

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 015 226**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

C12Q 1/68 (2008.01)

C40B 30/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.08.2013** **E 23156159 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2024** **EP 4219765**

54 Título: **Pronóstico del cáncer de próstata mediante biomarcadores**

30 Prioridad:

16.08.2012 US 201261684066 P

13.02.2013 US 201361764365 P

14.03.2013 US 201361783124 P

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

30.04.2025

73 Titular/es:

VERACYTE SD, INC. (50.00%)

6925 Lusk Blvd, Suite 200

San Diego, CA 92121, US y

**MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION
AND RESEARCH (50.00%)**

72 Inventor/es:

BUERKI, CHRISTINE;

CRISAN, ANAMARIA;

DAVICIONI, ELAI;

ERHO, NICHOLAS GEORGE;

GHADESSI, MERCEDEH;

JENKINS, ROBERT, B. y

VERGARA CORREA, ISMAEL A.

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 3 015 226 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

Pronóstico del cáncer de próstata mediante biomarcadores

5 Antecedentes de la invención

El cáncer es el crecimiento descontrolado de células anormales en cualquier parte del cuerpo. Las células anormales se denominan células cancerosas, células malignas o células tumorales. Muchos cánceres y las células anormales que componen el tejido canceroso se identifican además por el nombre del tejido del que se originaron las células anormales (por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de páncreas, cáncer de tiroides). El cáncer no se limita a los seres humanos; los animales y otros organismos vivos pueden desarrollar cáncer. Las células cancerosas pueden proliferar sin control y formar una masa de células cancerosas. Las células cancerosas pueden desprenderse de esta masa original de células, viajar a través de los sistemas sanguíneo y linfático y alojarse en otros órganos donde pueden repetir nuevamente el ciclo de crecimiento descontrolado. Este proceso de células cancerosas que abandonan un área y crecen en otra área del cuerpo a menudo se denomina diseminación metastásica o enfermedad metastásica. Por ejemplo, si las células de cáncer de mama se propagan a un hueso (o a cualquier otro lugar), puede significar que el individuo tiene cáncer de mama metastásico.

Los parámetros clínicos estándar, tal como tamaño del tumor, grado, afectación de ganglios linfáticos y la estadificación de metástasis en ganglios tumorales (TIVM, por sus siglas en inglés) (American Joint Committee on Cancer <http://www.cancerstaging.org>), pueden correlacionarse con el resultado y servir para estratificar los pacientes con respecto a la quimioterapia (neo)adyuvante, inmunoterapia, terapia de anticuerpos y/o regímenes de radioterapia. La incorporación de marcadores moleculares en la práctica clínica puede definir los subtipos de tumores que tienen más probabilidades de responder a la terapia dirigida. Sin embargo, los tumores del mismo estadio agrupados por subtipos histológicos o moleculares pueden responder de manera diferente al mismo régimen de tratamiento. Pueden existir alteraciones genéticas y epigenéticas clave adicionales con importantes contribuciones etiológicas. Una comprensión más detallada de los mecanismos moleculares y de las rutas reguladoras que actúan en las células cancerosas y en el microambiente tumoral (TME, por sus siglas en inglés) podría mejorar drásticamente el diseño de nuevos fármacos antitumorales e indicar la selección de estrategias terapéuticas óptimas. El desarrollo e implementación de biomarcadores de diagnóstico, de pronóstico y terapéuticos para caracterizar la biología de cada tumor pueden ayudar a los médicos a tomar decisiones importantes con respecto a la atención y al tratamiento de pacientes individuales. Diversas solicitudes de patente anteriores (por ejemplo, WO2006/110264, WO2009/1437603, WO2007/056049, WO2006/091776) han proporcionado firmas génicas para su uso en métodos para determinar el diagnóstico y/o pronóstico del cáncer de próstata.

Por tanto, en el presente documento se divulgan métodos, composiciones y sistemas adicionales para el análisis de dianas codificantes y no codificantes para el pronóstico del cáncer de próstata.

Esta información de antecedentes se proporciona con el fin de dar a conocer la información que los presentes solicitantes creen que es de posible relevancia para la presente invención.

Sumario de la invención

La invención es como se define en las reivindicaciones adjuntas y consiste en un método para pronosticar el cáncer de próstata en un sujeto que tiene dicho cáncer que comprende: (a) determinar un nivel de expresión de una pluralidad de dianas en una muestra del sujeto, en donde la pluralidad de dianas comprende al menos 6 dianas seleccionadas de IQGAP3, ANO7, ZWILCH, CAMK2N1, RABGAP1, EPPK1, GLYATL1P4/PCAT-80, LASP1, MYBPC1, NFIB, NUSAP1, PBX1, PCAT-32, PCDH7, S1PR4, THBS2, TNFRSF19, C6orf10, UBE2C, SENP7, ANLN, C10orf16, PPP6R3, PDS5B, TOP2A, IL1RAP, CENPE, GALNT8, KCNQ1, C6orf155, LUZP2, HEATR3, TMEM1, CFBXXbac-BPG116M5.17, ECHDC2, ARNTL o los SEQ ID NO: 1-43; y (b) pronosticar el cáncer, basándose en los niveles de expresión de la pluralidad de dianas. También se divulga en algunas realizaciones del presente documento un método para pronosticar el cáncer de próstata en un sujeto, que comprende (a) determinar un nivel de expresión en una muestra del sujeto para una pluralidad de dianas, en donde la pluralidad de dianas comprende más de una diana seleccionada de las Tablas 2, 4, 11 o 55; y (b) pronosticar el cáncer en un sujeto basándose en los niveles de expresión de la pluralidad de dianas

Las siguientes realizaciones divulgadas son solo parte de la invención en la medida en que no se extiendan más allá del contenido de las reivindicaciones adjuntas.

En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende una diana codificante. En algunas realizaciones, la diana codificante es una secuencia antisentido codificante, una secuencia exónica. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende una diana no codificante. En algunas realizaciones, la diana no codificante comprende una secuencia intrínica o se solapa parcialmente con una secuencia intrínica. En algunas realizaciones, la diana no codificante comprende una secuencia intrínica o se solapa parcialmente con una secuencia intrínica. En algunas realizaciones, la diana no codificante comprende una secuencia dentro de la UTR o se solapa parcialmente con una secuencia UTR. En algunas realizaciones, la diana no codificante comprende una secuencia antisentido o se solapa

parcialmente con una secuencia antisentido. En algunas realizaciones, la diana no codificante comprende una secuencia intergénica. En algunas realizaciones, la diana comprende una secuencia de ácido nucleico. En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico es una secuencia de ADN. En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico es una secuencia de ARN. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende al menos 5 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende al menos 10 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende al menos 15 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende al menos 20 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende al menos 22 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 11 o 55. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende al menos 30 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 11 o 55. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende al menos 35 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 11 o 55. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende al menos 40 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 11 o 55. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende al menos 5 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas se selecciona de los SEQ ID NO: 1-43. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas se selecciona de los SEQ ID NO: 1-22. En determinadas realizaciones, la pluralidad de dianas se selecciona del grupo que consiste en: PBX1, MYBPC1, LASP1, CAMK2N1, RABGAP1, UBE2C, PCAT-32, NF1B, TNFRSF19, PCDH7, ANO7, GLYATL1P4/PCAT-80, C6orf10, IQGAP3, THBS2, EPPK1, NUSAP1, ZWILCH, S1P4, SENP7, ANLN, C10orf116, PPP6R3, PDS5B, TOP2A, IL1RAP, CENPE, GALNT8, KCNQ1, C6orf155, LUZP2, HEATR3, TMEM108, CFBXXbac-BPG116M5.17, ECHDC2 y ARNTL. En otras realizaciones, la pluralidad de dianas se selecciona del grupo que consiste en: PBX1, MYBPC1, LASP1, CAMK2N1, RABGAP1, UBE2C, PCAT-32, NF1B, TNFRSF19, PCDH7, ANO7, GLYATL1P4/PCAT-80, C6orf10, IQGAP3, THBS2, EPPK1, NUSAP1, ZWILCH y S1P4. En algunas realizaciones, el pronóstico incluye determinar la malignidad del cáncer. En algunas realizaciones, el pronóstico incluye determinar el estadio del cáncer. En algunas realizaciones, el pronóstico incluye evaluar el riesgo de recurrencia del cáncer. En algunas realizaciones, el pronóstico incluye evaluar el grado del cáncer. En algunas realizaciones, determinar el tratamiento para el cáncer incluye determinar la eficacia de tratamiento. En algunas realizaciones, el método comprende además la secuenciación de la pluralidad de dianas. En algunas realizaciones, el método comprende además hibridar la pluralidad de dianas en un soporte sólido. En algunas realizaciones, el soporte sólido es una perla o matriz. En algunas realizaciones, determinar el nivel de expresión de una pluralidad de dianas puede comprender el uso de un conjunto de sondas. En algunas realizaciones, determinar el nivel de expresión puede comprender el uso de un clasificador. El clasificador puede comprender una región de selección de sonda (PSR, por sus siglas en inglés). En algunas realizaciones, el clasificador puede comprender el uso de un algoritmo. El algoritmo puede comprender un algoritmo de aprendizaje automático. En algunas realizaciones, determinar el nivel de expresión también puede comprender secuenciar la pluralidad de dianas.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1. Visión de conjunto de los estudios. Diagrama CONSORT que ilustra el diseño de los estudios de entrenamiento y de validación independiente.

Figura 2. Curvas de KM para los eventos de BCR, METS, PCSM y de supervivencia general para pacientes de NED, PSA y MET en la cohorte de investigación. Para cada gráfica, la probabilidad del evento (BCR, METS, PCSM u OS) se muestra en el eje Y. METS también se denomina SIS (de evento sistémico) o RC (recurrencia clínica).

Figura 3. Métodos de conjuntos de 43 biomarcadores

Figura 4. Anotación de PSR del conjunto de 43 biomarcadores

Figura 5. Error cuadrático medio variable de biomarcadores para la selección del distintivo de 22 biomarcadores

Figura 6. Gráfico de importancia variable de distintivos de biomarcadores

Figura 7. Desarrollo de un clasificador genómico (GC, por sus siglas en inglés).

Figura 8. ROC de supervivencia para comparar la precisión de la predicción de la enfermedad metastásica (METS) a los 5 años en diferentes modelos. La ROC de supervivencia evalúa la capacidad de un marcador medido en el momento basal (en este caso, PR) para discriminar entre pacientes que desarrollan CP de los que no la desarrollan durante un intervalo de seguimiento de 5 años. Se muestra el índice de discriminación C con intervalos de confianza del 95 % para cada clasificador de pronóstico.

Figura 9. Gráfica estándar de ROC y de discriminación para GC, CC y CCG.

Figura 10. Gráficos de calibración para la probabilidad de METS

Figura 11. Gráficos de discriminación para los modelos de CC, GC y GCC (para METS)

Figura 12. Análisis de la curva de decisión de supervivencia para los modelos de pronóstico a los 5 años tras una prostatectomía radical. El rendimiento de los modelos se compara con los extremos de clasificar todos los pacientes como CP (por tanto, de tratar potencialmente a todos los pacientes, línea gris claro), frente a clasificar a ningún paciente como CP (este tratar a ninguno, línea gris oscura horizontal). Un umbral de decisión para tratar es un punto de corte que se utiliza para clasificar a un paciente como que tiene CP o no. En el análisis de la curva de decisión, este umbral varía de 0 a 1 y la sensibilidad y la especificidad se calculan en cada umbral, para determinar el beneficio neto. Un modelo con un alto beneficio neto que no solape con la línea de "Tratar a todos" es óptimo. El eje x son las probabilidades del umbral, al tiempo que el eje y es el beneficio neto.

Figura 13. Comparación de la incidencia acumulada de CC, GC y GCC (para METS)

Figura 14. Incidencia acumulada retirando pacientes con hormonas adyuvantes: GPSM y CCG

Figura 15. Incidencia acumulada retirando pacientes con hormonas adyuvantes: GPSM y GC.

Figura 16. ROC de supervivencia libre de metástasis a 5 años en un estudio de validación de muestras

Figura 17. Incidencia acumulada: D'Amico y GC

Figura 18. Incidencia acumulada de los grupos GPSM y GC. A) Los pacientes se separan en grupos de GPSM de riesgo bajo (< 5), intermedio (5-9) y alto (≥ 10) como se indica en Thompson *et al.* B) Las puntuaciones de GC se separaron en bajas ($< 0,5$) y altas ($\geq 0,5$) para los grupos de riesgo provisionales. Independientemente del método utilizado, las líneas rojas indicaron mayor riesgo, las naranjas riesgo intermedio y las verdes menor riesgo. El número de pacientes (controles ponderados por un factor de 5) en riesgo se muestra debajo del eje x y el número total de eventos en cada grupo de riesgo se muestra en recuadros junto a las líneas.

Figura 19. Gráficos de discriminación que muestran la segregación de pacientes con Gleason 7 mediante el CC (o MC, de modelo clínico) y el GCC ($n=382$)

Figura 20. Grupos de riesgo de MC y de GCC de pacientes con Gleason 7, 4+3 y 3+4 con criterio de valoración de RC ($n = 150$)

Figura 21. Estratificación de GCC de pacientes con Gleason 7, 4+3 y 3+4 con criterio de valoración de PCSM ($n = 150$)

Figura 22. Subestratificación de Gleason 4+3 ($n = 50$) y 3+4 ($n = 100$) mediante el GCC con criterio de valoración de METS (o RC, de recurrencia clínica)

Figura 23. Subestratificación de Gleason 4+3 ($n = 50$) y 3+4 ($n = 100$) mediante el GCC con criterio de valoración de PCSM

Figura 24. Estratificación de paciente N+ tratado uniformemente mediante GCC y CC (o MC, modelo clínico) ($n = 97$ y $n = 96$) con criterio de valoración de METS (o RC, recurrencia clínica)

Figura 25. Estratificación de paciente N+ tratado uniformemente mediante GCC y CC (o MC, modelo clínico) ($n = 97$ y $n = 96$) con criterio de valoración de PCSM

Figura 26. Gráfica de escalado multidimensional de los conjuntos (A) de entrenamiento y (B) de prueba. Los controles se indican como "+" y los casos se indican como círculos. Tanto en el conjunto de entrenamiento como en el de validación, los controles tienden a agruparse a la izquierda del gráfico y los casos a agruparse a la derecha del gráfico. De esta manera, la mayoría de las diferencias biológicas se expresan en la primera dimensión del escalado. Se utilizó la proximidad de Random Forest [<http://www.stat.berkeley.edu/~breiman/>] para medir la distancia de 22 marcadores entre muestras.

Figura 27. Rendimiento de distintivos externos en conjuntos de entrenamiento y de prueba. Para cada distintivo, se muestra la institución a la que se asocia, año de publicación, autor principal, el AUC obtenido en los conjuntos de entrenamiento y de prueba, así como el intervalo de confianza del 95 % para este parámetro.

Figura 28. Rendimiento de genes individuales en los conjuntos de entrenamiento y de prueba. Para cada gen, se muestra el AUC obtenido en los conjuntos de entrenamiento y de prueba, así como el intervalo de confianza del 95 % para este parámetro.

Figura 29. Curva ROC y AUC con intervalo de confianza del 95 % para clasificadores y variables clinicopatológicas individuales en los conjuntos de entrenamiento y de prueba. CC: clasificador solo clínico. GC: clasificador genómico. GCC: clasificador combinado genómico-clínico.

Figura 30. Curva ROC de modelos multivariantes y variables clinicopatológicas individuales. A) Curvas ROC en el entrenamiento B) Curvas ROC en la prueba.

Figura 31. ROC de supervivencia de 5 años sin metástasis de GC y variables clinicopatológicas individuales en el conjunto de validación independiente.

Figura 32. Curva de decisión de 5 años sin metástasis de GC y variables clinicopatológicas individuales en el conjunto de validación independiente.

Figura 33. Distribución de las puntuaciones de GC entre las categorías patológicas de GS en la prueba. Las puntuaciones de GC se representan gráficamente con una fluctuación para diferenciar más fácilmente los pacientes de cada uno de los grupos de GS patológico (abscisas). Se muestran los casos (negro) y los pacientes de control (gris) para cada categoría. La línea negra discontinua indica el límite de GC de 0,5. Las tendencias muestran que los pacientes con puntuaciones de GC altas también tienden a tener puntuaciones de Gleason altas también.

Figura 34. Distribución de las puntuaciones de GC entre las categorías patológicas de GS en el conjunto de validación independiente. METS = triángulo, sin METS = círculo.

Figura 35A-C. Gráficos de Kaplan-Meier de mortalidad específica por cáncer de próstata en los conjuntos de entrenamiento y de prueba. Figura 35A - Puntuación de Gleason = 7; Figura 35B - Puntuación de Gleason = 8; Figura 35C - Puntuación de Gleason ≥ 9 .

Figura 36. Estimaciones de Kaplan Meier para todos los controles de PSA con criterio de valoración de metástasis. Los controles de PSA se separaron en dos grupos basándose en un riesgo alto ($> 0,5$) o bajo de acuerdo con GC. Los valores p de rango logarítmico se muestran en la esquina superior derecha.

Figura 37. Análisis de la curva de decisión de supervivencia de GC y CAPRA-S.

Figura 38. Distribución de las puntuaciones de GC sobre las categorías de puntuación de CAPRA-S.

Figura 39. El gráfico de incidencia acumulada para el grupo de CAPRA-S de riesgo alto (A) y estratificado por la puntuación GC (B).

Figuras 40A-C. Curva de predicción para GC, CAPRA-S y un modelo genómico-clínico integrado. (A) CAPRA-S; (B) GC; (C) Modelo genómico-clínico integrado.

Figuras 41A-B. Desglose de las recomendaciones de tratamiento antes y después del GC para los grupos de riesgo de GC bajo y alto en el escenario adyuvante. (A) Pre-GC; (B) Post-GC.

Figura 42. Proporción de recomendaciones de tratamiento para los valores indicados de variables clínicas (por ejemplo: presencia/ausencia) Pre-GC y la proporción resultante recomendada para tratamiento después de GC en grupos de riesgo alto y bajo de GC en el escenario de adyuvante.

Figura 43. Desglose de las recomendaciones de tratamiento antes y después del GC para los grupos de riesgo de GC bajo y alto en el escenario de rescate. (A) Pre-GC; (B) Post-GC.

Figura 44. Proporción de recomendaciones de tratamiento para los valores indicados de variables clínicas (por ejemplo: presencia/ausencia) antes de GC y la proporción resultante recomendada para tratamiento después de GC en grupos de riesgo alto y bajo de GC en el escenario de rescate.

Figura 45. Confianza de los urólogos en las recomendaciones de tratamiento hechas después de los resultados de las pruebas de GC.

Figura 46. Distribución de la puntuación GC entre pacientes METS (derecha, círculos grises claros) y pacientes sin METS (izquierda, círculos grises oscuros).

Figura 47. ROC de supervivencia de 3 años que compara GC y características clinicopatológicas. Los valores dentro de la leyenda indican los AUC y sus correspondientes intervalos de confianza del 95 %.

Figura 48. ROC de supervivencia de 3 años de modelos solo clínicos y basados en genómica. Los valores dentro de la leyenda indican los AUC y su confianza correspondiente del 95 %.

Figura 49. ROC de supervivencia de 3 años de modelos solo clínicos y basados en genómica después de excluir a los pacientes con terapia adyuvante. Los valores dentro de la leyenda indican los AUC y sus correspondientes intervalos de confianza del 95 %.

Figura 50. Distribución de las puntuaciones de GC entre las categorías de puntuación de Gleason patológica para pacientes con y sin metástasis después de recurrencia bioquímica. METS (triángulo); Sin METS (círculo).

Figura 51. Incidencia acumulada de metástasis después de BCR con un límite de GC de 0,4.

Figura 52. Incidencia acumulada de metástasis después de BCR con un límite de GC de 0,5.

Figura 53. Incidencia acumulada de metástasis después de BCR después de excluir pacientes con tratamiento adyuvante.

Figura 54. Reclasificación de pacientes de BCR por GC.

Figura 55. Análisis de curva de decisión de 3 años.

Figura 56. Predicción de GC de metástasis en 962 pacientes de múltiples cohortes en el estudio de metavalidación. Las 5 cohortes con información de metástasis muestran una separación buena en la probabilidad de METS entre pacientes sin METS y pacientes con METS. El 6 % de probabilidad de METS en 5 años se indica mediante una línea discontinua. Las medianas de cada grupo se indican mediante líneas negras.

Figura 57. La proporción de pacientes de riesgo bajo, intermedio y alto según lo determinado por GC muestra una relación de probabilidades de GC con la cohorte de riesgo en el estudio de metavalidación.

En cohortes con riesgo alto (derecha), hay una mayor proporción de pacientes de riesgo intermedio y alto en comparación con las cohortes de menor riesgo (izquierda). El riesgo de la cohorte se determinó en función de la prevalencia de recurrencia bioquímica, pT3 y Gleason 8+.

Figura 58. Probabilidades de GC y puntuación de Gleason en 997 pacientes de 7 cohortes en el estudio de metavalidación. Los pacientes con resultados adversos tienden a tener mayores probabilidades que los pacientes sin METS en cada subconjunto de la puntuación de Gleason. Se muestran las líneas de las medianas de pacientes con METS frente a sin METS.

Figura 59. Probabilidades de GC en 414 pacientes sin BCR en el estudio de metavalidación. Obsérvese que hay pocos eventos de probabilidades de GC altas en pacientes sin BCR de 8 cohortes. En cuanto a los pocos eventos por encima de un 6 %, pueden deberse a un tiempo de seguimiento corto o a que responden al tratamiento. Los pacientes con cualquier tratamiento se indican como Tx, si bien los pacientes sin tratamiento se indican como sin Tx. Los pacientes sin información sobre el tratamiento se indican como desconocido.

Figura 60. ROC de supervivencia de 5 años para la predicción de metástasis después de PR que compara GC con variables clinicopatológicas estándar en la cohorte de riesgo alto de NCCN/AUA. SVI: invasión de vesícula seminal, ECE: extensión extracapsular, SM: margen quirúrgico, PathGS: puntuación de Gleason patológica, PSA preoperatorio: antígeno prostático específico preoperatorio.

Figura 61. Valores de AUC para biomarcadores de pronóstico notificados previamente en cáncer de próstata basados en ROC de 5 años para la predicción de metástasis después de PR en la cohorte de riesgo alto de NCCN/AUA. AUC de supervivencia (IC del 95 %) para predecir la metástasis clínica mediante el análisis de la expresión de ARN para varios genes previamente notificados como pronósticos en la bibliografía. La expresión de cada gen se evaluó mediante un análisis de micromatrices de alta densidad del tumor primario de 648 hombres tratados en Mayo Clinic con prostatectomía radical por cáncer de próstata localizado con enfermedad de pT3 o pT2/SM.

Figura 62. ROC de supervivencia de 5 años para la predicción de metástasis después de PR que compara GC con modelos solo clínicos y modelos genómico-clínicos en la cohorte de riesgo alto de NCCN/AUA. CC: clasificador solo clínico, GCC: clasificador genómico-clínico, Stephenson: nomograma de Stephenson, CAPRA-S: evaluación del riesgo de cáncer de próstata-quirúrgico.

Figura 63. Análisis de la curva de decisión para GC en la cohorte de riesgo alto de NCCN/AUA. El beneficio clínico neto de GC se comparó con (A) otros factores clinicopatológicos y (B) nomogramas solo clínicos.

Figura 64. Reclasificación de pacientes clasificados como de riesgo alto por los criterios de AUA/NCCN basándose en puntuaciones de GC. Los pacientes se categorizaron en grupos de bajo riesgo ($GC < 0,4$) y riesgo alto ($GC \geq 0,4$) en función de sus puntuaciones de GC.

Figura 65. Reclasificación de pacientes clasificados como de riesgo alto por los criterios de AUA/NCCN

basándose en puntuaciones GC tras excluir a los que recibieron tratamientos adyuvantes. Los pacientes se categorizaron en grupos de bajo riesgo ($GC < 0,4$) y riesgo alto ($GC \geq 0,4$) en función de sus puntuaciones de GC.

Figura 66. Probabilidad de incidencia acumulada de metástasis después de PR en la cohorte de riesgo alto de NCCN/AUA. Los pacientes se categorizaron en grupos de bajo riesgo ($GC < 0,4$) y riesgo alto ($GC \geq 0,4$) en función de sus puntuaciones de GC.

Figura 67. Curvas ROC y valores de AUC para la predicción de la progresión de la enfermedad metastásica en ambas cohortes en el estudio del subconjunto de APF.

Figura 68. Curvas ROC y valores de AUC para la predicción de la progresión de la enfermedad metastásica en el subconjunto de APF de SVI.

Figura 69. Curvas ROC y valores de AUC para la predicción de la progresión de la enfermedad metastásica en el subconjunto de APF de ECE.

Figura 70. Curvas ROC y valores de AUC para la predicción de la progresión de la enfermedad metastásica en el subconjunto de APF de SM+.

Figura 71. Curvas ROC y valores de AUC para la predicción de la progresión de la enfermedad metastásica en el subconjunto de APF de GS.

Tabla 1. Características clínicas del conjunto de datos de investigación y de validación

Tabla 2. Conjunto de 43 biomarcadores. Las coordenadas cromosómicas corresponden a la versión hg19 del genoma humano.

Tabla 3. Términos de Gene Ontology enriquecidos en el distintivo de 43 biomarcadores

Tabla 4. Conjunto de 22 biomarcadores. Las coordenadas cromosómicas corresponden a la versión hg19 del genoma humano.

Tabla 5. Comparación de la capacidad de discriminación de los clasificadores en diferentes conjuntos de datos.

Tabla 6. Reclasificación de las categorías de GPSM mediante GC.

Tabla 7. Análisis univariante para el panel de clasificadores pronóstico y variables clinicopatológicas (para METS)

Tabla 8. Análisis multivariante de regresión de Cox.

Tabla 9. Análisis multivariante para el panel de clasificadores pronóstico y variables clinicopatológicas ajustado para la terapia hormonal (para METS)

Tabla 10. Análisis multivariante de GC comparado con GPSM y CC (para METS)

Tabla 11. Lista de secuencias diana

Tabla 12. Análisis de regresión logística univariante y multivariante en el conjunto de prueba

Tabla 13. Modelado multivariante de riesgos instantáneos proporcionales de Cox que compara el clasificador genómico (GC) con variables clinicopatológicas utilizando diferentes parametrizaciones de la puntuación de Gleason en el conjunto de validación independiente.

Tabla 14. Modelos multivariantes de riesgos instantáneos proporcionales de Cox de GC con nomograma de Stephenson

Tabla 15. Modelado multivariante de riesgos instantáneos proporcionales de Cox de grupos de deciles de riesgo del clasificador genómico (GC) después de ajustar para el tratamiento.

Tabla 16. Análisis de supervivencia de los grupos de riesgo de puntuación de GC ($< 0,4$, $0,4-0,6$, $> 0,6$).

Tabla 17. Reclasificación mediante GC de las categorías de riesgo de Gleason sobre los casos y los controles en el conjunto de prueba.

Tabla 18. Número de eventos de metástasis y PCSM para diferentes grupos de riesgo de puntuación de GC entre las categorías patológicas de GS en el conjunto de validación independiente.

Tabla 19. Número de pacientes en riesgo de desarrollar PCSM en diferentes puntos temporales después de BCR

Tabla 20. Número de pacientes con riesgo de metástasis en diferentes puntos temporales después de BCR

Tabla 21. Características clínicas de la cohorte del Ejemplo 9.

Tabla 22. AUC de las ROC de supervivencia e intervalos de confianza del 95 % asociados para GC, CAPRA-S y otras variables clínicas individuales.

Tabla 23. Reclasificación de GC de riesgo bajo (puntuación de GC $< 0,4$) y GC de riesgo alto (puntuación de GC $\geq 0,4$) para puntuaciones de riesgo bajo, intermedio y alto de CAPRA-S.

Tabla 24. Análisis univariante y multivariante para GC, CAPRA-S y variables clínicas individuales.

Tabla 25. Características de los urólogos participantes en el estudio.

Tabla 26. Características de los casos de pacientes.

Tabla 27. Probabilidad de cambiar la recomendación de tratamiento de antes a después de la prueba del GC.

Tabla 28. Cambio en la intensidad del tratamiento por riesgos iniciales percibidos y de GC.

Tabla 29. Visión general detallada de la probabilidad de cambiar la recomendación de tratamiento de antes a después de la prueba del GC.

Tabla 30. Proporciones de pacientes con tratamiento recomendado.

Tabla 31. El urólogo notificó confianza e influencia de las recomendaciones de tratamiento.

Tabla 32. Desglose de las recomendaciones de tratamiento antes y después del GC para los grupos de riesgo de GC bajo y alto en el escenario de adyuvante.

Tabla 33. Características clínicas y patológicas de la cohorte de pacientes.

Tabla 34. Número de pacientes con riesgo de desarrollar metástasis en diferentes puntos temporales después de BCR.

Tabla 35. Número de pacientes con riesgo de desarrollar metástasis en diferentes puntos temporales después de BCR.

Tabla 36. Número de pacientes con riesgo de desarrollar metástasis en diferentes puntos temporales después de

BCR.

Tabla 37. Análisis de supervivencia para GC y factores clinicopatológicos. El análisis multivariante se ajusta para el tratamiento adyuvante, GC notificado para un aumento de unidades de un 10 %.

Tabla 38. Análisis de supervivencia para GC, Stephenson y CAPRA-S. Los análisis multivariantes se ajustan para el tratamiento adyuvante, GC y Stephenson notificados para un aumento de unidades de un 10 %.

Tabla 39: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de BCR.

Tabla 40: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración de ECE.

Tabla 41: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de LCR.

Tabla 42: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración de LNI.

Tabla 43: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de MET.

Tabla 44: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de OS.

Tabla 45: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con importancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración de Gleason patológico.

Tabla 46: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de PCSM.

Tabla 47: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración de PSAdt.

Tabla 48: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración de SVI.

Tabla 49: biomarcadores por pares del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue $\leq 0,05$) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de BCR.

Tabla 50: biomarcadores por pares del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue $\leq 0,001$) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de MET.

Tabla 51: biomarcadores por pares del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue $\leq 0,05$) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de PCSM.

Tabla 52: biomarcadores por pares del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue $\leq 0,05$) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de PSAdt.

Tabla 53: biomarcadores de la biblioteca de 2.040 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue $\leq 0,05$) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de BCR.

Tabla 54: biomarcadores de la biblioteca de 2.040 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue $\leq 0,05$) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de MET.

Tabla 55: Biblioteca de 2040 biomarcadores. Se muestra para cada característica, categoría genómica, ID de conjunto de sondas de Affymetrix asociado, gen asociado, el valor p de la prueba de Kolmogorov Smirnov que demuestra significación estadística al nivel del 0,05, junto con la disminución media de Gini y la disminución media de precisión.

Tabla 56. Características del estudio y rendimiento de GC en el estudio de metavalidación. Características del estudio de 5 cohortes con información de metástasis disponible y rendimiento de GC en la predicción de metástasis. La precisión global, la sensibilidad y la especificidad reflejan un límite de probabilidad de metástasis de un 6 %.

Riesgo alto de NCCN definido por el estadio tumoral patológico pT3 o por márgenes quirúrgicos positivos (SM).

Tabla 57. Porcentaje de pacientes tratados en cada estudio en relación al límite en el estudio de metavalidación.

Tabla 58. Características clínicas y patológicas de la cohorte en la cohorte de riesgo alto de NCCN/AUA. El conjunto de pacientes de esta cohorte corresponde a un subconjunto de pacientes notificados en otro lugar (Ejemplo 1) que tienen pT3N0M0 o pT2N0M0 con márgenes positivos.

Tabla 59. Razón de riesgos instantáneos para GC y características clinicopatológicas en la cohorte de riesgo alto de NCCN/AUA. (A) Configuración univariante. (B) Configuración multivariante, mediante el modelado de riesgos instantáneos proporcionales de Cox. IC: intervalo de confianza; GC: clasificador genómico.

Tabla 60. Razón de riesgos instantáneos para GC y características clinicopatológicas considerando el grado de Gleason patológico primario y secundario por separado en la cohorte de riesgo alto de NCCN/AUA. (A) Escenario univariante. (B) Escenario multivariante, mediante el modelado de riesgos instantáneos proporcionales de Cox. IC: intervalo de confianza; GC: clasificador genómico.

Tabla 61. Razón de riesgos instantáneos para GC y nomogramas solo clínicos en la cohorte de riesgo alto de NCCN/AUA. (A) Escenario univariante. (B) Escenario multivariante, mediante el modelado de riesgos instantáneos proporcionales de Cox. IC: intervalo de confianza; GC: clasificador genómico.

Tabla 62. Características clínicas y patológicas de las cohortes utilizadas para la evaluación de GC dentro de diferentes conjuntos de APF de pacientes.

Tabla 63. Análisis multivariante (MVA, por sus siglas en inglés) de GC y diferentes variables clínico-patológicas en las dos cohortes en el estudio del subconjunto de APF. Las razones de posibilidades (OR, por sus siglas en inglés) para GC se calcularon para un aumento de unidades de un 10 % en la puntuación. La puntuación de Gleason patológica se dicotomizó: ≥ 8 . Se calculó el log2 de pPSA.

Tabla 64. Análisis multivariante para el criterio de valoración de progresión de la enfermedad metastásica dentro

de los subconjuntos de APF. GC es el factor predictivo más significativo de enfermedad metastásica en pacientes de APF después de ajustar por otras variables.

Tabla 65. Reclasificación de subconjuntos de APF con el Genomic Classifier. Para cada subconjunto de APF, la mayoría de las muertes por cáncer de próstata se producen en pacientes con puntuaciones altas de GC.

5 Descripción detallada de la invención

La presente memoria descriptiva describe métodos para pronosticar el cáncer de próstata en un sujeto utilizando análisis basados en la expresión de una pluralidad de dianas. Generalmente, el método comprende (a) proporcionar opcionalmente una muestra de un sujeto que padece un cáncer de próstata; (b) determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas en la muestra; y (c) pronosticar el cáncer basándose en el nivel de expresión de la pluralidad de dianas.

Determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas en la muestra puede comprender aplicar la muestra a una micromatriz. En algunos casos, determinar el nivel de expresión puede comprender el uso de un algoritmo. El algoritmo puede usarse para producir un clasificador. Como alternativa, el clasificador puede comprender una región de selección de sondas. En algunos casos, determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas comprende detectar y/o cuantificar la pluralidad de dianas. En algunas realizaciones, determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas comprende secuenciar la pluralidad de dianas. En algunas realizaciones, determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas comprende amplificar la pluralidad de dianas. En algunas realizaciones, determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas comprende cuantificar la pluralidad de dianas. En algunas realizaciones, determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas comprende realizar una reacción multiplexada en la pluralidad de dianas.

En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende más de una diana seleccionada de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende al menos aproximadamente 2, al menos aproximadamente 3, al menos aproximadamente 4, al menos aproximadamente 5, al menos aproximadamente 6, al menos aproximadamente 7, al menos aproximadamente 8, al menos alrededor de 9 o al menos alrededor de 10 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4 y 11. En otros casos, la pluralidad de dianas comprende al menos aproximadamente 12, al menos aproximadamente 15, al menos aproximadamente 17, al menos aproximadamente 20, al menos aproximadamente 22, al menos aproximadamente 25, al menos aproximadamente 27, al menos aproximadamente 30, al menos aproximadamente 32, al menos aproximadamente 35, al menos alrededor de 37 o al menos alrededor de 40 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 2. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 dianas seleccionadas de las tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas se selecciona de los SEQ ID NO: 1-43. En algunos casos, la pluralidad de dianas se selecciona de los SEQ ID NO: 1-22. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 4. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 11. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende una diana codificante, una diana no codificante o cualquier combinación de las mismas. En algunos casos, la diana codificante comprende una secuencia exónica. En otros casos, la diana no codificante comprende una secuencia no exónica. En algunos casos, la secuencia no exónica comprende una región no traducida (por ejemplo, UTR), una región intrónica, una región intergénica o cualquier combinación de las mismas. Como alternativa, la pluralidad de dianas comprende una secuencia antisentido. En otros casos, la pluralidad de dianas comprende un transcrito de ARN no codificante.

Además, en el presente documento, se desvela un conjunto de sondas para pronosticar el cáncer de próstata en un sujeto. En algunos casos, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de sondas capaces de detectar un nivel de expresión de más de una diana seleccionada de las Tablas 2, 4, 11 o 55, en donde el nivel de expresión determina el estado del cáncer del sujeto con al menos aproximadamente un 45 % de especificidad. En algunos casos, la detección de un nivel de expresión comprende la detección de expresión génica, expresión de proteínas o cualquier combinación de las mismas. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende más de una diana seleccionada de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende al menos aproximadamente 2, al menos aproximadamente 3, al menos aproximadamente 4, al menos aproximadamente 5, al menos aproximadamente 6, al menos aproximadamente 7, al menos aproximadamente 8, al menos alrededor de 9 o al menos alrededor de 10 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4 y 11. En otros casos, la pluralidad de dianas comprende al menos aproximadamente 12, al menos aproximadamente 15, al menos aproximadamente 17, al menos aproximadamente 20, al menos aproximadamente 22, al menos aproximadamente 25, al menos aproximadamente 27, al menos aproximadamente 30, al menos aproximadamente 32, al menos aproximadamente 35, al menos alrededor de 37 o al menos alrededor de 40 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 2. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 4. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 11. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 dianas seleccionadas de las tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas se selecciona de los SEQ ID NO: 1-43. En algunos casos, la pluralidad de dianas se selecciona de los SEQ ID NO: 1-22. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende una diana codificante, una diana no codificante o cualquier combinación de las mismas. En algunos casos, la diana codificante comprende una secuencia exónica. En otros casos, la diana no

codificante comprende una secuencia no exónica. En algunos casos, la secuencia no exónica comprende una región no traducida (por ejemplo, UTR), región intrónica, región intergénica o cualquier combinación de las mismas. Como alternativa, la pluralidad de dianas comprende una secuencia antisentido. En otros casos, la pluralidad de dianas comprende un transcrito de ARN no codificante.

En el presente documento también se describen métodos para caracterizar una población de pacientes. Generalmente, el método comprende: a) proporcionar una muestra de un sujeto; (b) determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas en la muestra; y (c) caracterizar al sujeto basándose en el nivel de expresión de la pluralidad de dianas. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende más de una diana seleccionada de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende al menos aproximadamente 2, al menos aproximadamente 3, al menos aproximadamente 4, al menos aproximadamente 5, al menos aproximadamente 6, al menos aproximadamente 7, al menos aproximadamente 8, al menos alrededor de 9 o al menos alrededor de 10 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En otros casos, la pluralidad de dianas comprende al menos aproximadamente 12, al menos aproximadamente 15, al menos aproximadamente 17, al menos aproximadamente 20, al menos aproximadamente 22, al menos aproximadamente 25, al menos aproximadamente 27, al menos aproximadamente 30, al menos aproximadamente 32, al menos aproximadamente 35, al menos alrededor de 37 o al menos alrededor de 40 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 2. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 4. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 11. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 dianas seleccionadas de las tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas se selecciona de los SEQ ID NO: 1-43. En algunos casos, la pluralidad de dianas se selecciona de los SEQ ID NO: 1-22. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende una diana codificante, una diana no codificante o cualquier combinación de las mismas. En algunos casos, la diana codificante comprende una secuencia exónica. En otros casos, la diana no codificante comprende una secuencia no exónica. En algunos casos, la secuencia no exónica comprende una región no traducida (por ejemplo, UTR), región intrónica, región intergénica o cualquier combinación de las mismas. Como alternativa, la pluralidad de dianas comprende una secuencia antisentido. En otros casos, la pluralidad de dianas comprende un transcrito de ARN no codificante.

Antes de describir la presente invención con detalle, debe entenderse que esta invención no se limita a la metodología, composiciones, artículos o máquinas descritos, ya que tales métodos, composiciones, artículos o máquinas pueden variar, por supuesto. También debe entenderse que la terminología utilizada en el presente documento tiene la finalidad única de describir realizaciones particulares y no pretende limitar el alcance de la presente invención.

Definiciones

A menos que se defina lo contrario o el contexto indique claramente lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el entendido habitualmente por un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención. Al describir la presente invención, se pueden emplear los siguientes términos y se pretende que se definan como se indica a continuación.

El término "polinucleótido" como se usa en el presente documento se refiere a un polímero de más de un nucleótido de longitud de ácido ribonucleico (ARN), ácido desoxirribonucleico (ADN), ARN/ADN híbrido, ARN o ADN modificado o miméticos de ARN o ADN, incluidos los ácidos nucleicos peptídicos (APN). Los polinucleótidos pueden ser monocatenarios o bicatenarios. El término incluye polinucleótidos compuestos de nucleobases, azúcares y enlaces internucleosídicos covalentes (esqueleto) de origen natural, así como polinucleótidos que tienen porciones de origen no natural que funcionan de manera similar. Tales polinucleótidos modificados o sustituidos son bien conocidos en la técnica y para los fines de la presente invención, se denominan "análogos".

"Complementario" o "sustancialmente complementario" se refiere a la capacidad de hibridar o de formar pares de bases entre nucleótidos o ácidos nucleicos, tal como, por ejemplo, entre un polinucleótido o ácido nucleico peptídico sensor y un polinucleótido diana. Los nucleótidos complementarios son, generalmente, A y T (o A y U) o C y G. Se dice que dos polinucleótidos bicatenarios o APN son sustancialmente complementarios cuando las bases de una cadena, alineadas y comparadas de forma óptima y con las inserciones o supresiones adecuadas, se emparejan con al menos aproximadamente un 80 % de los nucleótidos de la otra cadena, por lo general, al menos de aproximadamente un 90 % a un 95 % y más preferentemente de aproximadamente un 98 a un 100 %.

Como alternativa, existe una complementariedad sustancial cuando un polinucleótido puede hibridarse en condiciones de hibridación selectiva con su complemento. Normalmente, puede producirse hibridación selectiva cuando hay al menos aproximadamente un 65 % de complementariedad en un tramo de al menos 14 a 25 bases, por ejemplo, al menos alrededor de un 75 % o al menos alrededor de un 90 % de complementariedad.

"Unión preferencial" o "hibridación preferencial" se refiere a la propensión aumentada de un polinucleótido a unirse a su complemento en una muestra en comparación con un polímero no complementario en la muestra.

Las condiciones de hibridación pueden incluir normalmente concentraciones de sales de menos de aproximadamente

1 M, más habitualmente de menos de aproximadamente 500 mM, por ejemplo, menos de aproximadamente 200 mM. En el caso de hibridación entre un ácido nucleico peptídico y un polinucleótido, la hibridación se puede realizar en soluciones que contienen poca o ninguna sal. Las temperaturas de hibridación pueden ser tan bajas como 5 °C, pero son normalmente superiores a 22 °C y más usualmente superiores a aproximadamente 30 °C, por ejemplo, por encima de aproximadamente 37 °C. Los fragmentos más largos pueden requerir temperaturas de hibridación más altas para una hibridación específica como se conoce en la técnica. Otros factores pueden afectar a la rigurosidad de la hibridación, incluyendo la composición de bases y la longitud de las cadenas complementarias, la presencia de disolventes orgánicos y el grado de desapareamiento de bases y la combinación de parámetros utilizados es más importante que la medida absoluta de uno solo. Otras condiciones de hibridación que pueden controlarse incluyen el tipo de tampón y la concentración, pH de la solución, presencia y concentración de reactivos de bloqueo para disminuir la unión de fondo, tales como secuencias repetidas o soluciones de proteínas de bloqueo, tipo(s) de detergente y concentraciones, moléculas, tales como polímeros, que aumentan la concentración relativa de los polinucleótidos, ion(es) metálico(s) y su(s) concentración(es), quelante(s) y sus concentraciones y otras condiciones conocidas en la técnica.

"Multiplexación" en el presente documento se refiere a un ensayo u otro método analítico en el que se analizan múltiples analitos. En algunos casos, los múltiples analitos son de la misma muestra. En algunos casos, los múltiples analitos se ensayan simultáneamente. Como alternativa, los múltiples analitos se ensayan secuencialmente. En algunos casos, el ensayo de múltiples analitos se produce en el mismo volumen de reacción. Como alternativa, el ensayo de múltiples analitos se produce en volúmenes de reacción separados o múltiples.

Una "secuencia diana" como se usa en el presente documento (también denominada ocasionalmente como "región de selección de sondas" o "PSR", por sus siglas en inglés) se refiere a una región del genoma contra la que se pueden diseñar una o más sondas. Una "secuencia diana" puede ser una diana codificante o una diana no codificante. Una "secuencia diana" puede comprender secuencias exónicas y/o no exónicas. Como alternativa, una "secuencia diana" puede comprender una región ultraconservada. Una región ultraconservada es generalmente una secuencia que tiene al menos 200 pares de bases y que se conserva en múltiples especies. Una región ultraconservada puede ser exónica o no exónica. Las secuencias exónicas pueden comprender regiones en un gen que codifica una proteína, tal como un exón, LTTR o una porción de las mismas. Las secuencias no exónicas pueden comprender regiones en una proteína codificante, en un gen no codificante de proteínas o una porción del mismo. Por ejemplo, las secuencias no exónicas pueden comprender regiones intrónicas, regiones promotoras, regiones intergénicas, un transcrito no codificante, una región antisentido exónica, una región antisentido intrónica, región antisentido UTR, región antisentido del transcrito no codificante o una porción de la misma.

Como se utiliza en el presente documento, una sonda es cualquier polinucleótido capaz de hibridarse selectivamente con una secuencia diana o su complemento o con una versión de ARN de cualquiera. Una sonda puede comprender ribonucleótidos, desoxirribonucleótidos, ácidos nucleicos peptídicos y combinaciones de los mismos. Una sonda puede comprender opcionalmente uno o más marcadores. En algunas realizaciones, se puede usar una sonda para amplificar una o ambas cadenas de una secuencia diana o una forma de ARN de la misma, que actúa como un cebador único en una reacción de amplificación o como un miembro de un conjunto de cebadores.

Como se utiliza en el presente documento, una diana no codificante puede comprender una secuencia de nucleótidos. La secuencia de nucleótidos es una secuencia de ADN o ARN. Una diana no codificante puede incluir una secuencia UTR, una secuencia intrónica o un transcrito de ARN no codificante. Una diana no codificante también incluye secuencias que se solapan parcialmente con una secuencia UTR o una secuencia intrónica. Una diana no codificante también incluye transcritos no exónicos.

Como se utiliza en el presente documento, una diana codificante incluye secuencias de nucleótidos que codifican una proteína y secuencias peptídicas. La secuencia de nucleótidos es una secuencia de ADN o ARN. La diana codificante incluye una secuencia codificante de proteínas. Las secuencias codificantes de proteínas incluyen secuencias codificantes de exones (por ejemplo, secuencias exónicas).

Como se utiliza en el presente documento, el diagnóstico de cáncer puede incluir la identificación de cáncer en un sujeto, determinar la malignidad del cáncer o determinar el estadio del cáncer.

Como se utiliza en el presente documento, el pronóstico del cáncer puede incluir predecir el resultado clínico del paciente, evaluar el riesgo de recurrencia del cáncer, determinar la modalidad de tratamiento o determinar la eficacia del tratamiento.

"Que tiene" es una expresión abierta como "que comprende" y "que incluye" e incluye circunstancias donde se incluyen elementos adicionales y circunstancias en donde no.

"Opcional" u "opcionalmente" significa que el evento o las circunstancias que se describen posteriormente pueden suceder o no y que la descripción incluye casos donde el evento o la circunstancia se produce y casos en los que no.

Como se usa en el presente documento, "NED" describe un cuadro clínico diferente clínicamente en el que los

pacientes no muestran indicio de enfermedad (NED, por sus siglas en inglés) al menos 5 años después de la cirugía, "PSA" describe un cuadro clínico diferente clínicamente en el que los pacientes muestran solo una recaída bioquímica (dos aumentos sucesivos en los niveles de antígeno prostático específico, pero ningún otro síntoma de enfermedad con al menos 5 años de seguimiento después de la cirugía; "PSA") y "SIS" describe un cuadro clínico diferente clínicamente en el que los pacientes desarrollan una recaída bioquímica y presentan cáncer sistémico o metástasis ("SIS") dentro de los cinco años posteriores al tratamiento inicial con prostatectomía radical.

Las expresiones "METS", "SIS", "evento sistémico", "progresión sistémica", "RC" o "recurrencia clínica" se pueden usar indistintamente y generalmente se refieren a pacientes que experimentan BCR (recurrencia bioquímica) y que desarrollan metástasis (confirmada mediante gammagrafía ósea o por tomografía computarizada). Los pacientes pueden experimentar BCR dentro de los 5 años de una PR (prostatectomía radical, por sus siglas en inglés). Los pacientes pueden desarrollar metástasis dentro de los 5 años de BCR. En algunos casos, los pacientes considerados como METS pueden experimentar BCR después de 5 años de una PR.

Como se utiliza en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a aproximadamente una variación de +/-10 % de un valor dado. Debe entenderse que tal variación siempre está incluida en cualquier valor proporcionado en el presente documento, tanto si se hace referencia específica a él como si no.

El uso de las formas singulares "a", "uno/una" y "el/la" incluyen las referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por tanto, por ejemplo, la referencia a "un polinucleótido" incluye una pluralidad de polinucleótidos, la referencia a "una diana" incluye una pluralidad de tales dianas, la referencia a "una molécula" incluye una pluralidad de tales moléculas y similares. Adicionalmente, el uso de referencias plurales específicas, tal como "dos", "tres", etc., se interpreta en números más grandes del mismo tema, a menos que el contexto dictamine claramente otra cosa.

Términos tales como "conectado", "adjunto", "vinculado" y "conjugado" se usan indistintamente en el presente documento y abarcan la conexión, unión, enlace o conjugación tanto directa como indirecta, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Cuando se cita un intervalo de valores, se ha de entender que cada valor entero intermedio y cada fracción del mismo, entre los límites superior e inferior citados de ese intervalo, también se divulgan específicamente, junto con cada subintervalo entre tales valores. Los límites superior e inferior de cualquier intervalo pueden estar incluidos o excluidos independientemente del intervalo y cada intervalo donde alguno, ninguno o ambos límites están incluidos, también se abarcan dentro de la invención. Cuando un valor que se discute tiene límites inherentes, por ejemplo, cuando un componente puede estar presente en una concentración de 0 a 100 % o cuando el pH de una solución acuosa puede oscilar entre 1 y 14, esos límites inherentes se divulgan específicamente. Cuando se cita explícitamente un valor, debe entenderse que los valores, que son aproximadamente la misma cantidad o cantidad que el valor indicado, están también comprendidos en el alcance de la invención, al igual que los intervalos basados en ellos. Cuando se divulga una combinación, cada subcombinación de los elementos de esa combinación también se divulga específicamente y se encuentra dentro del alcance de la invención. En cambio, cuando se divulgan diferentes elementos o grupos de elementos, también se divulgan combinaciones de los mismos. Cuando se divulga que cualquier elemento de una invención tiene una pluralidad de alternativas, también se divulgan en la misma ejemplos de esa invención en los que cada alternativa se excluye individualmente o en cualquier combinación con las otras alternativas; más de un elemento de una invención puede tener tales exclusiones y en la misma, se divulgan todas las combinaciones de elementos que tienen tales exclusiones.

Dianas codificantes y no codificantes

Los métodos divulgados en el presente documento a menudo comprenden determinar el nivel de expresión de una pluralidad de dianas. La pluralidad de dianas puede comprender dianas codificantes y/o dianas no codificantes de un gen codificante de proteínas o de un gen no codificante de proteínas. Una estructura de gen que codifica una proteína puede comprender un exón y un intrón. El exón puede comprender además una secuencia codificante (CDS) y una región no traducida (UTR). El gen que codifica la proteína puede transcribirse para producir un pre-ARNm y el pre-ARNm puede procesarse para producir un ARNm maduro. El ARNm maduro puede traducirse para producir una proteína.

Una estructura génica que no codifica proteínas puede comprender un exón y un intrón. Habitualmente, la región del exón de un gen que no codifica de proteínas contiene principalmente una UTR. El gen que no codifica proteínas puede transcribirse para producir un pre-ARNm y el pre-ARNm puede procesarse para producir un ARN no codificante (ARNnc).

Una diana codificante puede comprender una secuencia codificante de un exón. Una diana no codificante puede comprender una secuencia UTR de un exón, una secuencia intrónica, secuencia intergénica, secuencia promotora, transcrito no codificante, CDS antisentido, antisentido intrónico, UTR antisentido o transcrito no codificante antisentido. Un transcrito no codificante puede comprender un ARN no codificante (ARNnc).

En algunos casos, la pluralidad de dianas puede expresarse diferencialmente. En algunos casos, una pluralidad de regiones de selección de sonda (PSR, por sus siglas en inglés) se expresa diferencialmente.

En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende más de una diana seleccionada de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende al menos aproximadamente 2, al menos aproximadamente 3, al menos aproximadamente 4, al menos aproximadamente 5, al menos aproximadamente 6, al menos aproximadamente 7, al menos aproximadamente 8, al menos alrededor de 9 o al menos alrededor de 10 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En otros casos, la pluralidad de dianas comprende al menos aproximadamente 12, al menos aproximadamente 15, al menos aproximadamente 17, al menos aproximadamente 20, al menos aproximadamente 22, al menos aproximadamente 25, al menos aproximadamente 27, al menos aproximadamente 30, al menos aproximadamente 32, al menos aproximadamente 35, al menos alrededor de 37 o al menos alrededor de 40 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 2. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 4. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 11. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 dianas seleccionadas de las tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas se selecciona de los SEQ ID NO: 1-43. En algunos casos, la pluralidad de dianas se selecciona de los SEQ ID NO: 1-22. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende una diana codificante, una diana no codificante o cualquier combinación de las mismas. En algunos casos, la diana codificante comprende una secuencia exónica. En otros casos, la diana no codificante comprende una secuencia no exónica. Como alternativa, una diana no codificante comprende una secuencia UTR, una secuencia intrónica o un transcrito de ARN no codificante. En algunos casos, una diana no codificante comprende secuencias que se solapan parcialmente con una secuencia UTR o una secuencia intrónica. Una diana no codificante también incluye transcritos no exónicos. Las secuencias exónicas pueden comprender regiones en un gen que codifica una proteína, tal como un exón, UTR o una porción de las mismas. Las secuencias no exónicas pueden comprender regiones en una proteína codificante, en un gen no codificante de proteínas o una porción del mismo. Por ejemplo, las secuencias no exónicas pueden comprender regiones intrónicas, regiones promotoras, regiones intergénicas, un transcrito no codificante, una región antisentido exónica, una región antisentido intrónica, región antisentido UTR, región antisentido del transcrito no codificante o una porción de la misma. En otros casos, la pluralidad de dianas comprende un transcrito de ARN no codificante.

En algunos casos, la pluralidad de dianas es al menos aproximadamente un 70 % idéntica a una secuencia seleccionada de los SEQ ID NO: 1-43. Como alternativa, la pluralidad de dianas es al menos aproximadamente un 80 % idéntica a una secuencia seleccionada de los SEQ ID NO: 1-43. En algunos casos, la pluralidad de dianas es al menos aproximadamente un 85 % idéntica a una secuencia seleccionada de los SEQ ID NO: 1-43. En algunos casos, la pluralidad de dianas es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a una secuencia seleccionada de los SEQ ID NO: 1-43. Como alternativa, la pluralidad de dianas es al menos aproximadamente un 95 % idéntica a una secuencia seleccionada de los SEQ ID NO: 1-43.

Sondas/cebadores

En el presente documento se divulga un conjunto de sondas para pronosticar el cáncer de próstata en un sujeto que comprende una pluralidad de sondas, en donde (i) las sondas en el conjunto son capaces de detectar un nivel de expresión de más de una diana no codificante; y (ii) el nivel de expresión determina el estado del cáncer del sujeto con al menos aproximadamente un 40 % de especificidad.

El conjunto de sondas puede comprender más de una sonda polinucleotídica. Las sondas de polinucleótidos individuales comprenden una secuencia de nucleótidos derivada de la secuencia de nucleótidos de las secuencias diana o de las secuencias complementarias de las mismas. La secuencia de nucleótidos de la sonda de polinucleótidos se diseña de manera que corresponda o sea complementaria a las secuencias diana. La sonda polinucleotídica puede hibridar específicamente en condiciones de hibridación rigurosas o reducidas de rigurosidad con una región de las secuencias diana, con el complemento de la misma o con una secuencia de ácido nucleico (tal como un ADNc) derivada de la misma.

La selección de las secuencias de la sonda de polinucleótidos y la determinación de su singularidad pueden llevarse a cabo in silico utilizando técnicas conocidas en la materia, por ejemplo, basándose en una búsqueda de BLASTN de la secuencia de polinucleótidos en cuestión en las bases de datos de secuencias de genes, tales como la Human Genome Sequence, UniGene, dbEST o la base de datos no redundante en NCBI. En una realización de la invención, la sonda polinucleotídica es complementaria a una región de un ARNm diana derivado de una secuencia diana en el conjunto de sondas. También se pueden emplear programas informáticos para seleccionar secuencias de sonda que no se pueden cruzar por hibridación o que no se pueden hibridar de forma no específica.

En algunos casos, la hibridación de micromatrices de ARN, extraído de muestras de tejido de cáncer de próstata y amplificado, puede generar un conjunto de datos que a continuación, se resume y normaliza mediante la técnica de fRMA. Las 5.362.207 sondas de expresión sin procesar se resumen y normalizan en 1.411.399 regiones de selección de sondas ("PSR"). Después de la eliminación (o filtración) de las PSR de hibridación cruzada, PSR altamente variables (varianza por encima del percentil 90) y PSR que contienen más de 4 sondas, quedan aproximadamente 1,1

millones de PSR. Después del fRMA y el filtrado, los datos se pueden descomponer en sus componentes principales y se utiliza un modelo de análisis de varianza para determinar hasta qué punto permanece presente un efecto de lotes en los primeros 10 componentes principales.

- 5 Estos 1,1 millones de PSR restantes pueden a continuación, someterse a un filtrado mediante una prueba t entre muestras de RC (recurrencia clínica, por sus siglas en inglés) y muestras que no son de RC. Usando un valor p de corte de 0,01, 18.902 características permanecieron en análisis para una selección adicional. La selección de características se realizó mediante regresión logística regularizada utilizando la penalización de red elástica. La regresión regularizada se sometió a bootstrap (del inglés, remuestreo) más de 1000 veces usando todos los datos de
- 10 entrenamiento; con cada iteración de bootstrap, se tabularon las características que tienen un coeficiente distinto de cero tras la validación cruzada de 3 veces. En algunos casos, las características que se seleccionaron en al menos un 25 % de las ejecuciones totales se usaron para la creación de modelos.

- 15 Un experto en la técnica entiende que la secuencia de nucleótidos de la sonda polinucleotídica no necesita ser idéntica a su secuencia diana para hibridarse específicamente con ella. Las sondas de polinucleótidos, por tanto, comprenden una secuencia de nucleótidos que es al menos aproximadamente un 65 % idéntica a una región de la diana codificante o de la diana no codificante seleccionada de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En otra realización, la secuencia de nucleótidos de la sonda de polinucleótidos es al menos aproximadamente un 70 % idéntica a una región de la diana codificante o de la diana no codificante de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En otra realización, la secuencia de nucleótidos de la sonda de polinucleótidos es al menos aproximadamente un 75 % idéntica a una región de la diana codificante o de la diana no codificante de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En otra realización, la secuencia de nucleótidos de la sonda de polinucleótidos es al menos aproximadamente un 80 % idéntica a una región de la diana codificante o de la diana no codificante de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En otra realización, la secuencia de nucleótidos de la sonda de polinucleótidos es al menos aproximadamente un 85 % idéntica a una región de la diana codificante o de la diana no codificante de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En otra realización, la secuencia de nucleótidos de la sonda de polinucleótidos es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a una región de la diana codificante o de la diana no codificante de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En una realización adicional, la secuencia de nucleótidos de la sonda de polinucleótidos es al menos aproximadamente un 95 % idéntica a una región de la diana codificante o de la diana no codificante de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 2. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 4. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 11.

- Los métodos para determinar la identidad de la secuencia son conocidos en la técnica y se pueden determinar, por ejemplo, mediante el uso del programa BLASTN del software del Grupo de Computación de la University of Wisconsin (GCG) o del proporcionado en el sitio web del NCBI. La secuencia de nucleótidos de las sondas de polinucleótidos puede mostrar variabilidad al diferir (por ejemplo, por sustitución de nucleótidos, incluida la transición o transversión) en uno, dos, tres, cuatro o más nucleótidos de la secuencia de la diana codificante o de la diana no codificante.

- Pueden emplearse otros criterios conocidos en la técnica en el diseño de las sondas de polinucleótidos. Por ejemplo, las sondas se pueden diseñar para tener < 50 % de contenido de G y/o entre aproximadamente un 25 % y aproximadamente un 70 % de contenido de G+C. Las estrategias para optimizar la hibridación de la sonda con la secuencia de ácido nucleico diana también pueden incluirse en el proceso de selección de la sonda.

- La hibridación en condiciones particulares de pH, sal y temperatura se pueden optimizar teniendo en cuenta las temperaturas de fusión y usando reglas empíricas que se correlacionan con los comportamientos de hibridación deseados. Pueden usarse modelos informáticos para predecir la intensidad y la dependencia de la concentración de la hibridación de la sonda.

