

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 946 251**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.08.2015 E 20162059 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.03.2023 EP 3686288**

54 Título: **Métodos y materiales para evaluar la deficiencia de recombinación homóloga**

30 Prioridad:

15.08.2014 US 201462037764 P
06.10.2014 US 201414507412

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.07.2023

73 Titular/es:

MYRIAD GENETICS, INC. (100.0%)
320 Wakara Way
Salt Lake City, UT 84108, US

72 Inventor/es:

ABKEVICH, VICTOR;
TIMMS, KIRSTEN;
GUTIN, ALEXANDER y
REID, JULIA

74 Agente/Representante:

TEMIÑO CENICEROS, Ignacio

ES 2 946 251 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 y materiales para evaluar la deficiencia de recombinación homóloga

5 **Antecedentes**

El cáncer es un grave problema de salud pública, solo en 2009 murieron de cáncer 562.340 personas en Estados Unidos. American Cancer Society, Cancer Facts & Figures 2009 (disponible en el sitio web de la American Cancer Society). Uno de los principales retos en el tratamiento del cáncer es descubrir características relevantes y clínicamente útiles del propio cáncer del paciente y después, basándose en estas características, administrar un plan de tratamiento que mejor se adapte al cáncer del paciente. Aunque se ha avanzado mucho en este campo de la medicina personalizada, sigue habiendo una necesidad significativa de mejores herramientas de diagnóstico molecular para caracterizar los cánceres de los pacientes. Las pruebas de HRD (por las siglas del inglés, *homologous recombination deficiency*, deficiencia de recombinación homóloga) incluyen la prueba de HRD™ de Myriad, descrita, por ejemplo, en "Myriad's HRD Test Significantly Predicts Response to Cisplatin Treatment in Patients With Triple Negative Breast Cancer in Second Research Study".

Sumario

20 Este documento se refiere a métodos y materiales implicados en la evaluación de muestras (p. ej., células cancerosas o ácidos nucleicos derivados de las mismas) con respecto a la deficiencia de recombinación homóloga (HRD) (p. ej., una firma de HRD) en función de la detección de aberraciones cromosómicas ("AC") particulares. Por ejemplo, este documento proporciona métodos y materiales para detectar regiones de AC para determinar si una célula (p. ej., una célula cancerosa) tiene o no HRD (p. ej., si presenta una firma de HRD). Este documento también proporciona materiales y métodos para identificar a pacientes con cáncer que probablemente respondan a un régimen particular de tratamiento contra el cáncer basándose en la presencia, ausencia o gravedad de HRD. A lo largo de este documento, a menos que se indique lo contrario, HRD y deficiencia de reparación dependiente de homología (HDR, siglas del inglés *homology-dependent repair*) se utilizan como sinónimos.

30 La presente invención se define en la reivindicación independiente, a la que ahora debe hacerse referencia. Las realizaciones ventajosas se exponen en las reivindicaciones subordinadas. En general, un aspecto de esta divulgación presenta un método para evaluar la HRD en una célula cancerosa o ADN (p. ej., ADN genómico) derivado de la misma. En algunas realizaciones, el método comprende, o consiste esencialmente en, (a) detectar, en una muestra o ADN derivado de la misma, regiones de AC (como se define en el presente documento) en al menos un par de cromosomas humanos de muestra o ADN derivado de la misma (p. ej., cualquier par de cromosomas humanos que no sea un par de cromosomas sexuales X/Y humanos); y (b) determinar el número, el tamaño (p. ej., la longitud) y/o el carácter de dichas regiones de AC. En algunas realizaciones, las regiones de AC se analizan en diversos pares de cromosomas que son representativos de todo el genoma (p. ej., se analizan suficientes cromosomas de modo que se espera que el número y el tamaño de las regiones de AC sean representativos del número y el tamaño de las regiones de AC en todo el genoma).

Varios aspectos de la presente divulgación implican el uso de un análisis combinado de dos o más tipos de regiones de AC para evaluar (p. ej., detectar) HRD en una muestra. Tres tipos de regiones de AC útiles en dichos métodos incluyen (1) regiones cromosómicas que muestran pérdida de heterocigosidad ("regiones de LOH", del inglés *loss of heterozygosity*), como se define en el presente documento), (2) regiones cromosómicas que muestran un desequilibrio alélico telomérico ("regiones de TAI", del inglés *telomeric allelic imbalance*), como se define en el presente documento) y (3) regiones cromosómicas que muestran una transición a gran escala ("regiones de LST", del inglés *large scale transition*), como se define en el presente documento). Las regiones de AC de un determinado tamaño, ubicación o carácter cromosómico (p. ej., "regiones de AC indicadoras", como se define en el presente documento), pueden ser particularmente útiles en varios aspectos de la presente divulgación.

Por tanto, en un aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar en la muestra el número total de regiones de LOH de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LOH indicadoras", como se define en el presente documento); (2) determinar en la muestra el número total de regiones de TAI de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de TAI indicadoras", como se define en el presente documento); y (3) evaluar la HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en las determinaciones realizadas en (1) y (2). En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar el número total de regiones de LOH de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LOH indicadoras", como se define en el presente documento); (2) determinar en la muestra el número total de regiones de LST de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LST indicadoras", como se define en el presente documento); y (3) evaluar la HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en las determinaciones realizadas en (1) y (2). En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar el número total de regiones de TAI de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de TAI indicadoras", como se define en el presente documento) en la muestra; (2) determinar en la muestra el número total de regiones de LST de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LST

indicadoras", como se define en el presente documento); y (3) evaluar la HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en las determinaciones realizadas en (1) y (2). En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar en la muestra el número total de regiones de LOH de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LOH indicadoras", como se define en el presente documento); (2) determinar en la muestra el número total de regiones de TAI de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de TAI indicadoras", como se define en el presente documento); (3) determinar en la muestra el número total de regiones de LST de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LST indicadoras", como se define en el presente documento); y (4) evaluar (p. ej., detectar) la HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en las determinaciones realizadas en (1), (2) y (3).

En un aspecto, la divulgación proporciona un método para diagnosticar la presencia o ausencia de HRD en una muestra de un paciente, comprendiendo el método (1) analizar (p. ej., examinar) una o más muestras de pacientes para determinar (p. ej., detectar) en la muestra, el número total de regiones de LOH de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LOH" indicadoras, como se define en el presente documento); (2) analizar (p. ej., examinar) una o más muestras de pacientes para determinar (p. ej., detectar) en la muestra, el número total de regiones de TAI de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de TAI" indicadoras, como se define en el presente documento); y (3)(a) diagnosticar la presencia de HRD en una muestra de un paciente donde el número de (1) y/o el número de (2) supere alguna referencia; o (3)(b) diagnosticar la ausencia de HRD en una muestra de un paciente donde ni el número de (1) ni el número de (2) supere alguna referencia. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para diagnosticar la presencia o ausencia de HRD en una muestra de un paciente, comprendiendo el método (1) analizar (p. ej., examinar) una o más muestras de pacientes para determinar (p. ej., detectar) en la muestra, el número total de regiones de LOH de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LOH" indicadoras, como se define en el presente documento); (2) analizar (p. ej., examinar) una o más muestras de pacientes para determinar (p. ej., detectar) en la muestra, el número total de regiones de LST de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LST" indicadoras, como se define en el presente documento); y (3)(a) diagnosticar la presencia de HRD en una muestra de un paciente donde el número de (1) y/o el número de (2) supere alguna referencia; o (3)(b) diagnosticar la ausencia de HRD en una muestra de un paciente donde ni el número de (1) ni el número de (2) supere alguna referencia. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para diagnosticar la presencia o ausencia de HRD en una muestra de un paciente, comprendiendo el método (1) analizar (p. ej., examinar) una o más muestras de pacientes para determinar (p. ej., detectar) en la muestra, el número total de regiones de TAI de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de TAI" indicadoras, como se define en el presente documento); (2) analizar (p. ej., examinar) una o más muestras de pacientes para determinar (p. ej., detectar) en la muestra, el número total de regiones de LST de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LST" indicadoras, como se define en el presente documento); y (3)(a) diagnosticar la presencia de HRD en una muestra de un paciente donde el número de (1) y/o el número de (2) supere alguna referencia; o (3)(b) diagnosticar la ausencia de HRD en una muestra de un paciente donde ni el número de (1) ni el número de (2) supere alguna referencia. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para diagnosticar la presencia o ausencia de HRD en una muestra de un paciente, comprendiendo el método (1) analizar (p. ej., examinar) una o más muestras de pacientes para determinar (p. ej., detectar) en la muestra, el número total de regiones de LOH de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LOH" indicadoras, como se define en el presente documento); (2) analizar (p. ej., examinar) una o más muestras de pacientes para determinar (p. ej., detectar) en la muestra, el número total de regiones de TAI de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de TAI" indicadoras, como se define en el presente documento); (3) analizar (p. ej., examinar) una o más muestras de pacientes para determinar (p. ej., detectar) en la muestra, el número total de regiones de LST de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LST" indicadoras, como se define en el presente documento); y (3)(a) diagnosticar la presencia de HRD en una muestra de un paciente donde el número de (1), el número de (2) y/o el número de (3) supere alguna referencia; o (3)(b) diagnosticar la ausencia de HRD en una muestra de un paciente donde ninguno de los números de (1), (2) o (3) supere alguna referencia.

Varios aspectos de la presente descripción implican el uso de un promedio (p. ej., media aritmética) de tres tipos de regiones de AC para evaluar (p. ej., detectar) HRD en una muestra. Tres tipos de regiones de AC útiles en dichos métodos incluyen (1) regiones cromosómicas que muestran pérdida de heterocigosidad ("regiones de LOH", como se define en el presente documento), (2) regiones cromosómicas que muestran un desequilibrio alélico telomérico ("regiones de TAI", como se define en el presente documento) y (3) regiones cromosómicas que muestran una transición a gran escala ("regiones de LST", como se define en el presente documento). Las regiones de AC de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de AC indicadoras", como se define en el presente documento) pueden ser particularmente útiles en los diversos aspectos del método descrito en el presente documento. Por tanto, en un aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar en la muestra el número total de regiones de LOH de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LOH indicadoras", como se define en el presente documento); (2) determinar en la muestra el número total de regiones de TAI de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de TAI indicadoras", como se define en el presente documento); (3) determinar en la muestra el número total de regiones de LST de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LST indicadoras", como se define en el presente documento); (4) calcular el promedio (p. ej., media aritmética) de las determinaciones realizadas en (1), (2) y (3); y (5) evaluar la HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en el promedio calculado (p. ej., media aritmética) realizado en (4).

En algunas realizaciones, la evaluación (p. ej., detección) de la HRD se basa en una puntuación derivada o calculada a partir de (p. ej., representando o correspondiendo a) las regiones de AC detectadas ("puntuación de la región de AC", como se define en el presente documento). En el presente documento se describen puntuaciones con mayor detalle. En algunas realizaciones, se detecta HRD si una puntuación de la región de AC de una muestra supera algún umbral (p. ej., una puntuación de la región de AC de referencia o inicial) y, opcionalmente, de HRD, no se detecta si la puntuación de la región de AC de la muestra no supera algún umbral (p. ej., una puntuación de la región de AC de referencia o inicial, que en algunas realizaciones puede ser el mismo umbral de detección positiva). Los expertos en la materia apreciarán fácilmente que, en la presente divulgación, pueden diseñarse puntuaciones en la orientación opuesta (p. ej., la HRD se detecta si la puntuación de la región de AC está por debajo de un determinado umbral y no se detecta si la puntuación está por encima de un determinado umbral).

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de AC es una combinación de puntuaciones derivadas o calculadas a partir de (p. ej., representando o correspondiendo a) dos o más de (1) las regiones de LOH detectadas ("puntuación de la región de LOH", como se define en el presente documento), (2) las regiones de TAI detectadas ("puntuación de la región de TAI", como se define en el presente documento) y/o (3) las regiones de LST detectadas ("puntuación de la región de LST", como se define en el presente documento). En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LOH y la puntuación de la región de TAI se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = A * (\text{puntuación de la región de LOH}) + B * (\text{puntuación de la región de TAI})$$

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LOH y la puntuación de la región de TAI se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = 0,32 * (\text{puntuación de la región de LOH}) + 0,68 * (\text{puntuación de la región de TAI})$$

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LOH y la puntuación de la región de LST se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = A * (\text{puntuación de la región de LOH}) + B * (\text{puntuación de la región de LST})$$

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = A * (\text{puntuación de la región de TAI}) + B * (\text{puntuación de la región de LST})$$

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = A * (\text{puntuación de la región de LOH}) + B * (\text{puntuación de la región de TAI}) + C * (\text{puntuación de la región de LST})$$

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = 0,21 * (\text{puntuación de la región de LOH}) + 0,67 * (\text{puntuación de la región de TAI}) + 0,12 * (\text{puntuación de la región de LST})$$

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de AC es una combinación de puntuaciones derivadas o calculadas a partir de (p. ej., representando o correspondiendo a) el promedio (p. ej., media aritmética) de (1) las regiones de LOH detectadas ("puntuación de región de LOH", como se define en el presente documento), (2) las regiones de TAI detectadas ("puntuación de la región de TAI", como se define en el presente documento) y/o (3) las regiones de LST detectadas ("puntuación de la región de LST", como se define en el presente documento) para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = \frac{A * (\text{puntuación de la región de LOH}) + B * (\text{puntuación de la región de TAI}) + C * (\text{puntuación de la región de LST})}{3}$$

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método de predicción del estado de los genes BRCA1 y BRCA2 en una muestra. Dicho método es análogo a los métodos descritos anteriormente y se diferencia en que la determinación de las regiones de AC, regiones de LOH, regiones de TAI, regiones de LST, o las puntuaciones que las incorporen, se utilizan para evaluar (p. ej., detectar) una deficiencia de BRCA1 y/o BRCA2 en la muestra. En otro aspecto, esta divulgación proporciona un método de predicción de la respuesta de un paciente con cáncer a un régimen de tratamiento contra el cáncer, que comprende, un agente que daña el ADN, una antraciclina, un

- inhibidor de topoisomerasa I, radiación y/o un inhibidor de PARP (siglas de poli ADP ribosa polimerasa). Dicho método es análogo a los métodos descritos anteriormente y se diferencia en que la determinación de las regiones de AC, regiones de LOH, regiones de TAI, regiones de LST, o las puntuaciones que las incorporen, se utilizan para predecir la probabilidad de que el paciente con cáncer responda al régimen de tratamiento contra el cáncer. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo. En otro aspecto, esta descripción proporciona un método de tratamiento del cáncer. Dicho método es análogo a los métodos descritos anteriormente y difiere en que se administra un régimen de tratamiento particular (recomendado, prescrito, etc.) basado, al menos en parte, en la determinación de regiones de AC, regiones de LOH, regiones de TAI, regiones de LST, o las puntuaciones que las incorporen. Para evitar dudas, los métodos de tratamiento no están incluidos en la invención reivindicada. En otro aspecto, esta divulgación presenta el uso de uno o más fármacos seleccionados del grupo que consiste en agentes que dañan el ADN, antraciclinas, inhibidores de topoisomerasa I e inhibidores de PARP, en la fabricación de un medicamento útil para el tratamiento de un cáncer en un paciente que se ha identificado que tiene (o ha tenido) una célula cancerosa que se ha determinado que tiene HRD (p. ej., una firma de HRD) como se describe en el presente documento. En otro aspecto, este documento presenta un método para evaluar en una muestra la presencia de una mutación en un gen de una vía de HDR. Dicho método es análogo a los métodos descritos anteriormente y se diferencia en que la determinación de las regiones de AC, regiones de LOH, regiones de TAI, regiones de LST, o las puntuaciones que las incorporen, se utilizan para detectar (o no) la presencia de una mutación en un gen de una vía de HDR.
- En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para evaluar a un paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar si el paciente tiene (o ha tenido) células cancerosas con más de un número de referencia de regiones de AC (o, p. ej., una puntuación de la región de AC que supere una puntuación de la región de AC de referencia); y (b)(1) diagnosticar que el paciente tiene células cancerosas con HRD si se determina que el paciente tiene (o ha tenido) células cancerosas con más de un número de referencia de regiones de AC (o, p. ej., una puntuación de la región de AC que supere una puntuación de la región de AC de referencia); o (b)(2) diagnosticar que el paciente no tiene células cancerosas con HRD si se determina que el paciente no tiene (o no ha tenido) células cancerosas con más de un número de referencia de regiones de AC (o, p. ej., el paciente no tiene (o no ha tenido) células cancerosas con una puntuación de la región de AC que supere una puntuación de la región de AC de referencia).
- En otro aspecto, esta divulgación presenta el uso de una pluralidad de oligonucleótidos capaces de hibridar con una pluralidad de regiones polimórficas de ADN genómico humano, en la fabricación de un kit de diagnóstico útil para determinar el número total o la longitud combinada de regiones de AC en al menos un par de cromosomas (o ADN derivado del mismo) en una muestra obtenida de un paciente con cáncer, y para detectar (a) HRD o probabilidad de HRD (p. ej., una firma de DRH) en la muestra, (b) deficiencia (o probabilidad de deficiencia) en la muestra de un gen BRCA1 o BRCA2 o (c) una mayor probabilidad de que el paciente con cáncer responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer que comprende un agente que daña el ADN, una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa I, radiación o un inhibidor de PARP.
- En otro aspecto, esta divulgación presenta un sistema para detectar HRD (p. ej., una firma de HRD) en una muestra. El sistema comprende, o consiste esencialmente en, (a) un analizador de muestras configurado para producir una pluralidad de señales sobre el ADN genómico de al menos un par de cromosomas humanos (o ADN derivado del mismo) en la muestra, y (b) un subsistema informático programado para calcular, basándose en la pluralidad de señales, el número o la longitud combinada de regiones de AC en al menos un par de cromosomas humanos. El subsistema informático puede programarse para comparar el número o la longitud combinada de las regiones de AC con un número de referencia para detectar (a) HRD o probabilidad de HRD (p. ej., una firma de DRH) en la muestra, (b) deficiencia (o probabilidad de deficiencia) en la muestra de un gen BRCA1 o BRCA2 o (c) una mayor probabilidad de que el paciente con cáncer responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer que comprende un agente que daña el ADN, una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa I, radiación o un inhibidor de PARP. El sistema puede comprender un módulo de salida configurado para mostrar (a), (b) o (c). El sistema puede comprender un módulo de salida configurado para mostrar una recomendación con respecto al uso del régimen de tratamiento contra el cáncer.
- En otro aspecto, la divulgación proporciona un producto de programa informático incorporado en un medio legible por ordenador que, cuando se ejecuta en un ordenador, proporciona instrucciones para detectar la presencia o ausencia de cualquier región de AC a lo largo de uno o más cromosomas humanos distintos de los cromosomas sexuales X e Y humanos (siendo las regiones de AC opcionalmente regiones de AC indicadoras); y determinar el número total o la longitud combinada de las regiones de AC en el uno o más pares de cromosomas. El producto de programa informático puede incluir otras instrucciones.
- En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un kit de diagnóstico. El kit comprende, o consiste esencialmente en, al menos 500 oligonucleótidos capaces de hibridar con una pluralidad de regiones polimórficas de ADN genómico humano (o ADN derivado del mismo); y un producto de programa informático proporcionado en el presente documento. El producto de programa informático puede incorporarse en un medio legible por ordenador que, cuando se ejecuta en un ordenador, proporciona instrucciones para detectar la presencia o ausencia de cualquier región de AC a lo largo de uno o más cromosomas humanos distintos de los cromosomas sexuales X e

Y humanos (siendo las regiones de AC opcionalmente regiones de AC indicadoras); y determinar el número total o la longitud combinada de las regiones de AC en el uno o más pares de cromosomas. El producto de programa informático puede incluir otras instrucciones.

5 En algunas realizaciones de uno cualquiera o más de los aspectos de la divulgación de los párrafos anteriores, uno cualquiera o más de lo siguiente puede aplicarse según corresponda. Las regiones de AC pueden determinarse en al menos dos, cinco, diez o 21 pares de cromosomas humanos. La célula cancerosa puede ser una célula de cáncer de ovario, de mama, de pulmón o de esófago. La referencia puede ser 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 20 o mayor. El al menos un par de cromosomas humanos puede excluir el cromosoma 17 humano. El agente que daña el ADN puede ser cisplatino, carboplatino, oxaliplatino o picoplatino, la antraciclina puede ser epirrubincina o doxorubicina, el inhibidor de la topoisomerasa I puede ser campotecina, topotecán o irinotecán, o el inhibidor de PARP puede ser iniparib, olaparib o velaparib. El paciente puede ser un paciente sin tratamiento previo.

15 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto con conocimientos ordinarios en la materia a la que pertenece esta divulgación. Aunque para poner en práctica la invención pueden utilizarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento, a continuación, se describen métodos y materiales adecuados.

20 Los detalles de una o más realizaciones de la invención se exponen a continuación en los dibujos adjuntos y en la descripción. Otras características, objetos y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la descripción y los dibujos y de las reivindicaciones.

25 Descripción de los dibujos

La **figura 1** muestra gráficos que representan dosis alélicas de células de cáncer de mama de una muestra reciente congelada de un paciente con cáncer de mama a lo largo de un cromosoma, determinadas utilizando una matriz de SNP (parte superior) y secuenciación de alto rendimiento (parte inferior).

30 La **figura 2** muestra gráficos que representan dosis alélicas de células de cáncer de mama de una muestra FFPE (fijada en formol e incluida en parafina) de un paciente con cáncer de mama a lo largo de un cromosoma, determinadas utilizando una matriz de SNP (parte superior) y secuenciación de alto rendimiento (parte inferior).

35 La **figura 3** es un diagrama de flujo de un proceso de ejemplo para evaluar el genoma de una célula (p. ej., de una célula cancerosa) con respecto a una firma de HRD.

La **figura 4** es un diagrama de un ejemplo de un dispositivo informático y un dispositivo informático portátil que puede utilizarse para implementar las técnicas descritas en el presente documento.

40 La **figura 5A** muestra puntuaciones de regiones de LOH en subtipos IHQ (inmunohistoquímicos) de cáncer de mama. Los tres paneles superiores son muestras deficientes en BRCA1/2. El panel inferior son muestras inalteradas de BRCA1/2.

45 La **figura 5B** muestra puntuaciones de regiones de TAI en subtipos IHQ de cáncer de mama. Los tres paneles superiores son muestras deficientes en BRCA1/2. El panel inferior son muestras inalteradas de BRCA1/2.

50 La **figura 6** muestra la correlación entre las puntuaciones de las regiones de LOH y TAI. Coeficiente de correlación = 0,69. Eje X: puntuación de LOH; Eje Y: puntuación de TAI; puntos rojos: muestras inalteradas; puntos azules (con una "X" superpuesta): muestras deficientes en BRCA1/2. El área bajo los puntos es proporcional al número de muestras con esa combinación de puntuaciones de LOH y TAI. $p = 10^{-39}$.

55 La **figura 7A** muestra puntuaciones de la región de LOH de los pacientes analizados en el ejemplo 2 del presente documento. Los tres paneles superiores son muestras deficientes en BRCA1/2. El panel inferior son muestras inalteradas de BRCA1/2.

60 La **figura 7B** muestra puntuaciones de la región de TAI de los pacientes analizados en el ejemplo 2 del presente documento. Los tres paneles superiores son muestras deficientes en BRCA1/2. El panel inferior son muestras inalteradas de BRCA1/2.

La **figura 7C** muestra puntuaciones de las regiones de LST de los pacientes analizados en el ejemplo 2 del presente documento. Los tres paneles superiores son muestras deficientes en BRCA1/2. El panel inferior son muestras inalteradas de BRCA1/2.

65 La **figura 7D** muestra LOH frente a TAI de pacientes analizados en el ejemplo 2 del presente documento. Eje X: puntuación de LOH; Eje Y: puntuación de TAI; puntos rojos: muestras inalteradas; puntos azules (con una

"X" superpuesta): muestras deficientes en BRCA1/2. El área bajo los puntos es proporcional al número de muestras con esa combinación de puntuaciones de LOH y TAI.

5 La **figura 7E** muestra LOH frente a LST de pacientes analizados en el ejemplo 2 del presente documento. Eje X: puntuación de LOH; Eje Y: puntuación de LST; puntos rojos: muestras inalteradas; puntos azules (con una "X" superpuesta): muestras deficientes en BRCA1/2. El área bajo los puntos es proporcional al número de muestras con esa combinación de puntuaciones de LOH y LST.

10 La **figura 7F** muestra TAI frente a LST de pacientes analizados en el ejemplo 2 del presente documento. Eje X: puntuación de TAI; Eje Y: puntuación de LST; puntos rojos: muestras inalteradas; puntos azules (con una "X" superpuesta): muestras deficientes en BRCA1/2. El área bajo los puntos es proporcional al número de muestras con esa combinación de puntuaciones de TAI y LST.

15 La **figura 8** es un gráfico que representa el número de regiones de LOH más largas que 15 Mb y más cortas que todo el cromosoma de muestras de células de cáncer de ovario con mutaciones de BRCA somáticas, con mutaciones de BRCA de la línea germinal, con baja expresión de BRCA1 o con BRCA inalterado (BRCA normal). El tamaño de los círculos es proporcional al número de muestras con dicho número de regiones de LOH.

20 La **figura 9A** ilustra puntuaciones de HRD-LOH en muestras deficientes (mutadas o metiladas) (panel superior) y muestras inalteradas (panel inferior) en BRCA 1/2 en una cohorte completa de cáncer de mama.

La **figura 9B** ilustra puntuaciones de HRD-TAI en muestras deficientes (mutadas o metiladas) (panel superior) y muestras inalteradas (panel inferior) en BRCA1/2 en una cohorte completa de cáncer de mama.

25 La **figura 9C** ilustra puntuaciones de HRD-LST en muestras deficientes (mutadas o metiladas) (panel superior) y muestras inalteradas (panel inferior) en BRCA1/2 en una cohorte completa de cáncer de mama.

30 La **figura 10** ilustra una puntuación promedio (p. ej., media aritmética) de HRD combinada (eje Y) estratificada mediante la puntuación de Miller-Payne (eje horizontal) en cohortes combinadas de cisplatino-1 y cisplatino-2.

La **figura 11** ilustra una correlación de Spearman de 3 medidas diferentes de deficiencia de HR (recombinación homóloga). Los paneles por encima de la diagonal muestran correlación. Los paneles en diagonal muestran gráficos de densidad.

35 La **figura 12** ilustra asociaciones de variables clínicas con la puntuación de HRD combinada.

La **figura 13** ilustra asociaciones de variables clínicas con deficiencia de BRCA1/2. Los paneles superiores y el panel inferior de la izquierda, muestran la proporción de pacientes con deficiencia de BRCA1/2 en cada categoría de grado, estadio y tipo de cáncer de mama. La anchura de cada barra es proporcional al número de pacientes en cada categoría. El panel inferior de la derecha muestra una estimación de la densidad condicional de la deficiencia de BRCA1/2 según la edad.

45 La **figura 14** ilustra una determinación de HRD alta con una puntuación de referencia ≥ 42 .

La **figura 15** ilustra un histograma que muestra la distribución de las puntuaciones de HRD en una cohorte de cisplatino. Las cuatro columnas de la izquierda representan una DRH baja, y las cinco columnas de la derecha, con puntuaciones de referencia > 42 , representan una HRD baja.

50 La **figura 16** ilustra la distribución de las puntuaciones de HRD en las clases de respuesta pCR, RCB-I, RCB-II y RCB-III. Las casillas representan el rango intercuartílico (RIC) de las puntuaciones con una línea horizontal en la mediana. La línea de puntos en el valor 42 representa el umbral de HRD entre puntuaciones bajas y altas.

La **figura 17** ilustra una curva de respuesta para la puntuación de HRD cuantitativa. La curva se modela mediante regresión logística generalizada. Las casillas con sombra indican la probabilidad de respuesta en muestras con deficiencia de recombinación homóloga (HR) frente a muestras sin dicha deficiencia.

La **figura 18** ilustra puntuaciones de HRD para los componentes individuales de HRD (LOH, TAI y LST).

60 Descripción detallada

En general, un aspecto de esta divulgación presenta un método para evaluar la HRD en una célula cancerosa o ADN (p. ej., ADN genómico) derivado de la misma. En algunas realizaciones, el método comprende, o consiste esencialmente en, (a) detectar, en una muestra o ADN derivado de la misma, regiones de AC en al menos un par de cromosomas humanos o ADN derivado del mismo; y (b) determinar el número, el tamaño (p. ej., la longitud) y/o el carácter de dichas regiones de AC.

Como se usa en el presente documento, "aberración cromosómica" o "AC" significa un cambio somático en el ADN cromosómico de una célula que se encuentre en al menos una de tres categorías superpuestas: LOH, TAI o LST. Los locus polimórficos dentro del genoma humano (p. ej., polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, del inglés *single nucleotide polymorphisms*) son generalmente heterocigotos dentro de la línea germinal de un individuo, ya que ese individuo normalmente recibe una copia del padre biológico y una copia de la madre biológica. Sin embargo, desde el punto de vista somático, esta heterocigosis puede cambiar (mediante mutación) a homocigosis. Este cambio de heterocigosis a homocigosis se denomina pérdida de heterocigosis (LOH). La LOH puede ser el resultado de varios mecanismos. Por ejemplo, en algunos casos, en una célula somática puede delecionarse un locus de un cromosoma. El locus que permanece presente en el otro cromosoma (el otro cromosoma no sexual masculino) es un locus de LOH ya que solo hay una copia (en lugar de dos copias) de ese locus presente en el genoma de las células afectadas. Este tipo de suceso de LOH da como resultado una reducción del número de copias. En otros casos, un locus de un cromosoma (p. ej., un cromosoma no sexual masculino) en una célula somática puede reemplazarse por una copia de ese locus del otro cromosoma, eliminando así cualquier heterocigosis que pueda haber estado presente dentro del locus reemplazado. En esos casos, el locus que permanece presente en cada cromosoma es un locus de LOH y puede denominarse locus de LOH de copia neutra. La LOH y su uso en la determinación de la HRD se describen en detalle en la solicitud internacional n.º PCT/US2011/040953 (publicada como WO/2011/160063).

Una clase más amplia de aberración cromosómica, que engloba la LOH, es el desequilibrio alelo. El desequilibrio alélico se produce cuando el número relativo de copias (es decir, la proporción de copias) en un locus particular en las células somáticas difiere del de la línea germinal. Por ejemplo, si la línea germinal tiene una copia del alelo A y una copia del alelo B en un locus particular, y una célula somática tiene dos copias de A y una copia de B, hay un desequilibrio alélico en el locus porque la proporción de copias de la célula somática (2:1) difiere de la de la línea germinal (1:1). La LOH es un ejemplo de desequilibrio alélico ya que la célula somática tiene una proporción de copias (1:0 o 2:0) que difiere de la de la línea germinal (1:1). Pero el desequilibrio alélico abarca más tipos de aberración cromosómica, p. ej., línea germinal 2:1 a somática 1:1; línea germinal 1:0 a somática 1:1; línea germinal 1:1 a somática 2:1, etc. El análisis de regiones de desequilibrio alélico que abarca los telómeros de los cromosomas es particularmente útil en la divulgación. Por tanto, una "región de desequilibrio alélico telomérico" o "Región de TAI" se define como una región con desequilibrio alélico que (a) se extiende a uno de los subtélómeros y (b) no atraviesa el centrómero. El TAI y su uso para determinar la HRD se describen en detalle en las solicitudes de patente de EE. UU. con los n.º de serie 13/818.425 (publicada como US20130281312A1) y 14/466.208 (publicada como US20150038340A1).

Una clase de aberraciones cromosómicas que es aún más amplia, que abarca LOH y TAI, se denomina en el presente documento transición a gran escala ("LST"). La LST se refiere a cualquier transición del número de copias somáticas (es decir, punto de rotura) a lo largo de un cromosoma cuando se encuentra entre dos regiones de al menos cierta longitud mínima (p. ej., al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 o más megabases) después de eliminar por filtrado regiones más cortas que determinada longitud máxima (p. ej., 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4 o más megabases). Por ejemplo, si después de eliminar por filtrado regiones más cortas que 3 megabases, la célula somática tiene un número de copias de 1: 1 para, p. ej., al menos 10 megabases y entonces una transición de punto de rotura en una región de, p. ej., al menos 10 megabases con un número de copias de 2:2, esto es una LST. Una forma alternativa de definir el mismo fenómeno es como una región de LST, que es una región genómica con un número de copias estable en al menos cierta longitud mínima (p. ej., al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 megabases) delimitada por puntos de rotura (es decir, transiciones) donde el número de copias cambia por otra región también al menos de esta longitud mínima. Por ejemplo, si después de eliminar por filtrado regiones más cortas que 3 megabases, la célula somática tiene una región de al menos 10 megabases con un número de copias de 1:1 delimitada en un lado por una transición de punto de rotura a una región de, p. ej., al menos 10 megabases con un número de copias de 2:2, y delimitada en el otro lado por una transición de punto de rotura a una región de, p. ej., al menos 10 megabases con un número de copias de 1:2, entonces esto es dos LST. Ha de tenerse en cuenta que esto es más amplio que el desequilibrio alélico porque dicho cambio en el número de copias no se consideraría desequilibrio alélico (ya que las proporciones de copias 1:1 y 2:2 son las mismas, es decir, no ha habido cambios en la proporción de copias). La LST y su uso en la determinación de la HRD se describe en detalle en la solicitud de patente de EE. UU. n.º de serie 14/402.254 (publicada como US20150140122A1).

Pueden utilizarse diferentes puntos de corte para la puntuación de LST para tumores "casi diploides" y "casi tetraploides" para separar muestras inalteradas y deficientes de BRCA1/2. La puntuación de LST a veces aumenta con la ploidía tanto en muestras inalteradas como deficientes. Como alternativa al uso de puntos de corte específicos de ploidía, algunas realizaciones pueden emplear una puntuación de LST modificada ajustándola por ploidía: $LST_m = LST - kP$, donde P es ploidía y k es una constante. Basado en un análisis de regresión logística multivariante con deficiencia como un resultado y LST y P como variables independientes, $k = 15,5$ proporcionó la mejor separación entre muestras inalteradas y deficientes (aunque un experto en la materia puede contemplar otros valores de k).

Las aberraciones cromosómicas pueden extenderse a través de numerosos locus para definir una región de

aberración cromosómica, denominada en el presente "región de AC". Dichas regiones de AC pueden tener cualquier longitud (p. ej., desde una longitud inferior a aproximadamente 1,5 Mb hasta una longitud igual a toda la longitud del cromosoma). Una abundancia de regiones de AC grandes ("regiones de AC indicadoras") indica una deficiencia en el mecanismo de reparación dependiente de homología (HDR) de una célula. La definición de una región de AC y, por tanto, lo que constituye una región "indicadora", para cada tipo de AC (p. ej., LOH, TAI, LST) depende del carácter particular de la AC. Por ejemplo, una "región de LOH" significa al menos algún número mínimo de locus consecutivos que presenten una LOH o algún tramo mínimo de ADN genómico que tenga locus consecutivos que presenten una LOH. Por otra parte, una "región de TAI", significa al menos algún número mínimo de locus consecutivos que presenten desequilibrio alélico que se extienda desde el telómero hacia el resto del cromosoma (o algún tramo mínimo de ADN genómico que se extienda desde el telómero hacia el resto del cromosoma que tenga locus consecutivos que presenten desequilibrio alélico). La LST ya se define en cuanto a una región de ADN genómico de al menos algún un tamaño mínimo, por tanto, en el presente documento, "LST" y "región de LST" se utilizan indistintamente para referirse a un número mínimo de locus consecutivos (o algún tramo mínimo de ADN genómico) que tenga el mismo número de copias delimitado por un punto de rotura o transición de ese número de copias a uno diferente.

En algunas realizaciones, una región de AC (ya sea una región de LOH, una región de TAI o una región de LST) es una región de AC indicadora (ya sea una región de LOH indicadora, una región de TAI indicadora o una región de LST indicadora) si tiene una longitud de al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 megabases o mayor. En algunas realizaciones, las regiones de LOH indicadoras son regiones de LOH que son más largas que aproximadamente 1,5, 5, 12, 13, 14, 15, 16, 17 o más (preferentemente 14, 15, 16 o más, más preferentemente 15 o más) megabases pero más cortas que toda la longitud del cromosoma respectivo dentro del cual se encuentra la región de LOH. Como alternativa o adicionalmente, la longitud total combinada de dichas regiones de LOH indicadoras puede determinarse. En algunas realizaciones, las regiones de TAI indicadoras son regiones de TAI con desequilibrio alélico que (a) se extienden a uno de los subtelómeros, (b) no atraviesan el centrómero y (c) son más largas que 1,5, 5, 12, 13, 14, 15, 16, 17 o más (preferentemente 10, 11, 12 o más, más preferentemente 11 o más) megabases. Como alternativa o adicionalmente, la longitud total combinada de dichas regiones de TAI indicadoras puede determinarse. Dado que el concepto de LST ya implica regiones de algún tamaño mínimo (determinándose dicho tamaño mínimo basándose en su capacidad para diferenciar HRD de muestras inalteradas de HDR), las regiones de LST indicadoras, como las que se utilizan en el presente documento, son las mismas que las regiones de LST. Además, una puntuación de la región de LST puede derivarse del número de regiones que muestran LST como se describe anteriormente o del número de puntos de rotura de LST. En algunas realizaciones, la longitud mínima de la región del número de copias estables que limita el punto de rotura de LST es de al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 megabases (preferentemente de 8, 9, 10, 11 o más megabases, más preferentemente de 10 megabases) y la región máxima que queda sin filtrar es inferior a 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4 o menos megabases (preferentemente 2, 2,5, 3, 3,5 o 4 o menos megabases, más preferentemente menos de 3 megabases).

Como se usa en el presente documento, una muestra tiene una "firma de HRD" si dicha muestra tiene un número de regiones de AC indicadoras (como se describe en el presente documento) o una puntuación de región de AC (como se describe en el presente documento) que supera una referencia como se describe en el presente documento, en donde un número o puntuación que supere dicha referencia indica una deficiencia de recombinación homóloga.

Por tanto, la divulgación implica generalmente la detección y cuantificación de regiones de AC indicadoras en una muestra para determinar si las células de la muestra (o las células de las que deriva el ADN de la muestra) tienen una firma de HRD. A menudo, esto comprende comparar el número de regiones de AC indicadoras (o un valor o puntuación de prueba derivado o calculado a partir del mismo y correspondiente a dicho número) con un número (o puntuación) de referencia o inicial.

Los diversos aspectos del presente método desvelado, comprenden el uso de un análisis combinado de dos o más tipos de regiones de AC (incluidos dos o más tipos de regiones de AC indicadoras) para evaluar (p. ej., detectar, diagnosticar) HRD en una muestra. Por tanto, en un aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar en la muestra el número total (o la longitud combinada) de regiones de LOH indicadoras; (2) determinar en la muestra el número total (o la longitud combinada) de regiones de TAI indicadoras; y (3) determinar en la muestra la presencia o ausencia (p. ej., detectar, diagnosticar) de HRD basándose, al menos en parte, en las determinaciones realizadas en (1) y (2). En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar en la muestra el número total (o la longitud combinada) de regiones de LOH indicadoras; (2) determinar en la muestra el número total (o la longitud combinada) de regiones de LST indicadoras; y (3) determinar en la muestra la presencia o ausencia (p. ej., detectar, diagnosticar) de HRD basándose, al menos en parte, en las determinaciones realizadas en (1) y (2). En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar en la muestra el número total (o la longitud combinada) de regiones de TAI indicadoras; (2) determinar en la muestra el número total (o la longitud combinada) de regiones de LST indicadoras; y (3) determinar

en la muestra la presencia o ausencia (p. ej., detectar, diagnosticar) de HRD basándose, al menos en parte, en las determinaciones realizadas en (1) y (2). En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar en la muestra el número total (o la longitud combinada) de regiones de LOH indicadoras; (2) determinar en la muestra el número total de regiones de TAI indicadoras; (3) determinar en la muestra el número total (o la longitud combinada) de regiones de LST indicadoras; y (4) determinar en la muestra la presencia o ausencia (p. ej., detectar, diagnosticar) de HRD basándose, al menos en parte, en las determinaciones realizadas en (1), (2) y (3).

