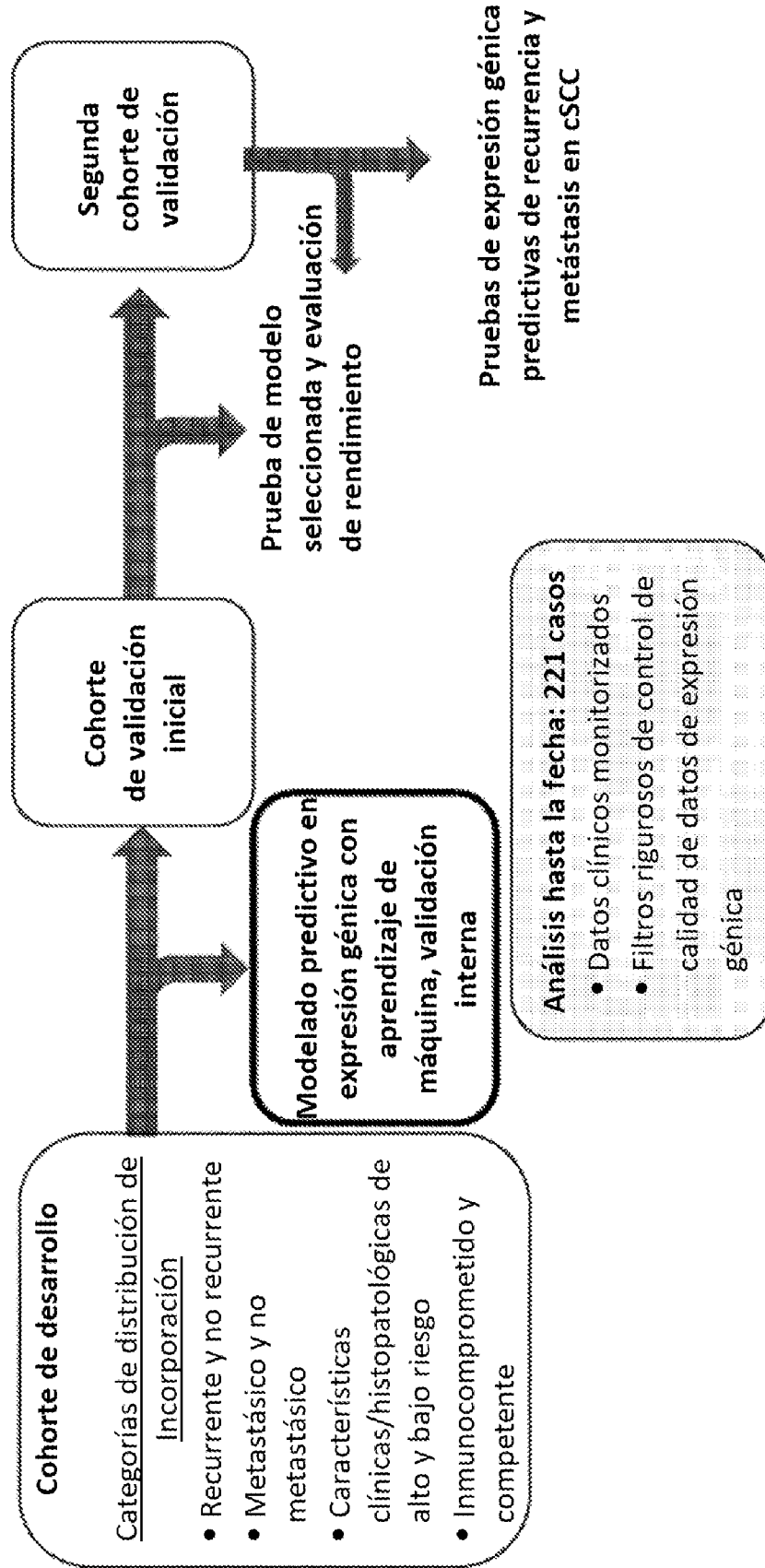
## ES 2 965 535 T3

Conjunto de genes	Identificadores de sonda utilizados para cada conjunto de genes (identificadores de sonda de ThermoFisher Scientific).
	"Hs00745492_s1" "Hs00233987_m1" "Hs00232157_m1" "Hs05016463_s1" "Hs00607978_s1" "Hs00171042_m1" "Hs00884853_s1" "Hs01691258_g1" "Hs00196245_m1" "Hs01081598_m1" "Hs00251883_m1" "Hs00904817_m1" "Hs01114274_m1" "Hs00222415_m1" "Hs01051445_g1" "Hs01042796_m1" "Hs00356958_m1" "Hs00944507_g1" "Hs00379134_m1" "Hs00705626_s1"
Véase Tabla 11 para el nombre del gen asociado con cada ID de sonda.	