- Las sondas de polinucleótidos pueden variar en longitud desde aproximadamente 15 nucleótidos hasta la longitud total de la diana codificante o de la diana no codificante. En una realización, las sondas de polinucleótidos tienen al menos aproximadamente 15 nucleótidos de longitud. En otra realización, las sondas de polinucleótidos tienen al menos aproximadamente 20 nucleótidos de longitud. En una realización adicional, las sondas de polinucleótidos tienen al menos aproximadamente 25 nucleótidos de longitud. En otra realización, las sondas de polinucleótidos tienen entre aproximadamente 15 nucleótidos y aproximadamente 500 nucleótidos de longitud. En otras realizaciones, las sondas de polinucleótidos tienen entre aproximadamente 15 nucleótidos y aproximadamente 450, aproximadamente 15 nucleótidos y aproximadamente 400 nucleótidos, aproximadamente 15 nucleótidos y aproximadamente 350 nucleótidos, aproximadamente 15 nucleótidos y aproximadamente 300 nucleótidos, aproximadamente 15 nucleótidos y aproximadamente 250 nucleótidos, aproximadamente 15 nucleótidos y aproximadamente 200 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, las sondas tienen al menos 15 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, las sondas tienen al menos 20 nucleótidos, al menos 25 nucleótidos, al menos 50 nucleótidos, al menos 75 nucleótidos, al menos 100 nucleótidos, al menos 125 nucleótidos, al menos 150 nucleótidos, al menos 200 nucleótidos, al menos 225 nucleótidos, al menos 250 nucleótidos, al menos 275 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 325 nucleótidos, al menos 350 nucleótidos, al menos 375 nucleótidos de longitud.

- Las sondas de polinucleótidos de un conjunto de sondas pueden comprender ARN, ADN, miméticos de ARN o ADN o combinaciones de los mismos y pueden ser monocatenarios o bicatenarios. Por tanto, las sondas de polinucleótidos

pueden estar compuestas de nucleobases, azúcares y enlaces internucleosídicos covalentes (esqueleto) de origen natural, así como las sondas de polinucleótidos que tienen porciones que no se producen de forma natural y que funcionan de manera similar. Tales sondas de polinucleótidos modificadas o sustituidas pueden proporcionar propiedades deseables tales como, por ejemplo, mayor afinidad por un gen diana y mayor estabilidad. El conjunto de sondas puede comprender una diana codificante y/o una diana no codificante. Preferentemente, el conjunto de sondas comprende una combinación de una diana codificante y una diana no codificante.

En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con al menos aproximadamente 5 dianas codificantes y/o dianas no codificantes seleccionados de las Tablas 2, 4, 11 o 55. Como alternativa, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con al menos aproximadamente 10 dianas codificantes y/o dianas no codificantes seleccionados de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con al menos aproximadamente 15 dianas codificantes y/o dianas no codificantes seleccionados de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con al menos aproximadamente 20 dianas codificantes y/o dianas no codificantes seleccionados de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con al menos aproximadamente 30 dianas codificantes y/o dianas no codificantes seleccionados de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 2. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 4. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 11.

En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con una pluralidad de dianas, en donde al menos aproximadamente un 20 % de la pluralidad de dianas son dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con una pluralidad de dianas, en donde al menos aproximadamente un 25 % de la pluralidad de dianas son dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con una pluralidad de dianas, en donde al menos aproximadamente un 30 % de la pluralidad de dianas son dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con una pluralidad de dianas, en donde al menos aproximadamente un 35 % de la pluralidad de dianas son dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con una pluralidad de dianas, en donde al menos aproximadamente un 40 % de la pluralidad de dianas son dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con una pluralidad de dianas, en donde al menos aproximadamente un 45 % de la pluralidad de dianas son dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con una pluralidad de dianas, en donde al menos aproximadamente un 50 % de la pluralidad de dianas son dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con una pluralidad de dianas, en donde al menos aproximadamente un 60 % de la pluralidad de dianas son dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas comprende una pluralidad de secuencias diana que hibridan con una pluralidad de dianas, en donde al menos aproximadamente un 70 % de la pluralidad de dianas son dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 2. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 4. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 11.

El sistema de la presente divulgación proporciona además cebadores y pares de cebadores capaces de amplificar secuencias diana definidas por el conjunto de sondas o de fragmentos o de subsecuencias o complementos de las mismas. Las secuencias de nucleótidos del conjunto de sondas se pueden proporcionar en medios legibles por ordenador para aplicaciones in silico y como base para el diseño de cebadores adecuados para la amplificación de una o más secuencias diana del conjunto de sondas.

Los cebadores basados en las secuencias de nucleótidos de las secuencias diana pueden diseñarse para su uso en la amplificación de las secuencias diana. Para uso en reacciones de amplificación, tales como PCR, se puede utilizar un par de cebadores. La composición exacta de las secuencias de los cebadores no es crítica para la invención, pero para la mayoría de las aplicaciones, los cebadores pueden hibridar con secuencias específicas del conjunto de sondas en condiciones estrictas, especialmente en condiciones de alta rigurosidad, como se conoce en la técnica. Los pares de cebadores habitualmente se eligen para generar un producto de amplificación de al menos aproximadamente 50 nucleótidos, más habitualmente al menos aproximadamente 100 nucleótidos. Los algoritmos para la selección de secuencias de cebadores son generalmente conocidos y están disponibles en paquetes de software comerciales. Estos cebadores se pueden utilizar en ensayos estándar cuantitativos o cualitativos basados en PCR para evaluar los niveles de expresión de transcritos de ARN definidos por el conjunto de sondas. Como alternativa, estos cebadores pueden usarse junto con sondas, tales como balizas moleculares en amplificaciones mediante PCR en tiempo real (RT-PCR).

En una realización, los cebadores o pares de cebadores, cuando se utilizan en una reacción de amplificación, amplifican específicamente al menos una parte de una secuencia de ácido nucleico de una diana seleccionada de cualquiera de las Tablas 2, 4, 11 o 55 (o subgrupos de las mismas como se establece en el presente documento), una

forma de ARN de la misma o un complemento de cualquiera de las mismas. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 2. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 4. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 11.

5 Tal como se conoce en la técnica, un nucleósido es una combinación de base y azúcar y un nucleótido es un nucleósido que además incluye un grupo fosfato unido covalentemente a la porción de azúcar del nucleósido. En la formación de oligonucleótidos, los grupos fosfato unen covalentemente nucleósidos adyacentes entre sí para formar un compuesto polimérico lineal, con el enlace normal o la estructura principal de ARN y de ADN siendo un enlace fosfodiéster de 3' a 5'. Los ejemplos específicos de sondas de polinucleótidos o cebadores útiles en esta invención incluyen
10 oligonucleótidos que contienen cadenas principales modificadas o enlaces internucleosídicos de origen no natural. Tal como se define en la presente memoria descriptiva, los oligonucleótidos que tienen estructuras principales modificadas incluyen tanto las que conservan un átomo de fósforo en la estructura principal como las que no tienen un átomo de fósforo en la estructura principal. Para los fines de la presente invención y como a veces se hace referencia en la técnica, los oligonucleótidos modificados que no tienen un átomo de fósforo en su estructura principal internucleosídica
15 también se pueden considerar oligonucleótidos.

Entre los ejemplos de sondas de polinucleótidos o cebadores que tienen cadenas principales de oligonucleótidos modificadas se incluyen, por ejemplo, aquellos con uno o más enlaces internucleotídicos modificados que son fosforotioatos, fosforotioatos quirales, fosforoditioatos, fosfotriésteres, aminoalquilfosfotriésteres, metilo y otros alquil
20 fosfonatos, incluyendo fosfonatos de 3'-alquileo y fosfonatos quirales, fosfinatos, fosforamidatos, incluyendo 3'-amino fosforamidato y aminoalquilfosforamidatos, tionofosforamidatos, tionalquil-fosfonatos, tionalquilfosfotriésteres y boranofosfatos que tienen enlaces 3'-5' normales, análogos con enlace 2'-5' de estos y los que tienen una polaridad invertida, en donde los pares de nucleósidos adyacentes se unen en 3'-5' a 5'-3' o en 2'-5' a 5'-2'. También se incluyen diversas sales, sales mixtas y formas de ácidos libres.

25 Las estructuras principales ilustrativas de oligonucleótidos modificados que no incluyen un átomo de fósforo están formadas por enlaces internucleosídicos de alquilo o cicloalquilo de cadena corta, enlaces internucleosídicos de heteroátomos mixtos y de alquilo o cicloalquilo o uno o más enlaces internucleosídicos heteroatómicos o heterocíclicos de cadena corta. Tales estructuras principales incluyen enlaces morfolino (formados en parte a partir de la porción de
30 azúcar de un nucleósido); estructuras principales de siloxano; estructuras principales de sulfuro, sulfóxido y sulfona; estructuras principales de formacetilo y tioformacetilo; estructuras principales de metilen formacetilo y tioformacetilo; estructuras principales que contienen alqueno; estructuras principales de sulfamato; estructuras principales de metilenimino y metilhidrazino; estructuras principales de sulfonato y sulfonamida; estructuras principales de amida; y otras que tienen partes de componentes de N, O, S y CH₂ mezclados.

35 La presente divulgación también contempla miméticos de oligonucleótidos en los que tanto el azúcar como el enlace internucleosido de las unidades de nucleótidos se reemplazan con nuevos grupos. Las unidades de bases se mantienen para hibridación con un compuesto diana de ácido nucleico adecuado. Un ejemplo de tal mimético de oligonucleótidos, que ha demostrado tener excelentes propiedades de hibridación, es un ácido nucleico peptídico
40 (APN). En compuestos de APN, la estructura principal de azúcar de un oligonucleótido se reemplaza con una estructura principal que contiene amida, en particular una estructura principal de aminoetilglicina. Las nucleobases se retienen y se unen directa o indirectamente a átomos de aza-nitrógeno de la porción de amida de la estructura principal.

45 La presente divulgación también contempla sondas de polinucleótidos o cebadores que comprenden "ácidos nucleicos bloqueados" (LNA, por sus siglas en inglés), que pueden ser nuevos análogos de oligonucleótidos restringidos conformacionalmente que contienen un puente de metileno que conecta el 2'-O de la ribosa con el 4'-C. LNA y análogos de LNA pueden mostrar estabildades térmicas de dúplex muy altas con ADN y ARN complementarios, estabilidad frente a la degradación 3'-exonucleasa y buenas propiedades de solubilidad. Se han descrito la síntesis de los análogos de LNA de adenina, citosina, guanina, 5-metilcitosina, timina y uracilo, sus propiedades de
50 oligomerización y de reconocimiento de ácidos nucleicos. Los estudios de secuencias no coincidentes muestran que LNA obedece las reglas de emparejamiento de bases de Watson-Crick con una selectividad generalmente mejorada en comparación con las cadenas de referencia no modificadas correspondientes.

55 Los LNA pueden formar dúplex con ADN o ARN complementario o con LNA complementario, con altas afinidades térmicas. La universalidad de la hibridación mediada por LNA se ha enfatizado por la formación de dúplex LNA:LNA extremadamente estables. Se demostró que la hibridación LNA:LNA es el sistema dúplex de tipo de ácido nucleico más estable térmicamente y el carácter de LNA que imita al ARN se estableció en el nivel dúplex. La introducción de tres monómeros de LNA (T o A) dio como resultado un aumento significativo de los puntos de fusión hacia los complementos de ADN.

60 Se ha descrito la síntesis de 2'-amino-LNA y de 2'-metilamino-LNA y se ha notificado la estabilidad térmica de sus dúplex con cadenas complementarias de ARN y ADN. También se ha descrito la preparación de fosforotioato-LNA y 2'-tio-LNA.

65 Las sondas o cebadores de polinucleótidos modificados también pueden contener uno o más restos de azúcar sustituidos. Por ejemplo, los oligonucleótidos pueden comprender azúcares con uno de los siguientes sustituyentes

en la posición 2': OH; F; O-, S- o N-alquilo; O-, S- o N-alqueno; O-, S- o N-alquino; u O-alquil-O-alquilo, en donde el alquilo, alqueno y alquino pueden ser alquilo C₁ a C₁₀ o alqueno C₂ a C₁₀ y alquino sustituidos o sin sustituir. Ejemplos de tales grupos son: O[(CH₂)_n O]_mCH₃, O(CH₂)_n OCH₃, O(CH₂)_n NH₂, O(CH₂)_n CH₃ ONH₂ y O(CH₂)_n ON[(CH₂)_n CH₃]₂, donde n y m son de 1 a aproximadamente 10. Como alternativa, los oligonucleótidos pueden comprender uno de los siguientes sustituyentes en la posición 2': alquilo C₁ a C₁₀ inferior, alquilo inferior sustituido, alcarilo, aralquilo, O-alcarilo u O-aralquilo, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, heterocicloalquilo, heterocicloalcarilo, aminoalquilamino, polialquilamino, sililo sustituido, un grupo de escisión de ARN, un grupo indicador, un intercalante, un grupo para mejorar las propiedades farmacocinéticas de un oligonucleótido o un grupo para mejorar las propiedades farmacodinámicas de un oligonucleótido y otros sustituyentes que tienen propiedades similares. Los ejemplos específicos incluyen 2'-metoxietoxi (2'-O-CH₂ CH₂ OCH₃, también conocido como 2'-O-(2-metoxietil) o 2'-MOE), 2'-dimetilaminooxietoxi (grupo O(CH₂)₂ ON(CH₃)₂, también conocido como 2'-DMAOE), 2'-metoxi (2'-O-CH₃), 2'-aminopropoxi (2'-OCH₂ CH₂ CH₂ NH₂) y 2'-flúor (2'-F).

También se pueden realizar modificaciones similares en otras posiciones en las sondas o cebadores de polinucleótidos, particularmente, en la posición 3' del azúcar en el nucleótido 3' terminal o en oligonucleótidos enlazados en 2'-5' y en la posición 5' del nucleótido 5' terminal. Las sondas de polinucleótidos también pueden tener miméticos de azúcar, tales como grupos funcionales de ciclobutilo, en lugar del azúcar pentofuranosilo.

Las sondas o cebadores de polinucleótidos también pueden incluir modificaciones o sustituciones en la nucleobase. Como se utiliza en el presente documento, las nucleobases "no modificadas" o "naturales" incluyen las bases púricas adenina (A) y guanina (G) y las bases pirimidínicas timina (T), citosina (C) y uracilo (U).

Las nucleobases modificadas incluyen otras nucleobases sintéticas y naturales, tales como 5-metilcitosina (5-me-C), 5-hidroximetil-citosina, xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, 6-metilo y otros derivados de alquilo de adenina y guanina, 2-propilo y otros derivados de alquilo de adenina y guanina, 2-tiouracilo, 2-tiotimina y 2-tiocitosina, 5-halouracilo y citosina, 5-propinil uracilo y citosina, 6-azo uracilo, citosina y timina, 5-uracilo (pseudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halo, 8-amino, 8-tiol, 8-tioalquilo, 8-hidroxilo y otras adeninas y guaninas 8-sustituidas, 5-halo, particularmente, 5-bromo, 5-trifluorometilo y otros uracilos y citosinas 5-sustituidos, 7-metilguanina y 7-metiladenina, 8-azaguanina y 8-azaadenina, 7-desazaguanina y 7-desazaadenina y 3-desazaguanina y 3-desazaadenina. Otras nucleobases incluyen las descritas en las patentes de EE.UU. N.º 3.687.808; The Concise Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, (1990), págs. 858-859, Kroschwitz, J. I., ed. John Wiley & Sons; Englisch *et al.*, Angewandte Chemie, Int. Ed., 30:613 (1991); y Sanghvi, Y. S., (1993) Antisense Research and Applications, pág. 289-302, Crooke, S. T. y Lebleu, B., ed., CRC Press. Algunas de estas nucleobases son particularmente útiles para aumentar la afinidad de unión de las sondas de polinucleótidos. Estas incluyen pirimidinas 5-sustituidas, 6-azapirimidinas y purinas N-2, N-6 y O-6 sustituidas, incluyendo 2-aminopropiladenina, 5-propiniluracilo y 5-propinilcitosina. Se ha demostrado que las sustituciones de 5-metilcitosina aumentan la estabilidad del dúplex de ácido nucleico entre 0,6 y 1,2 °C.

Un experto en la materia reconoce que no es necesario modificar uniformemente todas las posiciones en una sonda o cebador de polinucleótido dado. La presente divulgación, por tanto, contempla la incorporación de más de una de las modificaciones antes mencionadas en una sola sonda de polinucleótido o incluso en un solo nucleósido dentro de la sonda o cebador.

Un experto en la técnica también apreciará que la secuencia de nucleótidos de la longitud completa de la sonda polinucleotídica o del cebador no necesita derivarse de la secuencia diana. Por tanto, por ejemplo, la sonda de polinucleótidos puede comprender secuencias de nucleótidos en los extremos 5' y/o 3' que no se derivan de las secuencias diana. Las secuencias de nucleótidos que no se derivan de la secuencia de nucleótidos de la secuencia diana pueden proporcionar una funcionalidad adicional a la sonda de polinucleótidos. Por ejemplo, pueden proporcionar una secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción o una "etiqueta" que facilita la detección, el aislamiento, la purificación o la inmovilización sobre un soporte sólido. Como alternativa, los nucleótidos adicionales pueden proporcionar una secuencia autocomplementaria que permita que el cebador/sonda adopte una configuración de horquilla. Tales configuraciones son necesarias para ciertas sondas, por ejemplo, baliza molecular y sondas Scorpion, que se puede utilizar en técnicas de hibridación en solución.

Las sondas o cebadores de polinucleótidos pueden incorporar restos útiles en la detección, el aislamiento, la purificación o la inmovilización, si se desea. Tales restos son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Ausubel *et al.*, (1997 y actualizaciones) Current Protocols in Molecular Biology, Wiley & Sons, Nueva York) y se eligen de manera que la capacidad de la sonda para hibridar con su secuencia diana no se vea afectada.

Entre los ejemplos de restos adecuadas están los marcadores detectables, tales como radioisótopos, fluoróforos, quimioluminóforos, enzimas, partículas coloidales y micropartículas fluorescentes, así como antígenos, anticuerpos, haptenos, avidina/estreptavidina, biotina, haptenos, cofactores/sustratos enzimáticos, enzimas y similares.

Opcionalmente, se puede unir o incorporar un marcador a una sonda o polinucleótido cebador para permitir la detección y/o la cuantificación de un polinucleótido diana que representa la secuencia diana de interés. El polinucleótido diana puede ser el ARN de secuencia diana expresado en sí, una copia de ADNc del mismo o un producto de amplificación derivado del mismo y puede ser la cadena positiva o negativa, siempre que pueda detectarse

específicamente en el ensayo que se está utilizando. De modo similar, se puede marcar un anticuerpo.

En ciertos formatos de multiplex, los marcadores utilizados para detectar diferentes dianas pueden ser distinguibles. El marcador se puede unir directamente (por ejemplo, a través de un enlace covalente) o indirectamente, por ejemplo, a través de una molécula puente o de una serie de moléculas (por ejemplo, una molécula o un complejo que se puede unir a un componente del ensayo o a través de miembros de un par de unión que se pueden incorporar a los componentes del ensayo, por ejemplo, biotina-avidina o estreptavidina). Se comercializan muchos marcadores en formas activadas, que pueden usarse fácilmente para dicha conjugación (por ejemplo, a través de la acilación de amina) o los marcadores pueden unirse a través de esquemas de conjugación conocidos o determinables, muchos de los cuales son conocidos en la técnica.

Los marcadores útiles en la invención descrita en el presente documento incluyen cualquier sustancia que pueda detectarse cuando se une o se incorpora a la biomolécula de interés. Se puede utilizar cualquier método de detección eficaz, incluyendo óptico, espectroscópico, eléctrico, piezoeléctrico, magnético, efecto Raman, resonancia del plasmón superficial, colorimétrico, calorimétrico, etc. Un marcador se selecciona normalmente de un cromóforo, un luminóforo, un fluoróforo, un miembro de un sistema de apagado, un cromógeno, un hapteno, un antígeno, una partícula magnética, un material que presenta una óptica no lineal, un nanocrystal semiconductor, una nanopartícula de metal, una enzima, un anticuerpo o porción de unión o equivalente del mismo, un aptámero y un miembro de un par de unión y combinaciones de los mismos. Se pueden utilizar esquemas de apagado, en donde un desactivador y un fluoróforo pueden utilizarse como miembros de un par desactivador en una sonda, de modo que se produce un cambio en los parámetros ópticos tras la unión a la diana, introducen o apagan la señal del fluoróforo. Un ejemplo de tal sistema es una baliza molecular. Los sistemas de desactivadores/fluoróforos adecuados son conocidos en la técnica. El marcador puede unirse a través de varios enlaces intermedios. Por ejemplo, un polinucleótido puede comprender una especie de unión a biotina y un marcador ópticamente detectable puede conjugarse con biotina y a continuación, unirse al polinucleótido marcado. De modo similar, un sensor de polinucleotídico puede comprender una especie inmunológica, tal como un anticuerpo o fragmento y se puede añadir un anticuerpo secundario que contiene un marcador detectable ópticamente.

Los cromóforos útiles en los métodos descritos en el presente documento incluyen cualquier sustancia que pueda absorber energía y emitir luz. Para los ensayos multiplexados, se puede usar una pluralidad de cromóforos de señalización diferentes con espectros de emisión detectablemente diferentes. El cromóforo puede ser un lumóforo o un fluoróforo. Los fluoróforos típicos incluyen tintes fluorescentes, nanocrystal semiconductores, quelatos de lantánidos, colorantes específicos de polinucleótidos y proteína verde fluorescente.

Los esquemas codificante se pueden utilizar opcionalmente, comprendiendo partículas codificadas y/o etiquetas codificadas asociadas con diferentes polinucleótidos. En la técnica se conocen varios esquemas codificantes diferentes, incluyendo fluoróforos, incluyendo SCNC, metales depositados y etiquetas de RF.

Los polinucleótidos de las secuencias diana descritas pueden emplearse como sondas para detectar la expresión de secuencias diana, para esquemas de amplificación de ligamiento o pueden usarse como cebadores para esquemas de amplificación de todas o una parte de las secuencias diana. Cuando se amplifica, cualquiera de las cadenas producidas por amplificación puede proporcionarse en forma purificada y/o aislada.

En una realización, los polinucleótidos incluyen (a) un ácido nucleico representado en las Tablas 2, 4, 11 o 55; (b) una forma de ARN de uno cualquiera de los ácidos nucleicos representados en las Tablas 2, 4, 11 o 55; (c) una forma de ácido nucleico peptídico de cualquiera de los ácidos nucleicos representados en las Tablas 2, 4, 11 o 55; (d) un ácido nucleico que comprende al menos 20 bases consecutivas de cualquiera de (a-c); (e) un ácido nucleico que comprende al menos 25 bases que tienen al menos un 90 % de identidad secuenciada con cualquiera de (a-c); y (f) un complemento de cualquiera de (a-e).

Los complementos pueden tomar cualquier forma polimérica capaz de producir emparejamiento con las especies mencionadas en (a)-(e), incluyendo ácido nucleico, tal como ARN o ADN o puede ser un polímero neutro, tal como un ácido peptidonucleico. Los polinucleótidos se pueden seleccionar de los subconjuntos de los ácidos nucleicos enumerados descritos en el presente documento, así como sus complementos.

En algunas realizaciones, los polinucleótidos comprenden al menos 20 bases consecutivas de la secuencia de ácido nucleico de una diana seleccionada de cualquiera de las Tablas 2, 4, 11 o 55 o de un complemento de la misma. Los polinucleótidos pueden comprender al menos 21, 22, 23, 24, 25, 27, 30, 32, 35 o más bases consecutivas de la secuencia de ácidos nucleicos de una diana seleccionada de cualquiera de las Tablas 2, 4, 11 o 55, según corresponda. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 2. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 4. En algunos casos, las dianas se seleccionan de la Tabla 11.

Los polinucleótidos se pueden proporcionar en varios formatos, incluso como sólidos, en solución o en una matriz. Los polinucleótidos pueden comprender opcionalmente uno o más marcadores, que puede(n) incorporarse química y/o enzimáticamente al polinucleótido.

- En una realización, también se proporcionan soluciones que comprenden polinucleótido y un disolvente. En algunas realizaciones, el disolvente puede ser agua o puede ser predominantemente acuoso. En algunas realizaciones, la solución puede comprender al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, doce, quince, diecisiete, veinte o más polinucleótidos diferentes, incluyendo cebadores y pares de cebadores. Se pueden incluir sustancias adicionales en la solución, solas o en combinación, incluyendo uno o más marcadores, disolventes adicionales, tampones, biomoléculas, polinucleótidos y una o más enzimas útiles para realizar los métodos descritos en el presente documento, incluyendo polimerasas y ligasas. La solución puede comprender además un cebador o un par de cebadores capaces de amplificar un polinucleótido presente en la solución.
- 10 En algunas realizaciones, uno o más polinucleótidos proporcionados en el presente documento se pueden proporcionar en un sustrato. El sustrato puede comprender una amplia gama de materiales, biológicos, no biológicos, orgánicos, inorgánicos o una combinación de cualquiera de estos. Por ejemplo, el sustrato puede ser una película de Langmuir Blodgett polimerizada, vidrio funcionalizado, Si, Ge, GaAs, GaP, SiO₂, SiN₄, silicio modificado o cualquiera de una amplia variedad de geles o polímeros, tales como (poli)tetrafluoroetileno, (poli)difluoruro de vinilideno, poliestireno, poliestireno reticulado, poliacrílico, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, poli(lactida coglicolida), polianhídridos, poli(metacrilato de metilo), poli(etileno-co-acetato de vinilo), polisiloxanos, sílice polimérica, látex diversos, polímeros de dextrano, resinas epoxi, policarbonatos o combinaciones de los mismos. Se pueden utilizar polímeros conductores y materiales fotoconductores.
- 15 Los sustratos pueden ser sustratos cristalinos planares, tales como sustratos a base de sílice (por ejemplo, vidrio, cuarzo o similares) o sustratos cristalinos utilizados, por ejemplo, en las industrias de semiconductores y microprocesadores, tales como el silicio, arseniuro de galio, GaN dopado con indio y similares e incluyen nanocristales semiconductores.
- 20 El sustrato puede tomar la forma de una matriz, un fotodiodo, un sensor optoelectrónico, tal como un chip semiconductor optoelectrónico o un semiconductor optoelectrónico de película delgada o un biochip. La(s) localización(ones) de la(s) sonda(s) en el sustrato pueden ser direccionables; esto se puede hacer en formatos muy densos y las localizaciones pueden ser microdireccionables o nanodireccionables.
- 30 Los aerogeles de sílice también se pueden usar como sustratos y se pueden preparar mediante métodos conocidos en la técnica. Los sustratos de aerogel se pueden usar como sustratos independientes o como recubrimiento superficial para otro material de sustrato.
- El sustrato puede adoptar cualquier forma y normalmente es una placa, portaobjetos, perla, gránulo, disco, partícula, micropartícula, nanopartícula, cadena, precipitado, opcionalmente gel poroso, láminas, tubo, esfera, envase, capilar, capa, corte, película, chip, placa o plato multipocillo, fibra óptica, etc. El sustrato puede ser cualquier forma que sea rígida o semirrígida. El sustrato puede contener regiones elevadas o deprimidas en las que se sitúa un componente de ensayo. La superficie del sustrato se puede grabar utilizando técnicas conocidas para proporcionar las características superficiales deseadas, por ejemplo zanjas, ranuras en v, estructuras de mesa o similares.
- 40 Las superficies en el sustrato pueden estar compuestas del mismo material que el sustrato o pueden estar hechas de un material diferente y pueden acoplarse al sustrato por medios químicos o físicos. Tales superficies acopladas pueden estar compuestas de cualquiera de una amplia variedad de materiales, por ejemplo, polímeros, plásticos, resinas, polisacáridos, sílice o materiales a base de sílice, carbono, metales, vidrios inorgánicos, membranas o cualquiera de los materiales de sustrato mencionados anteriormente. La superficie puede ser ópticamente transparente y puede tener funcionalidades superficiales de Si-OH, tales como las que se encuentran en las superficies de sílice.
- 45 El sustrato y/o su superficie opcional puede(n) elegirse para proporcionar características adecuadas para los métodos de síntesis y/o de detección utilizados. El sustrato y/o la superficie puede(n) ser transparentes para permitir la exposición del sustrato a la luz aplicada desde múltiples direcciones. El sustrato y/o la superficie puede(n) estar provistos de estructuras reflectantes de "espejo" para aumentar la recuperación de la luz.
- El sustrato y/o su superficie es (son) generalmente resistente(s) o está(n) tratado(s) para resistir las condiciones a las que se va a exponer durante el uso y se puede(n) tratar opcionalmente para eliminar cualquier material resistente después de la exposición a tales condiciones.
- 55 El sustrato o una región del mismo puede codificarse para que pueda determinarse la identidad del sensor situado en el sustrato o región que se está consultando. Se puede utilizar cualquier esquema codificante adecuado, por ejemplo, códigos ópticos, etiquetas de RFID, códigos magnéticos, códigos físicos, códigos fluorescentes y combinaciones de códigos.
- 60

Preparación de Sondas y Cebadores

- 65 Las sondas o cebadores polinucleotídicos se pueden preparar mediante técnicas convencionales bien conocidas por los expertos en la materia. Por ejemplo, las sondas de polinucleótidos se pueden preparar usando síntesis en fase sólida usando un equipo disponible en el mercado. Como es bien conocido en la técnica, los oligonucleótidos

modificados también se pueden preparar fácilmente mediante métodos similares. Las sondas de polinucleótidos también se pueden sintetizar directamente sobre un soporte sólido de acuerdo con métodos estándar en la técnica. Este método de síntesis de polinucleótidos es particularmente útil cuando las sondas de polinucleótidos forman parte de una matriz de ácidos nucleicos.

5 Las sondas de polinucleótidos o los cebadores pueden fabricarse sobre el sustrato o unirse a él mediante cualquier método adecuado, por ejemplo, los métodos descritos en la patente de EE.UU. N.º 5.143.854, publ. PCT N.º WO 92/10092, Fodor *et al.*, Science, 251: 767-777 (1991) y publ. PCT N.º WO 90/15070). Las técnicas para la síntesis de estas matrices utilizando estrategias de síntesis mecánica se describen, por ejemplo, en la publicación PCT N.º WO 10 93/09668 y la patente de EE.UU. N.º 5.384.261. Todavía otras técnicas incluyen técnicas basadas en perlas tales como las descritas en la publicación PCT N.º WO 93/22684 y métodos basados en pasadores, tal como los descritos en la patente de EE.UU. N.º 5.288.514. En la patente de EE.UU. N.º 5.384.261. se describen métodos adicionales de canales de flujo o de detección aplicables a la unión de polinucleótidos sensores a un sustrato.

15 Como alternativa, las sondas de polinucleótidos descritas de la presente invención se pueden preparar mediante digestión enzimática del gen diana de origen natural o del ARNm o del ADNc derivado del mismo, mediante métodos bien conocidos en la técnica.

Muestras de pronóstico

20 Las muestras de pronóstico para usar con los sistemas y en los métodos de la presente invención comprenden ácidos nucleicos adecuados para proporcionar información sobre la expresión de ARN. En principio, la muestra biológica a partir de la cual se obtiene el ARN expresado y se analiza para determinar la expresión de la secuencia diana, puede ser cualquier material que se sospeche que comprende tejido o células cancerosas. La muestra de pronóstico puede 25 ser una muestra biológica utilizada directamente en un método de la invención. Como alternativa, la muestra de pronóstico puede ser una muestra preparada a partir de una muestra biológica.

En una realización, la muestra o parte de la muestra que comprende o que se sospecha que comprende tejido o células cancerosas puede ser cualquier fuente de material biológico, incluyendo células, tejido o fluido, incluidos los 30 fluidos corporales. Los ejemplos no limitantes de la fuente de la muestra incluyen un aspirado, una biopsia con aguja, un sedimento de citología, una preparación de tejido masiva o una sección del mismo obtenida, por ejemplo, mediante cirugía o autopsia, líquido linfático, sangre, plasma, suero, tumores y órganos. En algunas realizaciones, la muestra es de orina. Como alternativa, la muestra es de sangre, plasma o suero. En algunas realizaciones, la muestra es de saliva.

35 Las muestras pueden ser muestras de archivo, que tienen un resultado médico conocido y documentado o pueden ser muestras de pacientes actuales cuyo resultado médico final aún no se conoce.

40 En algunas realizaciones, la muestra se puede diseccionar antes del análisis molecular. La muestra se puede preparar mediante macrodissección de una muestra de tumor masiva o una porción de la misma o se puede tratar mediante microdissección, por ejemplo a través de microdissección de captura láser (LCM, por sus siglas en inglés).

La muestra se puede proporcionar inicialmente en varios estados, como tejido fresco, tejido fresco congelado, aspirados con aguja fina y pueden fijarse o no. Con frecuencia, los laboratorios médicos preparan rutinariamente 45 muestras médicas en un estado fijado, lo que facilita el almacenamiento de tejido. Se puede usar varios fijadores para fijar tejido para estabilizar la morfología de las células y se pueden usar solos o junto con otros agentes. Entre los fijadores ilustrativos se incluyen los agentes de reticulación, alcoholes, acetona, solución de Bouin, solución de Zenker, solución de Hely, solución de ácido ósmico y solución de Carnoy.

50 Los fijadores de reticulación pueden comprender cualquier agente adecuado para formar dos o más enlaces covalentes, por ejemplo, un aldehído. Las fuentes de aldehídos normalmente utilizadas para la fijación incluyen formaldehído, paraformaldehído, glutaraldehído o formalina. Preferentemente, el agente de reticulación comprende formaldehído, que puede estar incluido en su forma nativa o en forma de paraformaldehído o formalina. Un experto en la técnica apreciaría que para las muestras en las que se han usado fijadores de entrecruzamiento, pueden necesitarse 55 etapas preparatorias especiales que incluyan, por ejemplo, etapas de calentamiento y de digestión con proteinasa; véanse los métodos.

Se pueden usar uno o más alcoholes para fijar tejido, solos o junto con otros fijadores. Entre los alcoholes ilustrativos utilizados para la fijación se incluyen metanol, etanol e isopropanol.

60 La fijación en formalina se utiliza con frecuencia en los laboratorios médicos. La formalina comprende tanto un alcohol, normalmente metanol como formaldehído, ambos pueden actuar para fijar una muestra biológica.

La muestra biológica, fijada o no, se puede incluir opcionalmente en un medio de inclusión. Entre los medios de 65 inclusión ilustrativos utilizados en histología se incluyen parafina, Tissue-Tek® V.I.P.TM, Parmat, Paramat Extra, Paraplast, Paraplast X-tra, Paraplast Plus, cera de inclusión de parafina de despegado, cera de poliéster,

polietilenglicol Carbowax, Polyfin™, medio de congelación de tejidos TFMFM, Cryo-Gef™ y compuesto de OCT (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, Pensilvania). Antes del análisis molecular, el material de inclusión puede eliminarse mediante cualquier técnica adecuada, como se conoce en la técnica. Por ejemplo, cuando la muestra se incluye en cera, el material de inclusión puede eliminarse mediante la extracción con disolvente(s) orgánico(s), por ejemplo xilenos. Los kits están disponibles comercialmente para retirar los medios de inclusión de los tejidos. Las muestras o secciones de las mismas pueden someterse a más etapas de procesamiento según sea necesario, por ejemplo, hidratación en serie o etapas de deshidratación.

En algunas realizaciones, la muestra es una muestra biológica incluida en cera fijada. Con frecuencia, las muestras de laboratorios médicos se proporcionan como muestras fijadas, incluidas en cera, más comúnmente como tejidos fijados en formalina, embebidos en parafina (FFPE, por sus siglas en inglés).

Cualquiera que sea la fuente de la muestra biológica, el polinucleótido diana que finalmente se analiza se puede preparar sintéticamente (en el caso de las secuencias de control), pero normalmente se purifica de la fuente biológica y se somete a una o más etapas preparativas. El ARN se puede purificar, para eliminar o disminuir uno o más componentes no deseados de la muestra biológica o para concentrarlo. En cambio, el ARN puede diluirse cuando está demasiado concentrado para el ensayo particular.

Extracción de ARN

El ARN se puede extraer y purificar de muestras biológicas utilizando cualquier técnica adecuada. Se conocen varias técnicas en la materia y varias se comercializan (por ejemplo, kit de extracción de ácido nucleico de FormaPure, Agencourt Biosciences, Beverly, Massachusetts, microkit de ARN de FFPE de alta pureza, Roche Applied Science, Indianápolis, Indiana). El ARN se puede extraer de secciones de tejido congelados usando TRIzol (Invitrogen, Carlsbad, California) y purificarse usando el kit RNeasy Protect (Qiagen, Valencia, California). El ARN se puede purificar aún más mediante el tratamiento de ADNasa I (Ambion, Austin, Texas) para eliminar cualquier ADN contaminante. Las concentraciones de ARN se pueden hacer usando un espectrofotómetro Nanodrop ND-1000 (Nanodrop Technologies, Rockland, Delaware). El ARN se puede purificar aún más para eliminar los contaminantes que interfieren con la síntesis de ADNc mediante la precipitación con acetato de sodio en frío. La integridad del ARN se puede evaluar ejecutando electroferogramas y el número de integridad del ARN (RIN, por sus siglas en inglés, una medida correlativa que indica la integridad del ARNm) se puede determinar utilizando el PicoAssay RNA 6000 para el Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, California).

Amplificación e hibridación

Después de la recolección de muestras y de la extracción de ácidos nucleicos, la porción de ácido nucleico de la muestra que comprende el ARN que se usa o se puede usar para preparar los polinucleótidos diana de interés se puede someter a una o más reacciones de preparación. Estas reacciones preparatorias pueden incluir transcripción *in vitro* (IVT, por sus siglas en inglés), marcado, fragmentación, amplificación y otras reacciones. El ARNm se puede tratar primero con transcriptasa inversa y un cebador para crear ADNc antes de la detección, cuantificación y/o amplificación; esto puede hacerse *in vitro* con ARNm purificado o *in situ*, por ejemplo, en células o tejidos aplicados en un portaobjetos.

Por "amplificación" se entiende cualquier proceso de producción de al menos una copia de un ácido nucleico, en este caso un ARN expresado y en muchos casos la amplificación produce múltiples copias. Un producto de amplificación puede ser ARN o ADN y puede incluir una cadena complementaria a la secuencia diana expresada. Los productos de amplificación de ADN se pueden producir inicialmente a través de traducción inversa y a continuación, opcionalmente, a partir de reacciones de amplificación adicionales. El producto de amplificación puede incluir la totalidad o una parte de una secuencia diana y puede marcarse, opcionalmente. Son adecuados para usar varios métodos de amplificación, incluyendo métodos basados en polimerasa y métodos basados en ligamiento. Las técnicas de amplificación ilustrativas incluyen el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), la reacción en cadena de la lipasa (LCR, por sus siglas en inglés), métodos basados en ribozimas, replicación de secuencias autosostenida (3SR), amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos (NASBA, por sus siglas en inglés), el uso de Q Beta replicasa, transcripción inversa, traducción de nick y similares.

Pueden utilizarse reacciones de amplificación asimétrica para amplificar preferentemente una cadena que represente la secuencia diana que se use para la detección como el polinucleótido diana. En algunos casos, la presencia y/o la cantidad del propio producto de amplificación puede(n) usarse para determinar el nivel de expresión de una secuencia diana dada. En otros casos, el producto de amplificación se puede usar para hibridar con una matriz u otro sustrato que comprenda polinucleótidos sensores que se usan para detectar y/o cuantificar la expresión de la secuencia diana.

El primer ciclo de amplificación en los métodos basados en polimerasa normalmente forma un producto de ampliación del cebador complementario a la cadena molde. Si el molde es ARN monocatenario, se usa una polimerasa con actividad de transcriptasa inversa en la primera amplificación para transcribir de forma inversa el ARN a ADN y pueden realizarse ciclos de amplificación adicionales para copiar los productos de ampliación del cebador. Los cebadores para una PCR deben diseñarse, por supuesto, para hibridarse con regiones en su molde correspondiente que pueda

producir un segmento amplificable; por tanto, cada cebador debe hibridarse de modo que su nucleótido 3' se empareje con un nucleótido en su cadena de molde complementaria que se sitúa 3' del nucleótido 3' del cebador utilizado para replicar esa cadena de molde complementaria en la PCR.

- 5 El polinucleótido diana se puede amplificar poniendo en contacto una o más cadenas del polinucleótido diana con un cebador y una polimerasa que tenga actividad adecuada para ampliar el cebador y copiar el polinucleótido diana para producir un polinucleótido complementario de longitud completa o una porción más pequeña del mismo. Puede usarse cualquier enzima que tenga una actividad de polimerasa que pueda copiar el polinucleótido diana, incluyendo ADN polimerasas, ARN polimerasas, transcriptasas inversas, enzimas que tienen más de un tipo de polimerasa o actividad
- 10 enzimática. La enzima puede ser termolábil o termoestable. También se pueden usar mezclas de enzimas. Entre las enzimas ilustrativas se incluyen: ADN polimerasas, tales como la ADN polimerasa I ("Pol I"), el fragmento Klenow de Pol I, T4, T7, Sequenase® T7, Sequenase® Versión 2.0 T7, *Tub*, *Taq*, *Tth*, *Pfic*, *Pfu*, *Tsp*, *Tfl*, *Tli* y ADN polimerasas de *Pyrococcus* sp. GB-D; ARN polimerasas, tales como ARN polimerasas SP6, T3 y T7 de *E. coli*; y transcriptasas inversas, tales como AMV, M-MuLV, MMLV, ARNasa H MMLV (Superscript®), Superíndice® II, ThermoScript®,
- 15 transcriptasas inversas de HIV-1 y RAV2. Todas estas enzimas se comercializan. Los ejemplos de polimerasas con múltiples especificidades incluyen polimerasas RAV2 y *Tli* (exo-)polimerasas. Las polimerasas termoestables ilustrativas incluyen *Tub*, *Taq*, *Tth*, *Pfic*, *Pfu*, *Tsp*, *Tfl*, *Tli* y ADN polimerasas de *Pyrococcus* sp. GB-D.

- Se eligen condiciones de reacción adecuadas para permitir la amplificación del polinucleótido diana, incluyendo el pH, tampón, fuerza iónica, presencia y concentración de una o más sales, presencia y concentración de reactivos y cofactores como nucleótidos y magnesio y/u otros iones metálicos (por ejemplo, manganeso), codisolventes opcionales, temperatura, perfil de ciclo térmico para esquemas de amplificación que comprenden una reacción en cadena de la polimerasa y pueden depender en parte de la polimerasa que se utilice, así como de la naturaleza de la muestra. Los codisolventes incluyen formamida (normalmente de aproximadamente 2 a aproximadamente un 10 %),
- 20 glicerol (normalmente de aproximadamente 5 a aproximadamente un 10 %) y DMSO (normalmente de aproximadamente 0,9 a aproximadamente un 10 %). Pueden utilizarse técnicas en el esquema de amplificación para minimizar la producción de falsos positivos o artefactos producidos durante la amplificación. Estas incluyen PCR técnicas de "toma de contacto" (en inglés, touchdown), de inicio en caliente (en inglés, hot-start), uso de cebadores anidados o diseño de cebadores de PCR, para que formen estructuras de bucle en el tallo (en inglés, stem-loop) en el caso de la formación de dímero de cebador y por tanto, no se amplifiquen. Se pueden utilizar técnicas para acelerar la PCR, por ejemplo PCR centrífuga, que permite una mayor convección dentro de la muestra y que comprende etapas de calentamiento por infrarrojos para calentar y enfriar rápidamente la muestra. Se pueden realizar uno o más ciclos de amplificación. Se puede usar un exceso de un cebador para producir un exceso de un producto de ampliación del cebador durante la PCR; preferentemente, el producto de ampliación del cebador producido en exceso es el producto de amplificación a detectar. Puede usarse una pluralidad de cebadores diferentes para amplificar diferentes polinucleótidos diana o diferentes regiones de un polinucleótido diana particular dentro de la muestra.
- 30
- 35

- Se puede realizar una reacción de amplificación en condiciones que permitan que un polinucleótido sensor opcionalmente marcado se hibride con el producto de amplificación durante al menos parte de un ciclo de amplificación. Cuando el ensayo se realiza de esta manera, la detección en tiempo real de este evento de hibridación puede tener lugar controlando la emisión de luz o la fluorescencia durante la amplificación, como se conoce en la técnica.
- 40

- Cuando el producto de amplificación se vaya a utilizar para la hibridación con una matriz o micromatriz, hay varios productos de amplificación disponibles comercialmente. Estos incluyen kits de amplificación comercializados por NuGEN, Inc. (San Carlos, California), incluyendo los kits de amplificación del sistema de WT-Ovation™, sistema de WT-Ovation™ v2, sistema de WT-Ovation™ Pico, módulo de WT-Ovation™ FFPE Exon, módulo RiboAmp y RiboAmp^{Plus} de WT-Ovation™ FFPE Exon (MDS Analytical Technologies (anteriormente Arcturus) (Mountain View, California), Genisphere, Inc. (Hatfield, Pensilvania), incluidos los kits de amplificación de ARN de RampUp Plus™ y SenseAmp™, solos o en combinación. Los ácidos nucleicos amplificados pueden someterse a una o más reacciones de purificación después de la amplificación y el marcado, por ejemplo, utilizando perlas magnéticas (por ejemplo, perlas magnéticas RNAClean, Agencourt Biosciences).
- 45
- 50

- Se pueden analizar múltiples biomarcadores de ARN utilizando plataformas de RT-PCR multiplex cuantitativas en tiempo real y otras tecnologías de multiplexación, tales como GenomeLab GeXP Genetic Analysis System (Beckman Coulter, Foster City, California), sistemas de SmartCycler® 9600 o de GeneXpert(R) (Cepheid, Sunnyvale, California), sistema de PCR rápida (qPCR) en tiempo real ABI 7900 HT (Applied Biosystems, Foster City, California), sistema LightCycler® 480 (Roche Molecular Systems, Pleasanton, California), sistema xMAP 100 (Luminex, Austin, Texas), sistema de análisis del genoma Solexa (Illumina, Hayward, California), qPCR en tiempo real OpenArray (BioTrove, Woburn, Massachusetts) y el sistema BeadXpress (Illumina, Hayward, California).
- 55
- 60

Detección y/o cuantificación de secuencias diana

- En principio, cualquier método de detección y/o cuantificación de la expresión de las secuencias diana codificadas puede utilizarse en la invención. Las secuencias diana expresadas pueden detectarse y/o cuantificarse directamente o pueden copiarse y/o amplificarse para permitir la detección de copias amplificadas de las secuencias diana
- 65

expresadas o de su complemento.

Los métodos para detectar y/o cuantificar una diana pueden incluir transferencia Northern, secuenciación, hibridación de matrices o de micromatrices, por escisión enzimática de estructuras específicas (por ejemplo, un ensayo Invader®, Third Wave Technologies, por ejemplo, como se describe en las patentes de EE.UU. N.º 5.846.717, 6.090.543; 6001567; 5985557; y 5.994.069) y por métodos de amplificación, por ejemplo, RT-PCR, incluso en un ensayo TaqMan® (PE Biosystems, Foster City, California, por ejemplo, como se describe en las patentes de EE.UU. N.º 5.962.233 y 5.538.848), pudiendo ser cuantitativa o semicuantitativa, pudiendo variar según el origen, cantidad y condición de la muestra biológica disponible. También se pueden usar combinaciones de estos métodos. Por ejemplo, los ácidos nucleicos se pueden amplificar, marcar y someter a análisis de micromatrices.

En algunos casos, las secuencias diana pueden detectarse mediante secuenciación. Los métodos de secuenciación pueden comprender la secuenciación del genoma completo o la secuenciación del exoma. También se pueden utilizar métodos de secuenciación tales como Maxim-Gilbert, sistemas de terminación de cadena o de alto rendimiento. Además, las técnicas de secuenciación adecuadas incluyen reacciones clásicas de secuenciación dideoxi (método de Sanger) utilizando terminadores o cebadores marcados y separación en gel en placa o capilar, secuenciación por síntesis usando nucleótidos marcados terminados reversiblemente, pirosecuenciación, secuenciación 454, hibridación específica de alelo a una biblioteca de sondas de oligonucleótidos marcadas, secuenciación por síntesis utilizando hibridación específica de alelo a una biblioteca de clones marcados seguida de ligamiento, seguimiento en tiempo real de la incorporación de nucleótidos marcados durante un paso de polimerización y secuenciación SOLiD.

Los métodos adicionales para detectar y/o cuantificar una diana incluyen la secuenciación de una sola molécula (por ejemplo, Helicos, PacBio), secuenciación por síntesis (por ejemplo, Illumina, Ion Torrent), secuenciación por ligamiento (por ejemplo, ABI SOLiD), secuenciación por hibridación (por ejemplo, Complete Genomics), hibridación *in situ*, tecnologías de matriz de perlas (por ejemplo, Luminex xMAP, Illumina BeadChips), tecnología de ADN ramificado (por ejemplo, Panomics, Genisphere). Los métodos de secuenciación pueden utilizar métodos de detección de nucleótidos fluorescentes (por ejemplo, Illumina) o electrónicos (por ejemplo, Ion Torrent, Oxford Nanopore).

Transcripción inversa para análisis de ORT-PCR

La transcripción inversa se puede realizar mediante cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, la transcripción inversa se puede realizar utilizando el kit para RT-PCR Omniscript (Qiagen, Valencia, California), Kit Superscript III (Invitrogen, Carlsbad, California). El cebado específico de la diana se puede realizar para aumentar la sensibilidad de detección de secuencias diana y generar ADNc específico de la diana.

Análisis de expresión génica TaqMan®

TaqMan®RT-PCR se puede realizar con los instrumentos Prism (ABI) 7900 HT de Applied Biosystems en un volumen de 5 µl, 11 con ADNc específico de la secuencia diana equivalente a 1 ng de ARN total.

Las concentraciones de cebadores y sondas para el análisis TaqMan se añaden para amplificar los amplicones fluorescentes usando condiciones de ciclos de PCR, tales como 95 °C durante 10 minutos para un ciclo, 95 °C durante 20 segundos y 60 °C durante 45 segundos durante 40 ciclos. Se puede analizar una muestra de referencia para garantizar la estabilidad del reactivo y del proceso. Se deben analizar controles negativos (por ejemplo, sin molde) para controlar cualquier contaminación de ácido nucleico exógeno.

Matrices de clasificación

La presente invención contempla que un conjunto de sondas o unas sondas derivadas del mismo puedan proporcionarse en un formato de matriz. En el contexto de la presente invención, una "matriz" es una colección organizada espacial o lógicamente de sondas de polinucleótidos. Puede utilizarse una matriz que comprende sondas específicas para una diana codificante, una diana no codificante o una combinación de las mismas. Como alternativa, se puede usar una matriz que comprende sondas específicas para dos o más transcritos de una diana seleccionada de cualquiera de las Tablas 2, 4, 11 o 55 o un producto derivado de la misma. De forma deseable, una matriz puede ser específica para 5, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 75, 100, 150, 200 o más transcritos de una diana seleccionada de cualquiera de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la diana se selecciona de la Tabla 2. En otros casos, la diana se selecciona de la Tabla 4. En algunas realizaciones, la diana se selecciona de la Tabla 11. La expresión de estas secuencias puede detectarse sola o junto con otros transcritos. En algunas realizaciones, se utiliza una matriz que comprende una amplia gama de sondas sensoras para productos de expresión específicos de la próstata, junto con las secuencias de control adecuadas. En algunos casos, la matriz puede comprender la matriz Human Exon 1.0 ST (HuEx 1.0 ST, Affymetrix, Inc., Santa Clara, California).

Normalmente, las sondas de polinucleótidos se unen a un sustrato sólido y se ordenan de modo que se conozca la localización (en el sustrato) y la identidad de cada una. Las sondas de polinucleótidos se pueden unir a uno de varios sustratos sólidos capaces de soportar los reactivos y las condiciones necesarias para el uso de la matriz. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, polímeros, tales como politetrafluoroetileno, (poli)difluoruro de vinilideno, poliestireno,

policarbonato, polipropileno y poliestireno; cerámica; silicio; dióxido de silicio; silicio modificado; sílice (fundida), cuarzo o vidrio; vidrio funcionalizado; papel, tal como papel de filtro; celulosa diazotada; filtro de nitrocelulosa; membrana de nailon; y relleno de gel de poliacrilamida. Los sustratos que son transparentes a la luz son útiles para matrices que pueden usarse en un ensayo que implica la detección óptica.

Los ejemplos de formatos de matriz incluyen matrices de membrana o filtro (por ejemplo, nitrocelulosa, matrices de nailon), matrices de placas (por ejemplo, multipocillo, tales como unas matrices de placas de microtitulación de 24, 96, 256, 384, 864 o 1536 pocillos), matrices de pasadores (en inglés, pin array) y matrices de perlas (por ejemplo, en una "suspensión" líquida). Las matrices sobre sustratos, tales como portaobjetos de vidrio o de cerámica, a menudo se denominan matrices de microplaca o "chips". Tales conjuntos son bien conocidos en la técnica. En una realización de la presente invención, el denominado Cancer Prognosticarray es una microplaca.

Análisis de datos

En algunas realizaciones, se pueden usar uno o más métodos de reconocimiento de patrones para analizar el nivel de expresión de las secuencias diana. El método de reconocimiento de patrones puede comprender una combinación lineal de niveles de expresión o una combinación no lineal de niveles de expresión. En algunas realizaciones, las mediciones de expresión para transcritos de ARN o combinaciones de niveles de transcritos de ARN se formulan en modelos lineales o no lineales o en algoritmos (por ejemplo, una "distintivo de expresión") y se convierten en una puntuación de probabilidad. Esta puntuación de probabilidad indica la probabilidad de que una muestra biológica sea de un paciente que puede no presentar indicio de enfermedad, que puede presentar cáncer sistémico o que puede presentar recurrencia bioquímica. La puntuación de probabilidad se puede utilizar para distinguir estos cuadros clínicos. Los modelos y/o algoritmos se pueden proporcionar en formato de lectura automática y se pueden usar para correlacionar niveles de expresión o un perfil de expresión con un cuadro clínico y/o para designar una modalidad de tratamiento para un paciente o una clase de pacientes.

Determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas puede comprender el uso de un algoritmo o de un clasificador. Los datos de matrices se pueden administrar, clasificar y analizar utilizando técnicas conocidas en la materia. El ensayo del nivel de expresión para una pluralidad de dianas puede comprender el modelado de conjuntos de sondas y el preprocesamiento de datos. El modelado de conjuntos de sondas y el preprocesamiento de datos se pueden derivar utilizando el algoritmo de matrices múltiples robusto (RMA, por sus siglas en inglés) o las variantes GC-RMA, tRMA, algoritmo de error de intensidad logarítmica de la sonda (PLIER, por sus siglas en inglés) o la variante iterPLIER. Se pueden aplicar la varianza o filtros de intensidad a los datos de preprocesamiento utilizando el algoritmo RMA, por ejemplo, eliminando secuencias diana con una desviación típica de < 10 o una intensidad media de < 100 unidades de intensidad de un intervalo de datos normalizados, respectivamente.

Como alternativa, determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas puede comprender el uso de un algoritmo de aprendizaje automático. El algoritmo de aprendizaje automático puede comprender un algoritmo de aprendizaje supervisado. Los ejemplos de algoritmos de aprendizaje supervisado pueden incluir estimadores promedio de una dependencia (AODE, por sus siglas en inglés), red neuronal artificial (por ejemplo, Backpropagation), estadísticos bayesianos (por ejemplo, clasificador de Naive Bayes, red bayesiana, base de conocimiento bayesiano), razonamiento basado en casos, árboles de decisión, programación lógica inductiva, regresión de proceso gaussiano, método de grupo de manejo de datos (GMDH, por sus siglas en inglés), aprendizaje de autómatas, cuantificación de vectores de aprendizaje, longitud mínima del mensaje (árboles de decisión, gráficos de decisión, etc.), aprendizaje perezoso, algoritmo del vecino más cercano de aprendizaje basado en instancias, modelado analógico, aprendizaje de aprendizaje probablemente aproximadamente correcto (PAC, por sus siglas en inglés), reglas propagadas, una metodología de adquisición de conocimiento, algoritmos de aprendizaje automático simbólico, algoritmos de aprendizaje automático subsimbólico, máquinas de vectores de soporte, Random Forest (del inglés, árboles aleatorios), conjuntos de clasificadores, agregación de bootstrap (empaquetado) y Boosting (del inglés, impulso). El aprendizaje supervisado puede comprender una clasificación ordinal, tal como el análisis de regresión y las redes difusas de información (IFN, por sus siglas en inglés). Como alternativa, los métodos de aprendizaje supervisado pueden incluir clasificación estadística, tal como AODE, clasificadores lineales (por ejemplo, el discriminante lineal de Fisher, regresión logística, clasificador de Naive Bayes, Perceptron y máquina de vectores de soporte), clasificadores cuadráticos, k-vecino más cercano, Boosting, árboles de decisión (por ejemplo, C4.5, Random Forest), redes bayesianas y modelos ocultos de Markov.

Los algoritmos de aprendizaje automático también pueden comprender un algoritmo de aprendizaje no supervisado. Los ejemplos de algoritmos de aprendizaje no supervisados pueden incluir redes neuronales artificiales, agrupación de datos, algoritmo de maximización de expectativas, mapa autoorganizado, red de función de base radial, cuantificación vectorial, mapa topográfico generativo, método de cuello de botella de información e IBSEAD. El aprendizaje no supervisado también puede comprender algoritmos de aprendizaje de reglas de asociación, tal como el algoritmo Apriori, algoritmo Eclat y algoritmo de crecimiento FP. También puede usarse la agrupación jerárquica, tal como el agrupamiento de enlace único y el agrupamiento conceptual. Como alternativa, el aprendizaje no supervisado puede comprender agrupamiento particional, tal como el algoritmo K-means y el agrupamiento Fuzzy.

En algunos casos, los algoritmos de aprendizaje automático comprenden un algoritmo de aprendizaje de refuerzo. Los

ejemplos de algoritmos de aprendizaje de refuerzo incluyen, pero sin limitación, aprendizaje de diferencia temporal, Q-learning y Learning Automata. Como alternativa, el algoritmo de aprendizaje automático puede comprender el preprocesamiento de datos.

- 5 Preferentemente, los algoritmos de aprendizaje automático pueden incluir, pero sin limitación, estimadores promedio de una dependencia (AODE, por sus siglas en inglés), discriminante lineal de Fisher, regresión logística, Perceptron, Perceptrón multicapa, redes neuronales artificiales, máquinas de vectores de soporte, clasificadores cuadráticos, Boosting, árboles de decisión, C4.5, redes bayesianas, modelos ocultos de Markov, análisis discriminante de alta dimensión y modelos de mezcla gaussiana. El algoritmo de aprendizaje automático puede comprender máquinas de
- 10 vectores de soporte, clasificador de Naive Bayes, k-vecino más cercano, análisis discriminante de alta dimensión o modelos de mezcla gaussiana. En algunos casos, el algoritmo de aprendizaje automático comprende Random Forest.

Técnicas y pruebas adicionales

- 15 Los métodos divulgados en el presente documento pueden incluir técnicas adicionales, tales como citología, histología, análisis de ultrasonido, resultados de IRM, resultados de TAC y mediciones de los niveles de PSA.

Las pruebas certificadas para clasificar el cuadro clínico de la enfermedad y/o designar modalidades de tratamiento también pueden usarse para pronosticar un cáncer de próstata en un sujeto. Una prueba certificada puede comprender

20 un medio para caracterizar los niveles de expresión de una o más de las secuencias diana de interés y una certificación de una agencia reguladora gubernamental que respalde el uso de la prueba para clasificar el cuadro clínico de una muestra biológica.

- En algunas realizaciones, la prueba certificada puede comprender reactivos para reacciones de amplificación utilizados para detectar y/o cuantificar la expresión de las secuencias diana a caracterizar en la prueba. Se puede utilizar una matriz de ácidos nucleicos de sondas, con o sin amplificación previa de dianas, para usar en la medición de la expresión de las secuencias diana.
- 25

La prueba se envía a una agencia que tiene autoridad para certificar la prueba para usar en la distinción del cuadro clínico y/o del resultado. Los resultados de la detección de los niveles de expresión de las secuencias diana utilizadas en la prueba y la correlación con el cuadro clínico y/o el resultado se envían a la agencia. Se obtiene una certificación que autoriza el uso pronóstico de la prueba.

30

También se proporcionan carteras (portfolios) de niveles de expresión que comprenden una pluralidad de niveles de expresión normalizados de la diana seleccionada de cualquiera de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la diana se selecciona de la Tabla 2. En otros casos, la diana se selecciona de la Tabla 4. En algunas realizaciones, la diana se selecciona de la Tabla 11. Tales carteras pueden proporcionarse realizando los métodos descritos en el presente documento para obtener niveles de expresión de un paciente individual o de un grupo de pacientes. Los niveles de expresión pueden normalizarse mediante cualquier método conocido en la técnica; los métodos de normalización

35 ilustrativos que se pueden usar en diversas realizaciones incluyen el promedio de multichip robusto (RMA, por sus siglas en inglés), estimación del error de intensidad logarítmica de la sonda (PLIER), ajuste no lineal (NLFIT, por sus siglas en inglés) basada en cuantiles y normalización no lineal y combinaciones de las mismas. La corrección de fondo también se puede realizar en los datos de expresión; las técnicas ilustrativas útiles para la corrección de fondo incluyen el modo de intensidades, normalizado que utiliza el modelado de sondas de pulido de la mediana y la normalización

40 por separadores (sketch-normalization).