Los diversos aspectos de la presente divulgación comprenden el uso de un análisis combinado de los promedios de tres regiones de AC diferentes para evaluar (p. ej., detectar, diagnosticar) HRD en una muestra. Por tanto, en un aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar en la muestra el número total de regiones de LOH de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LOH indicadoras", como se define en el presente documento); (2) determinar en la muestra el número total de regiones de TAI de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de TAI indicadoras", como se define en el presente documento); (3) determinar en la muestra el número total de regiones de LST de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LST indicadoras", como se define en el presente documento); (4) calcular el promedio (p. ej., media aritmética) de las determinaciones realizadas en (1), (2) y (3); y (5) evaluar la HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en el promedio calculado (p. ej., media aritmética) realizado en (4).

Como se usa en el presente documento, "puntuación de la región de AC" significa un valor o una puntuación de prueba derivado o calculado a partir de (p. ej., representando o correspondiendo a) regiones de AC indicadoras detectadas en una muestra (p. ej., una puntuación o valor de prueba derivado o calculado a partir del número de regiones de AC indicadoras detectadas en una muestra). Análogamente, como se usa en el presente documento, la "puntuación de la región de LOH" es un subconjunto de puntuaciones de región de AC y significa un valor o puntuación de prueba derivado o calculado a partir de (p. ej., representando o correspondiendo a) regiones de LOH indicadoras detectadas en una muestra (p. ej., una puntuación o valor de prueba derivado o calculado a partir del número de regiones de LOH indicadoras detectadas en una muestra), y así sucesivamente para la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST. En algunas realizaciones, dicha puntuación puede ser simplemente el número de regiones de AC indicadoras detectadas en una muestra. En algunas realizaciones, la puntuación es más complicada, teniendo en cuenta las longitudes de cada región de AC indicadora o un subconjunto de regiones de AC indicadoras detectadas.

Como se ha explicado anteriormente, el método desvelado generalmente implicará combinar el análisis de dos o más tipos de puntuaciones de la región de AC (que pueden incluir el número de dichas regiones). Por tanto, en un aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar una puntuación de región de LOH para la muestra; (2) determinar una puntuación de región de TAI para la muestra; y (3)(a) detectar (o diagnosticar) HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en que la puntuación de la región de LOH supere una referencia o en que la puntuación de la región de TAI supere una referencia; u opcionalmente (3)(b) detectar (o diagnosticar) una ausencia de HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en que tanto la puntuación de la región de LOH no supere una referencia como en que la puntuación de la región de TAI no supere una referencia. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar una puntuación de región de LOH para la muestra; (2) determinar una puntuación de región de LST para la muestra; y (3)(a) detectar (o diagnosticar) HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en que la puntuación de la región de LOH supere una referencia o en que la puntuación de la región de LST supere una referencia; u opcionalmente (3)(b) detectar (o diagnosticar) una ausencia de HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en que tanto la puntuación de la región de LOH no supere una referencia como en que la puntuación de la región de LST no supere una referencia. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar una puntuación de región de LOH para la muestra; (2) determinar una puntuación de región de TAI para la muestra; y (3)(a) detectar (o diagnosticar) HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en que la puntuación de la región de TAI supere una referencia o en que la puntuación de la región de LST supere una referencia; u opcionalmente (3)(b) detectar (o diagnosticar) una ausencia de HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en que tanto la puntuación de la región de TAI no supere una referencia como en que la puntuación de la región de LST no supere una referencia. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar una puntuación de región de LOH para la muestra; (2) determinar una puntuación de región de LST para la muestra; y (4)(a) detectar (o diagnosticar) HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en que la puntuación de la región de LOH supere una referencia, la puntuación de la región de TAI supere una referencia o la puntuación de la región de LST supere una referencia; u opcionalmente (4)(b) detectar (o diagnosticar) una ausencia de HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en que la puntuación de la región de LOH no supere una referencia, la puntuación de la región de TAI no supere una referencia y la puntuación de la región de LST no supere una referencia.

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de AC es una combinación de puntuaciones derivadas o calculadas a partir de (p. ej., representando o correspondiendo a) dos o más de (1) las regiones de LOH detectadas

("puntuación de la región de LOH", como se define en el presente documento), (2) las regiones de TAI detectadas ("puntuación de la región de TAI", como se define en el presente documento) y/o (3) las regiones de LST detectadas ("puntuación de la región de LST", como se define en el presente documento). En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LOH y la puntuación de la región de TAI se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = A * (\text{puntuación de la región de LOH}) + B * (\text{puntuación de la región de TAI})$$

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LOH y la puntuación de la región de TAI se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = 0,32 * (\text{puntuación de la región de LOH}) + 0,68 * (\text{puntuación de la región de TAI})$$

O

$$\text{Puntuación de la región de AC} = 0,34 * (\text{puntuación de la región de LOH}) + 0,66 * (\text{puntuación de la región de TAI})$$

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LOH y la puntuación de la región de LST se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = A * (\text{puntuación de la región de LOH}) + B * (\text{puntuación de la región de LST})$$

En algunas realizaciones, una puntuación de la región de LOH de una muestra y una puntuación de la región de LST de una muestra, se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = 0,85 * (\text{puntuación de la región de LOH}) + 0,15 * (\text{puntuación de la región de LST})$$

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = A * (\text{puntuación de la región de TAI}) + B * (\text{puntuación de la región de LST})$$

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de CA} = A * (\text{puntuación de la región de LOH}) + B * (\text{puntuación de la región de TAI}) + C * (\text{puntuación de la región de LST})$$

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST se combinan de la siguiente manera para dar una puntuación de la región de AC:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = 0,21 * (\text{puntuación de la región de LOH}) + 0,67 * (\text{puntuación de la región de TAI}) + 0,12 * (\text{puntuación de la región de LST})$$

O

$$\text{Puntuación de la región de AC} = [0,24] * (\text{puntuación de la región de LOH}) + [0,65] * (\text{puntuación de la región de TAI}) + [0,11] * (\text{puntuación de la región de LST})$$

O

$$\text{Puntuación de la región de AC} = [0,11] * (\text{puntuación de la región de LOH}) + [0,25] * (\text{puntuación de la región de TAI}) + [0,12] * (\text{puntuación de la región de LST})$$

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de AC es una combinación de puntuaciones derivadas o calculadas a partir de (p. ej., representando o correspondiendo a) el promedio (p. ej., media aritmética) de (1) las regiones de LOH detectadas ("puntuación de la región de LOH", como se define en el presente documento), (2) las regiones de TAI detectadas ("puntuación de la región de TAI", como se define en el presente documento) y/o (3) las regiones de LST detectadas ("puntuación de la región de LST", como se define en el presente documento) para dar una puntuación de la región de AC calculada a partir de una de las siguientes fórmulas:

$$\text{Puntuación de la región de AC} = \frac{A * (\text{puntuación de región de LOH}) + B * (\text{puntuación de la región de TAI}) + C * (\text{puntuación de la región de LST})}{3}$$

ES 2 946 251 T3

$$\text{Puntuación de la región de AC} = \frac{A*(\text{puntuación de la región de LOH}) + B*(\text{puntuación de la región de TAI})}{2}$$

$$\text{Puntuación de la región de AC} = \frac{A*(\text{puntuación de región de LOH}) + C*(\text{puntuación de la región de LST})}{2}$$

$$\text{Puntuación de la región de AC} = \frac{B*(\text{puntuación de la región de TAI}) + C*(\text{puntuación de la región de LST})}{2}$$

En algunas realizaciones, incluyendo algunas específicamente ilustradas en el presente documento, uno o más de estos coeficientes (es decir, A, B o C, o cualquier combinación de los mismos) es 1 y en algunas realizaciones los tres coeficientes (es decir, A, B y C) son 1. Por tanto, en algunas realizaciones, la *puntuación de la región de AC* = (*puntuación de las regiones de LOH*) + (*puntuación de la región de TAI*) + (*puntuación de la región de LST*), en donde la puntuación de la región de LOH es el número de regiones de LOH indicadoras (o la longitud total de LOH), la puntuación de la región de TAI es el número de regiones de TAI indicadoras (o la longitud total de TAI) y la puntuación de la región de LST es el número de regiones de LST indicadoras (o la longitud total de LST).

En algunos casos, es posible que una fórmula no tenga todos los coeficientes especificados (y, por tanto, no incorpore la(s) variable(s) correspondiente(s)). Por ejemplo, la realización que acaba de mencionarse anteriormente puede aplicarse a la fórmula (2) donde A en la fórmula (2) es 0,95 y B en la fórmula (2) es 0,61. C y D no serían aplicables ya que estos coeficientes y sus correspondientes variables no se encuentran en la fórmula (2) (aunque las variables clínicas se incorporan en la puntuación clínica que se encuentra en la fórmula (2)). En algunas realizaciones, A está entre 0,9 y 1, 0,9 y 0,99, 0,9 y 0,95, 0,85 y 0,95, 0,86 y 0,94, 0,87 y 0,93, 0,88 y 0,92, 0,89 y 0,91, 0,85 y 0,9, 0,8 y 0,95, 0,8 y 0,9, 0,8 y 0,85, 0,75 y 0,99, 0,75 y 0,95, 0,75 y 0,9, 0,75 y 0,85, o entre 0,75 y 0,8. En algunas realizaciones B está entre 0,40 y 1, 0,45 y 0,99, 0,45 y 0,95, 0,55 y 0,8, 0,55 y 0,7, 0,55 y 0,65, 0,59 y 0,63, o entre 0,6 y 0,62. En algunas realizaciones C está, cuando sea aplicable, entre 0,9 y 1, 0,9 y 0,99, 0,9 y 0,95, 0,85 y 0,95, 0,86 y 0,94, 0,87 y 0,93, 0,88 y 0,92, 0,89 y 0,91, 0,85 y 0,9, 0,8 y 0,95, 0,8 y 0,9, 0,8 y 0,85, 0,75 y 0,99, 0,75 y 0,95, 0,75 y 0,9, 0,75 y 0,85, o entre 0,75 y 0,8. En algunas realizaciones D está, cuando sea aplicable, entre 0,9 y 1, 0,9 y 0,99, 0,9 y 0,95, 0,85 y 0,95, 0,86 y 0,94, 0,87 y 0,93, 0,88 y 0,92, 0,89 y 0,91, 0,85 y 0,9, 0,8 y 0,95, 0,8 y 0,9, 0,8 y 0,85, 0,75 y 0,99, 0,75 y 0,95, 0,75 y 0,9, 0,75 y 0,85, o entre 0,75 y 0,8.

En algunas realizaciones, A está entre 0,1 y 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,2 y 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,3 y 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,4 y 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,5 y 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,6 y 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,7 y 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,8 y 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,9 y 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 1 y 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 1,5 y 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 2 y 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 2,5 y 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 3 y 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 3,5 y 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 4 y 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 4,5 y 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 5 y 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 6 y 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 7 y 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 8 y 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 9 y 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 10 y 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 11 y 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 12 y 13, 14, 15 o 20; o entre 13 y 14, 15 o 20; o entre 14 y 15, o 20; o entre 15 y 20; B está entre 0,1 y 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,2 y 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,3 y 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,4 y 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,5 y 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,6 y 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,7 y 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,8 y 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,9 y 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 1 y 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 1,5 y 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 2 y 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 2,5 y 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 3 y 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 3,5 y 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 4 y 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 4,5 y 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 5 y 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 6 y 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 7 y 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 8 y 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 9 y 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 10 y 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 11 y 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 12 y 13, 14, 15 o 20; o entre 13 y 14, 15 o 20; o entre 14 y 15, o 20; o entre 15 y 20; C está, cuando sea aplicable, entre 0,1 y 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,2 y 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,3 y 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre

0,4 y 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,5 y 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, o 20; o entre 0,6 y 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,7 y 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,8 y 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,9 y 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 1 y 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 1,5 y 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 2 y 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 2,5 y 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 3 y 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 3,5 y 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 4 y 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 4,5 y 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 5 y 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 6 y 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 7 y 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 8 y 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 9 y 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 10 y 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 11 y 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 12 y 13, 14, 15 o 20; o entre 13 y 14, 15 o 20; o entre 14 y 15, o 20; o entre 15 y 20; y D está, cuando sea aplicable, entre 0,1 y 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,2 y 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,3 y 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,4 y 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,5 y 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, o 20; o entre 0,6 y 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,7 y 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 0,8 y 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 1 y 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 1,5 y 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 2 y 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 2,5 y 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 3 y 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 3,5 y 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 4 y 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 4,5 y 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 5 y 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 6 y 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 7 y 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 8 y 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 9 y 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 10 y 11, 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 11 y 12, 13, 14, 15 o 20; o entre 12 y 13, 14, 15 o 20; o entre 13 y 14, 15 o 20; o entre 14 y 15, o 20; o entre 15 y 20. En algunas realizaciones, A, B y/o C están dentro del redondeo de cualquiera de estos valores (p. ej., A está entre 0,45 y 0,54, etc.).

Por tanto, en un aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar una puntuación de región de LOH para la muestra; (2) determinar una puntuación de región de TAI para la muestra; y (3)(a) detectar (o diagnosticar) HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en una combinación de la puntuación de la región de LOH y la puntuación de la región de TAI (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada) que supere una referencia; u opcionalmente (3)(b) detectar (o diagnosticar) en la muestra una ausencia de HRD basándose, al menos en parte, en una combinación de la puntuación de la región de LOH y la puntuación de la región de TAI (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada) que no supere una referencia. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar una puntuación de región de LOH para la muestra; (2) determinar una puntuación de región de LST para la muestra; y (3)(a) detectar (o diagnosticar) HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en una combinación de la puntuación de la región de LOH y la puntuación de la región de LST (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada) que supere una referencia; u opcionalmente (3)(b) detectar (o diagnosticar) en la muestra una ausencia de HRD basándose, al menos en parte, en una combinación de la puntuación de la región de LOH y la puntuación de la región de LST (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada) que no supere una referencia. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar una puntuación de región de TAI para la muestra; (2) determinar una puntuación de región de LST para la muestra; y (3)(a) detectar (o diagnosticar) HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en una combinación de la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada) que supere una referencia; u opcionalmente (3)(b) detectar (o diagnosticar) en la muestra una ausencia de HRD basándose, al menos en parte, en una combinación de la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada) que no supere una referencia. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar una puntuación de región de LOH para la muestra; (2) determinar una puntuación de región de TAI para la muestra; (3) determinar una puntuación de región de LST para la muestra; y (4)(a) detectar (o diagnosticar) HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en una combinación de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada) que supere una referencia; u opcionalmente (4)(b) detectar (o diagnosticar) una ausencia de HRD en la muestra basada al menos en parte en el puntuación de la región LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada) que no supere una referencia.

Por tanto, otro aspecto de la divulgación proporciona un método de evaluación (p. ej., de detección, diagnóstico) de HRD en una muestra, que comprende (1) determinar en la muestra el número total de regiones de LOH de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LOH indicadoras", como se define en el presente documento);

(2) determinar en la muestra el número total de regiones de TAI de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de TAI indicadoras", como se define en el presente documento); (3) determinar en la muestra el número total de regiones de LST de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LST indicadoras", como se define en el presente documento); (4) calcular el promedio (p. ej., media aritmética) de las determinaciones realizadas en (1), (2) y (3); y (5) evaluar la HRD en la muestra basándose, al menos en parte, en el promedio calculado (p. ej., media aritmética) realizado en (4).

En algunas realizaciones, el valor de referencia (o inicial) indicado anteriormente para la puntuación de la región de AC (p. ej., el número de regiones de AC indicadoras) puede ser de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20 o mayor, preferentemente 5, preferentemente 8, más preferentemente 9 o 10, lo más preferentemente 10. La referencia para la longitud total (p. ej., combinada) de las regiones de AC indicadoras puede ser de aproximadamente 75, 90, 105, 120, 130, 135, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 megabases o mayor, preferentemente de aproximadamente 75 megabases o mayor, preferentemente de aproximadamente 90 o 105 megabases o mayor, más preferentemente de aproximadamente 120 o 130 megabases o mayor, y más preferentemente de aproximadamente 135 megabases o mayor, y lo más preferentemente de aproximadamente 150 megabases o mayor. En algunas realizaciones, la referencia indicada anteriormente para la puntuación de la región de AC combinada (p. ej., el número combinado de regiones de LOH indicadoras, regiones de TAI indicadoras y/o regiones de LST indicadoras) puede ser de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50 o mayor, preferentemente 5, preferentemente 10, preferentemente 15, preferentemente 20, preferentemente 25, preferentemente 30, preferentemente 35, preferentemente 40-44, lo más preferentemente ≥ 42 . La referencia para la longitud total (p. ej., combinada) de las regiones de LOH indicadoras, regiones de TAI indicadoras y/o regiones de LST indicadoras, pueden ser de aproximadamente 75, 90, 105, 120, 130, 135, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 megabases o mayor, preferentemente de aproximadamente 75 megabases o mayor, preferentemente de aproximadamente 90 o 105 megabases o mayor, más preferentemente de aproximadamente 120 o 130 megabases o mayor, y más preferentemente de aproximadamente 135 megabases o mayor, y lo más preferentemente de aproximadamente 150 megabases o mayor.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona un método para detectar una firma de HRD en una muestra. Por tanto, otro aspecto de la divulgación proporciona un método para detectar una firma de HRD en una muestra que comprende (1) determinar en la muestra el número total de regiones de LOH de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LOH indicadoras", como se define en el presente documento); (2) determinar en la muestra el número total de regiones de TAI de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de TAI indicadoras", como se define en el presente documento); (3) determinar en la muestra el número total de regiones de LST de un determinado tamaño o carácter (p. ej., "regiones de LST indicadoras", como se define en el presente documento); (4) combinar las determinaciones realizadas en (1), (2) y (3) (p. ej., calcular o derivar una puntuación de la región de AC combinada); y (5) caracterizar una muestra en la que la puntuación de la región de AC combinada sea mayor que un valor de referencia que tenga una firma de HRD. En algunas realizaciones, el valor de referencia es 42. Por tanto, en algunas realizaciones, una muestra se caracteriza por tener una firma de HRD cuando el valor de referencia es 42. En algunas realizaciones, la referencia indicada anteriormente para la puntuación de la región de AC combinada (p. ej., el número combinado de regiones de LOH indicadoras, regiones de TAI indicadoras y/o regiones de LST indicadoras) puede ser de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50 o mayor, preferentemente 5, preferentemente 10, preferentemente 15, preferentemente 20, preferentemente 25, preferentemente 30, preferentemente 35, preferentemente 40-44, lo más preferentemente ≥ 42 .

En algunas realizaciones, el número de regiones de AC indicadoras (o la longitud combinada, una puntuación de la región de AC o una puntuación de la región de AC combinada) en una muestra, se considera que "es mayor" que una referencia si es al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces mayor que la referencia, mientras que en algunas realizaciones, se considera que "es mayor" si es al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 desviaciones estándar mayor que la referencia. En cambio, en algunas realizaciones, el número de regiones de AC indicadoras (o la longitud combinada, una puntuación de la región de AC o una puntuación de la región de AC combinada) en una muestra, se considera que "no es mayor" que una referencia si no es más de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces mayor que la referencia, mientras que en algunas realizaciones, se considera que "no es mayor" si no es más de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 desviaciones estándar mayor que la referencia.

En algunas realizaciones, el número de referencia (o longitud, valor o puntuación) se deriva de una población de referencia relevante. Dichas poblaciones de referencia pueden incluir pacientes (a) con el mismo cáncer que el paciente que se está examinando, (b) con el mismo subtipo de cáncer, (c) con un cáncer que tenga características genéticas u otras características clínicas o moleculares similares, (d) que respondieron a un tratamiento en particular, (e) que no respondieron a un tratamiento en particular, (f) que son aparentemente sanos (p. ej., que no tienen ningún cáncer o al menos no tienen el cáncer del paciente examinado), etc. El número de referencia (o longitud, valor o puntuación) puede ser (a) representativo del número (o longitud, valor o puntuación) encontrado en la población de referencia en su conjunto, (b) un promedio (media, mediana, etc.) del número (o longitud, valor o puntuación) encontrado en la población de referencia en su conjunto o en una subpoblación particular, (c) representativo del número (o longitud, valor o puntuación) (p. ej., un promedio tal como media o mediana)

5 encontrado en terciles, cuartiles, quintiles, etc. de la población de referencia clasificada por (i) su respectivo número (o longitud, valor o puntuación) o (ii) la característica clínica que se encontró que tenía (p. ej., fuerza de respuesta, pronóstico (incluido el tiempo hasta la muerte específica por cáncer), etc.), o (d) seleccionado por tener una alta sensibilidad para detectar HRD para predecir la respuesta a una terapia particular (p. ej., platino, inhibidor de PARP, etc.).

10 En algunas realizaciones, si el valor de referencia o inicial es superado por el valor o puntuación de prueba de la muestra, se indica que la HRD es la misma que el valor de referencia que, si no es superado por el valor o puntuación de prueba de la muestra, indica la ausencia de HRD (o de HDR funcional). En algunas realizaciones son diferentes.

15 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método de predicción del estado de los genes BRCA1 y BRCA2 en una muestra. Dicho método es análogo a los métodos descritos anteriormente y se diferencia en que la determinación de las regiones de AC, regiones de LOH, regiones de TAI, regiones de LST, o las puntuaciones que las incorporen, se utilizan para evaluar (p. ej., detectar) una deficiencia de BRCA1 y/o BRCA2 en la muestra.

20 En otro aspecto, esta divulgación proporciona un método de predicción de la respuesta de un paciente con cáncer a un régimen de tratamiento contra el cáncer, que comprende, un agente que daña el ADN, una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa I, radiación y/o un inhibidor de PARP. Dicho método es análogo a los métodos descritos anteriormente y se diferencia en que la determinación de las regiones de AC, regiones de LOH, regiones de TAI, regiones de LST, o las puntuaciones que las incorporen, incluyendo puntuaciones altas de HRD (p. ej., una firma de HRD o una puntuación de la región de AC combinada alta), se utilizan para predecir la probabilidad de que el paciente con cáncer responda al régimen de tratamiento contra el cáncer.

25 En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo. Para evitar dudas, los métodos de tratamiento no están incluidos en la invención reivindicada. En otro aspecto, esta descripción proporciona un método de tratamiento del cáncer. Dicho método es análogo a los métodos descritos anteriormente y difiere en que se administra un régimen de tratamiento particular (recomendado, prescrito, etc.) basado, al menos en parte, en la determinación de regiones de AC, regiones de LOH, regiones de TAI, regiones de LST, o las puntuaciones que las incorporen.

30 En otro aspecto, esta divulgación presenta el uso de uno o más fármacos seleccionados del grupo que consiste en agentes que dañan el ADN, antraciclinas, inhibidores de topoisomerasa I e inhibidores de PARP, en la fabricación de un medicamento útil para el tratamiento de un cáncer en un paciente que se ha identificado que tiene (o ha tenido) una célula cancerosa que se ha determinado que tiene altos niveles de HRD (p. ej., una firma de HRD) como se describe en el presente documento.

35 En otro aspecto, este documento presenta un método para evaluar en una muestra la presencia de una mutación en un gen de una vía de HDR. Dicho método es análogo a los métodos descritos anteriormente y se diferencia en que la determinación de las regiones de AC, regiones de LOH, regiones de TAI, regiones de LST, o las puntuaciones que las incorporen, se utilizan para detectar (o no) la presencia de una mutación en un gen de una vía de HDR.

40 En otro aspecto, este documento presenta un método para evaluar la presencia de una firma de HRD en las células cancerosas de un paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) detectar la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer, y (b) identificar que el paciente tiene células cancerosas con la firma de HRD. En otro aspecto, este documento presenta un método para evaluar la presencia de un estado deficiente de HDR en las células cancerosas de un paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) detectar la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer, y (b) identificar que el paciente tiene células cancerosas con el estado deficiente de HDR. En otro aspecto, este documento presenta un método para evaluar células cancerosas de un paciente que tengan una firma de HRD. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) detectar la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer, y (b) identificar que el paciente tiene células cancerosas con una firma de HRD. En otro aspecto, este documento presenta un método para evaluar la presencia de una mutación génica en las células cancerosas de un paciente en un gen de una vía HDR. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) detectar la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer, y (b) identificar que el paciente tiene células cancerosas con la mutación genética.

45 En otro aspecto, este documento presenta un método para determinar si es probable que un paciente responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer, que comprende la administración de radiación o de un fármaco seleccionado del grupo que consiste en agentes que dañan el ADN, antraciclinas, inhibidores de topoisomerasa I e inhibidores de PARP. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) detectar la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una

célula cancerosa del paciente con cáncer, y (b) identificar que es probable que el paciente responda al régimen de tratamiento contra el cáncer. En otro aspecto, este documento presenta un método para evaluar a un paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar que el paciente comprende células cancerosas que tienen una firma de HRD, en donde la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC
5 indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer indica que las células cancerosas tienen la firma de HRD, y (b) diagnosticar que el paciente tiene células cancerosas con la firma de HRD. En otro aspecto, este documento presenta un método para evaluar a un paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar que el paciente comprende células cancerosas que tienen un estado de deficiencia de HDR, en donde la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC
10 indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer indica que las células cancerosas tienen el estado de deficiencia de HDR, y (b) diagnosticar que el paciente tiene células cancerosas con el estado deficiente de HDR. En otro aspecto, este documento presenta un método para evaluar a un paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar que el paciente comprende células cancerosas que tienen un estado deficiente de HDR, en donde la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer indica que las células cancerosas tienen una HDR alta, y (b) diagnosticar que el paciente tiene células cancerosas con un estado deficiente de HDR. En otro aspecto, este documento presenta un método para evaluar a un paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar que el paciente comprende células cancerosas que tienen una mutación genética en un gen de una vía HDR, en donde la presencia
20 de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer indica que las células cancerosas tienen la mutación genética, y (b) diagnosticar que el paciente tiene células cancerosas con la mutación genética. En otro aspecto, este documento presenta un método para evaluar la probabilidad de que un paciente responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer, que comprende la administración de radiación o de un fármaco seleccionado del grupo que consiste en agentes que dañan el ADN, antraciclinas, inhibidores de topoisomerasa I e inhibidores de PARP. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar que el paciente comprende células cancerosas que tienen una firma de HRD, en donde la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer indica que las células cancerosas tienen la firma de HRD, y (b) diagnosticar, basándose al menos en parte en la presencia de la firma de HRD, que es probable que el paciente responda al régimen de tratamiento contra el cáncer. En otro aspecto, este documento presenta un método para evaluar la probabilidad de que un paciente responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer, que comprende la administración de radiación o de un fármaco seleccionado del grupo que consiste en agentes que dañan el ADN, antraciclinas, inhibidores de topoisomerasa I e inhibidores de PARP. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar que el paciente comprende células cancerosas que tienen una firma de HRD, en donde la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer indica que las células cancerosas tienen una firma de HRD, y (b) diagnosticar, basándose al menos en parte en la presencia de la firma de HRD, que es probable que el paciente responda al régimen de tratamiento contra el cáncer.

40 En otro aspecto, este documento presenta un método para realizar un análisis de diagnóstico de una célula cancerosa de un paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) detectar la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de la célula cancerosa, y (b) identificar o clasificar al paciente como que tiene células cancerosas con una firma de HRD.

45 En otro aspecto, este documento presenta un método para realizar un análisis de diagnóstico de una célula cancerosa de un paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) detectar la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de la célula cancerosa, y (b) identificar o clasificar al paciente como que tiene células cancerosas con un estado deficiente de HDR. En otro aspecto, este documento presenta un método para realizar un análisis de diagnóstico de una célula cancerosa de un paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) detectar la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de la célula cancerosa, y (b) identificar o clasificar al paciente como que tiene células cancerosas con un estado deficiente de HDR. En otro aspecto, este documento presenta un método para realizar un análisis de diagnóstico de una célula cancerosa de un paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) detectar la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de la célula cancerosa que sean más largas, y (b) identificar o clasificar al paciente como que tiene células cancerosas con una mutación genética en un gen de una vía de HDR. En otro aspecto, este documento presenta un método para realizar un análisis de diagnóstico de una célula cancerosa de un paciente para determinar si es probable que el paciente con cáncer responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer, que comprende la administración de radiación o de un fármaco seleccionado del grupo que consiste en agentes que dañan el ADN, antraciclinas, inhibidores de topoisomerasa I e inhibidores de PARP. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) detectar la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de la célula cancerosa, y (b) identificar o clasificar al paciente como que es probable que responda al régimen de tratamiento contra el cáncer.

65 En otro aspecto, este documento presenta un método para diagnosticar que un paciente tiene células cancerosas

que tienen una firma de HRD. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar que el paciente comprende células cancerosas que tienen la firma de HRD, en donde la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer indica que las células cancerosas tienen la firma de HRD, y (b) diagnosticar que el paciente tiene células cancerosas con la firma de HRD. En otro aspecto, este documento presenta un método para diagnosticar a un paciente como que tiene células cancerosas con un estado deficiente de HDR. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar que el paciente comprende células cancerosas que tienen el estado de deficiencia de HDR, en donde la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer indica que las células cancerosas tienen el estado de deficiencia de HDR, y (b) diagnosticar que el paciente tiene células cancerosas con el estado deficiente de HDR. En otro aspecto, este documento presenta un método para diagnosticar a un paciente como que tiene células cancerosas con un estado deficiente de HDR. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar que el paciente comprende células cancerosas que tienen el estado deficiente de HDR, en donde la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer indica que las células cancerosas tienen un estado deficiente de HDR, y (b) diagnosticar que el paciente tiene células cancerosas con el estado deficiente de HDR. En otro aspecto, este documento presenta un método para diagnosticar que un paciente tiene células cancerosas con una mutación genética en un gen de una vía de HDR. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar que el paciente comprende células cancerosas que tienen la mutación genética, en donde la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer indica que las células cancerosas tienen la mutación genética, y (b) diagnosticar que el paciente tiene células cancerosas con la mutación genética. En otro aspecto, este documento presenta un método para diagnosticar a un paciente como candidato para un régimen de tratamiento contra el cáncer, que comprende la administración de radiación o de un fármaco seleccionado del grupo que consiste en agentes que dañan el ADN, antraciclinas, inhibidores de topoisomerasa I e inhibidores de PARP. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar que el paciente comprende células cancerosas que tienen una firma de HRD, en donde la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer indica que las células cancerosas tienen la firma de HRD, y (b) diagnosticar, basándose al menos en parte en la presencia de la firma de HRD, que es probable que el paciente responda al régimen de tratamiento contra el cáncer. En otro aspecto, este documento presenta un método para diagnosticar a un paciente como candidato para un régimen de tratamiento contra el cáncer, que comprende la administración de radiación o de un fármaco seleccionado del grupo que consiste en agentes que dañan el ADN, antraciclinas, inhibidores de topoisomerasa I e inhibidores de PARP. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar que el paciente comprende células cancerosas que tienen una firma de HRD alta, en donde la presencia de más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa del paciente con cáncer indica que las células cancerosas tienen una firma de HRD, y (b) diagnosticar, basándose al menos en parte en la presencia de la firma de HRD, que es probable que el paciente responda al régimen de tratamiento contra el cáncer.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para evaluar a un paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar si el paciente tiene (o ha tenido) células cancerosas con más de un número de referencia de regiones de AC indicadoras (o, p. ej., una puntuación de la región de AC que supere una puntuación de la región de AC de referencia); y (b)(1) diagnosticar que el paciente tiene células cancerosas con HRD si se determina que el paciente tiene (o ha tenido) células cancerosas con más de un número de referencia de regiones de AC (o, p. ej., una puntuación de la región de AC que supere una puntuación de la región de AC de referencia); o (b)(2) diagnosticar que el paciente no tiene células cancerosas con HRD si se determina que el paciente no tiene (o no ha tenido) células cancerosas con más de un número de referencia de regiones de AC (o, p. ej., el paciente no tiene (o no ha tenido) células cancerosas con una puntuación de la región de AC que supere una puntuación de la región de AC de referencia).

En otro aspecto, esta divulgación presenta el uso de una pluralidad de oligonucleótidos capaces de hibridar con una pluralidad de regiones polimórficas de ADN genómico humano, en la fabricación de un kit de diagnóstico útil para determinar el número total o la longitud combinada de regiones de AC en al menos un par de cromosomas (o ADN derivado del mismo) en una muestra obtenida de un paciente con cáncer, y para detectar en la muestra (a) HRD, HRD alta o probabilidad de HRD (cada una, p. ej., una firma de HDR), (b) deficiencia (o probabilidad de deficiencia) en la muestra de un gen BRCA1 o BRCA2 o (c) una mayor probabilidad de que el paciente con cáncer responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer que comprende un agente que daña el ADN, una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa I, radiación o un inhibidor de PARP.

En otro aspecto, esta divulgación presenta un sistema para detectar HRD (p. ej., una firma de HRD) en una muestra. El sistema comprende, o consiste esencialmente en, (a) un analizador de muestras configurado para producir una pluralidad de señales sobre el ADN genómico de al menos un par de cromosomas humanos (o ADN derivado del mismo) en la muestra, y (b) un subsistema informático programado para calcular, basándose en la pluralidad de señales, el número o la longitud combinada de regiones de AC en al menos un par de cromosomas humanos. El subsistema informático puede programarse para comparar el número o la longitud combinada de las

regiones de AC con un número de referencia para detectar en la muestra (a) HRD, HRD alta o la probabilidad de HRD (cada una, p. ej., una firma de DRH), (b) deficiencia (o probabilidad de deficiencia) en la muestra de un gen BRCA1 o BRCA2 o (c) una mayor probabilidad de que el paciente con cáncer responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer que comprende un agente que daña el ADN, una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa I, radiación o un inhibidor de PARP. El sistema puede comprender un módulo de salida configurado para mostrar (a), (b) o (c). El sistema puede comprender un módulo de salida configurado para mostrar una recomendación con respecto al uso del régimen de tratamiento contra el cáncer.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un producto de programa informático incorporado en un medio legible por ordenador que, cuando se ejecuta en un ordenador, proporciona instrucciones para detectar la presencia o ausencia de cualquier región de AC a lo largo de uno o más cromosomas humanos distintos de los cromosomas sexuales X e Y humanos (siendo las regiones de AC opcionalmente regiones de AC indicadoras); y determinar el número total o la longitud combinada de las regiones de AC en el uno o más pares de cromosomas. El producto de programa informático puede incluir otras instrucciones.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un kit de diagnóstico. El kit comprende, o consiste esencialmente en, al menos 500 oligonucleótidos capaces de hibridar con una pluralidad de regiones polimórficas de ADN genómico humano (o ADN derivado del mismo); y un producto de programa informático proporcionado en el presente documento. El producto de programa informático puede incorporarse en un medio legible por ordenador que, cuando se ejecuta en un ordenador, proporciona instrucciones para detectar la presencia o ausencia de cualquier región de AC a lo largo de uno o más cromosomas humanos distintos de los cromosomas sexuales X e Y humanos (siendo las regiones de AC opcionalmente regiones de AC indicadoras); y determinar el número total o la longitud combinada de las regiones de AC en el uno o más pares de cromosomas. El producto de programa informático puede incluir otras instrucciones.

En algunas realizaciones de uno o más de los aspectos de la divulgación descrita en los párrafos anteriores, uno cualquiera o más de lo siguiente puede aplicarse según corresponda. Las regiones de AC pueden determinarse en al menos dos, cinco, diez o 21 pares de cromosomas humanos. La célula cancerosa puede ser una célula de cáncer de ovario, de mama, de pulmón o de esófago. La referencia puede ser 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 20 o mayor. El al menos un par de cromosomas humanos puede excluir el cromosoma 17 humano. El agente que daña el ADN puede ser cisplatino, carboplatino, oxaliplatino o picoplatino, la antraciclina puede ser epirrubincina o doxorubicina, el inhibidor de la topoisomerasa I puede ser campotecina, topotecán o irinotecán, o el inhibidor de PARP puede ser iniparib, olaparib o velaparib. El paciente puede ser un paciente sin tratamiento previo.

Como se describe en el presente documento, una muestra (p. ej., una muestra de células cancerosas o una muestra que contenga ADN derivado de una o más células cancerosas) puede identificarse como que tiene una "firma de HRD" (o alternativamente denominada "firma con deficiencia de HDR") si el genoma de las células que se están evaluando contiene (a) cualquiera de una puntuación de la región de LOH, una puntuación de la región de TAI o una puntuación de la región de LST que supere una referencia o (b) una puntuación combinada de la región de AC que supere una referencia. En cambio, una muestra (p. ej., una muestra de células cancerosas o una muestra que contenga ADN derivado de una o más células cancerosas) puede identificarse como carente de una "firma de HRD" (o alternativamente denominada "firma con deficiencia de HDR") si el genoma de las células que se están evaluando contiene (a) una puntuación de la región de LOH, una puntuación de la región de TAI y una puntuación de la región de LST, no superando cada una de ellas una referencia o (b) una puntuación de la región de AC combinada que no supere una referencia.

Las células (p. ej., células cancerosas) identificadas como que tienen una firma de HRD pueden clasificarse como que tienen mayor probabilidad de tener una deficiencia de HDR y/o mayor probabilidad de tener un estado deficiente en uno o más genes en la vía de HDR. Por ejemplo, las células cancerosas identificadas como que tienen una firma de HRD pueden clasificarse como que tienen mayor probabilidad de tener un estado deficiente de HDR. En algunos casos, las células cancerosas identificadas como que tienen firma de HRD pueden clasificarse como que tienen mayor probabilidad de tener un estado deficiente para uno o más genes en la vía de HDR. Como se usa en el presente documento, estado deficiente de un gen significa que la secuencia, estructura, expresión y/o actividad del gen o de su producto es/son deficiente(s) en comparación con lo normal. Como ejemplos se incluyen, pero sin limitación, baja o nula expresión de ARNm o proteína, mutaciones perjudiciales, hipermetilación, actividad (p. ej., actividad enzimática, capacidad de unirse a otra biomolécula) atenuada, etc. Como se usa en el presente documento, estado deficiente de una vía (p. ej., de una vía de HDR) significa que en esa vía al menos un gen (p. ej., BRCA1) es deficiente. Como ejemplos de mutaciones sumamente perjudiciales se incluyen mutaciones de desplazamiento del marco de lectura, mutaciones del codón de parada y mutaciones que conducen a un corte y empalme de ARN alterado. El estado deficiente en un gen de la vía de HDR puede dar como resultado una deficiencia o una actividad reducida en la reparación dirigida por homología en las células cancerosas. Como ejemplos de genes de la vía de HDR se incluyen, sin limitación, los genes enumerados en la tabla 1.