## REIVINDICACIONES

1. Un método para predecir el riesgo de recurrencia, metástasis, o ambas, en un paciente con un tumor de carcinoma cutáneo de células epidermoides (cSCC), el método comprende:
- 5 (a) aislar el ARNm de una muestra de tumor de cSCC que se ha obtenido del paciente;
- (b) determinar el nivel de expresión de ALOX12, BBC, BHLHB9, GTPBP2, HDDC3, ID2, LCE2B, LOC100287896, MMP10, MSANTD4, NFASC, NFIC, PDPN, RCHY1, RPP38, RUNX3, TAF6L, TFAP2B, ZNF48, y ZNF496;
- 10 (c) proporcionar una indicación sobre si el tumor de cSCC tiene un riesgo bajo o un riesgo alto de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas, en base a los niveles de expresión de ALOX12, BBC, BHLHB9, GTPBP2, HDDC3, ID2, LCE2B, LOC100287896, MMP10, MSANTD4, NFASC, NFIC, PDPN, RCHY1, RPP38, RUNX3, TAF6L, TFAP2B, ZNF48, y ZNF496.
- 15 2. El método de la reivindicación 1, que comprende además comparar los niveles de expresión de ALOX12, BBC, BHLHB9, GTPBP2, HDDC3, ID2, LCE2B, LOC100287896, MMP10, MSANTD4, NFASC, NFIC, PDPN, RCHY1, RPP38, RUNX3, TAF6L, TFAP2B, ZNF48, y ZNF49 de la muestra de tumor de cSCC con los niveles de expresión de ALOX12, BBC, BHLHB9, GTPBP2, HDDC3, ID2, LCE2B, LOC100287896, MMP10, MSANTD4, NFASC, NFIC, PDPN, RCHY1, RPP38, RUNX3, TAF6L, TFAP2B, ZNF48, y ZNF49 de un conjunto de entrenamiento predictivo para generar una puntuación de probabilidad del riesgo de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas.
- 20 3. El método de la reivindicación 1 o 2, en el que el nivel de expresión de cada gen en el conjunto de genes se determina al transcribir inversamente el ARNm aislado en ADNc y medir un nivel de fluorescencia para cada gen en el conjunto de genes mediante un sistema de detección de secuencia de ácidos nucleicos siguiendo la Reacción en Cadena de Polimerasa en Tiempo Real (RT-PCR).
- 25 4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la muestra de tumor de cSCC se obtiene a partir de una muestra embebida en parafina, fijada con formalina.
- 30 5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en el que la puntuación de probabilidad de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas está entre 0 y 1, en el que un valor de 1 indica una mayor probabilidad de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas que un valor de 0, y en el que la puntuación de probabilidad de 0 a 1 refleja la correlación del nivel de expresión de la muestra de tumor de cSCC con el conjunto de entrenamiento utilizado para predecir el resultado de riesgo.
- 35 6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en el que la puntuación de probabilidad es un análisis bimodal de dos clases, en el que un paciente que tiene un valor entre 0 y 0.499 se designa como clase 1 (riesgo bajo) y un paciente que tiene un valor de entre 0.500 y 1.00 se designa como clase 2 (riesgo alto), y en el que la puntuación de probabilidad desde 0 hasta 1 refleja la correlación del nivel de expresión de la muestra de tumor de cSCC con el conjunto de entrenamiento utilizado para predecir el resultado de riesgo.
- 40 7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en el que la puntuación de probabilidad es un análisis, trimodal, de tres clases en el que los pacientes se designan como clase A (riesgo bajo), clase B (riesgo intermedio), o clase C (riesgo alto).
- 45 8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, que comprende además identificar el tumor de cSCC que tiene un riesgo alto de recurrencia local, metástasis a distancia, o ambas en base a la puntuación de probabilidad, y administrar al paciente un tratamiento tumoral agresivo.
- 50 9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el nivel de expresión de:
- ALOX12 se reduce, BBC se aumenta, BHLHB9 se reduce, GTPBP2 se reduce, HDDC3 se aumenta, ID2 se reduce, LCE2B se reduce, LOC100287896 se aumenta, MMP10 se reduce, MSANTD4 se reduce, NFASC se reduce, NFIC se reduce, PDPN se aumenta, RCHY1 se aumenta, RPP38 se reduce, RUNX3 se aumenta, TAF6L se aumenta, TFAP2B se reduce, ZNF48 se aumenta, y ZNF496 se aumenta cuando se compara un tumor recurrente con una muestra no recurrente.
- 55