45

En algunas realizaciones, las carteras se establecen de manera que la combinación de genes en la cartera presenten sensibilidad y especificidad mejoradas respecto a los métodos conocidos. Cuando se considera un grupo de genes para su inclusión en una cartera, se correlaciona una pequeña desviación típica en las mediciones de expresión con una mayor especificidad. También pueden usarse en esta capacidad otras medidas de variación, tales como coeficientes de correlación. La invención también abarca los métodos anteriores en los que el nivel de expresión determina el estado o el resultado de un cáncer en el sujeto con al menos aproximadamente un 45 % de especificidad. En algunas realizaciones, el nivel de expresión determina el estado o el resultado de un cáncer en el sujeto con al menos aproximadamente un 50 % de especificidad. En algunas realizaciones, el nivel de expresión determina el estado o el resultado de un cáncer en el sujeto con al menos aproximadamente un 55 % de especificidad. En algunas realizaciones, el nivel de expresión determina el estado o el resultado de un cáncer en el sujeto con al menos aproximadamente un 60 % de especificidad. En algunas realizaciones, el nivel de expresión determina el estado o el resultado de un cáncer en el sujeto con al menos aproximadamente un 65 % de especificidad. En algunas realizaciones, el nivel de expresión determina el estado o el resultado de un cáncer en el sujeto con al menos aproximadamente un 70 % de especificidad. En algunas realizaciones, el nivel de expresión determina el estado o el resultado de un cáncer en el sujeto con al menos aproximadamente un 75 % de especificidad. En algunas realizaciones, el nivel de expresión determina el estado o el resultado de un cáncer en el sujeto con al menos aproximadamente un 80 % de especificidad. En algunas realizaciones, el nivel de expresión determina el estado o el resultado de un cáncer en el sujeto con al menos un 85 % de especificidad. En algunas realizaciones, el nivel de expresión determina el estado o el resultado de un cáncer en el sujeto con al menos aproximadamente un 90 % de especificidad. En algunas realizaciones, el nivel de expresión determina el estado o el resultado de un cáncer en el

50

55

60

65

sujeto con al menos aproximadamente un 95 % de especificidad.

La invención también abarca dichos cualesquier métodos divulgados en el presente documento en los que la precisión del pronóstico en un sujeto que tiene cáncer de próstata es de al menos aproximadamente un 45 %. En algunas realizaciones, la precisión del pronóstico en un sujeto que tiene cáncer de próstata es de al menos aproximadamente un 50 %. En algunas realizaciones, la precisión es de al menos aproximadamente un 55 %. En algunas realizaciones, la precisión es de al menos aproximadamente un 60 %. En algunas realizaciones, la precisión es de al menos aproximadamente un 65 %. En algunas realizaciones, la precisión es de al menos aproximadamente un 70 %. En algunas realizaciones, la precisión es de al menos aproximadamente un 75 %. En algunas realizaciones, la precisión es de al menos aproximadamente un 80 %. En algunas realizaciones, la precisión es de al menos aproximadamente un 85 %. En algunas realizaciones, la precisión es de al menos aproximadamente un 90 %. En algunas realizaciones, la precisión es de al menos aproximadamente un 95 %.

La precisión de un clasificador o un biomarcador puede determinarse mediante el intervalo de confianza (IC) del 95 %. Generalmente, se considera que un clasificador o un biomarcador tiene una buena precisión si el IC del 95 % no coincide con 1. En algunos casos, el IC del 95 % de un clasificador o un biomarcador es al menos aproximadamente 1,08, 1,10, 1,12, 1,14, 1,15, 1,16, 1,17, 1,18, 1,19, 1,20, 1,21, 1,22, 1,23, 1,24, 1,25, 1,26, 1,27, 1,28, 1,29, 1,30, 1,31, 1,32, 1,33, 1,34 o 1,35 o más. El IC del 95 % de un clasificador o un biomarcador puede ser al menos aproximadamente 1,14, 1,15, 1,16, 1,20, 1,21, 1,26 o 1,28. El IC del 95 % de un clasificador o un biomarcador puede ser inferior a aproximadamente 1,75, 1,74, 1,73, 1,72, 1,71, 1,70, 1,69, 1,68, 1,67, 1,66, 1,65, 1,64, 1,63, 1,62, 1,61, 1,60, 1,59, 1,58, 1,57, 1,56, 1,55, 1,54, 1,53, 1,52, 1,51, 1,50 o menos. El IC del 95 % de un clasificador o un biomarcador puede ser inferior a aproximadamente 1,61, 1,60, 1,59, 1,58, 1,56, 1,55 o 1,53. El IC del 95 % de un clasificador o un biomarcador puede estar entre aproximadamente 1,10 y 1,70, entre aproximadamente 1,12 a aproximadamente 1,68, entre aproximadamente 1,14 a aproximadamente 1,62, entre aproximadamente 1,15 a aproximadamente 1,61, entre aproximadamente 1,15 a aproximadamente 1,59, entre aproximadamente 1,16 a aproximadamente 1,160, entre aproximadamente 1,19 a aproximadamente 1,55, entre aproximadamente 1,20 a aproximadamente 1,54, entre aproximadamente 1,21 a aproximadamente 1,53, entre aproximadamente 1,26 a aproximadamente 1,63, entre aproximadamente 1,27 a aproximadamente 1,61 o entre aproximadamente 1,28 a aproximadamente 1,60.

En algunos casos, la precisión de un biomarcador o de un clasificador depende de la diferencia en el intervalo del IC del 95 % (por ejemplo, la diferencia en el valor alto y el valor bajo del intervalo del IC del 95 %). Generalmente, los biomarcadores o los clasificadores con un intervalo de grandes diferencias en el intervalo IC del 95 % tienen una mayor variabilidad y se consideran menos precisos que los biomarcadores o clasificadores con un intervalo de pequeñas diferencias en el intervalo IC del 95 %. En algunos casos, un biomarcador o clasificador se considera más preciso si la diferencia en el intervalo del IC del 95 % es inferior a 0,60, 0,55, 0,50, 0,49, 0,48, 0,47, 0,46, 0,45, 0,44, 0,43, 0,42, 0,41, 0,40, 0,39, 0,38, 0,37, 0,36, 0,35, 0,34, 0,33, 0,32, 0,31, 0,30, 0,29, 0,28, 0,27, 0,26, 0,25 o menos. La diferencia en el intervalo del IC del 95 % de un biomarcador o de un clasificador puede ser inferior a aproximadamente 0,48, 0,45, 0,44, 0,42, 0,40, 0,37, 0,35, 0,33 o 0,32. En algunos casos, la diferencia en el intervalo del IC del 95 % para un biomarcador o de un clasificador es de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 0,50, entre aproximadamente 0,27 a aproximadamente 0,47 o entre aproximadamente 0,30 a aproximadamente 0,45.

La invención también abarca dichos cualesquier métodos divulgados en el presente documento donde la sensibilidad es de al menos aproximadamente un 45 %. En algunas realizaciones, la sensibilidad es de al menos aproximadamente un 50 %. En algunas realizaciones, la sensibilidad es de al menos aproximadamente un 55 %. En algunas realizaciones, la sensibilidad es de al menos aproximadamente un 60 %. En algunas realizaciones, la sensibilidad es de al menos aproximadamente un 65 %. En algunas realizaciones, la sensibilidad es de al menos aproximadamente un 70 %. En algunas realizaciones, la sensibilidad es de al menos aproximadamente un 75 %. En algunas realizaciones, la sensibilidad es de al menos aproximadamente un 80 %. En algunas realizaciones, la sensibilidad es de al menos aproximadamente un 85 %. En algunas realizaciones, la sensibilidad es de al menos aproximadamente un 90 %. En algunas realizaciones, la sensibilidad es de al menos aproximadamente un 95 %.

En algunos casos, los clasificadores o biomarcadores descritos en el presente documento son clínicamente significativos. En algunos casos, la significación clínica de los clasificadores o de los biomarcadores se determina mediante el valor de AUC. Para que sea clínicamente significativo, el valor de AUC es al menos aproximadamente 0,5, 0,55, 0,6, 0,65, 0,7, 0,75, 0,8, 0,85, 0,9 o 0,95. La significación clínica de los clasificadores o biomarcadores se puede determinar mediante el porcentaje de precisión. Por ejemplo, se determina que un clasificador o un biomarcador es clínicamente significativo si la precisión del clasificador o del biomarcador es al menos aproximadamente un 50 %, un 55 %, un 60 %, un 65 %, un 70 %, un 72 %, un 75 %, un 77 %, un 80 %, un 82 %, un 84 %, un 86 %, un 88 %, un 90 %, un 92 %, un 94 %, un 96 % o un 98 %.

En otros casos, la significación clínica de los clasificadores o de los biomarcadores se determina por el valor de la diferencia del factor de cambio de la mediana (MDF). Para que sea clínicamente significativo, el valor de MDF es al menos aproximadamente 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,9 o 2,0. En algunos casos, el valor de MDF es mayor o igual a 1,1. En otros casos, el valor de MDF es mayor o igual a 1,2. Como alternativa o adicionalmente, la significación clínica de los clasificadores o de los biomarcadores se determina por el valor p de la prueba t . En algunos casos, para que sea clínicamente significativo, el valor p de la prueba t es menor que aproximadamente 0,070, 0,065,

0,060, 0,055, 0,050, 0,045, 0,040, 0,035, 0,030, 0,025, 0,020, 0,015, 0,010, 0,005, 0,004 o 0,003. El valor p de la prueba t puede ser inferior a aproximadamente 0,050. Como alternativa, el valor p de la prueba t es inferior a aproximadamente 0,010.

5 En algunos casos, la significación clínica de los clasificadores o biomarcadores se determina por el resultado clínico. Por ejemplo, diferentes resultados clínicos pueden tener diferentes umbrales mínimos o máximos para los valores de AUC, valores de MDF, valores p de prueba t y valores de precisión que determinarían si el clasificador o el biomarcador es clínicamente significativo. En otro ejemplo, un clasificador o un biomarcador se considera clínicamente significativo si el valor p de la prueba t resultó inferior a aproximadamente 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01, 0,005,
10 0,004, 0,003, 0,002 o 0,001. En algunos casos, el valor p puede basarse en cualquiera de las siguientes comparaciones: BCR frente a sin BCR, CP frente a sin CP, PCSM frente a sin PCSM. Por ejemplo, se determina que un clasificador o un biomarcador es clínicamente significativo si el valor p de las diferencias entre las curvas de KM para BCR frente a sin BCR, CP frente a sin CP, PCSM frente a sin PCSM, es inferior a aproximadamente 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002 o 0,001.

15 En algunos casos, el rendimiento del clasificador o del biomarcador se basa en la razón de posibilidades. Se puede considerar que un clasificador o un biomarcador tiene un buen rendimiento si la razón de posibilidades es al menos aproximadamente 1,30, 1,31, 1,32, 1,33, 1,34, 1,35, 1,36, 1,37, 1,38, 1,39, 1,40, 1,41, 1,42, 1,43, 1,44, 1,45, 1,46, 1,47, 1,48, 1,49, 1,50, 1,52, 1,55, 1,57, 1,60, 1,62, 1,65, 1,67, 1,70 o más. En algunos casos, la razón de posibilidades de un clasificador o un biomarcador es al menos aproximadamente 1,33.
20

La significación clínica de los clasificadores y/o los biomarcadores puede basarse en el valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades (uvaORPval). El valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades (uvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-0,4. El valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades (uvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-0,3. El valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades (uvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-0,2. El valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades (uvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser menor o igual a 0,25, 0,22, 0,21, 0,20, 0,19, 0,18, 0,17, 0,16, 0,15, 0,14, 0,13, 0,12, 0,11. El valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades (uvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser menor o igual a 0,10, 0,09, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01. El valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades (uvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser menor o igual a 0,009, 0,008, 0,007, 0,006, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001.
25
30

La significación clínica de los clasificadores y/o los biomarcadores puede basarse en el valor p del análisis multivariante de la razón de posibilidades (mvaORPval). El valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades (mvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-1. El valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades (mvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-0,9. El valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades (mvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-0,8. El valor p del análisis multivariante de la razón de posibilidades (mvaORPval) del clasificador y/o biomarcador puede ser menor o igual a 0,90, 0,88, 0,86, 0,84, 0,82, 0,80. El valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades (mvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser menor o igual a 0,78, 0,76, 0,74, 0,72, 0,70, 0,68, 0,66, 0,64, 0,62, 0,60, 0,58, 0,56, 0,54, 0,52, 0,50. El valor p del análisis multivariante de la razón de posibilidades (mvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser menor o igual a 0,48, 0,46, 0,44, 0,42, 0,40, 0,38, 0,36, 0,34, 0,32, 0,30, 0,28, 0,26, 0,25, 0,22, 0,21, 0,20, 0,19, 0,18, 0,17, 0,16, 0,15, 0,14, 0,13, 0,12, 0,11. El valor p del análisis multivariante de la razón de posibilidades (mvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser menor o igual a 0,10, 0,09, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01. El valor p del análisis multivariante de la razón de posibilidades (mvaORPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser menor o igual a 0,009, 0,008, 0,007, 0,006, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001.
35
40
45

La significación clínica de los clasificadores y/o los biomarcadores puede basarse en el valor p de Kaplan Meier (valor p de KM). El valor p de Kaplan Meier (valor p de KM) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-0,8. El valor p de Kaplan Meier (valor p de KM) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-0,7. El valor p de Kaplan Meier (valor p de KM) del clasificador y/o biomarcador puede ser inferior o igual a 0,80, 0,78, 0,76, 0,74, 0,72, 0,70, 0,68, 0,66, 0,64, 0,62, 0,60, 0,58, 0,56, 0,54, 0,52, 0,50. El valor p de Kaplan Meier (valor p de KM) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,48, 0,46, 0,44, 0,42, 0,40, 0,38, 0,36, 0,34, 0,32, 0,30, 0,28, 0,26, 0,25, 0,22, 0,21, 0,20, 0,19, 0,18, 0,17, 0,16, 0,15, 0,14, 0,13, 0,12, 0,11. El valor p de Kaplan Meier (valor p de KM) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,10, 0,09, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01. El valor p de Kaplan Meier (valor p de KM) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,009, 0,008, 0,007, 0,006, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001.
50
55
60

La significación clínica de los clasificadores y/o los biomarcadores puede basarse en el valor AUC de supervivencia (survAUC). El valor AUC de supervivencia (survAUC) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-1. El valor AUC de supervivencia (survAUC) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-0,9. El valor AUC de supervivencia (survAUC) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 1, 0,98, 0,96, 0,94, 0,92, 0,90, 0,88, 0,86, 0,84, 0,82, 0,80. El valor AUC de supervivencia (survAUC) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,80, 0,78, 0,76, 0,74, 0,72, 0,70, 0,68, 0,66, 0,64, 0,62,
65

0,60, 0,58, 0,56, 0,54, 0,52, 0,50. El valor AUC de supervivencia (survAUC) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,48, 0,46, 0,44, 0,42, 0,40, 0,38, 0,36, 0,34, 0,32, 0,30, 0,28, 0,26, 0,25, 0,22, 0,21, 0,20, 0,19, 0,18, 0,17, 0,16, 0,15, 0,14, 0,13, 0,12, 0,11. El valor AUC de supervivencia (survAUC) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,10, 0,09, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01. El valor AUC de supervivencia (survAUC) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,009, 0,008, 0,007, 0,006, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001.

La significación clínica de los clasificadores y/o los biomarcadores puede basarse en el valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (uvaHRPval). El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (uvaHRPval) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-0,4. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (uvaHRPval) del clasificador y/o del biomarcador puede estar aproximadamente 0-0,3. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (uvaHRPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,40, 0,38, 0,36, 0,34, 0,32. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (uvaHRPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,30, 0,29, 0,28, 0,27, 0,26, 0,25, 0,24, 0,23, 0,22, 0,21, 0,20. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (uvaHRPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,19, 0,18, 0,17, 0,16, 0,15, 0,14, 0,13, 0,12, 0,11. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (uvaHRPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,10, 0,09, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (uvaHRPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,009, 0,008, 0,007, 0,006, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001.

La significación clínica de los clasificadores y/o los biomarcadores puede basarse en el valor p del análisis multivariante del índice de riesgos instantáneos (mvaHRPval)mva HRPval. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHRPval)mva HRPval del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-1. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHR-Pval)mva HRPval del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0-0,9. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHR-Pval)mva HRPval del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 1, 0,98, 0,96, 0,94, 0,92, 0,90, 0,88, 0,86, 0,84, 0,82, 0,80. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHR-Pval)mva HRPval del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,80, 0,78, 0,76, 0,74, 0,72, 0,70, 0,68, 0,66, 0,64, 0,62, 0,60, 0,58, 0,56, 0,54, 0,52, 0,50. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHR-Pval)mva HRPval del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,48, 0,46, 0,44, 0,42, 0,40, 0,38, 0,36, 0,34, 0,32, 0,30, 0,28, 0,26, 0,25, 0,22, 0,21, 0,20, 0,19, 0,18, 0,17, 0,16, 0,15, 0,14, 0,13, 0,12, 0,11. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHR-Pval)mva HRPval del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,10, 0,09, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01. El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHR-Pval)mva HRPval del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,009, 0,008, 0,007, 0,006, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001.

La significación clínica de los clasificadores y/o biomarcadores puede basarse en el valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHRPval). El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHR-Pval) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0 y aproximadamente 0,60. La importancia del clasificador y/o del biomarcador puede basarse en el valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHRPval). El valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHR-Pval) del clasificador y/o del biomarcador puede estar entre aproximadamente 0 y aproximadamente 0,50. La importancia del clasificador y/o del biomarcador puede basarse en el valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHRPval). El valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHRPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,50, 0,47, 0,45, 0,43, 0,40, 0,38, 0,35, 0,33, 0,30, 0,28, 0,25, 0,22, 0,20, 0,18, 0,16, 0,15, 0,14, 0,13, 0,12, 0,11, 0,10. El valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHRPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,10, 0,09, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01. El valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos (mvaHRPval) del clasificador y/o del biomarcador puede ser inferior o igual a 0,01, 0,009, 0,008, 0,007, 0,006, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001.

Los clasificadores y/o los biomarcadores descritos en el presente documento pueden superar a los clasificadores o variables clínicas actuales al proporcionar un análisis clínicamente relevante de una muestra de un sujeto. En algunos casos, los clasificadores o los biomarcadores pueden predecir con mayor precisión un resultado o estado clínico en comparación con clasificadores o variables clínicas actuales. El rendimiento de un clasificador o un biomarcador divulgado en el presente documento puede basarse en el valor de AUC, razón de posibilidades, IC 95 %, diferencia en el intervalo del IC del 95 %, valor p o cualquier combinación de los mismos.

El rendimiento de los clasificadores y/o los biomarcadores divulgados en el presente documento puede determinarse mediante valores de AUC y puede determinarse una mejora en el rendimiento mediante la diferencia en el valor de AUC del clasificador o del biomarcador divulgado en el presente documento y el valor de AUC de clasificadores o variables clínicas actuales. En algunos casos, un clasificador y/o un biomarcador divulgado(s) en el presente documento supera(n) a los clasificadores o variables clínicas actuales cuando el valor de AUC del clasificador y/o del biomarcador divulgado en el presente documento es mayor que el valor de AUC de los clasificadores o variables clínicas actuales en al menos aproximadamente 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,10, 0,11, 0,12, 0,13, 0,14, 0,15, 0,16,

0,17, 0,18, 0,19, 0,20, 0,022, 0,25, 0,27, 0,30, 0,32, 0,35, 0,37, 0,40, 0,42, 0,45, 0,47, 0,50 o más. En algunos casos, el valor de AUC del clasificador y/o del biomarcador divulgado en el presente documento es mayor que el valor de AUC de los clasificadores o variables clínicas actuales en al menos aproximadamente 0,10. En algunos casos, el valor de AUC del clasificador y/o del biomarcador divulgado en el presente documento es mayor que el valor de AUC de los clasificadores o variables clínicas actuales en al menos aproximadamente 0,13. En algunos casos, el valor de AUC del clasificador y/o del biomarcador divulgado en el presente documento es mayor que el valor de AUC de los clasificadores o variables clínicas actuales en al menos aproximadamente 0,18.

El rendimiento de los clasificadores y/o biomarcadores divulgados en el presente documento puede determinarse mediante los índices de probabilidad y una mejora en el rendimiento puede determinarse comparando el coeficiente de probabilidad del clasificador o del biomarcador descrito en el presente documento y el índice de probabilidad de clasificadores o variables clínicas actuales. La comparación del rendimiento de dos o más clasificadores, biomarcadores y/o variables clínicas puede basarse generalmente en la comparación del valor absoluto de (1-razón de posibilidades) de un primer clasificador, biomarcador o variable clínica respecto al valor absoluto de (1-razón de posibilidades) de un segundo clasificador, biomarcador o variable clínica. Generalmente, el clasificador, biomarcador o variable clínica con el mayor valor absoluto de (1-razón de posibilidades) puede considerarse que tiene un mejor rendimiento en comparación con el clasificador, biomarcador o variable clínica con un valor absoluto menor de (1-razón de posibilidades).

En algunos casos, el rendimiento de un clasificador, biomarcador o variable clínica se basa en la comparación de la razón de posibilidades y el intervalo de confianza (IC) del 95 %. Por ejemplo, un primer clasificador, biomarcador o variable clínica pueden tener un valor absoluto mayor de (1-razón de posibilidades) que un segundo clasificador, biomarcador o variable clínica, sin embargo, el IC del 95 % del primer clasificador, biomarcador o variable clínica puede coincidir con 1 (por ejemplo, poca precisión), mientras que el IC del 95 % del segundo clasificador, biomarcador o variable clínica no coincide con 1. En este caso, el segundo clasificador, biomarcador o variable clínica se considera que supera al primer clasificador, biomarcador o variable clínica debido a que la precisión del primer clasificador, biomarcador o variable clínica es menor que la precisión del segundo clasificador, biomarcador o variable clínica. En otro ejemplo, un primer clasificador, biomarcador o variable clínica puede superar a un segundo clasificador, biomarcador o variable clínica basándose en una comparación de la razón de posibilidades; sin embargo, la diferencia en el IC del 95 % del primer clasificador, biomarcador o variable clínica es al menos aproximadamente 2 veces mayor que el IC del 95 % del segundo clasificador, biomarcador o variable clínica. En este caso, el segundo clasificador, biomarcador o variable clínica se considera que supera al primer clasificador.

En algunos casos, un clasificador o biomarcador divulgado en el presente documento es más preciso que un clasificador o una variable clínica actual. El clasificador o el biomarcador divulgado en el presente documento es más preciso que un clasificador o una variable clínica actual si el intervalo del 95 % del IC del clasificador o del biomarcador divulgado en el presente documento no abarca ni coincide con 1 y el intervalo del 95 % del IC del clasificador o una variable clínica actual abarca o coincide con 1.

En algunos casos, un clasificador o biomarcador divulgado en el presente documento es más preciso que un clasificador o una variable clínica actual. El clasificador o el biomarcador divulgado en el presente documento es más preciso que un clasificador o una variable clínica actual cuando la diferencia en el intervalo del 95 % del IC del clasificador o del biomarcador divulgado en el presente documento es de aproximadamente 0,70, 0,60, 0,50, 0,40, 0,30, 0,20, 0,15, 0,14, 0,13, 0,12, 0,10, 0,09, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02 veces menos que la diferencia en el intervalo del 95 % del IC del clasificador o de la variable clínica actual. El clasificador o el biomarcador divulgado en el presente documento es más preciso que un clasificador o una variable clínica actual cuando la diferencia en el intervalo del 95 % del IC del clasificador o del biomarcador divulgado en el presente documento es entre aproximadamente 0,20 y aproximadamente 0,04 veces menor que la diferencia en el intervalo del 95 % del IC del clasificador o de la variable clínica actual.

En algunos casos, los métodos divulgados en el presente documento pueden comprender el uso de un modelo de clasificador genómico (GC, por sus siglas en inglés). Un método general para desarrollar un modelo de GC puede comprender (a) proporcionar una muestra de un sujeto que padece cáncer; (b) determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas; (c) generar un modelo utilizando un algoritmo de aprendizaje automático. En algunos casos, el algoritmo de aprendizaje automático comprende Random Forest. En otro ejemplo, se puede desarrollar un modelo de GC mediante el uso de un algoritmo de aprendizaje automático para analizar y clasificar las características genómicas. El análisis de las características genómicas puede comprender la clasificación de una o más características genómicas. El método puede comprender además validar el clasificador y/o refinar el clasificador usando un algoritmo de aprendizaje automático.

Los métodos descritos en el presente documento pueden comprender la generación de uno o más clasificadores clínicos (CC). El clasificador clínico puede desarrollarse utilizando una o más variables clinicopatológicas. Las variables clinicopatológicas pueden seleccionarse del grupo que comprende el estado de invasión de los ganglios linfáticos (LNI, por sus siglas en inglés); estado de los márgenes quirúrgicos (SMS, por sus siglas en inglés); invasión de vesículas seminales (SVI, por sus siglas en inglés); extensión extracapsular (ECE, por sus siglas en inglés); puntuación de Gleason patológica; y el PSA preoperatorio. El método puede comprender el uso de una o más de las

variables clinicopatológicas como variables binarias. Como alternativa o adicionalmente, dichas una o más variables clinicopatológicas se pueden convertir a un valor logarítmico (por ejemplo, log10). El método puede comprender además recopilar las variables en una regresión logística. En algunos casos, el CC se combina con el GC para producir un clasificador clínico genómico (GCC, por sus siglas en inglés).

En algunos casos, los métodos descritos en el presente documento pueden comprender el uso de un modelo de clasificador genómico-clínico (GCC). Un método general para desarrollar un modelo de GCC puede comprender (a) proporcionar una muestra de un sujeto que padece cáncer de próstata; (b) determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas; (c) generar un modelo utilizando un algoritmo de aprendizaje automático. En algunos casos, el algoritmo de aprendizaje automático comprende Random Forest.

Cáncer

Los sistemas, composiciones y métodos descritos en el presente documento pueden usarse para el pronóstico de cáncer de próstata. Generalmente, un cáncer se caracteriza por el crecimiento descontrolado de células anormales en cualquier parte del cuerpo. Las células anormales pueden denominarse células cancerosas, células malignas o células tumorales. Muchos cánceres y las células anormales que componen el tejido canceroso se identifican además por el nombre del tejido del que se originaron las células anormales (por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de páncreas, cáncer de tiroides). El cáncer no se limita a los seres humanos; los animales y otros organismos vivos pueden desarrollar cáncer.

En algunos casos, el cáncer puede ser maligno. Como alternativa, el cáncer puede ser benigno. El cáncer puede ser un cáncer recurrente y/o refractario. La mayoría de cánceres se pueden clasificar como carcinoma, sarcoma, leucemia, linfoma, mieloma o un cáncer del sistema nervioso central.

Estadificación del cáncer

El diagnóstico, pronóstico o monitorización de un estado o resultado de un cáncer puede comprender determinar el estadio del cáncer. Generalmente, el estadio de un cáncer es una descripción (generalmente con números I a IV, teniendo más progresión con el IV) de la medida en que el cáncer se ha propagado. El estadio a menudo tiene en cuenta el tamaño de un tumor, cuán profundamente ha penetrado, si ha invadido órganos adyacentes, a cuántos ganglios linfáticos ha metastatizado (si hay) y si se ha propagado a órganos distantes. La estadificación del cáncer se puede utilizar como factor predictivo de supervivencia y el tratamiento del cáncer se puede determinar mediante la estadificación. La determinación del estadio del cáncer puede ocurrir antes, durante o después del tratamiento. El estadio del cáncer también se puede determinar en el momento del diagnóstico.

La estadificación del cáncer se puede dividir en un estadio clínico y un estadio patológico. La estadificación del cáncer puede comprender la clasificación de TNM. Generalmente, la clasificación de TNM de tumores malignos (TNM) es un sistema de estadificación del cáncer que describe la extensión del cáncer en el cuerpo de un paciente. T puede describir el tamaño del tumor y si ha invadido el tejido cercano, N puede describir los ganglios linfáticos regionales que están afectados y M puede describir metástasis a distancia (propagación del cáncer de una parte del cuerpo a otra). En el sistema de TNM (del inglés, tumor, ganglio, metástasis), el estadio clínico y el estadio patológico se indican con una "c" o "p" minúscula antes del estadio (por ejemplo, cT3N1M0 o pT2N0).

Con frecuencia, el estadio clínico y el estadio patológico pueden diferir. El estadio clínico puede basarse en toda la información disponible obtenida antes de una cirugía para extirpar el tumor. Por tanto, puede incluir información sobre el tumor obtenida por examen físico, exploración radiológica y endoscopia. El estadio patológico puede añadir información adicional obtenida mediante el examen microscópico del tumor por parte de un patólogo. La estadificación patológica puede permitir el examen directo del tumor y su diseminación, en contraste con la estadificación clínica que puede estar limitada por el hecho de que la información se obtiene al hacer observaciones indirectas en un tumor que todavía está en el cuerpo. El sistema de estadificación TNM se puede utilizar para la mayoría de las formas de cáncer.

Como alternativa, la estadificación puede comprender la estadificación de Ann Arbor. Generalmente, la estadificación de Ann Arbor es el sistema de estadificación para los linfomas, tanto en el linfoma de Hodgkin (anteriormente llamado enfermedad de Hodgkin) como en el linfoma no Hodgkin (abreviado como LNH). El estadio puede depender tanto del lugar donde se encuentre el tejido maligno (localizado con biopsia, tomografía computarizada y cada vez más tomografía por emisión de positrones) como de los síntomas sistémicos debidos al linfoma ("síntomas B": sudores nocturnos, pérdida de peso > 10 % o fiebre). El estadio principal puede estar determinado por la localización del tumor. El estadio I puede indicar que el cáncer se sitúa en una sola región, generalmente un ganglio linfático y el área circundante. El estadio I a menudo puede no tener síntomas externos. El estadio II puede indicar que el cáncer se sitúa en dos regiones separadas, un ganglio linfático u órgano afectado y una segunda área afectada y que ambas áreas afectadas están confinadas a un lado del diafragma, es decir, ambos están por encima del diafragma o ambos están por debajo del diafragma. El estadio III a menudo indica que el cáncer se ha propagado a ambos lados del diafragma, incluyendo un órgano o una área cerca de los ganglios linfáticos o del bazo. El estadio IV puede indicar afectación difusa o diseminada de uno o más órganos extralinfáticos, incluyendo cualquier afectación del hígado, médula ósea o afectación nodular de los pulmones.

También se pueden añadir modificadores a algunos estadios. Por ejemplo, las letras A, B, E, X o S se pueden añadir a algunos estadios. Generalmente, A o B pueden indicar la ausencia de síntomas constitucionales (tipo B) que se indica añadiendo una "A" al estadio; la presencia se indica añadiendo una "B" al estadio. E puede usarse si la enfermedad es "extraganglionar" (no en los ganglios linfáticos) o si ha diseminado desde los ganglios linfáticos al tejido adyacente. X se usa a menudo si el depósito más grande mide > 10 cm ("enfermedad voluminosa") o si el mediastino es más ancho que 1/3 del tórax en una radiografía de tórax. S puede usarse si la enfermedad se ha propagado al bazo.

La naturaleza de la estadificación puede expresarse con CS o PS. CS puede indicar el estadio clínico obtenido por exámenes y pruebas del médico. PS puede denotar el estadio patológico obtenido mediante laparotomía exploratoria (cirugía realizada a través de una incisión abdominal) con esplenectomía (extirpación quirúrgica del bazo).

Grado de cáncer

En patología, la gradación es una medida de la apariencia de las células en tumores y otras neoplasias. Algunos sistemas de gradación de patologías se aplican solo a neoplasmas malignos (cáncer); otros se aplican también a las neoplasias benignas. La gradación neoplásica es una medida de la anaplasia celular (reversión de la diferenciación) en el tumor muestreado y se basa en el parecido del tumor con el tejido de origen.[1] La gradación en el cáncer se distingue de la estadificación, que es una medida de la medida en que el cáncer se ha propagado.

Los sistemas de gradación de patología clasifican la anomalía del aspecto microscópico de las células y las desviaciones en su tasa de crecimiento con el objetivo de predecir la evolución a nivel tisular (véanse también los 4 cambios histológicos principales en la displasia).

El cáncer es un trastorno de la alteración del ciclo de vida celular que conduce (no trivialmente) a tasas excesivas de proliferación celular, normalmente una vida útil celular más larga y una escasa diferenciación. La puntuación del grado (numérica: G1 hasta G4) aumenta con la falta de diferenciación celular (refleja cuánto difieren las células tumorales de las células del tejido normal del que se originaron) (véase 'Categorías' a continuación). Los tumores se tienen una gradación en cuatro niveles, escalas de tres o de dos niveles, dependiendo de la institución y del tipo de tumor.

La puntuación del grado histológico del tumor junto con la estadificación metastásica (propagación del cáncer a nivel de todo el cuerpo) se utilizan para evaluar a cada paciente del cáncer específico, desarrollar su estrategia de tratamiento individual y predecir su pronóstico. El sistema de clasificación más utilizado es el que se indica en las directrices de la American Joint Commission sobre el Cáncer. Según sus estándares, las siguientes son las categorías de gradación: GX no se puede evaluar el grado; G1 bien diferenciado (bajo grado); G2 moderadamente diferenciado (grado intermedio); G3 pobremente diferenciado (alto grado) y G4 indiferenciado (alto grado).

El sistema de Gleason se usa para clasificar las células de adenocarcinoma en el cáncer de próstata. Este sistema utiliza una puntuación de gradación que varía de 2 a 10. Se otorga una puntuación de Gleason al cáncer de próstata basándose en su apariencia microscópica. Los cánceres con una puntuación de Gleason más alta son más agresivos y tienen un peor pronóstico. La puntuación de Gleason se basa en la suma de dos números: el primer número es el grado del patrón tumoral más común, el segundo número es el grado del segundo patrón más común. Si hay tres patrones, el primer número es el más común y el segundo es el de mayor grado. Los patrones de Gleason se asocian con las siguientes características: Patrón 1: la próstata cancerosa se parece mucho al tejido prostático normal. Las glándulas son pequeñas, bien formadas e íntimamente empaquetadas; Patrón 2: el tejido todavía tiene glándulas bien formadas, pero son más grandes y tienen más tejido entre ellas; Patrón 3: el tejido todavía tiene glándulas reconocibles, pero las células son más oscuras. A gran aumento, algunas de estas células han salido de las glándulas y están comenzando a invadir el tejido circundante; Patrón 4: el tejido tiene pocas glándulas reconocibles. Muchas células están invadiendo el tejido circundante; Patrón 5: el tejido no tiene glándulas reconocibles. A menudo, solo hay láminas de células en todo el tejido circundante. Un patólogo examina la muestra de la biopsia e intenta dar una puntuación a los dos patrones. Primero un denominado el grado primario, representa la mayoría del tumor (tiene que ser mayor al 50 % del patrón total observado). En segundo lugar (un grado secundario) se relaciona con la minoría del tumor (debe ser inferior al 50 %, pero al menos el 5 %, del patrón del cáncer total observado). A continuación, estos grados se suman para obtener la puntuación de Gleason final.

Realizaciones ilustrativas

En el presente documento, en algunas realizaciones, se divulga un método para pronosticar cáncer de próstata en un sujeto, que comprende: (a) determinar un nivel de expresión de una pluralidad de dianas en una muestra del sujeto, en donde más de una diana de la pluralidad de dianas se selecciona del grupo que consiste en dianas identificados en las Tablas 2, 4, 11 o 55; y (b) pronosticar el cáncer basándose en los niveles de expresión de la pluralidad de dianas. En algunas realizaciones, el método comprende además determinar un nivel de expresión de una diana codificante. En algunos casos, la diana codificante se selecciona del grupo que consiste en dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, la diana codificante es un transcrito codificante de exón. En algunas realizaciones, el transcrito que codifica el exón es una secuencia exónica. En algunas realizaciones, el método

- comprende además determinar un nivel de expresión de una diana no codificante. En algunos casos, la diana no codificante se selecciona del grupo que consiste en dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la diana no codificante es un transcrito no codificante. En otros casos, la diana no codificante es una secuencia intrónica. En otros casos, la diana no codificante es una secuencia intergénica. En algunos casos, la diana no codificante es una secuencia UTR. En otros casos, la diana no codificante es un transcrito de ARN no codificante. En algunas realizaciones, la diana comprende una secuencia de ácido nucleico. En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico es una secuencia de ADN. En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico es una secuencia de ARN. En otros casos, la diana comprende una secuencia polipeptídica. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 2 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 5 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 10 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 15 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 20 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 25 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 30 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 35 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 40 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la diana se selecciona de la Tabla 2. En otros casos, la diana se selecciona de la Tabla 4. En algunas realizaciones, la diana se selecciona de la Tabla 11. En algunas realizaciones, determinar el nivel de expresión comprende detectar y/o cuantificar una secuencia de nucleótidos de la pluralidad de dianas. Como alternativa, determinar el nivel de expresión comprende detectar y/o cuantificar una secuencia polipeptídica de la pluralidad de dianas. En algunas realizaciones, determinar el nivel de expresión comprende detectar y/o cuantificar los niveles de ADN de la pluralidad de dianas. En algunas realizaciones, determinar el nivel de expresión comprende detectar y/o cuantificar los niveles de ARN o ARNm de la pluralidad de dianas. En algunas realizaciones, el pronóstico comprende determinar la malignidad del cáncer.
- Los métodos utilizan los conjuntos de sondas, sondas y cebadores descritos en el presente documento para proporcionar distintivos o perfiles de expresión de una muestra de prueba derivada de un sujeto que tiene o se sospecha que tiene cáncer. En algunas realizaciones, tales métodos implican poner en contacto una muestra de prueba con un conjunto de sondas que comprende una pluralidad de sondas en condiciones que permitan la hibridación de la(s) sonda(s) con ácido(s) nucleico(s) diana cualquiera presente(s) en la muestra de prueba y a continuación, detectar cualquier dúplex sonda:diana formado como una indicación de la presencia del ácido nucleico diana en la muestra. A continuación, los patrones de expresión así determinados se comparan con uno o más perfiles o distintivos de referencia. Opcionalmente, se puede normalizar el patrón de expresión. Los métodos utilizan los conjuntos de sondas, sondas y cebadores descritos en el presente documento para proporcionar distintivos o perfiles de expresión de una muestra de prueba derivada de un sujeto para clasificar el cáncer como recurrente o no recurrente.
- En algunas realizaciones, tales métodos implican la amplificación específica de secuencias diana de ácido nucleico presente en la muestra de prueba utilizando métodos conocidos en la técnica para generar un perfil de expresión o distintivo que a continuación, se compara con un perfil o distintivo de referencia.
- En algunas realizaciones, la invención proporciona además el pronóstico final del paciente.
- En una realización, los métodos generan perfiles de expresión o distintivos que detallan la expresión de las secuencias diana que tienen una expresión relativa alterada con diferentes resultados de cáncer.
- En algunas realizaciones, los métodos detectan combinaciones de niveles de expresión de secuencias que presentan una correlación positiva y negativa con un cuadro clínico. En una realización, los métodos detectan un distintivo de expresión mínima.
- Los perfiles de expresión génica de cada una de las secuencias diana que comprenden la cartera se pueden fijar en un medio tal como un medio legible por ordenador. Esto puede tomar varias formas. Por ejemplo, se puede establecer una tabla en la que se introduce la gama de señales (por ejemplo, mediciones de intensidad) indicativas de enfermedad o el resultado. Los datos reales del paciente se pueden comparar con los valores de la tabla para determinar el diagnóstico o pronóstico de las muestras del paciente. En una realización más sofisticada, los patrones de las señales de expresión (por ejemplo, la intensidad fluorescente) se registran digital o gráficamente.
- También se divulgan en el presente documento métodos para caracterizar una población de pacientes. Generalmente, el método comprende: (a) proporcionar una muestra de un sujeto; (b) determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas en la muestra; y (c) caracterizar el sujeto basándose en el nivel de expresión de la pluralidad de dianas. En algunas realizaciones, el método comprende además determinar un nivel de expresión de una diana codificante. En algunos casos, la diana codificante se selecciona del grupo que consiste en las dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, la diana codificante es un transcrito codificante de exones. En algunas realizaciones, el transcrito codificante de exones es una secuencia exónica. En algunas realizaciones, el

método comprende además determinar un nivel de expresión de una diana no codificante. En algunos casos, la diana no codificante se selecciona del grupo que consiste en las dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la diana no codificante es un transcripto no codificante. En otros casos, la diana no codificante es una secuencia intrónica. En otros casos, la diana no codificante es una secuencia intergénica. En algunos casos, la diana no codificante es una secuencia de UTR. En otros casos, la diana no codificante es un transcripto de ARN no codificante. En algunas realizaciones, la diana comprende una secuencia de ácido nucleico. En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico es una secuencia de ADN. En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico es una secuencia de ARN. En otros casos, la diana comprende una secuencia de polipéptidos. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 2 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 5 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 10 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 15 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 20 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 25 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 30 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 35 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 40 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la diana se selecciona de la Tabla 2. En otros casos, la diana se selecciona de la Tabla 4. En algunas realizaciones, la diana se selecciona de la Tabla 11. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas se selecciona de las SEQ ID NO: 1-43. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas se selecciona de las SEQ ID NO: 1-22.

También se divulgan en el presente documento métodos para seleccionar un sujeto que padece cáncer de próstata para su inscripción en un ensayo clínico. Generalmente, el método comprende: (a) proporcionar una muestra de un sujeto; (b) determinar el nivel de expresión para una pluralidad de dianas en la muestra; y (c) caracterizar el sujeto basándose en el nivel de expresión de la pluralidad de dianas. En algunas realizaciones, el método comprende además determinar un nivel de expresión de una diana codificante. En algunos casos, la diana codificante se selecciona del grupo que consiste en las dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, la diana codificante es un transcripto codificante de exones. En algunas realizaciones, el transcripto codificante de exones es una secuencia exónica. En algunas realizaciones, el método comprende además determinar un nivel de expresión de una diana no codificante. En algunos casos, la diana no codificante se selecciona del grupo que consiste en las dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la diana no codificante es un transcripto no codificante. En otros casos, la diana no codificante es una secuencia intrónica. En otros casos, la diana no codificante es una secuencia intergénica. En algunos casos, la diana no codificante es una secuencia de UTR. En otros casos, la diana no codificante es un transcripto de ARN no codificante. En algunas realizaciones, la diana comprende una secuencia de ácido nucleico. En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico es una secuencia de ADN. En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico es una secuencia de ARN. En otros casos, la diana comprende una secuencia de polipéptidos. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 2 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 5 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 10 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 15 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 20 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 25 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 30 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 35 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la pluralidad de dianas comprende 40 o más dianas seleccionadas del grupo de dianas identificadas en las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunos casos, la diana se selecciona de la Tabla 2. En otros casos, la diana se selecciona de la Tabla 4. En algunas realizaciones, la diana se selecciona de la Tabla 11. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 dianas seleccionadas de las Tablas 2, 4, 11 o 55. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas se selecciona de las SEQ ID NO: 1-43. En algunas realizaciones, la pluralidad de dianas se selecciona de las SEQ ID NO: 1-22. En algunas realizaciones, determinar el nivel de expresión comprende detectar y/o cuantificar una secuencia de nucleótidos de la pluralidad de dianas.

Los perfiles de expresión de las muestras se pueden comparar con una cartera de control. Los perfiles de expresión se pueden utilizar para diagnosticar, predecir o controlar un estado o un resultado de un cáncer. Por ejemplo, diagnosticar, predecir o controlar un estado o un resultado de un cáncer puede comprender diagnosticar o detectar un cáncer, una metástasis del cáncer o un estado de un cáncer. En otros casos, diagnosticar, predecir o controlar un estado o resultado de un cáncer puede comprender predecir el riesgo de recurrencia del cáncer. Como alternativa,

diagnosticar, predecir o controlar un estado o un resultado de un cáncer puede comprender predecir la mortalidad o la morbilidad.

Ejemplos

Ejemplo 1. Estudios de validación en sujetos con cáncer de próstata

Diseño del estudio

Este estudio utilizó un estudio de casos y controles descrito anteriormente para el descubrimiento de biomarcadores y unos casos en una cohorte para una validación independiente. En la (Figura 1) se encuentra disponible un diagrama de flujo STROBE que proporciona una descripción general del estudio de casos-controles.

El estudio de investigación fue un caso-control anidado descrito en detalle en Nakagawa *et al.* 2008. Se seleccionaron bloques archivados de tumores fijados en formalina y embebidos en parafina (FFPE) de 621 pacientes que se habían sometido a una prostatectomía radical (PR) en el Comprehensive Cancer Centre de Mayo Clinic entre los años 1987-2001, lo que proporcionó una mediana de 18,16 años de seguimiento. Los pacientes se dividieron aleatoriamente en conjuntos de entrenamiento y de prueba; el conjunto de entrenamiento se usó para el descubrimiento de biomarcadores y el desarrollo de clasificadores y el conjunto de prueba se usó para medir el rendimiento y con la selección de modelos.

Los pacientes se clasificaron retrospectivamente en uno de tres resultados: NED: sin indicio de enfermedad para aquellos pacientes sin signos bioquímicos u otros signos clínicos de progresión de la enfermedad (seguimiento de al menos 10 años); PSA: recurrencia bioquímica del antígeno prostático específico para los pacientes con dos aumentos sucesivos en las mediciones de PSA por encima de un punto de corte establecido de $> 0,2$ ng/ (con la medición posterior de $0,05$ ng/ml por encima de la primera medición) dentro de los 5 años posteriores a la PR y sin metástasis detectables hasta 10 años después de la PR; METS: para aquellos pacientes que experimentan BCR dentro de los 5 años posteriores a la PR y que desarrollaron metástasis (gammagrafía ósea o por tomografía computarizada) dentro de los 5 años posteriores a la BCR. La selección de pacientes para el diseño anidado de casos y controles se describe en Nakagawa.

Como promedio, los pacientes con METS se diagnosticaron dentro de los 3,22 años posteriores a BCR y 5,79 años después de la PR, lo que implica que este grupo METS experimentó un inicio rápido de la enfermedad metastásica. Algunos pacientes con PSA experimentan enfermedad metastásica ($n = 18$ o el 9,9 % de todos los pacientes con PSA en el estudio de investigación), sin embargo, estos pacientes tienen el evento 10 años después de la PR y por tanto, están fuera de la definición de METS. Debido a la condición de que tanto los grupos PSA como METS tenían que experimentar un evento BCR dentro de los 5 años de PR, no hay diferencia estadísticamente significativa para el tiempo de BCR entre PSA (mediana: grupos de 1,70 años [RIQ:0,65-3,44]) y METS (mediana: 2,26 años [RIQ:0,78-3,94]). Los pacientes en este estudio no recibieron un régimen de tratamiento constante y pueden recibir un tratamiento intensivo con intervenciones adyuvantes en comparación con otras cohortes. Siempre que sea posible, los presentes inventores consideraron las intervenciones adyuvantes en el análisis para mitigar su impacto como factor desconcertante (véase el análisis estadístico).

Los presentes inventores realizaron un estudio que investigó las diferencias entre los grupos de resultados de NED, PSA y METS y encontraron que no había diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de NED y PSA, con la mayor diferencia en las variables genómicas y clinicopatológicas que se encuentran cuando se comparan los grupos METS frente a NED o PSA. Los presentes inventores tienen la evidencia para creer que los grupos NED y PSA pueden representar un tipo de cáncer de próstata menos agresivo y que estos pacientes probablemente no experimentarán una progresión metastásica en su vida, por el contrario, los pacientes con METS representan un inicio rápido de la enfermedad y un cáncer de próstata más agresivo. Para maximizar el descubrimiento de biomarcadores que identificaron impulsores oncogénicos de enfermedades agresivas, los presentes inventores combinaron los grupos NED y PSA en un grupo sin METS unificado para compararlos frente a los METS.

El estudio de investigación incluyó a 621 pacientes que se sometieron a PR en Mayo Clinic entre 1987 y 2001. Se excluyeron los pacientes que recibieron intervenciones neoadyuvantes. Después del control de calidad del chip (<http://www.affymetrix.com>), estuvieron disponibles 545 pacientes únicos (209 con METS después de PR y 336 con BCR solo o NED) para el estudio de investigación de biomarcadores (mediana de seguimiento, 18,2 años). Los pacientes del estudio se subdividieron además por sorteo aleatorio en subconjuntos de entrenamiento ($n = 359$) y de prueba ($n = 186$), equilibrando la distribución de variables clinicopatológicas (Tabla 1) como se ha descrito anteriormente.

Tabla 1. Características clínicas del conjunto de datos de investigación y de validación

Variable clínica	Valores	Investigación		Validación Independiente
		Entrenamiento	Pruebas	

		Sin METS	METS	SIN METS	METS	Sin METS	METS
N.º de pacientes	-	218	141	118	68	150	69
Estadio de tumor patológico	T2	105	40	56	18	71	14
	T314	101	67	48	37	62	40
	TxN+	12	34	14	13	17	15
PSA preoperatorio	< 10 ng/ml	124	66	58	34	86	33
	≥ 10 ≤ 20	53	31	22	11	39	20
	> 20 ng/ml	38	43	33	17	25	16
	ND	3	1	5	6	0	0
Puntuación de Gleason patológica	≤ 6	41	4	16	2	15	0
	7	125	49	70	27	82	29
	≥ 8	52	88	32	39	53	40
Características de la ruta	SM+	98	81	54	33	84	39
	ECE+	96	86	50	41	54	44
	SVI +	47	63	34	32	45	36
Recurrencia bioquímica (BCR)	Censurado estadísticam.	99	0	58	0	109	0
	Evento	119	141	60	68	41	69
Mortalidad específica de próstata (PCSM)	Censurado estadísticam.	216	47	117	33	150	41
	Evento	2	94	1	35	0	28
Radiación adyuvante	No	203	120	112	56	135	60
	Sí	15	21	6	12	15	9
ADT adyuvante	No	187	95	89	50	108	37
	Sí	31	46	29	18	42	32

Las características clínicas iniciales de estas muestras relacionadas con la recurrencia bioquímica (BCR, por sus siglas en inglés), METS (o recurrencia clínica (RC)), la mortalidad específica por cáncer de próstata (PCSM) y la supervivencia global se muestran en la Figura 2.

5

Los sujetos para la validación independiente se identificaron de una población de 1010 hombres inscritos por anticipado en el registro de tumores de Mayo Clinic que se sometieron a PR por adenocarcinoma prostático entre 2000 y 2006 y que tenían un riesgo alto de recurrencia de la enfermedad. El riesgo alto de recurrencia se definió mediante PSA preoperatorio > 20 ng/ml o mediante puntuación de Gleason patológica ≥ 8 o mediante invasión de vesícula seminal (SVI) o mediante GPSM (Gleason, PSA, vesícula seminal y estado de los márgenes) puntuación ≥ 10. Los datos se recopilaron mediante un diseño de casos en una cohorte durante el período de seguimiento (mediana, 8,06 años), 71 pacientes desarrollaron enfermedad metastásica (METS) como lo demuestran las gammagrafía óseas y/o las tomografías computarizadas positivas. Los datos se recogieron usando un diseño de casos en una cohorte, que implicó la selección de los 73 casos combinados con una muestra aleatoria de 202 pacientes (~20 %) de toda la cohorte. Después de la exclusión por falta de disponibilidad de tejido y de muestras que no pasaron el control de calidad de micromatrices, la cohorte de validación independiente consistió en 219 (69 casos) pacientes únicos.

10

15

Extracción de ARN e hibridación de micromatrices

20

Tras la revisión patológica de muestras de adenocarcinoma prostático primario FFPE de pacientes en las cohortes de investigación y de validación, el tumor se macrodisecionó del estroma circundante de 3-4 secciones de tejido de 10µm. Se extrajo el ARN total, se amplificó utilizando el kit Ovation FFPE (NuGEN, San Carlos, California) y se hibridó con Human Exon 1.0 ST GeneChips (Affymetrix, Santa Clara, California) que perfila las regiones codificantes y no codificantes del transcriptoma utilizando aproximadamente 1,4 millones de regiones de selección de sondas, en lo sucesivo denominadas características.

25

Para el estudio de investigación, el ARN total se preparó como se describe en el presente documento. Para el estudio de validación independiente, el ARN total se extrajo y se purificó usando un protocolo modificado para el kit de extracción de ácido nucleico RNeasy FFPE disponible comercialmente (Qiagen Inc., Valencia, California). Las concentraciones de ARN se determinaron utilizando un espectrofotómetro Nanodrop ND-1000 (Nanodrop Technologies, Rockland, Delaware). El ARN total purificado se sometió a amplificación del transcriptoma completo

30

utilizando el sistema FFPE WT-Ovation de acuerdo con las recomendaciones del fabricante con modificaciones menores (NuGen, San Carlos, California). Para el estudio de investigación se utilizó el kit WT-Ovation FFPE V2 junto con el Exon Module, si bien para la validación solo se utilizó el sistema FFPE WTA de Ovation®. Los productos amplificados se fragmentaron y marcaron con el Biotin Module de Encore™ (NuGen, San Carlos, California) y se hibridaron con Affymetrix Human Exon (HuEx) 1.0 ST GeneChips siguiendo las recomendaciones del fabricante (Affymetrix, Santa Clara, California). Solo 604 de un total de 621 pacientes tuvieron especímenes disponibles para la hibridación.

Procesamiento de micromatrices

Control de calidad de micromatrices

Los paquetes Power Tools de Affymetrix proporcionan un índice que caracteriza la calidad de cada microplaca, independientemente, denominado "pos_vs_neg_AUC". Este índice compara los valores de las señales de los conjuntos de sondas de control positivo y negativo definidos por el fabricante. Los valores para el AUC están en [0, 1], las matrices que estuvieron por debajo de 0,6 se eliminaron del análisis.

Solo 545 muestras únicas, del total de 604 con especímenes disponibles (se realizaron duplicados entre lotes e intralotes), eran de calidad suficiente para un análisis posterior; estuvieron disponibles 359 y 187 muestras de los conjuntos de entrenamiento y prueba, respectivamente. Los presentes inventores volvieron a evaluar el equilibrio variable entre los conjuntos de entrenamiento y de prueba y encontraron que no había una diferencia estadísticamente significativa para ninguna de las variables.

Normalización de micromatrices, filtrado de conjuntos de sondas y corrección de efectos por lotes

El resumen y la normalización del conjunto de sondas se realizaron mediante fRMA, que está disponible a través de Bioconductor. El algoritmo fRMA se refiere a RMA con la excepción de que intenta específicamente considerar el efecto por lotes durante el resumen del conjunto de sondas y es capaz de almacenar los parámetros del modelo en los llamados "vectores congelados". Los presentes inventores generaron un conjunto personalizado de vectores congelados al seleccionar aleatoriamente 15 matrices de cada uno de los 19 lotes en el estudio de investigación. Los vectores congelados se pueden aplicar a nuevos datos sin tener que volver a normalizar todo el conjunto de datos. Además, los presentes inventores filtraron las PSR no fiables eliminando las sondas de hibridación cruzada, así como los valores de expresión de las PSR de alta variabilidad en una línea celular de cáncer de próstata y los de menos de 4 sondas. Después de fRMA y la filtración, los datos se descompusieron en sus componentes principales y se utilizó un modelo de análisis de varianza para determinar hasta qué punto permanece presente un efecto de lotes en los primeros 10 componentes principales. Los presentes inventores eligieron eliminar los dos primeros componentes principales, ya que estaban altamente correlacionados con la fecha de procesamiento del lote.

Análisis de ARN no codificante

La información de secuencia de cada sonda en una PSR puede alinearse y anotarse frente al genoma de referencia humano mediante xmapcore (Yates, *et al.*, X:Map: Annotation and visualization of genome structure for Affymetrix exon array analysis, Nucleic Acids Res. (2008), Epub.). Usando datos de anotación de la versión hg19/GRCh37 del genoma humano (versión 62 de la anotación de Ensembl), los presentes inventores clasificaron las PSR en codificantes, no codificantes (UTR) y no codificantes (intronic) según lo definido por xmapcore.

Las PSR que no se pueden clasificar en los grupos anteriores se clasifican además de la siguiente manera:

No codificantes (Non-unique): una o más sondas no se alinea(n) perfectamente con el genoma o una o más sondas se alinea(n) perfectamente con múltiples regiones del genoma.

No codificante (ncTranscript): las PSR corresponden al exón de un transcrito no codificante.

No codificante (CDS_Antisense): la PSR corresponde a un segmento en la cadena opuesta de la secuencia codificante de un transcrito codificante de proteínas.

No codificante (UTR_Antisense): la PSR corresponde a un segmento en la cadena opuesta de la secuencia UTR (5' o 3') de un transcrito.

No codificante (Intronic_Antisense): la PSR corresponde a un segmento en la cadena opuesta de la secuencia intrónica de un transcrito que codifica una proteína.

No codificante (ncTranscript_Antisense): la PSR corresponde al exón de un transcrito no codificante en la cadena opuesta. No codificante (Intergenic): si las sondas no se clasificaron en ninguno de los grupos anteriores y en xmapcore se anotan como "intergenic" (intergénicas).

Además, los presentes inventores utilizaron xmapcore para anotar el símbolo del gen, el sinónimo de gen, la ID génica de Ensembl y la descripción biológica para cualquier PSR que se solape con un transcrito cuando sea necesario; esto excluye los alineamientos con secuencias no codificantes (non-unique) y no codificantes (intergenic).

Ejemplo 2: Un conjunto de 43 biomarcadores para el cáncer de próstata

En la Figura 3 se proporciona una visión general del proceso de análisis de micromatrices en su totalidad.

Selección de características

Las características restantes después del análisis en el Ejemplo 1 se sometieron a filtración mediante una prueba t entre las muestras METS y sin METS en el conjunto de entrenamiento (n=359). Usando un valor de corte de p de 0.01, permanecen en análisis 18.902 características para una selección adicional. La selección de características se realizó mediante regresión logística regularizada utilizando la penalización de red elástica a través del paquete glmnet v1.7 disponible en R con un valor alfa de 0,5 con triple validación cruzada. La regresión regularizada, con validación cruzada, se remuestreó más de 1000 veces usando todos los datos de entrenamiento (n=359); con cada iteración de remuestreo (bootstrapping), los presentes inventores tabularon las características que tenían un coeficiente distinto de cero. Las características que se seleccionaron en al menos un 25 % de las ejecuciones totales se usaron para la creación de modelos.

Análisis de ARN no codificante

Los presentes inventores anotaron el conjunto de 43 biomarcadores con los marcadores descritos en el Ejemplo 1 para identificar el alcance de las características no codificantes. Los presentes inventores muestran los diferentes marcadores dentro del conjunto de 43 biomarcadores en la Figura 4. La Tabla 2 muestra que la mayoría de las PSR se encuentran dentro de los límites de un gen, siendo intergénicas solo un conjunto de sondas (3802328). La evaluación del término de ontología enriquecimiento para los genes en la Tabla 3 utilizando herramientas de DAVID muestra que el conjunto de genes está enriquecido, como era de esperar en el caso del cáncer, para los procesos biológicos de segregación de cromátidas hermanas, división celular y segregación de cromosomas (después de la corrección de Bonferroni, nivel de significación del 0,08, Tabla 3).

Tabla 2. Conjunto de 43 biomarcadores. Las coordenadas cromosómicas corresponden a la versión hg19 del genoma humano. (Los marcadores en el conjunto de 43 biomarcadores se anotan como RF43. Los marcadores en el conjunto de 22 biomarcadores se anotan como RF22.)