Tabla 1. Genes seleccionados de la vía de HDR

Nombre del gen	Símbolo Entrez del gen (si está asignado)	ID Entrez del gen	Nombre del gen	Símbolo Entrez del gen (si está asignado)	ID Entrez del gen
<i>BLM</i>	<i>BLM</i>	641	<i>RAD50</i>	<i>RAD50</i>	10111
<i>BRCA1</i>	<i>BRCA1</i>	672	<i>RAD51</i>	<i>RAD51</i>	5888
<i>BRCA2</i>	<i>BRCA2</i>	675	<i>RAD51AP1</i>	<i>RAD51AP1</i>	10635
<i>CtIP</i>	<i>RBBP8</i>	5932	<i>RAD518</i>	<i>RAD51L1</i>	5890
ADN polimerasa delta	<i>POLD1</i>	5424	<i>RAD51C</i>	<i>RAD51C</i>	5889
	<i>POLD2</i>	5424	<i>RAD51D</i>	<i>RAD51L3</i>	5892
	<i>POLD3</i>	10714	<i>RAD54</i>	<i>ATRX</i>	546
	<i>POLD4</i>	57804	<i>RAD548</i>	<i>RAD54B</i>	25788
ADN polimerasa delta	<i>POLH</i>	5429	<i>RM11</i>	<i>RM11</i>	80010
<i>DNA2</i>	<i>DNA2</i>	1763	<i>RM12</i>	<i>C16orf75</i>	116028
<i>EME1</i>	<i>EME1</i>	146956	<i>RPA</i>	<i>RPA1</i>	6117
<i>ERCC1</i>	<i>ERCC1</i>	2067	<i>RTEL1</i>	<i>RTEL1</i>	51750
<i>EXO1</i>	<i>EXO1</i>	9156	<i>SLX1</i>		
<i>FANCM</i>	<i>FANCM</i>	57697	<i>SLX2</i>		
<i>GEN1</i>	<i>GEN1</i>	348654	<i>SLX4</i>	<i>SLX4</i>	84464
<i>MRE11</i>	<i>MRE11A</i>	4361	<i>TOP2A</i>	<i>TOP2A</i>	7153
<i>MUS81</i>	<i>MUS81</i>	80198	<i>XPF</i>	<i>ERCC4</i>	2072
<i>NBS1</i>	<i>NBN</i>	4683	<i>XRCC2</i>	<i>XRCC2</i>	7516
<i>PALB2</i>	<i>PALB2</i>	79728	<i>XRCC3</i>	<i>XRCC3</i>	7517
<i>PCNA</i>	<i>PCNA</i>	5111			

Como se describe en el presente documento, la identificación de locus con AC (así como el tamaño y el número de regiones de AC) puede incluir, en primer lugar, determinar el genotipo de una muestra en varios locus genómicos (p. ej., locus de SNP, bases individuales en la secuenciación a gran escala) y, después, determinar si cada uno de los locus presenta cualquiera de LOH, TAI o LST. Para determinar genotipos en locus de interés dentro del genoma de una célula, puede utilizarse cualquier técnica apropiada. Por ejemplo, para identificar locus que sean homocigotos o heterocigotos pueden utilizarse matrices de polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) (p. ej., matrices de SNP de todo el genoma humano), secuenciación dirigida de locus de interés (p. ej., secuenciación de locus de SNP y sus secuencias circundantes) e incluso secuenciación a gran escala (p. ej., secuenciación de todo el exoma, el transcriptoma o el genoma). Normalmente, para determinar la longitud de las regiones de AC puede realizarse un análisis sobre la naturaleza homocigota o heterocigota de los locus a lo largo de un cromosoma. Por ejemplo, puede evaluarse un tramo de ubicaciones de SNP que estén separadas (p. ej., separadas aproximadamente entre 25 kb y 100 kb) a lo largo de un cromosoma utilizando los resultados de la matriz de SNP para determinar no solo la presencia de una región de homocigosidad (p. ej., LOH) a lo largo de un cromosoma, sino también la longitud de esa región. Los resultados de una matriz de SNP pueden utilizarse para generar un gráfico que represente las dosis alélicas a lo largo de un cromosoma. La dosis alélica d_i de SNP i puede calcularse a partir de intensidades de señal ajustadas de dos alelos (A_i y B_i): $d_i = A_i / (A_i + B_i)$. En las figuras 1 y 2 se presenta un ejemplo de dicho gráfico, que muestra la diferencia entre muestras recientes congeladas y FFPE y entre micromatrices de SNP y análisis de secuenciación de SNP. En la técnica se conocen numerosas variaciones de matrices de ácidos nucleicos útiles en la invención. Estas incluyen las matrices utilizadas más adelante en los diversos ejemplos (p. ej., la matriz Affymetrix 500K GeneChip del Ejemplo 3; los servicios Affymetrix OncoScan™ FFPE Express 2.0 (anteriormente Servicios MIP CN) del Ejemplo 4).

Una vez que se ha determinado el genotipo de una muestra con respecto a una pluralidad de locus (p. ej., los SNP), pueden utilizarse técnicas habituales para identificar los locus y las regiones de LOH, TAI y LST (incluidas las descritas en la solicitud internacional n.º PCT/US2011/040953 (publicada como WO/2011/160063); en la solicitud internacional n.º PCT/US2011/048427 (publicada como WO/2012/027224); en Popova *et al.*, Ploidy and large-scale genomic instability consistently identify basal-like breast carcinomas with BRCA1/2 inactivation, *CANCER RES.* (2012) 72:5454-5462). En algunas realizaciones la determinación del desequilibrio cromosómico o de las transiciones a gran escala incluye la determinación de si se trata de aberraciones somáticas o de la línea germinal. Una forma de determinarlo es comparar el genotipo somático con el de la línea germinal. Por ejemplo, el genotipo de una pluralidad de locus (p. ej., los SNP) puede determinarse tanto en una muestra de genotipo de la línea germinal (p. ej., sangre) como en una muestra de genotipo somático (p. ej., tumoral). Los genotipos de cada muestra pueden compararse (normalmente mediante técnicas informáticas) para determinar si el genoma de la

célula de la línea germinal era heterocigoto y el genoma de la célula somática es homocigoto. Dichos locus son locus de LOH y las regiones de dichos locus son regiones de LOH.

5 También pueden utilizarse técnicas informáticas para determinar si una aberración es de la línea germinal o somática. Dichas técnicas son particularmente útiles cuando no se dispone de una muestra de línea germinal para el análisis y la comparación. Por ejemplo, pueden utilizarse algoritmos como los descritos en cualquier otra parte para detectar regiones de LOH utilizando información de matrices de SNP (Nannya *et al.*, Cancer Res. (2005) 65:6071-6079 (2005)). Normalmente, estos algoritmos no tienen en cuenta explícitamente la contaminación de las muestras tumorales con tejido benigno. Véase la solicitud internacional n.º PCT/US2011/026098 (publicada como 10 WO 2011/106541) de Abkevich *et al.*; Goransson *et al.*, PLoS One (2009) 4(6):e6057. Esta contaminación suele ser lo suficientemente alta como para dificultar la detección de regiones de LOH. Como métodos analíticos mejorados según la presente divulgación para identificar LOH, TAI y LST, incluso a pesar de la contaminación, se incluyen los incorporados en productos de programas informáticos como los descritos más adelante.

15 Este es un ejemplo. Si la proporción observada de las señales de dos alelos, A y B, es de dos a uno, hay dos posibilidades. La primera posibilidad es que las células cancerosas tengan LOH con delección del alelo B en una muestra con un 50 % de contaminación con células normales. La segunda posibilidad es que no haya LOH pero el alelo A esté duplicado en una muestra sin contaminación con células normales. Para reconstruir regiones de LOH basadas en datos del genotipo (p. ej., genotipo de SNP), puede implementarse un algoritmo como un programa informático como el descrito en el presente documento. Un punto del algoritmo es reconstruir primero los números de copias específicas de alelo (ASCN, por las siglas del inglés *allele specific copy numbers*) en cada locus (p. ej., SNP). Los ASCN son los números de copias de alelos tanto paternos como maternos. Después, una región de LOH se determina como un tramo de los SNP siendo uno de los ASCN (paterno o materno) igual a cero. El algoritmo puede basarse en la maximización de una función de probabilidad y puede ser conceptualmente similar 20 a un algoritmo descrito anteriormente diseñado para reconstruir el número total de copias (en lugar de ASCN) en cada locus (p. ej., SNP). Véase la solicitud internacional n.º PCT/US2011/026098 (publicada como WO 2011/106541) de Abkevich *et al.* La función de probabilidad puede maximizarse sobre el ASCN de todos los locus, el nivel de contaminación con tejido benigno, el número total de copias promediado en todo el genoma y el nivel de ruido específico de la muestra. Los datos de entrada del algoritmo pueden incluir o consistir en (1) intensidades de señal normalizadas específicas de la muestra para los dos alelos de cada locus y (2) un conjunto de parámetros específicos del ensayo (específicos para diferentes matrices de SNP y para el enfoque basado en la secuencia) definido basándose en el análisis de un gran número de muestras con perfiles de ASCN conocidos.

35 En algunos casos, para genotipificar los locus pueden utilizarse técnicas de secuenciación de ácidos nucleicos. Por ejemplo, puede extraerse y fragmentarse ADN genómico de una muestra celular (p. ej., de una muestra de células cancerosas). Puede utilizarse cualquier método apropiado para extraer y fragmentar ácido nucleico genómico, incluyendo, sin limitación, kits comerciales tales como QIAamp™ DNA Mini Kit (Qiagen™), MagNA™ Pure DNA Isolation Kit (Roche Applied Science™) y GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma-Aldrich™). Una vez extraído y fragmentado, se puede realizar una secuenciación dirigida o no dirigida para 40 determinar los genotipos de la muestra en los locus. Por ejemplo, puede realizarse secuenciación de todo el genoma, de todo el transcriptoma o de todo el exoma, para determinar genotipos en millones o incluso en miles de millones de pares de bases (es decir, los pares de bases pueden ser "locus" a evaluar).

45 En algunos casos, como una alternativa al análisis de micromatrices, puede realizarse secuenciación dirigida de locus polimórficos conocidos (p. ej., los SNP y las secuencias circundantes). Por ejemplo, el ADN genómico puede enriquecerse para aquellos fragmentos que contengan un locus (p. ej., ubicación de SNP) que se van a analizar utilizando kits diseñados para este fin (p. ej., Agilent SureSelect™, Illumina TruSeq Capture™ y Nimblegen SeqCap EZ Choice™). Por ejemplo, el ADN genómico que contiene los locus que se van a analizar puede hibridarse con fragmentos de ARN de captura biotinilados para formar complejos de ARN biotinilado/ADN genómico. Como alternativa, pueden utilizarse sondas de captura de ADN dando como resultado la formación de híbridos de ADN biotinilado/ADN genómico. Pueden utilizarse perlas magnéticas recubiertas de estreptavidina y una fuerza magnética para separar los complejos de ARN biotinilado/ADN genómico de aquellos fragmentos de ADN genómico que no están presentes en un complejo de ARN biotinilado/ADN genómico. Los complejos de ARN biotinilado/ADN genómico obtenidos pueden tratarse para eliminar el ARN capturado de las perlas magnéticas, dejando así fragmentos de ADN genómico inalterado que contienen un locus que se va a analizar. Estos fragmentos de ADN genómico inalterado que contienen los locus que se van a analizar pueden amplificarse utilizando, por ejemplo, técnicas de PCR. Los fragmentos de ADN genómico amplificado pueden secuenciarse utilizando una tecnología de secuenciación de alto rendimiento o una tecnología de secuenciación de próxima generación tal como Illumina HiSeq™, Illumina MiSeq™, Life Technologies SoLiD™ o Ion Torrent™ o Roche 50 454™.

65 Los resultados de la secuenciación de los fragmentos de ADN genómico pueden utilizarse para identificar locus que presentan o no una AC, de manera análoga al análisis de micromatrices descrito en el presente documento. En algunos casos, para determinar la longitud de las regiones de AC puede realizarse un análisis del genotipo de los locus a lo largo de un cromosoma. Por ejemplo, puede evaluarse un tramo de ubicaciones de SNP que estén separadas (p. ej., separadas aproximadamente entre 25 kb y 100 kb) a lo largo de un cromosoma mediante

secuenciación, y los resultados de la secuenciación pueden utilizarse para determinar no solo la presencia de una región de AC sino también la longitud de esa región de AC. Los resultados de secuenciación obtenidos pueden utilizarse para generar un gráfico que represente las dosis alélicas a lo largo de un cromosoma. La dosis alélica d_i de SNP i puede calcularse a partir del número ajustado de sondas capturadas de dos alelos (A_i y B_i): $d_i = A_i / (A_i + B_i)$. En las figuras 1 y 2 se presenta un ejemplo de dicho gráfico. La determinación de si una aberración es de línea germinal o somática puede realizarse como se describe en el presente documento.

En algunos casos, puede utilizarse un proceso de selección para seleccionar los locus (p. ej., locus de SNP) que se van a evaluar utilizando un ensayo configurado para genotipificar locus (p. ej., ensayos basados en matrices de SNP y ensayos basados en secuenciación). Por ejemplo, para su inclusión en un ensayo basado en matrices de SNP o un ensayo basado en secuenciación configurado para genotipificar los locus, puede seleccionarse cualquier ubicación de SNP humano. En algunos casos, pueden evaluarse 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 millones o más de ubicaciones de SNP presentes en el genoma humano para identificar aquellos SNP que (a) no estén presentes en el cromosoma Y, (b) no sean SNP mitocondriales, (c) tengan una escasa frecuencia alélica de al menos aproximadamente cinco por ciento en personas de raza caucásica, (d) tengan una escasa frecuencia alélica de al menos aproximadamente uno por ciento en tres razas que no sean caucásicas (p. ej., china, japonesa y yoruba), y/o (e) no tengan una desviación significativa del equilibrio de Hardy Weinberg en ninguna de las cuatro razas. En algunos casos, pueden seleccionarse más de 100.000, 150.000 o 200.000 SNP humanos que cumplan con los criterios (a) a (e). De los SNP humanos que cumplan con los criterios (a) a (e), un grupo de los SNP (p. ej., 110.000 de los SNP principales) puede seleccionarse de tal manera que los SNP que tengan un alto grado de frecuencia alélica en los caucásicos, cubran el genoma humano de forma uniformemente espaciada (p. ej., al menos un SNP cada aproximadamente 25 kb a aproximadamente 500 kb), y no estén en desequilibrio de ligamiento con otro SNP seleccionado en ninguna de las cuatro razas. En algunos casos, pueden seleccionarse aproximadamente 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130 mil o más SNP que cumplan con cada uno de estos criterios e incluirlos en un ensayo configurado para identificar regiones de AC en un genoma humano. Por ejemplo, pueden seleccionarse entre aproximadamente 70.000 y aproximadamente 90.000 (p. ej., aproximadamente 80.000) SNP para el análisis con un ensayo basado en matriz de SNP, y entre aproximadamente 45.000 y aproximadamente 55.000 (p. ej., aproximadamente 54.000) SNP se pueden seleccionar para el análisis con un ensayo basado en secuenciación.

Como se describe en el presente documento, puede evaluarse cualquier tipo apropiado de muestra. Por ejemplo, puede evaluarse una muestra que contenga células cancerosas para determinar si el genoma de las células cancerosas contiene una firma de HRD, carece de una firma de HDR, tiene un mayor número de regiones de AC indicadoras o tiene una mayor puntuación de la región de AC. Como ejemplos de muestras que contienen células cancerosas que pueden evaluarse como se describe en el presente documento se incluyen, sin limitación, muestras de biopsia tumoral (p. ej., muestras de biopsia de tumor de mama), muestras de tejido fijado con formol e incluido en parafina que contienen células cancerosas, biopsias por punción con aguja gruesa, aspirados con aguja fina y muestras que contienen células cancerosas desprendidas de un tumor (p. ej., sangre, orina u otros líquidos corporales). Para las muestras de tejido fijado con formol e incluido en parafina, la muestra puede prepararse mediante extracción de ADN utilizando un kit de extracción de ADN genómico optimizado para tejido FFPE, incluyendo, pero sin limitación, los descritos anteriormente (p. ej., QuickExtract™ FFPE DNA Extraction Kit (Epicentre™) y QIAamp™ DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen™)).

En algunos casos, pueden realizarse técnicas de disección con láser en una muestra de tejido para minimizar el número de células no cancerosas en una muestra de células cancerosas a evaluar. En algunos casos, pueden utilizarse métodos de purificación basados en anticuerpos para enriquecer las células cancerosas y/o eliminar las células no cancerosas. Como ejemplos de anticuerpos que podrían utilizarse para el enriquecimiento de células cancerosas se incluyen, sin limitación, anticuerpos anti-EpCAM, anti-TROP-2, anti-c-Met, anti-proteína de unión a folato, anti-N-Cadherina, anti-CD318, anti-antígeno de células madre mesenquimatosas, anti-Her2, anti-MUC1, anti-EGFR, anti-citoqueratinas (p. ej., citoqueratina 7, citoqueratina 20, etc.), anti-Caveolina-1, anti-PSA, anti-CA125 y anti-proteína tensoactiva.

Utilizando los métodos y materiales descritos en el presente documento puede evaluarse cualquier tipo de célula cancerosa. Por ejemplo, células de cáncer de mama, células de cáncer de ovario, células de cáncer de hígado, células de cáncer de esófago, células de cáncer de pulmón, células de cáncer de cabeza y cuello, células de cáncer de próstata, las células de cáncer de colon, rectal o colorrectal y pancreático pueden evaluarse para determinar si el genoma de las células cancerosas contiene una firma de HRD, carece de una firma de HDR, tiene un mayor número de regiones de AC indicadoras o tiene una mayor puntuación de la región de AC. En algunas realizaciones, las células cancerosas son células cancerosas primarias o metastásicas de cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de pulmón o cáncer de esófago.

Cuando se evalúa el genoma de las células cancerosas en busca de la presencia o ausencia de una firma de HRD, pueden evaluarse uno o más (p. ej., uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23) pares de cromosomas. En algunos casos, el genoma de las células cancerosas se evalúa en busca de la presencia o ausencia de una firma de HRD utilizando uno o más (p. ej., uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23) pares de cromosomas.

En algunos casos, puede ser útil excluir determinados cromosomas de este análisis. Por ejemplo, en el caso de las mujeres, un par a evaluar puede incluir el par de cromosomas sexuales X; mientras que, en el caso de los hombres, puede evaluarse un par de cualquier cromosoma autosómico (es decir, cualquier par que no sea el par de cromosomas sexuales X e Y). Como otro ejemplo, en algunos casos, el par de cromosomas número 17 puede excluirse del análisis. Se ha determinado que algunos cromosomas portan niveles inusualmente altos de AC en determinados tipos de cáncer y, por tanto, cuando se analizan muestras como las descritas en el presente documento de pacientes que tienen estos cánceres puede ser útil excluir dichos cromosomas. En algunos casos, la muestra es de una paciente con cáncer de ovario y el cromosoma que se excluirá es el cromosoma 17.

Por tanto, se puede analizar un número predefinido de cromosomas para determinar el número de regiones de AC indicadoras (o la puntuación de la región de AC o la puntuación de la región de AC combinada), preferentemente el número de regiones de AC de una longitud mayor de 9 megabases, 10 megabases, 12 megabases, 14 megabases, más preferentemente mayor de 15 megabases. Como alternativa o además, los tamaños de todas las regiones de AC indicadoras identificadas pueden sumarse para obtener una longitud total de las regiones de AC indicadoras.

Como se describe en el presente documento, los pacientes que tienen células cancerosas (o muestras derivadas de las mismas) identificados como que tienen un estado de firma de HRD pueden clasificarse, basándose al menos en parte en dicha firma de HRD, como que es probable que respondan a un régimen de tratamiento particular contra el cáncer. Por ejemplo, los pacientes que tienen células cancerosas con una firma de HRD pueden clasificarse, basándose al menos en parte en dicha firma de HRD, como que es probable que respondan a un régimen de tratamiento contra el cáncer que incluye el uso de un agente que daña el ADN, un agente de letalidad sintético (p. ej., un inhibidor de PARP), radiación, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes sin tratamiento previo. Como ejemplos de agentes que dañan el ADN se incluyen, sin limitación, fármacos quimioterápicos basados en platino (p. ej., cisplatino, carboplatino, oxaliplatino y picoplatino), antraciclinas (p. ej., epirrubicina y doxorubicina), inhibidores de topoisomerasa I (p. ej., camptotecina, topotecán e irinotecán), reticulantes de ADN tales como mitomicina C y compuestos de triazeno (p. ej., dacarbazina y temozolomida). Los enfoques terapéuticos de letalidad sintética generalmente implican la administración de un agente que inhiba al menos un componente crítico de una ruta biológica que sea especialmente importante para la supervivencia de una célula tumoral en particular. Por ejemplo, cuando una célula tumoral tiene una vía de reparación homóloga deficiente (p. ej., según lo determinado de acuerdo con la presente divulgación), los inhibidores de poli ADP ribosa polimerasa (o fármacos de platino, inhibidores de reparación de roturas de doble cadena, etc.) pueden ser especialmente fuertes contra dichos tumores porque se obstruyen dos vías críticas para la supervivencia (una biológicamente, p. ej., por mutación de BRCA1 y la otra sintéticamente, p. ej., mediante la administración de un fármaco de la vía). Se describen enfoques de letalidad sintética para la terapia contra el cáncer, p. ej., en O'Brien *et al.*, *Converting cancer mutations into therapeutic opportunities*, EMBO MOL. MED. (2009) 1:297-299. Como ejemplos de agentes de letalidad sintéticos se incluyen, sin limitación, inhibidores de PARP o inhibidores de reparación de roturas de doble cadena en células tumorales homólogas deficientes en reparación, inhibidores de PARP en células tumorales deficientes en PTEN, metotrexato en células tumorales deficientes en MSH2, etc. Como ejemplos de inhibidores de PARP se incluyen, sin limitación, olaparib, iniparib y veliparib. Como ejemplos de inhibidores de reparación de roturas de doble cadena se incluyen, sin limitación, KU55933 (inhibidor de ATM) y NU7441 (inhibidor de ADN-PKcs). Como ejemplos de información que puede utilizarse además de la presencia de una firma de HRD para basar una clasificación de probabilidad de respuesta a un determinado régimen de tratamiento contra el cáncer se incluyen, sin limitación, resultados de tratamientos anteriores, mutaciones en el ADN somático o de la línea germinal, perfiles de expresión de genes o proteínas (p. ej., estado de ER/PR/HER2, niveles de PSA), histología del tumor (p. ej., adenocarcinoma, carcinoma epidermoide, carcinoma seroso papilar, carcinoma mucinoso, carcinoma ductal invasivo, carcinoma ductal *in situ* (no invasivo), etc.), estadio de la enfermedad, grado del tumor o del cáncer (p. ej., bien, moderadamente o escasamente diferenciado (p. ej., clasificación de Gleason, Bloom Richardson modificada), etc.), número de ciclos de tratamiento previos, etc.

Una vez clasificado como que es probable que responda a un determinado régimen de tratamiento contra el cáncer (p. ej., un régimen de tratamiento contra el cáncer que incluye el uso de un agente que daña el ADN, un inhibidor de PARP, radiación, o una combinación de los mismos), el paciente con cáncer puede tratarse con dicho régimen de tratamiento contra el cáncer. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo. Para evitar dudas, los métodos de tratamiento no están incluidos en la invención reivindicada. Por tanto, la divulgación proporciona un método de tratamiento de un paciente que comprende detectar una firma de HRD como se describe en el presente documento y administrar (o recomendar o prescribir) un régimen de tratamiento que comprende el uso de un agente que daña el ADN, un inhibidor de PARP, radiación, o una combinación de los mismos. Cualquier método apropiado para tratar el cáncer en cuestión puede utilizarse para tratar a un paciente con cáncer identificado con células cancerosas que tienen una firma de HRD. Por ejemplo, para tratar el cáncer, pueden utilizarse fármacos quimioterápicos basados en platino o una combinación de fármacos quimioterápicos basados en platino, como se describe en cualquier otra parte (véase, p. ej., las patentes de Estados Unidos nº 3.892.790, 3.904.663, 7.759.510, 7.759.488 y 7.754.684). En algunos casos, pueden utilizarse antraciclinas o una combinación de antraciclinas para tratar el cáncer como se describe en cualquier otra

parte (véanse, p. ej., las patentes de Estados Unidos n.º 3.590.028, 4.138.480, 4.950.738, 6.087.340, 7.868.040 y 7.485.707). En algunos casos, pueden utilizarse inhibidores de topoisomerasa I o una combinación de inhibidores de topoisomerasa I para tratar el cáncer como se describe en cualquier otra parte (véanse, p. ej., las patentes de Estados Unidos n.º 5.633.016 y 6.403.563). En algunos casos, pueden utilizarse inhibidores de PARP o una combinación de inhibidores de PARP para tratar el cáncer como se describe en cualquier otra parte (véanse, p. ej., las patentes de Estados Unidos n.º 5.177.075, 7.915.280 y 7.351.701). En algunos casos, puede utilizarse radiación para tratar el cáncer como se describe en cualquier otra parte (véase, p. ej., la patente de Estados Unidos n.º 5.295.944). En algunos casos, para tratar el cáncer, puede utilizarse una combinación que comprenda diferentes agentes (p. ej., una combinación que comprenda cualquiera de los fármacos quimioterápicos basados en platino, antraciclinas, inhibidores de topoisomerasa I y/o inhibidores de PARP) con o sin tratamientos de radiación. En algunos casos, un tratamiento combinado puede comprender cualquiera de los agentes o tratamientos anteriores (p. ej., un agente que daña el ADN, un inhibidor de PARP, radiación, o una combinación de los mismos) junto con otro agente o tratamiento, p. ej., un agente de taxano (p. ej., doxetaxel, paclitaxel, abraxano), un factor de crecimiento o un inhibidor del receptor del factor de crecimiento (p. ej., erlotinib, gefitinib, lapatinib, sunitinib, bevacizumab, cetuximab, trastuzumab, panitumumab) y/o un antimetabolito (p. ej., 5-fluorouracilo, metotrexato).

En algunos casos, los pacientes identificados como que tienen células cancerosas que carecen de una firma de HRD pueden clasificarse, basándose, al menos en parte, en una muestra que carece de una firma de HRD, como que es menos probable que respondan a un régimen de tratamiento que incluye un agente que daña el ADN, un inhibidor de PARP, radiación, o una combinación de los mismos. A su vez, dicho paciente puede clasificarse como que es probable que responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer que incluye el uso de uno o más agentes de tratamiento contra el cáncer no asociados a la HDR, tal un agente de taxano (p. ej., doxetaxel, paclitaxel, abraxano), un factor de crecimiento o un inhibidor del receptor del factor de crecimiento (p. ej., erlotinib, gefitinib, lapatinib, sunitinib, bevacizumab, cetuximab, trastuzumab, panitumumab) y/o un agente antimetabolito (p. ej., 5-fluorouracilo, metotrexato). En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo. Una vez clasificado como que es probable que responda a un determinado régimen de tratamiento contra el cáncer (p. ej., un régimen de tratamiento contra el cáncer que incluye el uso de un agente de tratamiento contra el cáncer no asociado a la HDR), el paciente con cáncer puede tratarse con dicho régimen de tratamiento contra el cáncer. Para evitar dudas, los métodos de tratamiento no están incluidos en la invención reivindicada. Por tanto, la divulgación proporciona un método de tratamiento de un paciente que comprende, detectar la ausencia de una firma de HRD como se describe en el presente documento y administrar (o recomendar o prescribir) un régimen de tratamiento que no comprende el uso de un agente que daña el ADN, un inhibidor de PARP, radiación, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el régimen de tratamiento comprende uno o más de un agente de taxano (p. ej., doxetaxel, paclitaxel, abraxano), un factor de crecimiento o un inhibidor del receptor del factor de crecimiento (p. ej., erlotinib, gefitinib, lapatinib, sunitinib, bevacizumab, cetuximab, trastuzumab, panitumumab) y/o un agente antimetabolito (p. ej., 5-fluorouracilo, metotrexato). Cualquier método apropiado para el cáncer que se está tratando puede utilizarse para tratar a un paciente con cáncer identificado como que tiene células cancerosas que carecen de una firma de HRD. Como ejemplos de información que puede utilizarse además de la ausencia de una firma de HRD para basar una clasificación de probabilidad de respuesta a un determinado régimen de tratamiento contra el cáncer se incluyen, sin limitación, resultados de tratamientos anteriores, mutaciones en el ADN somático o de la línea germinal, perfiles de expresión de genes o proteínas (p. ej., estado de ER/PR/HER2, niveles de PSA), histología del tumor (p. ej., adenocarcinoma, carcinoma epidermoide, carcinoma seroso papilar, carcinoma mucinoso, carcinoma ductal invasivo, carcinoma ductal *in situ* (no invasivo), etc.), estadio de la enfermedad, grado del tumor o del cáncer (p. ej., bien, moderadamente o escasamente diferenciado (p. ej., clasificación de Gleason, Bloom Richardson modificada), etc.), número de ciclos de tratamiento previos, etc.

Una vez tratado durante un período de tiempo determinado (p. ej., entre uno y seis meses), el paciente puede evaluarse para determinar si el régimen de tratamiento tiene o no efecto. Si se detecta un efecto beneficioso, el paciente puede continuar con el mismo régimen de tratamiento contra el cáncer o uno similar. Si se detecta un efecto beneficioso mínimo o nulo, entonces pueden hacerse ajustes en el régimen de tratamiento contra el cáncer. Por ejemplo, puede aumentarse la dosis, la frecuencia de administración o la duración del tratamiento. En algunos casos, pueden añadirse otros agentes contra el cáncer al régimen de tratamiento o puede reemplazarse un determinado agente contra el cáncer por uno o más agentes diferentes contra el cáncer. Se puede seguir controlando al paciente en tratamiento según convenga, y se pueden introducir cambios en el régimen de tratamiento del cáncer según convenga.

Además de predecir la probable respuesta al tratamiento o seleccionar los regímenes de tratamiento deseables, puede utilizarse una firma de HRD para determinar el pronóstico de un paciente. Por tanto, en un aspecto, este documento presenta un método para determinar el pronóstico de un paciente basándose, al menos en parte, en la detección de la presencia o ausencia de una firma de HRD en una muestra del paciente. El método comprende, o consiste esencialmente en, (a) determinar si una muestra del paciente comprende células cancerosas (o si una muestra comprende ADN derivado de dichas células) que tenga una firma de HRD (a veces denominado en el presente documento como que tiene una HRD alta) como se describe en el presente documento (p. ej., en donde la presencia de más regiones de AC indicadoras o una puntuación de la región de AC o puntuación de la región

de AC combinada es más alta que una referencia), y (b)(1) determinar, basándose al menos en parte en la presencia de la firma de HRD o en tener una HRD alta, que el paciente tiene un pronóstico relativamente bueno, o (b)(2) determinar, basándose al menos en parte en la ausencia de la firma de HRD, que el paciente tiene un pronóstico relativamente malo. El pronóstico puede incluir la probabilidad de supervivencia del paciente (p. ej., supervivencia sin progresión, supervivencia global), en donde un pronóstico relativamente bueno incluiría una mayor probabilidad de supervivencia en comparación con alguna población de referencia (p. ej., paciente promedio con este tipo/subtipo de cáncer del paciente, paciente promedio que no tiene una firma de HRD, etc.). En cambio, un pronóstico relativamente malo en términos de supervivencia incluiría una menor probabilidad de supervivencia en comparación con alguna población de referencia (p. ej., paciente promedio con este tipo/subtipo de cáncer del paciente, paciente promedio que tiene una firma de HRD, etc.).

Como se describe en el presente documento, este documento proporciona métodos para evaluar a los pacientes en busca de células (p. ej., células cancerosas) que tengan una firma de HRD. En algunas realizaciones, uno o más profesionales médicos o facultativos pueden determinar si una muestra del paciente que comprende células cancerosas (o si una muestra comprende ADN derivado de dichas células) tiene una firma de HRD. En algunos casos, uno o más profesionales médicos o facultativos pueden determinar si un paciente contiene células cancerosas que tienen una firma de HRD al obtener una muestra de células cancerosas del paciente y evaluar el ADN de las células cancerosas de la muestra de células cancerosas para determinar la presencia o ausencia de una firma de HRD como se describe en el presente documento.

En algunos casos, uno o más profesionales médicos o facultativos pueden obtener una muestra de células cancerosas de un paciente y proporcionar esa muestra a un laboratorio de pruebas que tenga la capacidad de evaluar el ADN de las células cancerosas de la muestra de células cancerosas para proporcionar un indicio sobre la presencia o ausencia de una firma de HRD como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo. En esos casos, uno o más profesionales médicos o facultativos pueden determinar si una muestra del paciente que comprende células cancerosas (o si una muestra comprende ADN derivado de dichas células) tiene una firma de HRD al recibir información sobre la presencia o ausencia de una firma de HRD como se describe en el presente documento directa o indirectamente del laboratorio de pruebas. Por ejemplo, un laboratorio de pruebas, después de evaluar el ADN de las células cancerosas en busca de la presencia o ausencia de una firma de HRD como se describe en el presente documento, puede proporcionar a un profesional médico o facultativo un informe escrito, electrónico u oral o historial médico, o acceso a los mismos, que proporcione un indicio sobre la presencia o ausencia de una firma de HRD para un paciente (o muestra de paciente) particular que se está evaluando. Dicho informe escrito, electrónico u oral o historial médico, pueden permitir que uno o más profesionales médicos o facultativos determinen si un paciente en particular que se está evaluando contiene células cancerosas que tienen una firma de HRD.

Una vez que un profesional médico o facultativo o un grupo de profesionales médicos o facultativos, determina que un paciente particular que se está evaluando contiene células cancerosas que tienen una firma de HRD, el profesional médico o facultativo (o grupo), puede clasificar a ese paciente como que tiene células cancerosas cuyo genoma contiene la presencia de una firma de HRD. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo. En algunos casos, un profesional médico o facultativo o un grupo de profesionales médicos o facultativos, puede diagnosticar a un paciente que se ha determinado que tiene células cancerosas cuyo genoma contiene la presencia de una firma de HRD como que tiene células cancerosas deficientes (o que probablemente sean deficientes) en HDR. Dicho diagnóstico puede basarse únicamente en la determinación de que una muestra del paciente comprende células cancerosas (o si una muestra comprende ADN derivado de dichas células) que tiene una firma de HRD o puede basarse, al menos en parte, en la determinación de que una muestra del paciente comprende células cancerosas (o si una muestra comprende ADN derivado de tales células) que tiene una firma de HRD. Por ejemplo, un paciente que se determina que tiene células cancerosas con una firma de HRD puede diagnosticarse como que probablemente es deficiente en HDR basándose en la combinación de la presencia de una firma de HRD y de un estado deficiente en uno o más genes supresores de tumores (p. ej., BRCA1/2, RAD51C), en antecedentes familiares de cáncer o en la presencia de factores de riesgo conductuales (p. ej., tabaquismo).

En algunos casos, un profesional médico o facultativo o un grupo de profesionales médicos o facultativos, puede diagnosticar a un paciente que se ha determinado que tiene células cancerosas cuyo genoma contiene la presencia de una firma de HRD como que tiene células cancerosas que probablemente contienen mutaciones genéticas en uno o más genes de la vía de HDR. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo. Dicho diagnóstico puede basarse únicamente en la determinación de que un paciente en particular que se está evaluando contiene células cancerosas que tienen un genoma que contiene una firma de HRD o puede basarse, al menos en parte, en la determinación de que un paciente en particular que se está evaluando contiene células cancerosas que tienen un genoma que contiene una firma de HRD. Por ejemplo, un paciente que se determina que tiene células cancerosas cuyo genoma contiene la presencia de una firma de HRD puede diagnosticarse como que tiene células cancerosas que probablemente contengan mutaciones genéticas en uno o más genes en la vía de HDR basándose en la combinación de la presencia de una firma de HRD y en antecedentes familiares de cáncer o en la presencia de factores de riesgo conductuales (p. ej., tabaquismo).

En algunos casos, un profesional médico o facultativo o un grupo de profesionales médicos o facultativos, puede diagnosticar a un paciente que se ha determinado que tiene células cancerosas que tienen una firma de HRD como que tiene células cancerosas que probablemente respondan a un régimen de tratamiento contra el cáncer particular. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo. Dicho diagnóstico puede basarse únicamente en la determinación de que una muestra del paciente comprende células cancerosas (o si una muestra comprende ADN derivado de dichas células) que tiene una firma de HRD o puede basarse, al menos en parte, en la determinación de que una muestra del paciente comprende células cancerosas (o si una muestra comprende ADN derivado de tales células) que tiene una firma de HRD. Por ejemplo, un paciente que se determina que tiene células cancerosas con una firma de HRD puede diagnosticarse como que probablemente responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer particular basándose en la combinación de la presencia de una firma de HRD y de un estado deficiente en uno o más genes supresores de tumores (p. ej., BRCA1/2, RAD51), en antecedentes familiares de cáncer o en la presencia de factores de riesgo conductuales (p. ej., tabaquismo). Como se describe en el presente documento, un paciente que se determina que tiene células cancerosas con una firma de HRD puede diagnosticarse como que probablemente responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer que incluye el uso de un fármaco quimioterápico basado en platino tal como cisplatino, carboplatino, oxaliplatino o picoplatino, una antraciclina tal como epirrubicina o doxorubicina, un inhibidor de topoisomerasa I tal como campotecina, topotecán o irinotecán, un inhibidor de PARP, radiación, una combinación de los mismos, o una combinación de cualquiera de los anteriores con otro agente contra el cáncer. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo.

Una vez que un profesional médico o facultativo o un grupo de profesionales médicos o facultativos determina que una muestra del paciente comprende células cancerosas (o si una muestra comprende ADN derivado de dichas células) que tiene un genoma que carece de una firma de HRD, el profesional médico o facultativo (o grupo) puede clasificar a ese paciente como que tiene células cancerosas cuyo genoma carece de una firma de HRD. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo. En algunos casos, un profesional médico o facultativo o un grupo de profesionales médicos o facultativos, puede diagnosticar que un paciente determinado tiene células cancerosas que contienen un genoma que carece de una firma de HRD como que tiene células cancerosas que probablemente tengan una HDR funcional. En algunos casos, un profesional médico o facultativo o un grupo de profesionales médicos o facultativos, puede diagnosticar a un paciente que se ha determinado que tiene células cancerosas que contienen un genoma que carece de una firma de HRD como que tiene células cancerosas que probablemente no contienen mutaciones genéticas en uno o más genes en la vía de HDR. En algunos casos, un profesional médico o facultativo o un grupo de profesionales médicos o facultativos, puede diagnosticar a un paciente que se ha determinado que tiene células cancerosas que contienen un genoma que carece de una firma de HRD o que contienen un mayor número de regiones de AC que cubren todo el cromosoma, como que tiene células cancerosas que tienen menos probabilidades de responder a un fármaco quimioterápico basado en platino tal como cisplatino, carboplatino, oxaliplatino o picoplatino, una antraciclina tal como epirrubicina o doxorubicina, un inhibidor de topoisomerasa I tal como campotecina, topotecán o irinotecán, un inhibidor de PARP, o radiación y/o más probabilidades de responder a un régimen de tratamiento contra el cáncer que incluye el uso de un agente de tratamiento contra el cáncer no asociado a la HDR tal como uno o más agentes de taxano, factores de crecimiento o inhibidores de receptores de factores de crecimiento, agentes antimetabolitos, etc. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo.