**FIG.1**



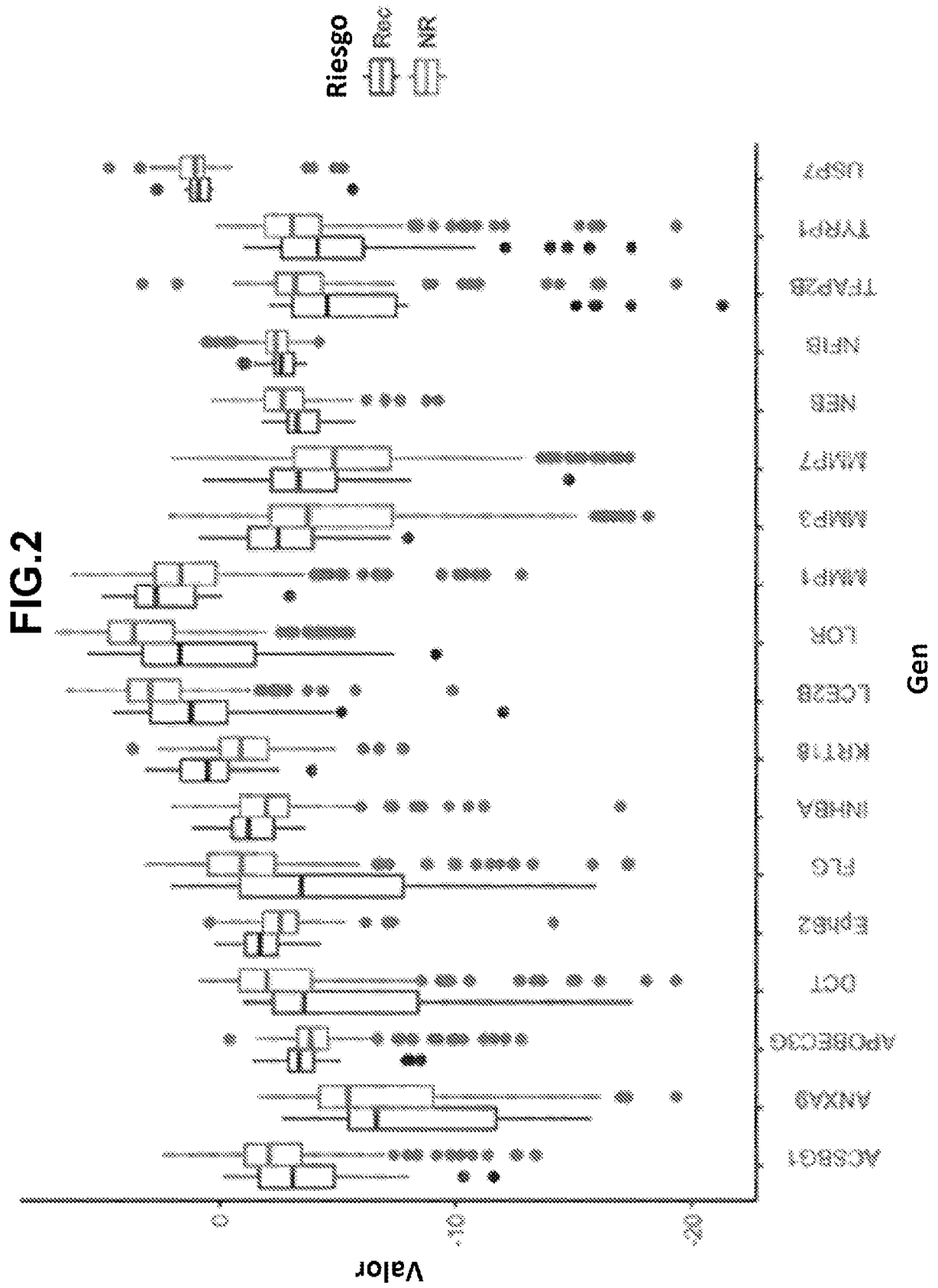
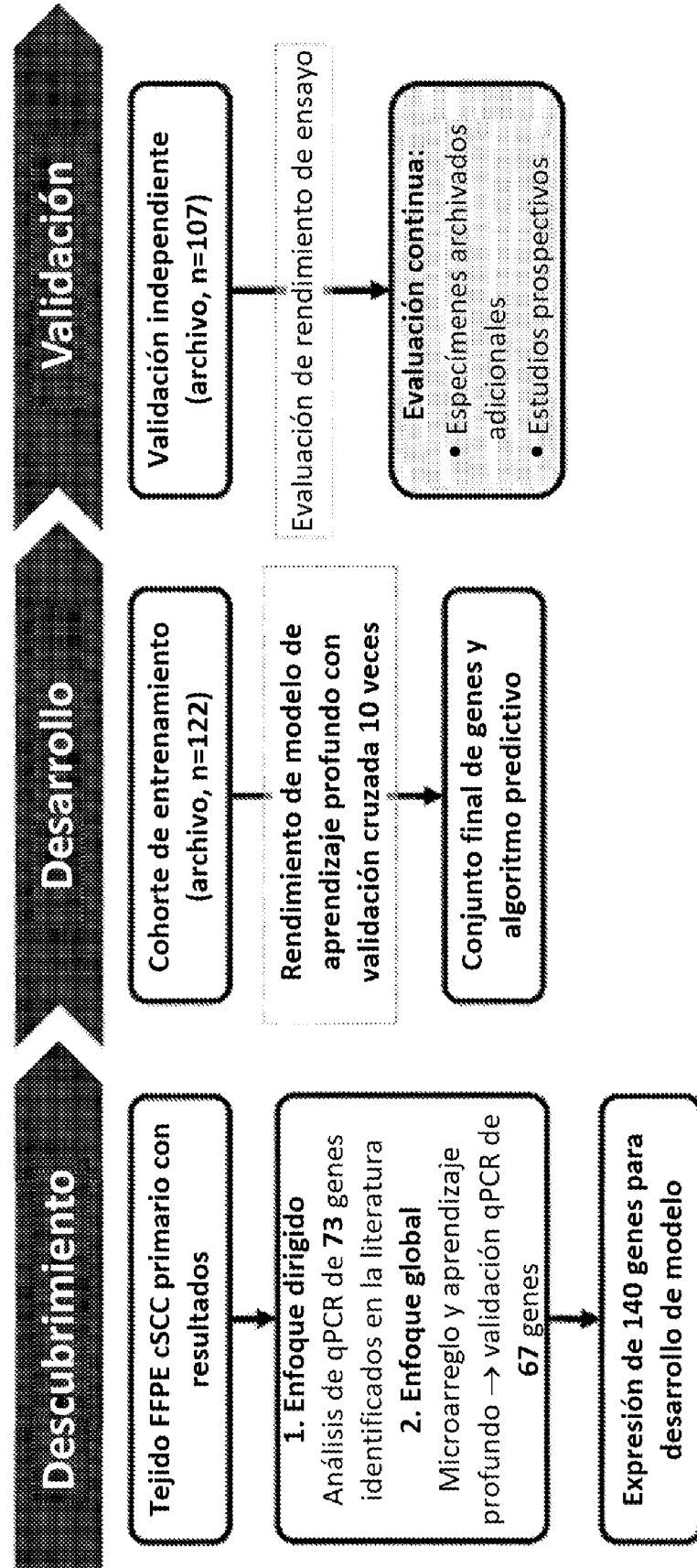


FIG.3



**FIG.4**

**Supervivencia libre de metástasis regional/distantes**