SEQ ID NO:	Panel del biomarcador	Cromosoma	Inicio	Fin	Categoría	Cadena	Símbolo	ID DE ENSEMBL
1.	RF22, RF43	1	164790778	164790861	CODIFICANTE	1	PBX1	ENSG00000185630
2.	RF22, RF43	12	102043061	102043198	CODIFICANTE	1	MYBPC 1	ENSG00000196091
3.	RF22, RF43	17	37054699	37054747	CODIFICANTE	1	LASP 1	ENSG00000002834
4.	RF22, RF43	1	20809088	20810189	NO CODIFICANTE (CDS_ANTISENSE)	1	CAMK2 N1	ENSG00000162545
5.	RF22, RF43	9	125827478	125827705	NO CODIFICANTE (CDS_ANTISENSE)	-1	RABGA P1	ENSG00000011454

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	Panel del biomarcador	Cromosoma	Inicio	Fin	Categoría	Cadena	Símbolo	ID DE ENSEMBL
6.	RF22, RF43	20	44445347	44445562	NO CODIFICANTE (CDS_ANTISENSE)	-1	UBE2C	ENSG00000175063
7.	RF22, RF43	5	14001862	14002003	NO CODIFICANTE (ncTRANSCRIPT)	1	PCAT-32	
8.	RF22, RF43	9	14089154	14089187	NO CODIFICANTE (INTRONIC)	-1	NFIB	ENSG00000147862
9.	RF22, RF43	12	102021374	102021490	NO CODIFICANTE (INTRONIC)	1	MYBPC 1	ENSG00000196091
10.	RF22, RF43	13	24157611	24158003	NO CODIFICANTE (INTRONIC)	1	TNFRSF19	ENSG00000127863
11.	RF22, RF43	4	30975279	30975441	NO CODIFICANTE (INTRONIC)	1	PCDH7	ENSG00000169851
12.	RF22, RF43	2	242138538	242138661	NO CODIFICANTE (ncTRANSCRIPT)	1	ANO7	ENSG00000146205
13.	RF22, RF43	11	58811043	58811070	NO CODIFICANTE (ncTRANSCRIPT)	1	GLYATL1P4	ENSG00000254399
14.	RF22, RF43	6	32330751	32331082	NO CODIFICANTE (INTRONIC)	-1	C6orf10	ENSG00000206310
15.	RF22, RF43	1	156495410	156496002	NO CODIFICANTE (UTR)	-1	IQGAP3	ENSG00000183856
16.	RF22, RF43	2	242163962	242164581	NO CODIFICANTE (UTR)	1	ANO7	ENSG00000146205
17.	RF22, RF43	6	169616207	169616770	NO CODIFICANTE (UTR)	-1	THBS2	ENSG00000186340
18.	RF22, RF43	8	144939574	144939986	NO CODIFICANTE (UTR)	-1	EPPK1	ENSG00000227184
19.	RF22, RF43	15	41672463	41672932	NO CODIFICANTE (UTR)	1	NUSAP 1	ENSG00000137804
20.	RF22, RF43	15	66841241	66841800	NO CODIFICANTE (UTR)	1	ZWILCH	ENSG00000174442
21.	RF22, RF43	19	3180095	3180328	NO CODIFICANTE (UTR)	1	S1PR4	ENSG00000125910
22.	RF22, RF43	20	44445472	44445507	NO CODIFICANTE (UTR)	1	UBE2C	ENSG00000175063
23.	RF43	3	101212717	101212786	CODIFICANTE	-1	SEN7	ENSG00000138468
24.	RF43	7	36450679	36450750	CODIFICANTE	1	ANLN	ENSG00000011426
25.	RF43	10	88730250	88730288	CODIFICANTE	1	C10orf1 16	ENSG00000148671
26.	RF43	11	68382513	68382688	CODIFICANTE	1	PPP6R3	ENSG00000110075
27.	RF43	13	33327527	33327656	CODIFICANTE	1	PDS5B	ENSG00000083642
28.	RF43	17	38552572	38552698	CODIFICANTE	-1	TOP2A	ENSG00000131747
29.	RF43	3	190366433	190366480	CODIFICANTE	1	IL1RAP	ENSG00000196083
30.	RF43	4	104057451	104057507	CODIFICANTE	-1	CENPE	ENSG00000138778
31.	RF43	12	4854600	4854755	CODIFICANTE	1	GALNT 8	ENSG00000130035
32.	RF43	17	38555314	38555364	CODIFICANTE	-1	TOP2A	ENSG00000131747
33.	RF43	11	2772266	2772592	NO CODIFICANTE (CDS_ANTISENSE)	-1	KCNQ1	ENSG00000053918
34.	RF43	18	24237326	24237436	NO CODIFICANTE (INTERGENIC)	-1		
35.	RF43	6	72119721	72119751	NO CODIFICANTE (INTRONIC)	-1	C6orf15 5	ENSG00000233237
36.	RF43	11	24997429	24997706	NO CODIFICANTE (INTRONIC)	1	LUZP2	ENSG00000187398
37.	RF43	12	102030525	102030872	NO CODIFICANTE (INTRONIC)	1	MYBPC 1	ENSG00000196091
38.	RF43	16	50104059	50104087	NO CODIFICANTE (INTRONIC)	1	HEATR 3	ENSG00000155393
39.	RF43	3	132829328	132829491	NO CODIFICANTE (INTRONIC_A NTISENSE)	-1	TMEM1 08	ENSG00000144868
40.	RF43	6	31914455	31914576	NO CODIFICANTE (ncTRANSCRIPT)	1	CFBXXbac-BPG116M5.17	ENSG00000243649ENS G00000244255
41.	RF43	7	5967689	5967716	NO CODIFICANTE (NON_UNIQUE)	1		
42.	RF43	1	53379570	53379755	NO CODIFICANTE (UTR)	-1	ECHDC 2	ENSG00000121310

(continuación)

SEQ ID NO:	Panel del biomarcador	Cromosoma	Inicio	Fin	Categoría	Cadena	Símbolo	ID DE ENSEMBL
43.	RF43	11	13376793	13376832	NO CODIFICANTE (UTR)	1	ARNTL	ENSG00000133794

Tabla 3. Términos de Gene Ontology enriquecidos en el distintivo de 43 biomarcadores

Término de GO	Proceso biológico	Genes implicados	Valor <i>p</i>	Valor <i>p</i> ajustado
GO:0000819	Segregación de cromátidas hermanas	CENPE, NUSAP1, PDS5B, TOP2A	6,99E-05	0,0736
GO:0051301	División celular	ANLN, CENPE, NUSAP1, PDS5B, UBE2C, ZWILCH	7,04E-05	0,074
GO:0007059	Segregación de cromosomas	CENPE, NUSAP1, PDS5B, TOP2A	7,27E-05	0,0765

El grupo de conjuntos de sondas notificados aquí es rico en información novedosa para el pronóstico del cáncer de próstata, ya que la mayoría de los conjuntos de sondas caen en regiones no codificantes, lo que sugiere que los ARN no codificantes pueden constituir un conjunto de marcadores altamente informativos para el cáncer de próstata.

Ejemplo 3: Un distintivo de 22 biomarcadores para el cáncer de próstata y comparación con modelos clínicos e integrados.

Para garantizar aún más la solidez de las características del distintivo, los presentes inventores aplicaron un método de filtración final que establecería el número mínimo de características requeridas para minimizar el error cuadrático medio (ECM) del modelo. Para hacer esto presentes inventores usaron la función *rfcv* del paquete *randomForest*, utilizando una validación cruzada de 10 veces y un valor de etapa de 0,9. Este método ordenará las características de acuerdo con su importancia variable y eliminará de forma iterativa el 10 % de las características de clasificación más baja y medirá el ECM en cada etapa. Los presentes inventores seleccionaron el número de características que estaban en el codo de la curva, mostradas en la Figura 5. Todas las características a la izquierda de este codo tienen un ECM altamente variable, que se vuelve más estable a la derecha del codo de la curva. El acodamiento de la curva se produce en aproximadamente 22 características. En la Figura 6 se calculó la importancia variable clasificando las características de acuerdo con su disminución media de precisión (MDA, por sus siglas en inglés) y su disminución media de gini (MDG por sus siglas en inglés). Algunas características tienen MDA y MDG bajas, que pueden justificar su eliminación del conjunto de marcadores, sin embargo, la Figura 5 muestra que la inclusión de algunas de las características menos diferenciadoras incluso contribuyó a un ECM más bajo todavía. En la Figura 7 se muestra una visión general de la selección de características y de los métodos de micromatrices.

Desarrollo de Clasificadores

Los presentes inventores desarrollaron tres clasificadores utilizando las 22 características, las variables clinicopatológicas y una combinación de ambas, anteriormente mencionadas. Los presentes inventores hacen referencia a los clasificadores como el clasificador genómico (GC), el clasificador clínico (CC) y el clasificador clínico genómico (GCC) integrado; se describen en detalle a continuación. El criterio de valoración primario para el desarrollo del clasificador fue el evento METS. Aunque es clásico reportar probabilidades de progresión a los 2, 5, 7 o 10 años después de METS, el diseño del estudio de investigación impide a los presentes inventores notificar probabilidades que sean significativas fuera del estudio. Por esta razón, las puntuaciones de todos los modelos antes mencionados pronostican si un individuo determinado experimentará progresión de la enfermedad metastásica, ya que este criterio de valoración no está sujeto a modelar la prevalencia de la enfermedad o el tiempo hasta un evento, sino la presencia o ausencia de características que indican la agresión de la enfermedad. Clasificador genómico (GC)

Se utilizaron un total de 22 características para la construcción del modelo. Como otro método de estandarización, los valores de expresión para las 22 características se clasificaron en percentiles para cada paciente. Los presentes inventores usaron un bosque aleatorio del paquete *randomForest* disponible en R para la construcción de modelos y usaron la función de ajuste (*tune*), del paquete *e1071*, para identificar los parámetros óptimos del modelo; los parámetros óptimos se establecieron en: *nodesize* = 80, *ntree* = 700, *mtry* = 15. Los parámetros de ajuste se seleccionaron para optimizar la precisión de la clasificación en el conjunto de entrenamiento. El modelo creado a partir de los datos de entrenamiento se congela y se almacena para futuras aplicaciones a nuevos datos. El modelo de clasificación creado a partir del conjunto de características de 22 biomarcadores se denominará en adelante clasificador genómico (GC) cuando se aplique a datos nuevos. De manera destacable, el conjunto de características final (Tabla 4) resulta de modo que la mayoría de las 22 características en el GC fueron ARNnc y solo tres fueron de ARNm que codifica proteínas (Tabla 4).

El GC genera una puntuación entre [0,1], donde 1 indica mayor potencial metastásico. La puntuación se deriva como una salida del Random Forest y en lugar de representar una probabilidad, representa el porcentaje total de árboles en el bosque que clasificaron un nuevo caso como METS. Como alternativa, también se puede decir que cada árbol de decisión dentro del bosque aleatorio decide si los niveles de expresión de las 22 características en una muestra tumoral determinada son más representativos de la enfermedad METS o no. Los presentes inventores usaron un punto de corte de 0,5 para clasificar a los pacientes como METS o no porque es objetivo y usaron la lógica de la regla de la mayoría simple.

Clasificador Clínico (CC)

Se desarrolló un clasificador clínico (CC) para predecir el criterio de valoración de METS utilizando las siguientes variables clinicopatológicas: estado de invasión de los ganglios linfáticos (LNI); estado de los márgenes quirúrgicos (SMS); invasión de vesículas seminales (SVI); extensión extracapsular (ECE); puntuación de Gleason patológica; y el PSA preoperatorio. Las primeras cuatro variables clínicas (LNI, SMS, SVI y ECE) se utilizan como variables binarias, indicando presencia o no; los valores de PSA preoperatorios se llevan a log10. Las variables clínicas se recopilaron en una regresión logística y el modelo entrenado se utilizó para predecir METS en el conjunto de prueba y en el estudio de validación. CC produce una probabilidad entre 0 y 1, donde 0 indica bajo potencial metastásico y 1 indica alto potencial metastásico.

Tabla 4. Conjunto de 22 biomarcadores. Las coordenadas cromosómicas corresponden a la versión hg19 del genoma humano.

Gen	Banda citog.	N.º de marcadores	Anotación de marcadores	Biología	Expresión diferencial METS frente a sin METS
CAMK2N1	1p36.12	1	CODIFICANTE COMO	Progresión del ciclo celular / Control de ruta de señalización	Regulado positivamente
IQGAP3	1q23.1	1	3'UTR	Proliferación celular / Control de ruta de señalización	Regulado positivamente
PBX1	1q23.3	1	CODIFICANTE	Protooncogén / Factor de transcripción / Respuesta inmunitaria	Regulado negativamente
ANO7	2q37.3	2	3' UTR / ncTRANSCRIPT**	Adhesión celular	Regulado negativamente
PCDH7	4p15.1	1	INTRONIC	Adhesión celular	Regulado negativamente
PCAT-32	Sp15.2	1	ncTRANSCRIPT	ARNnc EXPRESADO DIFERENCIALMENTE EN CÁNCER DE PRÓSTATA	Regulado negativamente
TSBP	6p21.32	1	INTRONIC	Proteína básica específica de testículos / Respuesta inmunitaria	Regulado negativamente
THBS2	6q27	1	3'UTR	Interacción célula-célula, célula-matriz / Modulador de angiogénesis	Regulado positivamente
EPPK 1	8q24.3	1	3' UTR	Mantenimiento del citoesqueleto en células epiteliales	Regulado positivamente
NFIB	9p23	1	INTRONIC	Proliferación celular / Factor de transcripción	Regulado negativamente
RABGAP1	9q33.2	1	CODIFICANTE COMO	Progresión del ciclo celular / Nucleación de microtúbulos	Regulado positivamente
GLYATLIP4	11q12.1	1	ncTRANSCRIPT	Pseudogen	Regulado negativamente

(continuación)

Gen	Banda citog.	N.º de marcadores	Anotación de marcadores	Biología	Expresión diferencial METS frente a sin METS
MYBPC1	12q23.2	2	CODIFICANTE / INTRONIC	Proteína de células epiteliales	Regulado negativamente
TNFRSF19	13q12,12	1	INTRONIC	Receptor de superficie celular tipo I / Control de ruta de señalización	Regulado negativamente
NUSAP1	15q15.1	1	3' UTR	Progresión del ciclo celular / Estabilización de microtúbulos	Regulado positivamente
ZWILCH	15q22.31	1	3' UTR	Progresión del ciclo celular / Segregación cromosómica	Regulado positivamente
LASP 1	17q12	1	CODIFICANTE	Proliferación celular / Proteína asociada al citoesqueleto	Regulado positivamente
S1PR4	19p13.3	1	3' UTR	Diferenciación celular	Regulado positivamente
UBE2C	20q13.12	2	3'UTR / CODIFICACIÓN COMO	Progresión del ciclo celular	Regulado positivamente

La motivación para desarrollar el CC fue comparar el GC y el GCC (descrito a continuación) con un modelo de pronóstico que se desarrolló para un criterio de valoración similar. Como la mayoría de los nomogramas postoperatorios pronostican BCR en una población de "todos los que llegan", los presentes inventores creyeron necesario comparar GC y GCC con un nomograma basado en una población de riesgo alto con el criterio de valoración METS. El CC sirvió como punto de referencia intermedio entre el GC y el GCC y permitió cuantificar la diferencia de información genómica adicional proporcionada en la predicción del riesgo.

10 Clasificador clínico genómico (GCC)

Las puntuaciones de GC se recopilaron junto con las variables clinicopatológicas utilizadas para el CC, utilizando un modelo de regresión lineal logística ajustado a los datos de entrenamiento. El modelo combinado de GC y CC se denomina clasificador clínico genómico (GCC).

15 Comparación con el distintivo de 17 genes de Nakagawa

Esta cohorte de investigación se perfiló previamente utilizando la micromatriz de expresión Illumina DASL (Cancer Panel v1) que contiene 502 oncogenes, genes supresores de tumores y genes en sus rutas asociadas. Nakagawa (2008) describe el desarrollo de un distintivo de 17 genes para predecir METS (denominado progresión sistémica en ese texto). Los presentes inventores tradujeron el distintivo de 17 genes de la plataforma DASL a la plataforma HuEx y remodelaron esos genes en el conjunto de entrenamiento usando una regresión logística. Comparamos el rendimiento del distintivo de 17 genes frente a GC, CC y CCG.

25 Los presentes inventores descubrieron que tanto en el entrenamiento como en la prueba, GC, CC y GCC superaron al distintivo de 17 genes (y también al nomograma GPSM); los resultados de AUC se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5. Comparación de la capacidad de discriminación de los clasificadores en diferentes conjuntos de datos

Modelo	Entrenamiento	Pruebas	Validación*
GC	0,90	0,76	0,79
GCC	0,90	0,75	0,82
CC	0,76	0,70	0,70
GPSM	0,71	0,62	0,59
DASL17	0,73	0,60	0,64

* El análisis de la ROC de supervivencia se utilizó para un estudio válido de casos en una cohorte

Análisis estadístico

Los modelos de predicción de CC, GC y GCC se evaluaron en la cohorte de validación independiente y se compararon con las puntuaciones de GPSM para predecir el criterio principal de valoración de METS. Los investigadores de GenomeDx estuvieron sometidos al enmascaramiento de los resultados y el análisis inicial fue realizado por estadísticos de Mayo Clinic (RC y EJB). Se utilizó el índice de discriminación C (índice c), una extensión del área bajo la curva ROC para el caso de datos de supervivencia censurados estadísticamente, para comparar inicialmente el rendimiento de cada modelo para predecir METS. Los intervalos de confianza del 95 % para el índice c se aproximaron mediante remuestreo.

Después del desenmascaramiento, se realizaron varios análisis adicionales. Se utilizaron gráficos de calibración, ROC de supervivencia y curvas de decisión para evaluar la discriminación global. El análisis de la curva de decisión se usó para comparar el beneficio neto (por ejemplo, la ganancia en sensibilidad ponderada por una pérdida en especificidad) en un intervalo de probabilidades de un umbral de "decisión de tratar" usando los modelos clínicos solo frente a los modelos genómicos. La ROC de supervivencia y las curvas de decisión se evaluaron para la predicción de METS dentro de los 5 años posteriores de la PR. Se utilizaron métodos de diagnóstico gráfico, de datos censurados estadísticamente y basados en ROC para determinar un límite provisional para el GC en el conjunto de investigación.

Se utilizó el análisis de regresión de riesgos instantáneos proporcionales de Cox para probar las asociaciones entre los modelos y el criterio de valoración de METS. Las asunciones de riesgos instantáneos proporcionales del modelo de Cox se confirmaron mediante la evaluación de los residuos de Schoenfeld escalados. Debido al diseño de casos en una cohorte del estudio de validación, el análisis de supervivencia utilizó el método Lin-Ying, ponderando los controles para reflejar la incidencia de METS en la cohorte al completo. Las curvas de incidencia acumulada se construyeron utilizando análisis de riesgos competitivos para acomodar la censura estadística debida a decesos y otros eventos, que sesgan las estimaciones de incidencia de Kaplan-Meier. Los modelos de CC, GC y GCC se subdividieron en terciles como una demarcación objetiva de grupos de riesgo bajo, intermedio y alto. Los grupos de riesgo de la puntuación de GPSM se definieron previamente.

Los análisis se realizaron utilizando R v 2.14.1 (www.R-project.org). Todas las pruebas fueron bilaterales y con una probabilidad de error de Tipo I de un 5 %. El estudio fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional de Mayo Clinic.

Evaluación de biomarcadores

Validación independiente de clasificadores de pronóstico

En un estudio de validación independiente con enmascaramiento, las curvas ROC de supervivencia de 5 años para el criterio de valoración sin metástasis mostraron un índice c de 0,70 y 0,59 para CC y GPSM, respectivamente (Figura 8). GC superó estos modelos de predicción clinicopatológica con un índice c de 0,79, que aumentó a 0,82 en el modelo de GCC integrado. Además, los intervalos de confianza (IC) del 95 % de los modelos genómicos se solaparon ampliamente, indicando rendimientos predictivos comparables (Figura 8).

Además, los gráficos de cajas de discriminación y las curvas de calibración muestran el rendimiento mejorado para los clasificadores que usaron las variables genómicas sobre los modelos clinicopatológicos (CC y GPSM) (Figuras 9-11).

En la Figura 12 se muestra una curva de decisión que compara los modelos. En las probabilidades del umbral de "decisión de tratar" (por ejemplo, probabilidad de enfermedad metastásica en 5 años después de la PR), que varían de 5-25 %, el beneficio neto de los modelos basados en la genómica superó al de ambos modelos solo clínicos. En conjunto, estos datos implican que el panel genómico mejora significativamente la capacidad predictiva.

Los gráficos de incidencia acumulada compararon la incidencia de eventos de METS en los grupos de riesgo para cada modelo (Figura 3). La diferencia en la incidencia acumulada entre los grupos de riesgo definidos por el límite provisional de GC fue altamente significativa para GC ($p < 0,001$), teniendo el grupo por debajo del límite potencial de 0,5 una incidencia de $< 2,5$ % en 5 años después de la PR y el grupo igual o superior al límite, tuvo una incidencia acumulada de 5 años tras la PR de ~ 18 %. Sin embargo, después de usar un límite previo para GPSM, los grupos de riesgo no fueron significativamente diferentes ($p = 0,35$). Los presentes inventores también compararon gráficos de incidencia acumulada de eventos METS entre terciles para cada modelo (Figuras 13, 14, 15). Para evaluar el rendimiento de los modelos en una categorización diferente de grupos de riesgo, los presentes investigadores utilizaron la definición de D'Amico de pacientes de riesgo bajo, intermedio y alto (Figuras 16, 17). Basado en esto, 60 % de la presente cohorte de riesgo alto se incluye en las definiciones de pacientes de riesgo bajo e intermedio según la definición de D'Amico como bajo o intermedio.

La diferencia en la incidencia acumulada entre terciles fue altamente significativa para GCC ($p < 0,001$), teniendo el grupo del primer tercil con una incidencia de < 1 % en 5 años tras la PR y solo tres casos de METS (que ocurrieron > 5 años tras la PR). El segundo tercil tuvo una incidencia acumulada de un 5 % después de la PR en 5 años (menos de la tasa de un 7,5 % en la cohorte completa) y el grupo GCC del tercer tercil tuvo 44 eventos METS, con una

incidencia de 5 años de un -15 %. Además, la mayoría de los pacientes en el tercer tercil de GCC experimentaron METS dentro de los 3 años de la PR. Las diferencias de incidencia acumulada entre terciles también fueron significativas para los modelos GC y CC (Figura 13). Los grupos de GPSM y GC definidos por sus límites predeterminados y los grupos de GPSM y GCC definidos por terciles también se compararon cuando los pacientes que recibieron terapia de privación de andrógenos (ADT, por sus siglas en inglés) adyuvante se excluyeron del análisis y los grupos de GC y GCC fueron significativamente diferentes (Figuras 14-15).

La Tabla 6 muestra la comparación de la categorización de GPSM y GC de los sujetos en grupos de riesgo. El estudio principalmente consiste en pacientes de riesgo alto; como tales, no hay pacientes de bajo riesgo de GPSM. Los presentes inventores muestran aquí que GC puede identificar adecuadamente a aquellos pacientes que son verdaderamente de riesgo alto de los que no lo son, lo confirmaron usando una prueba de McNemar. Teniendo en cuenta que se trata de una cohorte de riesgo alto de patología adversa, la mayoría de los pacientes fueron GPSM de riesgo alto ($n = 196$) con un número menor de GPSM de riesgo intermedio ($n = 23$). GPSM y GC dieron resultados coherentes en 88 (40 %) de los sujetos, pero el GC reclasificó a 124 de 196 (63 %) pacientes de riesgo alto de GPSM ($\text{GPSM} > 10$) en grupos de menor riesgo. Con información genómica adicional, el GC rebajó sistemáticamente a los sujetos de riesgo alto de GPSM a categorías de menor riesgo ($p < 0,0001$ prueba de McNemar). Dadas las bajas incidencias acumuladas de enfermedad metastásica (Figura 18), incluso pacientes con patología adversa de "riesgo alto" o puntuaciones de GPSM que tienen puntuaciones bajas de GC, tienen una probabilidad muy baja de METS.

El análisis univariante se detalla en la Tabla 7 y muestra que en esta cohorte de riesgo alto, la mayoría de las variables clinicopatológicas fueron factores pronósticos significativos, con la excepción del estado de los márgenes y el PSA preoperatorio. GC tiene una alta precisión en la estimación del riesgo creciente de un 56 % de desarrollar METS por cada incremento de 0,1 unidades en la puntuación de GC ($\text{HR} = 1,56$, $\text{IC}: 1,35-1,80$, $p < 0,001$). Sin embargo, con modelos de regresión multivariante de Cox de los componentes clínicos y genómicos individuales del modelo GCC, si bien GC se mantuvo como variable significativa con un HR de 1,48 ($\text{IC}: 1,27-1,73$, $p < 0,001$) por cada incremento de 0,1 unidades en la puntuación de GC, ninguna variable clínica permaneció significativa para predecir METS (Tablas 8-9). En la Tabla 8, GC se ajusta para los componentes clinicopatológicos de GCC (invasión de vesículas seminales, suma de Gleason patológico, PSA preoperatorio, extensión extracapsular, afectación ganglionar y margen positivo así como administración de hormonas adyuvantes. Se utilizó el método de Lin-Ying para tener en cuenta el diseño de casos en una cohorte al determinar las razones de riesgos instantáneos. La razón de riesgos instantáneos de GC es para un cambio de 0,1 unidades en la puntuación de riesgo de GC.

GC también se ajustó para CC y GPSM en análisis multivariante de regresión separados y sin embargo, siguió siendo el único factor de riesgo significativo (Tabla 10).

Tabla 6. Reclasificación de las categorías de GPSM mediante GC.

N.º pacientes (% METS a los 5 años)	GC < 0,5	GC ≥ 0,5	Totales de GPSM
GPSM Intermedio	16(4 %)	7(4 %)	23(8 %)
GPSM alto	124(29 %)	72(63 %)	196(92 %)
Totales de GC	140(33 %)	79(67 %)	

Tabla 7. Análisis univariante para el panel de clasificadores pronóstico y variables clinicopatológicas (para METS)

	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	valor p
GC	1,56 (1,35-1,80)	< 0,001
GCC	1,40 (1,24-1,58)	< 0,001
CC	1,31 (1,15-1,49)	< 0,001
Suma de Gleason patológico	2,45 (1,38-4,36)	= 0,002
GPSM	1,32 (1,12-1,56)	< 0,001
Extensión extracapsular	2,68 (1,49-4,83)	= 0,001
Invasión de vesículas seminales	2,18 (1,22-3,87)	= 0,007
Invasión de ganglios linfáticos	2,18 (1,04-4,56)	0,04
PSA preoperatorio	1,21 (0,94-1,57)	0,15
Márgenes positivos	0,96 (0,54-1,69)	0,88

Tabla 8. Análisis multivariante de regresión de Cox.

	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	valor p
GC	1,48 (1,27-1,75)	< 0,001
Invasión de vesículas seminales	1,83 (0,83-4,09)	0,14
Suma de Gleason	1,47 (0,70-3,08)	0,30
Extensión extracapsular	1,37 (0,63-3,01)	0,43
PSA preoperatorio	1,93 (0,79-1,63)	0,51
Márgenes positivos	1,10 (0,53-2,25)	0,80
Invasión de ganglios linfáticos	0,94 (0,28-3,15)	0,92
*ajustado para la terapia hormonal adyuvante		

Tabla 9. Análisis multivariante para el panel de clasificadores pronóstico y variables clinicopatológicas ajustado para la terapia hormonal (para METS)

	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	valor p
GC	1,49 (1,27-1,75)	< 0,001
Invasión de vesículas seminales	1,75 (0,80-3,85)	0,16
Suma de Gleason	1,43 (0,70-2,90)	0,33
Extensión extracapsular	1,32 (0,61-2,86)	0,49
PSA preoperatorio	1,15 (0,81-1,62)	0,44
Márgenes positivos	1,09 (0,53-2,25)	0,81
Invasión de ganglios linfáticos	0,85 (0,30-2,45)	0,77
Terapia hormonal*	0,92 (0,44-1,93)	0,84
*Ajustado para la terapia hormonal de rescate o adyuvante		

5

Tabla 10. Análisis multivariante de GC comparado con GPSM y CC (para METS)

MVA con GC y GPSM		
	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	valor p
GC	1,51 (1,31-1,75)	< 0,001
GPSM	1,16 (0,96-1,39)	0,17
MVA con GC y CC		
	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	valor p
GC	1,51 (1,29-1,75)	< 0,001
GPSM	1,12 (0,96-1,30)	0,16

Análisis

- 10 Este estudio describe el desarrollo y la validación independiente de un nuevo distintivo de biomarcador de pronóstico, un clasificador genómico (GC) identificado mediante el análisis de 764 pacientes de prostatectomía radical de riesgo alto (545 en el conjunto de investigación y 219 en un conjunto de validación independiente) con seguimiento a largo plazo. El GC fue diseñado para predecir la progresión rápida de la enfermedad metastásica, un criterio de valoración basado en imágenes radiográficas que es clínicamente mucho más relevante para el cáncer de próstata agresivo que
- 15 la mayoría de los informes previos de biomarcadores que utilizan el criterio de valoración de BCR. Todos los especímenes de tumores se perfilaron utilizando análisis de micromatrices de alta densidad de ARN de especímenes FFPE de pacientes archivados. El enfoque de todo el transcriptoma permitió la interrogación de un conjunto de datos genómicos mucho más rico, incluyendo muchos miles de ARNnc, en comparación con esfuerzos anteriores que eran principalmente "centrados en genes" codificantes de proteínas. El modelo de GC se validó en un estudio con
- 20 enmascaramiento independiente de una cohorte contemporánea (2000-2006) de pacientes sometidos a prostatectomía con patología adversa, que refleja la población donde las variables clínicas y los modelos de nomogramas no logran descifrar el pequeño porcentaje de hombres que desarrollarán un cáncer de próstata letal.

- 25 En la cohorte de validación de riesgo alto de 1.010 hombres tratados en Mayo Clinic, solo un 7,5 % desarrolló enfermedad metastásica. Incluso después de tener en cuenta el uso de la terapia adyuvante, la estratificación del riesgo basada únicamente en la patología no logró predecir con precisión la enfermedad metastásica y apoyó la noción

de que incluso el cáncer de próstata de riesgo alto es una enfermedad molecularmente heterogénea. La calibración mejorada de los modelos genómicos en comparación con los modelos solo clínicos puede deberse a la incorporación de verdaderos impulsores moleculares de la enfermedad agresiva en los modelos de GC, de modo que incluso en una población de pacientes de "riesgo alto" homogénea clinicopatológica, el GC puede segregar mejor a los pacientes de "verdadero riesgo alto" de la mayoría que no progresará. El análisis de la curva de decisión también mostró que los clasificadores de pronóstico que usaban información genómica tenían una gama más amplia de beneficios clínicos, basada en los umbrales de "decisión de tratar", en comparación con los modelos solo clínicos. De nuevo, el intervalo limitado de beneficio mostrado por los modelos de CC y de GPSM puede ser un reflejo adicional de su capacidad discriminatoria limitada en hombres de riesgo alto. Por último, incluso después de ajustar por la terapia adyuvante, el análisis multivariante mostró que GC seguía siendo el único factor predictivo significativo, lo que sugiere que el distintivo genómica capta la mayor parte de la información pronóstica relacionada con el desarrollo de la enfermedad metastásica en la cohorte de riesgo alto.

Hasta donde alcanza el conocimiento de los autores, este es el primer estudio que valida ampliamente un distintivo de biomarcador basado principalmente en ARNnc. Esta puede ser una razón importante por la cual el modelo de GC (solo 3 características seleccionadas del ARNm que codifica proteínas; véase la Tabla 4) mostró un rendimiento significativamente mejorado con respecto a los modelos anteriores basados en genes. Apoyando esta noción, los presentes inventores recientemente notificaron el nuevo análisis propio de los datos de expresión del Prostate Oncogenome Project del MSKCC y demostraron que la expresión de ARNnc tuvo mayor valor pronóstico que los genes que codifican proteínas y que en el análisis multivariante proporcionó información predictiva independiente del nomograma de Kattan. La importancia del ARNnc en el cáncer de próstata agresivo se destaca aún más en varios estudios recientes que han demostrado su participación en la invasión y metástasis de células tumorales.

La gran mayoría de los pacientes con enfermedad agresiva tienen patología adversa. Sin embargo, el hecho es que la mayoría de los pacientes con patología adversa no morirán de cáncer de próstata. La pregunta sigue siendo para la mayoría de los urólogos y sus pacientes, de cuando y como intervenir a pacientes con patología adversa. Hasta un 20 % de los pacientes con PR con patología adversa en la práctica contemporánea inevitablemente requerirán una intervención adicional con radiación, hormonas o quimioterapia, ya que el control duradero del cáncer no se logrará utilizando únicamente la cirugía radical. Tres grandes ensayos clínicos aleatorizados (SWOG 8794, EORTC 22911 y ARO 96-02) han demostrado una mejor supervivencia sin recurrencia bioquímica o sin metástasis en hombres con patología adversa cuando se tratan con radioterapia adyuvante inmediata en comparación con la observación inicial. Los informes iniciales del ensayo de RTOG 96-01, que asignó al azar a los pacientes de radiación de rescate temprana a la terapia antiandrogénica u observación, indicaron que la intensificación con terapia multimodal tras la PR reduce la incidencia de enfermedad metastásica. A pesar de esta evidencia, los urólogos no han adoptado ampliamente la intervención adyuvante después de la PR y prefieren el tratamiento en caso de recaída del PSA o recurrencia bioquímica (BCR).

Esta práctica, sin embargo, puede conducir a un tratamiento insuficiente de algunos pacientes en el escenario adyuvante, donde la radiación tiene un beneficio comprobado y a un tratamiento excesivo de muchos pacientes en el escenario de rescate, dado que la BCR es un mal sustituto de la enfermedad metastásica.

A medida que evolucionan las estrategias de gestión, en la última década se ha producido un "cambio de estadio inverso", por lo que más pacientes de bajo riesgo optan por vigilancia activa y más pacientes de riesgo alto se someten a PR. Como resultado, los urólogos están viendo una mayor proporción de pacientes con patología adversa después de la PR. En una cohorte contemporánea de hombres con patología adversa, los presentes inventores muestran que añadir variables genómicas a los factores de riesgo clínicos establecidos mejora significativamente los modelos de predicción para la enfermedad metastásica. Asimismo, los presentes inventores descubrieron que la mayor parte de la información pronóstica para predecir la enfermedad metastásica queda capturada por las variables genómicas, que se miden en el tumor primario. Estos datos respaldan la noción de que las alteraciones genómicas en el cáncer de próstata letal se manifiestan temprano, muchos años antes de que se pueda obtener una imagen radiográfica de la enfermedad metastásica. Una mejor identificación de los pacientes con mayor riesgo de desarrollar la enfermedad puede servir mejor a aquellos que más necesitan terapia adyuvante. Los presentes inventores están probando más en estos pacientes el rendimiento de este clasificador, su utilidad para orientar la estratificación del riesgo y la toma de decisiones tras la PR en estudios de validación adicionales. Una predicción más precisa del cáncer de próstata letal dentro de esta población de riesgo alto de pacientes con cáncer de próstata quirúrgico puede conducir en última instancia a mejores resultados.

Análisis de la subcohorte de Gleason 7

Los pacientes con estadio patológico de Gleason 7 representan una categoría intermedia difícil de clasificar en la toma de decisiones clínicas sobre el cáncer de próstata. Se ha sugerido que los pacientes con un Gleason 4 primario y un Gleason 3 secundario (4+3) tienen peores resultados que los pacientes 3+4. Los presentes inventores demostraron que GCC podía segregar mejor a los pacientes Gleason 7 con mejores resultados en comparación con el método actual de 4+3 frente a 3+4. En primer lugar, los presentes inventores compararon la capacidad de CC (también denominado modelo clínico o MC) y de GCC para segregar pacientes Gleason 7 (Figura 19), los gráficos de discriminación en este análisis mostraron que CC no segrega a estos pacientes en absoluto. Partiendo del modelo de

CC, los presentes inventores compararon el resultado de supervivencia para los pacientes con Gleason 7 según la práctica clínica mencionada anteriormente y el GCC. La Figura 20 muestra claramente la superioridad de la GCC en la segregación de estos pacientes con un criterio de valoración de METS (también conocido como recurrencia clínica o RC). Es importante destacar que, el GCC también puede segregar a los pacientes cuando el criterio de valoración se cambió a PCSM; los métodos convencionales de 4+3 frente a 3+4 tienen una capacidad limitada para separar a los pacientes, como se muestra en la Figura 21. Además, los presentes inventores separaron las muestras en sus respectivas categorías 4+3 y 3+4 y evaluaron el rendimiento del GCC dentro de estos grupos y descubrieron que tanto para los criterios de valoración de METS como de PCSM, el GCC fue capaz de segregar significativamente a los pacientes en grupos de riesgo alto ($GCC \geq 0,5$) y bajo ($GCC < 0,5$) (Figuras 22-23).

Aplicación a pacientes de ganglios linfáticos positivos de hormonas adyuvantes

Los presentes inventores evaluaron la capacidad de GCC para segregar un conjunto de pacientes con ganglios linfáticos positivos (N+) tratados uniformemente con terapia hormonal adyuvante. Los presentes inventores compararon su rendimiento frente a CC y usaron tanto el criterio de valoración de METS como de PCSM (Figuras 24-25). Dado que GCC y CC contienen el estado de LNI como una variable en el entrenamiento y en la predicción del modelo, el estado de LNI podría aumentar los resultados cuando el análisis se centra únicamente en pacientes N+. En general, sin embargo, cualquiera de los modelos está destinado a la aplicación a una gama amplia de pacientes con diferentes características patológicas, por lo que es práctico considerar CC y GCC con el estado de LNI incluso cuando se centra en el grupo N+. Asimismo, los pacientes N+ reciben tratamiento uniforme en escenarios clínicos con hormonas adyuvantes (ADTHx+) como cuidado estándar; la capacidad del GCC para segregar aún más a los pacientes N+ en buenos y malos resultados incluso después de la ADT podría indicar una utilidad clínica importante que podría justificar el tratamiento de pacientes de riesgo alto ($GCC > 0,5$) con terapias adicionales. En la actualidad, no existen instrumentos clínicos que diferencien aún más a los pacientes N+.

Ejemplo 4: Método para diagnosticar una leucemia en un sujeto

Un sujeto llega al consultorio de un médico y se queja de síntomas que incluyen dolor en los huesos y las articulaciones, hematomas fáciles y fatiga. El médico examina al sujeto y también nota que los ganglios linfáticos del sujeto también están inflamados. Se obtienen muestras de médula ósea y de sangre del sujeto. El análisis de micromatrices de las muestras obtenidas del sujeto revela una expresión aberrante de uno o más transcritos seleccionados de las Tablas 2, 4, 11 o 55 y al sujeto se le diagnostica leucemia linfoblástica aguda.

Ejemplo 5: Método para determinar un tratamiento para el cáncer de mama en un sujeto

A un sujeto se le diagnostica un cáncer de mama. Se obtiene una muestra de tejido del sujeto. Los ácidos nucleicos se aíslan de la muestra de tejido y un conjunto de sondas que comprende al menos diez sondas capaces de detectar la expresión de al menos un transcrito de ARN no codificante y al menos un transcrito codificante de proteínas. El análisis del nivel de expresión de uno o más transcritos seleccionados de las Tablas 2, 4, 11 o 55 revela que el sujeto tiene un cáncer de mama resistente al tamoxifeno y se recomienda gefitinib como terapia alternativa.

Ejemplo 6: Método para determinar el pronóstico de un cáncer de páncreas en un sujeto

A un sujeto se le diagnostica cáncer de páncreas. Se obtiene una muestra de tejido del sujeto. La muestra de tejido se analiza para el nivel de expresión de biomarcadores que comprenden uno o más transcritos seleccionados de las Tablas 2, 4, 11 o 55. Según el nivel de expresión de uno o más transcritos seleccionados de las Tablas 2, 4, 11 o 55, se determina que el cáncer de páncreas tiene un riesgo alto de recurrencia.

Ejemplo 7: Un clasificador genómico (GC) de 22 marcadores superó los distintivos genómicos notificados anteriormente y a los biomarcadores génicos individuales

Como se describe en el Ejemplo 3, se seleccionó un conjunto final de 22 marcadores para construir un clasificador de bosque aleatorio. La matriz de alta densidad utilizada en este estudio permite la medición de los patrones de expresión de los ARN asociados con múltiples procesos biológicos en la progresión del cáncer de próstata. Además, este enfoque de todo el transcriptoma permitió la interrogación de un conjunto de datos genómicos mucho más rico, incluyendo miles de ARNnc. Asimismo, los marcadores genómicos miden el potencial biológico del tumor para metastatizar. Los procesos biológicos representados en los 22 marcadores incluyen la progresión del ciclo celular, la adhesión celular, la motilidad de las células tumorales, la migración y la modulación del sistema inmunitario. El análisis de escalado multidimensional representa la agrupación de casos y de controles basándose en la expresión de estos 22 marcadores (Figura 26). Los controles corresponden a pacientes NED y PSA agrupados ya que, en un umbral factor de cambio de 1,5 (después de corregir por investigaciones en falso), se encontró que solo 2 características (de ~ 1.4 millones) se expresaron diferencialmente entre estos dos grupos, en comparación con 1187 y 887 en los resultados de metástasis, en comparación con los grupos NED y PSA. Se utilizó un algoritmo de aprendizaje automático de bosque aleatorio para generar puntuaciones de GC en el conjunto de entrenamiento y de prueba después de recopilar los 22 marcadores con parámetros de bosque para optimizar la máxima precisión en el conjunto de entrenamiento. El rendimiento de GC se comparó con el de los distintivos genéticos publicados anteriormente: Agell

et al. 2012, Bibikova *et al.* 2007, Bismar *et al.* 2006, Cuzick *et al.* 2011, Glinsky *et al.* 2005, LaPointe *et al.* 2004, Larkin *et al.* 2012, Nakagawa *et al.* 2008, Olmos *et al.* 2012, Penney *et al.* 2011, Ramaswamy *et al.* 2003, Ross *et al.* 2012, Talantov *et al.* 2010, Varambally *et al.* 2005 y Yu *et al.* 2007 y marcadores genómicos individuales asociados con la progresión del cáncer de próstata, incluyendo CHGA, DAB2IP, GOLPH2, PAP, ETVI y ERG, KI-67, PSA, PSCA, PSMA, AMACR, GSTP1, PCA3, B7-H3, TOP2A y CAV1. Cada marcador genómico y cada gen en los distintivos se asignaron a su grupo de transcritos nuclear de Affymetrix asociado (<http://www.affymetrix.com/analysis/index.affx>) cuando estaba disponible, de lo contrario, se usó el grupo de transcritos ampliados. Basándose en los valores de expresión resumidos de fRMA para los genes individuales, los distintivos se modelaron en el conjunto de entrenamiento utilizando un bosque aleatorio y se ajustaron con la función `tune.randomForest` de e1071 del paquete R. El ajuste implicó realizar una búsqueda de cuadrícula de 20 por 20 para encontrar los parámetros óptimos del modelo "mtry" y "nodesize" evaluados a través de una validación cruzada de 5 veces para maximizar la precisión.

El rendimiento de los clasificadores y de los genes individuales se evaluó posteriormente en los conjuntos de entrenamiento y de prueba (Figura 27 y Figura 28). Como se esperaba, los presentes inventores observaron altas AUC en entrenamiento para casi todos los distintivos externos, similar a lo observado con GC. Cuando se aplica a la prueba, el AUC disminuyó para cada modelo. Entre los 17 distintivos externos que se modelaron, 12 fueron factores predictivos estadísticamente significativos de metástasis (por ejemplo, sus intervalos de confianza del 95 % no cayeron por debajo de un AUC de probabilidad aleatoria umbral de 0,5) (Figura 27). El AUC de GC fue 0,08 puntos superior al del distintivo externo de mayor rendimiento, el distintivo de 16 genes notificado por Bibikova *et al.*, que tenía un AUC de 0,68 (IC del 95 %: 0,60-0,76). A diferencia de los modelos de distintivo de expresión, se esperaba que el rendimiento de los 16 genes individuales probados fuera similar en los conjuntos de entrenamiento y de prueba. Estos marcadores genómicos mostraron un acuerdo general en el rendimiento, con diferencias en significación explicadas posiblemente por el tamaño muestral menor del conjunto de prueba en comparación con el del conjunto de entrenamiento (Figura 28). De los 16 marcadores genómicos, solo B7-H3 (CD276), GSTP1 y PCA3 resultaron estadísticamente significativos tanto en los conjuntos de entrenamiento como en los de prueba (Figura 28). De nuevo, ninguno de los marcadores genómicos individuales superó a GC o al factor predictivo clínico de mayor rendimiento, GS (AUC $\leq$ 0,64).

Ejemplo 8: Un clasificador genómico (GC) de 22 marcadores superó las variables clinicopatológicas individuales y resultó un pronóstico dentro de diferentes grupos de puntuación de Gleason

Se calcularon, categorizaron o transformaron variables clínicas de la siguiente manera. La puntuación de Gleason patológica (GS o pathGS) se dicotomizó en grupos con el umbral de ≥ 8 ; aunque la convención es segregar GS en tres grupos (≤ 6 , 7, ≥ 8) la falta de pacientes relativa con GS ≤ 6 impulsó la dicotomización de GS. El PSA preoperatorio (pPSA), medido inmediatamente antes de la PR, se transformó mediante $\log_2$. Las siguientes variables eran binarias: extensión extracapsular (ECE); invasión de vesículas seminales (SVI); márgenes quirúrgicos (SM+ o SMS) y afectación de los ganglios linfáticos (N+ o LNI). La terapia hormonal y la radioterapia se incluyeron como covariables binarias por separado si se administraron en un escenario adyuvante (<90 días después de la PR) o de rescate (después del aumento del PSA). No se incluyeron los tratamientos administrados con posterioridad a la metástasis clínica.

En el conjunto de entrenamiento (véase el Ejemplo 1), los valores del área bajo la curva (AUC) de la ROC para GC, CC y GCC fueron 0,90, 0,76 y 0,91 respectivamente, superando todas las variables clínicas individuales: GSm N+, ECE, SVI, SM+, N+, pPSA y volumen tumoral (Figura 29). En el conjunto de prueba, GC y GCC tuvieron el AUC más alto de 0,75 y 0,74, respectivamente para predecir casos. El CC solo clínico tuvo un AUC de 0,69, que fue solo marginalmente mejor que la puntuación de Gleason patológica sola (0,65). La forma de las curvas ROC para GC y para GCC mostró que estos modelos tenían la mayor especificidad y sensibilidad en comparación con los modelos clínicos por encima de un umbral de ~ 50 % de especificidad (Figura 30).

Un estudio con enmascaramiento validó de forma independiente GC para la predicción de metástasis clínica (metástasis) después de prostatectomía radical. Los resultados mostraron que el modelo GC había mejorado el rendimiento sobre cualquier variable clinicopatológica individual o modelo de predicción multivariante. En este conjunto de validación independiente, el AUC de las curvas ROC de supervivencia de 5 años demostró que GC tenía una mayor capacidad de discriminación que las variables clinicopatológicas individuales (Figura 31). El modelo de GC tuvo un AUC de 0,79 para predecir la metástasis clínica en 5 años tras la PR con una mediana de seguimiento de 6,7 años. Asimismo, el análisis de la curva de decisión de supervivencia de 5 años en el conjunto de validación independiente mostró que GC tenía un mayor beneficio neto en un intervalo de probabilidades de "decisión de tratar" más amplio que los factores clinicopatológicos (Figura 32).

Para probar el tamaño del efecto de las variables individuales, así como las dependencias entre estas variables, los presentes inventores realizaron análisis univariantes y multivariantes usando regresión logística en el conjunto de prueba (Tabla 12). En el análisis univariante, los presentes inventores encontraron que GC, CC, GCC, GS, SVI y ECE resultaron factores predictivos estadísticamente significativos de casos ($p < 0,05$). La razón de posibilidades para GC fue de 1,42 por cada 10 % de aumento en la puntuación de GC. Cuando se dicotomizó en grupos de riesgo bajo y alto de GC, como se ha descrito anteriormente, la razón de posibilidades fue 6,79 (IC del 95 %: 3,46 - 13,29), más del doble de la razón de posibilidades de la puntuación de Gleason (OR: 3,02 (IC del 95 %: 1,61 - 5,68)) para predecir casos. En el análisis multivariante, después del ajuste por tratamiento tras la PR, GC siguió siendo la única variable

pronóstica significativa ($p < 0,001$) con un OR de 1,36 por cada 10 % de aumento en la puntuación de GC. La importancia independiente de GC sugirió que una medida más directa de la biología tumoral (por ejemplo, el distintivo de expresión de 22 marcadores) añadió información pronóstica significativa para la predicción de metástasis temprana después del aumento del PSA, que no fue captado por las variables clínicas disponibles del análisis patológico.

En el análisis univariante (UVA, por sus siglas en inglés) en el conjunto de validación independiente, GC tuvo la razón de riesgos instantáneos (HR, por sus siglas en inglés) significativa más alta entre los clasificadores (Tabla 7). En el análisis multivariante (MVA, por sus siglas en inglés) en el conjunto de validación independiente, solo GC retuvo una HR significativa cuando se ajustó para las variables clínicas y la terapia adyuvante posoperatoria (Tabla 8; $p < 0,001$). La puntuación de Gleason se parametrizó como alternativa (por ejemplo, 3+4, 4+3, 8, 9-10), pero esto no cambió la importancia de GC (Tabla 13). Se realizaron tres modelos de MVA adicionales para modelar GC con CC, GPSM y el nomograma de Stephenson. Solo el nomograma de Stephenson retuvo una HR significativa ($p < 0,04$) con GC como la variable dominante en el modelo (Tabla 10, Tabla 14).

Tabla 12.

	Univariante		Multivariante	
	Razón de posibilidades (IC del 95 %)	p	Razón de posibilidades (IC del 95 %)	p
GC	1,42 (1,28-1,60)	$p < 0,001$	1,36 (1,16-1,60)	$p < 0,001$
GCC	1,36 (1,21-1,53)	$p < 0,001$	n.d.	n.d.
CC	1,35 (1,15-1,59)	$p < 0,001$	n.d.	n.d.
PSAp	0,99 (0,77-1,26)	0,92	0,75 (0,52-1,07)	0,11
GS ≥ 8 patológico	3,02 (1,61-5,68)	$p < 0,001$	1,91 (0,85-4,33)	0,12
	Razón de posibilidades (IC del 95 %)	p	Razón de posibilidades (IC del 95 %)	p
SVI	2,44 (1,30-4,58)	0,01	1,93 (0,79-4,73)	0,15
Volumen tumoral	1,02 (0,97-1,06)	0,44	0,97 (0,92-1,04)	0,42
N+	1,69 (0,74-3,88)	0,21	1,42 (0,41-4,96)	0,58
SM+	1,05 (0,57-1,93)	0,87	0,93 (0,40-2,17)	0,87
ECE	2,01 (1,18-3,73)	0,03	1,00 (0,45-2,20)	0,99
* MVA ajustado para las intervenciones de tratamiento adyuvante y de rescate				

Tabla 13.

	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	p
GC ¹	1,47 (1,26-1,73)	$< 0,001$
Puntuación de Gleason patológica*		
6+7(3+4)	ref	
7(4+3)	3,30 (1,21-9,04)	0,02
8	3,99 (1,48-10,77)	0,01
9-10	2,21 (0,78-6,25)	0,14
Antígeno prostático específico preoperatorio 2	1,23 (0,81-1,85)	0,34
Invasión de vesículas seminales	2,05 (0,85-4,98)	0,11
Margen quirúrgico positivo	1,21 (0,55-2,67)	0,64
Extensión extracapsular	1,29 (0,55-3,01)	0,56

(continuación)

	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	p
Implicación de ganglios linfáticos	0,75 (0,21-2,70)	0,66
Radiación adyuvante	0,87 (0,23-3,32)	0,83
Hormona adyuvante	0,88 (0,35-2,24)	0,79
*La puntuación de Gleason de referencia combinada 6 y 3+4 como modelo no convergió con el uso de Gleason 6 solo como referencia		
¹ Razón de riesgos instantáneos notificado para un aumento del 10 % en la puntuación de GC.		
² Razón de riesgos instantáneos notificado para incrementos de 1,0 unidades del nivel transformado logarítmicamente.		
Abreviaturas - IC: intervalo de confianza; GC: clasificador genómico .		

Tabla 14.

		Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	p
Modelo	GC ¹	1,49 (1,27-1,73)	< 0,001
	Stephenson ¹	1,15 (1,01-1,31)	0,04
¹ Razón de riesgos instantáneos notificado para un aumento del 10 % en la puntuación de GC. Abreviaturas - IC: intervalo de confianza; GC: clasificador genómico			

- 5 Para investigar la magnitud de la razón de riesgos instantáneos para los aumentos incrementales en la puntuación de GC, los presentes inventores evaluaron el tamaño del efecto de cada aumento del 10 % en la puntuación de GC para predecir la metástasis clínica después de ajustar por tratamiento posoperatorio (Tabla 15). Los presentes inventores observaron una tendencia general de aumento de la HR y de disminución de la probabilidad de supervivencia sin metástasis con deciles que aumentan. Sin embargo, esto no fue estadísticamente significativo debido al número pequeño de pacientes, en los deciles superiores del GC. A continuación, los deciles de puntuación de GC se colapsaron gradualmente para crear tres grupos de riesgo de GC (puntuaciones de GC <0,4, 0,4-0,6, ≥ 0,6) y estos mostraron diferencias significativas en la HR (y supervivencia) en comparación con el grupo de referencia así como con el nivel previo (Tabla 16).

15

Tabla 15.

		ref= primer decil de GC		ref = decil anterior de GC		Probabilidad de sin metástasis clínica		
Deciles de GC	% de pacientes	HR (IC del 95 %)	p	HR (IC del 95 %)	p	3 años	5 años	8 años
0,00000-0,1	10	ND	ND			100 %	98 %	98 %
0,10001-0,2	17 %	0,60 (0,04-10,20)	0,72	0,60 (0,04-10,20)	0,72	100 %	100 %	99 %
0,20001-0,3	19 %	5,56 (0,66-47,14)	0,12	9,28 (1,13-76,08)	0,04	100 %	97 %	92 %
0,30001-0,4	13 %	5,86 (0,64-53,68)	0,12	1,05 (0,33-3,32)	0,93	96 %	95 %	92 %
0,40001-0,5	12 %	606 (0,68-53,89)	0,11	1,04 (0,29-3,74)	0,96	96 %	95 %	90 %
0,50001-0,6	9 %	11,12 (1,25-99,33)	0,03	1,83 (0,52-6,49)	0,35	96 %	92 %	80 %
0,60001-0,7	12 %	17,35 (2,06-146,25)	0,009	1,56 (0,52-4,71)	0,43	89 %	86 %	77 %
0,70001-0,8	4 %	16,68 (1,62-171,63)	0,02	0,96 (0,24-3,84)	0,96	87 %	78 %	ND*

(continuación)

		ref= primer decil de GC		ref = decil anterior de GC		Probabilidad de sin metástasis clínica		
Deciles de GC	% de pacientes	HR (IC del 95 %)	p	HR (IC del 95 %)	p	3 años	5 años	8 años
0,80001-0,9	2 %	95,51 (8,82-1034,17)	< 0,001	5,73 (0,97-33,63)	0,05	65 %	ND*	ND*
0,90001-1,0	1 %	106,63 (11,20-1014,70)	< 0,001	1,12 (0,21-5,83)	0,9	80 %	ND*	ND*
* Modelo ajustado para el tratamiento adyuvante								
** No quedan pacientes debido a la censura estadística o a que experimentaron eventos de metástasis clínica								

Tabla 16.

		referencia =GC<0,4		referencia = grupo GC anterior		Probabilidad de sin metástasis clínica		
Categorías de riesgo de GC	% de pacientes	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	p	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	p	3 años	5 años	8 años
< 0,4	60 %	ND	ND			99 %	98 %	95 %
0,4-0,6	21 %	2,39 (1,10-5,17)	0,03	2,39 (1,10-5,17)	0,03	96 %	94 %	87 %
> 0,6	19 %	7,30 (3,51-15,14)	< 0,001	3,06 (1,40-6,72)	0,005	86 %	78 %	73 %
Modelo ajustado por tratamientos adyuvantes								

5

La distribución de casos y de controles en el conjunto de prueba tanto por GC como por los grupos de puntuación de riesgo de Gleason se ilustran en la Figura 33 y se resumen en la Tabla 17. Entre los tumores GS ≤ 6 ($n = 18$), ninguno tuvo puntuaciones altas de GC, mientras que entre los tumores GS 7 ($n = 97$), casi un tercio (29 %) tuvo puntuaciones de GC altas y la mitad de estos eran casos que desarrollaron metástasis temprana después del aumento de PSA. Si bien la mayoría de los pacientes con puntuaciones de Gleason altos (≥ 8) tenían puntuaciones de GC altas, entre los 29 (40 %) con puntuaciones de GC bajas, solo hubo 7 casos con 3 muertes por cáncer de próstata. En conjunto, 116 de los 186 (62 %) pacientes del conjunto de prueba tuvieron puntuaciones de GC bajas, de los cuales solo 21 fueron casos que dieron como resultado 7 fallecimientos por cáncer de próstata. Entre los 70 (38 %) pacientes con puntuaciones altas de GC, hubo 42 casos y 25 de estos hombres murieron de cáncer de próstata. En el conjunto de validación independiente, la distribución de GC en los grupos de puntuación de Gleason mostró una alta concordancia (Figura 34, Tabla 18); aún así, GC identificó un número significativo de pacientes de riesgo alto clínico que no experimentaron resultados adversos en este grupo. Entre los pacientes con puntuación de Gleason bajo (GS 5 a 6), ninguno tuvo puntuaciones de GC altas ($\geq 0,6$) o metástasis clínicas en el seguimiento del estudio. Como se esperaba, un 40 % de los pacientes con GS ≥ 8 tuvieron puntuaciones de GC altas ($\geq 0,6$), de los cuales un 62 % experimentó metástasis y un 41 % murió a causa de su enfermedad. Sin embargo, más de un tercio de los pacientes con GS ≥ 8 (36 %) tuvieron puntuaciones de GC bajas ($< 0,4$) y la mayoría de estos hombres no tuvieron metástasis (77 %) ni fallecieron de cáncer de próstata (85 %) durante el seguimiento. Entre los pacientes con tumores GS 7, un 41 % tuvo puntuaciones de GC altas ($\geq 0,4$) y un 44 % de estos hombres tuvo metástasis clínica, pero para GS 7 con puntuaciones de GC bajas ($< 0,4$), en un 86 % de ellos no se produjo metástasis y solo un 3 % murió a causa de su enfermedad. Esta reclasificación demostró que, si bien las puntuaciones de GC tienden a ser más altas con una puntuación de Gleason más alta, GC se puede usar para identificar además a un número considerable de hombres con tumores Gleason ≥ 8 de "riesgo alto" que tal vez nunca desarrollen metástasis clínicas y por el contrario, se puede usar para identificar entre los tumores Gleason 7 de "riesgo intermedio", un subconjunto enriquecido por eventos de metástasis clínica.

10

15

20

25

Tabla 17.

	GC ≤ 0,5			GC > 0,5		
Categoría de Gleason	n	n METS (%*)	n PCSM (%)	n	n METS (%)	n PCSM (%)
GS ≤ 6	18	2 (11)	0	0	0	0
GS 7	69	12 (17)	4 (5,7)	28	14 (50)	4 (14)
GS 8	12	4 (33)	1 (8,3)	11	6 (54)	5 (45)
GS ≥ 9	17	3 (17)	2 (12)	31	22 (70)	16 (51)

Tabla 18.

Categorías de la ruta GS	Puntuación de GC < 0,4			0,4 ≤ Puntuación de GC ≤ 0,6			Puntuación de GC > 0,6			TOTAL
	N total (%)	METS	PCSM	N total (%)	METS	PCSM	N total (%)	METS	PCSM	
5-6	13 (87)	0	0	2 (13)	0	0	0 (0)	0	0	15
7	66 (59)	9	2	24 (22)	10	1	21 (19)	10	3	111
8	16 (42)	6	2	9 (24)	3	1	13 (34)	7	6	38
9-10	17 (31)	4	3	14 (25)	4	1	24 (44)	16	9	55
N TOTAL	112 (51)	19	7	49 (22)	17	3	58 (27)	33	18	219

- 5 La significación clínica de GC se evidenció adicionalmente por las diferencias estadísticamente significativas de los grupos de GC de riesgo bajo y alto para el criterio de valoración de mortalidad específica del cáncer de próstata (PCSM, por sus siglas en inglés) encontradas dentro de diferentes grupos de riesgo de puntuación de Gleason (Figura 35A-C y Tabla 19). Además, GC fue capaz de separar significativamente ($p < 0,05$) a aquellos pacientes con PSA que experimentarían metástasis clínicas posteriores (Figura 36). Dado que el método de KM no solo tiene en cuenta el
- 10 número de pacientes en riesgo, sino también los datos censurados estadísticamente (por ejemplo, pacientes para los que hubo una pérdida de seguimiento en algún momento) para calcular las proporciones, el número de pacientes en riesgo para cada punto temporal en la Figura 35-36 se muestra en las Tablas 19-20, respectivamente. Estos resultados sugirieron que GC puede predecir con precisión la metástasis mucho antes de que pueda detectarse radiográficamente, puede guiar mejor las decisiones de tratamiento posquirúrgico y puede ayudar a prevenir el
- 15 tratamiento excesivo, la toxicidad y la morbilidad.

Tabla 19.

		Tiempo hasta PCSM después de BCR (años)					
		0	5	10	15	20	
Puntuación de Gleason = 7	GC ≤ 0,5	217	118	85	24	1	N.º de pacientes en riesgo
	GC > 0,5	54	39	14	2	--	
Puntuación de Gleason = 8	GC ≤ 0,5	38	22	16	4	--	
	GC > 0,5	30	26	14	4	1	
Puntuación de Gleason = 9	GC ≤ 0,5	55	37	20	1	--	
	GC > 0,5	88	40	16	4	1	

Tabla 20.

	Tiempo hasta PCSM después de BC (años)					
	0	5	10	15	20	
GC ≤ 0,5	158	158	118	38	4	N.º de pacientes en riesgo
GC > 0,5	26	26	16	5	--	

Ejemplo 9: Valor combinado de biomarcadores genómicos y CAPRA-S en la predicción de muerte por cáncer de próstata en una cohorte quirúrgica de riesgo alto

La mayoría de los hombres con cáncer de próstata letal presentan inicialmente enfermedad localizada y desarrollan recurrencia bioquímica (BCR) después del tratamiento local. Los biomarcadores mejoran potencialmente la predicción del riesgo de progresión después de la prostatectomía radical (PR). Los presentes inventores compararon dos clasificadores post-PR validados: un clasificador genómico (GC) y CAPRA-S (basado en parámetros clinicopatológicos estándar), para predecir la mortalidad específica por cáncer (CSM, por sus siglas en inglés) en una cohorte contemporánea de pacientes con PR.

Materiales y métodos

Población de pacientes

Los sujetos se identificaron a partir de una población de 1010 hombres, inscritos por anticipado en el registro de tumores de la Mayo Clinic, que se sometieron a PR para el adenocarcinoma de próstata entre 2000 y 2006 (véase el Ejemplo 1). Esta población era clínicamente de riesgo alto de metástasis, definido por niveles preoperatorios de antígeno prostático específico (PSA, por sus siglas en inglés) > 20 ng/ml, puntuación de Gleason patológica ≥ 8 , invasión de vesícula seminal (SVI) o GPSM (puntuación de Gleason; PSA preoperatorio; SVI; estado de los márgenes quirúrgicos, SMS) puntuación ≥ 10 . Los datos se recopilaban mediante un diseño de casos en una cohorte; de los 1.010 hombres, 73 (7,2 %) pacientes desarrollaron enfermedad metastásica como lo demuestran las gammagrafías óseas y/o las tomografías computarizadas. Se definió a estos 73 hombres como casos. Se seleccionó para el análisis una muestra aleatoria de un 20 % de toda la cohorte (202 pacientes), que incluyó 19 casos. Los 54 casos restantes no seleccionados por muestreo aleatorio también se incluyeron para el análisis, dando como resultado un total de 256 pacientes. Después de la exclusión por falta de disponibilidad de tejido y control de calidad, la cohorte de validación independiente constó de 219 pacientes (69 casos y 150 controles; mediana de seguimiento, 6,69 años).

Procesamiento de tejidos

Tras una revisión histopatológica, el ARN total se extrajo y se amplificó a partir de muestras de adenocarcinoma prostático primario macrodisecionado de FFPE y se hibridó con Human Exon 1.0 ST GeneChips (Affymetrix, Santa Clara, California) que perfila las regiones codificantes y no codificantes del transcriptoma utilizando aproximadamente 1,4 millones de regiones de selección de sondas, en lo sucesivo denominadas características.