Como se describe en el presente documento, este documento también proporciona métodos para realizar un análisis de diagnóstico de una muestra de ácido nucleico (p. ej., una muestra de ácido nucleico genómico o ácidos nucleicos amplificados del mismo) de un paciente con cáncer, para determinar si una muestra del paciente comprende células cancerosas (o si una muestra comprende ADN derivado de dichas células) que contiene una firma de HRD y/o un mayor número de regiones de AC que cubren todo el cromosoma. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo. Por ejemplo, uno o más técnicos de laboratorio o profesionales de laboratorio pueden detectar la presencia o ausencia de una firma de HRD en el genoma de las células cancerosas (o ADN derivado de las mismas) del paciente o la presencia o ausencia de un mayor número de regiones de AC que cubren todo el cromosoma en el genoma de las células cancerosas del paciente. En algunos casos, uno o más técnicos de laboratorio o profesionales de laboratorio pueden detectar la presencia o ausencia de una firma de HRD o la presencia o ausencia de un mayor número de regiones de AC que cubren todo el cromosoma en el genoma de las células cancerosas del paciente al (a) recibir una muestra de células cancerosas obtenida del paciente, recibir una muestra de ácido nucleico genómico obtenida de células cancerosas obtenidas del paciente, o recibir una muestra que contiene ácidos nucleicos enriquecidos y/o amplificados a partir de dicha muestra de ácido nucleico genómico obtenida de células cancerosas obtenidas del paciente y (b) realizando un análisis (p. ej., un ensayo basado en matriz de SNP o un ensayo basado en secuenciación) usando el material recibido para detectar la presencia o ausencia de una firma de HRD o la presencia o ausencia de un mayor número de regiones de AC que cubren todo el cromosoma como se describe en el presente documento. En algunos casos, uno o más técnicos de laboratorio o profesionales de laboratorio pueden recibir una muestra para analizar (p. ej., una muestra de células cancerosas obtenida del paciente, una muestra de ácido nucleico genómico obtenida de células cancerosas obtenidas del paciente, o una muestra que contiene ácidos nucleicos enriquecidos y/o amplificados a partir de dicha muestra de ácido nucleico genómico obtenida de células cancerosas obtenidas del paciente) directa o indirectamente de un profesional médico o facultativo. En algunas realizaciones, los pacientes

son pacientes que no han recibido tratamiento previo.

Una vez que un técnico de laboratorio o profesional de laboratorio o grupo de técnicos de laboratorio o profesionales de laboratorio detecta la presencia de una firma de HRD como se describe en el presente documento, el técnico de laboratorio o profesional de laboratorio (o grupo) puede asociar esa firma de DRH o el resultado (o resultados o un resumen de resultados) del análisis de diagnóstico realizado, con el nombre del paciente correspondiente, con su historial médico, con su identificador simbólico/numérico, o con una combinación de los mismos. Dicha identificación puede basarse únicamente en la detección de la presencia de una firma de HRD o puede basarse, al menos en parte, en la detección de la presencia de una firma de HRD. Por ejemplo, un técnico de laboratorio o un profesional de laboratorio puede identificar a un paciente que tiene células cancerosas que se detectó que tenían una firma de HRD, como que tiene células cancerosas posiblemente deficientes en HDR (o que tiene mayor probabilidad de responder a un tratamiento particular como se describe detalladamente a lo largo del presente documento) basándose en una combinación de la presencia de una firma de HRD y los resultados de otras pruebas genéticas y bioquímicas realizadas en el laboratorio de pruebas. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo.

Lo contrario de lo anterior también es cierto. Concretamente, una vez que un técnico de laboratorio o profesional de laboratorio o grupo de técnicos de laboratorio o profesionales de laboratorio detecta la ausencia de una firma de HRD, el técnico de laboratorio o profesional de laboratorio (o grupo) puede asociar la ausencia de una firma de HRD o el resultado (o resultados o un resumen de resultados) del análisis de diagnóstico realizado, con el nombre del paciente correspondiente, con su historial médico, con su identificador simbólico/numérico, o con una combinación de los mismos. En algunos casos, un técnico de laboratorio o un profesional de laboratorio o un grupo de técnicos de laboratorio o profesionales de laboratorio, puede identificar a un paciente que tiene células cancerosas que se detectó que carecían de una firma de HRD como que tiene células cancerosas con HDR posiblemente inalterada (o que tiene una menor probabilidad de responder a un tratamiento en particular como se describe a lo largo del presente documento), ya sea basándose únicamente en la ausencia de una firma de HRD o en una combinación de la presencia de una firma de HRD y los resultados de otras pruebas genéticas y bioquímicas realizadas en el laboratorio de pruebas. En algunas realizaciones, los pacientes son pacientes que no han recibido tratamiento previo.

Por lo general, los resultados de cualquier análisis de acuerdo con la divulgación se comunicarán a los médicos, asesores genéticos y/o pacientes (u otras partes interesadas, tales como investigadores) de una forma transmisible que pueda comunicarse o transmitirse a cualquiera de las partes mencionadas. Dicha forma puede variar y puede ser tangible o intangible. Los resultados pueden incorporarse en declaraciones descriptivas, diagramas, fotografías, tablas, imágenes o cualquier otra forma visual. Por ejemplo, pueden utilizarse gráficos o diagramas que muestren información sobre el genotipo o LOH (o estado de HRD) para explicar los resultados. Las declaraciones y las formas visuales pueden registrarse en un medio tangible tal como papel, medios legibles por ordenador tal como un disquete, un disco compacto, una memoria flash, etc., o en un medio intangible, p. ej., un medio electrónico en forma de correo electrónico o sitio web en Internet o intranet. Además, los resultados también pueden grabarse en forma de sonido y transmitirse a través de cualquier medio adecuado, p. ej., mediante líneas de cable analógicas o digitales, cables de fibra óptica, etc., por teléfono, fax, teléfono móvil inalámbrico, teléfono por internet y medios similares.

Por tanto, la información y los datos sobre el resultado de una prueba pueden generarse en cualquier parte del mundo y transmitirse a una ubicación diferente. Como ejemplo ilustrativo, cuando un ensayo se lleva a cabo fuera de los Estados Unidos, la información y los datos sobre el resultado de una prueba pueden generarse, emitirse de una forma transmisible, como se ha descrito anteriormente, y después, importarse a los Estados Unidos. Por consiguiente, la presente divulgación también abarca un método para producir una forma de información transmisible sobre una firma de HRD para al menos una muestra de paciente. El método comprende las etapas de (1) determinar una firma de HRD según los métodos de la presente divulgación; y (2) incorporar el resultado de la etapa de determinación en una forma transmisible. La forma transmisible es un producto de dicho método.

Varias realizaciones del método descrito en el presente documento implican una etapa de correlacionar la presencia de una firma de HRD de acuerdo con la presente divulgación (p.ej., el número total de regiones de AC indicadoras o una puntuación de la región de AC o una puntuación de la región de AC combinada mayor que una referencia) con una característica clínica particular (p. ej., una mayor probabilidad de una deficiencia en el gen BRCA1 o BRCA2; una mayor probabilidad de deficiencia de HDR; una mayor probabilidad de respuesta a un régimen de tratamiento que comprende un agente que daña el ADN, una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa I, radiación, y/o un inhibidor de PARP; etc.) y, opcionalmente, correlacionar la ausencia de una firma de HRD con una o más características clínicas distintas. A lo largo de este documento, dondequiera que se describa tal realización, otra realización de la divulgación puede implicar, además de, o en lugar de, una etapa de correlación, una o ambas de las siguientes etapas: (a) concluir que el paciente tiene la característica clínica basándose, al menos en parte, en la presencia o ausencia de la firma de HRD; o (b) comunicar que el paciente tiene la característica clínica basándose, al menos en parte, en la presencia o ausencia de la firma de HRD.

A modo de ilustración, pero sin limitación, una realización descrita en este documento es un método para predecir

la respuesta de un paciente con cáncer a un régimen de tratamiento contra el cáncer, que comprende un agente que daña el ADN, una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa I, radiación y/o un inhibidor de PARP, comprendiendo dicho método: (1) determinar en una muestra dos o más de (a) una puntuación de la región de LOH para la muestra; (b) una puntuación de la región de TAI para la muestra; o (c) una puntuación de la región de LST para la muestra; y (2)(a) correlacionando una combinación de dos o más de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada) que supere una referencia, con una mayor probabilidad de responder al régimen de tratamiento; u opcionalmente (2)(b) correlacionando una combinación de dos o más de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada) que no supere una referencia, con una probabilidad no mayor de responder al régimen de tratamiento; u opcionalmente (2)(c) correlacionar un promedio (p. ej., media aritmética) de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST. De acuerdo con el párrafo anterior, se entiende que esta descripción de esta realización incluye una descripción de dos realizaciones relacionadas alternativas. Una realización de este tipo proporciona un método para predecir la respuesta de un paciente con cáncer a un régimen de tratamiento contra el cáncer, que comprende un agente que daña el ADN, una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa I, radiación y/o un inhibidor de PARP, comprendiendo dicho método: (1) determinar en una muestra dos o más de (a) una puntuación de la región de LOH para la muestra; (b) una puntuación de la región de TAI para la muestra; o (c) una puntuación de la región de LST para la muestra; o (d) un promedio (p. ej., media aritmética) de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST; y (2)(a) concluir que dicho paciente tiene una mayor probabilidad de responder a dicho régimen de tratamiento contra el cáncer basándose, al menos en parte, en una combinación de dos o más de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada) que supere una referencia; u opcionalmente (2)(b) concluir que dicho paciente no tiene una mayor probabilidad de responder a dicho régimen de tratamiento contra el cáncer basándose, al menos en parte, en una combinación de dos o más de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada), o un promedio (p. ej., media aritmética) de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST, que no supere una referencia. Otra realización de este tipo proporciona un método para predecir la respuesta de un paciente con cáncer a un régimen de tratamiento contra el cáncer, que comprende un agente que daña el ADN, una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa I, radiación y/o un inhibidor de PARP, comprendiendo dicho método: (1) determinar en una muestra dos o más de (a) una puntuación de la región de LOH para la muestra; (b) una puntuación de la región de TAI para la muestra; o (c) una puntuación de la región de LST para la muestra; o (d) un promedio (p. ej., media aritmética) de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST; y (2)(a) comunicar que dicho paciente tiene una mayor probabilidad de responder a dicho régimen de tratamiento contra el cáncer basándose, al menos en parte, en una combinación de dos o más de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada); o un promedio (p. ej., media aritmética) de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST, que supere una referencia; u opcionalmente (2)(b) comunicar que dicho paciente no tiene una mayor probabilidad de responder a dicho régimen de tratamiento contra el cáncer basándose, al menos en parte, en una combinación de dos o más de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST (p. ej., una puntuación de la región de AC combinada); o un promedio (p. ej., media aritmética) de la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST, que no supere una referencia.

En cada realización descrita en este documento, que implica la correlación de un ensayo o resultado de análisis particular (p. ej., número total de regiones de AC indicadoras mayor que un número de referencia, presencia de una firma de HRD etc.) con alguna probabilidad (p. ej., aumento, no aumento, disminución, etc.) de alguna característica clínica (p. ej., respuesta a un tratamiento en particular, muerte específica por cáncer, etc.), o adicional o alternativamente concluir o comunicar dicha característica clínica basándose, al menos en parte, en dicho ensayo o resultado de análisis en particular, dicha correlación, concluyente o comunicativa, puede comprender asignar un riesgo o probabilidad de que se produzca la característica clínica basándose, al menos en parte, en el resultado del ensayo o análisis en particular. En algunas realizaciones, dicho riesgo es un porcentaje de probabilidad de que se produzca el suceso o resultado. En algunas realizaciones, el paciente se asigna a un grupo de riesgo (p. ej., riesgo bajo, riesgo intermedio, riesgo alto, etc.). En algunas realizaciones, "riesgo bajo" es cualquier porcentaje de probabilidad inferior al 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 %. En algunas realizaciones, "riesgo intermedio" es cualquier porcentaje de probabilidad superior al 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 % o 75 %. En algunas realizaciones, "riesgo alto" es cualquier porcentaje de probabilidad superior al 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 99 %.

Como se usa en el presente documento, "comunicar" una información determinada significa dar a conocer dicha información a otra persona o transferir dicha información a algo (p. ej., a un ordenador). En algunos métodos de la divulgación, se comunica el pronóstico de un paciente o la probabilidad de que responda a un tratamiento concreto. En algunas realizaciones, se comunica la información utilizada para llegar a dicho pronóstico o predicción de respuesta (p. ej., firma de HRD de acuerdo con la presente divulgación, etc.). Esta comunicación puede ser auditiva

- (p. ej., verbal), visual (p. ej., escrita), electrónica (p. ej., datos transferidos de un sistema informático a otro), etc. En algunas realizaciones, comunicar una clasificación de cáncer (p. ej., pronóstico, probabilidad de respuesta, tratamiento apropiado, etc.) comprende generar un informe que comunique la clasificación del cáncer. En algunas realizaciones, el informe es un informe en papel, un informe auditivo o un informe electrónico. En algunas realizaciones, el informe se muestra y/o se almacena en un dispositivo informático (p. ej., dispositivo portátil, ordenador de sobremesa, dispositivo inteligente, sitio web, etc.). En algunas realizaciones, la clasificación del cáncer se comunica a un médico (p. ej., al médico se le proporciona un informe que comunica la clasificación). En algunas realizaciones, la clasificación del cáncer se comunica a un paciente (p. ej., al paciente se le proporciona un informe que comunica la clasificación). La comunicación de una clasificación del cáncer también puede realizarse transfiriendo información (p. ej., datos) que contenga la clasificación, a un ordenador servidor y permitiendo que un intermediario o usuario final acceda a dicha información (p. ej., vea la información tal como se muestra en el servidor, descargando la información en forma de uno o más archivos transferidos desde el servidor al dispositivo del intermediario o del usuario final, etc.).
- 15 Siempre que una realización de la divulgación comprenda la conclusión de algún hecho (p. ej., el pronóstico de un paciente o la probabilidad de respuesta de un paciente a un régimen de tratamiento particular), esto puede incluir, en algunas realizaciones, un programa informático que concluya dicho hecho, normalmente después de realizar un algoritmo que aplica información sobre regiones de AC de acuerdo con la presente divulgación.
- 20 En cada una de las realizaciones descritas en el presente documento que implique un número de regiones de AC (p. ej., regiones de AC indicadoras), o una longitud total combinada de dichas regiones de AC o un promedio (p. ej., media aritmética) de las puntuaciones de la región de AC combinadas, la presente divulgación abarca una realización relacionada que implica un valor o una puntuación de prueba (p. ej., puntuación de la región de AC, puntuación de la región de LOH, etc.) derivado de, incorporando, y/o, al menos en cierta medida, reflejando dicho número o longitud. Dicho de otro modo, no es necesario utilizar los números o longitudes de la región de AC descubierta en los diversos métodos, sistemas, etc. de la divulgación; puede utilizarse un valor o puntuación de prueba derivado de dichos números o longitudes. Por ejemplo, una realización de la divulgación proporciona un método de tratamiento del cáncer en un paciente, que comprende: (1) determinar en una muestra de dicho paciente dos o más de, o un promedio (p. ej., media aritmética) de, (a) el número de regiones de LOH indicadoras, (b) el número de regiones de TAI indicadoras o (c) el número de regiones de LST indicadoras; (2) proporcionar uno o más valores de prueba derivados de dicho número de regiones de LOH indicadoras, regiones de TAI indicadoras y/o regiones de LST indicadoras; (3) comparar dicho(s) valor(es) de prueba con uno o más valores de referencia (p. ej., valores de referencia derivados del número de regiones de LOH indicadoras, regiones de TAI indicadoras y/o regiones de LST indicadoras en una población de referencia (p. ej., media, mediana, terciles, cuartiles, quintiles, etc.)); y (4)(a) administrar a dicho paciente un fármaco contra el cáncer, o recomendar o prescribir o iniciar un régimen de tratamiento que comprenda quimioterapia y/o un agente de letalidad sintético basado, al menos en parte, en dicha etapa de comparación que revele que uno o más de los valores de la prueba es mayor (p. ej., al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces mayor; al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 desviaciones estándar mayores) que al menos uno de dichos valores de referencia; u opcionalmente (4)(b) recomendar o prescribir o iniciar un régimen de tratamiento que no comprenda quimioterapia y/o un agente de letalidad sintético basado al menos en parte en dicha etapa de comparación que revele que uno o más de los valores de prueba no es mayor (p. ej., no más de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces mayor; no más de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 desviaciones estándar mayores) que al menos uno de dichos valores de referencia. Para evitar dudas, los métodos de tratamiento no están incluidos en la invención reivindicada. La divulgación abarca, haciendo los cambios necesarios, realizaciones correspondientes donde el valor o la puntuación de prueba se utiliza para determinar el pronóstico del paciente, la probabilidad de respuesta del paciente a un régimen de tratamiento particular, la probabilidad del paciente o de la muestra del paciente de tener una deficiencia de BRCA1, BRCA2, RAD51C o HDR, etc.
- La figura 8 muestra un proceso ilustrativo por el cual un sistema informático (o un programa informático (p. ej., *software*) que contiene instrucciones ejecutables por ordenador) puede identificar locus o regiones de LOH a partir de datos de genotipo como se describe en el presente documento. Como será obvio para los expertos en la materia, este proceso puede adaptarse para su uso en la determinación de TAI y LST. Si la proporción observada de las señales de dos alelos, A y B, es de dos a uno, hay dos posibilidades. La primera posibilidad es que las células cancerosas tengan LOH con delección del alelo B en una muestra con un 50 % de contaminación con células normales. La segunda posibilidad es que no haya LOH pero el alelo A esté duplicado en una muestra sin contaminación con células normales. El proceso comienza en la casilla 1500, donde el sistema informático recopila los siguientes datos; (1) intensidades de señal normalizada específica de muestra de ambos alelos de cada locus y (2) conjunto de parámetros específicos de ensayo (específicos para diferentes matrices de SNP y para el enfoque basado en secuencias) definidos basándose en el análisis de una gran cantidad de muestras con perfiles conocidos de ASCN. Como se describe en el presente documento, para evaluar la homocigosidad o heterocigosidad de locus a lo largo de un cromosoma, puede utilizarse cualquier ensayo apropiado, tal como un ensayo basado en matriz de SNP o un ensayo basado en secuenciación. En algunos casos, puede utilizarse un sistema que incluya un sensor de señales y un ordenador para recopilar datos (p. ej., señales fluorescentes o resultados de secuenciación) con respecto a la naturaleza homocigota o heterocigota de la pluralidad de locus (p. ej., intensidades de señal normalizada específica de muestra en ambos alelos de cada locus). En la casilla 1510, en cada alelo, se reconstruyen los números de copias específicas de alelo (ASCN) (p. ej., cada SNP). Los ASCN son los números

de copias de alelos tanto paternos como maternos. En la casilla 1530, se utiliza una función de probabilidad para determinar si un locus homocigoto o una región de locus homocigoto se debe a una LOH. Esto puede ser conceptualmente análogo a un algoritmo descrito anteriormente diseñado para reconstruir el número total de copias (en lugar de ASCN) en cada locus (p. ej., SNP). Véase la solicitud internacional n.º PCT/US2011/026098 (publicada como WO 2011/106541) de Abkevich *et al.* La función de probabilidad puede maximizarse sobre el ASCN de todos los locus, el nivel de contaminación con tejido benigno, el número total de copias promediado en todo el genoma y el nivel de ruido específico de la muestra. En la casilla 1540, una región de LOH se determina como un tramo de los SNP siendo uno de los ASCN (paterno o materno) igual a cero. En algunas realizaciones, el proceso informático comprende además una etapa de indagar o determinar si un paciente no ha recibido tratamiento previo.

La figura 3 muestra un proceso ilustrativo mediante el cual un sistema informático puede determinar la presencia o ausencia de una firma de LOH y se incluye para ilustrar cómo este proceso puede, como será obvio para un experto en la materia, aplicarse al TAI y a la LST. El proceso comienza en la casilla 300, donde el sistema informático recopila datos relativos a la naturaleza homocigota o heterocigota de una pluralidad de locus a lo largo de un cromosoma. Como se describe en el presente documento, para evaluar la homocigosidad o heterocigosidad de locus a lo largo de un cromosoma, puede utilizarse cualquier ensayo apropiado, tal como un ensayo basado en matriz de SNP o un ensayo basado en secuenciación. En algunos casos, puede utilizarse un sistema que incluya un sensor de señales y un ordenador para recopilar datos (p. ej., señales fluorescentes o resultados de secuenciación) con respecto a la naturaleza homocigota o heterocigota de la pluralidad de loci. En la casilla 310, los datos relativos a la naturaleza homocigota o heterocigota de una pluralidad de locus, así como la ubicación o relación espacial de cada locus se evaluado con el sistema informático para determinar la longitud de cualquiera de las regiones de LOH presentes a lo largo de un cromosoma. En la casilla 320, el sistema informático evalúa los datos relacionados con el número de regiones de LOH detectadas y la longitud de cada región de LOH detectada para determinar el número de regiones de LOH que tienen una longitud (a) mayor que o igual a un número de Mb predeterminado (p. ej., 15 Mb) y (b) menor que toda la longitud del cromosoma que contiene esa región de LOH. Alternativamente, el sistema informático puede determinar la longitud total o combinada de LOH como se describe anteriormente. En la casilla 330, el sistema informático formatea un resultado que proporciona un indicio de la presencia o ausencia de una firma de HRD. Una vez formateado, el sistema informático puede presentar el resultado a un usuario (p. ej., un técnico de laboratorio, profesional médico o facultativo). Como se describe en el presente documento, la presencia o ausencia de una firma de HRD puede utilizarse para proporcionar un indicio sobre el probable estado de HDR de un paciente, un indicio sobre la probable presencia o ausencia de mutaciones genéticas en genes de la vía de HDR, y/o un indicio sobre posibles regímenes de tratamiento contra el cáncer.

La figura 4 es un diagrama de un ejemplo de un dispositivo informático 1400 y un dispositivo informático portátil 1450, que puede utilizarse con las técnicas descritas en el presente documento. El dispositivo informático 1400 está destinado a representar diversas formas de ordenadores digitales, tales como portátiles, ordenadores de escritorio, estaciones de trabajo, asistentes personales digitales, servidores, servidores blade, ordenadores centrales y otros ordenadores apropiados. El dispositivo informático 1450 está destinado a representar diversas formas de dispositivos portátiles, tales como asistentes digitales personales, teléfonos móviles, teléfonos inteligentes y otros dispositivos informáticos similares. Se pretende que los componentes mostrados en el presente documento, sus conexiones y relaciones, y sus funciones, sean solo ilustrativos, y no se pretende que limiten las implementaciones de los métodos descritos y/o reivindicados en este documento.

El dispositivo informático 1400 incluye un procesador 1402, una memoria 1404, un dispositivo de almacenamiento 1406, una interfaz de alta velocidad 1408 que se conecta a la memoria 1404 y puertos de expansión de alta velocidad 1410, y una interfaz de baja velocidad 1415 que se conecta a un bus de baja velocidad 1414 y al dispositivo de almacenamiento 1406. Cada uno de los componentes 1402, 1404, 1406, 1408, 1410 y 1415, están interconectados mediante diversos buses y pueden montarse en una placa base común o de otras formas, según corresponda. El procesador 1402 puede procesar instrucciones para su ejecución dentro del dispositivo informático 1400, incluidas las instrucciones almacenadas en la memoria 1404 o en el dispositivo de almacenamiento 1406 para mostrar información gráfica para una GUI (interfaz gráfica de usuario) en un dispositivo de entrada/salida externo, tal como una pantalla 1416 acoplada a la interfaz de alta velocidad 1408. En otras implementaciones, pueden utilizarse múltiples procesadores y/o múltiples buses, según sea apropiado, junto con múltiples memorias y tipos de memoria. Asimismo, se pueden conectar múltiples dispositivos informáticos 1400, proporcionando cada dispositivo partes de las operaciones necesarias (p. ej., como banco de servidores, un grupo de servidores blade o un sistema multiprocesador).

La memoria 1404 almacena información dentro del dispositivo informático 1400. En una implementación, la memoria 1404 es una unidad o unidades de memoria volátil. En otra implementación, la memoria 1404 es una unidad o unidades de memoria no volátil. La memoria 1404 también puede ser otra forma de medio legible por ordenador, tal como un disco magnético u óptico.

El dispositivo de almacenamiento 1406 es capaz de proporcionar almacenamiento masivo para el dispositivo informático 1400. En una implementación, el dispositivo de almacenamiento 1406 puede ser o contener un medio legible por ordenador, tal como un dispositivo de disco flexible, un dispositivo de disco duro, un dispositivo de disco óptico o un dispositivo de cinta, una memoria flash u otro dispositivo de memoria de estado sólido similar, o una

matriz de dispositivos, incluidos los dispositivos en una red de área de almacenamiento u otras configuraciones. Un producto de programa informático puede incorporarse de forma tangible en un soporte de información. El producto de programa informático también puede contener instrucciones que, cuando se ejecutan, realizan uno o más métodos, tales como los descritos en el presente documento. El soporte de información es un medio legible por ordenador o máquina, tal como la memoria 1404, el dispositivo de almacenamiento 1406, la memoria en el procesador 1402, o una señal propagada.

El controlador de alta velocidad 1408 gestiona las operaciones intensivas de ancho de banda del dispositivo informático 1400, mientras que el controlador de baja velocidad 1415 gestiona operaciones intensivas de ancho de banda más bajas. Esta asignación de funciones es solo ilustrativa. En una implementación, el controlador de alta velocidad 1408 está acoplado a la memoria 1404, a la pantalla 1416 (p. ej., a través de un procesador de gráficos o acelerador) y a los puertos de expansión de alta velocidad 1410, que pueden aceptar diversas tarjetas de expansión (no mostradas). En la implementación, el controlador de baja velocidad 1415 está acoplado al dispositivo de almacenamiento 1406 y al puerto de expansión de baja velocidad 1414. El puerto de expansión de baja velocidad, que puede incluir diversos puertos de comunicación (p. ej., USB, Bluetooth, Ethernet o Ethernet inalámbrico) puede acoplarse a uno o más dispositivos de entrada/salida, tal como un teclado, un dispositivo señalador, un escáner, un lector óptico, un detector de señal fluorescente o un dispositivo de red tal como un conmutador o enrutador, p. ej., a través de un adaptador de red.

El dispositivo informático 1400 puede implementarse en varias formas diferentes, como se muestra en la figura. Por ejemplo, puede implementarse como servidor estándar 1420, o varias veces en un grupo de tales servidores. También puede implementarse como parte de un sistema de servidor en rack 1424. Además, puede implementarse en un ordenador personal tal como un ordenador portátil 1422. Como alternativa, los componentes del dispositivo informático 1400 pueden combinarse con otros componentes en un dispositivo portátil (no mostrado), tal como el dispositivo 1450. Cada uno de dichos dispositivos puede contener uno o más del dispositivo informático 1400, 1450, y un sistema completo puede estar formado por múltiples dispositivos informáticos 1400, 1450 que se comunican entre sí.

El dispositivo informático 1450 incluye un procesador 1452, una memoria 1464, un dispositivo de entrada/salida tal como una pantalla 1454, una interfaz de comunicación 1466 y un transceptor 1468, entre otros componentes (p. ej., un escáner, un lector óptico, un detector de señal fluorescente). El dispositivo 1450 también puede estar provisto de un dispositivo de almacenamiento, tal como un microdrive u otro dispositivo, para proporcionar almacenamiento adicional. Cada uno de los componentes 1450, 1452, 1464, 1454, 1466 y 1468, están interconectados mediante diversos buses, y varios de los componentes se pueden montar en una placa base común o de otras formas, según corresponda.

El procesador 1452 puede ejecutar instrucciones dentro del dispositivo informático 1450, incluidas las instrucciones almacenadas en la memoria 1464. El procesador puede implementarse como un conjunto de chips que incluyen procesadores analógicos y digitales múltiples y separados. El procesador puede proporcionar, por ejemplo, la coordinación de los demás componentes del dispositivo 1450, tal como el control de las interfaces de usuario, aplicaciones ejecutadas por el dispositivo 1450 y comunicación inalámbrica por el dispositivo 1450.

El procesador 1452 puede comunicarse con un usuario a través de la interfaz de control 1458 y la interfaz de pantalla 1456 acoplada a la pantalla 1454. La pantalla 1454 puede ser, por ejemplo, una pantalla TFT LCD (pantalla de cristal líquido de transistor de película delgada) o una pantalla OLED (diodo emisor de luz orgánica) u otra tecnología de pantalla adecuada. La interfaz de pantalla 1456 puede comprender circuitos apropiados para activar la pantalla 1454 para presentar gráficos y otros datos a un usuario. La interfaz de control 1458 puede recibir órdenes de un usuario y convertirlas para enviarlas al procesador 1452. Además, se puede proporcionar una interfaz externa 1462 en comunicación con el procesador 1452, para permitir la comunicación de área cercana del dispositivo 1450 con otros dispositivos. La interfaz externa 1462 puede proporcionar, por ejemplo, la comunicación por cable en algunas implementaciones, o la comunicación inalámbrica en otras implementaciones, y también pueden utilizarse múltiples interfaces.

La memoria 1464 almacena información dentro del dispositivo informático 1450. La memoria 1464 puede implementarse como uno o más de un medio o medios legibles por ordenador, una unidad o unidades de memoria volátil, o una unidad o unidades de memoria no volátil. La memoria de expansión 1474 también se puede proporcionar y conectar al dispositivo 1450 a través de la interfaz de expansión 1472, que puede incluir, por ejemplo, una interfaz de tarjeta SIMM (Módulo de memoria en línea simple). Dicha memoria de expansión 1474 puede proporcionar espacio de almacenamiento adicional para el dispositivo 1450, o también puede almacenar aplicaciones u otros datos para el dispositivo 1450. Por ejemplo, la memoria de expansión 1474 puede incluir instrucciones para llevar a cabo o complementar los procesos descritos anteriormente, y también puede incluir información segura. Por tanto, por ejemplo, la memoria de expansión 1474 puede proporcionarse como un módulo de seguridad para el dispositivo 1450 y puede programarse con instrucciones que permitan un uso seguro del dispositivo 1450. Además, a través de las tarjetas SIMM pueden proporcionarse aplicaciones seguras, junto con información adicional, tal como colocar información de identificación en la tarjeta SIMM de manera que no se pueda piratear.

5 La memoria puede incluir, por ejemplo, memoria flash y/o memoria NVRAM, como se explica más adelante. En una implementación, un producto de programa informático está incorporado de forma tangible en un soporte de información. El producto de programa informático contiene instrucciones que, cuando se ejecutan, realizan uno o más métodos, tales como los descritos en el presente documento. El soporte de información es un medio legible por ordenador o máquina, tal como la memoria 1464, la memoria de expansión 1474, la memoria en el procesador 1452, o una señal propagada que puede recibirse, por ejemplo, sobre el transceptor 1468 o la interfaz externa 1462.

10 El dispositivo 1450 puede comunicarse de forma inalámbrica a través de la interfaz de comunicación 1466, que puede incluir circuitos de procesamiento de señales digitales donde sea necesario. La interfaz de comunicación 1466 puede proporcionar comunicaciones en diversos modos o protocolos, tal como llamadas de voz GSM, SMS, mensajería EMS o MMS, CDMA, TDMA, PDC, WCDMA, CDMA2000 o GPRS, entre otros. Dicha comunicación puede producirse, por ejemplo, a través del transceptor de radiofrecuencia 1468. Además, puede producirse una comunicación de corto alcance, tal como el uso de un Bluetooth, WiFi u otro transceptor similar (no mostrado). Además, el módulo receptor de GPS (sistema de posicionamiento global) 1470 puede proporcionar al dispositivo 1450 datos inalámbricos adicionales relacionados con la navegación y la ubicación, que las aplicaciones que se ejecutan en el dispositivo 1450 pueden utilizar según sea apropiado.

20 El dispositivo 1450 también puede comunicarse de forma audible mediante un códec de audio 1460, que puede recibir información hablada de un usuario y convertirla en información digital utilizable. El códec de audio 1460 también puede generar sonido audible para un usuario, tal como a través de un altavoz, p. ej., en un auricular del dispositivo 1450. Dicho sonido puede incluir el sonido de llamadas telefónicas de voz, puede incluir sonido grabado (p. ej., mensajes de voz, archivos de música, etc.) y también puede incluir sonido generado por aplicaciones que operan en el dispositivo 1450.

El dispositivo informático 1450 puede implementarse en varias formas diferentes, como se muestra en la figura. Por ejemplo, puede implementarse como un teléfono móvil 1480. También puede implementarse como parte de un teléfono inteligente 1482, asistente digital personal u otro dispositivo móvil similar.

30 Pueden realizarse diversas implementaciones de los sistemas y técnicas descritos en el presente documento en circuitos electrónicos digitales, circuitos integrados, ASIC (circuitos integrados para aplicaciones específicas), equipos informáticos, microprogramas, programas informáticos y/o combinaciones de los mismos. Estas diversas implementaciones pueden incluir su implementación en uno o más programas informáticos que pueden ejecutarse y/o interpretarse en un sistema programable que incluya, al menos, un procesador programable, que puede ser de uso especial o general, acoplado para recibir datos e instrucciones desde, y para transmitir datos e instrucciones a, un sistema de almacenamiento, al menos un dispositivo de entrada y al menos un dispositivo de salida.

40 Estos programas informáticos (también conocidos como programas, *software*, aplicaciones o códigos *software*) incluyen instrucciones por ordenador para un procesador programable, y pueden implementarse en un lenguaje de programación procedimental y/u orientado a objetos de alto nivel, y/o en lenguaje ensamblador/informático. Como se usa en el presente documento, las expresiones "medio legible por máquina" y "medio legible por ordenador" se refieren a un producto de programa informático, aparato y/o dispositivo (p. ej., discos magnéticos, discos ópticos, memoria y dispositivos lógicos programables (PLD)) utilizados para proporcionar instrucciones y/o datos de máquina a un procesador programable, que incluyen un medio legible por máquina que recibe instrucciones de la máquina como una señal legible por máquina. La expresión "señal legible por máquina" se refiere a cualquier señal utilizada para proporcionar instrucciones y/o datos informáticos a un procesador programable.

50 Para facilitar la interacción con un usuario, los sistemas y técnicas descritos en el presente documento pueden implementarse en un ordenador que tenga un dispositivo de visualización (p. ej., un monitor CRT (tubo de rayos catódicos) o LCD (pantalla de cristal líquido)) para mostrar información al usuario y un teclado y un dispositivo señalador (p. ej., un ratón o una bola de desplazamiento) mediante el cual el usuario puede proporcionar introducir datos en el ordenador. También pueden utilizarse otros tipos de dispositivos para permitir la interacción con un usuario; por ejemplo, la retroalimentación proporcionada al usuario puede ser cualquier forma de retroalimentación sensorial (p. ej., retroalimentación visual, retroalimentación auditiva o retroalimentación táctil); y la entrada del usuario puede recibirse de cualquier forma, incluida la entrada acústica, por voz o táctil.

60 Los sistemas y técnicas descritos en el presente documento pueden implementarse en un sistema informático que incluya un componente *back end* (p. ej., como un servidor de datos), o que incluya un componente *middleware* (p. ej., un servidor de aplicaciones), o que incluya un componente *front end* (p. ej., un ordenador cliente que disponga de una interfaz gráfica de usuario o un navegador web a través del cual un usuario puede interactuar con una implementación de los sistemas y técnicas descritos en el presente documento), o cualquier combinación de dichos componentes *back end*, *middleware* o *front end*. Los componentes del sistema pueden estar interconectados por cualquier forma o medio de comunicación de datos digitales (p. ej., una red de comunicación). Entre los ejemplos de redes de comunicación se incluyen una red de área local ("LAN"), una red de área amplia ("WAN") e Internet.

El sistema informático puede incluir clientes y servidores. Un cliente y servidor suelen ser remotos entre sí y, normalmente, interactúan a través de una red de comunicación. La relación entre el cliente y el servidor surge en virtud de los programas informáticos que se ejecutan en los respectivos ordenadores y que tienen una relación cliente-servidor entre sí.

En algunos casos, un sistema informático proporcionado en el presente documento puede configurarse para que incluya uno o más analizadores de muestras. Un analizador de muestras puede configurarse para producir una pluralidad de señales sobre el ADN genómico de al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa. Por ejemplo, un analizador de muestras puede producir señales que pueden interpretarse de una manera que identifique el genotipo de los locus a lo largo de un cromosoma. En algunos casos, un analizador de muestras puede configurarse para llevar a cabo una o más etapas de un ensayo basado en matriz de SNP o un ensayo basado en secuenciación y puede configurarse para producir y/o capturar señales de dichos ensayos. En algunos casos, un sistema informático proporcionado en el presente documento puede configurarse para que incluya un dispositivo informático. En esos casos, el dispositivo informático puede configurarse para recibir señales de un analizador de muestras. El dispositivo informático puede incluir instrucciones ejecutables por ordenador o un programa de ordenador (p. ej., *software*) que contiene instrucciones ejecutables por ordenador para llevar a cabo uno o más de los métodos o etapas descritos en el presente documento. En algunos casos, dichas instrucciones ejecutables por ordenador pueden instruir a un dispositivo informático para analizar señales de un analizador de muestras, desde otro dispositivo informático, de un ensayo basado en matrices SNP o de un ensayo basado en secuenciación. El análisis de dichas señales puede llevarse a cabo para determinar genotipos, homocigosidad u otras aberraciones cromosómicas en determinados locus, regiones de AC, el número de regiones de AC, para determinar el tamaño de las regiones de AC, para determinar el número de las regiones de AC que tienen un tamaño o un intervalo de tamaños particular, para determinar si una muestra es o no positiva para una firma de HRD, para determinar el número de regiones de AC Indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos, para determinar la probabilidad de una deficiencia en los genes BRCA1 y/o BRCA2, para determinar la probabilidad de una deficiencia en HDR, para determinar la probabilidad de que un paciente con cáncer responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer particular (p. ej., un régimen que incluye un agente que daña el ADN, una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa I, radiación, un inhibidor de PARP, o una combinación de los mismos), o para determinar una combinación de estos elementos.

En algunos casos, un sistema informático proporcionado en el presente puede incluir instrucciones ejecutables por ordenador o un programa de ordenador (p. ej., *software*) que contiene instrucciones ejecutables por ordenador para formatear un resultado que proporciona un indicio sobre el número de regiones de AC, el tamaño de las regiones de AC, el número de regiones de CA que tienen un tamaño o intervalo de tamaños particular, si una muestra es o no positiva para una firma de HRD, el número de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos, una probabilidad de una deficiencia en los genes BRCA1 y/o BRCA2, para determinar la probabilidad de una deficiencia en HDR, la probabilidad de que un paciente con cáncer responda a un régimen de tratamiento contra el cáncer en particular (p. ej., un régimen que incluye un agente que daña el ADN, una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa I, radiación, un inhibidor de PARP, o una combinación de los mismos), o una combinación de estos elementos. En algunos casos, un sistema informático proporcionado en el presente puede incluir instrucciones ejecutables por ordenador o un programa de ordenador (p. ej., *software*) que contiene instrucciones ejecutables por ordenador para determinar un régimen de tratamiento contra el cáncer deseado para un paciente en particular basándose, al menos en parte, en la presencia o ausencia de una firma de HRD o en el número de regiones de AC indicadoras.

En algunos casos, un sistema informático proporcionado en el presente documento puede incluir un dispositivo de preprocesamiento configurado para procesar una muestra (p. ej., células cancerosas) de modo que se pueda realizar un ensayo basado en matriz de SNP o un ensayo basado en secuenciación. Como ejemplos de dispositivos de preprocesamiento se incluyen, sin limitación, dispositivos configurados para enriquecer las poblaciones celulares de células cancerosas en lugar de células no cancerosas, dispositivos configurados para causar la lisis de las células y/o extraer ácido nucleico genómico, y dispositivos configurados para enriquecer una muestra en fragmentos de ADN genómico particulares.