Desarrollo de Clasificadores

Los presentes inventores compararon e integraron dos clasificadores post-PR validados: GC y CAPRA-S. El GC se desarrolló utilizando un estudio de control de casos anidados y contiene el conjunto de 22 biomarcadores como se divulga en el Ejemplo 3. El criterio de valoración primario de GC fue la progresión de la enfermedad metastásica, definido como una gammagrafía ósea o una tomografía computarizada positivas. Los pacientes con puntuaciones de GC $\geq 0,4$ se consideraron de riesgo alto de progresión a metástasis. GC se validó de forma independiente en un estudio con enmascaramiento de seguimiento de la población de pacientes aquí presentada. CAPRA-S es un nomograma que se basa en parámetros clínicos estándar, desarrollado utilizando el registro de CAPSURE y la recurrencia bioquímica (BCR) como criterio principal de valoración (Cooperberg, M. R., *et al.*, The CAPRA-S score: A straightforward tool for improved prediction of outcomes after radical prostatectomy. Cancer, 117(22), 5039-46.). Las puntuaciones CAPRA-S ≥ 6 se consideraron con mayor riesgo de BCR. De los 219 pacientes, 212 tenían datos suficientes para calcular la puntuación de CAPRA-S. De estas, 28 tuvieron eventos de CSM.

GC y CAPRA-S se integraron utilizando un modelo de riesgos instantáneos proporcionales de Cox con la mortalidad específica por cáncer de próstata (CSM) como criterio de valoración principal. Aunque los clasificadores GC y CAPRA-S se desarrollaron para diferentes criterios de valoración (metástasis y BCR, respectivamente), las puntuaciones altas en estos modelos podrían traducirse en un mayor riesgo de CSM. No se entrenaron o refinaron adicionalmente ni GC ni CAPRA-S en esta población de pacientes y las puntuaciones del clasificador sin procesar se usaron para un clasificador genómico y clínico integrado. Este clasificador genómico-clínico integrado, caracterizado por la ecuación $0.20 * CAPRAS + 5.68 * GC$, se validó utilizando la estimación de optimismo del índice c (calculado mediante validación de remuestreo) y su rendimiento se evaluó además en una población independiente de pacientes de riesgo bajo.

Análisis estadístico

El área bajo la curva de eficacia diagnóstica (ROC) se utilizó para comparar inicialmente el rendimiento del clasificador para predecir la metástasis. Se utilizaron gráficos de calibración, curvas ROC y curvas de decisión para evaluar la discriminación global. Se usó el análisis de la curva de decisión de supervivencia para comparar el beneficio neto (por ejemplo, ganancia en sensibilidad ponderada por pérdida en especificidad) en un intervalo de probabilidades del umbral de "decisión de tratar" usando los clasificadores GC y CAPRA-S. La curva de decisión se evaluó para la predicción de CSM dentro de los 5 años tras la PR.

Se utilizó el análisis de riesgos instantáneos proporcionales de Cox para probar las asociaciones entre los clasificadores y las características patológicas adversas (APF, por sus siglas en inglés) para el criterio de valoración de la CSM. El análisis de riesgos instantáneos proporcionales utilizó un esquema de ponderación de Barlow para tener en cuenta el diseño de casos en una cohorte del estudio, se utilizó el método de Lin-Ying para refinar las estimaciones de la varianza. Las curvas de incidencia acumulada se construyeron utilizando el análisis de riesgos competitivos de Fine-Gray para acomodar la censura estadística debido a los decesos. Los análisis se realizaron utilizando R v2.14.1.

Resultados

La Tabla 21 muestra las características clínicas de la cohorte utilizada para este estudio. El alto número de eventos de metástasis y de CSM demostró el riesgo alto de esta cohorte. CAPRA-S y GC fueron los indicadores más pronósticos de CSM mediante el análisis de la ROC de supervivencia (Tabla 22). GC tuvo un AUC de supervivencia de 0,78 (IC del 95 % de 0,65 a 0,89), mientras que CAPRA-S tuvo un AUC de supervivencia de 0,76 (IC del 95 % de 0,65 a 0,88). El análisis de la curva de decisión de supervivencia (Figura 37) mostró que GC tenía un beneficio neto más alto en un intervalo de probabilidades del umbral de "decisión de tratar".

Tabla 21.

	n total (%)
Antígeno prostático específico preoperatorio	
< 10 ng/ml	119 (54)
10-20 ng/ml	59 (27)
> 20 ng/ml	41 (19)
Puntuación de Gleason patológica	
≤ 6	15 (7)
7	111 (51)
≥ 8	93 (42)
Estadio patológico	
pT2N0M0	85 (39)
pT3/4N0M0	102 (47)
pTanyN+M0	32 (15)
	n total (%)
Características patológicas adversas	
Márgenes quirúrgicos positivos	123 (56)
Extensión extracapsular	95 (43)
Invasión de vesículas seminales	81 (37)
Tratamiento postoperatorio	
Radiación adyuvante	24 (11)
Terapia adyuvante de privación de andrógenos	74 (34)
Radiación de rescate	68 (31)
Terapia de privación de andrógenos de rescate	86 (39)
Resultados clínicos	
Recurrencia bioquímica	110 (50)
Resultados clínicos	

(continuación)

	n total (%)
Metástasis clínica	69 (31)
Mortalidad específica por cáncer de próstata	28 (13)

Tabla 22

AUC de supervivencia (IC del 95 %)	
GC	0,78 (0,65-0,89)
CAPRA-S	0,76 (0,65-0,88)
Puntuación de Gleason patológica	0,73 (0,63-0,84)
PSA preoperatorio	0,48 (0,33-0,56)
Márgenes positivos	0,51 (0,35-0,65)
Ganglios linfáticos	0,62 (0,46-0,72)
Invasión de vesículas seminales	0,60 (0,42-0,70)
Extensión extracapsular	0,48 (0,33-0,56)

- 5 Cuando se compararon las puntuaciones de GC y CAPRA-S, si bien las tendencias sugieren que tanto GC como CAPRA-S tuvieron un acuerdo alto con respecto a los pacientes que están realmente en riesgo de cáncer de próstata letal (Figura 38), también hubo una reclasificación sustancial de las categorías de riesgo de CAPRA-S mediante el GC. Es decir, GC fue más específico ya que reclasificó a 108 pacientes a un riesgo más bajo sin afectar significativamente la sensibilidad (Tabla 23).

10

Tabla 23

Riesgo de CAPRA-S	Puntuación de GC < 0,4		Puntuación GC ≥ 0,4		Total
	Pacientes totales	CSM total	Pacientes totales	CSM total	
	n	n (csm total %)	n	n (csm total %)	
≤ 2	1	n.d.	n.d.	n.d.	1
3 a 5	68	6 (8,8)	40	2 (5,0)	108
≥ 6	39	1 (2,5)	64	19 (30)	103
Total	108	7	104	21	212

15

El gráfico de incidencia acumulada (que considera otras causas de muerte como un riesgo competitivo) se muestra para el grupo de riesgo alto de CAPRA-S (CAPRA-S ≥ 6; Figura 39A). Cuando este grupo se estratificó por GC (Figura 39B), los pacientes con puntuaciones altas tanto de CAPRA-S como de GC tuvieron un riesgo considerablemente mayor que los de puntuaciones bajas de GC.

20

Se utilizaron el análisis univariante (UVA) y el multivariante (MVA) para evaluar además la significación estadística de los clasificadores y de las variables clínicas individualmente (UVA) y en presencia de otras variables (MVA). Como se muestra en la Tabla 24, GC, CAPRA-S y la puntuación de Gleason patológica resultaron altamente significativas en el UVA (valor $p < 0,001$), mientras que la afectación de los ganglios linfáticos y la extensión extracapsular fueron significativas (valor $p = 0,01$). En el MVA, si bien CAPRA-S no se incluyó en el análisis multivariante dado que los factores clinicopatológicos en este análisis comprenden CAPRA-S, sólo la GC y la puntuación de Gleason patológica permanecieron estadísticamente significativas (Tabla 24).

Tabla 24.

	Análisis univariante		Análisis multivariante	
	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	valor <i>p</i>	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	valor <i>p</i>
GC*	1,83 (1,42-2,36)	<i>p</i> < 0,001	1,61 (1,24-2,10)	<i>p</i> < 0,001
CAPRA-S**	1,42 (1,19-1,70)	<i>p</i> < 0,001	n.d.	n.d.
Puntuación de la ruta de Gleason	7,84 (2,80-21,97)	<i>p</i> < 0,001	4,80 (1,38-16,71)	0,01
PSA preoperatorio	1,11 (0,79-1,56)	0,54	1,01 (0,60-1,70)	0,96
Márgenes positivos	0,66 (0,29-1,52)	0,33	0,50 (0,18-1,38)	0,18
Ganglios linfáticos	3,53 (1,36-9,16)	0,01	1,45 (0,43-4,91)	0,55
Invasión de vesículas seminales	2,11 (0,92-4,86)	0,08	1,79 (0,60-5,29)	0,29
Extensión extracapsular	3,52 (1,40-8,81)	0,01	2,11 (0,69-6,42)	0,19
* La razón de riesgos instantáneos de GC se ajusta para un tamaño de paso de 0,1				
** CAPRA-S no se incluye en el análisis multivariante dado que los factores clinicopatológicos en este análisis comprenden CAPRA-S				

Un segundo MVA entre GC y CAPRA-S sugirió que tanto GC (HR: 1,62, *p* < 0,001) como CAPRA-S (HR: 1,22, *p* = 0,01) ofrecieron información pronóstica independiente y estadísticamente significativa. Un modelo integrado mejoró la estratificación del riesgo sobre cualquier modelo solo (Figura 40).

Resumiendo, entre los hombres tratados con PR con riesgo alto de recurrencia en función de las variables clinicopatológicas, tanto GC como CAPRA-S fueron factores predictivos significativos de CSM. GC fue capaz de "reducir el riesgo" de manera eficaz en los hombres estratificados en riesgo alto basados solo en CAPRA-S. GC proporcionó información de pronóstico independiente y un modelo que integra GC y CAPRA-S puede mejorar además la predicción del cáncer de próstata letal.

Ejemplo 10: Utilidad clínica de una prueba de pronóstico basada en genómica para metástasis en pacientes de riesgo alto después de prostatectomía.

El cáncer de próstata presenta un impacto sanitario importante para la población en Estados Unidos. Como el cáncer más frecuentemente diagnosticado entre los hombres, se proyectaron casi 240.000 nuevos casos para 2013 (ACS, 2013). Alrededor de la mitad de estos hombres se tratarán con prostatectomía radical (PR) (Marciscano *et al.*, 2012) y aunque muchos lograrán una cura duradera, hasta un 50 % presentará una o más características patológicas adversas, tales como, invasión de vesículas seminales (SVI), extensión extracapsular (ECE) o márgenes quirúrgicos positivos (Swanson *et al.*, 2007, NCCN, 2013). Aunque las directrices consideran que estos pacientes tienen un mayor riesgo de progresión de la enfermedad, solo una minoría desarrollará enfermedad metastásica y finalmente morirá de cáncer de próstata (Pound *et al.*). Además, mientras que el control minucioso con pruebas de PSA posoperatorias puede identificar a los hombres en riesgo, el tiempo hasta la recurrencia bioquímica (BCR) después de la PR no es predictivo para la enfermedad metastásica (Boorjian *et al.*, 2011). Y si bien el tiempo de duplicación de PSA (PSAdt) es un buen sustituto, su determinación precisa puede no ser posible en todos los pacientes, ya que requiere un tiempo precioso que el paciente podría no tener (Freedland *et al.*, 2007).

Las recomendaciones de tratamiento de las pautas de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) incluyen radiación y/o terapia hormonal o vigilancia activa (observación). Estas pautas se basan en parte en los resultados de tres ensayos clínicos independientes aleatorizados de fase III que han demostrado mejoras en la supervivencia sin bioquímica, sin metástasis y específica de cáncer en hombres de riesgo alto tras la PR tratados con radioterapia (RT) (Bolla *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2009; Cuna *et al.*, 2009). A pesar de esto, decidir sobre el uso adecuado de la radioterapia tras la PR sigue siendo una tarea desafiante. El conocimiento de que la mayoría de los pacientes post-PR de riesgo clínico alto nunca desarrollarán metástasis puede generar preocupación sobre la utilización inapropiada o excesiva de la terapia secundaria en esta población. Reconociendo estos factores, las directrices establecen que "predecir el pronóstico es esencial para la toma de decisiones del paciente, selección de tratamiento y terapia adyuvante" (NCCN, 2013). Por tanto, persiste la necesidad de caracterizar con mayor precisión el riesgo de metástasis de un paciente después de la PR para guiar las decisiones de tratamiento.

La evaluación actual del riesgo utilizado cuando se considera la terapia secundaria posoperatoria se basa en variables clinicopatológicas individuales y/o mediante el uso de nomogramas (Lughezzani *et al.*, 2011). Sin embargo, la capacidad de identificar a los pacientes con un riesgo sustancialmente mayor de metástasis y de cáncer de próstata letal es limitada basándose en las características clinicopatológicas. Por tanto, resulta evidente la necesidad de nuevas

herramientas de predicción de riesgos, tal como la información genómica, que reflejen el verdadero potencial biológico para la recurrencia y la propagación del tumor. Una de estas herramientas es una prueba de clasificador genómico (GC) postoperatorio como se describe en el Ejemplo 3, que usa un ensayo de micromatrices de transcriptoma completo con muestras de cáncer de próstata fijadas en formalina y embebidas en parafina. Desarrollado en colaboración con la Mayo Clinic, se diseñó para predecir la metástasis clínica temprana después de la PR (Erho 2013). En un estudio de validación clínica de una población contemporánea de riesgo alto de hombres después de RP con patología adversa, se descubrió que la prueba del GC predice con mayor precisión la metástasis tras la PR que los modelos de riesgo clínico (Davicioni, E. *et al.* 2013).

Al evaluar una nueva prueba molecular, los expertos han recomendado que se recopilen indicios no solo sobre la validez clínica de la prueba, sino también de cómo el uso de la prueba influyó en la gestión de la práctica clínica, una medida bien establecida de la utilidad clínica de la prueba (Homberger *et al.* Mole Gen, 2012, CDC, 2007). El objetivo principal del presente estudio, fue determinar cómo el conocimiento de los urólogos de los resultados de la prueba del GC influyó en las recomendaciones de tratamiento adyuvante y de rescate después de la PR.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio de utilidad clínica utilizó un diseño prospectivo, previo a la publicación, que consta de dos subestudios independientes para evaluar casos de pacientes en diferentes puntos del tratamiento del paciente; ambos se denominan colectivamente en el presente documento como el estudio DECIDE (del inglés, DECision-Impact DEcipher). En un estudio, las recomendaciones de tratamiento de los urólogos se evaluaron en el escenario adyuvante, tras la PR sin ningún indicio de aumento de PSA o BCR. En el otro, se evaluaron las recomendaciones de tratamiento para una cohorte diferente de casos en el escenario de rescate, tras la PR con indicio de aumento de PSA o BCR. Se invitó a los urólogos a revisar un conjunto de doce casos y proporcionar recomendaciones de tratamiento para los casos en cada uno de los puntos temporales de rescate y adyuvante. A los urólogos se les presentaron resultados clínicos no identificados de pacientes reales implicados en un estudio de validación clínica realizado previamente (Davicioni *et al.* 2013) y se le pidió que proporcionaran recomendaciones de tratamiento basadas únicamente en la información clínica proporcionada (pre-GC). A continuación, se evaluaron los resultados de la prueba del GC para los mismos casos no identificados y se pidió nuevamente a los urólogos que proporcionaran recomendaciones de tratamiento (post-GC). Veinte urólogos participaron en el estudio de escenario adyuvante y 15 en el estudio de escenario de rescate.

El estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki y el informe Belmont y fue revisado y aprobado por un IRB independiente (Quorum Review Inc., Seattle, Washington).

El objetivo principal de este estudio fue evaluar el efecto de la prueba del GC en las recomendaciones de tratamiento adyuvante y de rescate de los urólogos para los casos tras la PR de riesgo clínico y patológico alto. Los objetivos secundarios fueron investigar cambios específicos en la recomendación, propensión del resultado de GC a dar como resultado una mayor o menor intensificación del tratamiento, la importancia relativa del GC en las variables clínicas y el impacto del GC en la confianza de los urólogos con las recomendaciones de tratamiento. Los criterios de elegibilidad definidos por el protocolo para participar en el estudio requerían urólogos certificados por la junta de EE.UU. que ejercieran durante al menos 3 años y realizaran un volumen alto de PR anualmente (Tabla 25). Todos los urólogos que participaron en el estudio fueron especialistas, oncólogos urólogos. Se identificó a los participantes potenciales a través de listas de delegados de la conferencia y a través de redes establecidas de líderes de opinión clave y se evaluó su elegibilidad utilizando una base de datos disponible. Se enviaron invitaciones por correo electrónico a 50 urólogos que cumplieron con los criterios de inclusión. Los paquetes de inscripción se enviaron a los urólogos elegibles interesados en participar en el estudio e incluyeron una carta de presentación, un manual educativo sobre la prueba del GC, un acuerdo de confidencialidad y un enlace web al formulario de consentimiento informado (FCI) del estudio y los cuestionarios electrónicos de informes de casos (eCRQ, por sus siglas en inglés).

Tabla 25.

	Total	Evaluación adyuvante	Evaluación de rescate
	n = 21	n = 20	n = 15
	N.º (%)	N.º (%)	N.º (%)
Escenario de práctica			
Cuidado terciario	13 (62 %)	12 (60 %)	9 (60 %)
Comunidad (hospital o privada)	8 (38 %)	8 (40 %)	6 (40 %)

(continuación)

	Total	Evaluación adyuvante	Evaluación de rescate
N.º de años en práctica			
Media	8,1	8,3	7,8
Intervalo	3-25	3-25	3-25
N.º prostatectomía radical por año			
Media	184	179	200
N.º prostatectomía radical por año			
Intervalo	30-300	30-300	30-300
Región geográfica			
Centro Oeste/Sur	4 (20 %)	4 (20 %)	3 (20 %)
Sureste	4 (20 %)	4 (20 %)	3 (20 %)
Atlántico medio	4 (20 %)	3 (15 %)	2 (13 %)
Noreste	5 (25 %)	5 (25 %)	5 (33 %)
Norte central	4 (20 %)	4 (20 %)	2 (13 %)

Se seleccionaron veinticuatro casos de pacientes tras la PR de riesgo alto (12 adyuvantes y 12 de rescate) para una revisión urológica del estudio de validación clínica realizado previamente. El número de casos de pacientes se seleccionó para proporcionar suficientes casos para evaluar suficientemente la toma de decisiones de los urólogos, en varios tipos de pacientes de riesgo alto y se limitó a doce casos en cada escenario de tratamiento para minimizar la fatiga de los participantes del estudio en la revisión de los casos de pacientes. Todos los casos fueron de riesgo alto después de la PR, según lo definido por la presencia de una o más características patológicas adversas que incluyen (1) puntuación de Gleason patológica 8+ o puntuación de Gleason 7 con patrón primario 4; (2) estadio patológico T3a (extensión extracapsular) o T3b (invasión de vesículas seminales); (3) márgenes quirúrgicos positivos; o (4) mejora del grado de Gleason de biopsia a cirugía. Los casos que no experimentaron un punto más bajo de PSA después de la PR se excluyeron del estudio.

Los casos se seleccionaron basándose en sus factores de riesgo clínicos y en la probabilidad predicha del GC de desarrollar enfermedad metastásica en 5 y 3 años tras la PR para los escenarios de tratamiento adyuvante y de rescate, respectivamente. En el escenario adyuvante, se seleccionaron seis casos con características de riesgo clínico y riesgo de GC concordantes y seis casos con riesgo predicho discordante. En el escenario de rescate, estos números fueron 5 y 7, respectivamente. El riesgo clínico se determinó basándose en las siguientes variables clinicopatológicas: edad en la cirugía, niveles preoperatorios de PSA, estadio patológico, biopsia y puntuación de Gleason patológica, presencia o ausencia de SVI, presencia o ausencia de ECE, estado de los márgenes quirúrgicos y afectación de los ganglios linfáticos (Tabla 26). Adicionalmente, Se proporcionó el tiempo de duplicación de PSA (PSAdt) y el tiempo hasta BCR para los casos evaluados en el escenario de rescate. El riesgo alto (bajo) de GC se definió como una probabilidad prevista de metástasis de 5 o 3 años mayor (menor) de un 6 % para el escenario adyuvante y mayor (menor) de un 18 % para el escenario de rescate. La probabilidad predicha se obtuvo a partir de una curva de predicción que utiliza el modelo de regresión de Cox para convertir la puntuación de GC de 22 marcadores de la micromatriz de oligonucleótidos en una probabilidad de metástasis clínica del paciente a los 5 años después de la PR. Se creó una función que tradujo las puntuaciones de GC en probabilidades de eventos de metástasis de 5 años clínicas y la línea resultante de mejor ajuste se utilizó para predicciones futuras para nuevos pacientes. La curva permitió la traducción de una puntuación de GC (abscisas) en la probabilidad de metástasis clínica de un paciente (ordenadas) mediante inspección visual o mediante un cálculo simple. Se utilizó el umbral límite para la prueba del GC de $\geq 6\%$ para identificar un paciente en riesgo alto de metástasis clínica por encima del riesgo promedio para otro riesgo alto similar (por ejemplo, pacientes con una o más características patológicas adversas) o por el contrario, en menor riesgo que el riesgo promedio de tales pacientes para los pacientes con resultados de la prueba de Decipher $< 6\%$.

Tabla 26

	Adyuvante	Rescate
	N.º (N = 12) (%)	N.º (N = 12) (%)
Edad (Años en PR o en BCR)		
Mediana (mín., máx.)	60 (48, 70)	66 (57, 74)
Antígeno prostático específico preoperatorio		
< 10 ng/ml	10 (83,3)	9 (75)
10-20 ng/ml	1 (8,3)	2 (16,7)
> 20 ng/ml	1 (8,3)	0
ND	0	1 (8,3)
Grupos de riesgo de D'Amico		
Bajo	2 (16,7)	1 (8,3)
Intermedio	4 (33,3)	7 (58,3)
Alto	6 (50)	4 (33,3)
Estadio patológico		
pT2N0M0	6 (50)	8 (66,7)
pT3N0M0	6 (50)	4 (33,3)
Extensión extracapsular		
Presente	5 (41,7)	3 (25)
Invasión de vesículas seminales		
Presente	4 (33,3)	2 (16,7)
Estado del margen quirúrgico		
Positivo	8 (66,7)	6 (50)
Puntuación de Gleason patológica		
6	3 (25)	0
7 (3+4)	4 (33,3)	2 (16,7)
7 (4+3)	1 (8,3)	4 (33,3)
8	1 (8,3)	5 (41,7)
9	2 (16,7)	1 (8,3)
10	1 (8,3)	0
Tiempo hasta BCR (meses)		
Mediana (Mín., Máx.)	ND	16 (1, 112)
≤ 36 meses	ND	9b (75)
> 36 meses	ND	3 (25)
PSAdt		
< 6 meses	ND	5 (41,7)
≥ 6 meses	ND	6 (50)
< 9 meses	ND	9 (75)
≥ 9 meses	ND	2 (16,7)
ND	ND	1 (8,3)

Todos los casos se anonimizaron y se presentaron de forma aleatoria para eliminar el sesgo hacia las recomendaciones de los urólogos de tratamiento antes y después del GC. Los casos fueron aleatorizados tanto de urólogo a urólogo como de pre a post-GC. La información sobre las variables clínicas y los resultados de las pruebas de GC se proporcionó a los urólogos a través de una plataforma en línea segura y todas las recomendaciones de tratamiento se recopilaban mediante el eCRQ. Las recomendaciones de tratamiento incluyeron la derivación a un oncólogo de radiación para la radiación y/o el inicio de hormonas, observación minuciosa o cualquier otra recomendación no incluida en el eCRQ.

Los intervalos de confianza para la probabilidad de cambio de recomendación de pre-GC a post-GC se construyeron usando una aproximación a la normal, un nivel de significación de un 5 % y todas las recomendaciones se consideraron independientes. Se utilizaron pruebas de chi cuadrado para la evaluación univariante de los factores predictivos de tratamiento y se realizaron análisis multivariantes utilizando regresión logística. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando SAS 9.2 (Cary, Carolina del Norte). Todas las pruebas fueron bilaterales con una probabilidad de error de tipo I del 5 %.

RESULTADOS

Todos los médicos participantes ejercían y en "gran volumen", que realizan un promedio de 184 PR por año (Tabla 25). Participaron veintiún urólogos de 18 instituciones diferentes de los EE.UU.: 20 en el escenario adyuvante y 15 en el escenario de rescate. Catorce de estos urólogos completaron la evaluación de los casos en ambos subestudios. De los 21 urólogos, un 38 % (n = 8) ejercía en un hospital comunitario o en un escenario de práctica privada y un 62 % (n = 13) ejercía en centros de atención terciaria, la mayoría (85 %) de los cuales son centros oncológicos integrales designados por el National Cancer Institute (NCI). Los urólogos habían practicado y realizado cirugías durante 3 a 25 años (media de 8,1 años) y todos tenían una amplia experiencia en el manejo y tratamiento de pacientes con cáncer de próstata antes y después de la PR.

Se seleccionaron doce casos de pacientes retrospectivamente para revisión por urólogos en cada uno de los escenarios adyuvante y de rescate (Tabla 26). La mitad de los casos de pacientes adyuvantes se consideraron de riesgo bajo a intermedio antes de la operación de acuerdo con los grupos de riesgo de D'Amico, pero todos fueron mejorados/estadificados posteriormente después de la operación. Asimismo, un 75 % de estos casos se presentó con una puntuación de Gleason patológica ≥ 7 y un 36 % tenía ≥ 65 años de edad en el momento de la cirugía. Para los casos revisados en el escenario de rescate, la mitad tuvo un tiempo de BCR ≤ 24 meses y un 75 % presentó un PSAdt rápido (< 9 meses). La mayoría (58 %) de estos casos tenían ≥ 65 años de edad en el momento de la BCR.

En el contexto del tratamiento adyuvante, un 43 % (IC del 95 %: 37-49 %) de las recomendaciones cambiaron después de la revisión de los resultados de la prueba GC (Tabla 27). Específicamente, entre las evaluaciones de casos con una recomendación previa al GC que implica tratamiento, un 27 % (IC del 95 %: 19-35 %) de las recomendaciones se cambiaron a observación post-GC. De manera destacable, para evaluaciones de casos con una recomendación previa al GC de radiación sola (n = 100), un 31 % (IC del 95 %: 22-41 %) cambió a observación después del GC (Tabla 27). Entre las evaluaciones de casos donde inicialmente se eligió la observación (n = 114), se recomendó tratamiento para un 37 % de las evaluaciones de casos posteriores al GC, principalmente a favor de la radioterapia (37/42). Esto se puede visualizar en la Figura 41, que muestra cómo, en comparación con las recomendaciones de los urólogos antes del GC, las recomendaciones post-GC para observación o tratamiento (radiación y/u hormonas) se alinearon con un grado alto con el riesgo asignado por la prueba del GC.

Tabla 27

		Adyuvante			Rescate		
Recomendación de tratamiento					Recomendación de tratamiento		
Pre-GC	Post-GC	N Pre-GC	Cambio N (%)	IC 95 %	N Pre-GC	Cambio N (%)	CI al 95 %
Global	Cualquier cambio	240	103 (43 %)	37-9 %	180	95 (53 %)	45-60 %
Observación	Cualquier tratamiento	114	42 (37 %)	28-46 %	31	19 (61 %)	42-78 %
	Radiación	114	37 (32 %)	24-42 %	31	12 (39 %)	22-58 %
	Terapia hormonal	114	4 (4 %)	1-9 %	31	0 (0 %)	
	Radiación + Hormonoterapia	114	1 (0,9 %)	0-5 %	31	7 (23 %)	10-41 %
	Otras*	114	1 (1 %)	0-5 %	31	2 (7 %)	0,8-21 %
Cualquier tratamiento	Observación	125	34 (27 %)	19-35 %	143	23 (16 %)	11-23 %
	Radiación	100	31 (31 %)	22-41 %	82	11 (13 %)	7-23 %
	Terapia hormonal	1	1 (100 %)	3-100 %	6	1 (17 %)	0,4-64 %
	Terapia de radiación + hormonal	24	2 (8 %)	1-27 %	55	11 (20 %)	10-33 %

(continuación)

		Adyuvante			Rescate		
Recomendación de tratamiento					Recomendación de tratamiento		
Otras*	Observación	1	1 (100 %)	3-100 %	6	0 (0 %)	
*En el escenario adyuvante, "otras" recomendaciones de tratamiento incluyeron: "volver a verificar la ruta" y "consultar con oncólogo médico y oncólogo radiólogo"							
*En el escenario de rescate, "otras" recomendaciones de tratamiento incluyeron: "DRE, imágenes" x3, "DRE, imágenes, posible derivación a oncólogo radioterápico" x2 y "derivación al médico oncólogo"							

En el escenario de rescate, las recomendaciones de tratamiento cambiaron un 53 % (IC del 95 %: 45-60 %) de las veces (Tabla 27). Entre las evaluaciones de casos con una recomendación previa al GC que implica tratamiento (n = 143), un 16 % (IC del 95 %: 11-23 %) cambió a observación post-GC. Como era de esperar, hubo menos recomendaciones de observación previas al GC (n = 31) para las evaluaciones de casos con BCR, a un 61 % se le recomendó cambiar de observación a cualquier tratamiento post-GC con radiación sola (n = 12) o junto con terapia hormonal (n = 7) (Tabla 27). Similar al análisis del escenario adyuvante anterior, los presentes inventores observaron una tendencia que mostró un alineamiento de la observación frente a las recomendaciones de tratamiento con la puntuación de GC, a pesar de que las tasas de recomendación de tratamiento fueron más altas en general en el escenario de rescate (Figura 43). Al tener en cuenta la correlación intraobservador, la probabilidad de los urólogos de cambiar la recomendación se distribuyó normalmente de forma aproximada, con probabilidades estimadas de cambio de recomendación de un 43 % (IC del 95 %: 36-50 %) en el escenario adyuvante y de un 53 % (IC del 95 %: 39-67 %) en el escenario de rescate. Esto indicó que ningún urólogo está siempre cambiando o dejando de cambiar su recomendación de antes a después de la GC en cualquier escenario.

Para examinar además el impacto de las relaciones entre las variables clinicopatológicas y los resultados de la prueba del GC en las recomendaciones de tratamiento de los urólogos, los presentes inventores evaluaron la proporción de urólogos que recomendaron el tratamiento antes y después de la GC sobre el conjunto completo de evaluaciones de casos, así como dentro de las variables clinicopatológicas individuales para pacientes de riesgo alto y bajo de GC (Tabla 29A-B). El riesgo de GC se estableció en función de si la probabilidad prevista de desarrollar metástasis estaba por encima (riesgo de GC alto) o por debajo (riesgo de GC bajo) del riesgo medio para la población del estudio original (véanse los métodos). En conjunto, en el escenario adyuvante, se recomendó tratamiento un 52 % de las veces antes del GC. Al revisar los resultados de la prueba del GC, a los de un riesgo de GC bajo se les recomendó tratamiento solo un 21 % de las veces en comparación con aquellos con un riesgo de GC alto, a quienes se les recomendó tratamiento un 90 % de las veces ($p < 0,0001$). De modo similar, en el escenario de rescate, la proporción general de recomendación de tratamiento fue de un 79 % antes de la GC, pero después de GC cayó al 75 % en el grupo de bajo riesgo de GC y aumentó al 85 % en el grupo de riesgo alto de GC ($p = 0,031$).

Tabla 29A.

Tabla 29A. Escenario adyuvante								
		Recomendación Post-GC						Totales
		N (fila %) [IC del 95 %]						
		Observa	Cualquier tratamiento	Radioterapia	Terapia de radiación + hormonal	Terapia hormonal	Otros	
Recomendación Pre-GC	Observa	71 (62 %)	42 (37 %)	37 (32 %)	1 (0,9 %)	4 (4 %)	1 (1 %)	114
		[52-71 %]	[28-46 %]	[24-42 %]	[0-5 %]	[1-9 %]	[0-5 %]	
	Cualquier tratamiento	34 (27 %)	91 (73 %)	ND	ND	0	0	125
		[19-35 %]	[64-806 %]					
	Radioterapia	31 (31 %)	ND	51 (51 %)	18 (18 %)	0	0	100
		[22-41 %]		[41-61 %]	[11-27 %]			
	Terapia de radiación + hormonal	2 (8 %)	ND	6 (25 %)	16 (67 %)	0	0	24
		[1-27 %]		[10-47 %]	[45-84 %]			
	Terapia hormonal	1 (100 %)	ND	0	0	0	0	1
		[3-100 %]						
Otras*	1 (100 %)	0	0	0	0	0	1	
	[3-100 %]							
	Totales	106	133	94	35	4	1	240
La región sombreada desglosa "Cualquier tratamiento" en las tres opciones de tratamiento disponibles y no se incluyen en los totales de fila y columna								
*En el escenario de adyuvante, "otras" recomendaciones de tratamiento incluyeron: "volver a verificar la ruta" y "consultar con oncólogo médico y oncólogo radiólogo"								

Tabla 29B

Tabla 29B. Escenario de rescate								
		Recomendación Post-GC						Totales
		N (fila %) [IC del 95 %]						
		Observa	Cualquier tratamiento	Radioterapia	Terapia de radiación + hormonal	Terapia hormonal	Otros	
Recomendación Pre-GC	Observa	10 (32 %) [17-51 %]	19 (61 %) [42-78 %]	12 (39 %) [22-58 %]	7 (23 %) [10-41 %]	0	2 (7 %) [0,8-21 %]	31
	Cualquier tratamiento	23 (16 %) [11-23 %]	118 (86 %) [79-91 %]	78 (55 %) [46-63 %]	37 (26 %) [19-34 %]	3 (2 %) [0,4-6 %]	2 (2 %) [0,3-9 %]	143
	Radiación	11 (13) [7-23 %]	69 (84 %) [74-91 %]	53 (65 %) [53-75 %]	16 (20 %) [12-30 %]	0	2 (2 %) [0,3-9 %]	82
	Terapia de radiación + hormonal	11 (20 %) [10-33 %]	44 (80 %) [67-90 %]	23 (42 %) [29-56 %]	20 (36 %) [24-50 %]	1 (2 %) [0-10 %]	0	55
Terapia hormonal	1 (17 %) [0,4-64 %]	5 (83 %) [36-100 %]	2 (33 %) [4-78 %]	1 (17 %) [0,4-64 %]	2 (33 %) [4,3-78 %]	0	6	
Otras*	0	6 (100 %) [54-100 %]	1 (17 %) [0,4-64 %]	5 (83 %) [36-100 %]	0	0	6	
	Totales	33	143	91	49	3	4	180

La región sombreada desglosa "Cualquier tratamiento" en las tres opciones de tratamiento disponibles y no se incluyen en los totales de fila y columna

*En el escenario de rescate, "otras" recomendaciones de tratamiento incluyeron: "DRE, imágenes" x3, "DRE, imágenes, posible derivación a oncólogo radioterápico" x2 y "derivación al médico oncólogo"

- 5 Cuando se evaluaron las variables clínicas individuales en el escenario adyuvante (Tabla 30), los pacientes con ECE representaron el subgrupo con la mayor proporción de recomendaciones de tratamiento pre-GC (77 %); esto se redujo al 28 % para las evaluaciones de casos de bajo riesgo de GC y aumentó al 97 % para las evaluaciones de casos de riesgo alto de GC posteriores al GC ($p < 0,0001$) (Figura 42). De modo similar, en casos con márgenes quirúrgicos positivos, a un 54 % se les recomendó tratamiento pre-GC. La recomendación de tratamiento descendió a un 18 % para los casos con bajo riesgo de GC y aumentó a un 93 % en los casos de riesgo alto de GC ($p < 0,0001$). Para los
- 10 casos con enfermedad con puntuación de Gleason patológica ≥ 7 , a un 50 % se les recomendó tratamiento pre-GC, entre los de bajo riesgo de GC solo se recomendó tratamiento a un 25 % frente a un 88 % de los casos de riesgo alto de GC ($p < 0,01$). La mayor magnitud de cambio se observó en los casos con SVI. Pre-GC, se recomendó tratamiento a un 70 % de los casos de SVI, pero esto se redujo a un 42 % de los casos después de la GC. Entre los casos con bajo riesgo de GC, solo a un 23 % se le recomendó tratamiento en presencia de SVI. Los casos con riesgo alto de GC aparentemente se percibieron por los urólogos como un refuerzo de la patología SVI de riesgo alto y a un 95 % se les recomendó para tratamiento ($p < 0,0001$). Estos resultados reforzaron el impacto de la prueba del GC e indicaron que la proporción de recomendación de tratamiento estaba más fuertemente asociada con el riesgo de GC (o probabilidad de desarrollar metástasis) que cualquiera de las variables clínicas (Tabla 30). La evaluación de variables clínicas
- 15 individuales en el escenario de rescate (Tabla 30), mostró que las diferencias en patología adversa dentro de ECE, SVI y el estado de los márgenes no parecieron influir en las recomendaciones de tratamiento posteriores al GC (Figura 44). El principal impulsor de las recomendaciones de tratamiento fue PSA_{dt}. Como se esperaba, a los casos con un PSA_{dt} rápido de < 6 meses se les recomendó para tratamiento por un 93 % de los urólogos antes del GC. Sin embargo, la proporción se redujo a un 73 % en pacientes de bajo riesgo de GC después de GC. Para casos con PSA_{dt} más prolongado (y por tanto, un presumible mejor pronóstico), solo se hicieron 14 recomendaciones de tratamiento antes
- 20 de la GC, pero esto aumentó a 25 post-GC y todos estos casos tenían riesgo alto de GC. Como se observó para el escenario adyuvante, dentro del estudio de escenario de rescate, el riesgo del GC tuvo un mayor impacto en la recomendación de tratamiento que la mayoría de las variables clínicas (aparte del estado de los márgenes).
- 25

Tabla 30.

				Tratamiento recomendado Post-GC		Valor <i>p</i> para el efecto de la variable clínica Pre-GC	Valores <i>p</i> para el tratamiento Post-GC	
Punto temporal	Variable		Tratamiento recomendado Pre-GC	Riesgo de GC bajo	Riesgo de GC alto		Efecto del riesgo de GC	Efecto de la variable clínica
Adyuvante	Global		125 (52,1 %)	25 (20,8 %)	108 (90 %)		< 0,0001	ND
	ECE	Ausente	48 (34,3 %)	14 (17,5 %)	50 (83,3 %)	< 0,0001	< 0,0001	0,16
		Presente	77 (77 %)	11 (27,5 %)	58 (96,7 %)			
	SVI	Ausente	69 (43,1 %)	11 (18,3 %)	89 (89 %)	< 0,0001	< 0,0001	0,36
		Presente	56 (70 %)	14 (23,3 %)	19 (95 %)			
	Márgenes positivos	Ausente	39 (48,8 %)	14 (23,3 %)	15 (75 %)	0,49	< 0,0001	0,24
		Presente	86 (53,8 %)	11 (18,3 %)	93 (93 %)			
	Actualización de Gleason	Degradación	40 (66,7 %)	9 (22,5 %)	20 (100 %)	< 0,0001		
		Sin cambio	45 (37,5 %)	13 (21,7 %)	49 (81,7 %)		< 0,0001	0,97
		Ascenso	40 (66,7 %)	3 (15 %)	39 (97,5 %)			
	Gleason patológico	< 7	36 (45 %)	10 (16,7 %)	20 (100 %)	0,046		
		7	50 (50 %)	15 (25 %)	35 (87,5 %)		0,011	0,5
		> 7	39 (65 %)		53 (88,3 %)			
Rescate	Global		143 (79,4 %)	79 (75,2 %)	64 (85,3 %)		0,031	ND
	ECE	Ausente	98 (72,6 %)	42 (70 %)	64 (85,3 %)	0,0003	0,009	0,1
		Presente	45 (100 %)	37 (82,2 %)				
	SVI	Ausente	113 (75,3 %)	56 (74,7 %)	64 (85,3 %)	0,0051	0,03	0,62
		Presente	30 (100 %)	23 (76,7 %)				
	Márgenes positivos	Ausente	53 (58,9 %)	7 (46,7 %)	64 (85,3 %)	< 0,0001	0,0005	0,007

(continuación)

				Tratamiento recomendado Post-GC		Valor <i>p</i> para el efecto de la variable clínica Pre-GC	Valores <i>p</i> para el tratamiento Post-GC	
Punto temporal	Variable		Tratamiento recomendado Pre-GC	Riesgo de GC bajo	Riesgo de GC alto		Efecto del riesgo de GC	Efecto de la variable clínica
		Presente	90 (100 %)	72 (80 %)				
	Actualización de Gleason	Sin cambio	101 (74,8 %)	48 (80 %)	64 (85,3 %)	0,008	0,23	0,14
		Ascenso	42 (93,3 %)	31 (68,9 %)				
	Gleason patológico	7	75 (83,3 %)	48 (80 %)	26 (86,7 %)	0,29	0,03	0,37
		> 7	68 (75,6 %)	31 (68,9 %)	38 (84,4 %)			
	Tiempo de BCR	< 36 meses	123 (91,1 %)	79 (79,2 %)	27 (90,0 %)	< 0,0001	0,8	0,11
		≥ 36 meses	20 (44,4 %)		37 (82,2 %)			
	PSAdt	< 6 meses	70 (93,3 %)	44 (73,3 %)	14 (93,3 %)	0,007	0,058	0,72
		≥ 6 meses	67 (74,4 %)	35 (77,8 %)	38 (84,4 %)			
		< 9 meses	123 (91,1 %)	79 (75,2 %)	27 (90 %)	< 0,0001	0,11	0,93
		≥ 9 meses	14 (46,7 %)		25 (83,3 %)			
Riesgo de GC bajo (alto) en el punto temporal de adyuvante = probabilidad predicha de 5 años < 6 % (> 6 %)								
Riesgo de GC bajo (alto) en el punto temporal de rescate = probabilidad predicha de 3 años < 18 % (> 18 %)								

Para medir los cambios recomendados en la intensidad del tratamiento, los presentes inventores establecieron una percepción clínica de referencia del riesgo (en lo sucesivo, riesgo percibido). Los casos se consideraron de bajo riesgo percibido si menos de la mitad de los urólogos recomendaban tratamiento y de riesgo alto percibido si más de la mitad recomendaron tratamiento en ausencia de los resultados de la prueba del GC. En los escenarios adyuvante y de rescate, los presentes inventores observaron que si el riesgo percibido era alto pero el riesgo de GC era bajo, a continuación, un 50 % y un 46 %, respectivamente, de las recomendaciones redujeron la intensidad del tratamiento posterior al GC (por ejemplo, radiación a observación o combinación de radiación/hormonas a radiación solamente) (Tabla 28). Se hicieron muy pocas recomendaciones que aumentaran la intensidad del tratamiento, (solo un 5 % y un 3,8 %, respectivamente, para las recomendaciones de tratamiento adyuvante y de rescate). En cambio, para casos con un riesgo inicial bajo percibido pero riesgo alto de GC, los presentes inventores observaron un aumento de un 55 % y de un 58 % en la intensidad del tratamiento tanto en el escenario adyuvante como en el de rescate, respectivamente. La influencia del riesgo de GC en el cambio de intensidad para todas las categorías de riesgo clínico y en los escenarios de tratamiento fue estadísticamente significativa ($p < 0,0001$). Asimismo, un modelo multivariante ajustado para el riesgo clínico pre-GC mostró que el riesgo del GC influyó en el cambio en la intensidad de la recomendación de tratamiento ($p < 0,0001$). Para comprender en qué medida el resultado de la prueba del GC afecta la confianza al hacer una recomendación de tratamiento, se pidió a los urólogos que informaran sobre el grado en que se sentían seguros de la recomendación del tratamiento realizada para las evaluaciones de casos tanto antes como después del GC, así como la medida en que sintieron que el resultado de la prueba del GC influyó en esas recomendaciones de tratamiento. Los resultados mostraron que para las evaluaciones de casos donde se hizo una recomendación de tratamiento, la confianza de los urólogos en las recomendaciones de tratamiento aumentó en un 25 % y un 23 % en los escenarios adyuvante y de rescate, respectivamente. Adicionalmente, los urólogos informaron que el resultado de la prueba de GC influyó en su recomendación de tratamiento en un 83,5 % (adyuvante) y un 87,4 %

(rescate) de las evaluaciones de casos (Tabla 31). Como se muestra en la Figura 45, los urólogos notifican una mayor confianza en las recomendaciones de tratamiento realizadas después de los resultados de las pruebas del GC. La Tabla 32 muestra cinco pacientes no identificados de la cohorte utilizada en este estudio, sus características clínicas, la probabilidad pronosticada en cinco años basada en la prueba del GC y el resultado clínico real observado. Como se ve allí, las bajas probabilidades predichas por la prueba del GC se corresponden con ninguna indicio de enfermedad (NED), mientras que la alta probabilidad predicha corresponde a la enfermedad metastásica (MET).

Tabla 28.

Punto temporal	Riesgo percibido	Riesgo de GC	Disminución	Sin cambio	Aumento
Adyuvante	alto	bajo	20 (50 %)	18 (45 %)	2 (5 %)
		alto	3 (5 %)	35 (58,3 %)	22 (36,7 %)
	bajo	bajo	15 (18,8 %)	60 (75 %)	5 (6,3 %)
		alto	3 (5 %)	24 (40 %)	33 (55 %)
Rescate	alto	bajo	48 (45,7 %)	53 (50,5 %)	4 (3,8 %)
		alto	1 (3,3 %)	17 (56,7 %)	12 (40 %)
	bajo	alto	4 (8,9 %)	15 (33,3 %)	26 (57,8 %)

Riesgo percibido bajo (alto) $\leq$ mitad ($>$ mitad) de facultativos inicialmente recomiendan el tratamiento
 Riesgo de GC bajo (alto) en el punto temporal de adyuvante = probabilidad predicha de 5 años $<$ 6 % ($>$ 6 %)
 Riesgo de GC bajo (alto) en el punto temporal de rescate = probabilidad predicha de 3 años $<$ 18 % ($>$ 18 %)

Tabla 31.

	Todos		Recomendación modificada	
	Prueba Pre-GC	Prueba Post-GC	Prueba Pre-GC	Prueba Post-GC
Adyuvante				
Confianza en la recomendación del tratamiento				
Aceptar	72,9 %	81,7 %	70,9 %	88,3 %
Discrepar	3,8 %	5,8 %	4,9 %	2,9 %
Neutra	23,3 %	12,5 %	24,3 %	8,7 %
La prueba del GC influyó en la recomendación del tratamiento				
Aceptar	ND	62,5 %	ND	83,5 %
Discrepar	ND	8,3 %	ND	2,9 %
Neutra	ND	29,2 %	ND	13,6 %
Rescate				
Confianza en la recomendación del tratamiento				
Aceptar	72,8 %	82,2 %	68,4 %	84,2 %
Discrepar	4,4 %	2,8 %	5,3 %	2,1 %
Neutra	22,8 %	15,0 %	26,3 %	13,7 %
La prueba del GC influyó en la recomendación del tratamiento				
Aceptar	ND	68,3 %	ND	87,4 %
Discrepar	ND	11,1 %	ND	4,2 %
Neutra	ND	20,6 %	ND	8,4 %

El acuerdo con la confianza en la recomendación del tratamiento se evaluó en una escala de Likert de 5 puntos, donde 3 se consideró neutra

Tabla 32.

	Edad	PSAp	ECE	SVI	SM	Gleason	Nomograma*	Probabilidad predicha de METS a los 5 años	Resultado real**
A	58	194	+	+	+	3+4	Alto	Bajo (5 %)	NED
B	60	22	+	-	+	4+3	Alto	Bajo (4 %)	NED
C	46	11	-	-	+	3+4	Int	Bajo (2 %)	NED
D	54	10	+	-	+	3+4	Int	Alto (44 %)	MET
E	61	5	-	-	-	4+4	Bajo	Alto (55 %)	MET
Nota: Todos estos pacientes fueron manejados de forma conservativa y no recibieron ningún tratamiento post-PR									
*UCSF CAPRA-S									
**NED = Sin indicio de enfermedad; MET = enfermedad metastásica									

ANÁLISIS

- 5 Este estudio de utilidad clínica se diseñó para evaluar anticipadamente el efecto de una prueba del clasificador genómico (GC) que predice metástasis después de la PR en las recomendaciones de tratamiento adyuvante y de rescate de los urólogos. El rendimiento de la prueba del GC se notificó previamente en un estudio con enmascaramiento de validación independiente de una población de 1.010 hombres con riesgo alto de recurrencia (basado en patología adversa) post PR. Ese estudio reveló que un 60 % de los pacientes clínicamente de riesgo alto
- 10 serían reclasificados como de riesgo bajo con una incidencia acumulada de metástasis de solo un 2,4 % en 5 años tras la PR. En cambio, los pacientes con las puntuaciones de GC más altas (19 % de la población) tenían una incidencia acumulada de metástasis casi 10 veces mayor a los 5 años. Los hallazgos de este estudio actual demostraron que el conocimiento del resultado de la prueba del GC afectó con frecuencia las recomendaciones de tratamiento de los urólogos tanto en el escenario adyuvante (43 %) como en el de rescate (53 %). Asimismo, los
- 15 presentes inventores pudieron demostrar que para los pacientes con riesgo bajo de GC, si bien los urólogos antes del GC recomendaron tratamiento un 43 % de las veces, después del GC se les recomendó observación un 79 % de las veces. En conjunto, los resultados de validación clínica y de utilidad implicaron que entre la población de pacientes con cáncer de próstata con riesgo alto de recurrencia después de la PR, a la mayoría de los pacientes examinados después de la GC se les recomendará una estrecha observación.

- 20 Las directrices sobre desarrollo de indicios para pruebas moleculares redactadas en los últimos 3-5 años han instado a ir más allá de la obtención de indicios sobre la validez analítica y clínica del ensayo, fomentando la investigación adicional sobre cómo una prueba influye en la gestión de la práctica clínica. Hasta la fecha en este campo naciente, el número de estudios publicados es bastante limitado, pero está creciendo. En un estudio clínico de un ensayo
- 25 molecular para el cáncer de colon de estadio II, Srivastava *et al.* encontraron que los médicos cambiaron las decisiones de quimioterapia en un 45 % de los pacientes, lo que validó completamente las predicciones de una simulación de cambios en el tratamiento dirigido por las pautas de la NCCN. Una de las áreas más estudiadas del cambio de gestión de la práctica en medicina molecular ha sido la predicción del riesgo en el cáncer de mama. En una revisión integral y sistemática de la validez clínica y los cambios en los patrones de práctica clínica, Hornberger *et al.* encontraron
- 30 estudios que informan sobre 5 pruebas diferentes. Descubrieron que la recomendación de quimioterapia cambió entre <1 %-13 %, según lo notificado en 4 estudios de una herramienta de apoyo para la toma de decisiones clínicas en línea, en comparación con un cambio medio en todos los estudios de menos de un 35 % en las recomendaciones para un ensayo multigénico. En comparación con estos ejemplos de pruebas oncológicas aceptadas, el hallazgo en nuestro estudio de un cambio de un 43-53 % en la recomendación al recibir los resultados de la prueba es un indicio que
- 35 respalda que la prueba del GC proporciona información clínica útil adicional para guiar la selección de la terapia.

- Este estudio reveló hallazgos relevantes relacionados con los patrones de práctica actuales para pacientes de riesgo alto después de la PR y confirmó la propensión de los urólogos no solo a un mayor tratamiento de rescate en el punto de BCR, sino también a una mayor intensificación del tratamiento en comparación con el escenario adyuvante. En
- 40 conjunto, el tratamiento recomendado por los urólogos con más de 1,5 veces más frecuencia en el escenario de rescate que en el adyuvante; se hicieron recomendaciones de tratamiento para un 79 % de las evaluaciones de casos pre-GC en el escenario de rescate, un 39 % de los cuales incluía una recomendación de terapia multimodal (por ejemplo, radiación y hormonas). Esto se compara con una recomendación de terapia multimodal en solo un 19 % de las evaluaciones de casos antes de la GC en el escenario adyuvante. Además, los hallazgos implican un potencial de
- 45 sobretratamiento en el escenario de rescate, ya que la evidencia sugirió que incluso en pacientes que presentan BCR, menos de un tercio desarrollará metástasis. Esto tiene consecuencias para el paciente, ya que tanto la radiación postoperatoria como la terapia hormonal conllevan morbilidades considerables que incluyen incontinencia urinaria e impotencia, que pueden afectar la calidad de vida del paciente a largo plazo.

- 50 Los resultados de este estudio también confirmaron que la toma de decisiones de los urólogos en el escenario adyuvante se centró principalmente en recomendar o no la radioterapia posoperatoria. Antes de la presentación de los resultados de la prueba del GC, los urólogos recomendaron tratamiento en un 52 % de las evaluaciones de casos;

un 99 % de esas recomendaciones incluyeron radioterapia y solo un 20 % de las recomendaciones incluyeron terapia hormonal. La dirección precisa de la radioterapia a los pacientes que corren el mayor riesgo biológico de desarrollar metástasis es fundamental, ya que las morbilidades y los costes asociados al tratamiento de pacientes con modalidades de radiación como la IMRT son elevados. Asimismo, los presentes inventores observaron que el riesgo de GC influyó significativamente en las recomendaciones de tratamiento independientemente de la presencia o ausencia de características clinicopatológicas específicas. Adicionalmente, estos hallazgos sugirieron que en el escenario de rescate, la sensibilidad del aumento del PSA puede motivar a los urólogos a recomendar el tratamiento a pesar de su escasa especificidad. Esto insinuó el papel de la prueba del GC para mejorar la toma de decisiones de los urólogos en este contexto. Se encontraron resultados similares en relación con la intensificación del tratamiento, donde los cambios en la intensidad se impulsaron principalmente por el riesgo de GC en lugar del riesgo percibido. Esto sugirió que dada la información de la prueba del GC, presumiblemente midiendo el verdadero potencial biológico del tumor de un paciente, los urólogos están más dispuestos a comprometerse con la intensificación de la terapia que si esta recomendación se basara únicamente en el aumento del PSA y variables clinicopatológicas (por ejemplo, pre-GC).

Las recomendaciones de tratamiento cambiaron en un 43 % de las evaluaciones de casos en escenarios adyuvantes y en un 53 % de las evaluaciones de casos en escenarios de rescate. Estos hallazgos demostraron que el conocimiento de la información de biomarcadores genómicos en esta prueba del GC influye con frecuencia en los juicios de estos urólogos sobre el tratamiento adecuado tanto en el escenario adyuvante como en el de rescate.

Conclusión:

El estudio DECIDE evaluó el efecto de la prueba del GC en las recomendaciones de tratamiento de los urólogos para evaluaciones de casos de riesgo alto en escenarios de tratamiento adyuvante y de rescate. Los resultados demostraron que el conocimiento del resultado de la prueba del GC afectó con frecuencia las recomendaciones de tratamiento de los urólogos, tanto en el escenario adyuvante como en el de rescate. Asimismo, la prueba del GC pareció orientar mejor las recomendaciones de tratamiento de los urólogos independientemente de la presencia o ausencia de patología convencional y de las variables clínicas que se utilizan actualmente para evaluar el riesgo en estos pacientes.

En conclusión, este estudio sugirió que cuando se implementó en la práctica clínica habitual, la prueba del GC tuvo el potencial de cambiar las recomendaciones de tratamiento después de la prostatectomía radical e identificar mejor a los pacientes que pueden beneficiarse de la terapia multimodal intensiva, al tiempo que ahorró a los que se puede hacer un seguimiento cercano iniciar una terapia secundaria agresiva.

Ejemplo 11: Validación de un clasificador genómico que predice la progresión de la enfermedad metastásica en hombres con recurrencia bioquímica tras prostatectomía radical

Aproximadamente 50.000 hombres por año presentarán recurrencia bioquímica (BCR) tras el tratamiento local para el cáncer de próstata. Estos hombres, con aumento de PSA como el único indicador de recurrencia, presentan un dilema de tratamiento debido a sus resultados variados. Si bien el grupo de pacientes con recurrencia posterior a la prostatectomía radical (PR) se enriquece altamente por los que desarrollarán una enfermedad letal, muchos de estos pacientes experimentarán BCR sin desarrollar metástasis posteriores. Por tanto, existe una clara necesidad de mejorar la estratificación del riesgo de los pacientes en este contexto. En este punto, los presentes inventores evaluaron un clasificador genómico (GC, véase el Ejemplo 3) en hombres con BCR, por su capacidad para predecir metástasis clínicas (por ejemplo, gammagrafía ósea o por tomografía computarizada positivas).

Métodos

Cohorte de pacientes

El objetivo de este estudio fue determinar si las características moleculares de las muestras de tumores primarios de próstata podrían ayudar a predecir los resultados en el momento de la BCR. Por consiguiente, se seleccionaron 110 pacientes caucásicos de una cohorte de riesgo alto de más de 1.000 hombres que experimentaron BCR después de una prostatectomía radical y de quienes había tejido disponible (véase el Ejemplo 1). Solo se incluyeron hombres con adenocarcinoma en el momento de la prostatectomía radical. Después de la prostatectomía, los hombres normalmente siguieron una medición de PSA cada 3 meses durante el primer año, cada 6 meses durante el segundo año y a continuación, anualmente a partir de entonces. La recurrencia bioquímica se definió como un PSA > 0,2 ng/ml con un valor confirmatorio posterior. En el momento de la recurrencia bioquímica, se reestadificaron los hombres con una tomografía computarizada (TAC) o una resonancia magnética, así como una gammagrafía ósea que a continuación, se realizó anualmente. El tiempo hasta la recurrencia bioquímica se definió como el tiempo desde la prostatectomía radical hasta el primer PSA detectable > 0,2 ng/ml. La metástasis se definió como una gammagrafía ósea positiva o una metástasis ganglionar visceral o extrapélvica observada en el TAC. Los hombres que experimentaron BCR menos de 6 meses o que tenían variables clinicopatológicas ausentes se excluyeron de los análisis (n = 85). Los hombres que experimentaron metástasis después de la recurrencia bioquímica fueron designados como "METS" y los hombres sin metástasis después de la recurrencia bioquímica fueron designados como "Sin METS". El escenario adyuvante se

definió como cualquier tratamiento dentro de los 90 días posteriores a la cirugía. La terapia de rescate se definió como cualquier tratamiento después de 90 días. Las características del tratamiento y del tumor de los pacientes se detallan en la Tabla 33.

5

Tabla 33.

Características de los pacientes	Total	METS	Sin METS	valor de p^*
n	n (fila %)	n (fila %)	n (fila %)	
Cohorte de estudio	85	51(60)	34(40)	
Edad				0,822
46-60	35	21(60)	14(40)	
61-74	50	30(60)	20(40)	
Estadio patológico				0,026
pT2N0M0	22	8(36)	14(64)	
pT3/4N0M0	46	30(65)	16(35)	
pTanyN+M0	17	13(76)	4(24)	
Puntuación de Gleason patológica (ruta GS)				0,034
≤ 6	4	0 (0,0)	4(100,0)	
7	44	23(52)	21(48)	
≥ 8	27	18(67)	9(33)	
Antígeno prostático específico preoperatorio (PSA preoperatorio)				0,362
< 10 ng/ml	38	22(58)	16(42)	
10-20 ng/ml	28	15(54)	13(46)	
> 20 ng/ml	19	14(74)	5(26)	
Invasión de vesículas seminales (SVI)	38	29(76)	9(24)	0,011
Margen Quirúrgico Positivo (SM+)	50	29(58)	21(42)	0,822
Extensión extracapsular (ECE)	50	36(72)	14(28)	0,013
Mortalidad específica por cáncer de próstata	22	22(100)	0(0)	---
Radioterapia adyuvante	11	8(72)	3(27)	0,552
Terapia adyuvante de privación de andrógenos	37	29(78)	8(22)	0,005
Radioterapia de rescate	41	25(61)	16(39)	0,965
Terapia de privación de andrógenos de rescate	57	44(77)	13(23)	< 0,001
Tiempo hasta BCR				0,19
≤ 2 años	51	34(67)	17(33)	
> 2 años	34	17(50)	17(50)	
PSAdt (ND = 12)				0,006
≤ 9 meses	48	33(68)	15(31)	
> 9 meses	25	8(32)	17(68)	
*Chi-cuadrado de Pearson o prueba exacta de Fisher				

Selección y procesamiento de muestras

Tras una revisión histopatológica, los tejidos de adenocarcinoma prostático fijados con formalina y embebidos en parafina (FFPE) del tumor primario en el momento de la prostatectomía se macrodisecionaron. A continuación, se extrajo el ARN total y se purificó utilizando el kit de extracción de ácido nucleico RNeasy FFPE (Qiagen Inc., Valencia, California) y se sometió a amplificación del transcriptoma completo utilizando el sistema FFPE WT-Ovation (NuGen, San Carlos, California). Los productos amplificados se fragmentaron, se marcaron e hibridaron con Human Exon 1.0 ST GeneChips (Affymetrix, Santa Clara, California) que perfila las regiones codificantes y no codificantes del transcriptoma utilizando aproximadamente 1,4 millones de regiones de selección de sondas, cada una representando un biomarcador o característica genómica. Después del control de calidad de micromatrices utilizando los paquetes Power Tools de Affymetrix, el resumen y la normalización del conjunto de sondas se realizó mediante un análisis robusto de matrices múltiples congelado (fRMA), que está disponible a través de Bioconductor. Los archivos de Human Exon GeneChip correspondientes a estos casos están disponibles en la base de datos Gene Expression Omnibus del National Center for Biotechnology Information.

Cálculo de puntuaciones de GC, PSAdt y puntuaciones de nomograma

Los presentes inventores describieron previamente un clasificador genómico (GC) de 22 marcadores validado (véase el Ejemplo 3). Aquí emplearon el mismo GC, con puntuaciones de GC emitidas como un valor entre 0 y 1. Según el análisis, la puntuación de GC se trató como una variable categórica o continua. Se utilizaron métodos de diagnóstico gráfico, basados las curvas de eficacia diagnóstica (ROC), en el conjunto de datos de entrenamiento para estimar un punto de corte óptimo para la puntuación de GC. PSAdt, una medida la rapidez en que se duplican los niveles de PSA, se calculó mediante el logaritmo natural de 2 dividido por la pendiente de la línea de regresión lineal del logaritmo 2 de las medidas de PSA a lo largo del tiempo. Las puntuaciones CAPRA-S se calcularon como se describe en Cooperberg *et al.* (Cooperberg Cancer 2011) y la probabilidad de supervivencia de 5 años de Stephenson se calculó utilizando el nomograma descrito en Stephenson *et al.*

Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se realizaron en R v2.14.1. Todas las pruebas fueron bilaterales con una probabilidad de error de tipo I de un 5 %. GC se comparó con variables clinicopatológicas estándar, PSAdt, tiempo hasta BCR, clasificadores solo clínicos (CC, puntuaciones CAPRAS y nomograma de Stephenson) y el clasificador clínico y genómico (GCC) integrado para predecir la enfermedad metastásica. El índice del resumen de concordancia (extensión del índice c), una extensión del área bajo la curva ROC (AUC) para datos censurados estadísticamente, se usó para comparar el rendimiento del clasificador para predecir metástasis. Para la función de ROC de supervivencia, se utilizó el estimador del vecino más cercano con $\lambda = 0,002$ para aproximar la densidad de la función de supervivencia. Se utilizaron gráficos de calibración para evaluar la concordancia entre los resultados observados y los previstos. Se utilizó el análisis de la curva de decisión para evaluar el aumento/disminución neto en la proporción de pacientes tratados necesarios/inecesarios. La ROC de supervivencia y las curvas de decisión se evaluaron para la predicción de metástasis dentro de los 3 años posteriores de la BCR.

Se utilizó el modelo de regresión de riesgos instantáneos proporcionales de Cox para el diseño de casos en una cohorte para evaluar el valor pronóstico y la importancia del GC y de los factores de riesgo clinicopatológicos en la predicción del desarrollo de metástasis después de la BCR. Las asunciones de riesgos instantáneos proporcionales del modelo de Cox se confirmaron mediante la evaluación de los residuos de Schoenfeld escalados. GC se utilizó como variable continua (tamaño de etapa = 0,1); la puntuación de Gleason patológica se dividió en < 8 y ≥ 8 teniendo en cuenta el pequeño número de pacientes que tenían una puntuación de 6 o menos; los valores de PSA preoperatorios se transformaron logarítmicamente debido a su distribución asimétrica; SVI, SM, extensión extracapsular (ECE) se utilizaron como variables binarias. En el modelo de Cox, los riesgos estimados se ajustaron para la administración de hormonoterapia adyuvante. Las curvas de incidencia acumulada se construyeron utilizando el análisis de riesgos competitivos de Fine-Gray para estimar el riesgo de fallos debidos solo al cáncer de próstata, después de eliminar otro tipo de fallos (por ejemplo, otra razón de muerte). Los análisis dependientes del tiempo se realizaron ponderando los pacientes sin el evento, como sugirió Barlow.

Resultados

Las características de los hombres de la presente cohorte que experimentaron BCR después de la PR se detallan en la Tabla 33. La mediana de tiempo hasta la BCR fue de 14,60 meses (intervalo 1,1-85,33). Los hombres que experimentaron metástasis después de BCR ("METS") lo hicieron con una mediana de tiempo de 37,16 meses (intervalo 3,15-111,54). Estos hombres tenían grado patológico y estadio mayor en la prostatectomía, PSA preoperatorios más altos, un tiempo más rápido para BCR y PSAdt más rápidos (Tabla 33). También tenían más probabilidades de recibir terapias adyuvantes y de rescate (Tabla 33).

En la Figura 46 se muestran los gráficos de discriminación de las puntuaciones de GC para pacientes METS (derecha, círculos grises claros) y Sin METS (izquierda, círculos grises oscuros). La no superposición de las muescas demuestra que la diferencia en la distribución de la puntuación de GC entre METS y no METS es estadísticamente significativa.

Según el AUC del análisis ROC de supervivencia de 3 años, GC muestra un mejor rendimiento (sens/espec) que las medidas clínicas, ya que supera los factores clinicopatológicos (Figura 47) y los clasificadores solo clínicos (Figura 48). La GC no mejoró al integrarla con las características clinicopatológicas (GCC, Figura 48). Como esto representaba una población de riesgo alto, una fracción considerable de hombres en el estudio recibió terapia adyuvante y esto podría confundir los resultados. Al excluir a los pacientes con terapia adyuvante, el AUC de la ROC de supervivencia de 3 años permaneció estadísticamente significativo (Figura 49). La distribución de la puntuación de GC entre los grupos patológicos de puntuación de Gleason mostró que, si bien existe una correlación directa general entre ambas puntuaciones, GC pudo volver a evaluar el riesgo de muchos pacientes basándose en la biología del tumor primario (Figura 50; METS = triángulo, Sin METS = círculo). La incidencia acumulada de pacientes de riesgo alto de GC fue estadísticamente mayor que la de los pacientes de bajo riesgo de GC en cualquier momento después de la BCR usando un punto de corte basado en la ROC óptima de $\geq 0,4$, que abarca un 73 % de los hombres que desarrollarían metástasis (Figura 51). Como se muestra en la Figura 51, en 3 años de la BCR, el grupo de GC bajo tiene una tasa de incidencia de 0,08 y el grupo de GC alto tiene una tasa de incidencia de 0,4. En 5 años de la BCR, el grupo de GC bajo tiene una tasa de incidencia de 0,1 y el grupo de GC alto tiene una tasa de incidencia de 0,54 (Figura 51).

También se logró significación estadística cuando se dividió el conjunto de pacientes en riesgo bajo y alto cuando se usó un punto de corte de 0,5 (criterios basados en la mayoría) (Figura 52). Dado que el método de KM no solo tiene en cuenta el número de pacientes en riesgo, sino también los datos censurados estadísticamente (por ejemplo, pacientes para los que hubo una pérdida de seguimiento en algún momento) para calcular las proporciones, el número de pacientes en riesgo para cada punto temporal en la Figura 51-52 se muestra en las Tablas 34-35, respectivamente.

Tabla 34.

	Tiempo hasta PCSM después de BCR (años)					
	0	2	4	6	8	
GC bajo	139	106	76	41	10	N.º de pacientes en riesgo
GC alto	82	39	19	10	5	

Tabla 35.

	Tiempo hasta PCSM después de BCR (años)						
	0	2	4	6	8	10	
GC $\leq 0,5$	183	177	139	92	61	15	N.º de pacientes en riesgo
GC $> 0,5$	91	72	51	20	11	--	

Como se muestra en la Figura 53, en 3 años, el grupo de GC bajo tiene una tasa de incidencia de 0,08 y el grupo de GC alto tiene una tasa de incidencia de 0,17; y en 5 años, el grupo de GC bajo tiene una tasa de incidencia de 0,11 y el grupo de GC alto tiene una tasa de incidencia de 0,26. Dado que el tratamiento se confundió con el diagnóstico o el estado de la enfermedad del paciente, los presentes inventores observaron que al excluir a los pacientes tratados se perdía un grupo de casos, teniendo así una menor tasa de incidencia para los pacientes de GC $\geq 0,4$ (Figura 53). Aún así, la diferencia en la incidencia acumulada entre pacientes de GC de riesgo alto y de GC de riesgo bajo se mantuvo estadísticamente significativa. Dado que el método de KM no solo tiene en cuenta el número de pacientes en riesgo, sino también los datos censurados estadísticamente (por ejemplo, pacientes para los que hubo una pérdida de seguimiento en algún momento) para calcular las proporciones, el número de pacientes en riesgo para cada punto temporal en la Figura 53 se muestra en la Tabla 36.

Tabla 36.

	Tiempo hasta PCS después de BCR (años)					
	0	2	4	6	8	
GC bajo	104	79	50	25	10	N.º de pacientes en riesgo
GC alto	30	27	18	10	5	

La mayoría de los pacientes con GC $< 0,4$ (64 %) no desarrollaron enfermedad metastásica al final del tiempo de seguimiento del estudio (Figura 54).

Hipotéticamente, si se toma la decisión de tratar cuando un clasificador implica un riesgo de un 25 % o superior, utilizando el beneficio neto estimado, se puede demostrar que la reducción de tratamientos innecesarios entre 100 pacientes usando el modelo de GC fue de 31 pacientes en comparación con un máximo de 10 pacientes para modelos

solo clínicos (Figura 55).

Se utilizaron el análisis univariante (UVA) y el multivariante (MVA) basados en los riesgos instantáneos proporcionales de Cox para evaluar además la significación estadística de los clasificadores y de las variables clínicas individualmente (UVA) y en presencia de otras variables (MVA). Estos análisis muestran que GC predice con precisión la metástasis después de BCR. En el análisis univariante, la puntuación de GC predijo metástasis después de BCR, al igual que las variables clinicopatológicas y los modelos solo clínicos (Tabla 37 y Tabla 38). La puntuación de GC y la puntuación de Gleason patológica siguieron siendo los únicos factores predictivos significativos de enfermedad metastásica en un modelo multivariante después del ajuste por información clinicopatológica (Tabla 37). En modelos multivariantes que implican GC y clasificadores solo clínicos, GC siguió siendo significativo, si bien los clasificadores solo clínicos no fueron significativos (Tabla 38).

Resumiendo, cuando se compara con las variables clinicopatológicas, GC predice mejor la progresión metastásica entre la presente cohorte de hombres con BCR tras PR. Estos resultados sugirieron que el uso de GC permitió una mejor selección de hombres que requerían tratamiento adicional en el momento de la BCR.

Tabla 37.

	Riesgo instantáneo proporcional de Cox univariante			Riesgo instantáneo proporcional de Cox multivariante		
	Razón de riesgos instantáneos	CI al 95 %	p	Razón de riesgos instantáneos	CI al 95 %	p
GC	1,62	1,33-1,96	< 0,001	1,36	1,09-1,68	0,01
Ruta GS ≥ 8	2,55	1,14-5,70	0,02	2,7	1,02-7,16	0,05
PSA preoperatorio (log2)	1,15	0,74-1,77	0,53	1,06	0,75-1,51	0,73
SVI	3,05	1,36-6,85	0,01	1,61	0,62-4,21	0,33
SM	0,55	0,25-1,25	0,16	0,63	0,27-1,52	0,31
ECE	3,02	1,31-6,96	0,01	1,47	0,62-3,48	0,38
LNI	5,22	1,93-14,13	0	0,62	0,18-2,15	0,46

Tabla 38.

	Riesgo instantáneo proporcional de Cox univariante			Riesgo instantáneo proporcional de Cox multivariante		
	Razón de riesgos instantáneos	CI al 95 %	p	Razón de riesgos instantáneos	CI al 95 %	p
GC	1,62	1,33-1,96	< 0,001	1,4	1,12-1,75	0
Stephenson	1,51	1,33-1,72	< 0,001	1,13	0,92-1,37	0,25
GC	1,62	1,33-1,96	< 0,001	1,44	1,16-1,78	< 0,001
CAPRA-S	1,58	1,35-1,85	< 0,001	1,11	0,89-1,39	0,34

Ejemplo 12: Valor pronóstico de la combinación univariante y por pares de características pronósticas de un panel de 43 biomarcadores para la progresión del cáncer de próstata en diferentes criterios de valoración

Se evaluó el rendimiento de los 43 biomarcadores descubiertos en el Ejemplo 2 (Tabla 2) en varios parámetros y criterios de valoración diferentes.

En las Tablas 39 a 48, los biomarcadores que se encontraron como clasificadores univariantes estadísticamente significativos en los conjuntos de entrenamiento y de prueba (véase el Ejemplo 1) basados en una prueba de Wilcoxon (valor $p \leq 0,05$) para el parámetro del área bajo la curva ROC (AUC), se muestran para una serie de criterios de valoración clínicos relevantes: extensión extracapsular (ECE), invasión de vesículas seminales (SVI), estado de los márgenes quirúrgicos (SMS), compromiso de los ganglios linfáticos (LNI), evento de recurrencia bioquímica (BCR), evento de recurrencia local (LCR, por sus siglas en inglés), evento de metástasis (evento METS), evento de mortalidad específica por cáncer de próstata (PCSM), supervivencia general (OS, por sus siglas en inglés), Gleason patológico (pathGS) y tiempo de duplicación del antígeno prostático específico (PSAdt, por sus siglas en inglés). Los criterios de valoración asociados a un tiempo hasta el evento también presentan parámetros que permiten considerar este

componente en la evaluación del rendimiento. Mientras que los resultados se muestran para el conjunto de prueba (como se define en el Ejemplo 1), estos biomarcadores también fueron significativos en el conjunto de entrenamiento del estudio de investigación.

- 5 La importancia adicional de las características seleccionadas se demostró mediante múltiples parámetros y también se enumeran en las Tablas 39 a 48 (en sus valores brutos o como su valor p asociado para la evaluación de la importancia estadística), que incluyen:
- 10 • Sensibilidad: proporción del número real de pacientes con el evento que están correctamente identificados como tal. Los valores mayores indican un mejor rendimiento.
 - Especificidad: proporción del número real de pacientes sin el evento que están correctamente identificados como tal. Los valores mayores indican un mejor rendimiento.
 - 15 • Área bajo la curva ROC (AUC, por sus siglas en inglés). Corresponde al área bajo la curvas de eficacia diagnóstica, que representa gráficamente el rendimiento de una característica o clasificador para todos los umbrales de sensibilidad y especificidad. Los valores mayores indican un mejor rendimiento.
 - Precisión: Proporción de pacientes correctamente predichos. Los valores mayores indican un mejor rendimiento.
 - Valor predictivo positivo: proporción de eventos predichos que son eventos verdaderos. Los valores mayores indican un mejor rendimiento.
 - 20 • Valor predictivo negativo: proporción predicha sin eventos que verdaderamente no son eventos. Los valores mayores indican un mejor rendimiento.
 - Tasa de detección: La porción de positivos verdaderos de toda la población. Los valores mayores indican un mejor rendimiento.
 - Prevalencia de detección: La porción de eventos predichos de toda la población. Los valores mayores indican un mejor rendimiento.
 - 25 • Diferencia del factor de cambio de la mediana (MFD, por sus siglas en inglés): la relación del valor de expresión de la mediana para cada grupo. Los valores alejados de 1 indican un mejor rendimiento.
 - AUC de supervivencia: evalúa el poder discriminatorio del clasificador a través de todos los umbrales de sensibilidad y especificidad teniendo en cuenta el tiempo hasta el evento. Los valores mayores indican un mejor rendimiento.
 - 30 • Valor p de KM: Las curvas de Kaplan Meier se obtienen dividiendo los valores de expresión en grupos de alto y bajo riesgo, utilizando el método de agrupamiento de PAM. Una curva de Kaplan Meier para uno de estos grupos muestra la probabilidad a lo largo del tiempo de estar libre del evento, dados la cantidad de pacientes en riesgo y los datos censurados estadísticamente. Se calcula el valor p y mide la significación de las diferencias entre ambos grupos a lo largo del tiempo. Los valores de $p \leq 0,05$ se consideran significativos. Los valores más bajos indican un mejor rendimiento.
 - 35 • Razón de posibilidades del análisis univariante (UVA): mide el tamaño de efectos de la característica o clasificador cuando se dividen las puntuaciones en grupos de alto y bajo riesgo. Para este parámetro, estos grupos se obtienen dividiendo el conjunto de muestras en valores de riesgo bajo y alto utilizando el método de agrupamiento de PAM. Los valores alejados de 1 indican un mejor rendimiento.
 - 40 • Razón de posibilidades del análisis multivariante (MVA): mide la capacidad de pronóstico independiente de la característica o clasificador cuando se dividen los valores en grupos de riesgo bajo y alto. Para este parámetro, estos grupos se obtienen dividiendo el conjunto de muestras en riesgo bajo y alto utilizando el método de agrupamiento de PAM. Los valores alejados de 1 indican un mejor rendimiento.
 - 45 • Relación de riesgo de UVA: mide la relación de las tasas de riesgo cuando se dividen los valores en grupos de riesgo bajo y alto e incorpora el tiempo hasta el evento a través del modelo de riesgos proporcionales de Cox. Para este parámetro, estos grupos se obtienen dividiendo las puntuaciones en riesgo bajo y alto utilizando el método de agrupamiento de PAM. Los valores alejados de 1 indican un mejor rendimiento.
 - Relación de riesgo de MVA: mide la capacidad de pronóstico independiente respecto a otras variables cuando se dividen los valores en grupos de alto y bajo riesgo e incorpora el tiempo hasta el evento a través del modelo de riesgos proporcionales de Cox. Para este parámetro, estos grupos se obtienen dividiendo las puntuaciones en riesgo bajo y alto utilizando el método de agrupamiento de PAM. Los valores alejados de 1 indican un mejor rendimiento.
 - 50

55 El valor p asociado proporcionado para los parámetros da una medida de la significación estadística del parámetro correspondiente. El umbral del valor $p \leq 0,05$ se utiliza como una forma de definir las características que son estadísticamente significativas para el parámetro y el criterio de valoración dados. El AUC inferior y el AUC superior, así como la precisión inferior y la precisión superior, representan el límite inferior y superior del intervalo de confianza del 95 % para esos parámetros.

60

Tabla 39: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de BCR. Auc.pvalue: Valor p de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. KM: Curvas de Kaplan Meier. survAUC: AUC de supervivencia. uvaORPval: Valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades. mvaORPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de posibilidades. uvaHRPval: Valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos. mvaHRPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos.

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Precisión	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.
SEQ ID NO: 6	0,62	0,01	0,61	0,62	0,59	0,77	0,41
SEQ ID NO: 22	0,60	0,03	0,59	0,63	0,52	0,74	0,38
SEQ ID NO: 19	0,59	0,04	0,60	0,63	0,53	0,75	0,39
SEQ ID NO: 28	0,59	0,04	0,59	0,64	0,48	0,73	0,38
SEQ ID NO: 16	0,61	0,02	0,42	0,45	0,34	0,60	0,22
SEQ ID NO: 5	0,60	0,03	0,61	0,66	0,50	0,75	0,40
SEQ ID NO: 4	0,60	0,02	0,48	0,30	0,86	0,83	0,36
SEQ ID NO:	mfd	uvaORPval	mvaORPval	valor p de KM	survAUC	uvaHRPval	mvaHRPval
SEQ ID NO: 6	1,09	0,02	0,06	0,00	0,64	0,00	0,08
SEQ ID NO: 22	1,15	0,03	0,09	0,03	0,64	0,00	0,01
SEQ ID NO: 19	1,06	0,13	0,02	0,00	0,65	0,02	0,01
SEQ ID NO: 28	1,09	0,06	0,02	0,08	0,63	0,01	0,01
SEQ ID NO: 16	0,97	0,12	0,58	0,01	0,39	0,11	0,86
SEQ ID NO: 5	1,08	0,05	0,05	0,16	0,54	0,19	0,52
SEQ ID NO: 4	1,03	0,02	0,06	0,00	0,65	0,00	0,00

Tabla 40: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración de ECE. Auc.pvalue: Valor p de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. KM: Curvas de Kaplan Meier. uvaORPval: Valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades. mvaORPval: valor p del análisis multivariante de la razón de posibilidades.

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Precisión	Sensibilidad	Especificidad
SEQ ID NO: 6	0,62	0,01	0,57	0,63	0,52
SEQ ID NO: 22	0,65	0,00	0,59	0,67	0,51
SEQ ID NO: 15	0,59	0,04	0,53	0,68	0,39
SEQ ID NO: 19	0,60	0,02	0,55	0,63	0,47
SEQ ID NO: 28	0,59	0,03	0,58	0,68	0,47
SEQ ID NO: 16	0,59	0,03	0,45	0,46	0,43
SEQ ID NO: 17	0,62	0,00	0,61	0,74	0,49
SEQ ID NO: 10	0,59	0,04	0,41	0,32	0,49
SEQ ID NO: 37	0,60	0,02	0,45	0,31	0,58
SEQ ID NO:	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mfd	uvaORPval	mvaORPval
SEQ ID NO: 6	0,55	0,59	1,08	0,01	0,12
SEQ ID NO: 22	0,56	0,62	1,20	0,00	0,06
SEQ ID NO: 15	0,52	0,56	1,04	0,04	0,10
SEQ ID NO: 19	0,53	0,57	1,07	0,03	0,64
SEQ ID NO: 28	0,55	0,61	1,10	0,02	0,66
SEQ ID NO: 16	0,44	0,46	0,97	0,02	0,49
SEQ ID NO: 17	0,58	0,66	1,06	0,01	0,28
SEQ ID NO: 10	0,38	0,43	0,90	0,10	0,66
SEQ ID NO: 37	0,41	0,47	0,94	0,02	0,11

Tabla 41: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de LCR. Auc.pvalue: Valor p de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. KM: Curvas de Kaplan Meier. SurvAUC: AUC de supervivencia. uvaORPval: Valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades. mvaORPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de posibilidades. uvaHRPval: Valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos. mvaHRPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos.

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Precisión	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.
SEQ ID NO: 4	0,76	0,00	0,78	0,67	0,80	0,30	0,95
SEQ ID NO: 36	0,65	0,02	0,42	0,86	0,37	0,15	0,95
SEQ ID NO: 26	0,64	0,03	0,54	0,71	0,52	0,16	0,93
SEQ ID NO:	mfd	uvaPval	mvaPval	valor p de KM	survAUC	uvaHRPval	mvaHRPval
SEQ ID NO: 4	1,19	0,00	0,02	0,00	0,93	0,00	0,00
SEQ ID NO: 36	1,03	0,14	0,09	0,04	0,77	0,12	0,05
SEQ ID NO: 26	1,06	0,04	0,03	0,02	0,78	0,02	0,01

Tabla 42: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración de LNI. Auc.pvalue: Valor p de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. KM: Curvas de Kaplan Meier. uvaORPval: Valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades. mvaORPval: valor p del análisis multivariante de la razón de posibilidades.

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Precisión	Sensibilidad	Especificidad
SEQ ID NO: 28	0,66	0,01	0,49	0,81	0,43
SEQ ID NO: 32	0,72	0,00	0,59	0,81	0,55
SEQ ID NO: 17	0,65	0,01	0,47	0,81	0,42
SEQ ID NO: 37	0,63	0,04	0,54	0,19	0,60
SEQ ID NO: 42	0,62	0,04	0,31	0,56	0,27
SEQ ID NO:	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mfd	uvaORPval	mvaORPval
SEQ ID NO: 28	0,20	0,93	1,15	0,01	0,72
SEQ ID NO: 32	0,23	0,95	1,18	0,00	0,21
SEQ ID NO: 17	0,19	0,93	1,05	0,02	0,70
SEQ ID NO: 37	0,07	0,81	0,92	0,07	0,97
SEQ ID NO: 42	0,11	0,78	0,96	0,03	0,12

Tabla 43: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de MET. Auc.pvalue: Valor p de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. KM: Curvas de Kaplan Meier. survAUC: AUC de supervivencia. uvaORPval: Valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades. mvaORPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de posibilidades. uvaHRPval: Valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos. mvaHRPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos.

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Precisión	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.
SEQ ID NO: 6	0,67	0,00	0,61	0,72	0,54	0,48	0,77
SEQ ID NO: 22	0,66	0,00	0,59	0,74	0,51	0,46	0,77
SEQ ID NO: 20	0,65	0,00	0,60	0,72	0,53	0,47	0,77
SEQ ID NO: 15	0,70	0,00	0,59	0,82	0,46	0,47	0,82
SEQ ID NO: 19	0,67	0,00	0,60	0,74	0,52	0,47	0,77
SEQ ID NO: 12	0,60	0,03	0,44	0,41	0,45	0,30	0,57
SEQ ID NO: 28	0,66	0,00	0,58	0,75	0,48	0,46	0,77
SEQ ID NO: 32	0,61	0,01	0,59	0,63	0,57	0,46	0,73
SEQ ID NO: 16	0,66	0,00	0,37	0,34	0,38	0,24	0,50
SEQ ID NO: 17	0,61	0,02	0,55	0,74	0,45	0,43	0,75
SEQ ID NO: 18	0,61	0,01	0,58	0,47	0,64	0,43	0,68
SEQ ID NO: 4	0,67	0,00	0,73	0,47	0,87	0,68	0,74
SEQ ID NO: 2	0,59	0,04	0,40	0,46	0,37	0,30	0,54
SEQ ID NO: 24	0,64	0,00	0,63	0,56	0,67	0,49	0,72
SEQ ID NO: 26	0,59	0,03	0,56	0,99	0,59	0,54	0,43
SEQ ID NO:	mfd	uvaORPval	mvaORPval	valor p de KM	survAUC	uvaHRPval	mvaHRPval
SEQ ID NO: 6	1,10	0,00	0,02	0,00	0,75	0,00	0,01
SEQ ID NO: 22	1,24	0,00	0,04	0,00	0,69	0,00	0,00
SEQ ID NO: 20	1,07	0,00	0,01	0,00	0,73	0,00	0,00
SEQ ID NO: 15	1,10	0,00	0,05	0,00	0,74	0,00	0,03

(continuación)

SEQ ID NO:	mfd	uvaORPval	mvaORPval	valor <i>p</i> de KM	survAUC	uvaHRPval	mvaHRPval
SEQ ID NO: 19	1,14	0,00	0,01	0,00	0,75	0,00	0,00
SEQ ID NO: 12	0,96	0,03	0,20	0,03	0,31	0,01	0,01
SEQ ID NO: 28	1,18	0,00	0,05	0,00	0,67	0,00	0,01
SEQ ID NO: 32	1,14	0,01	0,15	0,01	0,64	0,00	0,02
SEQ ID NO: 16	0,95	0,00	0,21	0,00	0,34	0,00	0,06
SEQ ID NO: 17	1,04	0,01	0,23	0,01	0,67	0,01	0,09
SEQ ID NO: 18	1,05	0,00	0,06	0,08	0,62	0,00	0,07
SEQ ID NO: 4	1,09	0,00	0,01	0,00	0,71	0,00	0,00
SEQ ID NO: 2	0,92	0,04	0,55	0,03	0,39	0,05	0,76
SEQ ID NO: 24	1,12	0,00	0,00	0,00	0,72	0,00	0,00
SEQ ID NO: 26	1,02	0,03	0,02	0,04	0,64	0,02	0,02

Tabla 44: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor *p* de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de OS. Auc.pvalue: Valor *p* de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. KM: Curvas de Kaplan Meier. survAUC: AUC de supervivencia. uvaORPval: Valor *p* del análisis univariante de la razón de posibilidades. mvaORPval: Valor *p* del análisis multivariante de la razón de posibilidades. uvaHRPval: Valor *p* del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos. mvaHRPval: Valor *p* del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos.

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Precisión	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.
SEQ ID NO: 22	0,60	0,02	0,58	0,65	0,50	0,59	0,56
SEQ ID NO: 19	0,60	0,02	0,54	0,61	0,47	0,56	0,52
SEQ ID NO: 9	0,59	0,04	0,46	0,59	0,32	0,49	0,41
SEQ ID NO: 17	0,62	0,00	0,58	0,68	0,45	0,58	0,56
SEQ ID NO: 18	0,59	0,04	0,54	0,44	0,65	0,58	0,51
SEQ ID NO: 4	0,65	0,00	0,63	0,39	0,90	0,81	0,57
SEQ ID NO: 2	0,61	0,01	0,42	0,49	0,35	0,46	0,38

(continuación)

SEQ ID NO:	mfd	uvaORPval	mvaORPval	valor p de KM	survAUC	uvaHRPval	mvaHRPval
SEQ ID NO: 22	1,18	0,02	0,12	0,00	0,61	0,00	0,03
SEQ ID NO: 19	1,06	0,06	0,40	0,00	0,82	0,00	0,03
SEQ ID NO: 9	0,96	0,03	0,34	0,66	0,46	0,20	0,32
SEQ ID NO: 17	1,04	0,01	0,45	0,01	0,63	0,00	0,18
SEQ ID NO: 18	1,03	0,02	0,23	0,06	0,62	0,01	0,44
SEQ ID NO: 4	1,04	0,00	0,03	0,00	0,64	0,00	0,05
SEQ ID NO: 2	0,92	0,01	0,81	0,13	0,47	0,20	0,93

Tabla 45: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con importancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración de Gleason patológico. Auc.pvalue: Valor p de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. uvaORPval: Valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades.

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Precisión	Sensibilidad
SEQ ID NO: 6	0,74	0,00	0,52	0,41
SEQ ID NO: 22	0,67	0,02	0,62	0,63
SEQ ID NO: 20	0,81	0,00	0,71	0,66
SEQ ID NO: 15	0,79	0,00	0,70	0,65
SEQ ID NO: 19	0,80	0,00	0,70	0,63
SEQ ID NO: 12	0,69	0,01	0,34	0,34
SEQ ID NO: 28	0,83	0,00	0,70	0,66
SEQ ID NO: 16	0,77	0,00	0,39	0,46
SEQ ID NO: 9	0,65	0,05	0,58	0,66
SEQ ID NO: 17	0,74	0,00	0,73	0,73
SEQ ID NO: 18	0,72	0,00	0,60	0,54
SEQ ID NO: 4	0,69	0,01	0,44	0,30
SEQ ID NO: 24	0,68	0,02	0,53	0,45
SEQ ID NO: 40	0,69	0,01	0,55	0,68
SEQ ID NO: 26	0,69	0,01	0,66	0,66

(continuación)

SEQ ID NO:	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mfd	uvaORPval
SEQ ID NO: 6	0,94	0,97	0,29	1,21	0,00
SEQ ID NO: 22	0,56	0,85	0,28	1,29	0,03
SEQ ID NO: 20	0,89	0,96	0,40	1,13	0,00
SEQ ID NO: 15	0,89	0,96	0,39	1,18	0,00
SEQ ID NO: 19	0,94	0,98	0,40	1,25	0,00
SEQ ID NO: 12	0,33	0,67	0,11	0,89	0,01
SEQ ID NO: 28	0,83	0,94	0,38	1,62	0,00
SEQ ID NO: 16	0,11	0,67	0,05	0,91	0,00
SEQ ID NO: 9	0,28	0,78	0,17	0,92	0,05
SEQ ID NO: 17	0,72	0,91	0,41	1,17	0,00
SEQ ID NO: 18	0,83	0,93	0,31	1,17	0,02
SEQ ID NO: 4	1,00	1,00	0,26	1,05	0,01
SEQ ID NO: 24	0,83	0,91	0,28	1,20	0,04
SEQ ID NO: 40	0,06	0,74	0,04	0,97	0,02
SEQ ID NO: 26	0,67	0,89	0,33	1,08	0,03

Tabla 46: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de PCSM. Auc.pvalue: Valor p de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. KM: Curvas de Kaplan Meier. survAUC: AUC de supervivencia. uvaORPval: Valor p del análisis univariante de la razón de posibilidades. mvaORPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de posibilidades. uvaHRPval: Valor p del análisis univariante de la razón de riesgos instantáneos. mvaHRPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos.

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Precisión	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.
SEQ ID NO: 6	0,72	0,00	0,56	0,81	0,51	0,28	0,92
SEQ ID NO: 22	0,71	0,00	0,55	0,83	0,48	0,28	0,92
SEQ ID NO: 20	0,71	0,00	0,54	0,78	0,49	0,27	0,90
SEQ ID NO: 15	0,67	0,00	0,49	0,86	0,41	0,26	0,92
SEQ ID NO: 19	0,73	0,00	0,54	0,81	0,48	0,27	0,91
SEQ ID NO: 12	0,68	0,00	0,40	0,25	0,44	0,10	0,71
SEQ ID NO: 28	0,74	0,00	0,57	0,94	0,48	0,30	0,97

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Precisión	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.
SEQ ID NO: 43	0,61	0,03	0,52	0,69	0,47	0,24	0,87
SEQ ID NO: 32	0,66	0,00	0,58	0,72	0,55	0,28	0,89
SEQ ID NO: 16	0,70	0,00	0,39	0,25	0,42	0,09	0,70
SEQ ID NO: 17	0,61	0,05	0,48	0,75	0,41	0,23	0,87
SEQ ID NO: 18	0,66	0,00	0,65	0,61	0,65	0,30	0,88
SEQ ID NO: 4	0,72	0,00	0,78	0,58	0,83	0,45	0,89
SEQ ID NO: 24	0,70	0,00	0,63	0,61	0,63	0,29	0,87
SEQ ID NO: 40	0,61	0,03	0,35	0,53	0,31	0,16	0,73
SEQ ID NO: 26	0,66	0,00	0,59	0,75	0,55	0,29	0,90
SEQ ID NO:	mfd	uvaORPval	mvaORPval	valor p de KM	survAUC	uvaHRPval	mvaHRPval
SEQ ID NO: 6	1,16	0,00	0,04	0,00	0,79	0,00	0,02
SEQ ID NO: 22	1,26	0,00	0,05	0,00	0,73	0,00	0,05
SEQ ID NO: 20	1,12	0,00	0,01	0,00	0,82	0,00	0,00
SEQ ID NO: 15	1,07	0,00	0,23	0,00	0,63	0,00	0,33
SEQ ID NO: 19	1,18	0,00	0,03	0,00	0,87	0,00	0,01
SEQ ID NO: 12	0,92	0,00	0,19	0,00	0,29	0,00	0,01
SEQ ID NO: 28	1,21	0,00	0,01	0,00	0,76	0,00	0,00
SEQ ID NO: 43	1,01	0,02	0,01	0,11	0,44	0,03	0,07
SEQ ID NO: 32	1,14	0,00	0,29	0,00	0,75	0,00	0,21
SEQ ID NO: 16	0,93	0,00	0,24	0,00	0,40	0,00	0,04
SEQ ID NO: 17	1,05	0,06	0,80	0,04	0,58	0,03	0,46
SEQ ID NO: 18	1,11	0,00	0,05	0,00	0,73	0,00	0,18

(continuación)

SEQ ID NO:	mfd	uvaORPval	mvaORPval	valor <i>p</i> de KM	survAUC	uvaHRPval	mvaHRPval
SEQ ID NO: 4	1,17	0,00	0,02	0,00	0,77	0,00	0,03
SEQ ID NO: 24	1,20	0,00	0,01	0,00	0,87	0,00	0,00
SEQ ID NO: 40	0,98	0,03	0,71	0,11	0,47	0,04	0,89
SEQ ID NO: 26	1,05	0,01	0,06	0,00	0,71	0,00	0,12

Tabla 47: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor *p* de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración de PSA_{dt}. Auc.pvalue: Valor *p* de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. uvaORPval: Valor *p* del análisis univariante de la razón de posibilidades. mvaORPval: valor *p* del análisis multivariante de la razón de posibilidades.

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Precisión	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mfd	uvaORP val	mvaORP val
SEQ ID NO: 6	0,62	0,02	0,43	0,52	0,38	0,32	0,58	0,97	0,01	0,07
SEQ ID NO: 28	0,62	0,03	0,40	0,43	0,38	0,28	0,54	0,83	0,01	0,30
SEQ ID NO: 16	0,62	0,02	0,56	0,57	0,56	0,42	0,70	1,04	0,04	0,02

Tabla 48: biomarcadores del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor *p* de Wilcoxon (auc.pvalue) y otros parámetros para el criterio de valoración de SVI. Auc.pvalue: Valor *p* de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. uvaORPval: Valor *p* del análisis univariante de la razón de posibilidades. mvaORPval: Valor *p* del análisis multivariante de la razón de posibilidades.

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Precisión	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mfd	uvaOR Pval	mvaORPval
SEQ ID NO: 6	0,63	0,00	0,56	0,67	0,51	0,43	0,73	1,08	0,00	0,08
SEQ ID NO: 22	0,60	0,03	0,53	0,65	0,46	0,40	0,71	1,08	0,02	0,15
SEQ ID NO: 19	0,64	0,00	0,56	0,70	0,49	0,43	0,75	1,09	0,00	0,04
SEQ ID NO: 17	0,67	0,00	0,58	0,77	0,47	0,44	0,79	1,06	0,00	0,02
SEQ ID NO: 18	0,61	0,01	0,63	0,55	0,68	0,49	0,73	1,10	0,04	0,08
SEQ ID NO: 4	0,69	0,00	0,68	0,41	0,83	0,57	0,72	1,09	0,00	0,02
SEQ ID NO: 26	0,61	0,01	0,59	0,64	0,57	0,45	0,74	1,04	0,07	0,09

- 5 Además del buen rendimiento de estas variables como factores predictivos univariantes, la combinación de ellos en pares (clasificadores por pares) a través de un algoritmo de aprendizaje automático da como resultado un rendimiento mejorado. Como se muestra en las Tablas 49 a 52, los clasificadores por pares pueden dar como resultado un rendimiento mejorado para un criterio de valoración dado en comparación con sus homólogos univariantes, con todos los clasificadores enumerados que presentan significación estadística basada, al menos, en el valor *p* de Wilcoxon.
- 10 En esas tablas, cada nombre de clasificador se describe mediante el algoritmo de aprendizaje automático que combina los biomarcadores, así como el SEQ ID NO de los biomarcadores correspondientes (Tabla 2, Tabla 11). Los algoritmos

de aprendizaje automático incluidos en este análisis son Naive Bayes (NB), particionamiento recursivo (Rpart), máquinas de vectores de soporte (SVM), Random Forest (RF) y K vecinos más cercanos (KNN). Estos algoritmos de aprendizaje automático se ejecutaron con parámetros predeterminados utilizando los paquetes rpart 4.1-0, HDclassif 1.2.2, randomForest 4.6-7, caret 5.15-61, cluster 1.14.3, e1071 1.6-1, class 7.3-5 en R. Las Tablas 49 a 52 contienen parámetros y criterios de valoración descritos anteriormente para las Tablas 39 a 48.

5

Tabla 49: biomarcadores por pares del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon ($\text{auc.pvalue} \leq 0,05$) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de BCR.
Auc.pvalue: Valor p de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. KM: Curvas de Kaplan Meier. mvaHRPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos.

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~5+6	0,68	0,00	0,42	0,78	0,81	0,38	0,01	0,03
knn~5+19	0,67	0,00	0,59	0,69	0,81	0,43	0,00	0,00
rpart~4+39	0,66	0,00	0,42	0,81	0,83	0,39	0,00	0,00
nb~13+6	0,67	0,00	0,50	0,84	0,88	0,43	0,00	0,03
rpart~40+19	0,66	0,00	0,76	0,38	0,73	0,42	0,03	0,12
svm~16+5	0,65	0,00	0,58	0,71	0,81	0,43	0,00	0,50
rf~4+39	0,65	0,00	0,57	0,67	0,79	0,41	0,00	0,00
rpart~4+1	0,64	0,00	0,60	0,62	0,78	0,41	0,00	0,03
rpart~13+6	0,64	0,00	0,50	0,79	0,84	0,42	0,00	0,07
svm~16+6	0,65	0,00	0,48	0,72	0,79	0,39	0,00	0,05
nb~4+16	0,65	0,00	0,30	0,88	0,84	0,36	0,00	0,01
nb~4+13	0,65	0,00	0,26	0,91	0,87	0,36	0,00	0,00
svm~4+39	0,65	0,00	0,45	0,81	0,84	0,40	0,00	0,00
knn~18+28	0,64	0,00	0,68	0,50	0,75	0,41	0,01	0,11
nb~9+6	0,65	0,00	0,54	0,66	0,78	0,39	0,00	0,15
nb~4+1	0,64	0,00	0,35	0,86	0,85	0,38	0,00	0,00
rpart~18+13	0,64	0,00	0,52	0,67	0,78	0,39	0,01	0,89
svm~4+16	0,64	0,00	0,40	0,76	0,78	0,36	0,01	0,02
nb~18+13	0,64	0,00	0,57	0,64	0,78	0,40	0,01	0,21
rf~13+6	0,64	0,00	0,56	0,66	0,78	0,40	0,00	0,25
svm~4+24	0,64	0,00	0,29	0,86	0,82	0,35	0,00	0,00
svm~4+6	0,64	0,00	0,40	0,79	0,81	0,37	0,00	0,05
rpart~13+26	0,64	0,00	0,38	0,83	0,83	0,38	0,00	0,01
nb~1+6	0,64	0,00	0,37	0,78	0,78	0,36	0,04	0,03
knn~18+10	0,64	0,00	0,69	0,45	0,73	0,39	0,05	0,52
nb~4+32	0,64	0,00	0,32	0,86	0,84	0,36	0,00	0,00
rf~19+3	0,64	0,00	0,54	0,71	0,80	0,41	0,00	0,00
knn~13+22	0,64	0,00	0,73	0,43	0,74	0,42	0,01	0,10
nb~13+19	0,64	0,00	0,63	0,62	0,79	0,43	0,00	0,00
rpart~5+28	0,63	0,00	0,57	0,62	0,77	0,40	0,01	0,23
rpart~24+22	0,63	0,00	0,41	0,81	0,83	0,38	0,00	0,00
svm~5+28	0,64	0,00	0,49	0,72	0,80	0,39	0,01	0,29
svm~15+5	0,64	0,00	0,31	0,84	0,82	0,36	0,03	0,22
nb~5+6	0,64	0,00	0,36	0,81	0,81	0,36	0,01	0,05
rpart~13+20	0,64	0,00	0,54	0,62	0,76	0,38	0,06	0,01
svm~5+19	0,64	0,00	0,57	0,64	0,78	0,40	0,01	0,04

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
knn~5+22	0,63	0,00	0,54	0,71	0,80	0,41	0,00	0,03
knn~18+13	0,63	0,00	0,71	0,43	0,73	0,40	0,06	0,27
svm~13+6	0,64	0,00	0,47	0,79	0,83	0,40	0,00	0,10
rf~4+19	0,64	0,00	0,50	0,74	0,81	0,40	0,00	0,00
nb~16+5	0,64	0,00	0,61	0,62	0,78	0,42	0,02	0,33
knn~4+19	0,63	0,00	0,51	0,76	0,82	0,41	0,00	0,02
nb~16+6	0,64	0,00	0,44	0,78	0,81	0,38	0,00	0,07
nb~4+6	0,64	0,00	0,36	0,83	0,82	0,37	0,00	0,01
svm~4+5	0,64	0,00	0,55	0,67	0,79	0,40	0,01	0,27
rf~13+22	0,63	0,00	0,60	0,66	0,79	0,43	0,00	0,08
rpart~4+32	0,63	0,00	0,41	0,76	0,79	0,37	0,01	0,00
knn~4+39	0,63	0,00	0,70	0,47	0,74	0,42	0,01	0,00
rf~18+8	0,63	0,00	0,55	0,67	0,79	0,41	0,01	0,36
knn~4+22	0,63	0,00	0,67	0,55	0,77	0,43	0,00	0,02
rpart~11+5	0,63	0,00	0,41	0,78	0,80	0,37	0,07	0,09
rpart~9+6	0,63	0,00	0,50	0,74	0,81	0,40	0,00	0,27
knn~17+5	0,63	0,00	0,53	0,69	0,79	0,40	0,01	0,06
rpart~29+22	0,63	0,00	0,54	0,64	0,77	0,39	0,01	0,02
svm~16+18	0,63	0,00	0,41	0,72	0,76	0,36	0,06	0,22
knn~8+22	0,63	0,00	0,48	0,72	0,79	0,39	0,00	0,07
nb~4+28	0,63	0,00	0,34	0,83	0,81	0,36	0,00	0,00
svm~15+19	0,63	0,00	0,30	0,86	0,83	0,36	0,01	0,08
nb~13+22	0,63	0,00	0,48	0,72	0,79	0,39	0,01	0,01
rf~7+19	0,63	0,00	0,63	0,62	0,79	0,43	0,00	0,98
knn~4+9	0,63	0,00	0,44	0,76	0,80	0,38	0,00	0,01
rf~4+38	0,63	0,00	0,44	0,76	0,80	0,38	0,00	0,33
svm~9+6	0,63	0,00	0,44	0,72	0,78	0,37	0,01	0,40
rf~16+18	0,63	0,00	0,51	0,72	0,80	0,40	0,01	0,12
rf~42+19	0,63	0,00	0,57	0,66	0,78	0,41	0,00	0,00
rpart~18+32	0,63	0,00	0,49	0,67	0,77	0,38	0,02	0,07
knn~29+18	0,63	0,00	0,45	0,76	0,81	0,39	0,01	0,57
rf~12+38	0,63	0,01	0,45	0,74	0,79	0,38	0,02	0,36
rf~4+8	0,63	0,01	0,65	0,55	0,76	0,42	0,00	0,02
knn~11+5	0,62	0,01	0,72	0,45	0,74	0,42	0,05	0,42
rf~4+1	0,63	0,01	0,52	0,67	0,78	0,39	0,01	0,07
rf~16+39	0,63	0,01	0,49	0,69	0,78	0,38	0,01	0,74
nb~33+6	0,63	0,01	0,41	0,79	0,82	0,38	0,01	0,21
nb~32+6	0,63	0,01	0,31	0,90	0,87	0,37	0,00	0,04
svm~13+28	0,63	0,01	0,47	0,72	0,79	0,38	0,01	0,00
svm~1+6	0,63	0,01	0,41	0,72	0,76	0,36	0,03	0,07
svm~9+19	0,63	0,01	0,54	0,64	0,77	0,39	0,01	0,05
knn~5+6	0,62	0,01	0,51	0,76	0,82	0,41	0,00	0,20
nb~28+6	0,63	0,01	0,46	0,76	0,81	0,39	0,00	0,01

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
rpart~4+31	0,62	0,01	0,49	0,74	0,81	0,40	0,00	0,00
knn~16+39	0,62	0,01	0,71	0,38	0,72	0,37	0,23	0,62
svm~5+32	0,63	0,01	0,42	0,78	0,81	0,38	0,05	0,29
rpart~4+18	0,62	0,01	0,44	0,71	0,77	0,36	0,01	0,33
rpart~16+20	0,62	0,01	0,60	0,60	0,77	0,41	0,00	0,04
knn~32+6	0,62	0,01	0,46	0,72	0,79	0,38	0,01	0,02
svm~4+15	0,63	0,01	0,26	0,84	0,79	0,34	0,01	0,01
nb~7+6	0,62	0,01	0,45	0,78	0,82	0,39	0,00	0,54
knn~18+6	0,62	0,01	0,41	0,79	0,82	0,38	0,01	0,58
knn~39+22	0,62	0,01	0,53	0,67	0,78	0,39	0,00	0,06
rf~18+13	0,62	0,01	0,55	0,64	0,77	0,39	0,02	0,30
rpart~20+6	0,62	0,01	0,49	0,66	0,76	0,37	0,02	0,04
svm~19+28	0,62	0,01	0,43	0,76	0,80	0,38	0,01	0,01
svm~19+6	0,62	0,01	0,44	0,74	0,79	0,37	0,00	0,01
knn~12+22	0,62	0,01	0,45	0,76	0,81	0,39	0,00	0,00
knn~20+6	0,62	0,01	0,59	0,55	0,75	0,38	0,03	0,03
nb~1+22	0,62	0,01	0,49	0,59	0,72	0,34	0,31	0,01
nb~15+13	0,62	0,01	0,45	0,72	0,78	0,37	0,03	0,42
nb~16+18	0,62	0,01	0,50	0,67	0,77	0,38	0,02	0,27
nb~4+9	0,62	0,01	0,37	0,86	0,85	0,38	0,00	0,04
nb~9+22	0,62	0,01	0,41	0,74	0,78	0,36	0,03	0,12
svm~18+6	0,62	0,01	0,38	0,78	0,79	0,36	0,01	0,09
knn~4+16	0,62	0,01	0,54	0,66	0,78	0,39	0,01	0,01
rf~18+9	0,62	0,01	0,48	0,69	0,77	0,37	0,05	0,27
nb~5+19	0,62	0,01	0,61	0,53	0,74	0,38	0,09	0,05
svm~4+41	0,62	0,01	0,27	0,88	0,83	0,35	0,00	0,03
nb~4+36	0,62	0,01	0,22	0,88	0,80	0,34	0,01	0,01
nb~4+5	0,62	0,01	0,36	0,84	0,84	0,37	0,00	0,02
svm~24+6	0,62	0,01	0,34	0,83	0,81	0,36	0,00	0,09
nb~36+6	0,62	0,01	0,40	0,81	0,82	0,38	0,00	0,05
rpart~4+28	0,62	0,01	0,39	0,79	0,81	0,37	0,00	0,04
svm~5+22	0,62	0,01	0,48	0,71	0,78	0,38	0,03	0,01
rpart~39+18	0,61	0,01	0,45	0,71	0,77	0,37	0,02	0,52
rf~4+31	0,62	0,01	0,47	0,72	0,79	0,38	0,01	0,02
svm~28+6	0,62	0,01	0,41	0,74	0,78	0,36	0,01	0,01
rpart~18+22	0,61	0,01	0,37	0,84	0,84	0,38	0,00	0,32
nb~4+22	0,62	0,01	0,38	0,84	0,84	0,38	0,00	0,00
nb~4+24	0,62	0,01	0,26	0,90	0,85	0,35	0,00	0,00
nb~8+6	0,62	0,01	0,41	0,81	0,83	0,38	0,01	0,24
nb~13+32	0,62	0,01	0,50	0,67	0,77	0,38	0,06	0,02
rpart~13+22	0,62	0,01	0,59	0,59	0,76	0,40	0,01	0,11
rpart~16+28	0,62	0,01	0,45	0,71	0,77	0,37	0,05	0,06
rf~29+22	0,62	0,01	0,56	0,67	0,79	0,41	0,00	0,06

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
rpart~4+16	0,62	0,01	0,46	0,74	0,80	0,38	0,00	0,00
rf~1+22	0,62	0,01	0,54	0,66	0,78	0,39	0,01	0,16
svm~4+19	0,62	0,01	0,49	0,76	0,82	0,40	0,00	0,00
nb~18+6	0,62	0,01	0,44	0,74	0,79	0,37	0,00	0,04
nb~5+22	0,62	0,01	0,52	0,66	0,77	0,38	0,02	0,02
knn~10+22	0,62	0,01	0,73	0,45	0,75	0,43	0,01	0,61
rpart~4+8	0,62	0,01	0,50	0,69	0,78	0,38	0,01	0,14
nb~16+13	0,62	0,01	0,42	0,69	0,75	0,35	0,21	0,64
nb~4+33	0,62	0,01	0,29	0,91	0,88	0,37	0,00	0,05
rf~13+26	0,62	0,01	0,45	0,67	0,75	0,36	0,03	0,46
svm~18+8	0,62	0,01	0,48	0,69	0,78	0,38	0,03	0,44
rf~7+18	0,62	0,01	0,55	0,55	0,73	0,36	0,20	0,52
svm~38+6	0,62	0,01	0,46	0,76	0,81	0,39	0,00	0,18
nb~25+6	0,62	0,01	0,41	0,84	0,85	0,39	0,00	0,03
svm~32+6	0,62	0,01	0,36	0,81	0,81	0,36	0,00	0,02
svm~16+13	0,62	0,01	0,40	0,69	0,74	0,34	0,36	0,81
svm~4+9	0,62	0,01	0,39	0,79	0,81	0,37	0,00	0,15
svm~7+6	0,62	0,01	0,52	0,71	0,80	0,40	0,00	0,42
knn~15+41	0,61	0,01	0,56	0,64	0,77	0,40	0,02	0,46
rf~18+28	0,62	0,01	0,56	0,64	0,77	0,40	0,00	0,06
rpart~18+19	0,61	0,01	0,59	0,60	0,77	0,40	0,00	0,03
nb~4+7	0,62	0,01	0,36	0,79	0,79	0,36	0,02	0,25
svm~18+13	0,62	0,01	0,47	0,69	0,77	0,37	0,01	0,08
rpart~21+22	0,61	0,01	0,46	0,66	0,75	0,36	0,08	0,52
nb~37+6	0,62	0,01	0,48	0,72	0,79	0,39	0,00	0,21
rf~18+38	0,62	0,01	0,45	0,79	0,83	0,39	0,00	0,72
rf~8+22	0,62	0,01	0,54	0,64	0,77	0,39	0,01	0,21
nb~4+2	0,62	0,01	0,40	0,74	0,77	0,36	0,04	0,53
svm~39+32	0,62	0,01	0,32	0,86	0,84	0,36	0,02	0,01
knn~16+38	0,61	0,01	0,77	0,45	0,75	0,46	0,00	0,97
nb~2+6	0,62	0,01	0,46	0,74	0,80	0,38	0,01	0,99
rf~4+12	0,62	0,01	0,52	0,60	0,74	0,36	0,07	0,03
svm~4+13	0,62	0,01	0,33	0,90	0,88	0,38	0,00	0,00
nb~5+32	0,62	0,01	0,58	0,62	0,77	0,40	0,07	0,08
knn~12+16	0,61	0,01	0,43	0,78	0,81	0,38	0,00	0,04
knn~4+6	0,61	0,01	0,42	0,76	0,79	0,37	0,01	0,01
rf~9+19	0,62	0,01	0,58	0,64	0,78	0,41	0,00	0,00
rf~18+6	0,62	0,01	0,49	0,64	0,75	0,36	0,09	0,48
nb~4+8	0,62	0,01	0,25	0,90	0,84	0,35	0,00	0,02
svm~12+6	0,62	0,01	0,45	0,76	0,81	0,39	0,00	0,02
rpart~1+18	0,61	0,01	0,31	0,84	0,82	0,36	0,05	0,62
rpart~18+28	0,61	0,01	0,41	0,79	0,82	0,38	0,00	0,25
nb~19+6	0,62	0,01	0,38	0,79	0,80	0,37	0,01	0,01

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
nb~13+28	0,62	0,01	0,43	0,74	0,79	0,37	0,02	0,00
rpart~41+18	0,61	0,01	0,45	0,74	0,79	0,38	0,00	0,55
rpart~18+21	0,61	0,01	0,55	0,60	0,76	0,38	0,03	0,89
rf~4+34	0,61	0,01	0,68	0,47	0,74	0,40	0,04	0,03
nb~22+6	0,61	0,01	0,46	0,74	0,80	0,38	0,00	0,02
rf~12+31	0,61	0,01	0,53	0,57	0,73	0,35	0,03	0,05
knn~4+12	0,61	0,01	0,27	0,79	0,74	0,33	0,12	0,06
knn~4+5	0,61	0,01	0,72	0,43	0,74	0,41	0,07	0,34
rpart~4+42	0,61	0,01	0,55	0,66	0,78	0,40	0,01	0,62
svm~13+19	0,61	0,01	0,62	0,55	0,75	0,40	0,02	0,06
nb~16+38	0,61	0,01	0,36	0,69	0,72	0,33	0,58	0,41
nb~24+6	0,61	0,01	0,27	0,84	0,79	0,34	0,04	0,02
knn~16+6	0,61	0,01	0,45	0,71	0,77	0,37	0,04	0,49
nb~15+6	0,61	0,01	0,30	0,86	0,83	0,36	0,00	0,07
nb~15+5	0,61	0,01	0,55	0,71	0,81	0,42	0,00	0,43
svm~31+6	0,61	0,01	0,46	0,69	0,77	0,37	0,05	0,07
nb~5+28	0,61	0,01	0,49	0,72	0,80	0,39	0,01	0,05
rpart~39+22	0,61	0,01	0,53	0,62	0,76	0,38	0,03	0,01
nb~4+19	0,61	0,01	0,36	0,84	0,84	0,37	0,00	0,00
rf~4+16	0,61	0,01	0,55	0,60	0,76	0,38	0,05	0,00
nb~7+22	0,61	0,01	0,51	0,67	0,77	0,38	0,02	0,57
rpart~1+28	0,61	0,01	0,45	0,69	0,76	0,36	0,03	0,22
rpart~15+33	0,61	0,01	0,27	0,93	0,89	0,36	0,00	0,03
rf~35+5	0,61	0,01	0,58	0,59	0,76	0,39	0,09	0,83
rpart~8+6	0,61	0,01	0,45	0,78	0,82	0,39	0,00	0,25
rpart~18+26	0,61	0,01	0,26	0,83	0,77	0,34	0,08	0,38
svm~8+6	0,61	0,01	0,46	0,76	0,81	0,39	0,00	0,54
knn~9+22	0,61	0,01	0,45	0,71	0,77	0,37	0,02	0,15
rf~5+19	0,61	0,01	0,55	0,62	0,76	0,38	0,03	0,03
rpart~2+19	0,61	0,01	0,71	0,36	0,71	0,36	0,30	0,34
nb~16+22	0,61	0,01	0,45	0,69	0,76	0,36	0,05	0,02
nb~35+6	0,61	0,01	0,38	0,78	0,79	0,36	0,02	0,17
svm~4+7	0,61	0,01	0,44	0,78	0,81	0,38	0,00	0,38
svm~15+6	0,61	0,01	0,37	0,81	0,81	0,37	0,00	0,08
knn~9+19	0,61	0,01	0,59	0,62	0,77	0,40	0,01	0,06
rf~18+22	0,61	0,01	0,50	0,64	0,75	0,37	0,06	0,03
nb~1+28	0,61	0,01	0,41	0,74	0,78	0,36	0,03	0,00
nb~18+9	0,61	0,01	0,52	0,64	0,76	0,37	0,02	0,81
knn~16+28	0,61	0,01	0,77	0,41	0,74	0,44	0,00	0,03
nb~11+6	0,61	0,01	0,31	0,90	0,87	0,37	0,00	0,07
svm~21+6	0,61	0,01	0,45	0,71	0,77	0,37	0,02	0,58
nb~4+18	0,61	0,02	0,37	0,78	0,78	0,36	0,01	0,01
rf~4+7	0,61	0,02	0,51	0,64	0,76	0,37	0,05	0,45

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~13+22	0,61	0,02	0,49	0,71	0,79	0,39	0,00	0,16
nb~4+38	0,61	0,02	0,38	0,74	0,76	0,35	0,07	0,67
rf~26+22	0,61	0,02	0,49	0,69	0,78	0,38	0,00	0,04
svm~41+6	0,61	0,02	0,49	0,71	0,79	0,39	0,01	0,07
rf~39+32	0,61	0,02	0,59	0,60	0,77	0,40	0,01	0,00
knn~29+6	0,61	0,02	0,44	0,72	0,78	0,37	0,02	0,04
rpart~33+19	0,59	0,02	0,45	0,74	0,79	0,38	0,00	0,01
svm~19+38	0,61	0,02	0,49	0,69	0,78	0,38	0,01	0,09
rf~7+6	0,61	0,02	0,58	0,62	0,77	0,40	0,02	0,92
svm~4+1	0,61	0,02	0,31	0,84	0,82	0,36	0,02	0,01
svm~26+19	0,61	0,02	0,37	0,79	0,80	0,36	0,01	0,03
nb~13+20	0,61	0,02	0,52	0,62	0,75	0,37	0,03	0,03
nb~41+6	0,61	0,02	0,33	0,83	0,81	0,36	0,01	0,11
rf~1+18	0,61	0,02	0,64	0,53	0,75	0,40	0,09	0,72
rpart~15+13	0,61	0,02	0,34	0,76	0,75	0,34	0,27	0,10
svm~4+28	0,61	0,02	0,38	0,78	0,79	0,36	0,01	0,00
nb~34+6	0,61	0,02	0,43	0,76	0,80	0,38	0,01	0,19
nb~32+22	0,61	0,02	0,48	0,64	0,74	0,36	0,09	0,01
nb~4+41	0,61	0,02	0,31	0,83	0,80	0,35	0,01	0,03
rf~5+22	0,61	0,02	0,59	0,59	0,76	0,39	0,07	0,05
nb~10+6	0,61	0,02	0,30	0,86	0,83	0,36	0,01	0,23
svm~3+28	0,61	0,02	0,26	0,84	0,79	0,34	0,04	0,01
knn~40+28	0,61	0,02	0,37	0,86	0,85	0,38	0,00	0,25
nb~1+18	0,61	0,02	0,34	0,74	0,75	0,34	0,25	0,17
nb~18+22	0,61	0,02	0,55	0,66	0,78	0,40	0,00	0,01
knn~37+6	0,61	0,02	0,65	0,43	0,72	0,36	0,22	0,63
svm~9+22	0,61	0,02	0,38	0,78	0,79	0,36	0,01	0,29
svm~16+38	0,61	0,02	0,36	0,74	0,75	0,34	0,18	0,40
nb~13+26	0,61	0,02	0,61	0,52	0,74	0,38	0,12	0,10
knn~13+6	0,61	0,02	0,67	0,50	0,75	0,41	0,02	0,31
svm~7+22	0,61	0,02	0,52	0,67	0,78	0,39	0,01	0,66
nb~4+20	0,61	0,02	0,41	0,76	0,79	0,37	0,00	0,01
svm~34+6	0,61	0,02	0,51	0,64	0,76	0,37	0,02	0,16
nb~1+16	0,61	0,02	0,37	0,72	0,75	0,34	0,44	0,51
rf~4+9	0,61	0,02	0,48	0,66	0,75	0,36	0,02	0,03
rpart~12+5	0,60	0,02	0,49	0,71	0,79	0,39	0,02	0,50
rpart~18+8	0,60	0,02	0,48	0,74	0,81	0,39	0,00	0,86
svm~2+6	0,61	0,02	0,52	0,64	0,76	0,38	0,02	0,98
rpart~9+19	0,60	0,02	0,59	0,59	0,76	0,39	0,01	0,02
svm~4+8	0,61	0,02	0,31	0,81	0,78	0,35	0,03	0,04
rpart~31+22	0,60	0,02	0,45	0,72	0,78	0,38	0,01	0,03
nb~4+15	0,61	0,02	0,32	0,83	0,80	0,36	0,00	0,01
svm~10+6	0,61	0,02	0,36	0,81	0,81	0,36	0,00	0,18