Este documento también proporciona kits para evaluar muestras (p. ej., células cancerosas) como se describe en el presente documento. Por ejemplo, este documento proporciona kits para evaluar la presencia de una firma de HRD en las células cancerosas o para determinar el número de regiones de AC indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos. Un kit proporcionado en el presente documento puede incluir sondas de SNP (p. ej., una matriz de sondas de SNP para llevar a cabo un ensayo basado en matrices de SNP descrito en el presente documento) o cebadores (p. ej., cebadores diseñados para secuenciar regiones SNP a través de un ensayo basado en secuenciación) junto con un producto de programa informático que contiene instrucciones ejecutables por ordenador para llevar a cabo uno o más de los métodos o etapas descritos en el presente documento (p. ej., instrucciones ejecutables por ordenador para determinar el número de regiones de AC indicadoras). En algunos casos, un kit proporcionado en el presente documento puede incluir al menos 500, 1000, 10.000, 25.000 o 50.000 sondas de SNP capaces de hibridar con regiones polimórficas de ADN genómico humano. En algunos casos, un kit proporcionado en el presente documento puede incluir al menos 500, 1000, 10.000, 25.000 o 50.000 cebadores

capaces de secuenciar regiones polimórficas de ADN genómico humano. En algunos casos, un kit proporcionado en el presente documento puede incluir uno o más ingredientes distintos para realizar un ensayo basado en matriz de SNP o un ensayo basado en secuenciación. Como ejemplos de dichos ingredientes distintos se incluyen, sin limitación, tampones, nucleótidos de secuenciación, enzimas (p. ej., polimerasas), etc. Este documento también proporciona el uso de cualquier número apropiado de los materiales proporcionados en este documento en la fabricación de un kit para llevar a cabo uno o más de los métodos o etapas descritos en el presente documento. Por ejemplo, este documento proporciona el uso de una colección de sondas de SNP (p. ej., una colección de 10.000 a 100.000 sondas de SNP) y un producto de programa informático proporcionado en el presente documento en la fabricación de un kit para evaluar la presencia de una firma de HRD en células cancerosas. Como otro ejemplo, este documento proporciona el uso de una colección de cebadores (p. ej., una colección de 10.000 a 100.000 cebadores para secuenciar regiones de SNP) y un producto de programa informático proporcionado en el presente documento en la fabricación de un kit para evaluar la presencia de una firma de HRD en células cancerosas.

15 REALIZACIONES ESPECÍFICAS

A continuación se muestran realizaciones específicas de la presente divulgación, es decir, detalles ilustrativos pero no limitativos de métodos y sistemas de acuerdo con la descripción más general anterior.

20 En algunas realizaciones, la muestra utilizada es una muestra de tumor congelada. En algunas realizaciones, la muestra es de un subtipo particular de cáncer de mama elegido entre triple negativo, ER+/HER2-, ER-/HER2+ o ER+/HER2+. En algunas realizaciones, la parte del ensayo de laboratorio del método, sistema, etc. comprende analizar la muestra para secuenciar los genes BRCA1 y/o BRCA2 (así como cualquier otro gen o genes de la Tabla 1). En algunas realizaciones, la parte del ensayo de laboratorio del método, sistema, etc. comprende analizar la muestra para determinar la dosis alélica (p. ej., genotipo, número de copias, etc.) para al menos 10.000, 20.000, 30.000, 40.000, 50.000, 60.000, 70.000, 80.000, 90.000, 100.000 o más SNP seleccionados en todo el genoma. En algunas realizaciones, el análisis de SNP se realiza utilizando una micromatriz de oligonucleótidos como se ha explicado anteriormente. En algunas realizaciones, el análisis de secuencia del BRCA, el análisis de SNP, o ambos, se realizan utilizando una sonda de captura (p. ej., sondas para cada SNP a analizar y/o sondas para capturar toda la región codificante de BRCA1 y/o BRCA2) con una técnica de enriquecimiento de PCR posterior (p. ej., Agilent™ SureSelect XT). En algunas realizaciones, el análisis de secuencia del BRCA, el análisis de SNP, o ambos, se realizan procesando el resultado de la técnica de enriquecimiento utilizando una plataforma de secuenciación de "última generación" (p. ej., Illumina™ HiSeq2500). En algunas realizaciones, la muestra se analiza con respecto a mutaciones somáticas y/o de la línea germinal de BRCA1/2, que puede incluir grandes reordenamientos. En algunas realizaciones, la muestra se analiza con respecto a la metilación del promotor de BRCA1 (p. ej., mediante un ensayo de PCRc (PCR cuantitativa) (p. ej., SA Biociencias)). En algunas realizaciones, se determina que una muestra tiene metilación alta (o está "metilada") si la muestra tiene una metilación mayor del 10 % (o 5 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %) (p. ej., % de las CpG del promotor de BRCA1 o BRCA2 metiladas). En algunas realizaciones, puede analizarse ADN de tejido normal compatible (no tumoral) de un paciente, p. ej., para determinar si las mutaciones de BRCA1 o BRCA2 son de línea germinal o somáticas.

En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LOH puede calcularse contando el número de regiones de LOH que tengan una longitud > de 15 Mb, pero más corta que la longitud de un cromosoma completo. En algunas realizaciones, la puntuación de la región de TAI puede calcularse contando el número de regiones teloméricas con desequilibrio alélico que tienen una longitud >11 Mb que se extiende hasta uno de los subtelómeros, pero que no atraviesan el centrómero. En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LST puede calcularse contando el número de puntos de rotura entre regiones más largas que 10 megabases que tienen un número de copias estable después de eliminar por filtrado regiones más cortas que 3 megabases. En algunas realizaciones, la puntuación de la región de LST puede modificarse ajustándola por ploidía: $LST_m = LST - kP$, donde P es ploidía y k es una constante (en algunas realizaciones, $k = 15,5$). En algunas realizaciones, la deficiencia de BRCA1/2 puede definirse como pérdida de función resultante de una mutación de BRCA1 o BRCA2, o metilación de la región promotora de BRCA1 o BRCA2, junto con la LOH en el gen afectado. En algunas realizaciones, la respuesta al tratamiento puede ser una respuesta completa parcial ("RCp"), que en algunas realizaciones puede definirse como estado 5 de Miller-Payne después del tratamiento (p. ej., neoadyuvante).

En algunas realizaciones, el método reivindicado predice la deficiencia de BRCA con un valor de p (probabilidad) de al menos 8×10^{-12} , 6×10^{-6} , 0,0009, 0,01, 0,03, 2×10^{-16} , 3×10^{-6} , 10^{-6} , 0,0009, 8×10^{-12} , 2×10^{16} , 8×10^{-8} , 6×10^{-6} , 3×10^{-6} , o 0,0002 (p. ej., cada puntuación de la región de AC está predefinida y, opcionalmente, se combinan múltiples puntuaciones de tal manera que den estos valores de p). En algunas realizaciones, los valores de p se calculan según la prueba de Kolmogorov-Smirnov. En algunas realizaciones, las puntuaciones de HRD y la edad en el momento del diagnóstico pueden codificarse como una variable numérica (p. ej., número entero), el estadio y el subtipo del cáncer de mama pueden codificarse como variables categóricas, y el grado puede analizarse como una variable numérica o categórica, o ambas.

En algunas realizaciones, los valores de p son bilaterales. En algunas realizaciones, puede utilizarse análisis de regresión logística para predecir la deficiencia de BRCA1/2 basándose en una puntuación de HRD como se desvela

en el presente documento, incluida la puntuación de HRD combinada). En algunas realizaciones, las diversas puntuaciones de la región de AC se correlacionan de acuerdo con (p. ej., definidas para lograr) los siguientes coeficientes de correlación: Puntuación de la región de LOH y puntuación de la región de TAI = 0,69 ($p = 10^{-39}$), entre LOH y LST = 0,55 ($p = 2 \times 10^{-19}$), y entre TAI y LST = 0,39 ($p = 10^{-9}$).

5 En algunas realizaciones, el método combina la puntuación de la región de LOH y la puntuación de la región de TAI de la siguiente manera para detectar la deficiencia de BRCA1/2 y/o predecir la respuesta a la terapia (p. ej., respuesta a la terapia con platino, p. ej., cisplatino): Puntuación de la región de AC combinada = 0,32*puntuación de la región de LOH + 0,68*puntuación de la región de TAI. En algunas realizaciones, el método combina la
10 puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST de la siguiente manera para detectar la deficiencia de BRCA1/2 y/o predecir la respuesta a la terapia (p. ej., respuesta a la terapia con platino, p. ej., cisplatino): Puntuación de la región de AC combinada = 0,21*puntuación de la región de LOH + 0,67*puntuación de la región de TAI + 0,12*puntuación de la región de LST. En algunas realizaciones, el método combina la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la
15 región de LST de la siguiente manera para detectar la deficiencia de BRCA1/2 y/o predecir la respuesta a la terapia (p. ej., respuesta a la terapia con platino, p. ej., cisplatino): Puntuación de la región de AC combinada = 0,11*puntuación de la región de LOH + 0,25*puntuación de la región de TAI + 0,12*puntuación de la región de LST. En algunas realizaciones, el método combina la puntuación de la región de LOH, la puntuación de la región de TAI y la puntuación de la región de LST de la siguiente manera para detectar la deficiencia de BRCA1/2 y/o predecir la
20 respuesta a la terapia (p. ej., respuesta a la terapia con platino, p. ej., cisplatino): Puntuación de la región de AC combinada = Media aritmética de la puntuación de la región de LOH, puntuación de la región de TAI y puntuación de la región de LST.

25 En algunas realizaciones, el estado de deficiencia de BRCA y el estado de HRD pueden combinarse para predecir la respuesta a la terapia. Por ejemplo, la divulgación puede incluir un método de predicción de la respuesta del paciente (p. ej., un paciente con cáncer de mama triple negativo) a un régimen de tratamiento contra el cáncer, que comprende un agente que daña el ADN (p. ej., un agente de platino, p. ej., cisplatino), una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa I, radiación y/o un inhibidor de PARP, comprendiendo el método:

30 determinar, en una célula cancerosa de una muestra de un paciente, el número de regiones de AC indicadoras (p. ej., regiones de LOH indicadoras, regiones de TAI indicadoras, regiones de LST indicadoras, o cualquier combinación de las mismas) en al menos un par de cromosomas humanos de una célula cancerosa de dicho paciente con cáncer;
35 determinar si una célula cancerosa de una muestra de un paciente es deficiente en BRCA1 o BRCA2 (p. ej., mutación perjudicial, alta metilación del promotor); y
diagnosticar a un paciente en cuya muestra (a) dicho número de regiones de AC indicadoras sea superior a un número de referencia o (b) haya una deficiencia de BRCA1 o BRCA2, o tanto (a) como (b), que tenga mayor probabilidad de responder a dicho régimen de tratamiento contra el cáncer.

40 Ejemplos

Ejemplo 1- Puntuaciones de las regiones de LOH y TAI en subtipos de cáncer de mama y asociación con la deficiencia de BRCA1/2

45 Se ha desarrollado una firma de LOH basada en perfiles de LOH de tumor de todo el genoma que está muy correlacionada con defectos en BRCA1/2 y con otros genes de la vía de HDR en cáncer de ovario (Abkevich, et al., Patterns of Genomic Loss of Heterozygosity Predict Homologous Recombination Repair Defects, BR. J. CANCER (2012)), y que predice la respuesta a la terapia con agentes que dañan el ADN (p. ej., neoadyuvante basado en platino) en cáncer de mama (Telli et al., Homologous Recombination Deficiency (HRD) score predicts
50 response following neoadjuvant platinum-based therapy in triple-negative and BRCA1/2 mutation-associated breast cancer [BC], CANCER RES. (2012)). Una segunda puntuación basada en la puntuación de TAI también muestra una fuerte correlación con los defectos de BRCA1/2 y predice una respuesta al tratamiento con platino en el cáncer de mama triple negativo (Birkbak *et al.*, Telomeric allelic imbalance indicates defective DNA repair and sensitivity to DNA-damaging agents, CANCER DISCOV. (2012)). En este estudio se examinó la frecuencia de los defectos
55 de BRCA1/2 y la puntuación elevada de la región de LOH o de TAI en los subtipos de cáncer de mama definidos por el estado ER/PR/HER2.

60 Se adquirieron tumores congelados en 3 biobancos de tejidos comerciales. Para el análisis, se seleccionaron aproximadamente 50 tumores determinados al azar de cada uno de los 4 subtipos de cáncer de mama (triple negativo, ER+/HER2-, ER-/HER2+, ER+/HER2+). Se desarrolló un panel de hibridación personalizado específico dirigido a BRCA1, BRCA2 y a 50.000 SNP seleccionados en todo el genoma. Este panel, junto con la secuenciación en el Illumina HiSeq2500, se utilizó para analizar los tumores con respecto a mutaciones somáticas y de línea germinal de BRCA1/2, incluyendo grandes reordenamientos y dosis alélicas de SNP. La metilación del promotor de BRCA1 se determinó mediante un ensayo de PCRC (SA Biosciences). Cuando estaba disponible, se utilizó ADN
65 de tejido normal para determinar si las mutaciones perjudiciales eran de línea germinal o somática.

Los datos de SNP se analizaron utilizando un algoritmo que determina el número de copias específico de alelo más probable en cada ubicación de SNP. La puntuación de la región LOH se calculó contando el número de regiones de LOH que tenían una longitud >15 Mb, pero más corta que la longitud de un cromosoma completo. La puntuación de la región de TAI se calculó contando el número de regiones teloméricas con desequilibrio alélico que tenían una longitud >11 Mb, pero que no atraviesan el centrómero. Se excluyeron muestras con datos de SNP de baja calidad y/o con alta contaminación con ADN normal. De 213 muestras, 191 arrojaron puntuaciones consistentes.

Tabla 2: Deficiencia de BRCA1/2 en subtipos IHQ de cáncer de mama.

Subtipo	n	Mutaciones de BRCA1	Mutaciones de BRCA2	Total de Mutantes (%)	Metilación del promotor de BRCA1 (%)
Triple negativo	61	10	3	10 (16,4)	12 (19,7)
ER+/HER2-	51	2	2	4 (7,8)	1 (1,9)
ER-/HER2+	38	3	1	4 (10,5)	0
ER+/HER2+	63	8	1	7 (11,1)	1 (1,6)

Tabla 3: El cribado de mutaciones se realizó en tejido normal compatible de 17 de los mutantes de BRCA1/2. 13 de los 17 individuos (76,5 %) tenían una mutación de la línea germinal.

Subtipo	Perfil de mutación tumoral	n	Línea germinal	Somático
Triple negativo	1 mutación BRCA1	3	2	1
	1 mutación BRCA2	1	1	0
	2 mutaciones de BRCA1	1	1	1
	1 mutación de BRCA1 y 2 mutaciones de BRCA2	1	1 (BRCA2)	2
ER+/HER2-	1 mutación BRCA1	1	1	0
	1 mutación BRCA2	2	2	0
ER-/HER2+	1 mutación BRCA1	2	1	1
ER+/HER2+	1 mutación BRCA1	3	1	2
	2 mutaciones de BRCA1	2*	2	2
	1 mutación BRCA2	1	1	0

* Cada individuo tenía 1 mutación en la línea germinal y 1 mutación somática en BRCA1.

Tabla 4: Asociación entre la puntuación de LOH o de TAI y deficiencia de BRCA1/2

Subtipo	n (BRCA1/2 deficiente)	Puntuación media de LOH			Puntuación media de TAI		
		BRCA1/2 inalterado	BRCA1/2 deficiente	valor de p	BRCA1/2 inalterado	BRCA1/2 deficiente	valor de p
Todos	191 (38)	8,1	16,5	8*10 ⁻¹²	5,7	13,9	2*10 ⁻¹⁶
Triple negativo	53 (22)	8,3	18,1	6*10 ⁻⁶	6,7	13,2	3*10 ⁻⁶
ER+/HER2+	56 (8)	7,4	13,6	0,0009	5	15,6	10-6
ER+/HER2-	47 (5)	7,7	15	0,01	5	16	0,0009
ER-/HER2+	34 (3)	9,5	15,3	0,03	6,6	11,3	NS

La figura 5 muestra las puntuaciones de las regiones de LOH y de TAI en los subtipos IHQ de cáncer de mama. 5A: puntuación de LOH; 5B: puntuación de TAI. Barras azules: muestras deficientes en BRCA1/2. Barras rojas: Muestras de BRCA1/2 inalteradas. La figura 6 muestra la correlación entre las puntuaciones de la región de LOH y de TAI (coeficiente de correlación = 0,69). Eje X: puntuación de LOH; Eje Y: puntuación de TAI; puntos rojos: muestras inalteradas; puntos azules: muestras deficientes en BRCA1/2. El área bajo los puntos es proporcional al número de muestras con esa combinación de puntuaciones de LOH y TAI ($p = 10^{-39}$).

Se utilizó un análisis de regresión logística para predecir la deficiencia de BRCA1/2 basándose en las puntuaciones de LOH y TAI. Ambas puntuaciones fueron significativas en un análisis multivariante (el valor de χ^2 de la LOH era de 10,8 y el del TAI de 44,7; $p = 0,001$ y $2,3 \cdot 10^{-11}$). El mejor modelo de diferenciación entre muestras de BRCA1/2 deficientes e inalteradas es $0,32 \cdot$ puntuación de la región de LOH + $0,68 \cdot$ puntuación de la región de TAI ($p = 9 \cdot 10^{-18}$).

Conclusiones: las puntuaciones elevadas de las regiones de LOH y TAI están muy asociadas con la deficiencia

de BRCA1/2 en todos los subtipos de cáncer de mama; las puntuaciones de las regiones de LOH y TAI están significativamente muy correlacionadas; una puntuación de la región de AC combinada (es decir, combinación de LOH y TAI) muestra la correlación óptima con la deficiencia de BRCA1/2 en este conjunto de datos. La combinación de puntuaciones de LOH-HRD y TAI-HRD puede, basándose en la presente divulgación, predecir la respuesta a agentes que dañan el ADN y a otros agentes (p. ej., terapia con platino) en cáncer de mama triple negativo, y permitir ampliar el uso del platino a otros subtipos de cáncer de mama.

Ejemplo 2- Puntuaciones de las regiones de LOH, TAI y LST en subtipos de cáncer de mama y asociación con la deficiencia de BRCA1/2

Se obtuvieron las proporciones de frecuencia alélica de SNP y se utilizaron para calcular las puntuaciones de las regiones de LOH, TAI y LST como se describe en el Ejemplo 1. La puntuación de LST se definió como el número de puntos de rotura entre regiones más largas que 10 megabases que tienen un número de copias estable después de eliminar por filtrado regiones más cortas que 3 megabases. Se observó que la puntuación de LST aumentaba con la ploidía en muestras tanto inalteradas como deficientes. Por lo tanto, en lugar de utilizar puntos de corte específicos de ploidía en este Ejemplo 2, se modificó la puntuación de la región de LST ajustándola por ploidía: $LST_m = LST - kP$, donde P es ploidía y k es una constante. Basado en un análisis de regresión logística multivariante con deficiencia como un resultado y LST y P como variables independientes, $k = 15,5$.

De 214 muestras, 191 dieron puntuaciones que pasaron los criterios de CC utilizados. De estas muestras, 38 eran deficientes en BRCA1/2. Los valores de p correspondientes según la prueba de Kolmogorov-Smirnov son: para la puntuación de la región de LOH de 8×10^{-12} , para la puntuación de la región de TAI de 2×10^{-16} y para la puntuación de la región de LST de 8×10^{-8} . De 191 muestras, 53 eran de cáncer de mama triple negativo, incluyendo 22 que eran deficientes en BRCA1/2. Los valores de p correspondientes fueron 6×10^{-6} , 3×10^{-6} y 0,0002 para las puntuaciones de las regiones de LOH, TAI y LST respectivamente. Cuando se realiza el mismo análisis para cada subtipo individual de cáncer de mama, también se observan valores de p significativos para todos los subtipos con al menos una de las puntuaciones (Tabla 5). En la figura 7A-C se muestra la distribución de las puntuaciones de las muestras deficientes en BRCA1/2 frente a las muestras inalteradas de BRCA1/2.

A continuación, se analizaron las puntuaciones para determinar si estaban correlacionadas (figura 2D-F). El coeficiente de correlación entre la puntuación de la región de LOH y la puntuación de la región de TAI fue de 0,69 ($p = 10^{-39}$), entre LOH y LST fue de 0,55 ($p = 2 \times 10^{-19}$) y entre TAI y LST fue de 0,39 ($p = 10^{-9}$).

Para predecir la deficiencia de BRCA1/2, se utilizó un análisis de regresión logística basándose en las puntuaciones de LOH, TAI y LST. Las tres puntuaciones fueron significativas en un análisis multivariante (el valor de χ^2 para LOH era de 5,1 ($p = 0,02$), para TAI de 44,7 ($p = 2 \times 10^{-11}$) y para LST de 5,4 ($p = 0,02$)). En este conjunto de datos, el mejor modelo de diferenciación entre muestras de BRCA1/2 deficientes e inalteradas era $0,21 \times LOH + 0,67 \times TAI + 0,12 \times LST$ ($p = 10^{-18}$). Este Ejemplo 2 amplía las conclusiones del Ejemplo 1 (es decir, un modelo que combina las puntuaciones de las regiones de LOH y TAI) a un modelo que combina las puntuaciones de las regiones de LOH, TAI y LST.

Otros datos clínicos que estaban disponibles para muchas de las muestras incluyeron estadio, grado y edad de diagnóstico. La información de estadio estuvo disponible para 64/191 muestras. El coeficiente de correlación entre el estadio y la puntuación de la región de LOH (0,07) y la puntuación de la región de TAI (0,1) no fue significativo. La información de grado estuvo disponible para 164/191 muestras. El coeficiente de correlación entre el grado y la puntuación de la región de LOH (0,33) y la puntuación de la región de TAI (0,23) es significativo ($p = 2 \times 10^{-5}$ y 0,004 respectivamente). Se conocía la edad de diagnóstico de 184/191 muestras. El coeficiente de correlación entre la edad y la puntuación de la región de (-0,13) no fue significativo. El coeficiente de correlación entre la edad y la puntuación de la región de TAI (-0,25) fue significativo ($p = 0,0009$).

Tabla 5

Puntuación de la región de LOH		Puntuación media	Puntuación media	
Subtipo	n (BRCA1/2 deficiente)	BRCA1/2 inalterado	BRCA1/2 deficiente	valor de p
Todos	191 (38)	8,1	16,5	8×10^{-12}
Triple negativo	53 (22)	8,3	18,1	6×10^{-6}
ER+/HER2-	47 (5)	7,7	15	0,01
ER-/HER2+	34 (3)	9,5	15,3	0,03
ER+/HER2+	56 (8)	7,4	13,6	9×10^{-4}

(continuación)

Puntuación de la región de TAI				
Todos	191 (38)	5,7	13,9	$2 \cdot 10^{-16}$
Triple negativo	53 (22)	6,7	13,2	$3 \cdot 10^{-6}$
ER+/HER2-	47 (5)	5	16	$9 \cdot 10^{-4}$
ER-/HER2+	34 (3)	6,6	11,3	NS
ER+/HER2+	56 (8)	5	15,6	10 ⁻⁶
Puntuación de la región de LST				
Todos	191 (38)	9,01	-1,3	$8 \cdot 10^{-8}$
Triple negativo	53 (22)	10,14	-1,41	0,0002
ER+/HER2-	47 (5)	7,31	1,54	NS
ER-/HER2+	34 (3)	9,18	-2,19	0,02
ER+/HER2+	56 (8)	7,31	1,54	NS

Ejemplo 3 - Media aritmética de las puntuaciones de las regiones de LOH, TAI y LST en los subtipos de cáncer de mama y asociación con la deficiencia de BRCA1/2

5

El siguiente estudio muestra cómo las puntuaciones de HRD, como se describe en el presente documento, pueden predecir la deficiencia de BRCA1/2 y la eficacia de los agentes que se dirigen a la deficiencia de HR en el cáncer de mama triple negativo (TNBC). Para investigar la tasa de deficiencia de BRCA1/2 en los subtipos de cáncer de mama, se analizaron muestras de tumores de mama con respecto a mutaciones de BRCA1/2 y metilación del promotor. Para las muestras, se determinaron las tres puntuaciones de HRD descritas en el Ejemplo 2 y después se examinó la asociación con la deficiencia de BRCA1/2 utilizando una media aritmética de las puntuaciones de LOH/TAI/LST. El análisis de una cohorte de TNBC con tratamiento neoadyuvante tratada con cisplatino, se examinó además con respecto a la relación entre las tres puntuaciones de HRD y la respuesta.

10

15

Se obtuvieron muestras de tumores de mama invasivos y de tejido normal compatible de tres proveedores comerciales. Las muestras se seleccionaron para obtener un número aproximadamente igual de todos los subtipos de cáncer de mama definidos mediante análisis IHQ de ER, PR y HER2. El análisis de la metilación del promotor de BRCA1 se realizó mediante PCRc. El cribado de mutaciones de BRCA1/2 y los perfiles de SNP de todo el genoma se generaron utilizando una captura con Agilent SureSelect XT personalizada seguido de secuenciación en Illumina HiSeq2500. Estos datos se utilizaron para calcular puntuaciones de HRD-LOH, HRD-TAI y HRD-LST.

20

25

Los datos de micromatrices de SNP y los datos clínicos se descargaron de un depósito público de cohortes de ensayo con cisplatino-1 y cisplatino-2. Los datos de mutación de BRCA1/2 de una de estas cohortes no estaban disponibles. Las tres puntuaciones de HRD se calcularon utilizando datos disponibles públicamente y se analizaron para determinar su asociación con la respuesta al cisplatino. Las dos cohortes se combinaron para mejorar su fuerza.

30

Para calcular las puntuaciones de HRD, los datos de SNP se analizaron utilizando un algoritmo que determina el número de copias específico de alelo más probable en cada ubicación de SNP. La puntuación de HRD-LOH se calculó contando el número de regiones de LOH con una longitud > 15 Mb, pero más corta que la longitud de un cromosoma completo. La puntuación de HRD-TAI se calculó contando el número de regiones con una longitud > 11 Mb con desequilibrio alélico que se extiende a uno de los subtelómeros, pero que no atraviesan el centrómero. La puntuación de HRD-LST era el número de puntos de rotura entre regiones más largas que 10 Mb después de eliminar por filtrado regiones más cortas que 3 Mb.

35

La puntuación combinada era la media aritmética de las puntuaciones de LOH/TAI/LST. Todos los valores de p procedían de modelos de regresión logística con deficiencia de BRCA o respuesta al cisplatino como variable dependiente.

40

La Tabla 6 muestra la mutación de BRCA1/2 y la frecuencia de metilación del promotor de BRCA1 en cuatro subtipos de cáncer de mama. El análisis de variante de BRCA1/2 fue satisfactorio en el 100 % de las muestras, mientras que el análisis de grandes reordenamientos fue menos consistente con 198/214 muestras que produjeron datos que superaron las métricas de CC. Se observaron mutaciones perjudiciales en 24/214 individuos (uno tenía una mutación somática en BRCA1 y una mutación de línea germinal en BRCA2). El ADN normal compatible estaba disponible para 23/24 mutantes y se utilizó para determinar si la mutación identificada era de línea germinal o somática. El análisis de metilación del promotor de BRCA1 fue satisfactorio en el 100 % de las muestras. La figura 9 ilustra las puntuaciones de HRD en muestras deficientes en BRCA1/2.

45

Tabla 6

Subtipo	n	Mutaciones de BRCA1	Mutaciones de BRCA2	Total de Mutantes (%)	Mutaciones de línea germinal (%)	Metilación del promotor de BRCA1 (%)
TNBC	63	10	3	10 (15,9)	69	13 (20,6)
ER+/HER2-	50	2	2	4 (8,0)	100	1 (2,0)
ER-/HER2+	38	3†	1	4† (10,5)	50	0
ER+/HER2+	63	8*	1	7* (11,1)	57	1 (1,6)

* Incluye un individuo que aún conserva copias funcionales inalteradas de BRCA1.
† Incluye un individuo cuyo estado funcional con respecto a BRCA1 no pudo determinarse.

La Tabla 7 muestra la asociación entre las tres puntuaciones de HRD y la deficiencia de BRCA 1/2 en la cohorte completa de cáncer de mama. La puntuación combinada era la media aritmética de las tres puntuaciones de HRD.

5

Tabla 7

	Subtipo de cáncer de mama	Todos	TNBC	ER+/ HER-	ER-/ HER2+	ER+/ HER2+
	Número de individuos	197	52	50	35	60
	Número de BRCA1/2 deficiente (%)	38 (100)	23 (61)	5 (13)	3 (8)	7 (18)
media de HRD-LOH	BRCA1/2 inalterado	7,2	8,2	7,1	8,3	6,0
	BRCA1/2 deficiente	16,5	17,7	17,2	12,0	14,1
	valor de <i>p</i>	1,3x10 ⁻¹⁷	1,5x10 ⁻⁸	0,0025	0,18	2,1x10 ⁻⁵
media de HRD-TAI	BRCA1/2 inalterado	5,4	6,8	4,3	6,4	5,1
	BRCA1/2 deficiente	13,7	13,5	15,0	7,7	15,9
	valor de <i>p</i>	1,5x10 ⁻¹⁹	2,2x10 ⁻⁷	1,3x10 ⁻⁵	0,58	1,4x10 ⁻⁶
media de HRD-LST	BRCA1/2 inalterado	-7,0	-5,1	-6,7	-6,7	-8,3
	BRCA1/2 deficiente	10,2	12,0	11,7	2,7	6,1
	valor de <i>p</i>	3,5x10 ⁻¹⁸	8,0x10 ⁻¹¹	3,2x10 ⁻⁴	0,082	0,0024
media de HRD combinada	BRCA1/2 inalterado	1,9	3,3	1,6	2,7	0,9
	BRCA1/2 deficiente	13,4	14,4	14,6	7,5	12,0
	valor de <i>p</i>	1,1x10 ⁻²⁴	7,8x10 ⁻¹³	2,3x10 ⁻⁵	0,072	2,1x10 ⁻⁵

La Tabla 8 muestra la asociación entre las puntuaciones de HRD y la RCp (Miller-Payne 5) en TNBC tratado con cisplatino en un entorno neoadyuvante. Se disponía de datos de muestras de ensayos con cisplatino-1 (Silver *et al.*, Efficacy of neoadjuvant Cisplatin in triple-negative breast cancer. J. CLIN. ONCOL. 28:1145-53 (2010)) y con cisplatino-2 (Birkbak *et al.*, (2012)). La RCp se definió como la de aquellos pacientes con estado Miller-Payne 5 después del tratamiento con neoadyuvante. La HRD combinada fue la media aritmética de las tres puntuaciones de HRD.

10

15

Tabla 8

Puntuación	RCp media	media de sin RCp	OR (IC del 95 %) de los percentiles 75-25	valor de <i>p</i>
HRD-LOH	20,6	13,4	7,4 (1,5, 35,6)	0,0035
HRD-TAI	15,8	10,7	6,5 (1,3, 32,6)	0,0067
HRD-LST	13,4	1,4	14,7 (2,1, 102)	0,00065
HRD combinada	16,6	8,5	22,4 (2,1, 239)	0,00029

Conclusiones: En todos los subtipos de cáncer de mama se observó deficiencia de BRCA1/2 y puntuaciones elevadas de HRD, y la puntuación de HRD detectó deficiencia de BRCA1/2. Las tres puntuaciones de HRD predijeron/detectaron la respuesta al tratamiento con cisplatino en TNBC. El promedio de las tres puntuaciones de HRD (media aritmética) detectó el estado de BRCA1/2 en una cohorte completa de cáncer de mama y la respuesta al cisplatino en una segunda cohorte de TNBC independiente. La media aritmética de la HRD combinada fue una variable independiente/detectora más fuerte de la deficiencia de BRCA1/2 o de la respuesta a la terapia que las puntuaciones individuales de HRD.

20

Ejemplo 4 - Análisis multivariante del estado de BRCA1/2 y ensayos basados en ADN con respecto a la deficiencia de recombinación homóloga

Los ejemplos anteriores describieron puntuaciones basadas en ADN que miden la deficiencia de recombinación homóloga (HRD), lo que demuestra que cada puntuación está significativamente asociada a la deficiencia de BRCA1/2, al igual que una puntuación de HRD combinada definida como una media aritmética de tres puntuaciones de HRD diferentes. Este ejemplo amplía los resultados de los ejemplos anteriores al examinar (1) asociaciones entre cada una de las tres puntuaciones y la puntuación de HRD combinada, (2) asociaciones de variables clínicas con la puntuación de HRD combinada y (3) asociaciones de variables clínicas y la puntuación de HRD combinada con la deficiencia de BRCA1/2.

10 **Métodos:** En este ejemplo 4, los análisis incluyen las mismas 197 muestras de pacientes descritas en los Ejemplos anteriores. En resumen, se adquirieron 215 muestras de tumores de mama como especímenes recientes congelados de 3 proveedores comerciales. Las muestras se seleccionaron para ofrecer una representación aproximadamente igual de los subtipos de cáncer de mama según el análisis IHQ de ER, PR y HER2. Según una métrica de calidad de Kolmogorov-Smirnov, 198 muestras produjeron puntuaciones de HRD fiables. Una paciente con una puntuación de HRD transitoria se eliminó del análisis debido a un subtipo de cáncer de mama inusual (ER/PR+ HER2-). El tumor de la paciente y las características clínicas se detallan en la Tabla 9.

20 Se proporcionaron datos clínicos de pacientes de 91 variables, pero los datos de la mayoría de las variables eran demasiado escasos para incluirlos en el análisis. El subtipo de cáncer de mama (TNBC, ER+/HER2-, ER-/HER2+, ER+/HER2+) estaba disponible para todas las pacientes. Las otras variables consideradas fueron la edad en el momento del diagnóstico (proporcionada para 196/197 pacientes), el estadio (proporcionado para 191/197 pacientes) y el grado (proporcionado para 190/197 pacientes).

Tabla 9

	Todas las pacientes (%)	Triple negativo (%)	ER+/HER2- (%)	ER-/HER2+ (%)	ER+/HER2+ (%)	BRCA1/2 Mutante (%)	BRCA1/2 Deficiente (%)
Total de Pacientes	197 (100)	52 (26,4)	50 (25,4)	35 (17,8)	60 (30,5)	24 (12,2)	38 (19,2)
Edad en el momento del diagnóstico							
Intervalo	28-90	29-90	33-80	29-76	28-79	33-79	29-76
Mediana	56	54	62	55	54,5	55,5	49
%<60	57	61	46	60	62	62,5	70
Estadio							
I	13 (6,6)	7 (13,5)	2(4)	1 (2,9)	3(5)	2 (8,3)	3(7,9)
II	121 (61,4)	28 (53,8)	31 (62)	25 (71,4)	37 (61,7)	17 (70,8)	23 (60,5)
III	54 (27,4)	9 (17,3)	17 (34)	8 (22,9)	20 (33,3)	5 (20,8)	9 (23,7)
IV	3 (1,5)	3 (5,8)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1 (2,6)
desconocido	6(3)	5 (9,6)	0(0)	1 (2,9)	0(0)	0(0)	2(5,3)
Grado							
1	17 (8,6)	4 (7,7)	8(16)	0(0)	5 (8,3)	0(0)	0(0)
2	102 (51,8)	17 (32,7)	30 (60)	13 (37,1)	42 (70)	10 (41,7)	14 (36,8)
3	71 (36)	26 (50)	10 (20)	22 (62,9)	13 (21,7)	13 (54,2)	21 (55,3)
desconocido	7 (3,6)	5 (9,6)	2(4)	0(0)	0(0)	1 (4,2)	3(7,9)

El cribado de mutaciones de BRCA1/2 y los perfiles de SNP de todo el genoma se generaron utilizando una captura con Agilent SureSelect XT personalizada seguido de secuenciación en Illumina HiSeq2500. La metilación de la región promotora de BRCA-1 se determinó mediante PCRc. Las muestras con una metilación superior al 10 % se clasificaron como muestras metiladas.

Las puntuaciones de HRD se calcularon a partir de perfiles de pérdida de heterocigosidad (LOH) (HRD-LOH), desequilibrio alélico telomérico (HRD-TAI) y transiciones de estado a gran escala (HRD-LST), de todo el genoma del tumor, las tres puntuaciones de HRD combinadas en la "puntuación de HRD combinada" se analiza en este Ejemplo 4.

La deficiencia de BRCA1/2 se definió como la pérdida de función resultante de una mutación BRCA-1 o BRCA-2, o la metilación de la región promotora de BRCA-1, junto con pérdida de heterocigosidad (LOH) en el gen afectado.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando R versión 3.0.2. Todos los valores de p registrados eran bilaterales. Las herramientas estadísticas empleadas incluyeron correlación de orden de rango de Spearman, análisis de varianza unidireccional de Kruskal-Wallis y regresión logística.

Para el modelo de regresión logística, las puntuaciones de HRD y la edad en el momento del diagnóstico se codificaron como variable numérica. El estadio y el subtipo de cáncer de mama se codificaron como variables categóricas. El grado se analizó como una variable numérica y categórica, pero era categórica a menos que se indique lo contrario. Codificar el grado como una variable numérica no es apropiado a menos que el aumento de los cocientes de probabilidad de deficiencia de BRCA1/2 sea el mismo cuando se comparan pacientes de grado 2 con grado 1, así como cuando se comparan pacientes de grado 3 con los de grado 2.

Los valores de p registrados para los modelos de regresión logística univariante se basan en la razón de verosimilitud parcial. Los valores de p multivariantes se basan en la razón de verosimilitud parcial con respecto al cambio en la desviación de un modelo completo (que incluye todas las variables independientes relevantes) frente a un modelo reducido (que incluye todas las variables independientes excepto la variable independiente que se está evaluando, y cualquier término de interacción que afecte a la variable independiente se esté evaluando). Los cocientes de probabilidad (*odds ratios*) de las puntuaciones de HRD se registran como intervalo intercuartílico.

Resultados: Las correlaciones por pares de las puntuaciones de HRD-LOH, HRD-TAI y HRD-LST se examinaron gráficamente (figura 1) y se cuantificaron con la correlación de suma de rangos de Spearman. Se prefirió la correlación de suma de rangos de Spearman a la correlación del producto-momento de Pearson, que es la que se utiliza más habitualmente, porque se observaron asimetrías y valores atípicos en las distribuciones de las puntuaciones de HRD. Todas las comparaciones de puntuaciones por pares mostraron una correlación positiva significativamente diferente de cero ($p < 10^{-16}$).

El alcance de la información independiente sobre la deficiencia de BRCA1/2 captada por cada una de las puntuaciones de HRD-LOH, HRD-TAI y HRD-LST se midió examinando un modelo de regresión logística multivariante con las tres puntuaciones incluidas como variables independientes del estado de deficiencia de BRCA1/2 (Tabla 10). La puntuación de HRD-TAI captó información significativa sobre la deficiencia de BRCA1/2 independiente de la proporcionada por las otras dos puntuaciones ($p=0,00016$), al igual que la puntuación de HRD-LST ($p=0,00014$). Al nivel de significación del 5 %, la puntuación de HRD-LOH no añadió información significativa independiente sobre la deficiencia de BRCA1/2 ($p=0,069$).