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
nb~18+32	0,61	0,02	0,41	0,72	0,77	0,36	0,02	0,02
svm~4+38	0,61	0,02	0,35	0,78	0,78	0,35	0,02	0,16
nb~4+25	0,61	0,02	0,38	0,83	0,83	0,38	0,00	0,00
knn~30+6	0,60	0,02	0,50	0,62	0,74	0,36	0,12	0,14
nb~15+16	0,61	0,02	0,33	0,71	0,71	0,32	0,56	0,59
svm~2+28	0,61	0,02	0,52	0,59	0,74	0,36	0,07	0,21
rpart~4+5	0,60	0,02	0,48	0,66	0,76	0,37	0,13	0,91
nb~16+28	0,61	0,02	0,52	0,66	0,77	0,38	0,02	0,02
svm~26+6	0,61	0,02	0,38	0,76	0,77	0,35	0,02	0,09
svm~16+34	0,61	0,02	0,37	0,74	0,76	0,35	0,16	0,43
rf~15+28	0,61	0,02	0,52	0,59	0,74	0,36	0,17	0,52
nb~18+5	0,61	0,02	0,63	0,48	0,73	0,37	0,48	0,39
rf~26+19	0,61	0,02	0,56	0,69	0,80	0,42	0,00	0,01
rpart~28+22	0,60	0,02	0,48	0,67	0,77	0,37	0,01	0,00
knn~12+6	0,60	0,02	0,46	0,76	0,81	0,39	0,00	0,02
knn~28+21	0,60	0,02	0,70	0,41	0,73	0,39	0,11	0,11
knn~36+6	0,60	0,02	0,48	0,67	0,76	0,37	0,04	0,01
rf~19+22	0,60	0,02	0,35	0,72	0,74	0,34	0,19	0,00
knn~13+21	0,60	0,02	0,73	0,45	0,75	0,43	0,05	0,21
rpart~1+29	0,60	0,02	0,30	0,83	0,80	0,35	0,23	0,68
rpart~26+22	0,60	0,02	0,38	0,79	0,80	0,37	0,00	0,01
nb~1+15	0,60	0,02	0,37	0,71	0,73	0,34	0,54	0,37
rpart~5+32	0,60	0,02	0,42	0,71	0,76	0,36	0,24	0,16
rf~9+28	0,60	0,02	0,48	0,69	0,77	0,37	0,01	0,02
svm~18+19	0,60	0,02	0,50	0,72	0,80	0,40	0,00	0,01
nb~14+6	0,60	0,02	0,40	0,81	0,82	0,38	0,00	0,03
knn~17+37	0,60	0,02	0,71	0,50	0,76	0,44	0,00	0,22
nb~9+19	0,60	0,02	0,56	0,60	0,76	0,38	0,00	0,07
rpart~20+28	0,60	0,02	0,63	0,50	0,73	0,38	0,03	0,00
svm~15+13	0,60	0,02	0,40	0,76	0,78	0,36	0,01	0,15
nb~17+6	0,60	0,02	0,48	0,67	0,76	0,37	0,02	0,01
rf~38+28	0,60	0,02	0,52	0,62	0,75	0,37	0,07	0,05
nb~16+32	0,60	0,02	0,39	0,71	0,75	0,34	0,19	0,12
rf~4+22	0,60	0,02	0,59	0,60	0,77	0,40	0,00	0,00
svm~16+22	0,60	0,02	0,47	0,60	0,72	0,34	0,23	0,09
nb~28+22	0,60	0,02	0,46	0,67	0,76	0,36	0,02	0,00
svm~41+38	0,60	0,02	0,34	0,76	0,75	0,34	0,33	0,78
knn~19+22	0,60	0,02	0,70	0,38	0,71	0,37	0,31	0,01
rpart~4+9	0,60	0,02	0,43	0,69	0,75	0,35	0,05	0,23
nb~28+32	0,60	0,02	0,45	0,64	0,73	0,35	0,10	0,00
svm~16+31	0,60	0,02	0,32	0,71	0,71	0,32	0,84	0,82
knn~15+24	0,60	0,02	0,57	0,59	0,75	0,38	0,05	0,13
rpart~4+34	0,60	0,02	0,53	0,64	0,76	0,38	0,01	0,10

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~7+19	0,60	0,02	0,59	0,59	0,76	0,40	0,01	0,47
nb~1+19	0,60	0,02	0,70	0,45	0,74	0,41	0,05	0,00
rpart~26+19	0,60	0,02	0,62	0,53	0,75	0,39	0,04	0,01
rf~4+13	0,60	0,02	0,38	0,81	0,81	0,37	0,00	0,02
rpart~16+18	0,58	0,02	0,30	0,90	0,86	0,37	0,00	0,37
nb~18+28	0,60	0,02	0,42	0,64	0,72	0,33	0,21	0,01
svm~4+29	0,60	0,03	0,28	0,84	0,80	0,35	0,00	0,03
svm~1+18	0,60	0,03	0,35	0,81	0,80	0,36	0,02	0,90
rf~25+28	0,60	0,03	0,45	0,59	0,70	0,32	0,85	0,01
nb~24+22	0,60	0,03	0,51	0,62	0,75	0,36	0,05	0,00
svm~1+19	0,60	0,03	0,49	0,64	0,75	0,36	0,04	0,05
rf~8+19	0,60	0,03	0,35	0,72	0,74	0,34	0,25	0,04
nb~2+22	0,60	0,03	0,46	0,64	0,74	0,35	0,16	0,73
nb~12+6	0,60	0,03	0,51	0,67	0,77	0,38	0,01	0,02
svm~39+6	0,60	0,03	0,40	0,81	0,82	0,38	0,00	0,11
rpart~4+13	0,60	0,03	0,44	0,72	0,78	0,37	0,01	0,00
rpart~5+20	0,60	0,03	0,57	0,55	0,74	0,37	0,05	0,16
svm~4+22	0,60	0,03	0,42	0,83	0,84	0,39	0,00	0,00
svm~25+6	0,60	0,03	0,54	0,62	0,76	0,38	0,02	0,11
rpart~22+6	0,60	0,03	0,41	0,74	0,78	0,36	0,04	0,02
knn~4+1	0,60	0,03	0,70	0,41	0,73	0,39	0,19	0,04
rpart~7+20	0,60	0,03	0,65	0,50	0,74	0,39	0,03	0,88
nb~18+2	0,60	0,03	0,41	0,69	0,74	0,34	0,19	0,23
knn~17+22	0,60	0,03	0,45	0,66	0,74	0,35	0,03	0,01
knn~19+28	0,60	0,03	0,52	0,59	0,74	0,36	0,07	0,03
rpart~20+22	0,60	0,03	0,42	0,72	0,77	0,36	0,02	0,01
svm~39+22	0,60	0,03	0,52	0,62	0,75	0,37	0,04	0,02
knn~22+6	0,60	0,03	0,66	0,50	0,75	0,40	0,03	0,06
rpart~14+22	0,60	0,03	0,38	0,83	0,83	0,38	0,00	0,02
rpart~24+5	0,60	0,03	0,38	0,76	0,78	0,36	0,08	0,02
rf~16+38	0,60	0,03	0,52	0,66	0,77	0,38	0,01	0,69
svm~8+28	0,60	0,03	0,45	0,66	0,74	0,35	0,07	0,01
svm~4+32	0,60	0,03	0,38	0,76	0,78	0,36	0,01	0,00
nb~20+6	0,60	0,03	0,44	0,67	0,75	0,35	0,05	0,03
rpart~1+20	0,60	0,03	0,66	0,50	0,75	0,40	0,03	0,01
knn~24+13	0,60	0,03	0,58	0,53	0,73	0,36	0,07	0,03
rpart~41+28	0,60	0,03	0,38	0,78	0,79	0,36	0,00	0,00
svm~8+22	0,60	0,03	0,41	0,76	0,79	0,37	0,01	0,14
rf~16+28	0,60	0,03	0,47	0,67	0,76	0,36	0,08	0,12
nb~4+37	0,60	0,03	0,34	0,83	0,81	0,36	0,00	0,05
svm~28+21	0,60	0,03	0,40	0,76	0,78	0,36	0,00	0,06
nb~1+32	0,60	0,03	0,40	0,66	0,72	0,33	0,58	0,01
rpart~32+22	0,60	0,03	0,39	0,78	0,79	0,37	0,00	0,02

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
knn~42+19	0,60	0,03	0,61	0,59	0,76	0,40	0,01	0,02
knn~15+13	0,60	0,03	0,61	0,50	0,73	0,37	0,16	0,20
svm~13+26	0,60	0,03	0,27	0,90	0,85	0,36	0,00	0,05
rf~16+3	0,60	0,03	0,32	0,81	0,79	0,35	0,07	0,00
svm~16+28	0,60	0,03	0,43	0,84	0,86	0,40	0,00	0,01
nb~36+22	0,60	0,03	0,53	0,57	0,73	0,35	0,08	0,02
svm~24+5	0,60	0,03	0,30	0,84	0,81	0,36	0,04	0,02
nb~15+22	0,60	0,03	0,36	0,81	0,81	0,36	0,00	0,03
svm~4+18	0,60	0,03	0,32	0,78	0,76	0,34	0,05	0,03
svm~19+22	0,60	0,03	0,40	0,74	0,77	0,36	0,03	0,01
nb~15+28	0,60	0,03	0,34	0,81	0,80	0,36	0,00	0,01
nb~37+22	0,60	0,03	0,48	0,60	0,73	0,35	0,10	0,10
svm~33+6	0,60	0,03	0,41	0,69	0,75	0,35	0,20	0,27
svm~16+41	0,60	0,03	0,30	0,72	0,71	0,32	0,77	0,87
nb~21+6	0,60	0,03	0,42	0,76	0,79	0,37	0,01	0,34
nb~24+5	0,60	0,03	0,59	0,60	0,77	0,40	0,06	0,06
knn~1+18	0,60	0,03	0,70	0,43	0,73	0,40	0,09	0,61
nb~4+29	0,60	0,03	0,36	0,74	0,75	0,34	0,06	0,13
svm~16+10	0,60	0,03	0,53	0,62	0,76	0,38	0,08	0,67
nb~23+6	0,60	0,03	0,39	0,78	0,79	0,37	0,03	0,82
svm~16+19	0,60	0,03	0,47	0,62	0,73	0,35	0,26	0,18
rpart~4+41	0,60	0,03	0,33	0,84	0,82	0,36	0,00	0,20
rf~12+22	0,60	0,03	0,45	0,71	0,77	0,37	0,00	0,00
rf~20+6	0,60	0,03	0,51	0,62	0,75	0,36	0,11	0,25
nb~4+17	0,60	0,03	0,33	0,83	0,81	0,36	0,00	0,00
svm~4+27	0,60	0,03	0,38	0,74	0,77	0,35	0,00	0,01
knn~26+22	0,59	0,03	0,64	0,52	0,75	0,39	0,03	0,02
nb~16+2	0,60	0,03	0,49	0,69	0,78	0,38	0,03	0,14
svm~1+22	0,60	0,03	0,38	0,79	0,80	0,37	0,01	0,05
rf~9+6	0,60	0,03	0,45	0,66	0,74	0,35	0,07	0,20
rpart~24+19	0,59	0,03	0,52	0,62	0,75	0,37	0,04	0,00
nb~16+20	0,60	0,03	0,57	0,53	0,73	0,36	0,05	0,06
rpart~1+21	0,60	0,03	0,36	0,76	0,77	0,35	0,20	0,27
nb~38+6	0,60	0,03	0,39	0,76	0,78	0,36	0,04	0,99
nb~16+41	0,60	0,03	0,32	0,72	0,72	0,33	0,56	0,74
nb~4+14	0,60	0,03	0,26	0,88	0,83	0,35	0,00	0,01
rpart~42+22	0,59	0,03	0,49	0,60	0,73	0,35	0,07	0,09
nb~2+28	0,60	0,03	0,44	0,67	0,75	0,35	0,05	0,51
nb~4+11	0,60	0,03	0,23	0,93	0,88	0,35	0,00	0,01
nb~4+35	0,60	0,03	0,30	0,88	0,84	0,36	0,00	0,05
rpart~19+3	0,59	0,04	0,47	0,72	0,79	0,38	0,00	0,01
nb~5+2	0,60	0,04	0,38	0,86	0,86	0,38	0,00	0,31
svm~12+5	0,60	0,04	0,52	0,62	0,75	0,37	0,07	0,28

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
nb~35+5	0,60	0,04	0,64	0,53	0,75	0,40	0,09	0,77
rpart~20+34	0,59	0,04	0,59	0,53	0,74	0,37	0,10	0,03
knn~1+28	0,59	0,04	0,73	0,40	0,73	0,40	0,08	0,23
rf~41+20	0,60	0,04	0,52	0,66	0,77	0,38	0,02	0,03
nb~19+22	0,60	0,04	0,59	0,59	0,76	0,39	0,01	0,00
rpart~18+9	0,58	0,04	0,38	0,81	0,82	0,37	0,00	0,86
rpart~15+3	0,59	0,04	0,20	0,88	0,78	0,33	0,13	0,18
nb~8+22	0,60	0,04	0,55	0,60	0,75	0,38	0,06	0,10
nb~19+32	0,60	0,04	0,41	0,72	0,76	0,36	0,04	0,00
svm~17+6	0,60	0,04	0,39	0,72	0,76	0,35	0,05	0,04
rpart~16+22	0,59	0,04	0,49	0,67	0,77	0,38	0,02	0,18
svm~31+19	0,60	0,04	0,52	0,66	0,77	0,38	0,01	0,00
rpart~5+19	0,59	0,04	0,66	0,53	0,76	0,42	0,00	0,01
knn~41+19	0,59	0,04	0,73	0,40	0,73	0,40	0,02	0,00
nb~41+28	0,60	0,04	0,48	0,60	0,73	0,35	0,13	0,01
svm~15+22	0,60	0,04	0,34	0,84	0,83	0,37	0,00	0,05
rf~35+6	0,60	0,04	0,52	0,57	0,73	0,35	0,28	0,89
rpart~1+6	0,59	0,04	0,47	0,66	0,75	0,36	0,07	0,79
rf~17+9	0,60	0,04	0,49	0,67	0,77	0,38	0,04	0,17
nb~15+9	0,60	0,04	0,46	0,67	0,76	0,36	0,03	0,90
nb~26+6	0,60	0,04	0,45	0,72	0,78	0,37	0,01	0,05
rpart~15+20	0,59	0,04	0,52	0,66	0,77	0,38	0,00	0,13
rpart~1+19	0,59	0,04	0,54	0,64	0,77	0,39	0,03	0,00
knn~35+6	0,59	0,04	0,58	0,57	0,75	0,38	0,10	0,36
knn~35+5	0,59	0,04	0,45	0,72	0,78	0,37	0,09	0,81
rf~9+22	0,60	0,04	0,42	0,71	0,76	0,36	0,05	0,08
rpart~39+28	0,59	0,04	0,50	0,69	0,78	0,38	0,00	0,00
knn~24+8	0,59	0,04	0,52	0,62	0,75	0,37	0,06	0,13
rf~38+22	0,59	0,04	0,48	0,69	0,78	0,38	0,00	0,14
nb~16+11	0,59	0,04	0,42	0,64	0,72	0,33	0,44	0,80
svm~29+28	0,59	0,04	0,32	0,76	0,75	0,34	0,12	0,02
knn~39+32	0,59	0,04	0,67	0,48	0,74	0,40	0,10	0,00
knn~24+22	0,59	0,04	0,37	0,78	0,78	0,36	0,02	0,06
knn~4+36	0,59	0,04	0,69	0,40	0,72	0,37	0,09	0,07
knn~16+22	0,59	0,04	0,51	0,69	0,78	0,39	0,00	0,18
knn~16+3	0,59	0,04	0,62	0,57	0,76	0,40	0,04	0,02
rpart~18+38	0,59	0,04	0,55	0,60	0,75	0,38	0,05	0,22
nb~36+19	0,59	0,04	0,63	0,62	0,78	0,43	0,00	0,01
svm~16+32	0,59	0,04	0,30	0,79	0,76	0,34	0,10	0,13
knn~24+6	0,59	0,04	0,63	0,48	0,73	0,37	0,17	0,07
rpart~4+7	0,59	0,04	0,48	0,67	0,77	0,37	0,05	0,92
nb~25+22	0,59	0,04	0,48	0,72	0,79	0,39	0,00	0,01
knn~40+13	0,59	0,04	0,62	0,55	0,75	0,40	0,03	0,23

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~39+19	0,59	0,04	0,54	0,64	0,77	0,39	0,00	0,00
nb~3+6	0,59	0,04	0,27	0,86	0,81	0,35	0,02	0,05
rpart~4+14	0,59	0,04	0,37	0,76	0,77	0,35	0,02	0,19
nb~18+8	0,59	0,04	0,41	0,72	0,77	0,36	0,06	0,86
svm~33+28	0,59	0,04	0,52	0,57	0,73	0,35	0,27	0,02
rf~20+22	0,59	0,04	0,43	0,69	0,75	0,35	0,07	0,04
nb~41+22	0,59	0,04	0,49	0,64	0,75	0,36	0,04	0,06
knn~37+20	0,59	0,04	0,36	0,81	0,81	0,36	0,00	0,15
knn~15+39	0,59	0,04	0,55	0,60	0,75	0,38	0,07	0,85
svm~2+22	0,59	0,04	0,57	0,52	0,72	0,35	0,16	0,41
nb~29+6	0,59	0,04	0,38	0,78	0,79	0,36	0,01	0,27
rf~31+19	0,59	0,04	0,56	0,52	0,72	0,35	0,20	0,02
nb~9+28	0,59	0,04	0,41	0,74	0,78	0,36	0,01	0,05
rf~29+19	0,59	0,04	0,54	0,59	0,74	0,37	0,02	0,00
svm~41+22	0,59	0,04	0,45	0,67	0,75	0,35	0,07	0,12
knn~15+3	0,59	0,04	0,46	0,64	0,74	0,35	0,25	0,11
nb~18+36	0,59	0,04	0,48	0,59	0,72	0,34	0,23	0,43
knn~4+42	0,59	0,04	0,76	0,29	0,70	0,35	0,27	0,04
svm~29+19	0,59	0,04	0,45	0,74	0,79	0,38	0,01	0,02
knn~39+19	0,59	0,04	0,54	0,66	0,78	0,39	0,01	0,00
nb~15+18	0,59	0,04	0,39	0,74	0,77	0,36	0,01	0,28
nb~7+28	0,59	0,04	0,45	0,71	0,77	0,37	0,01	0,41
rpart~1+22	0,59	0,04	0,30	0,86	0,83	0,36	0,01	0,09
rpart~25+22	0,59	0,04	0,56	0,50	0,71	0,34	0,34	0,13
rf~24+6	0,59	0,04	0,56	0,55	0,73	0,36	0,15	0,10
svm~4+34	0,59	0,04	0,36	0,74	0,75	0,34	0,05	0,01
rf~38+6	0,59	0,04	0,52	0,66	0,77	0,38	0,02	0,08
knn~5+32	0,59	0,05	0,70	0,45	0,74	0,40	0,04	0,08
svm~28+22	0,59	0,05	0,39	0,78	0,79	0,37	0,01	0,00
rpart~16+6	0,59	0,05	0,40	0,71	0,75	0,35	0,06	0,44
knn~4+20	0,59	0,05	0,56	0,57	0,74	0,37	0,01	0,03
nb~4+12	0,59	0,05	0,34	0,79	0,78	0,35	0,02	0,00
svm~4+42	0,59	0,05	0,49	0,72	0,80	0,39	0,00	0,01
rf~12+18	0,59	0,05	0,42	0,72	0,77	0,36	0,04	0,26
rpart~10+22	0,59	0,05	0,44	0,72	0,78	0,37	0,01	0,03
svm~35+19	0,59	0,05	0,42	0,74	0,78	0,37	0,03	0,05
knn~18+32	0,59	0,05	0,72	0,45	0,74	0,42	0,02	0,07
rpart~17+22	0,59	0,05	0,44	0,69	0,76	0,36	0,04	0,27
rpart~15+9	0,58	0,05	0,31	0,79	0,77	0,34	0,05	0,74
knn~4+34	0,59	0,05	0,67	0,40	0,71	0,35	0,22	0,01
knn~14+32	0,59	0,05	0,63	0,52	0,74	0,39	0,01	0,01
rpart~35+31	0,58	0,05	0,32	0,83	0,80	0,36	0,05	0,72
rf~1+28	0,59	0,05	0,52	0,62	0,75	0,37	0,09	0,39

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~36+19	0,59	0,05	0,45	0,67	0,75	0,36	0,03	0,02
rpart~9+20	0,59	0,05	0,62	0,50	0,73	0,37	0,06	0,18
rf~26+28	0,59	0,05	0,54	0,57	0,73	0,36	0,02	0,01
knn~16+10	0,59	0,05	0,70	0,43	0,73	0,40	0,07	0,49
knn~42+18	0,59	0,05	0,52	0,59	0,73	0,35	0,24	0,68
rpart~9+22	0,58	0,05	0,39	0,79	0,81	0,37	0,00	0,17
rpart~4+6	0,59	0,05	0,43	0,67	0,74	0,35	0,14	0,13
rf~41+18	0,59	0,05	0,41	0,74	0,78	0,36	0,04	0,53
rf~18+37	0,59	0,05	0,38	0,78	0,79	0,36	0,03	0,91
svm~4+31	0,59	0,05	0,41	0,66	0,73	0,34	0,19	0,00
rpart~39+6	0,59	0,05	0,45	0,76	0,80	0,38	0,00	0,10
knn~18+8	0,59	0,05	0,46	0,69	0,77	0,37	0,02	0,84
svm~39+28	0,59	0,05	0,45	0,71	0,77	0,37	0,01	0,00
nb~11+22	0,59	0,05	0,59	0,55	0,75	0,38	0,03	0,03
rf~3+28	0,59	0,05	0,44	0,71	0,77	0,36	0,02	0,00
nb~39+6	0,59	0,05	0,39	0,71	0,75	0,34	0,10	0,10
nb~5+20	0,59	0,05	0,60	0,55	0,75	0,39	0,07	0,23

Tabla 50: biomarcadores por pares del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue $\leq$ 0,001*) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de MET.

Auc.pvalue: Valor p de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. KM: Curvas de Kaplan Meier. mvaHRPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos. * Clasificadores múltiples con valores p entre 0,001 y 0,05 no incluidos.

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
nb~4+16	0,747	0,000	0,471	0,890	0,711	0,745	0,000	0,000
svm~4+16	0,741	0,000	0,544	0,763	0,569	0,744	0,000	0,001
nb~4+35	0,726	0,000	0,471	0,890	0,711	0,745	0,000	0,002
nb~16+6	0,725	0,000	0,574	0,746	0,565	0,752	0,000	0,001
nb~4+15	0,725	0,000	0,471	0,839	0,627	0,733	0,000	0,000
rpart~4+16	0,719	0,000	0,588	0,712	0,541	0,750	0,000	0,002
nb~15+16	0,724	0,000	0,471	0,771	0,542	0,717	0,000	0,005
nb~4+8	0,721	0,000	0,397	0,907	0,711	0,723	0,000	0,000
svm~4+8	0,718	0,000	0,441	0,822	0,588	0,719	0,000	0,000
nb~4+13	0,718	0,000	0,397	0,907	0,711	0,723	0,000	0,000
svm~35+19	0,717	0,000	0,544	0,729	0,536	0,735	0,000	0,001
nb~35+6	0,716	0,000	0,515	0,780	0,574	0,736	0,000	0,006
knn~4+16	0,711	0,000	0,735	0,669	0,562	0,814	0,000	0,000
nb~16+22	0,714	0,000	0,588	0,695	0,526	0,745	0,000	0,000
nb~15+24	0,714	0,000	0,500	0,763	0,548	0,726	0,000	0,001
svm~16+18	0,714	0,000	0,574	0,754	0,574	0,754	0,000	0,001
nb~16+19	0,713	0,000	0,662	0,678	0,542	0,777	0,000	0,000
nb~4+24	0,713	0,000	0,412	0,907	0,718	0,728	0,000	0,000
nb~16+18	0,712	0,000	0,647	0,669	0,530	0,767	0,000	0,001

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~15+13	0,711	0,000	0,529	0,754	0,554	0,736	0,000	0,021
svm~16+19	0,711	0,000	0,618	0,661	0,512	0,750	0,000	0,001
nb~16+20	0,710	0,000	0,706	0,559	0,480	0,767	0,000	0,000
nb~15+28	0,710	0,000	0,471	0,805	0,582	0,725	0,000	0,002
svm~16+22	0,710	0,000	0,574	0,627	0,470	0,718	0,003	0,003
nb~35+19	0,710	0,000	0,765	0,602	0,525	0,816	0,000	0,001
nb~15+8	0,709	0,000	0,441	0,822	0,588	0,719	0,000	0,046
svm~19+28	0,708	0,000	0,559	0,737	0,551	0,744	0,000	0,001
svm~4+29	0,707	0,000	0,426	0,864	0,644	0,723	0,000	0,000
svm~13+22	0,706	0,000	0,618	0,678	0,525	0,755	0,000	0,003
rpart~15+33	0,697	0,000	0,338	0,873	0,605	0,696	0,000	0,121
nb~15+13	0,705	0,000	0,574	0,712	0,534	0,743	0,000	0,034
svm~31+19	0,705	0,000	0,662	0,653	0,523	0,770	0,000	0,000
svm~15+8	0,704	0,000	0,397	0,831	0,574	0,705	0,000	0,065
nb~35+22	0,704	0,000	0,750	0,525	0,477	0,785	0,000	0,007
svm~16+6	0,703	0,000	0,603	0,695	0,532	0,752	0,000	0,001
nb~4+1	0,703	0,000	0,500	0,839	0,642	0,744	0,000	0,000
svm~4+41	0,703	0,000	0,353	0,847	0,571	0,694	0,001	0,001
rpart~4+1	0,697	0,000	0,691	0,559	0,475	0,759	0,001	0,004
svm~4+31	0,702	0,000	0,574	0,712	0,534	0,743	0,000	0,000
nb~13+6	0,702	0,000	0,603	0,729	0,562	0,761	0,000	0,001
nb~4+12	0,702	0,000	0,500	0,822	0,618	0,740	0,000	0,000
nb~15+35	0,702	0,000	0,574	0,746	0,565	0,752	0,000	0,183
nb~4+2	0,701	0,000	0,559	0,763	0,576	0,750	0,000	0,056
svm~15+16	0,701	0,000	0,426	0,805	0,558	0,709	0,000	0,039
rpart~4+31	0,698	0,000	0,632	0,703	0,551	0,769	0,000	0,005
nb~4+28	0,700	0,000	0,471	0,822	0,604	0,729	0,000	0,000
nb~4+9	0,699	0,000	0,529	0,839	0,655	0,756	0,000	0,002
nb~35+20	0,699	0,000	0,824	0,449	0,463	0,815	0,000	0,001
nb~4+33	0,698	0,000	0,441	0,898	0,714	0,736	0,000	0,005
rpart~4+42	0,694	0,000	0,676	0,627	0,511	0,771	0,000	0,028
nb~4+19	0,697	0,000	0,500	0,822	0,618	0,740	0,000	0,000
nb~4+20	0,697	0,000	0,559	0,754	0,567	0,748	0,000	0,000
svm~4+19	0,696	0,000	0,691	0,746	0,610	0,807	0,000	0,000
svm~4+28	0,696	0,000	0,485	0,763	0,541	0,720	0,000	0,001
svm~8+22	0,695	0,000	0,529	0,737	0,537	0,731	0,000	0,004
rpart~4+13	0,692	0,000	0,544	0,703	0,514	0,728	0,000	0,000
nb~15+19	0,695	0,000	0,441	0,805	0,566	0,714	0,000	0,002
nb~15+6	0,695	0,000	0,397	0,839	0,587	0,707	0,000	0,006
nb~13+22	0,695	0,000	0,603	0,695	0,532	0,752	0,000	0,002
svm~29+19	0,695	0,000	0,603	0,729	0,562	0,761	0,000	0,000
rpart~4+18	0,690	0,000	0,559	0,703	0,521	0,735	0,000	0,005
svm~4+1	0,694	0,000	0,471	0,856	0,653	0,737	0,000	0,001

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
nb~16+28	0,694	0,000	0,632	0,627	0,494	0,747	0,000	0,001
svm~8+19	0,693	0,000	0,603	0,644	0,494	0,738	0,000	0,000
nb~8+22	0,692	0,000	0,706	0,619	0,516	0,785	0,000	0,003
nb~4+40	0,692	0,000	0,441	0,915	0,750	0,740	0,000	0,007
svm~13+28	0,692	0,000	0,588	0,695	0,526	0,745	0,000	0,000
rpart~15+13	0,688	0,000	0,456	0,780	0,544	0,713	0,000	0,151
nb~16+17	0,691	0,000	0,485	0,780	0,559	0,724	0,000	0,001
svm~19+38	0,691	0,000	0,632	0,678	0,531	0,762	0,000	0,003
rpart~15+20	0,674	0,000	0,691	0,661	0,540	0,788	0,000	0,000
svm~15+2	0,690	0,000	0,559	0,754	0,567	0,748	0,000	0,472
svm~15+28	0,690	0,000	0,441	0,805	0,566	0,714	0,000	0,002
nb~4+37	0,690	0,000	0,456	0,814	0,585	0,722	0,000	0,004
svm~40+6	0,690	0,000	0,691	0,576	0,485	0,764	0,000	0,050
nb~8+19	0,690	0,000	0,618	0,686	0,532	0,757	0,000	0,000
svm~8+6	0,690	0,000	0,588	0,720	0,548	0,752	0,000	0,005
nb~4+6	0,689	0,000	0,500	0,814	0,607	0,738	0,000	0,002
nb~15+22	0,689	0,000	0,471	0,788	0,561	0,721	0,000	0,004
svm~4+40	0,689	0,000	0,632	0,610	0,483	0,742	0,001	0,139
rpart~4+8	0,685	0,000	0,647	0,678	0,537	0,769	0,000	0,000
svm~15+19	0,689	0,000	0,412	0,847	0,609	0,714	0,000	0,010
svm~40+19	0,689	0,000	0,618	0,585	0,462	0,726	0,005	0,017
nb~15+9	0,688	0,000	0,574	0,669	0,500	0,731	0,001	0,069
nb~9+22	0,688	0,000	0,529	0,737	0,537	0,731	0,000	0,007
nb~4+32	0,688	0,000	0,500	0,873	0,694	0,752	0,000	0,000
nb~9+19	0,688	0,000	0,691	0,593	0,495	0,769	0,000	0,000
nb~40+6	0,687	0,000	0,515	0,780	0,574	0,736	0,000	0,033
rf~9+19	0,687	0,000	0,721	0,610	0,516	0,791	0,000	0,000
knn~4+12	0,684	0,000	0,382	0,831	0,565	0,700	0,000	0,002
nb~16+26	0,687	0,000	0,500	0,771	0,557	0,728	0,000	0,000
nb~4+31	0,687	0,000	0,485	0,839	0,635	0,739	0,000	0,001
nb~4+22	0,687	0,000	0,515	0,814	0,614	0,744	0,000	0,001
knn~4+19	0,683	0,000	0,647	0,703	0,557	0,776	0,000	0,000
nb~15+18	0,687	0,000	0,515	0,746	0,538	0,727	0,000	0,032
rpart~18+32	0,684	0,000	0,632	0,669	0,524	0,760	0,000	0,004
nb~4+42	0,686	0,000	0,397	0,856	0,614	0,711	0,000	0,005
nb~40+22	0,686	0,000	0,662	0,602	0,489	0,755	0,001	0,025
knn~4+42	0,681	0,000	0,838	0,314	0,413	0,771	0,021	0,001
nb~4+17	0,686	0,000	0,471	0,831	0,615	0,731	0,000	0,001
nb~13+19	0,685	0,000	0,779	0,576	0,515	0,819	0,000	0,000
nb~16+24	0,685	0,000	0,515	0,712	0,507	0,718	0,001	0,000
svm~24+2	0,685	0,000	0,456	0,771	0,534	0,711	0,000	0,008
rpart~16+20	0,678	0,000	0,721	0,568	0,490	0,779	0,000	0,001
rpart~35+6	0,681	0,000	0,529	0,737	0,537	0,731	0,000	0,007
rpart~13+6	0,680	0,000	0,647	0,729	0,579	0,782	0,000	0,001

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
nb~8+6	0,685	0,000	0,515	0,763	0,556	0,732	0,000	0,005
rf~4+12	0,684	0,000	0,647	0,610	0,489	0,750	0,000	0,002
svm~8+28	0,684	0,000	0,588	0,678	0,513	0,741	0,000	0,008
rpart~20+28	0,671	0,000	0,750	0,508	0,468	0,779	0,000	0,000
svm~4+13	0,684	0,000	0,456	0,856	0,646	0,732	0,000	0,000
svm~29+22	0,684	0,000	0,618	0,610	0,477	0,735	0,001	0,004
svm~4+27	0,684	0,000	0,515	0,754	0,547	0,730	0,000	0,006
nb~4+41	0,683	0,000	0,441	0,831	0,600	0,721	0,000	0,003
rpart~13+22	0,680	0,000	0,706	0,559	0,480	0,767	0,000	0,009
nb~28+6	0,683	0,000	0,588	0,720	0,548	0,752	0,000	0,002
rpart~2+19	0,674	0,000	0,809	0,381	0,430	0,776	0,005	0,060
svm~4+15	0,682	0,000	0,397	0,873	0,643	0,715	0,000	0,000
svm~4+38	0,682	0,000	0,515	0,805	0,603	0,742	0,000	0,001
rpart~4+32	0,679	0,000	0,500	0,729	0,515	0,717	0,001	0,001
svm~13+19	0,681	0,000	0,735	0,534	0,476	0,778	0,000	0,000
nb~8+28	0,681	0,000	0,647	0,686	0,543	0,771	0,000	0,002
knn~40+28	0,677	0,000	0,485	0,814	0,600	0,733	0,000	0,005
nb~15+20	0,680	0,000	0,662	0,610	0,495	0,758	0,000	0,003
rpart~35+19	0,677	0,000	0,618	0,686	0,532	0,757	0,000	0,008
nb~4+27	0,680	0,000	0,574	0,695	0,520	0,739	0,000	0,001
nb~15+17	0,680	0,000	0,471	0,729	0,500	0,705	0,001	0,011
nb~24+28	0,680	0,000	0,485	0,754	0,532	0,718	0,000	0,000
nb~9+6	0,680	0,000	0,632	0,610	0,483	0,742	0,001	0,011
svm~4+12	0,680	0,000	0,485	0,814	0,600	0,733	0,000	0,003
nb~37+22	0,679	0,000	0,603	0,627	0,482	0,733	0,001	0,010
svm~26+19	0,679	0,000	0,529	0,805	0,610	0,748	0,000	0,001
svm~4+9	0,679	0,000	0,529	0,780	0,581	0,742	0,000	0,006
nb~15+32	0,679	0,000	0,309	0,873	0,583	0,687	0,000	0,008
rf~4+31	0,679	0,000	0,559	0,678	0,500	0,727	0,001	0,003
svm~9+19	0,679	0,000	0,676	0,627	0,511	0,771	0,000	0,000
svm~15+35	0,679	0,000	0,426	0,847	0,617	0,719	0,000	0,229
nb~28+22	0,679	0,000	0,559	0,661	0,487	0,722	0,001	0,001
nb~35+28	0,678	0,000	0,603	0,712	0,547	0,757	0,000	0,025
svm~35+6	0,678	0,000	0,485	0,771	0,550	0,722	0,000	0,007
knn~4+43	0,674	0,000	0,515	0,720	0,515	0,720	0,001	0,018
nb~2+22	0,678	0,000	0,559	0,644	0,475	0,717	0,005	0,129
rpart~15+2	0,671	0,000	0,647	0,627	0,500	0,755	0,000	0,587
svm~9+22	0,678	0,000	0,500	0,763	0,548	0,726	0,000	0,014
svm~16+28	0,677	0,000	0,544	0,771	0,578	0,746	0,000	0,002
svm~19+22	0,677	0,000	0,500	0,729	0,515	0,717	0,000	0,001
nb~24+6	0,677	0,000	0,353	0,839	0,558	0,692	0,000	0,001
rpart~15+26	0,670	0,000	0,338	0,864	0,590	0,694	0,000	0,061
svm~16+38	0,677	0,000	0,471	0,754	0,525	0,712	0,001	0,054
rpart~4+28	0,673	0,000	0,515	0,771	0,565	0,734	0,000	0,002

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~15+31	0,677	0,000	0,353	0,814	0,522	0,686	0,003	0,170
nb~40+19	0,677	0,000	0,706	0,534	0,466	0,759	0,001	0,008
nb~15+2	0,676	0,000	0,529	0,763	0,563	0,738	0,000	0,474
nb~40+20	0,676	0,000	0,691	0,559	0,475	0,759	0,001	0,007
svm~41+6	0,676	0,000	0,588	0,661	0,500	0,736	0,000	0,005
nb~4+23	0,676	0,000	0,500	0,805	0,596	0,736	0,000	0,052
svm~4+6	0,676	0,000	0,544	0,780	0,587	0,748	0,000	0,016
nb~4+29	0,676	0,000	0,485	0,763	0,541	0,720	0,000	0,010
knn~4+39	0,672	0,000	0,794	0,432	0,446	0,785	0,001	0,000
rf~13+26	0,675	0,000	0,588	0,686	0,519	0,743	0,000	0,001
rpart~9+19	0,662	0,000	0,706	0,568	0,485	0,770	0,000	0,001
nb~4+38	0,675	0,000	0,544	0,780	0,587	0,748	0,000	0,013
rf~4+19	0,675	0,000	0,574	0,661	0,494	0,729	0,000	0,000
nb~4+34	0,675	0,000	0,441	0,839	0,612	0,723	0,000	0,002
rf~4+1	0,675	0,000	0,632	0,644	0,506	0,752	0,000	0,023
nb~13+28	0,675	0,000	0,544	0,720	0,529	0,733	0,000	0,001
rpart~4+11	0,644	0,000	0,441	0,797	0,556	0,712	0,000	0,008
svm~37+19	0,675	0,000	0,647	0,585	0,473	0,742	0,001	0,000
nb~20+28	0,675	0,000	0,618	0,602	0,472	0,732	0,001	0,000
nb~42+6	0,674	0,000	0,500	0,788	0,576	0,732	0,000	0,018
rpart~33+19	0,647	0,000	0,574	0,720	0,542	0,746	0,000	0,001
rf~4+16	0,674	0,000	0,691	0,602	0,500	0,772	0,000	0,002
rpart~4+39	0,663	0,000	0,529	0,754	0,554	0,736	0,000	0,000
nb~4+36	0,674	0,000	0,368	0,915	0,714	0,715	0,000	0,001
nb~8+20	0,674	0,000	0,691	0,500	0,443	0,738	0,009	0,000
nb~24+22	0,674	0,000	0,618	0,619	0,483	0,737	0,001	0,000
svm~4+32	0,673	0,000	0,500	0,754	0,540	0,724	0,000	0,003
svm~13+6	0,673	0,000	0,559	0,712	0,528	0,737	0,000	0,001
rpart~4+29	0,669	0,000	0,559	0,678	0,500	0,727	0,001	0,000
svm~39+19	0,673	0,000	0,632	0,602	0,478	0,740	0,000	0,000
nb~15+40	0,672	0,000	0,382	0,856	0,605	0,706	0,000	0,258
nb~15+26	0,672	0,000	0,471	0,771	0,542	0,717	0,000	0,012
nb~17+28	0,672	0,000	0,529	0,686	0,493	0,717	0,001	0,001
nb~9+20	0,672	0,000	0,544	0,610	0,446	0,699	0,021	0,001
nb~13+20	0,672	0,000	0,603	0,593	0,461	0,722	0,004	0,000
nb~2+6	0,672	0,000	0,588	0,712	0,541	0,750	0,000	0,175
rpart~16+18	0,634	0,000	0,412	0,864	0,636	0,718	0,000	0,001
svm~4+35	0,672	0,000	0,471	0,797	0,571	0,723	0,000	0,007
svm~15+10	0,672	0,000	0,441	0,856	0,638	0,727	0,000	0,099
knn~15+8	0,668	0,000	0,735	0,542	0,481	0,780	0,000	0,113
knn~4+20	0,669	0,000	0,691	0,576	0,485	0,764	0,000	0,003
nb~15+37	0,671	0,000	0,426	0,771	0,518	0,700	0,001	0,150
svm~18+8	0,671	0,000	0,588	0,661	0,500	0,736	0,001	0,014
nb~2+19	0,671	0,000	0,544	0,695	0,507	0,726	0,001	0,033

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
nb~19+28	0,671	0,000	0,647	0,653	0,518	0,762	0,000	0,000
rpart~19+20	0,666	0,000	0,735	0,500	0,459	0,766	0,001	0,003
svm~4+42	0,671	0,000	0,588	0,669	0,506	0,738	0,000	0,012
svm~16+26	0,670	0,000	0,412	0,788	0,528	0,699	0,001	0,000
knn~15+16	0,666	0,000	0,750	0,466	0,447	0,764	0,003	0,002
svm~16+10	0,670	0,000	0,676	0,627	0,511	0,771	0,000	0,033
svm~17+19	0,670	0,000	0,485	0,754	0,532	0,718	0,000	0,001
nb~41+6	0,670	0,000	0,441	0,814	0,577	0,716	0,000	0,016
nb~40+28	0,670	0,000	0,662	0,661	0,529	0,772	0,000	0,028
svm~15+40	0,670	0,000	0,485	0,661	0,452	0,690	0,040	0,565
rf~4+8	0,670	0,000	0,721	0,492	0,450	0,753	0,003	0,001
knn~10+19	0,665	0,000	0,382	0,881	0,650	0,712	0,000	0,000
nb~37+19	0,669	0,000	0,544	0,678	0,493	0,721	0,000	0,000
knn~4+31	0,665	0,000	0,544	0,712	0,521	0,730	0,000	0,002
nb~33+6	0,669	0,000	0,544	0,763	0,569	0,744	0,000	0,029
nb~20+22	0,669	0,000	0,603	0,619	0,477	0,730	0,001	0,001
rf~8+26	0,669	0,000	0,574	0,695	0,520	0,739	0,000	0,002
svm~33+19	0,669	0,000	0,574	0,627	0,470	0,718	0,003	0,000
nb~19+6	0,669	0,000	0,515	0,780	0,574	0,736	0,000	0,001
nb~4+18	0,669	0,000	0,485	0,771	0,550	0,722	0,000	0,004
svm~4+18	0,668	0,000	0,441	0,797	0,556	0,712	0,000	0,016
knn~15+13	0,665	0,000	0,735	0,517	0,467	0,772	0,001	0,235
svm~4+39	0,668	0,000	0,544	0,729	0,536	0,735	0,000	0,000
svm~42+15	0,668	0,000	0,471	0,720	0,492	0,702	0,006	0,638
svm~10+6	0,668	0,000	0,485	0,797	0,579	0,729	0,000	0,004
rf~4+24	0,668	0,000	0,574	0,678	0,506	0,734	0,000	0,000
svm~19+6	0,668	0,000	0,559	0,720	0,535	0,739	0,000	0,001
nb~1+6	0,667	0,000	0,485	0,771	0,550	0,722	0,000	0,007
nb~15+33	0,667	0,000	0,471	0,737	0,508	0,707	0,003	0,452
svm~12+6	0,667	0,000	0,544	0,703	0,514	0,728	0,000	0,002
nb~15+31	0,667	0,000	0,412	0,788	0,528	0,699	0,002	0,155
rpart~15+31	0,662	0,000	0,324	0,890	0,629	0,695	0,000	0,155
knn~4+22	0,664	0,000	0,735	0,475	0,446	0,757	0,002	0,005
svm~40+24	0,667	0,000	0,632	0,653	0,512	0,755	0,000	0,006
nb~12+6	0,667	0,000	0,618	0,644	0,500	0,745	0,000	0,002
nb~18+28	0,667	0,000	0,515	0,661	0,467	0,703	0,012	0,005
knn~15+31	0,663	0,000	0,706	0,585	0,495	0,775	0,000	0,060
svm~4+24	0,667	0,000	0,426	0,864	0,644	0,723	0,000	0,000
nb~42+22	0,667	0,000	0,647	0,525	0,440	0,721	0,021	0,032
rpart~4+34	0,666	0,000	0,618	0,602	0,472	0,732	0,002	0,063
svm~4+37	0,667	0,000	0,574	0,686	0,513	0,736	0,000	0,003
svm~4+2	0,667	0,000	0,662	0,678	0,542	0,777	0,000	0,077
nb~22+6	0,667	0,000	0,559	0,695	0,514	0,732	0,000	0,004
nb~42+15	0,666	0,000	0,485	0,712	0,493	0,706	0,005	0,521

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~40+22	0,666	0,000	0,721	0,475	0,441	0,747	0,013	0,086
knn~29+18	0,662	0,000	0,529	0,695	0,500	0,719	0,002	0,029
nb~12+22	0,666	0,000	0,559	0,669	0,494	0,725	0,000	0,001
svm~10+22	0,666	0,000	0,544	0,678	0,493	0,721	0,002	0,015
svm~35+22	0,666	0,000	0,456	0,771	0,534	0,711	0,000	0,024
svm~8+26	0,666	0,000	0,441	0,780	0,536	0,708	0,001	0,006
nb~4+25	0,666	0,000	0,515	0,805	0,603	0,742	0,000	0,002
nb~17+6	0,666	0,000	0,588	0,661	0,500	0,736	0,000	0,002
svm~26+22	0,666	0,000	0,500	0,720	0,507	0,714	0,001	0,005
nb~38+28	0,666	0,000	0,559	0,703	0,521	0,735	0,000	0,023
nb~18+13	0,666	0,000	0,618	0,559	0,447	0,717	0,024	0,011
nb~37+6	0,666	0,000	0,588	0,678	0,513	0,741	0,000	0,016
rf~4+13	0,666	0,000	0,471	0,771	0,542	0,717	0,000	0,002
nb~4+7	0,666	0,000	0,456	0,771	0,534	0,711	0,001	0,028
nb~4+10	0,666	0,000	0,353	0,924	0,727	0,712	0,000	0,003
svm~24+6	0,666	0,000	0,426	0,788	0,537	0,705	0,000	0,018
rf~4+39	0,665	0,000	0,662	0,602	0,489	0,755	0,000	0,002
nb~19+22	0,665	0,000	0,706	0,568	0,485	0,770	0,000	0,000
svm~26+28	0,665	0,000	0,426	0,797	0,547	0,707	0,000	0,004
nb~33+19	0,665	0,000	0,721	0,568	0,490	0,779	0,000	0,016
rf~4+42	0,665	0,000	0,588	0,644	0,488	0,731	0,002	0,015
svm~24+19	0,665	0,000	0,456	0,814	0,585	0,722	0,000	0,002
nb~4+26	0,665	0,000	0,426	0,856	0,630	0,721	0,000	0,001
nb~15+10	0,665	0,000	0,706	0,483	0,440	0,740	0,018	0,404
knn~15+19	0,661	0,000	0,794	0,398	0,432	0,770	0,006	0,003
nb~19+20	0,665	0,000	0,706	0,517	0,457	0,753	0,001	0,000
rf~15+2	0,665	0,000	0,647	0,619	0,494	0,753	0,000	0,846
svm~40+28	0,665	0,000	0,676	0,602	0,495	0,763	0,000	0,039
nb~1+22	0,664	0,000	0,603	0,610	0,471	0,727	0,003	0,008
svm~15+24	0,664	0,000	0,338	0,890	0,639	0,700	0,000	0,135
rpart~4+20	0,640	0,000	0,765	0,508	0,473	0,789	0,000	0,001
svm~18+2	0,664	0,000	0,632	0,610	0,483	0,742	0,002	0,252
svm~37+22	0,664	0,000	0,632	0,636	0,500	0,750	0,000	0,042
nb~34+6	0,664	0,000	0,500	0,703	0,493	0,709	0,002	0,012
rpart~1+20	0,659	0,000	0,779	0,483	0,465	0,792	0,000	0,000
nb~4+39	0,664	0,000	0,515	0,814	0,614	0,744	0,000	0,004
nb~31+6	0,664	0,000	0,515	0,729	0,522	0,723	0,000	0,007
svm~2+28	0,664	0,000	0,647	0,602	0,484	0,747	0,001	0,039
knn~24+22	0,659	0,000	0,485	0,771	0,550	0,722	0,000	0,014
nb~18+6	0,664	0,000	0,544	0,712	0,521	0,730	0,000	0,009
rf~26+22	0,663	0,000	0,618	0,669	0,519	0,752	0,000	0,015
svm~31+6	0,663	0,000	0,544	0,661	0,481	0,716	0,004	0,044
nb~20+6	0,663	0,000	0,544	0,678	0,493	0,721	0,001	0,001
nb~4+43	0,663	0,000	0,397	0,873	0,643	0,715	0,000	0,006

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~1+22	0,663	0,000	0,500	0,771	0,557	0,728	0,000	0,006
nb~40+17	0,663	0,000	0,632	0,610	0,483	0,742	0,001	0,140
nb~37+28	0,663	0,000	0,603	0,653	0,500	0,740	0,000	0,019
nb~17+8	0,663	0,000	0,559	0,686	0,507	0,730	0,001	0,017
svm~12+19	0,663	0,000	0,588	0,678	0,513	0,741	0,000	0,004
nb~27+6	0,663	0,000	0,588	0,636	0,482	0,728	0,001	0,012
nb~32+22	0,663	0,000	0,559	0,627	0,463	0,712	0,006	0,002
rf~42+19	0,663	0,000	0,662	0,593	0,484	0,753	0,000	0,000
nb~2+28	0,663	0,000	0,529	0,669	0,480	0,712	0,005	0,101
rpart~4+24	0,655	0,000	0,412	0,805	0,549	0,704	0,000	0,001
svm~18+19	0,663	0,000	0,603	0,669	0,513	0,745	0,000	0,002
knn~9+19	0,659	0,000	0,691	0,576	0,485	0,764	0,000	0,005
svm~38+22	0,663	0,000	0,632	0,712	0,558	0,771	0,000	0,035
rf~4+38	0,662	0,000	0,515	0,703	0,500	0,716	0,001	0,024
nb~17+22	0,662	0,000	0,662	0,568	0,469	0,744	0,001	0,002
nb~10+6	0,662	0,000	0,412	0,847	0,609	0,714	0,000	0,012
rpart~4+6	0,658	0,000	0,574	0,703	0,527	0,741	0,000	0,012
knn~35+19	0,658	0,000	0,824	0,424	0,452	0,806	0,001	0,011
rpart~20+6	0,660	0,000	0,574	0,627	0,470	0,718	0,003	0,000
nb~2+20	0,662	0,000	0,603	0,678	0,519	0,748	0,000	0,078
knn~16+10	0,655	0,000	0,824	0,432	0,455	0,810	0,001	0,031
svm~10+28	0,662	0,000	0,559	0,686	0,507	0,730	0,000	0,022
svm~2+22	0,662	0,000	0,691	0,542	0,465	0,753	0,001	0,179
svm~10+19	0,662	0,000	0,559	0,712	0,528	0,737	0,000	0,000
knn~4+38	0,658	0,000	0,750	0,475	0,451	0,767	0,002	0,002
svm~19+32	0,661	0,000	0,485	0,771	0,550	0,722	0,000	0,001
nb~15+12	0,661	0,000	0,485	0,720	0,500	0,708	0,002	0,013
nb~17+13	0,661	0,000	0,618	0,619	0,483	0,737	0,001	0,014
nb~18+22	0,661	0,000	0,662	0,610	0,495	0,758	0,000	0,005
rf~4+41	0,660	0,000	0,588	0,636	0,482	0,728	0,002	0,007
rpart~4+35	0,652	0,000	0,544	0,737	0,544	0,737	0,000	0,016
rpart~24+19	0,654	0,000	0,603	0,593	0,461	0,722	0,003	0,002
knn~16+19	0,658	0,000	0,647	0,610	0,489	0,750	0,000	0,000
nb~33+22	0,660	0,000	0,706	0,492	0,444	0,744	0,007	0,031
svm~24+28	0,659	0,000	0,250	0,890	0,567	0,673	0,001	0,012
nb~19+32	0,659	0,000	0,515	0,720	0,515	0,720	0,000	0,000
rf~39+32	0,659	0,000	0,676	0,559	0,469	0,750	0,001	0,000
svm~42+6	0,659	0,000	0,574	0,661	0,494	0,729	0,001	0,012
nb~24+19	0,659	0,000	0,574	0,712	0,534	0,743	0,000	0,000
rf~15+28	0,659	0,000	0,618	0,585	0,462	0,726	0,004	0,204
rpart~4+38	0,658	0,000	0,603	0,661	0,506	0,743	0,000	0,045
knn~4+34	0,655	0,000	0,765	0,415	0,430	0,754	0,008	0,009
nb~41+22	0,659	0,000	0,603	0,636	0,488	0,735	0,001	0,027
rpart~35+20	0,657	0,000	0,603	0,644	0,494	0,738	0,001	0,050

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
rf~31+19	0,659	0,000	0,676	0,542	0,460	0,744	0,002	0,000
rpart~5+28	0,651	0,000	0,706	0,602	0,505	0,780	0,000	0,029
rf~35+6	0,658	0,000	0,618	0,585	0,462	0,726	0,009	0,007
nb~24+20	0,658	0,000	0,662	0,517	0,441	0,726	0,007	0,000
rpart~24+10	0,638	0,000	0,382	0,839	0,578	0,702	0,000	0,005
nb~12+28	0,658	0,000	0,632	0,669	0,524	0,760	0,000	0,001
svm~4+22	0,658	0,000	0,544	0,771	0,578	0,746	0,000	0,002
nb~36+6	0,658	0,000	0,485	0,754	0,532	0,718	0,000	0,010
nb~34+22	0,658	0,000	0,618	0,576	0,457	0,723	0,009	0,012
knn~16+38	0,653	0,000	0,824	0,373	0,431	0,786	0,007	0,206
svm~29+6	0,658	0,000	0,529	0,746	0,545	0,733	0,000	0,009
nb~38+6	0,658	0,000	0,500	0,746	0,531	0,721	0,000	0,061
svm~1+19	0,658	0,000	0,603	0,636	0,488	0,735	0,000	0,003
nb~16+32	0,658	0,000	0,515	0,729	0,522	0,723	0,000	0,005
svm~38+28	0,658	0,000	0,632	0,695	0,544	0,766	0,000	0,008
rpart~20+22	0,654	0,000	0,515	0,703	0,500	0,716	0,001	0,005
svm~15+39	0,658	0,000	0,500	0,780	0,567	0,730	0,000	0,153
nb~41+28	0,658	0,000	0,559	0,602	0,447	0,703	0,024	0,008
rpart~8+19	0,655	0,000	0,618	0,644	0,500	0,745	0,000	0,001
nb~31+19	0,657	0,000	0,603	0,695	0,532	0,752	0,000	0,002
rpart~15+8	0,656	0,000	0,426	0,763	0,509	0,698	0,003	0,243
rf~15+8	0,657	0,000	0,529	0,686	0,493	0,717	0,002	0,788
rf~7+19	0,657	0,000	0,735	0,551	0,485	0,783	0,000	0,016
rf~29+19	0,657	0,000	0,676	0,602	0,495	0,763	0,000	0,000
nb~35+17	0,657	0,000	0,618	0,610	0,477	0,735	0,002	0,135
svm~16+17	0,657	0,000	0,515	0,737	0,530	0,725	0,000	0,004
knn~18+28	0,653	0,000	0,735	0,441	0,431	0,743	0,010	0,002
nb~16+2	0,657	0,000	0,632	0,678	0,531	0,762	0,000	0,422
nb~26+28	0,656	0,000	0,544	0,678	0,493	0,721	0,001	0,002
rf~16+18	0,656	0,000	0,632	0,678	0,531	0,762	0,000	0,008
svm~4+25	0,656	0,000	0,588	0,653	0,494	0,733	0,000	0,031
nb~15+41	0,656	0,000	0,574	0,602	0,453	0,710	0,019	0,212
rpart~40+24	0,650	0,000	0,471	0,771	0,542	0,717	0,000	0,005
nb~17+19	0,656	0,000	0,706	0,610	0,511	0,783	0,000	0,000
svm~27+6	0,656	0,000	0,588	0,619	0,471	0,723	0,002	0,034
svm~19+34	0,656	0,000	0,588	0,610	0,465	0,720	0,002	0,001
rpart~16+28	0,655	0,000	0,515	0,669	0,473	0,705	0,011	0,009
rf~7+6	0,656	0,000	0,691	0,585	0,490	0,767	0,000	0,022
knn~29+6	0,652	0,000	0,529	0,695	0,500	0,719	0,001	0,022
knn~4+1	0,652	0,000	0,750	0,381	0,411	0,726	0,072	0,004
rpart~24+5	0,654	0,000	0,485	0,746	0,524	0,715	0,001	0,007
nb~32+6	0,656	0,000	0,412	0,847	0,609	0,714	0,000	0,004
nb~10+22	0,656	0,000	0,632	0,534	0,439	0,716	0,030	0,024
rpart~23+19	0,648	0,000	0,721	0,466	0,438	0,743	0,008	0,021

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
rpart~4+12	0,652	0,000	0,603	0,653	0,500	0,740	0,000	0,004
rf~4+14	0,656	0,000	0,544	0,678	0,493	0,721	0,001	0,007
nb~33+20	0,656	0,000	0,824	0,398	0,441	0,797	0,003	0,013
knn~4+35	0,652	0,000	0,471	0,746	0,516	0,710	0,001	0,050
rf~4+20	0,655	0,000	0,618	0,551	0,442	0,714	0,018	0,005
nb~18+8	0,655	0,000	0,485	0,695	0,478	0,701	0,018	0,023
svm~5+28	0,655	0,000	0,603	0,678	0,519	0,748	0,000	0,024
rf~10+19	0,655	0,000	0,574	0,686	0,513	0,736	0,000	0,000
svm~28+22	0,655	0,000	0,515	0,763	0,556	0,732	0,000	0,001
rpart~10+22	0,652	0,000	0,500	0,678	0,472	0,702	0,020	0,048
rf~4+18	0,655	0,000	0,603	0,661	0,506	0,743	0,000	0,006
nb~16+37	0,655	0,000	0,647	0,593	0,478	0,745	0,001	0,085
nb~19+34	0,655	0,000	0,574	0,686	0,513	0,736	0,000	0,001
rpart~4+25	0,652	0,000	0,706	0,534	0,466	0,759	0,001	0,024
knn~26+22	0,650	0,000	0,735	0,492	0,455	0,763	0,002	0,002
rf~35+19	0,654	0,000	0,618	0,636	0,494	0,743	0,000	0,010
rpart~15+3	0,647	0,000	0,279	0,890	0,594	0,682	0,000	0,294
svm~15+22	0,654	0,000	0,426	0,805	0,558	0,709	0,000	0,004
nb~28+32	0,654	0,000	0,544	0,644	0,468	0,710	0,003	0,004
svm~22+6	0,654	0,000	0,426	0,746	0,492	0,693	0,008	0,006
knn~42+19	0,649	0,000	0,721	0,551	0,480	0,774	0,000	0,005
nb~24+32	0,654	0,000	0,235	0,873	0,516	0,665	0,009	0,000
nb~16+35	0,654	0,000	0,515	0,737	0,530	0,725	0,001	0,205
nb~37+20	0,654	0,000	0,559	0,602	0,447	0,703	0,013	0,002
rpart~40+19	0,648	0,000	0,853	0,364	0,436	0,811	0,002	0,056
rpart~4+9	0,651	0,001	0,588	0,720	0,548	0,752	0,000	0,006
rf~15+39	0,653	0,001	0,544	0,720	0,529	0,733	0,000	0,221
svm~4+33	0,653	0,001	0,544	0,729	0,536	0,735	0,000	0,016
nb~13+26	0,653	0,001	0,662	0,483	0,425	0,713	0,051	0,002
svm~27+19	0,653	0,001	0,588	0,610	0,465	0,720	0,004	0,005
svm~15+37	0,653	0,001	0,412	0,805	0,549	0,704	0,000	0,070
nb~16+38	0,653	0,001	0,471	0,729	0,500	0,705	0,005	0,079
rpart~16+6	0,645	0,001	0,471	0,695	0,471	0,695	0,009	0,098
rpart~4+5	0,647	0,001	0,603	0,653	0,500	0,740	0,001	0,023
svm~2+19	0,653	0,001	0,676	0,500	0,438	0,728	0,011	0,019
rpart~24+20	0,644	0,001	0,529	0,712	0,514	0,724	0,000	0,001
svm~14+22	0,653	0,001	0,515	0,729	0,522	0,723	0,000	0,009
nb~36+22	0,653	0,001	0,632	0,576	0,462	0,731	0,003	0,013
rpart~26+28	0,649	0,001	0,456	0,746	0,508	0,704	0,001	0,001
rf~15+9	0,652	0,001	0,544	0,695	0,507	0,726	0,001	0,451
knn~24+19	0,648	0,001	0,824	0,373	0,431	0,786	0,004	0,002
nb~23+6	0,652	0,001	0,500	0,754	0,540	0,724	0,000	0,158
svm~34+22	0,652	0,001	0,632	0,576	0,462	0,731	0,003	0,007
nb~18+37	0,652	0,001	0,500	0,695	0,486	0,707	0,006	0,144