Tabla 10

	Valor de p	OR (IC del 95 %) de los percentiles 75-25
HRD-LOH	0,069	3,0 (0,89, 9,8)
HRD-TAI	0,00016	5,8 (2,1, 16)
HRD-LST	0,00014	7,4 (2,4, 23)

La Tabla 10 ilustra los resultados de un modelo de regresión logística multivariante de 3 términos con HRD-LOH, HRD-TAI y HRD-LST como variables independientes de deficiencia de BRCA1/2.

Para evaluar si la puntuación de HRD combinada captaba adecuadamente la información sobre la deficiencia de BRCA1/2 de sus tres componentes, se probaron tres modelos de regresión logística bivalente. Cada modelo incluía el puntuación de HRD combinada y una de las puntuaciones de HRD-LOH, HRD-TAI o HRD-LST. Ninguna de las puntuaciones de los componentes contribuyó significativamente a la puntuación de HRD combinada al nivel de significación del 5 % (HRD-LOH $p = 0,89$, HRD-TAI $p=0,090$, HRD-LST $p=0,28$). Esto sugiere que la puntuación de HRD combinada capta adecuadamente la información de deficiencia de BRCA1/2 de las puntuaciones de HRD-LOH, HRD TAI y HRD-LST.

La puntuación de HRD combinada finalmente se comparó con una puntuación combinada basada en un modelo

que se optimizó para predecir la deficiencia de BRCA1/2 en este grupo de pacientes. Mientras que la puntuación de HRD combinada pondera por igual cada una de las puntuaciones de HRD-LOH, HRD-TAI y HRD-LST, la puntuación basada en el modelo asigna a la puntuación de HRD-TAI aproximadamente el doble de peso que a las puntuaciones de HRD-LOH o HRD-LST. La fórmula de la puntuación basada en el modelo es la siguiente

5

$$HRD \text{ basada en el modelo} = 0,11 \times (HRD-LOH) + 0,25 \times (HRD-TAI) + 0,12 \times (HRD-LST).$$

Los resultados del análisis univariante (Tabla 11), muestran que la puntuación de HRD basada en el modelo supera a la puntuación de HRD combinada en aproximadamente un orden de magnitud (HRD basada en el modelo $p=2,5 \times 10^{-25}$, HRD combinada $p=1,1 \times 10^{-24}$).

10

Tabla 11

		Valor de p	OR (IC del 95 %)
HRD-LOH		$1,30 \times 10^{-17}$	22 (8,4, 58)
HRD-TAI		$1,50 \times 10^{-19}$	17 (7,2, 41)
HRD-LST		$3,50 \times 10^{-18}$	19 (7,7, 46)
HRD combinada		$1,10 \times 10^{-24}$	90 (22, 360)
HRD basada en el modelo		$2,50 \times 10^{-25}$	76 (19, 290)
Edad en el momento del diagnóstico		0,0071	0,96 (0,94, 0,99)
Estadio		0,88	
	I		1
	II		0,78 (0,20, 3,1)
	III		0,67 (0,15, 2,9)
	IV		1,7 (0,11, 25)
Subtipo de cáncer		$1,20 \times 10^{-05}$	
	ER-/HER2+		1
	ER+/HER2-		1,2 (0,34, 5,8)
	ER+/HER2+		8,5 (2,3, 31)
	TNBC		8,5 (2,3, 31)
Grado (Categórico)		0,0011	NA
Grado (Numérico)		0,00053	3,1 (1,6, 6,3)

15

La Tabla 11 muestra resultados de regresión logística univariante. Los cocientes de probabilidad de las puntuaciones de HRD se registran como RIC de la puntuación. El cociente de probabilidad para la edad se registra en años. El cociente de probabilidad para el grado (numérico) es por unidad.

20

En un modelo de regresión logística bivalente, la puntuación de HRD basada en el modelo no añadió información significativa independiente sobre la deficiencia de BRCA1/2 con respecto a la puntuación de HRD combinada ($p = 0,089$). Esto sugiere además que la puntuación de HRD combinada capta adecuadamente la información sobre la deficiencia de BRCA1/2 de las puntuaciones de HRD-LOH, HRD-TAI y HRD-LST.

25

En la figura 12 se muestran asociaciones de variables clínicas con la puntuación de HRD combinada. La puntuación de HRD combinada se correlacionó significativamente con el grado del tumor (correlación de Spearman 0,23, $p = 0,0017$). Las correlaciones con el estadio del cáncer de mama y la edad en el momento del diagnóstico no fueron significativamente diferentes de cero al nivel del 5 %. La media de las puntuaciones de HRD combinada difirieron significativamente entre los subtipos de cáncer de mama ($p = 1,6 \times 10^{-5}$) según una prueba de análisis de varianza unidireccional de Kruskal-Wallis.

30

La heterogeneidad de la puntuación de HRD combinada entre las subpoblaciones clínicas se probó examinando la significación de los términos de interacción en modelos de regresión logística multivariante. Para cada variable clínica, se añadió un término para la interacción con la puntuación de HRD combinada a un modelo que incluía todas las variables clínicas y la puntuación de HRD combinada. Ninguno de los términos de interacción alcanzó significación al nivel de significación del 5 %. Por tanto, no hay pruebas que sugieran que la probabilidad de deficiencia de BRCA1/2 conferida por la puntuación de HRD combinada varíe entre las subpoblaciones clínicas.

35

40

Pruebas análogas para cada una de las puntuaciones de HRD-LOH, HRD-TAI y HRD-LST indicaron una interacción significativa de la puntuación de HRD-TAI con la edad ($p = 0,0072$) y el grado ($p = 0,015$), y una interacción significativa de la puntuación de HRD-LST con el subtipo de cáncer de mama ($p = 0,021$). Ajustada para comparaciones múltiples, solo la interacción de la puntuación de HRD-TAI con la edad mantuvo la significación al nivel del 5 % ($p = 0,029$). La significación de esta interacción sugiere que la mayor probabilidad de

deficiencia de BRCA1/2 por unidad de aumento de la puntuación HRD-TAI disminuye a medida que aumenta la edad.

- 5 En la figura 13 se muestran asociaciones de variables clínicas con la deficiencia de BRCA1/2. Las variables clínicas y la puntuación de HRD combinada se evaluaron con modelos de regresión logística univariante (Tabla 11) y multivariante (Tabla 12). Los cocientes de probabilidad de las puntuaciones de HRD se registran como RIC. Los cocientes de probabilidad para la edad en el momento del diagnóstico se registran en años.

Tabla 12

		Valor de p	OR (IC del 95 %)
HRD combinada		1,2 X 10 ⁻¹⁶	87 (17, 450)
Edad en el momento del diagnóstico		0,027	0,95 (0,91, 1,0)
Estadio		0,63	
	I		1
	II		2,4 (0,22, 27)
	III		0,99 (0,073, 13)
	IV		3,1 (0,0011, 9100)
Grado		0,40	NA
Tipo		0,087	
	ER-/HER2+		1
	ER+/Her2-		0,39 (0,039, 3,8)
	ER+/Her2+		1,3 (0,16, 10)
	TNBC		3,9 (0,62, 24)

- 10 La Tabla 12 muestra resultados de regresión logística multivariante. Los cocientes de probabilidad de las puntuaciones de HRD se registran como RIC de la puntuación. El cociente de probabilidad para la edad se registra en años.

- 15 En el análisis univariante, cada una de las puntuaciones de HRD (HRD-LOH, HRD-TAI, HRD-LST, HRD combinada y HRD basada en el modelo) se asoció significativamente a deficiencia de BRCA1/2. Las puntuaciones más altas indicaron una mayor probabilidad de deficiencia. El aumento de la edad en el momento del diagnóstico se asoció significativamente a un menor riesgo de deficiencia de BRCA1/2 ($p = 0,0071$). Los resultados del análisis univariante para el subtipo de cáncer de mama y el grado del tumor (tanto categórico como numérico), también
20 fueron estadísticamente significativos. El estadio del cáncer no se asoció al estado de BRCA1/2.

- En los análisis multivariante, se examinó un modelo basado en la puntuación de HRD combinada y en todas las variables clínicas disponibles. La puntuación de HRD combinada captó información significativa sobre la deficiencia de BRCA1/2 que no fue captada por las variables clínicas ($p = 1,2 \times 10^{-16}$). De las variables clínicas disponibles, solo
25 la edad en el momento del diagnóstico mantuvo la significación en el entorno multivariante ($p = 0,027$). El grado se codificó como una variable categórica y no fue estadísticamente significativo ($p = 0,40$). El grado tampoco fue significativo cuando se codificó como una variable numérica ($p = 0,28$). Los efectos cuadráticos y cúbicos de la puntuación de HRD combinada se probaron en modelos multivariantes que incluían todas las variables clínicas, pero no fueron estadísticamente significativos.

- 30 **Argumentación.** En este Ejemplo 4, la frecuencia de los defectos de BRCA1/2 varió entre ~9 y ~16 % en 4 subtipos de cáncer de mama, según lo definido mediante subtipificación IHQ. La secuenciación de muestras de ADN normales y tumorales compatibles sugiere que aproximadamente el 75 % de las mutaciones observadas era, en origen, de la línea germinal. El método principal con respecto a la pérdida del segundo alelo en el cáncer de mama es a través de LOH, sin embargo, ~24 % de los tumores también llevaban mutaciones somáticas perjudiciales
35 posteriores en el segundo alelo. Además, se observó un tumor de mama aparentemente esporádico en un individuo que llevaba una mutación somática perjudicial de BRCA2.

- Las 3 puntuaciones de HRD mostraron una fuerte correlación con la deficiencia de BRCA1/2 independientemente del subtipo, y la frecuencia de puntuaciones elevadas sugiere que una proporción significativa de todos los subtipos de tumores de mama tienen defectos en la vía de reparación del ADN por recombinación homóloga. Estos hallazgos, especialmente cuando se combinan con los del Ejemplo 3 anterior, muestran que los agentes que se dirigen al ADN o que se aprovechan de la reparación del daño del ADN (p. ej., agentes de platino) pueden resultar ser eficaces en un subconjunto de tumores (aquellos con deficiencia de recombinación homóloga detectada de acuerdo con la presente divulgación) de todos los subtipos de cáncer de mama.
45

En la aplicación de estas puntuaciones de HRD, por separado o combinadas, en el entorno clínico, es mejor utilizar

un ensayo que sea compatible con biopsias por punción con aguja gruesa que se hayan fijado con formol e incluido en parafina ("FFPE", por las siglas del inglés *formalin fixed and paraffin embedded*). Las muestras de este tipo producen muy poca cantidad y ADN de baja calidad. El ADN extraído de estas muestras tratadas con FFPE no suele dar buenos resultados en el análisis de micromatrices de SNP.

5 Se han desarrollado tecnologías de enriquecimiento de dianas que se basan en la hibridación líquida para la producción de bibliotecas destinadas a la secuenciación de próxima generación. Estas metodologías permiten la secuenciación dirigida de regiones de interés después de la reducción de la complejidad genómica, lo que produce una disminución de los costes de secuenciación. Las pruebas preliminares indicaron que los ensayos disponibles
10 eran compatibles con ADN derivado de ADN FFPE. En este Ejemplo 4, se informa sobre el desarrollo de un panel de captura que se dirige a ~54.000 SNP distribuidos en todo el genoma. Los recuentos alélicos de la información de secuenciación que proporciona este panel pueden utilizarse con respecto al número de copias y la reconstrucción de LOH, y para cálculo de las 3 puntuaciones de HRD. Además, en el panel pueden incluirse sondas de captura de BRCA1 y BRCA2, como en este Ejemplo 4, que permiten el cribado de mutaciones de alta calidad
15 para variantes perjudiciales en estos genes en el mismo ensayo.

Las 3 puntuaciones estaban significativamente correlacionadas entre sí, lo que sugiere que todas miden el mismo fenómeno genómico central. Sin embargo, el análisis de regresión logística indica que las puntuaciones podrían combinarse, lo que da como resultado una asociación más fuerte con la deficiencia de BRCA1/2 en este conjunto
20 de datos.

La combinación de una puntuación consistente capaz de identificar tumores con defectos en la reparación del ADN por recombinación homóloga y un ensayo compatible con especímenes patológicos clínicos fijados en formol e incluidos en parafina, facilita la identificación diagnóstica y la clasificación de pacientes con una alta probabilidad
25 de respuesta a agentes que se dirigen a reparar daños en ADN bicatenario. Además, dichos agentes pueden tener utilidad en todos los subtipos de cáncer de mama en los que se detecta HRD según la presente divulgación.

Ejemplo 5: Valor umbral alto de HRD (p. ej., un ejemplo de una firma de HRD)

30 Este ejemplo demuestra la determinación de una HRD alta. Se seleccionó un valor umbral de referencia de alta sensibilidad para detectar la HRD en tumores de mama y ovario que no era específico de la respuesta o del resultado del tratamiento. Se determinó el número total de regiones de LOH, TAI y LST. Para calcular las puntuaciones de HRD, los datos de SNP se analizaron utilizando un algoritmo que determina el número de copias específico de alelo más probable en cada ubicación de SNP. La puntuación de HRD-LOH se calculó contando el
35 número de regiones de LOH con una longitud > 15 Mb, pero más corta que la longitud de un cromosoma completo. La puntuación de HRD-TAI se calculó contando el número de regiones con una longitud > 11 Mb con desequilibrio alélico que se extiende a uno de los subtelómeros, pero que no atraviesan el centrómero. La puntuación de HRD-LST era el número de puntos de rotura entre regiones más largas que 10 Mb después de eliminar por filtrado regiones más cortas que 3 Mb. La puntuación combinada (puntuación de HRD) era la suma de las puntuaciones
40 de LOH/TAI/LST.

El conjunto de entrenamiento se reunió a partir de 4 cohortes diferentes (497 casos de cáncer mama y 561 de ovario). El conjunto constaba de 78 tumores de mama y 190 de ovario que carecían de una copia funcional de BRCA1 o BRCA2, porque la distribución de las puntuaciones de HRD en las muestras deficientes en BRCA
45 representa la distribución de las puntuaciones en las muestras de HRD en general. El umbral se estableció en el percentil 5 de las puntuaciones de HRD en el conjunto de entrenamiento, y proporciona una sensibilidad >95 % para detectar la deficiencia de HR. Una HRD (o una firma de HRD) alta se definió como que tenía una puntuación de referencia ≥ 42 (Figura 14).

50 Ejemplo 6 - La HRD predice la respuesta al cisplatino en el cáncer de mama triple negativo

Este ejemplo demuestra cómo las puntuaciones de HRD, como se describe en el presente documento, pueden predecir la eficacia de agentes que se dirigen a la deficiencia de HR en muestras de cáncer de mama triple negativo (TNBC). Se examinó el análisis de una cohorte de TNBC neoadyuvante tratada con cisplatino con respecto a
55 la relación entre las tres puntuaciones de HRD y la respuesta. Todos los valores de p procedían de modelos de regresión logística con la respuesta al cisplatino como variable dependiente.

Se determinó el estado de deficiencia de HR de 62 de las 70 muestras (70 pacientes individuales) recibidas de una cohorte tratada con cisplatino (8 tenían tumores insuficientes para el análisis). De estas, 31 (50 %) eran deficientes
60 en HR, 22 (35 %) no eran deficientes en HR y 9 (15 %) eran indeterminadas. La figura 15 proporciona un histograma que muestra la distribución de las puntuaciones de HRD en la cohorte. Se consideró que las puntuaciones ≥ 42 tenían una HRD alta (véase también el Ejemplo 5). La bimodalidad ilustrada en la figura 15 indica que las puntuaciones de HRD distinguen eficazmente estados deficientes y no deficientes de HR en el tumor. La respuesta completa patológica (RCp), que se asocia con supervivencia prolongada, se definió como una carga residual de cáncer (CRC) de 0 y se observó en 11/59 (19 %) muestras. La respuesta patológica (RP) se definió como una CRC de 0 o 1 y se observó en 22/59 (37 %) muestras. Estas tasas de respuesta global se correlacionaron
65

con las expectativas de monoterapia.

Los análisis estadísticos siguieron un Plan de Análisis Estadístico (PAE) predefinido, que incluía análisis primarios, secundarios y de subconjuntos de BRCA de tipo natural.

5

El análisis primario utilizó el estado de deficiencia de HR para predecir la respuesta en 50 muestras. Como se muestra en la Tabla 13, las muestras deficientes en HR proporcionaron una mejor variable independiente de respuesta tanto para la RP como para la R_{Pc}. Por ejemplo, el 52 % de las muestras deficientes en HR tuvieron una respuesta patológica en comparación con el 9,5 % de las muestras no deficientes que tuvieron una respuesta patológica. De manera similar, el 28 % de las muestras deficientes en HR tuvieron una respuesta completa patológica en comparación con el 0 % de las muestras no deficientes que tuvieron una respuesta completa patológica.

10

Tabla 13: Análisis primario utilizando deficiencia HR para predecir una respuesta

Paciente que responde	Deficiente	No deficiente	Método logístico	Referencia del cociente de probabilidad (IC del 95 %): No deficiente	Valor de <i>p</i> logístico
RP=no	14	19			
RP=sí	15 (52 %)	2 (9,5 %)	Máxima verosimilitud estándar	10,18 (2,00, 51,89)	0,0011
R _{Cp} =no	21	21			
R _{Cp} =sí	8 (28 %)	0 (0 %)	Verosimilitud de Firth penalizada	17,00 (1,91, 2249)	0,0066

15

El análisis secundario utilizó una puntuación de HRD cuantitativa como se describe en el Ejemplo 5, para predecir la respuesta en 48 muestras. Como se muestra en la Tabla 14, las puntuaciones de HRD fueron significativamente más altas en muestras de pacientes que responden en comparación con los que no responden, definidas como RP o R_{Cp}.

20

Tabla 14: Análisis secundario utilizando puntuaciones de HRD cuantitativas para predecir la respuesta

Paciente que responde	N	Media (desviación estándar)	Cociente de probabilidad como RIC (37,5) (IC del 95 %)	Valor de <i>p</i> logístico
RP=no	33	39,8 (20,8)		
RP=sí	15	62,9 (16,1)	10,5 (2,3, 48,6)	3,1X10 ⁻⁴
R _{Cp} =no	41	42,6 (20,3)		
R _{Cp} =sí	7	73,3 (11,4)	117 (2,9, 4764)	7,0X10 ⁻⁵

25

La distribución de las puntuaciones de HRD en cada clase de respuesta del análisis secundario según lo definido por el estado de mutación de BRCA se ilustra en la figura 16, donde la línea de puntos en el valor 42 representa el umbral de HRD entre puntuaciones bajas y altas. La curva de respuesta, o la probabilidad de RP asociada a cada valor de la puntuación de HRD cuantitativa del análisis secundario, se ilustra en la Figura 17. La curva que se muestra en la Figura 17 se modeló mediante regresión logística generalizada, que determina 4 parámetros: forma, escala y los límites inferior y superior de la curva. Las casillas con sombra indican la probabilidad de respuesta en muestras con deficiencia de recombinación homóloga (HR) frente a muestras sin dicha deficiencia. La Tabla 15 muestra que en el análisis secundario el estado de la HR permaneció significativamente asociado a la respuesta patológica.

30

Tabla 15: Modelo multivariante de respuesta patológica

Variable	Niveles	Número de pacientes (%)	Cociente de probabilidad (IC del 95 %)	Valor de <i>p</i> logístico
Estado de HR	No deficiente Deficiente	21 (42 %) 29 (58 %)	Referencia 12,08 (1,96, 74,4)	0,0017
Tratamiento	Cisplatino Cisplatino + Bevacizumab	18 (36 %) 32 (64 %)	Referencia 2,23 (0,52, 9,64)	0,27

(continuación)

Variable	Niveles	Número de pacientes (%)	Cociente de probabilidad (IC del 95 %)	Valor de <i>p</i> logístico
Tamaño del tumor * cm	Media=3,7, RIC =(2,7, 4,0)		1,40 (0,84, 2,35)	0,19
Estado ganglionar inicial	Negativo Positivo	27 (54 %) 23 (46 %)	Referencia 2,29 (0,56, 9,33)	0,24
Edad en el momento del diagnóstico * (años)	Media=49,8, RIC =(43,0, 56,8)		0,97 (0,90, 1,05)	0,49

***Cociente de probabilidad como RIC**

5 En la Tabla 16 se muestran puntuaciones de los componentes de HRD individuales frente a la respuesta patológica y se ilustran en la Figura 18. La Tabla 16 muestra que cada puntuación de los componentes, es decir, LOH, TAI y LST, fue predictiva de la respuesta, y su suma, es decir, la puntuación de HRD, fue igual o más significativa que cualquiera de los componentes individuales (HRD valor de $p = 3,1 \times 10^{-4}$). La Figura 18 ilustra fuertes correlaciones por pares entre las puntuaciones de los componentes.

Tabla 16: Puntuaciones cuantitativas del componente HRD frente a RP

RP del paciente que responde	Puntuación del componente	Media (desviación estándar)	Rango intercuartílico (RIC)	Cociente de probabilidad como RIC (IC del 95 %)	Valor de <i>p</i> logístico
No	LOH	10,9 (6,0)	8,0		
Sí		15,7 (4,6)		3,6 (1,3, 9,9)	0,0072
No	TAI	9,7 (6,0)	10,0		
Sí		15,3 (4,2)		6,2 (1,7, 23,0)	0,0019
No	LST	19,3 (9,9)	16,8		
Sí		32,0 (9,9)		8,5 (2,2, 33,2)	1,4X10 ⁻⁴

10 En el análisis secundario se comprobó además la asociación del estado de mutación de BRCA1/2 con la respuesta. La Tabla 17 confirmó que el estado de mutación de BRCA estaba asociado a la respuesta; sin embargo, la asociación no fue significativa en esta cohorte ($n=51$) y el estado de mutación de BRCA no fue tan predictivo como la deficiencia de HR.

Tabla 17: Análisis secundario utilizando el estado de mutación de BRCA para predecir la respuesta

Paciente que responde	Número de mutante (% de respuesta)	Número no mutante (% de respuesta)	Referencia del cociente de probabilidad (IC del 95 %): <i>No deficiente</i>	Valor de <i>p</i> logístico
RP=no	4	29		
RP=sí	5 (55,6 %)	13 (31,0 %)	2,79 (0,64, 12,11)	0,17
RCp=no	6	37		
RCp=sí	3 (33,3 %)	5 (11,9 %)	3,70 (0,70, 19,7)	0,14

20 Además, se realizó un análisis de subconjuntos utilizando el estado de Deficiencia de RH en 38 muestras BRCA de tipo natural para demostrar que la Deficiencia de RH es predictiva en muestras sin mutaciones de BRCA1/2. Como se muestra en la Tabla 18, las muestras deficientes en HR proporcionaron una mejor variable independiente de respuesta tanto para la RP como para la RPC en muestras de BRCA de tipo natural. Por ejemplo, el 52,6 % de las muestras deficientes en HR tuvieron una respuesta patológica en comparación con el 10,5 % de las muestras no deficientes que tuvieron una respuesta patológica. De manera similar, el 26,3 % de las muestras deficientes en HR tuvieron una respuesta completa patológica en comparación con el 0 % de las muestras no deficientes que tuvieron una respuesta completa patológica.

25

Tabla 18: Análisis de subconjuntos utilizando la deficiencia de HR para predecir la respuesta en muestras de BRCA de tipo natural

Paciente que responde	Número de deficiente (% de respuesta)	Número de no deficiente (% de respuesta)	Método logístico	Referencia del cociente de probabilidad (IC del 95 %): <i>No deficiente</i>	valor de <i>p</i>
RP=no	9	17			
RP=sí	10 (52,6 %)	2 (10,5 %)	Máxima verosimilitud estándar	9,44 (1,69, 52,7)	0,0039
RCp=no	14	19			
RCp=sí	5 (26,3 %)	0 (0 %)	Verosimilitud de Firth penalizada	14,79 (1,48, 2001)	0,018

5 Se realizó además un análisis de subconjuntos utilizando la puntuación de HRD cuantitativa en 38 muestras de BRCA de tipo natural. Como se muestra en la Tabla 19, las muestras con alta HRD (con puntuaciones ≥ 42) proporcionaron una mejor variable independiente de respuesta tanto para la RP como para la RCp en muestras de BRCA de tipo natural.

10 **Tabla 19: Análisis de subconjuntos utilizando puntuaciones de HRD cuantitativas para predecir la respuesta en muestras de BRCA de tipo natural**

Paciente que responde	N	Media (desviación estándar)	Cociente de probabilidad como RIC (36,0) (IC del 95 %)	Valor de <i>p</i> logístico
RP=no	26	38,1 (20,6)		
RP=sí	12	61,1 (16,5)	8,74 (1,83, 41,7)	0,0014
RCp=no	33	41,3 (20,4)		
RCp=sí	5	71,8 (12,3)	45,5 (1,47, 1406)	0,0012

En conclusión, este ejemplo demuestra que la suma de las tres puntuaciones de HRD predijo significativamente la respuesta al tratamiento con cisplatino en TNBC.

REIVINDICACIONES

1. Un método *in vitro* para determinar el estado de deficiencia de HR de un paciente, que comprende:
 - 5 determinar, en una muestra que comprende una célula cancerosa de un paciente, el número de regiones de LOH indicadoras, regiones de TAI indicadoras y regiones de LST indicadoras en al menos un par de cromosomas humanos de la célula cancerosa, en donde
 - 10 (a) una región de LOH indicadora es una región de LOH que es más larga que 1,5 megabases pero más corta que toda la longitud del cromosoma respectivo dentro del cual se encuentra la región de LOH;
 - (b) una región de TAI indicadora es una región de TAI con desequilibrio alélico que (i) se extiende a uno de los subtelómeros, (ii) no atraviesa el centrómero y (iii) es más larga que 1,5 megabases;
 - 15 (c) una región de LST indicadora es un punto de rotura del número de copias somáticas a lo largo de un cromosoma que se encuentra entre dos regiones de al menos 10 megabases de longitud después de eliminar por filtrado regiones más cortas que 3 megabases de longitud;
 - 20 combinando el número de regiones de LOH indicadoras, regiones de TAI indicadoras y regiones de LST indicadoras para proporcionar un valor de prueba, en donde un valor de prueba mayor que un valor de referencia de 32 identifica al paciente como deficiente en HR.
2. El método de la reivindicación 1, en donde las regiones de LOH indicadoras tienen una longitud de al menos 15 megabases.
3. El método de la reivindicación 1 o 2, en donde las regiones de TAI indicadoras tienen una longitud de al menos 11 megabases.
4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el valor de referencia es de al menos 40.
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el valor de referencia es de al menos 42.
6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende además comparar el valor de prueba con el valor de referencia, en donde la comparación identifica al paciente como deficiente en HR.
7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la deficiencia de HR se debe a la falta de una copia funcional de los genes BRCA1 y/o BRCA2.
8. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el valor de referencia representa el percentil 5 de las regiones de LOH indicadoras, regiones de TAI indicadoras y regiones de LST indicadoras combinadas.
9. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que comprende además identificar al paciente como que es probable que responda al agente que daña el ADN.
 10. El método de la reivindicación 9, en donde el agente que daña el ADN es cisplatino, carboplatino, oxaliplatino o picoplatino.
 11. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la etapa de determinación comprende analizar la muestra para medir el número de copias de cada alelo para al menos 150 locus genómicos polimórficos en al menos 2 pares de autosomas.
 12. El método de la reivindicación 11, en donde la etapa de determinación comprende analizar locus genómicos polimórficos en al menos 10 pares de autosomas.
 13. El método de la reivindicación 12, en donde la etapa de determinación comprende analizar locus genómicos polimórficos en al menos 22 pares de autosomas.
 14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 11-13, en donde la etapa de determinación comprende analizar la muestra para medir el número de copias de cada alelo para al menos 5.000 locus genómicos polimórficos en los pares de autosomas.
 15. El método de la reivindicación 14, en donde la etapa de determinación comprende analizar la muestra para medir el número de copias de cada alelo para al menos 50.000 locus genómicos polimórficos en los pares de autosomas.

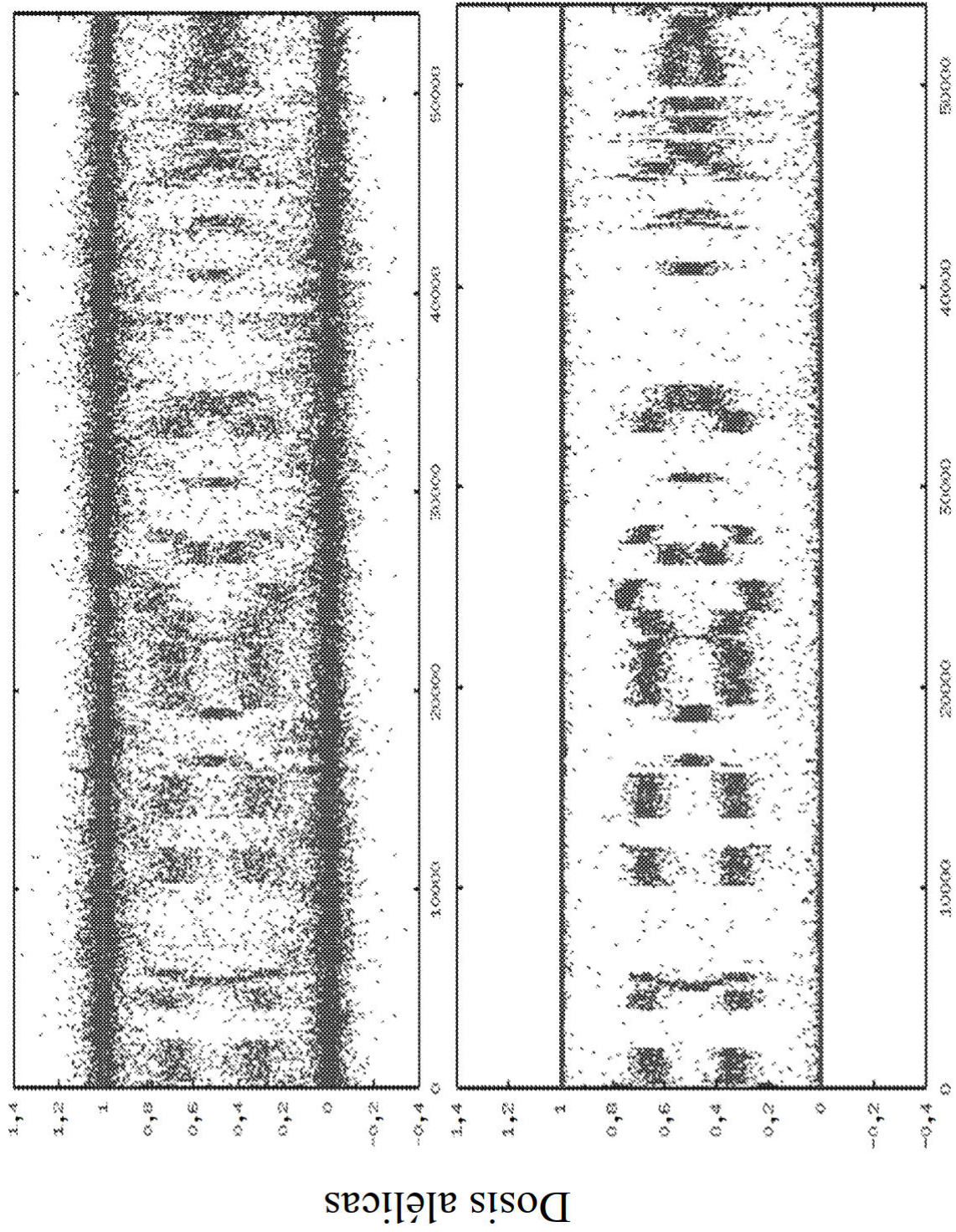


Figura 1

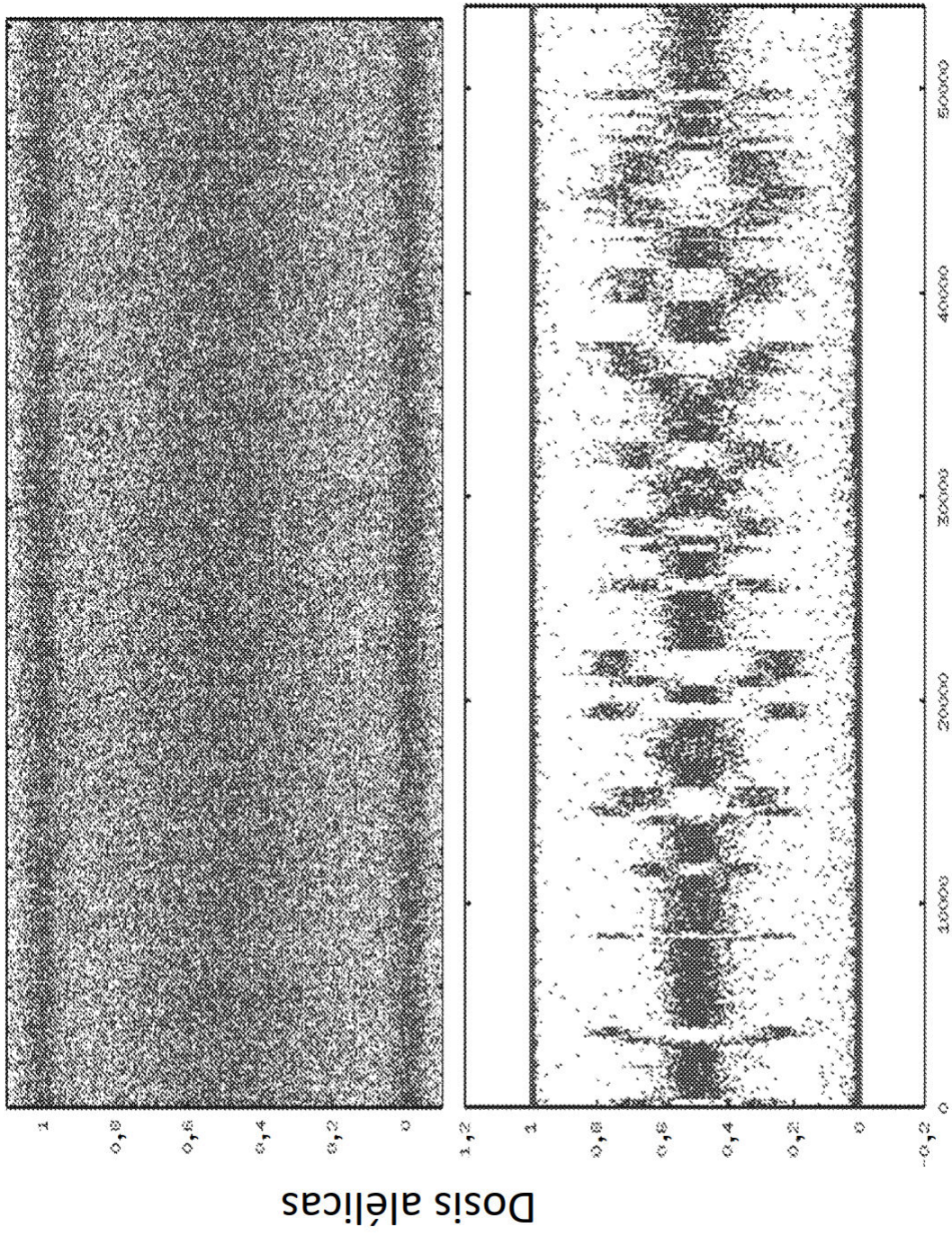
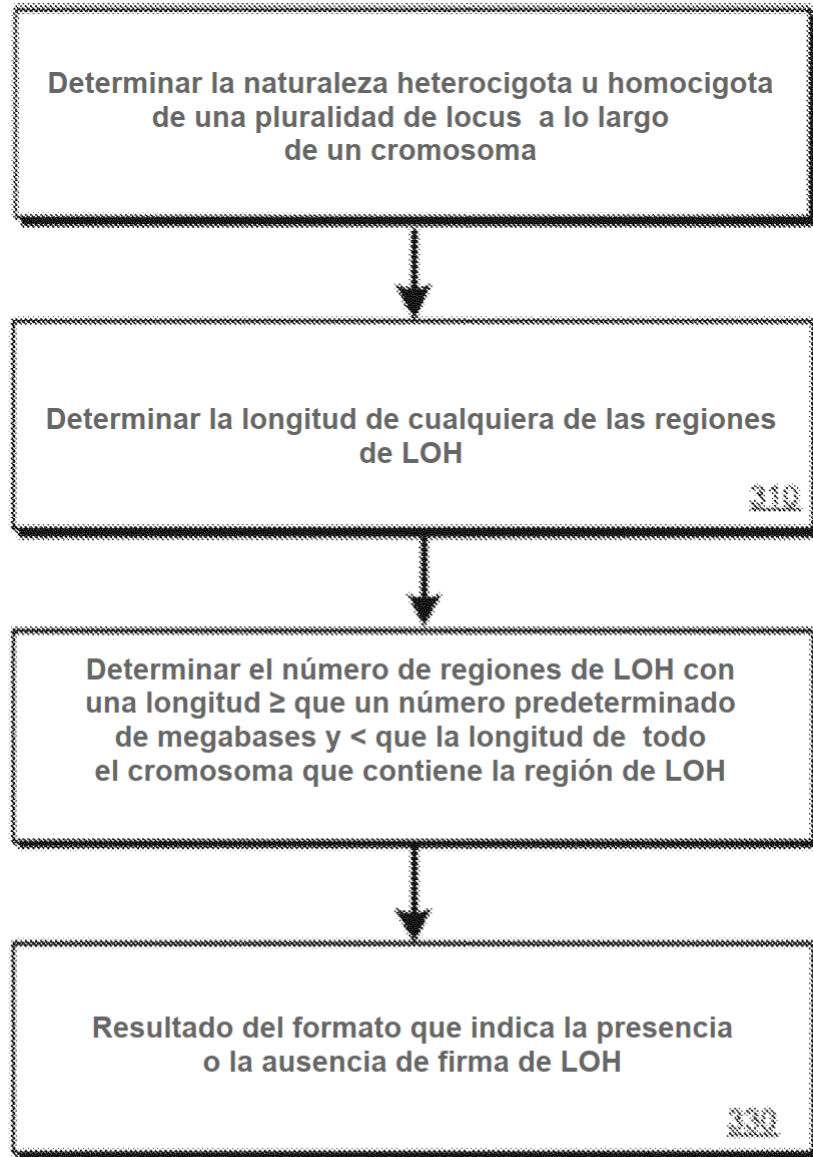


Figura 2

Figura 3



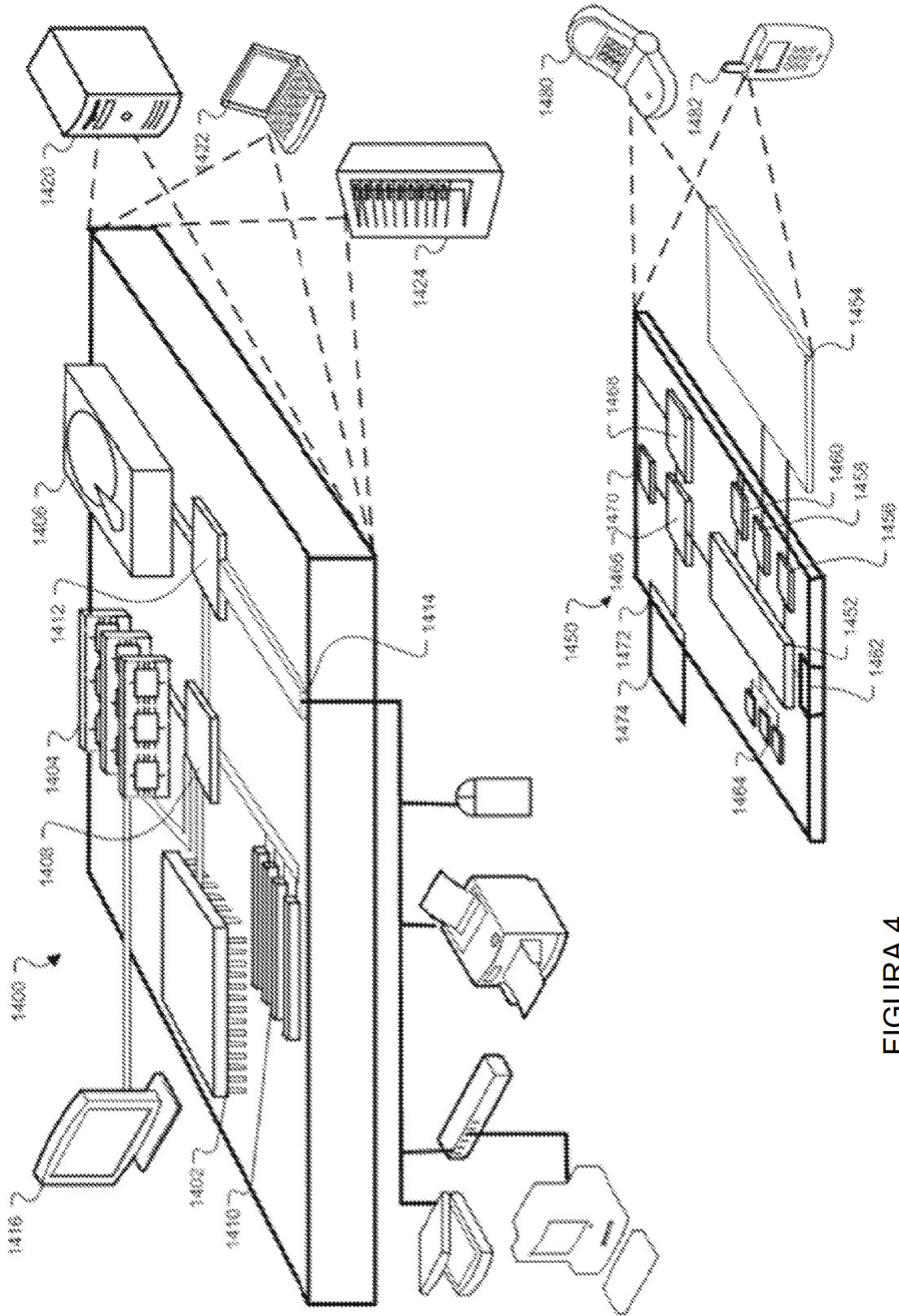


FIGURA 4

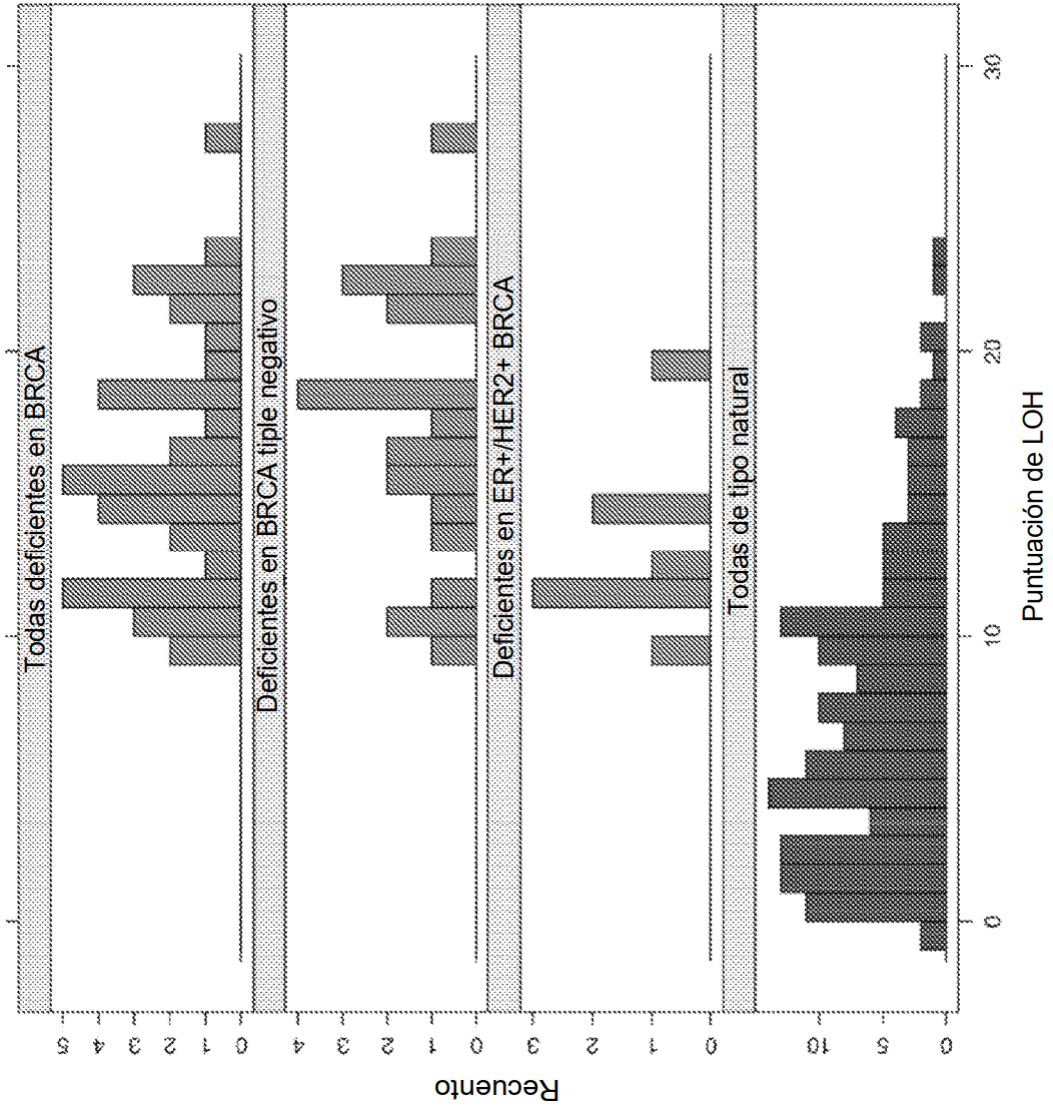


Figura 5A

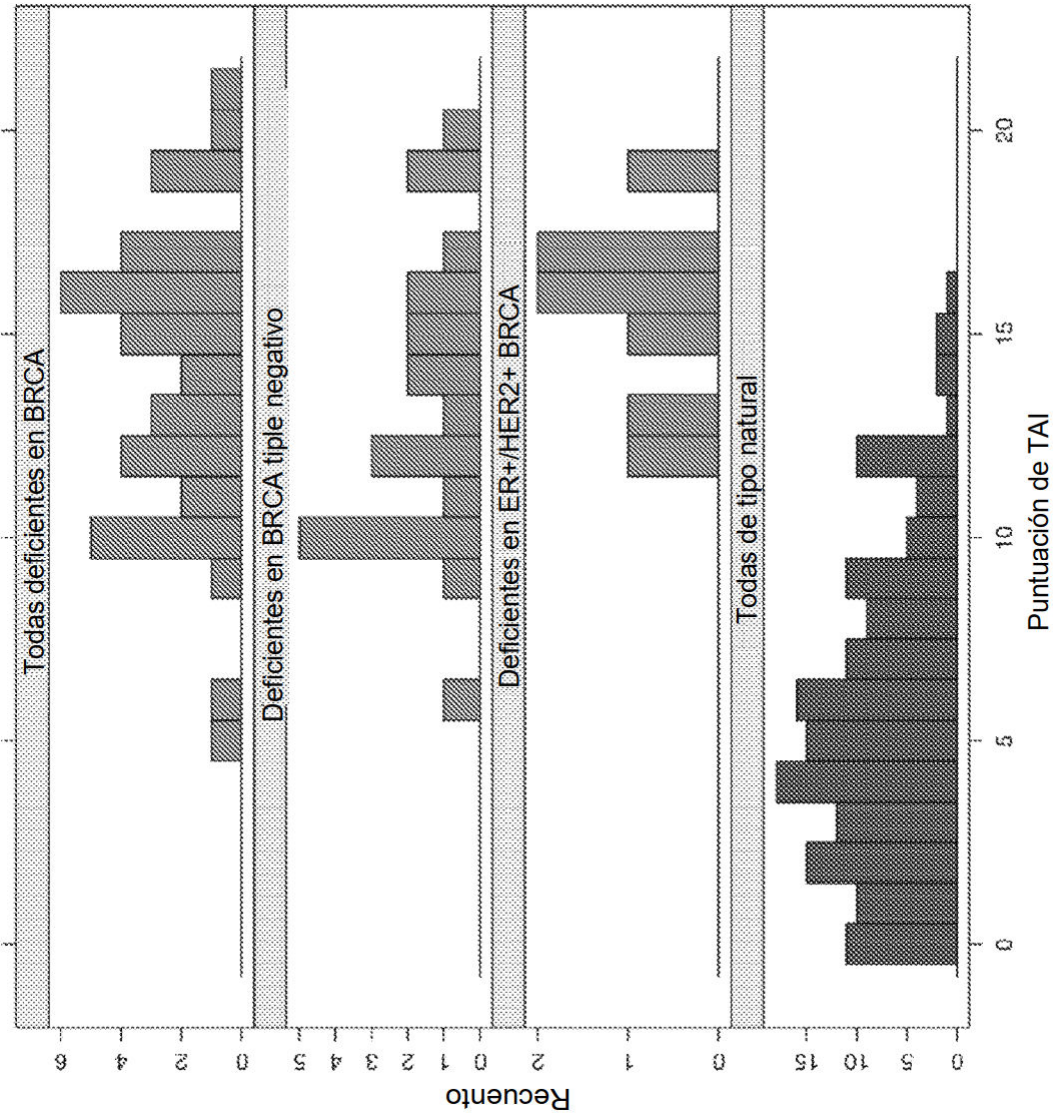


Figura 5B

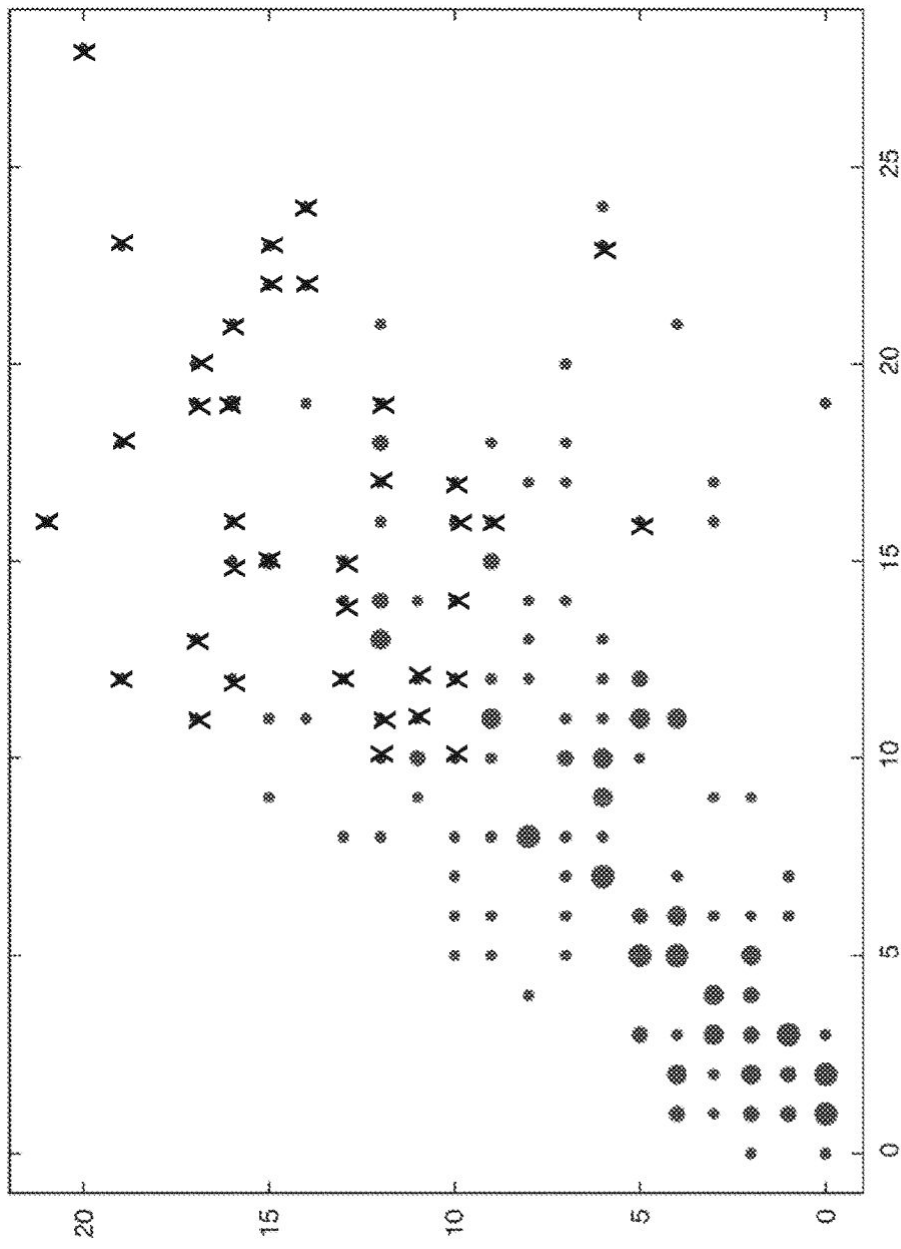


Figura 6

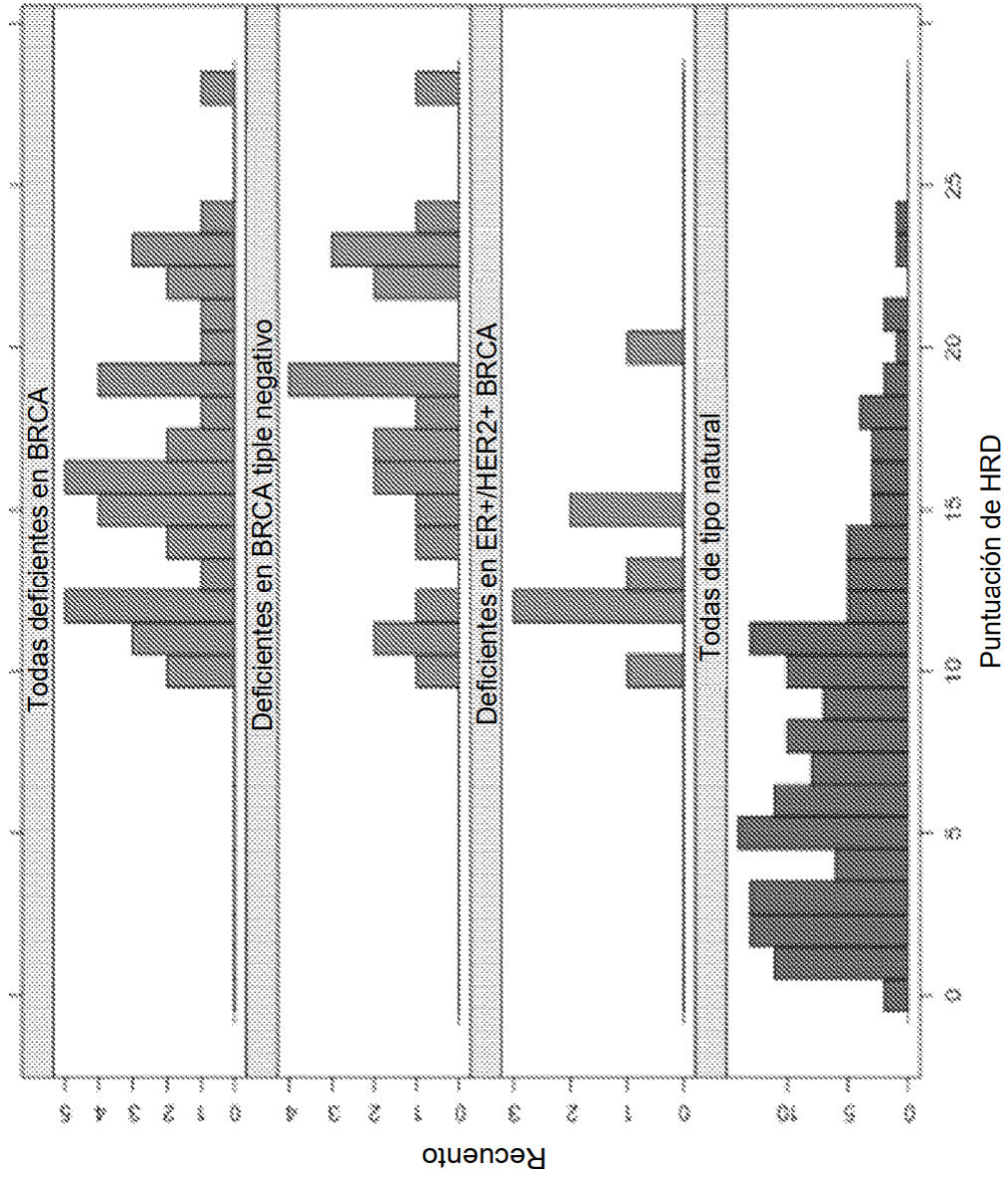
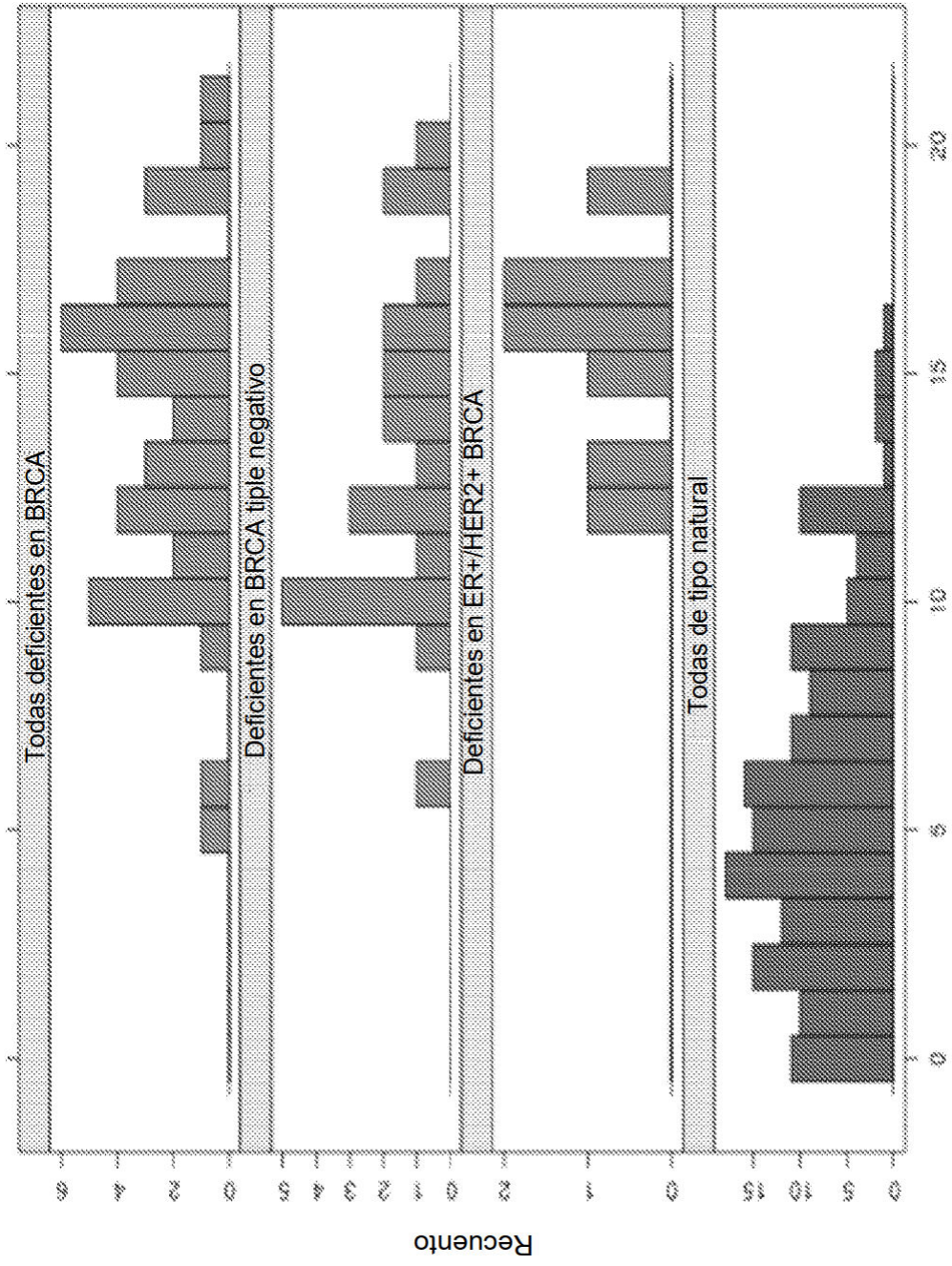


Figura 7A



Puntuación de TAI
Figura 7B

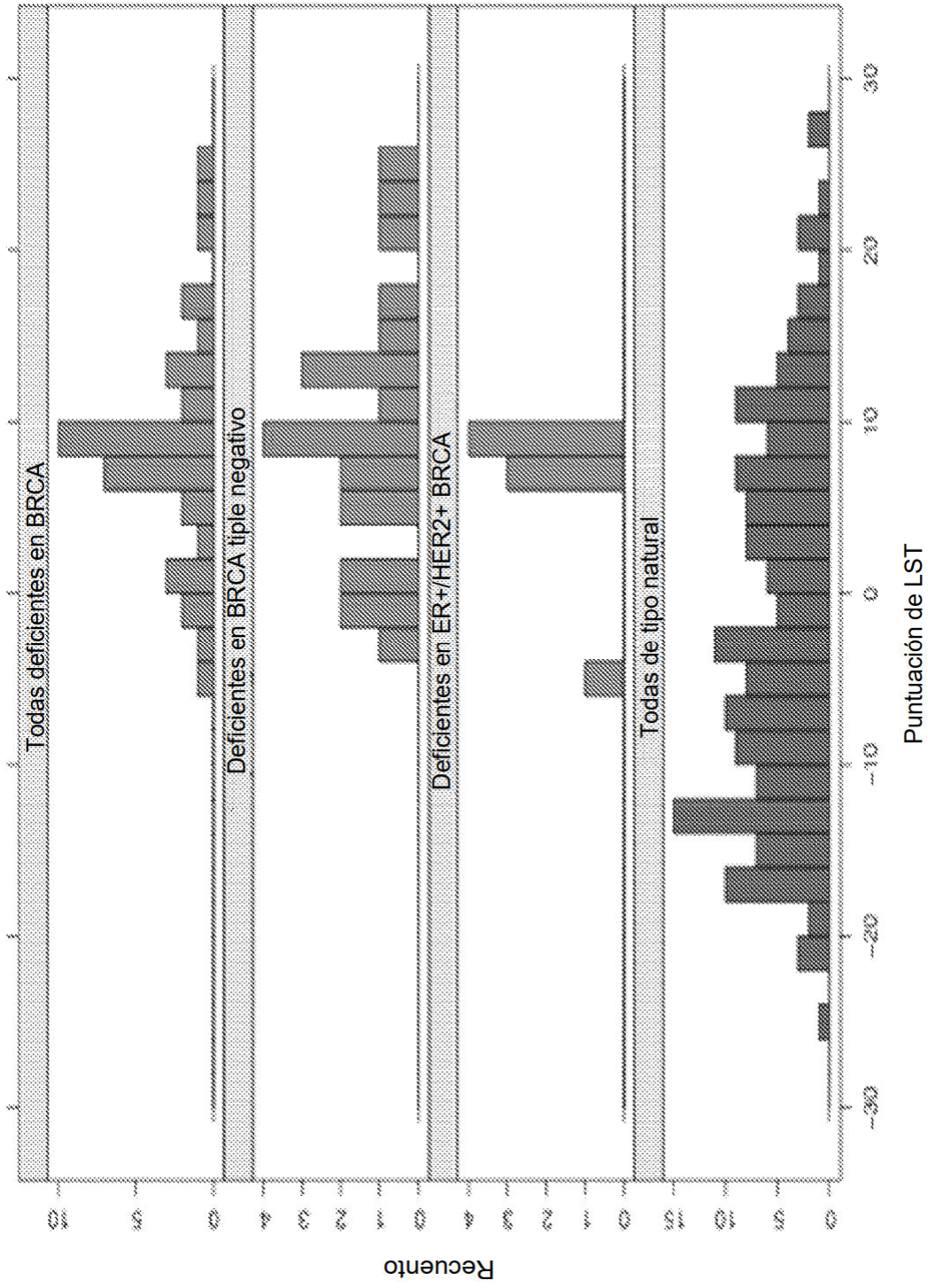


Figura 7C

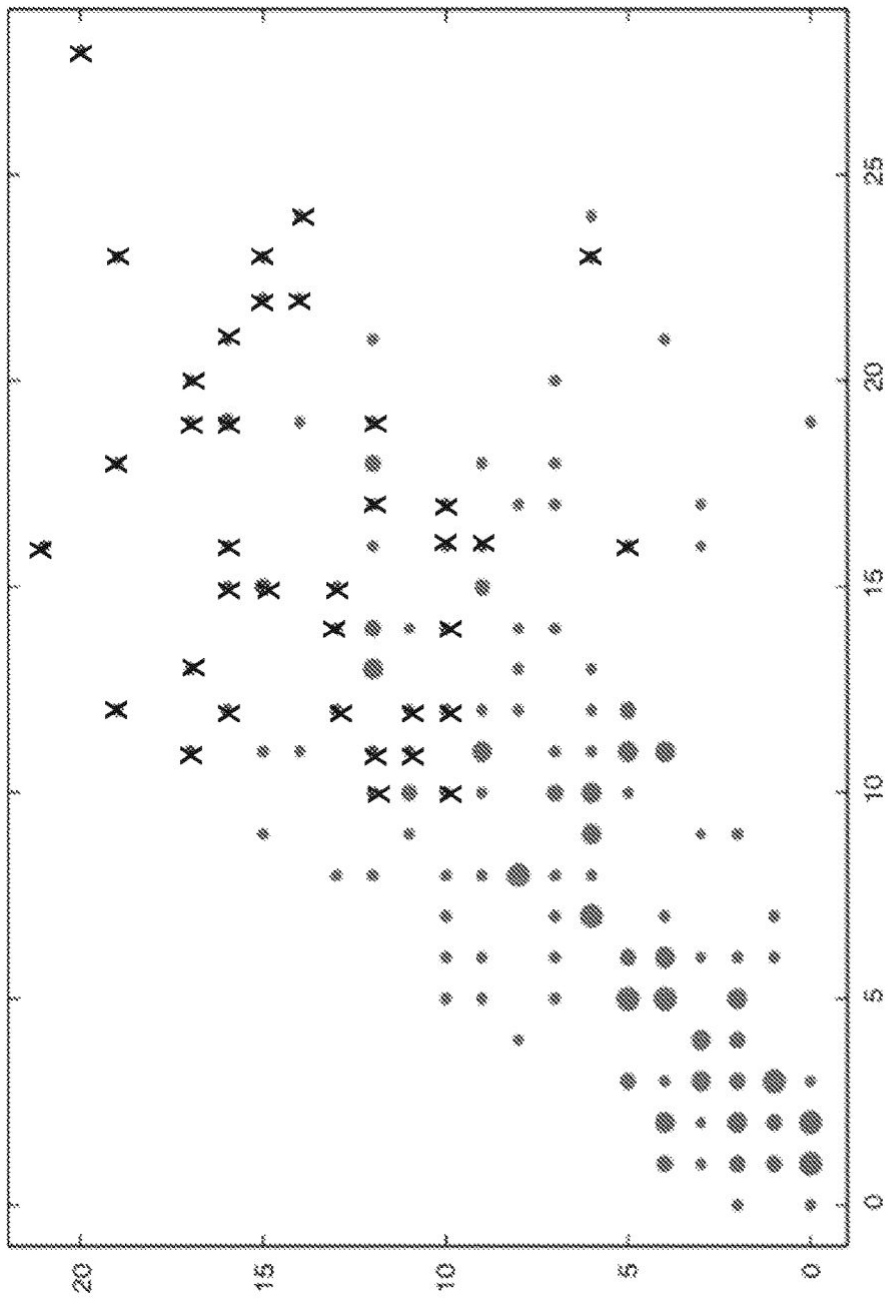


Figura 7D

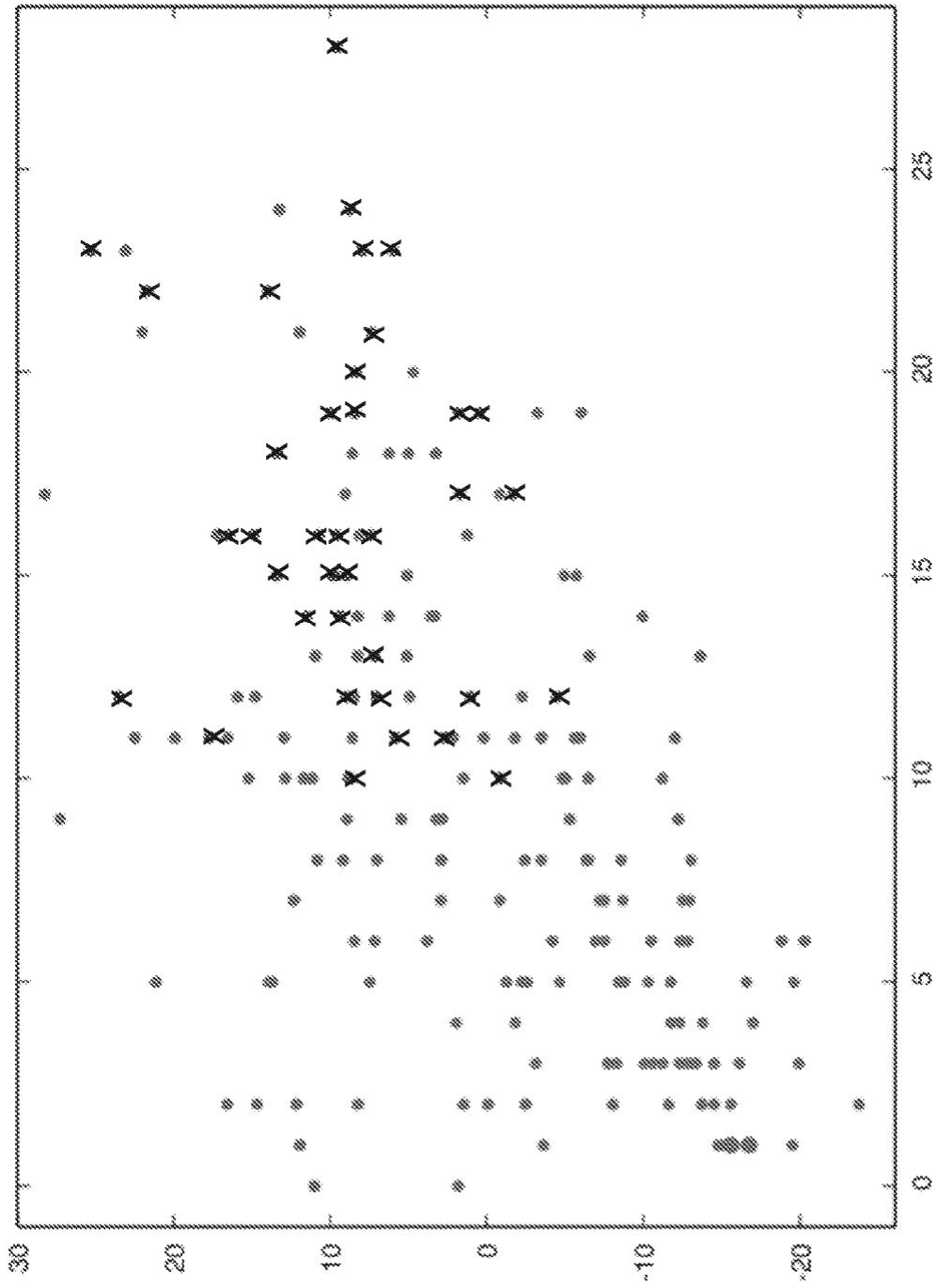


Figura 7E

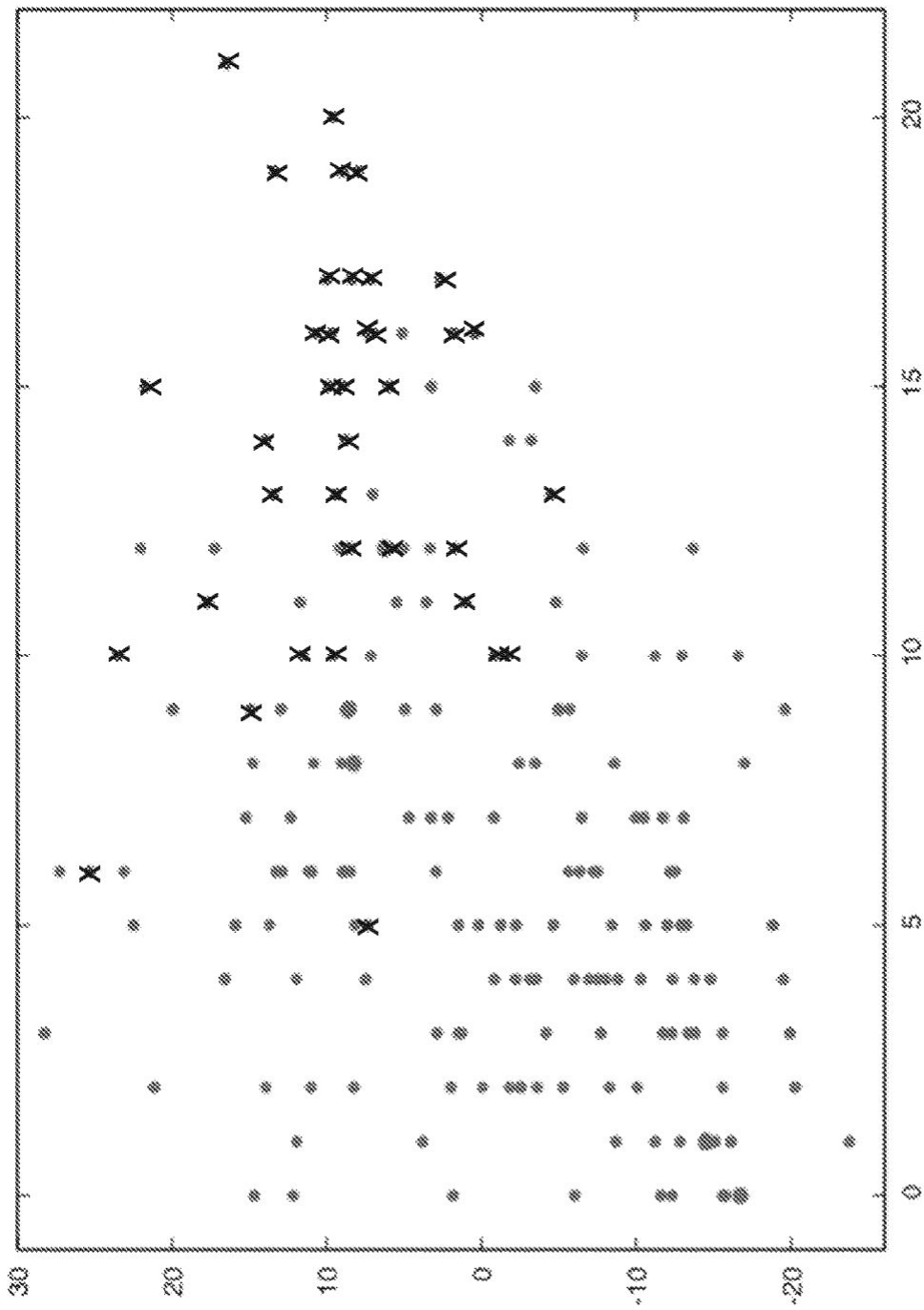
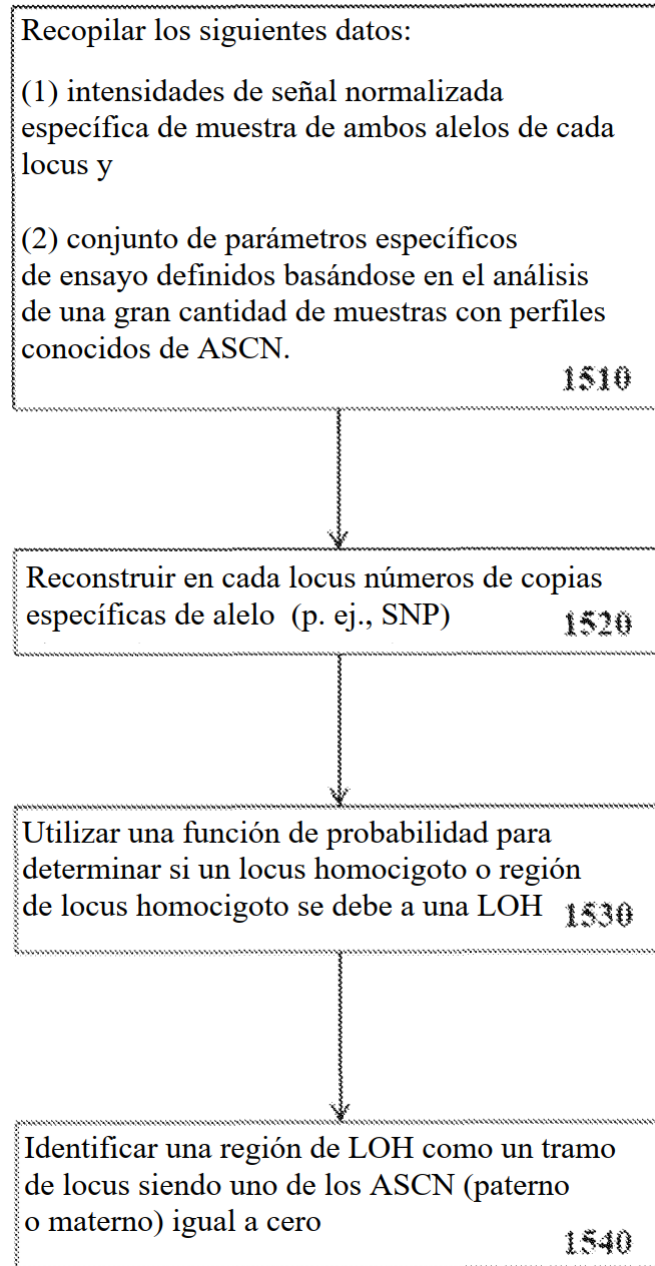


Figura 7F

Figura 8



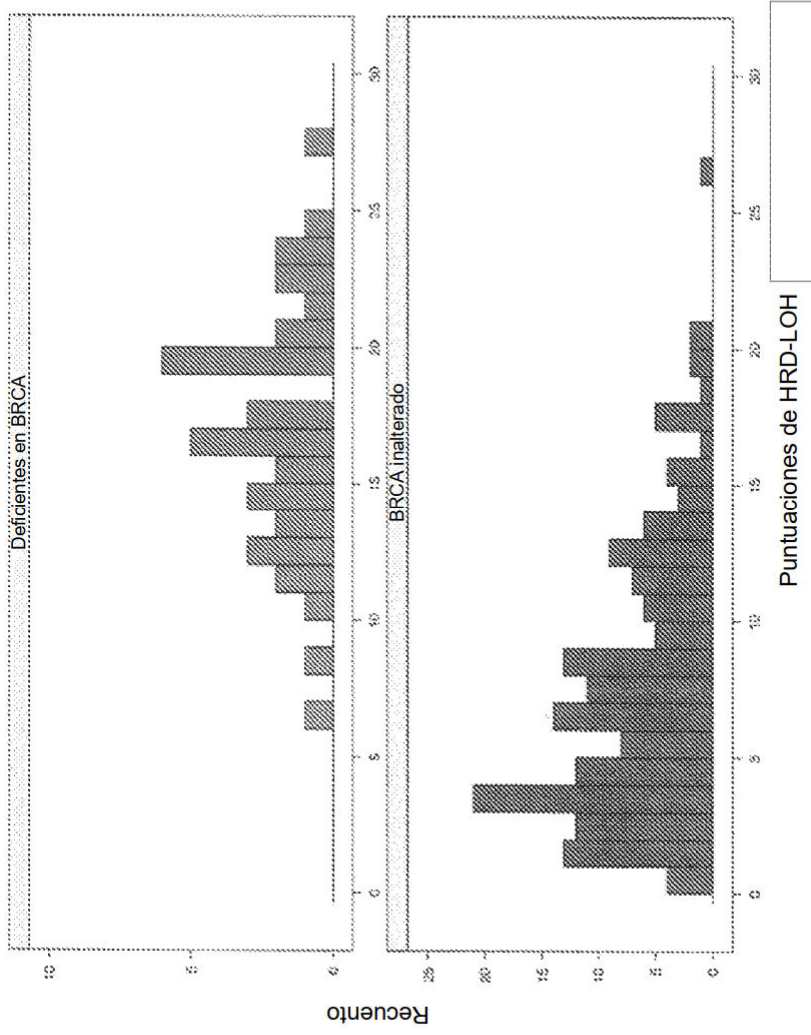


Figura 9A

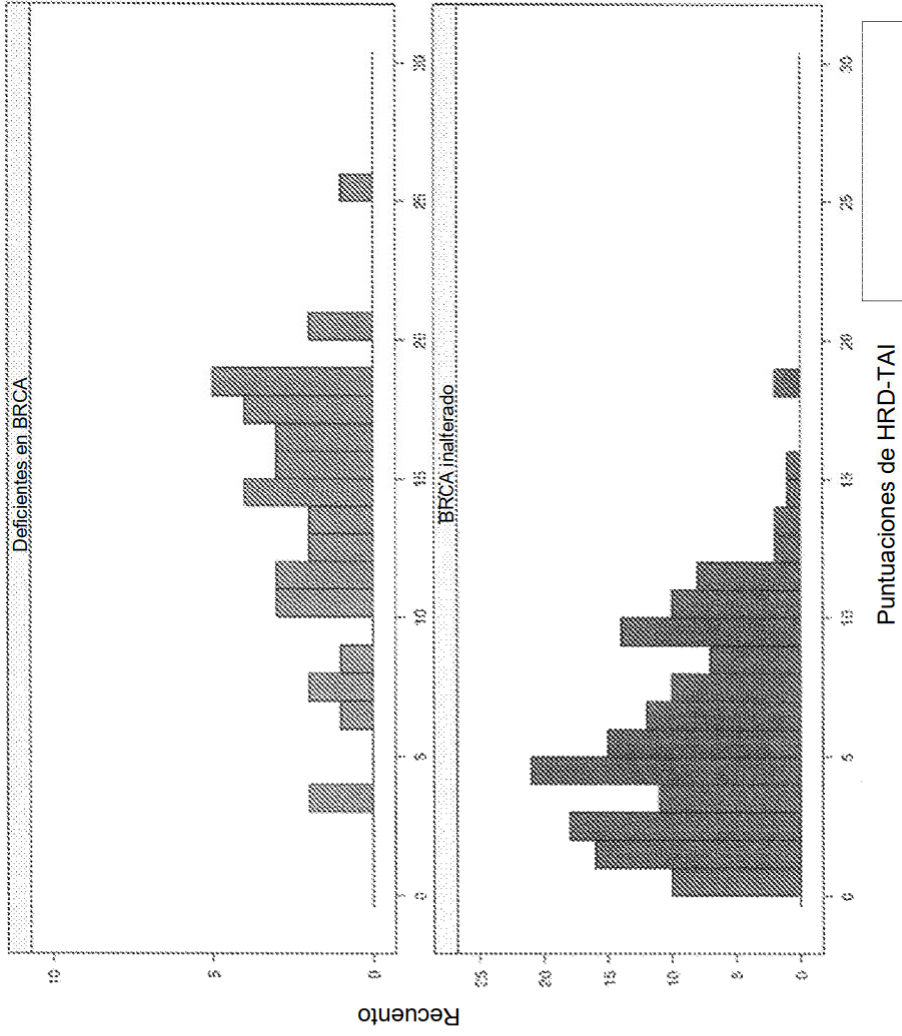


Figura 9B

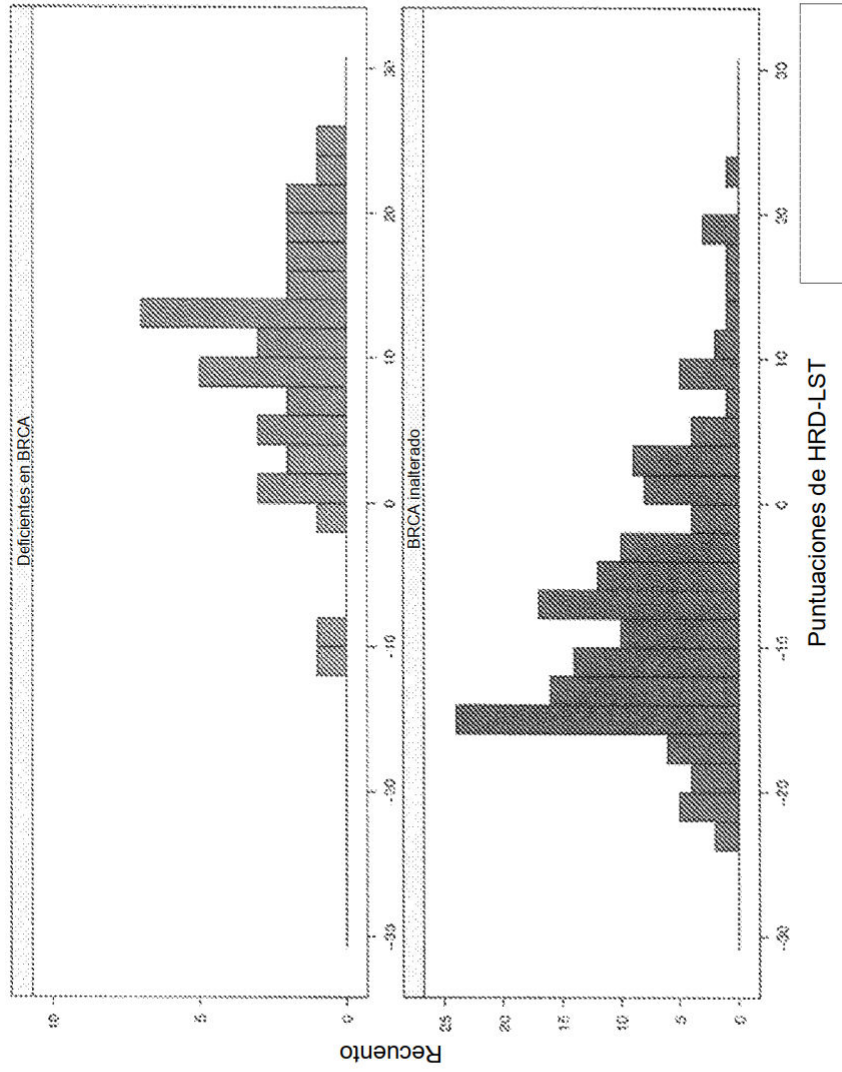


Figura 9C

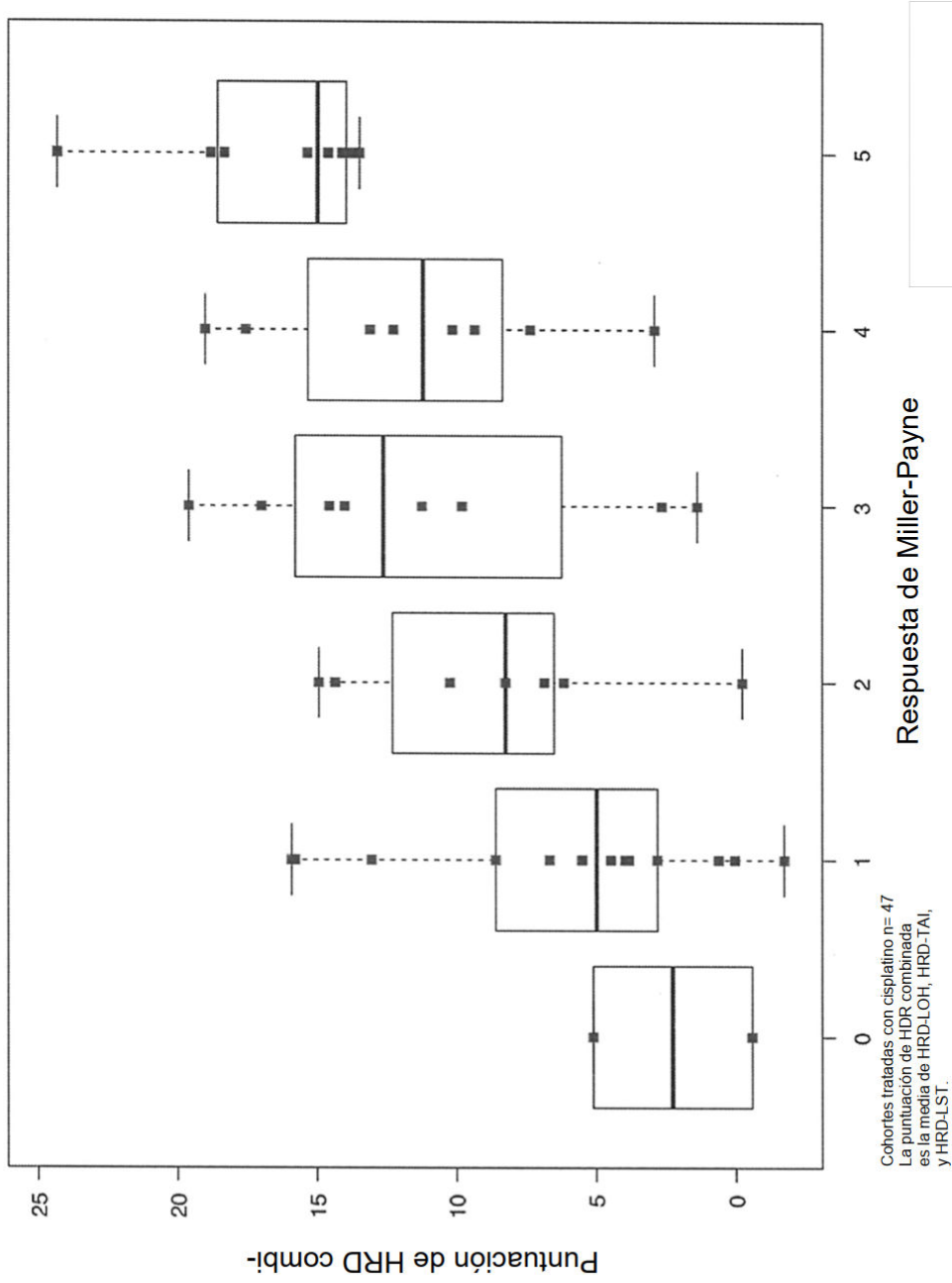
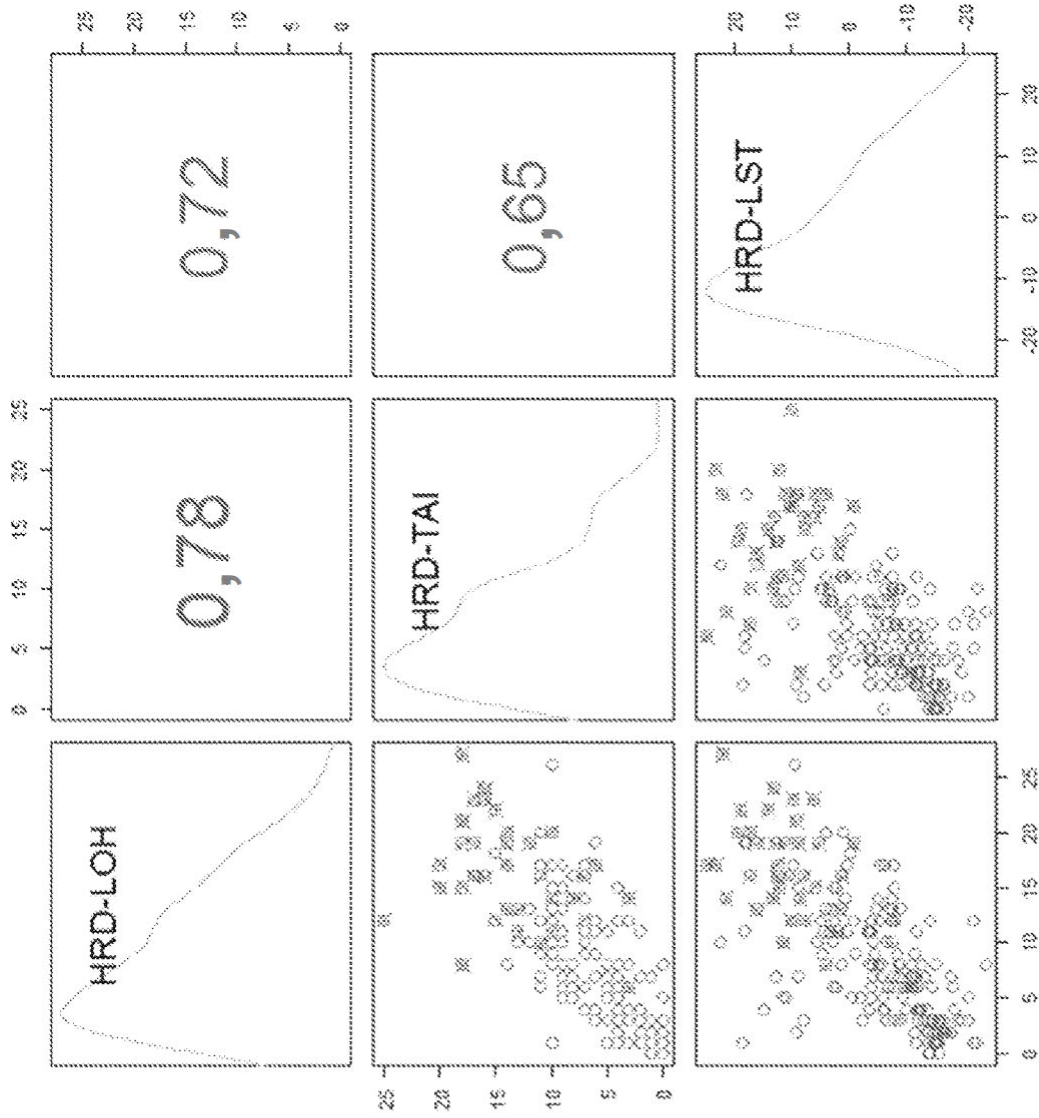


Figura 10



⊗ Deficientes en BRCA1/2 ○ BRCA1/2 inalterado

Figura 11

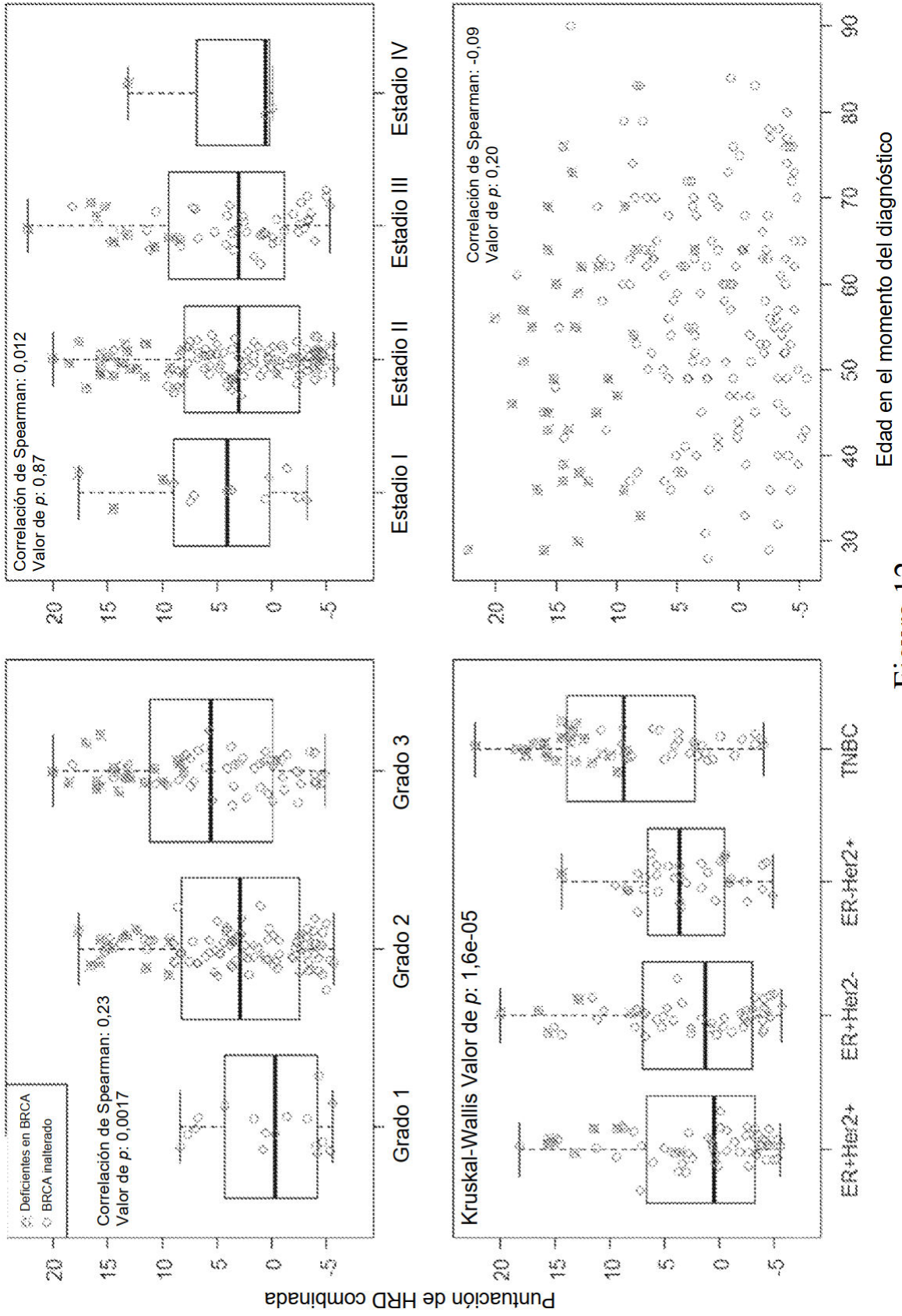


Figura 12

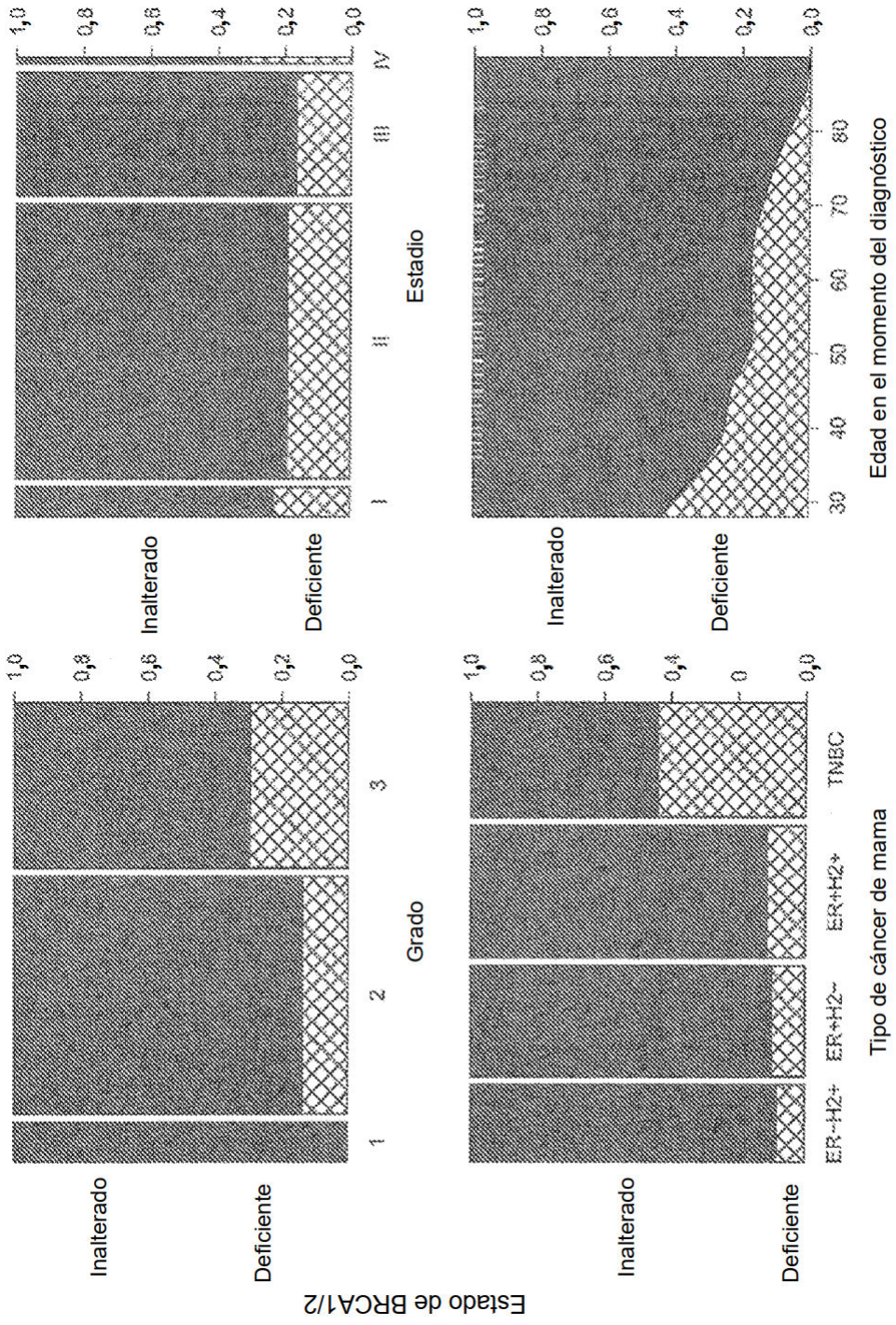


Figura 13

**Estudios combinados
de mama y ovario**

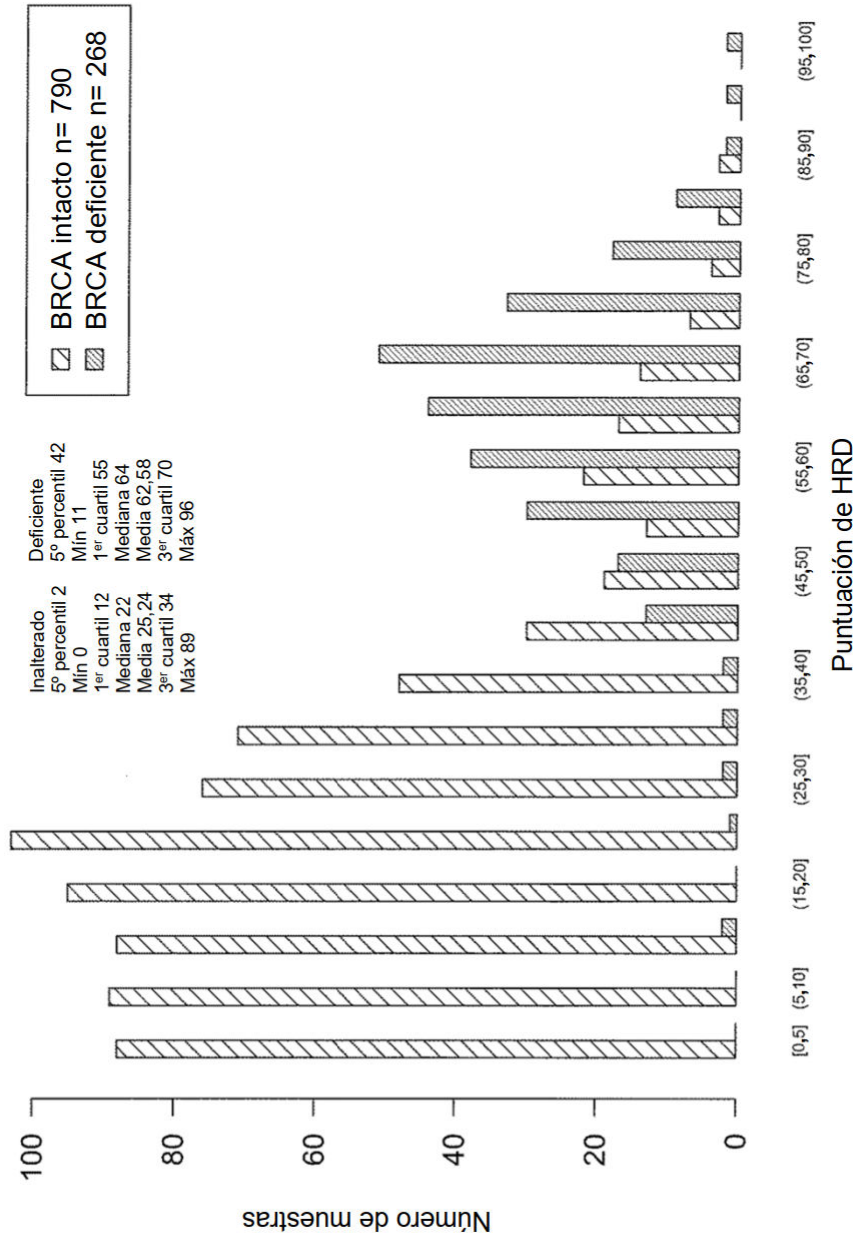


Figura 14

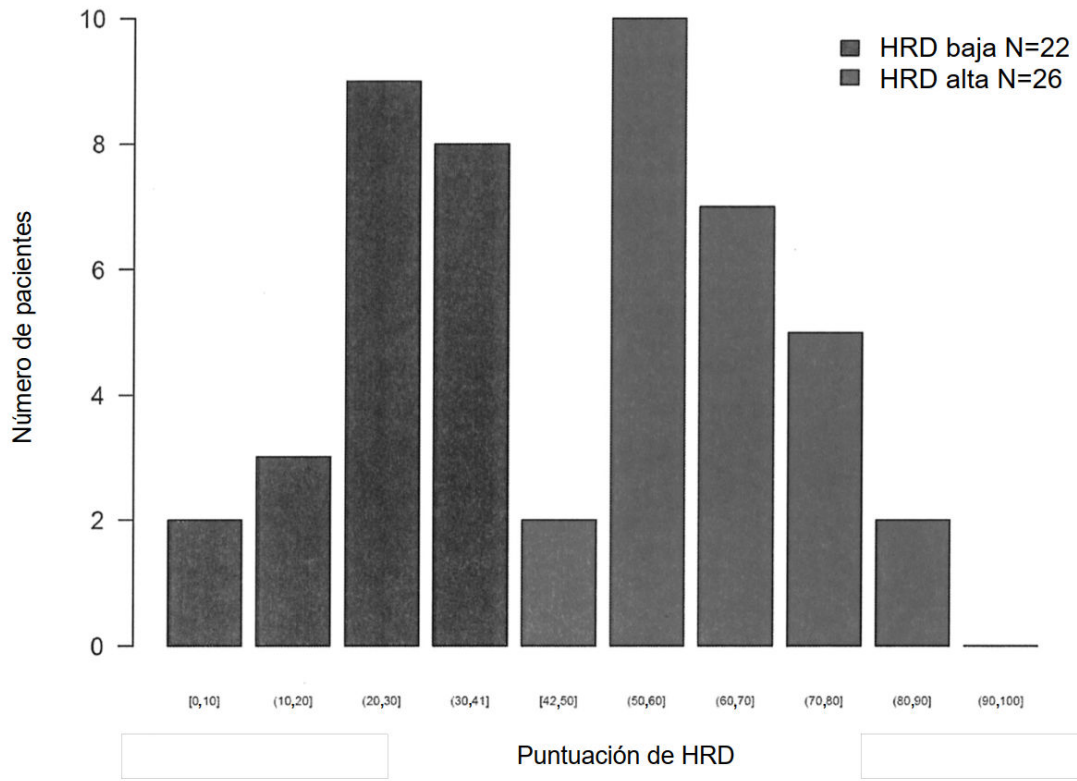


Figura 15

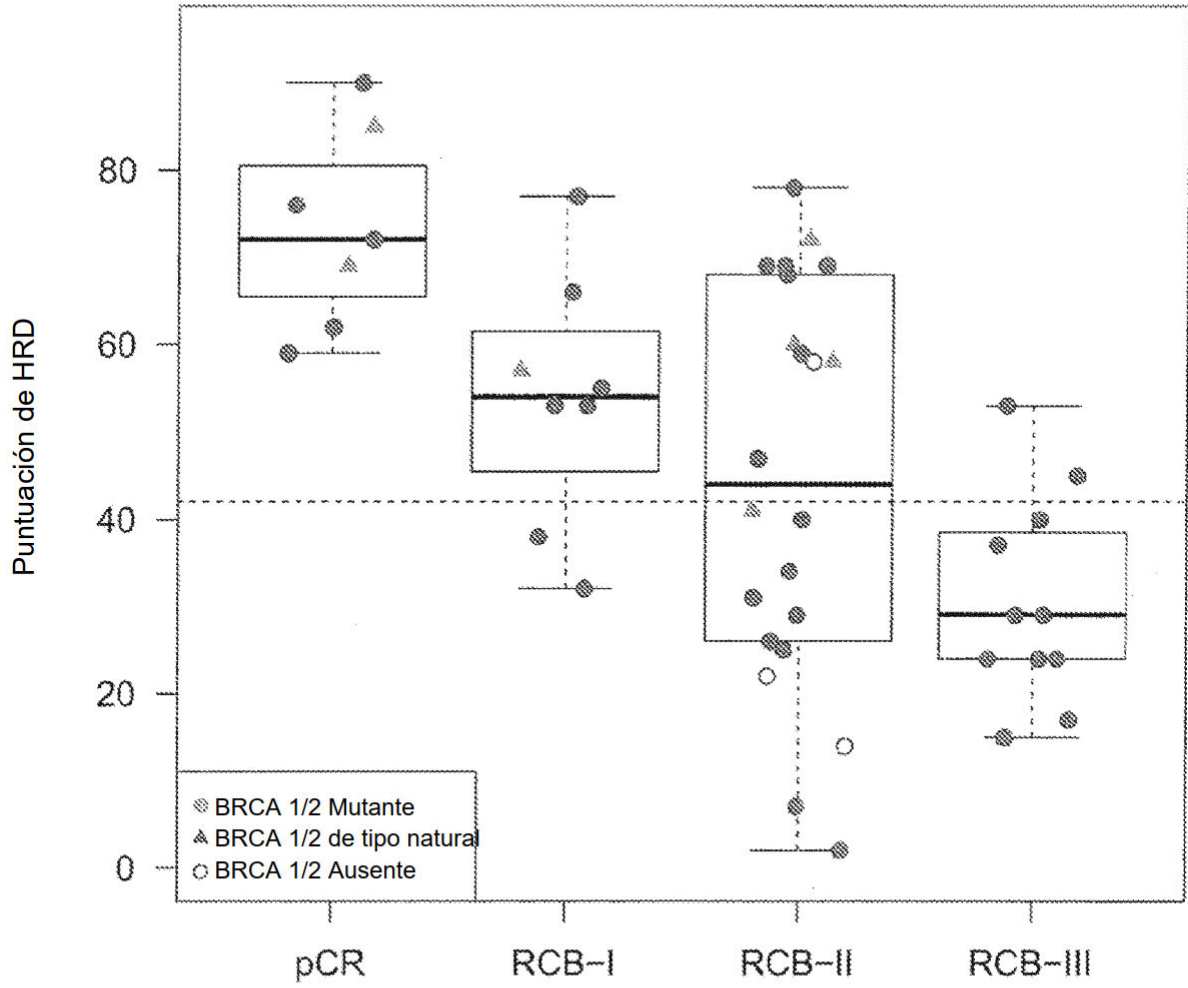


Figura 16

Modelos de regresión logística de respuesta patológica

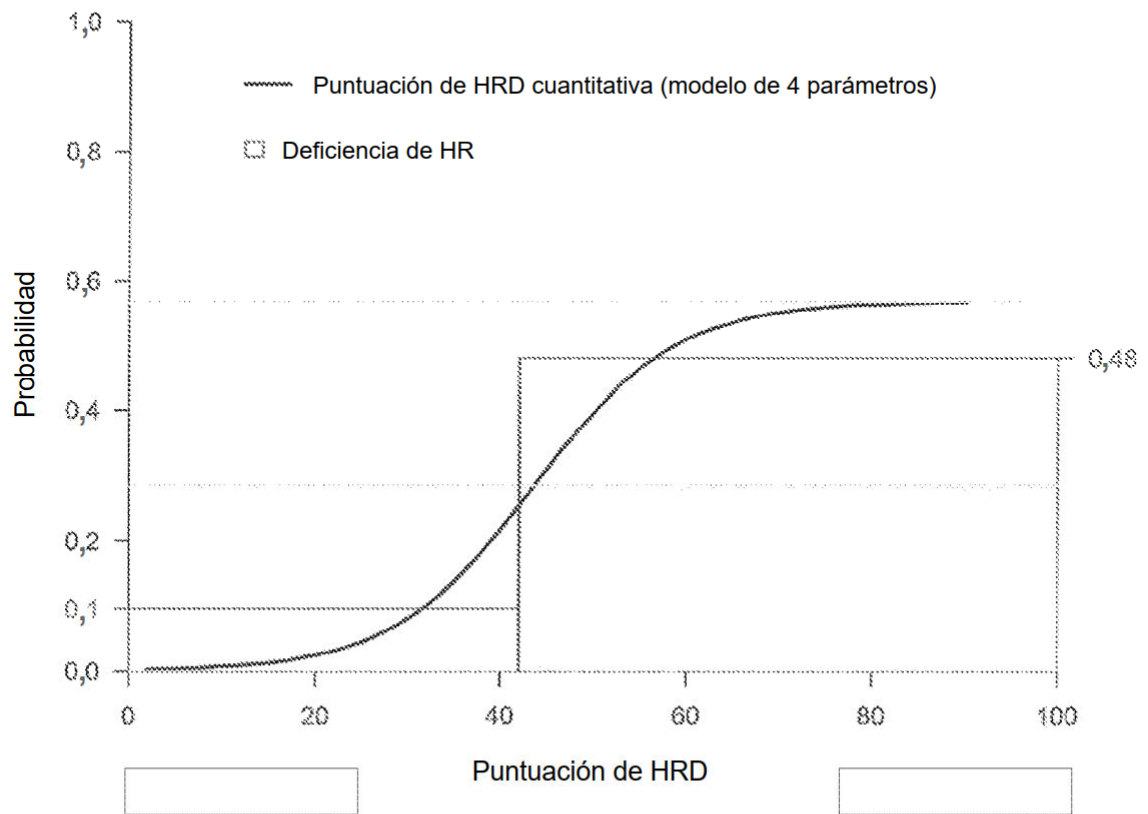


Figura 17

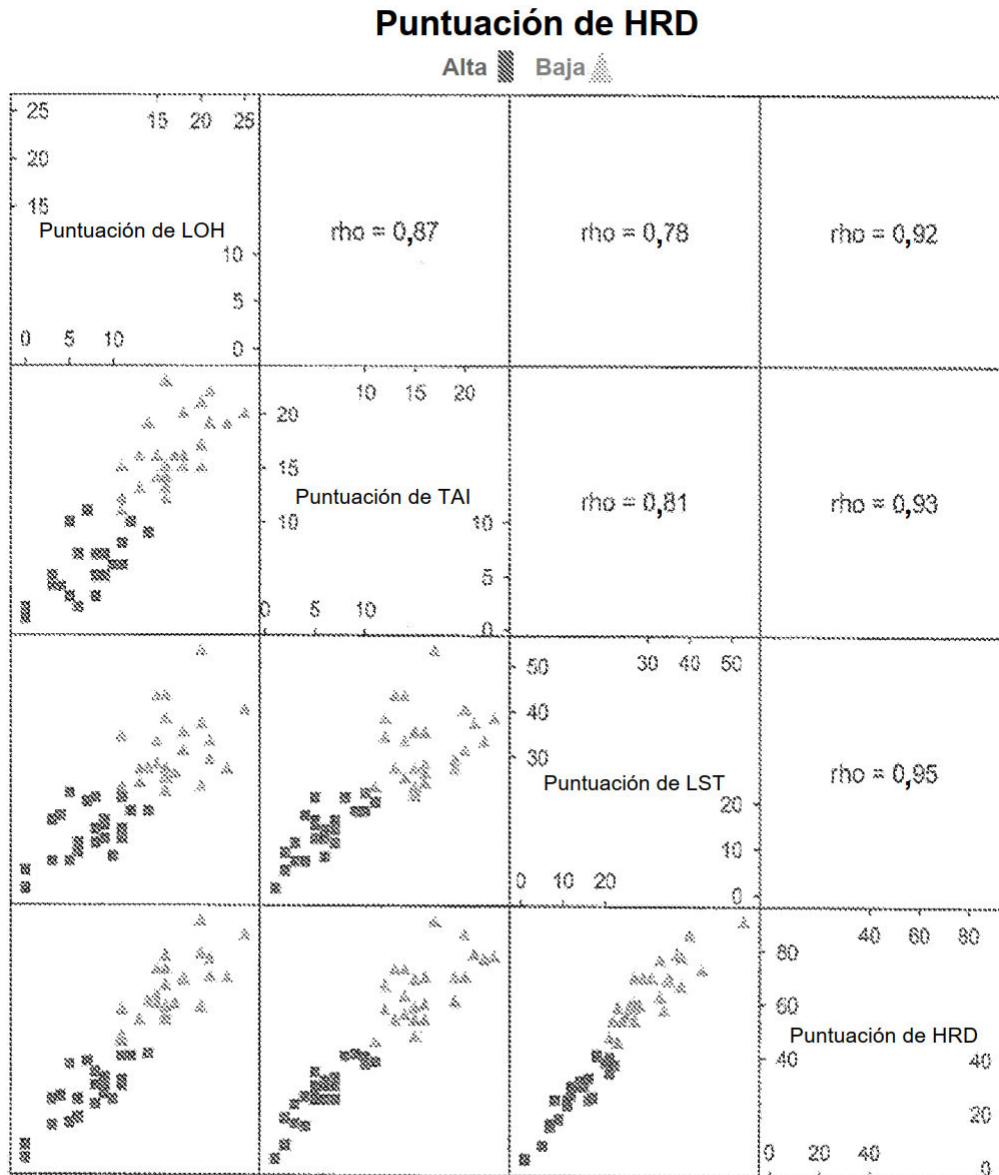


Figura 18