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~31+22	0,652	0,001	0,574	0,619	0,464	0,716	0,009	0,011
rpart~18+13	0,651	0,001	0,559	0,602	0,447	0,703	0,037	0,050
knn~16+20	0,649	0,001	0,779	0,483	0,465	0,792	0,000	0,032
nb~40+24	0,652	0,001	0,529	0,636	0,456	0,701	0,023	0,005
nb~15+34	0,652	0,001	0,397	0,797	0,529	0,696	0,001	0,129
svm~16+24	0,652	0,001	0,265	0,890	0,581	0,677	0,000	0,005
svm~35+28	0,652	0,001	0,412	0,814	0,560	0,706	0,000	0,271
nb~26+6	0,652	0,001	0,559	0,703	0,521	0,735	0,000	0,003
nb~20+32	0,652	0,001	0,618	0,525	0,429	0,705	0,029	0,001
rpart~4+27	0,641	0,001	0,559	0,712	0,528	0,737	0,000	0,001
nb~26+22	0,652	0,001	0,676	0,602	0,495	0,763	0,000	0,002
rpart~13+26	0,647	0,001	0,500	0,788	0,576	0,732	0,000	0,000
rpart~7+20	0,644	0,001	0,735	0,475	0,446	0,757	0,005	0,052
svm~15+17	0,652	0,001	0,397	0,754	0,482	0,685	0,005	0,033
nb~16+9	0,652	0,001	0,471	0,703	0,478	0,697	0,022	0,058
rpart~39+19	0,644	0,001	0,735	0,458	0,439	0,750	0,004	0,010
svm~18+28	0,652	0,001	0,485	0,686	0,471	0,698	0,009	0,010
nb~26+19	0,652	0,001	0,691	0,542	0,465	0,753	0,001	0,001
knn~16+18	0,648	0,001	0,779	0,373	0,417	0,746	0,038	0,004
nb~17+32	0,651	0,001	0,515	0,678	0,479	0,708	0,002	0,002
svm~28+6	0,651	0,001	0,500	0,720	0,507	0,714	0,001	0,002
rf~16+19	0,651	0,001	0,603	0,585	0,456	0,719	0,007	0,001
nb~4+5	0,651	0,001	0,456	0,797	0,564	0,718	0,000	0,006
svm~42+19	0,651	0,001	0,500	0,712	0,500	0,712	0,001	0,002
svm~35+17	0,651	0,001	0,515	0,712	0,507	0,718	0,001	0,217
nb~1+28	0,651	0,001	0,529	0,729	0,529	0,729	0,000	0,007
nb~12+18	0,651	0,001	0,500	0,686	0,479	0,704	0,005	0,004
nb~9+28	0,651	0,001	0,500	0,720	0,507	0,714	0,001	0,021
nb~18+19	0,651	0,001	0,647	0,602	0,484	0,747	0,000	0,002
knn~16+28	0,648	0,001	0,838	0,364	0,432	0,796	0,003	0,001
knn~16+6	0,648	0,001	0,515	0,661	0,467	0,703	0,016	0,038
nb~33+28	0,651	0,001	0,603	0,585	0,456	0,719	0,014	0,036
svm~35+20	0,651	0,001	0,618	0,585	0,462	0,726	0,005	0,030
svm~24+8	0,651	0,001	0,338	0,831	0,535	0,685	0,003	0,002
knn~4+8	0,647	0,001	0,794	0,381	0,425	0,763	0,010	0,004
rpart~4+21	0,648	0,001	0,426	0,771	0,518	0,700	0,003	0,044
rf~16+38	0,651	0,001	0,632	0,627	0,494	0,747	0,000	0,244
knn~2+20	0,648	0,001	0,779	0,432	0,442	0,773	0,003	0,013
svm~24+13	0,650	0,001	0,353	0,864	0,600	0,699	0,000	0,000
rf~8+22	0,650	0,001	0,647	0,610	0,489	0,750	0,000	0,029
knn~35+6	0,646	0,001	0,647	0,534	0,444	0,724	0,017	0,012
rpart~8+28	0,646	0,001	0,574	0,678	0,506	0,734	0,000	0,079
knn~37+6	0,647	0,001	0,721	0,432	0,422	0,729	0,032	0,006
nb~43+6	0,650	0,001	0,382	0,797	0,520	0,691	0,002	0,052

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
rpart~15+14	0,646	0,001	0,338	0,814	0,511	0,681	0,004	0,614
nb~1+15	0,650	0,001	0,412	0,695	0,438	0,672	0,106	0,161
nb~12+19	0,650	0,001	0,632	0,602	0,478	0,740	0,001	0,000
svm~32+6	0,650	0,001	0,456	0,780	0,544	0,713	0,000	0,003
rpart~18+8	0,644	0,001	0,588	0,686	0,519	0,743	0,000	0,047
knn~38+22	0,648	0,001	0,559	0,644	0,475	0,717	0,002	0,007
rpart~4+40	0,649	0,001	0,603	0,593	0,461	0,722	0,006	0,159
nb~16+13	0,650	0,001	0,485	0,669	0,458	0,693	0,029	0,032
nb~18+20	0,650	0,001	0,632	0,525	0,434	0,713	0,019	0,003
svm~4+26	0,650	0,001	0,397	0,907	0,711	0,723	0,000	0,002
svm~17+8	0,650	0,001	0,471	0,805	0,582	0,725	0,000	0,019
nb~18+2	0,650	0,001	0,485	0,686	0,471	0,698	0,030	0,390
rf~4+34	0,650	0,001	0,765	0,441	0,441	0,765	0,005	0,022
rpart~9+20	0,643	0,001	0,721	0,500	0,454	0,756	0,003	0,055
svm~17+13	0,650	0,001	0,441	0,729	0,484	0,694	0,008	0,020
nb~15+14	0,650	0,001	0,324	0,831	0,524	0,681	0,003	0,310
rpart~26+22	0,642	0,001	0,485	0,763	0,541	0,720	0,000	0,004
knn~4+2	0,646	0,001	0,779	0,424	0,438	0,769	0,003	0,083
nb~42+19	0,649	0,001	0,574	0,644	0,481	0,724	0,001	0,003
svm~29+28	0,649	0,001	0,397	0,763	0,491	0,687	0,010	0,009
nb~42+28	0,649	0,001	0,529	0,686	0,493	0,717	0,001	0,025
knn~39+19	0,646	0,001	0,647	0,619	0,494	0,753	0,000	0,000
rf~4+32	0,649	0,001	0,544	0,653	0,474	0,713	0,004	0,004
svm~16+8	0,649	0,001	0,485	0,703	0,485	0,703	0,006	0,309
svm~17+28	0,649	0,001	0,485	0,695	0,478	0,701	0,002	0,003
svm~41+22	0,649	0,001	0,544	0,669	0,487	0,718	0,003	0,019
rpart~14+20	0,634	0,001	0,735	0,551	0,485	0,783	0,000	0,001
svm~16+13	0,649	0,001	0,471	0,686	0,464	0,692	0,027	0,069
svm~28+32	0,649	0,001	0,441	0,771	0,526	0,705	0,000	0,006
svm~19+21	0,648	0,001	0,500	0,763	0,548	0,726	0,000	0,004
knn~42+18	0,643	0,001	0,632	0,602	0,478	0,740	0,004	0,016
nb~38+22	0,648	0,001	0,529	0,695	0,500	0,719	0,001	0,060
knn~4+41	0,645	0,001	0,456	0,746	0,508	0,704	0,002	0,007
rpart~15+24	0,638	0,001	0,721	0,517	0,462	0,763	0,001	0,064
rpart~10+28	0,640	0,001	0,441	0,746	0,500	0,698	0,011	0,086
rf~15+41	0,648	0,001	0,603	0,703	0,539	0,755	0,000	0,701
svm~33+22	0,648	0,001	0,544	0,610	0,446	0,699	0,024	0,061
rpart~33+28	0,645	0,001	0,603	0,593	0,461	0,722	0,006	0,211
rpart~2+22	0,640	0,001	0,706	0,508	0,453	0,750	0,003	0,125
nb~17+9	0,648	0,001	0,559	0,703	0,521	0,735	0,000	0,044
svm~16+29	0,648	0,001	0,368	0,873	0,625	0,705	0,000	0,005
svm~37+28	0,648	0,001	0,603	0,627	0,482	0,733	0,001	0,035
knn~32+6	0,645	0,001	0,500	0,653	0,453	0,694	0,024	0,008
nb~16+8	0,648	0,001	0,500	0,686	0,479	0,704	0,012	0,042

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
rpart~4+14	0,644	0,001	0,515	0,780	0,574	0,736	0,000	0,001
knn~5+19	0,644	0,001	0,647	0,585	0,473	0,742	0,001	0,003
nb~27+22	0,647	0,001	0,706	0,534	0,466	0,759	0,001	0,016
svm~4+14	0,647	0,001	0,456	0,822	0,596	0,724	0,000	0,002
nb~12+20	0,647	0,001	0,662	0,500	0,433	0,720	0,015	0,001
svm~16+31	0,647	0,001	0,426	0,754	0,500	0,695	0,007	0,267
nb~24+8	0,647	0,001	0,618	0,568	0,452	0,720	0,008	0,000
nb~35+26	0,647	0,001	0,603	0,602	0,466	0,724	0,012	0,007
rpart~18+22	0,638	0,001	0,426	0,771	0,518	0,700	0,002	0,049
nb~16+40	0,647	0,001	0,500	0,720	0,507	0,714	0,003	0,173
svm~18+6	0,647	0,001	0,456	0,737	0,500	0,702	0,003	0,046
svm~7+6	0,647	0,001	0,618	0,653	0,506	0,748	0,000	0,025
svm~40+17	0,647	0,001	0,603	0,644	0,494	0,738	0,000	0,059
rpart~16+22	0,644	0,001	0,574	0,636	0,476	0,721	0,003	0,042
rf~8+19	0,647	0,001	0,441	0,737	0,492	0,696	0,002	0,004
nb~4+11	0,647	0,001	0,382	0,941	0,788	0,725	0,000	0,009
nb~40+18	0,647	0,001	0,618	0,534	0,433	0,708	0,051	0,230
nb~17+24	0,647	0,001	0,515	0,678	0,479	0,708	0,002	0,000
svm~18+37	0,647	0,001	0,441	0,754	0,508	0,701	0,004	0,011
nb~20+34	0,647	0,001	0,691	0,542	0,465	0,753	0,001	0,004
svm~4+34	0,646	0,001	0,471	0,754	0,525	0,712	0,000	0,014
nb~29+6	0,646	0,001	0,500	0,763	0,548	0,726	0,000	0,032
rpart~25+19	0,640	0,001	0,647	0,542	0,449	0,727	0,005	0,014
rpart~29+20	0,632	0,001	0,706	0,534	0,466	0,759	0,001	0,004
rf~13+22	0,646	0,001	0,676	0,568	0,474	0,753	0,001	0,080
nb~18+9	0,646	0,001	0,588	0,602	0,460	0,717	0,023	0,068
svm~38+6	0,646	0,001	0,574	0,712	0,534	0,743	0,000	0,021
rpart~4+26	0,644	0,001	0,485	0,678	0,465	0,696	0,016	0,005
knn~17+22	0,643	0,001	0,559	0,661	0,487	0,722	0,001	0,036
knn~37+22	0,643	0,001	0,750	0,432	0,432	0,750	0,014	0,001
svm~18+13	0,646	0,001	0,559	0,661	0,487	0,722	0,002	0,006
nb~43+22	0,646	0,001	0,691	0,559	0,475	0,759	0,001	0,054
rpart~41+20	0,635	0,001	0,794	0,398	0,432	0,770	0,008	0,054
knn~4+27	0,643	0,001	0,529	0,619	0,444	0,695	0,038	0,061
svm~12+18	0,646	0,001	0,485	0,669	0,458	0,693	0,018	0,018
svm~1+6	0,645	0,001	0,515	0,720	0,515	0,720	0,000	0,008
svm~12+22	0,645	0,001	0,559	0,644	0,475	0,717	0,002	0,006
svm~39+22	0,645	0,001	0,588	0,593	0,455	0,714	0,008	0,024
nb~31+28	0,645	0,001	0,574	0,661	0,494	0,729	0,001	0,009
svm~34+6	0,645	0,001	0,603	0,619	0,477	0,730	0,001	0,005
knn~15+9	0,642	0,001	0,382	0,805	0,531	0,693	0,001	0,050
nb~16+5	0,645	0,001	0,662	0,534	0,450	0,733	0,011	0,023
rpart~17+22	0,640	0,001	0,515	0,669	0,473	0,705	0,007	0,390
svm~4+11	0,645	0,001	0,441	0,873	0,667	0,730	0,000	0,004

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~32+22	0,645	0,001	0,456	0,737	0,500	0,702	0,002	0,002
rf~4+7	0,645	0,001	0,588	0,610	0,465	0,720	0,009	0,016
svm~35+24	0,645	0,001	0,279	0,873	0,559	0,678	0,005	0,031
svm~7+19	0,645	0,001	0,691	0,551	0,470	0,756	0,001	0,017
nb~35+18	0,645	0,001	0,559	0,602	0,447	0,703	0,036	0,086
nb~17+37	0,645	0,001	0,618	0,661	0,512	0,750	0,000	0,111
knn~20+6	0,642	0,001	0,676	0,525	0,451	0,738	0,005	0,001
knn~4+6	0,641	0,001	0,544	0,737	0,544	0,737	0,000	0,003
rf~24+19	0,644	0,001	0,515	0,703	0,500	0,716	0,000	0,000
knn~4+32	0,642	0,001	0,618	0,653	0,506	0,748	0,000	0,077
nb~26+2	0,644	0,001	0,397	0,771	0,500	0,689	0,018	0,213
rpart~4+37	0,626	0,001	0,412	0,763	0,500	0,692	0,005	0,002
nb~29+22	0,644	0,001	0,515	0,720	0,515	0,720	0,001	0,035
nb~39+6	0,644	0,001	0,485	0,712	0,493	0,706	0,002	0,030
rf~33+19	0,644	0,001	0,647	0,483	0,419	0,704	0,051	0,009
nb~35+24	0,644	0,001	0,471	0,763	0,533	0,714	0,000	0,010
rpart~1+19	0,639	0,001	0,632	0,602	0,478	0,740	0,000	0,003
knn~4+14	0,642	0,001	0,529	0,712	0,514	0,724	0,000	0,005
rf~12+31	0,644	0,001	0,588	0,551	0,430	0,699	0,045	0,144
nb~15+36	0,644	0,001	0,500	0,754	0,540	0,724	0,000	0,267
nb~36+19	0,644	0,001	0,706	0,542	0,471	0,762	0,000	0,003
svm~27+22	0,644	0,001	0,588	0,636	0,482	0,728	0,002	0,023
svm~1+28	0,644	0,001	0,515	0,780	0,574	0,736	0,000	0,003
knn~4+9	0,641	0,001	0,529	0,712	0,514	0,724	0,000	0,007
knn~4+36	0,641	0,001	0,721	0,373	0,398	0,698	0,099	0,002
knn~39+22	0,641	0,001	0,632	0,627	0,494	0,747	0,000	0,161
rpart~24+32	0,641	0,001	0,353	0,831	0,545	0,690	0,001	0,000
rpart~12+18	0,642	0,001	0,618	0,551	0,442	0,714	0,022	0,039
svm~16+21	0,643	0,001	0,559	0,669	0,494	0,725	0,001	0,442
svm~17+6	0,643	0,001	0,471	0,712	0,485	0,700	0,004	0,012
nb~24+18	0,643	0,001	0,456	0,678	0,449	0,684	0,042	0,001
nb~15+43	0,643	0,001	0,485	0,703	0,485	0,703	0,005	0,444
svm~5+6	0,643	0,001	0,471	0,703	0,478	0,697	0,011	0,015
knn~26+19	0,640	0,001	0,794	0,364	0,419	0,754	0,018	0,048
nb~16+41	0,643	0,001	0,368	0,729	0,439	0,667	0,149	0,188
rf~20+22	0,643	0,001	0,485	0,661	0,452	0,690	0,032	0,021
knn~9+22	0,640	0,001	0,574	0,695	0,520	0,739	0,000	0,022
nb~4+14	0,643	0,001	0,397	0,890	0,675	0,719	0,000	0,004
nb~10+28	0,643	0,001	0,397	0,797	0,529	0,696	0,001	0,035
rf~15+19	0,643	0,001	0,574	0,636	0,476	0,721	0,005	0,021
nb~15+27	0,643	0,001	0,471	0,669	0,451	0,687	0,025	0,181
nb~16+31	0,643	0,001	0,471	0,720	0,492	0,702	0,007	0,059
knn~24+2	0,639	0,001	0,735	0,475	0,446	0,757	0,005	0,202
knn~13+26	0,638	0,001	0,662	0,483	0,425	0,713	0,045	0,002

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
knn~18+13	0,639	0,001	0,779	0,398	0,427	0,758	0,016	0,042
svm~15+29	0,642	0,001	0,397	0,822	0,563	0,703	0,000	0,371
svm~17+2	0,642	0,001	0,544	0,661	0,481	0,716	0,005	0,196
knn~37+19	0,639	0,001	0,853	0,314	0,417	0,787	0,008	0,011
rpart~18+28	0,641	0,001	0,485	0,729	0,508	0,711	0,001	0,016
svm~42+22	0,642	0,001	0,559	0,636	0,469	0,714	0,004	0,027
svm~33+28	0,642	0,001	0,588	0,568	0,440	0,705	0,040	0,015
rpart~24+8	0,637	0,001	0,324	0,814	0,500	0,676	0,009	0,003
svm~43+19	0,642	0,001	0,515	0,720	0,515	0,720	0,000	0,064
nb~23+20	0,642	0,001	0,765	0,466	0,452	0,775	0,002	0,095
nb~35+32	0,642	0,001	0,500	0,695	0,486	0,707	0,003	0,050
svm~4+21	0,642	0,001	0,441	0,839	0,612	0,723	0,000	0,026
rpart~24+2	0,637	0,001	0,382	0,856	0,605	0,706	0,000	0,005
nb~15+38	0,642	0,001	0,412	0,746	0,483	0,688	0,018	0,369
nb~7+6	0,642	0,001	0,515	0,695	0,493	0,713	0,002	0,077
nb~8+26	0,642	0,001	0,750	0,381	0,411	0,726	0,068	0,003
knn~4+37	0,639	0,001	0,779	0,390	0,424	0,754	0,011	0,006
svm~15+7	0,642	0,001	0,456	0,712	0,477	0,694	0,010	0,662
knn~15+24	0,637	0,001	0,632	0,542	0,443	0,719	0,019	0,072
rf~1+22	0,641	0,001	0,632	0,610	0,483	0,742	0,001	0,010
rpart~24+33	0,635	0,001	0,368	0,788	0,500	0,684	0,005	0,002
rpart~8+6	0,639	0,001	0,529	0,703	0,507	0,722	0,001	0,016
rpart~2+28	0,639	0,001	0,574	0,686	0,513	0,736	0,000	0,336
svm~41+19	0,641	0,001	0,441	0,746	0,500	0,698	0,004	0,034
rpart~1+2	0,640	0,001	0,529	0,712	0,514	0,724	0,002	0,188
rpart~31+22	0,634	0,001	0,544	0,686	0,500	0,723	0,001	0,002
svm~4+17	0,641	0,001	0,426	0,780	0,527	0,702	0,001	0,003
rpart~16+10	0,628	0,001	0,515	0,763	0,556	0,732	0,000	0,033
rpart~32+6	0,637	0,001	0,485	0,678	0,465	0,696	0,020	0,021
rpart~16+33	0,640	0,001	0,603	0,636	0,488	0,735	0,001	0,732
knn~4+11	0,637	0,001	0,441	0,771	0,526	0,705	0,001	0,014
svm~14+19	0,641	0,001	0,471	0,712	0,485	0,700	0,002	0,006
svm~35+18	0,641	0,001	0,382	0,754	0,473	0,679	0,053	0,027
rpart~15+12	0,637	0,001	0,324	0,746	0,423	0,657	0,179	0,348
rpart~4+33	0,639	0,001	0,618	0,568	0,452	0,720	0,009	0,007
nb~28+34	0,641	0,001	0,574	0,653	0,488	0,726	0,001	0,009
knn~28+21	0,636	0,001	0,779	0,398	0,427	0,758	0,015	0,017
nb~17+2	0,640	0,001	0,529	0,686	0,493	0,717	0,004	0,465
rpart~20+38	0,632	0,001	0,706	0,508	0,453	0,750	0,003	0,194
rf~18+8	0,640	0,001	0,632	0,602	0,478	0,740	0,002	0,011
svm~15+20	0,640	0,001	0,559	0,644	0,475	0,717	0,002	0,058
nb~18+32	0,640	0,001	0,500	0,703	0,493	0,709	0,002	0,005
rpart~14+22	0,633	0,001	0,441	0,754	0,508	0,701	0,001	0,013
rf~15+20	0,640	0,001	0,647	0,559	0,458	0,733	0,009	0,512

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor <i>p</i> de KM	mvaHRPval
svm~41+28	0,640	0,001	0,471	0,669	0,451	0,687	0,043	0,013
rf~19+3	0,640	0,001	0,603	0,619	0,477	0,730	0,001	0,001

Tabla 51: biomarcadores por pares del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor *p* de Wilcoxon (auc.pvalue ≤ 0,05) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de PCSM.

Auc.pvalue: Valor *p* de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. KM: Curvas de Kaplan Meier. mvaHRPval: Valor *p* del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos.

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor <i>p</i> de KM	mvaHRPval
svm~31+19	0,80	0,00	0,78	0,61	0,33	0,92	0,00	0,00
nb~16+19	0,79	0,00	0,83	0,65	0,36	0,94	0,00	0,00
svm~4+16	0,78	0,00	0,64	0,72	0,35	0,89	0,00	0,02
nb~4+16	0,78	0,00	0,61	0,85	0,49	0,90	0,00	0,01
svm~16+19	0,78	0,00	0,75	0,63	0,33	0,91	0,00	0,00
nb~16+22	0,77	0,00	0,78	0,68	0,37	0,93	0,00	0,01
nb~16+18	0,77	0,00	0,78	0,63	0,34	0,92	0,00	0,01
svm~40+19	0,77	0,00	0,83	0,59	0,33	0,94	0,00	0,01
nb~4+28	0,77	0,00	0,58	0,79	0,40	0,89	0,00	0,01
svm~35+19	0,77	0,00	0,69	0,71	0,36	0,91	0,00	0,01
nb~16+28	0,77	0,00	0,81	0,61	0,33	0,93	0,00	0,00
nb~16+20	0,77	0,00	0,81	0,53	0,29	0,92	0,00	0,00
nb~16+6	0,77	0,00	0,72	0,71	0,38	0,91	0,00	0,00
rpart~4+16	0,76	0,00	0,72	0,68	0,35	0,91	0,00	0,04
svm~39+19	0,77	0,00	0,81	0,59	0,32	0,93	0,00	0,00
svm~16+28	0,77	0,00	0,67	0,73	0,38	0,90	0,00	0,04
svm~16+18	0,77	0,00	0,75	0,73	0,40	0,92	0,00	0,01
nb~40+28	0,76	0,00	0,83	0,63	0,35	0,94	0,00	0,01
nb~28+6	0,76	0,00	0,75	0,69	0,37	0,92	0,00	0,00
nb~40+19	0,76	0,00	0,86	0,52	0,30	0,94	0,00	0,01
nb~12+28	0,76	0,00	0,81	0,65	0,35	0,93	0,00	0,00
svm~43+19	0,76	0,00	0,69	0,71	0,37	0,91	0,00	0,00
nb~43+19	0,76	0,00	0,94	0,51	0,32	0,97	0,00	0,00
nb~4+24	0,76	0,00	0,53	0,87	0,49	0,88	0,00	0,00
nb~24+28	0,76	0,00	0,58	0,73	0,34	0,88	0,00	0,00
nb~15+28	0,76	0,00	0,58	0,77	0,38	0,89	0,00	0,01
svm~13+22	0,76	0,00	0,81	0,66	0,36	0,93	0,00	0,04
knn~16+18	0,75	0,00	0,92	0,37	0,26	0,95	0,00	0,02
svm~4+24	0,76	0,00	0,56	0,83	0,44	0,89	0,00	0,00
nb~19+28	0,76	0,00	0,81	0,63	0,34	0,93	0,00	0,00
nb~4+12	0,75	0,00	0,64	0,79	0,42	0,90	0,00	0,01
nb~28+22	0,75	0,00	0,75	0,66	0,35	0,92	0,00	0,01
svm~16+22	0,75	0,00	0,75	0,63	0,33	0,91	0,00	0,02
nb~12+22	0,75	0,00	0,75	0,67	0,35	0,92	0,00	0,01
nb~4+35	0,75	0,00	0,61	0,85	0,49	0,90	0,00	0,03

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~29+19	0,75	0,00	0,69	0,68	0,34	0,90	0,00	0,00
nb~35+19	0,75	0,00	0,81	0,53	0,29	0,92	0,00	0,01
nb~4+19	0,75	0,00	0,61	0,78	0,40	0,89	0,00	0,01
nb~16+24	0,75	0,00	0,67	0,70	0,35	0,90	0,00	0,00
nb~20+28	0,75	0,00	0,75	0,59	0,30	0,91	0,00	0,00
nb~18+28	0,75	0,00	0,64	0,65	0,31	0,88	0,00	0,01
nb~43+6	0,75	0,00	0,47	0,78	0,34	0,86	0,00	0,01
nb~35+6	0,75	0,00	0,61	0,74	0,36	0,89	0,00	0,01
nb~35+20	0,75	0,00	0,89	0,41	0,26	0,94	0,00	0,00
svm~8+22	0,75	0,00	0,67	0,71	0,36	0,90	0,00	0,01
nb~16+26	0,75	0,00	0,58	0,73	0,34	0,88	0,00	0,00
nb~12+6	0,75	0,00	0,78	0,63	0,33	0,92	0,00	0,01
nb~40+24	0,74	0,00	0,64	0,63	0,29	0,88	0,00	0,00
rpart~20+22	0,74	0,00	0,61	0,68	0,31	0,88	0,00	0,01
nb~4+43	0,74	0,00	0,53	0,85	0,45	0,88	0,00	0,01
nb~12+18	0,74	0,00	0,69	0,69	0,35	0,90	0,00	0,02
svm~16+6	0,74	0,00	0,75	0,67	0,35	0,92	0,00	0,00
svm~4+12	0,74	0,00	0,64	0,79	0,42	0,90	0,00	0,04
rpart~8+28	0,74	0,00	0,75	0,67	0,35	0,92	0,00	0,01
nb~40+22	0,74	0,00	0,72	0,56	0,28	0,89	0,00	0,07
svm~13+28	0,74	0,00	0,64	0,65	0,30	0,88	0,00	0,02
nb~26+28	0,74	0,00	0,67	0,66	0,32	0,89	0,00	0,00
nb~40+6	0,74	0,00	0,61	0,74	0,36	0,89	0,00	0,03
svm~12+6	0,74	0,00	0,67	0,68	0,33	0,89	0,00	0,00
knn~24+22	0,73	0,00	0,67	0,76	0,40	0,90	0,00	0,04
rpart~4+38	0,74	0,00	0,75	0,64	0,33	0,91	0,00	0,05
svm~19+22	0,74	0,00	0,58	0,70	0,32	0,88	0,00	0,01
svm~40+28	0,74	0,00	0,83	0,58	0,32	0,94	0,00	0,02
rpart~4+24	0,73	0,00	0,56	0,79	0,39	0,88	0,00	0,01
svm~19+28	0,74	0,00	0,69	0,71	0,36	0,91	0,00	0,00
svm~4+31	0,74	0,00	0,69	0,68	0,34	0,90	0,00	0,04
nb~4+20	0,74	0,00	0,69	0,72	0,37	0,91	0,00	0,01
nb~4+15	0,74	0,00	0,56	0,79	0,39	0,88	0,00	0,03
svm~33+19	0,74	0,00	0,64	0,60	0,28	0,87	0,00	0,00
nb~24+22	0,74	0,00	0,72	0,59	0,30	0,90	0,00	0,00
nb~12+19	0,74	0,00	0,75	0,58	0,30	0,91	0,00	0,00
nb~4+23	0,74	0,00	0,61	0,77	0,39	0,89	0,00	0,06
nb~4+31	0,74	0,00	0,56	0,79	0,38	0,88	0,00	0,03
svm~13+19	0,74	0,00	0,83	0,50	0,29	0,93	0,00	0,03
nb~4+6	0,74	0,00	0,58	0,77	0,38	0,88	0,00	0,04
nb~43+28	0,74	0,00	0,69	0,68	0,34	0,90	0,00	0,00
nb~28+32	0,74	0,00	0,67	0,63	0,30	0,89	0,00	0,02
nb~19+6	0,74	0,00	0,61	0,74	0,36	0,89	0,00	0,00

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
knn~4+16	0,73	0,00	0,78	0,59	0,31	0,92	0,00	0,02
nb~13+22	0,74	0,00	0,75	0,67	0,35	0,92	0,00	0,07
rf~31+19	0,74	0,00	0,81	0,53	0,29	0,92	0,00	0,00
nb~43+22	0,74	0,00	0,83	0,54	0,30	0,93	0,00	0,02
nb~4+8	0,73	0,00	0,53	0,87	0,50	0,89	0,00	0,03
nb~4+32	0,73	0,00	0,61	0,82	0,45	0,90	0,00	0,05
nb~4+40	0,73	0,00	0,58	0,87	0,53	0,90	0,00	0,04
svm~4+13	0,73	0,00	0,61	0,83	0,46	0,90	0,00	0,01
rpart~4+39	0,72	0,00	0,67	0,73	0,37	0,90	0,00	0,00
svm~29+22	0,73	0,00	0,69	0,58	0,28	0,89	0,00	0,04
nb~40+20	0,73	0,00	0,78	0,53	0,28	0,91	0,00	0,01
nb~35+22	0,73	0,00	0,81	0,48	0,27	0,91	0,00	0,03
rf~13+26	0,73	0,00	0,72	0,66	0,34	0,91	0,00	0,02
svm~8+19	0,73	0,00	0,72	0,62	0,31	0,90	0,00	0,00
nb~24+20	0,73	0,00	0,78	0,51	0,27	0,90	0,00	0,00
nb~15+6	0,73	0,00	0,42	0,79	0,33	0,85	0,00	0,03
svm~35+22	0,73	0,00	0,58	0,75	0,36	0,88	0,00	0,09
nb~8+19	0,73	0,00	0,72	0,65	0,33	0,91	0,00	0,01
nb~4+22	0,73	0,00	0,61	0,77	0,39	0,89	0,00	0,05
svm~4+40	0,73	0,00	0,72	0,58	0,29	0,90	0,00	0,18
svm~4+8	0,73	0,00	0,64	0,81	0,45	0,90	0,00	0,00
nb~13+19	0,73	0,00	0,83	0,51	0,29	0,93	0,00	0,02
svm~4+29	0,73	0,00	0,56	0,83	0,44	0,89	0,00	0,01
svm~4+38	0,73	0,00	0,64	0,77	0,40	0,90	0,00	0,01
nb~19+32	0,73	0,00	0,67	0,71	0,35	0,90	0,00	0,01
nb~13+28	0,73	0,00	0,61	0,68	0,31	0,88	0,00	0,01
nb~26+19	0,73	0,00	0,83	0,53	0,30	0,93	0,00	0,01
nb~35+28	0,73	0,00	0,64	0,65	0,31	0,88	0,00	0,01
nb~24+6	0,73	0,00	0,44	0,82	0,37	0,86	0,00	0,00
svm~19+6	0,73	0,00	0,67	0,69	0,34	0,90	0,00	0,01
nb~19+22	0,73	0,00	0,81	0,53	0,29	0,92	0,00	0,01
nb~24+19	0,73	0,00	0,67	0,67	0,33	0,89	0,00	0,00
nb~4+13	0,73	0,00	0,56	0,88	0,53	0,89	0,00	0,03
svm~4+15	0,73	0,00	0,44	0,83	0,38	0,86	0,00	0,04
nb~8+28	0,73	0,00	0,72	0,63	0,32	0,90	0,00	0,01
svm~37+19	0,73	0,00	0,72	0,55	0,28	0,89	0,00	0,01
nb~12+24	0,73	0,00	0,64	0,77	0,40	0,90	0,00	0,00
nb~13+6	0,73	0,00	0,69	0,68	0,34	0,90	0,00	0,02
nb~20+6	0,73	0,00	0,67	0,66	0,32	0,89	0,00	0,00
svm~4+14	0,73	0,00	0,58	0,79	0,40	0,89	0,00	0,02
knn~40+6	0,72	0,00	0,94	0,29	0,24	0,96	0,00	0,02
nb~4+26	0,73	0,00	0,56	0,83	0,43	0,89	0,00	0,02
nb~32+6	0,73	0,00	0,50	0,81	0,39	0,87	0,00	0,03
svm~38+28	0,73	0,00	0,69	0,64	0,32	0,90	0,00	0,01

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
rpart~13+6	0,72	0,00	0,72	0,67	0,34	0,91	0,00	0,05
svm~4+35	0,73	0,00	0,61	0,77	0,39	0,89	0,00	0,05
nb~4+18	0,73	0,00	0,58	0,74	0,35	0,88	0,00	0,05
nb~12+26	0,73	0,00	0,58	0,77	0,38	0,89	0,00	0,01
rf~24+22	0,73	0,00	0,69	0,67	0,34	0,90	0,00	0,02
svm~19+38	0,73	0,00	0,72	0,63	0,32	0,90	0,00	0,02
nb~19+20	0,73	0,00	0,78	0,49	0,27	0,90	0,00	0,01
nb~31+28	0,73	0,00	0,78	0,66	0,35	0,93	0,00	0,00
svm~40+24	0,73	0,00	0,78	0,63	0,33	0,92	0,00	0,02
svm~12+28	0,73	0,00	0,64	0,68	0,32	0,89	0,00	0,08
knn~18+32	0,72	0,00	0,89	0,39	0,26	0,94	0,00	0,03
nb~4+33	0,72	0,00	0,56	0,85	0,48	0,89	0,00	0,07
nb~31+19	0,72	0,00	0,75	0,67	0,35	0,92	0,00	0,01
nb~8+22	0,72	0,00	0,78	0,57	0,30	0,91	0,00	0,06
svm~14+19	0,72	0,00	0,58	0,70	0,32	0,88	0,00	0,01
nb~32+22	0,72	0,00	0,67	0,61	0,29	0,88	0,00	0,05
nb~4+36	0,72	0,00	0,50	0,89	0,51	0,88	0,00	0,03
svm~40+6	0,72	0,00	0,81	0,55	0,30	0,92	0,00	0,08
svm~39+22	0,72	0,00	0,75	0,59	0,31	0,91	0,00	0,03
rpart~16+6	0,71	0,00	0,61	0,69	0,32	0,88	0,00	0,04
knn~13+19	0,72	0,00	0,50	0,75	0,32	0,86	0,00	0,07
rpart~4+31	0,72	0,00	0,75	0,66	0,35	0,92	0,00	0,04
svm~13+6	0,72	0,00	0,69	0,69	0,35	0,90	0,00	0,04
svm~4+42	0,72	0,00	0,69	0,64	0,32	0,90	0,00	0,09
nb~12+20	0,72	0,00	0,75	0,49	0,26	0,89	0,00	0,00
nb~22+6	0,72	0,00	0,64	0,66	0,31	0,88	0,00	0,02
rpart~4+43	0,72	0,00	0,56	0,71	0,32	0,87	0,00	0,01
rf~13+22	0,72	0,00	0,78	0,54	0,29	0,91	0,00	0,45
nb~26+6	0,72	0,00	0,69	0,68	0,34	0,90	0,00	0,01
svm~35+6	0,72	0,00	0,58	0,74	0,35	0,88	0,00	0,05
nb~20+22	0,72	0,00	0,69	0,59	0,29	0,89	0,00	0,01
rf~4+12	0,72	0,00	0,69	0,57	0,28	0,89	0,00	0,02
nb~14+28	0,72	0,00	0,61	0,75	0,37	0,89	0,00	0,01
rpart~24+38	0,71	0,00	0,61	0,77	0,39	0,89	0,00	0,00
svm~4+28	0,72	0,00	0,61	0,74	0,36	0,89	0,00	0,04
svm~24+13	0,72	0,00	0,42	0,83	0,38	0,86	0,00	0,02
svm~19+21	0,72	0,00	0,64	0,74	0,37	0,90	0,00	0,01
nb~18+6	0,72	0,00	0,64	0,68	0,32	0,89	0,00	0,02
svm~13+26	0,72	0,00	0,53	0,86	0,48	0,88	0,00	0,18
nb~17+28	0,72	0,00	0,64	0,67	0,32	0,88	0,00	0,00
rpart~39+28	0,71	0,00	0,78	0,64	0,34	0,92	0,00	0,01
nb~37+28	0,72	0,00	0,69	0,62	0,30	0,89	0,00	0,02
nb~24+43	0,72	0,00	0,61	0,67	0,31	0,88	0,00	0,00
rf~16+19	0,72	0,00	0,72	0,57	0,29	0,90	0,00	0,01

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~15+28	0,72	0,00	0,56	0,78	0,38	0,88	0,00	0,02
svm~31+22	0,72	0,00	0,69	0,61	0,30	0,89	0,00	0,05
rpart~31+19	0,71	0,00	0,86	0,54	0,31	0,94	0,00	0,01
nb~16+17	0,72	0,00	0,61	0,75	0,37	0,89	0,00	0,02
rpart~26+22	0,71	0,00	0,61	0,74	0,36	0,89	0,00	0,03
svm~16+24	0,72	0,00	0,39	0,89	0,45	0,86	0,00	0,02
svm~40+26	0,72	0,00	0,75	0,59	0,30	0,91	0,00	0,05
nb~43+20	0,72	0,00	0,78	0,50	0,27	0,90	0,00	0,00
svm~12+19	0,72	0,00	0,72	0,65	0,33	0,91	0,00	0,03
rpart~24+32	0,71	0,00	0,50	0,83	0,41	0,87	0,00	0,02
svm~31+28	0,72	0,00	0,81	0,63	0,34	0,93	0,00	0,01
nb~20+32	0,72	0,00	0,75	0,53	0,28	0,90	0,00	0,02
rpart~16+20	0,71	0,00	0,78	0,52	0,28	0,91	0,00	0,04
rpart~4+13	0,71	0,00	0,64	0,67	0,32	0,89	0,00	0,04
nb~24+26	0,72	0,00	0,72	0,67	0,34	0,91	0,00	0,00
rpart~24+22	0,71	0,00	0,64	0,73	0,37	0,89	0,00	0,02
rpart~8+19	0,71	0,00	0,75	0,62	0,32	0,91	0,00	0,00
nb~15+22	0,72	0,00	0,50	0,74	0,32	0,86	0,00	0,06
svm~28+32	0,72	0,00	0,53	0,75	0,33	0,87	0,00	0,09
svm~4+41	0,72	0,00	0,42	0,82	0,36	0,85	0,00	0,01
svm~4+19	0,72	0,00	0,81	0,68	0,38	0,94	0,00	0,02
knn~12+22	0,71	0,00	0,67	0,68	0,33	0,89	0,00	0,05
nb~16+32	0,72	0,00	0,64	0,71	0,34	0,89	0,00	0,06
nb~26+22	0,72	0,00	0,78	0,57	0,30	0,91	0,00	0,03
svm~12+18	0,72	0,00	0,67	0,68	0,33	0,89	0,00	0,05
nb~8+6	0,72	0,00	0,58	0,72	0,33	0,88	0,00	0,03
svm~18+19	0,72	0,00	0,72	0,64	0,33	0,91	0,00	0,01
rf~33+19	0,72	0,00	0,75	0,48	0,26	0,89	0,01	0,00
svm~26+19	0,72	0,00	0,64	0,76	0,39	0,90	0,00	0,01
nb~15+16	0,72	0,00	0,53	0,73	0,32	0,87	0,00	0,05
nb~42+6	0,71	0,00	0,61	0,75	0,37	0,89	0,00	0,04
nb~18+22	0,71	0,00	0,81	0,59	0,32	0,93	0,00	0,05
nb~14+19	0,71	0,00	0,81	0,45	0,26	0,91	0,00	0,01
rpart~33+28	0,71	0,00	0,72	0,58	0,29	0,90	0,00	0,15
svm~4+1	0,71	0,00	0,56	0,81	0,41	0,88	0,00	0,03
svm~24+19	0,71	0,00	0,58	0,79	0,40	0,89	0,00	0,01
nb~33+6	0,71	0,00	0,64	0,72	0,35	0,89	0,00	0,07
nb~42+28	0,71	0,00	0,61	0,66	0,30	0,88	0,00	0,02
knn~15+16	0,71	0,00	0,81	0,43	0,25	0,90	0,00	0,07
svm~16+26	0,71	0,00	0,56	0,78	0,38	0,88	0,00	0,03
rpart~24+28	0,71	0,00	0,44	0,77	0,31	0,85	0,00	0,02
nb~31+6	0,71	0,00	0,64	0,71	0,34	0,89	0,00	0,01
svm~12+22	0,71	0,00	0,67	0,63	0,30	0,89	0,00	0,08
nb~15+19	0,71	0,00	0,53	0,77	0,36	0,87	0,00	0,03

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
nb~18+19	0,71	0,00	0,72	0,57	0,29	0,89	0,00	0,02
nb~23+20	0,71	0,00	0,89	0,45	0,28	0,94	0,00	0,01
knn~4+32	0,71	0,00	0,78	0,63	0,34	0,92	0,00	0,37
knn~40+19	0,71	0,00	0,83	0,48	0,28	0,92	0,00	0,02
svm~15+19	0,71	0,00	0,47	0,81	0,37	0,86	0,00	0,07
nb~4+41	0,71	0,00	0,53	0,79	0,38	0,88	0,00	0,05
rpart~18+22	0,70	0,00	0,53	0,75	0,34	0,87	0,00	0,12
rf~13+19	0,71	0,00	0,89	0,35	0,25	0,93	0,01	0,05
nb~15+24	0,71	0,00	0,58	0,73	0,34	0,88	0,00	0,01
rpart~20+28	0,70	0,00	0,81	0,47	0,27	0,91	0,00	0,01
knn~31+19	0,71	0,00	0,78	0,53	0,28	0,91	0,00	0,01
svm~7+19	0,71	0,00	0,78	0,52	0,28	0,91	0,00	0,05
rf~40+28	0,71	0,00	0,86	0,49	0,29	0,94	0,00	0,10
knn~40+28	0,71	0,00	0,58	0,77	0,38	0,89	0,00	0,01
rpart~4+32	0,71	0,00	0,61	0,71	0,33	0,88	0,00	0,19
nb~4+42	0,71	0,00	0,53	0,83	0,43	0,88	0,00	0,07
svm~8+28	0,71	0,00	0,69	0,65	0,32	0,90	0,00	0,02
rf~12+19	0,71	0,00	0,64	0,66	0,31	0,88	0,00	0,01
nb~42+22	0,71	0,00	0,72	0,51	0,26	0,88	0,01	0,16
nb~4+11	0,71	0,00	0,47	0,89	0,52	0,88	0,00	0,09
nb~40+18	0,71	0,00	0,75	0,53	0,28	0,90	0,00	0,16
nb~15+32	0,71	0,00	0,33	0,84	0,33	0,84	0,00	0,15
svm~4+32	0,71	0,00	0,61	0,73	0,35	0,89	0,00	0,13
svm~29+28	0,71	0,00	0,47	0,75	0,31	0,85	0,00	0,02
knn~16+19	0,71	0,00	0,81	0,59	0,32	0,93	0,00	0,00
nb~4+29	0,71	0,00	0,58	0,73	0,34	0,88	0,00	0,10
svm~4+39	0,71	0,00	0,64	0,69	0,33	0,89	0,00	0,00
knn~18+13	0,71	0,00	0,89	0,39	0,26	0,94	0,00	0,43
svm~19+32	0,71	0,00	0,61	0,75	0,37	0,89	0,00	0,01
svm~28+22	0,71	0,00	0,64	0,73	0,37	0,89	0,00	0,01
svm~8+6	0,71	0,00	0,67	0,67	0,33	0,89	0,00	0,02
nb~4+14	0,71	0,00	0,50	0,85	0,45	0,88	0,00	0,03
rf~24+13	0,71	0,00	0,64	0,57	0,26	0,87	0,01	0,01
rf~9+19	0,71	0,00	0,83	0,57	0,32	0,93	0,00	0,00
nb~41+28	0,71	0,00	0,67	0,59	0,28	0,88	0,00	0,02
nb~42+19	0,71	0,00	0,69	0,63	0,31	0,90	0,00	0,04
nb~4+1	0,71	0,00	0,58	0,79	0,40	0,89	0,00	0,05
svm~1+19	0,71	0,00	0,69	0,61	0,30	0,89	0,00	0,00
knn~35+19	0,70	0,00	0,89	0,39	0,26	0,94	0,00	0,00
svm~4+11	0,71	0,00	0,53	0,83	0,42	0,88	0,00	0,04
nb~18+32	0,71	0,00	0,61	0,69	0,32	0,88	0,00	0,12
nb~24+32	0,71	0,00	0,42	0,89	0,48	0,86	0,00	0,01
nb~33+28	0,71	0,00	0,72	0,57	0,29	0,90	0,00	0,02
rpart~4+18	0,70	0,00	0,67	0,67	0,33	0,89	0,00	0,03

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~4+18	0,71	0,00	0,53	0,77	0,35	0,87	0,00	0,16
svm~2+28	0,71	0,00	0,75	0,57	0,30	0,91	0,00	0,03
svm~16+29	0,71	0,00	0,44	0,84	0,40	0,86	0,00	0,01
nb~4+39	0,71	0,00	0,58	0,76	0,37	0,88	0,00	0,04
svm~24+31	0,71	0,00	0,44	0,84	0,40	0,86	0,00	0,00
svm~39+28	0,71	0,00	0,69	0,67	0,34	0,90	0,00	0,01
nb~14+22	0,71	0,00	0,75	0,56	0,29	0,90	0,00	0,05
knn~4+42	0,70	0,00	0,89	0,29	0,23	0,92	0,02	0,02
knn~16+17	0,70	0,00	0,64	0,69	0,33	0,89	0,00	0,03
svm~32+22	0,71	0,00	0,58	0,73	0,34	0,88	0,00	0,04
rpart~14+28	0,68	0,00	0,53	0,80	0,39	0,88	0,00	0,07
rpart~15+33	0,70	0,00	0,42	0,85	0,39	0,86	0,00	0,78
rpart~14+24	0,70	0,00	0,47	0,79	0,35	0,86	0,00	0,02
svm~42+19	0,71	0,00	0,58	0,69	0,31	0,87	0,00	0,11
nb~18+20	0,71	0,00	0,72	0,51	0,26	0,89	0,00	0,02
rpart~4+42	0,70	0,00	0,75	0,58	0,30	0,91	0,00	0,12
svm~12+24	0,71	0,00	0,39	0,87	0,41	0,86	0,00	0,04
rpart~32+22	0,70	0,00	0,61	0,73	0,35	0,89	0,00	0,17
nb~4+25	0,71	0,00	0,64	0,77	0,40	0,90	0,00	0,14
nb~24+18	0,71	0,00	0,56	0,67	0,29	0,86	0,00	0,01
svm~43+6	0,71	0,00	0,47	0,77	0,33	0,86	0,00	0,03
rpart~4+11	0,67	0,00	0,53	0,77	0,35	0,87	0,00	0,04
nb~4+37	0,71	0,00	0,58	0,79	0,40	0,89	0,00	0,06
svm~19+3	0,71	0,00	0,56	0,77	0,37	0,88	0,00	0,13
rpart~33+19	0,67	0,00	0,67	0,68	0,33	0,89	0,00	0,01
nb~37+22	0,71	0,00	0,67	0,59	0,28	0,88	0,00	0,11
nb~8+20	0,71	0,00	0,75	0,47	0,25	0,89	0,01	0,01
rpart~12+24	0,70	0,00	0,47	0,83	0,40	0,87	0,00	0,00
rpart~9+19	0,69	0,00	0,78	0,53	0,28	0,91	0,00	0,01
nb~4+38	0,70	0,00	0,67	0,74	0,38	0,90	0,00	0,02
svm~17+19	0,70	0,00	0,56	0,72	0,32	0,87	0,00	0,01
nb~4+9	0,70	0,00	0,61	0,78	0,40	0,89	0,00	0,06
nb~23+6	0,70	0,00	0,58	0,72	0,33	0,88	0,00	0,03
rpart~25+19	0,69	0,00	0,78	0,53	0,29	0,91	0,00	0,02
knn~4+12	0,70	0,00	0,53	0,82	0,41	0,88	0,00	0,07
nb~17+6	0,70	0,00	0,67	0,63	0,30	0,89	0,00	0,01
svm~31+6	0,70	0,00	0,67	0,65	0,31	0,89	0,00	0,03
svm~21+22	0,70	0,00	0,58	0,69	0,31	0,87	0,00	0,07
rpart~14+22	0,69	0,00	0,53	0,73	0,32	0,87	0,00	0,05
nb~37+19	0,70	0,00	0,61	0,65	0,29	0,87	0,00	0,01
nb~26+20	0,70	0,00	0,75	0,52	0,27	0,90	0,00	0,01
rpart~40+26	0,69	0,00	0,64	0,63	0,29	0,88	0,01	0,03
svm~26+22	0,70	0,00	0,61	0,70	0,33	0,88	0,00	0,04
svm~24+26	0,70	0,00	0,31	0,92	0,48	0,85	0,00	0,00

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
svm~28+6	0,70	0,00	0,64	0,71	0,34	0,89	0,00	0,00
nb~40+26	0,70	0,00	0,78	0,47	0,26	0,90	0,01	0,08
rpart~42+22	0,69	0,00	0,67	0,59	0,28	0,88	0,00	0,36
nb~36+6	0,70	0,00	0,58	0,73	0,34	0,88	0,00	0,02
nb~36+22	0,70	0,00	0,72	0,55	0,28	0,89	0,00	0,08
nb~16+40	0,70	0,00	0,58	0,69	0,31	0,87	0,00	0,09
svm~18+6	0,70	0,00	0,56	0,72	0,32	0,87	0,00	0,08
nb~41+6	0,70	0,00	0,53	0,78	0,37	0,87	0,00	0,05
svm~16+31	0,70	0,00	0,53	0,74	0,33	0,87	0,00	0,15
nb~12+17	0,70	0,00	0,53	0,77	0,36	0,87	0,00	0,02
nb~36+28	0,70	0,00	0,72	0,59	0,30	0,90	0,00	0,01
rpart~16+19	0,69	0,00	0,83	0,56	0,31	0,93	0,00	0,00
knn~40+24	0,70	0,00	0,86	0,41	0,26	0,93	0,00	0,01
svm~37+22	0,70	0,00	0,69	0,59	0,29	0,89	0,00	0,51
rpart~24+5	0,70	0,00	0,58	0,72	0,33	0,88	0,00	0,01
rf~4+39	0,70	0,00	0,75	0,57	0,29	0,90	0,00	0,00
nb~4+34	0,70	0,00	0,53	0,80	0,39	0,88	0,00	0,05
nb~17+19	0,70	0,00	0,78	0,56	0,30	0,91	0,00	0,01
rf~16+18	0,70	0,00	0,67	0,62	0,30	0,89	0,00	0,19
svm~14+22	0,70	0,00	0,53	0,68	0,28	0,86	0,01	0,06
svm~18+28	0,70	0,00	0,64	0,69	0,33	0,89	0,00	0,01
rpart~7+20	0,69	0,00	0,81	0,45	0,26	0,91	0,00	0,03
svm~42+6	0,70	0,00	0,67	0,63	0,30	0,89	0,00	0,03
nb~4+27	0,70	0,00	0,67	0,66	0,32	0,89	0,00	0,07
nb~11+6	0,70	0,00	0,50	0,81	0,39	0,87	0,00	0,06
rf~35+19	0,70	0,00	0,72	0,61	0,31	0,90	0,00	0,01
svm~26+28	0,70	0,00	0,53	0,77	0,36	0,87	0,00	0,02
nb~1+28	0,70	0,00	0,61	0,69	0,32	0,88	0,00	0,01
nb~11+28	0,70	0,00	0,56	0,71	0,31	0,87	0,00	0,05
rf~4+32	0,70	0,00	0,64	0,63	0,29	0,88	0,00	0,23
rpart~4+26	0,70	0,00	0,58	0,67	0,30	0,87	0,00	0,02
nb~13+20	0,70	0,00	0,69	0,57	0,28	0,89	0,00	0,02
nb~37+6	0,70	0,00	0,69	0,65	0,32	0,90	0,00	0,08
svm~25+28	0,70	0,00	0,72	0,59	0,30	0,90	0,00	0,09
svm~40+18	0,70	0,00	0,72	0,55	0,28	0,89	0,00	0,10
nb~14+20	0,70	0,00	0,78	0,51	0,28	0,91	0,00	0,01
knn~32+22	0,70	0,00	0,64	0,69	0,33	0,89	0,00	0,06
rpart~19+20	0,69	0,00	0,81	0,47	0,27	0,91	0,00	0,02
rf~4+31	0,70	0,00	0,61	0,64	0,29	0,87	0,00	0,05
rpart~4+28	0,70	0,00	0,58	0,73	0,34	0,88	0,00	0,03
svm~24+22	0,70	0,00	0,42	0,83	0,38	0,86	0,00	0,05
knn~4+19	0,70	0,00	0,72	0,65	0,33	0,91	0,00	0,07
nb~4+17	0,70	0,00	0,58	0,79	0,40	0,89	0,00	0,05
svm~12+16	0,70	0,00	0,39	0,87	0,42	0,86	0,00	0,08

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
rpart~4+1	0,69	0,00	0,69	0,51	0,25	0,87	0,01	0,09
svm~24+6	0,70	0,00	0,56	0,77	0,37	0,88	0,00	0,03
knn~39+22	0,70	0,00	0,78	0,61	0,32	0,92	0,00	0,38
rpart~4+23	0,69	0,00	0,67	0,67	0,33	0,89	0,00	0,03
svm~29+6	0,70	0,00	0,64	0,71	0,35	0,89	0,00	0,01
knn~4+31	0,69	0,00	0,61	0,67	0,31	0,88	0,00	0,01
knn~35+28	0,69	0,00	0,89	0,43	0,27	0,94	0,00	0,12
nb~4+2	0,70	0,00	0,64	0,71	0,35	0,89	0,00	0,15
nb~17+22	0,70	0,00	0,69	0,53	0,26	0,88	0,01	0,04
nb~26+32	0,70	0,00	0,67	0,59	0,28	0,88	0,00	0,05
knn~29+6	0,69	0,00	0,61	0,67	0,31	0,88	0,00	0,03
svm~38+22	0,70	0,00	0,67	0,65	0,31	0,89	0,00	0,11
svm~34+22	0,70	0,00	0,64	0,53	0,25	0,86	0,03	0,01
nb~33+19	0,70	0,00	0,81	0,53	0,29	0,92	0,00	0,05
rpart~31+22	0,69	0,00	0,64	0,66	0,31	0,88	0,00	0,01
svm~12+32	0,70	0,00	0,44	0,83	0,38	0,86	0,00	0,10
rpart~28+34	0,69	0,00	0,56	0,66	0,28	0,86	0,00	0,06
knn~4+34	0,69	0,00	0,81	0,39	0,24	0,89	0,02	0,15
svm~21+6	0,70	0,00	0,61	0,65	0,30	0,88	0,00	0,02
nb~15+20	0,70	0,00	0,75	0,57	0,30	0,91	0,00	0,02
svm~4+43	0,70	0,00	0,50	0,83	0,42	0,87	0,00	0,01
knn~12+19	0,69	0,00	0,67	0,59	0,28	0,88	0,00	0,01
rpart~24+31	0,69	0,00	0,47	0,83	0,40	0,87	0,00	0,00
svm~4+6	0,70	0,00	0,64	0,73	0,37	0,89	0,00	0,14
nb~14+6	0,70	0,00	0,64	0,74	0,37	0,90	0,00	0,02
rpart~40+18	0,69	0,00	0,81	0,45	0,26	0,91	0,01	0,07
rf~4+38	0,70	0,00	0,58	0,67	0,30	0,87	0,00	0,07
rpart~23+19	0,69	0,00	0,81	0,45	0,26	0,91	0,00	0,01
rpart~18+32	0,69	0,00	0,69	0,62	0,30	0,89	0,00	0,11
svm~1+22	0,70	0,00	0,58	0,73	0,34	0,88	0,00	0,02
svm~4+22	0,70	0,00	0,64	0,73	0,36	0,89	0,00	0,16
rpart~4+6	0,69	0,00	0,61	0,65	0,30	0,88	0,00	0,11
svm~4+25	0,70	0,00	0,67	0,62	0,30	0,89	0,00	0,33
svm~42+22	0,70	0,00	0,64	0,61	0,28	0,88	0,00	0,07
nb~16+43	0,70	0,00	0,58	0,67	0,30	0,87	0,01	0,01
knn~4+20	0,69	0,00	0,72	0,53	0,27	0,89	0,00	0,02
svm~19+34	0,70	0,00	0,75	0,61	0,31	0,91	0,00	0,00
svm~4+21	0,70	0,00	0,58	0,81	0,43	0,89	0,00	0,11
rf~12+22	0,70	0,00	0,64	0,66	0,31	0,88	0,00	0,04
rpart~4+17	0,69	0,00	0,58	0,67	0,30	0,87	0,00	0,02
knn~17+22	0,69	0,00	0,67	0,64	0,31	0,89	0,00	0,11
rf~24+19	0,70	0,00	0,58	0,67	0,30	0,87	0,00	0,00
nb~9+6	0,70	0,00	0,69	0,57	0,28	0,89	0,00	0,07
svm~9+19	0,70	0,00	0,78	0,59	0,31	0,92	0,00	0,01

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
rpart~4+29	0,69	0,00	0,64	0,65	0,30	0,88	0,00	0,01
svm~27+19	0,69	0,00	0,67	0,59	0,28	0,88	0,00	0,03
svm~13+32	0,69	0,00	0,47	0,79	0,35	0,86	0,00	0,31
svm~36+28	0,69	0,00	0,61	0,64	0,29	0,87	0,00	0,02
svm~11+28	0,69	0,00	0,61	0,69	0,32	0,88	0,00	0,46
nb~28+34	0,69	0,00	0,61	0,61	0,28	0,87	0,00	0,01
nb~18+43	0,69	0,00	0,61	0,67	0,31	0,88	0,00	0,09
rf~4+16	0,69	0,00	0,75	0,55	0,29	0,90	0,00	0,21
svm~15+22	0,69	0,00	0,50	0,77	0,35	0,87	0,00	0,05
nb~28+21	0,69	0,00	0,53	0,71	0,30	0,86	0,00	0,00
rf~38+28	0,69	0,00	0,69	0,58	0,28	0,89	0,00	0,47
svm~4+33	0,69	0,00	0,64	0,69	0,33	0,89	0,00	0,04
nb~4+3	0,69	0,00	0,50	0,81	0,39	0,87	0,00	0,10
rpart~28+22	0,68	0,00	0,67	0,62	0,30	0,89	0,00	0,12
svm~1+28	0,69	0,00	0,61	0,74	0,36	0,89	0,00	0,00
knn~13+26	0,69	0,00	0,75	0,47	0,25	0,89	0,01	0,08
nb~40+32	0,69	0,00	0,64	0,65	0,31	0,88	0,00	0,31
rf~26+22	0,69	0,00	0,67	0,62	0,30	0,89	0,00	0,12
svm~15+40	0,69	0,00	0,58	0,65	0,29	0,87	0,01	0,85
knn~4+43	0,69	0,00	0,58	0,69	0,31	0,87	0,00	0,08
rf~40+24	0,69	0,00	0,67	0,62	0,30	0,89	0,00	0,03
nb~12+16	0,69	0,00	0,58	0,73	0,34	0,88	0,00	0,05
rf~4+13	0,69	0,00	0,56	0,74	0,34	0,87	0,00	0,09
knn~24+13	0,69	0,00	0,81	0,52	0,29	0,92	0,00	0,06
knn~4+37	0,69	0,00	0,86	0,37	0,25	0,92	0,01	0,02
rf~4+14	0,69	0,00	0,64	0,65	0,31	0,88	0,00	0,01
rpart~16+18	0,65	0,00	0,47	0,82	0,39	0,87	0,00	0,03
nb~34+6	0,69	0,00	0,56	0,67	0,29	0,86	0,00	0,03
svm~12+13	0,69	0,00	0,31	0,83	0,31	0,83	0,03	0,07
nb~16+13	0,69	0,00	0,58	0,66	0,29	0,87	0,01	0,20
svm~39+6	0,69	0,00	0,61	0,73	0,35	0,89	0,00	0,07
knn~24+43	0,69	0,00	0,67	0,57	0,27	0,88	0,02	0,00
nb~42+20	0,69	0,00	0,72	0,52	0,27	0,89	0,00	0,04
svm~28+21	0,69	0,00	0,64	0,72	0,35	0,89	0,00	0,02
svm~14+28	0,69	0,00	0,53	0,76	0,35	0,87	0,00	0,05
rpart~17+22	0,68	0,00	0,58	0,65	0,28	0,87	0,00	0,41
nb~9+19	0,69	0,00	0,78	0,55	0,29	0,91	0,00	0,02
rpart~25+22	0,69	0,00	0,72	0,50	0,26	0,88	0,01	0,22
nb~9+22	0,69	0,00	0,58	0,69	0,31	0,87	0,00	0,12
svm~43+22	0,69	0,00	0,53	0,73	0,32	0,87	0,00	0,04
svm~18+32	0,69	0,00	0,58	0,68	0,30	0,87	0,00	0,23
rpart~39+19	0,68	0,00	0,83	0,44	0,26	0,92	0,00	0,01
nb~39+6	0,69	0,00	0,56	0,69	0,30	0,87	0,00	0,04
rpart~24+20	0,68	0,00	0,67	0,69	0,34	0,90	0,00	0,01

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
nb~38+28	0,69	0,00	0,61	0,66	0,30	0,88	0,00	0,02
nb~16+31	0,69	0,00	0,56	0,70	0,31	0,87	0,00	0,11
rpart~20+38	0,68	0,00	0,78	0,48	0,26	0,90	0,00	0,07
rpart~4+40	0,69	0,00	0,67	0,57	0,27	0,88	0,01	0,25
rpart~24+19	0,68	0,00	0,69	0,57	0,28	0,89	0,00	0,01
nb~11+22	0,69	0,00	0,83	0,52	0,29	0,93	0,00	0,13
knn~37+6	0,69	0,00	0,81	0,42	0,25	0,90	0,01	0,01
knn~13+22	0,69	0,00	0,89	0,37	0,25	0,93	0,00	0,33
nb~4+7	0,69	0,00	0,56	0,75	0,34	0,88	0,00	0,08
nb~25+6	0,69	0,00	0,56	0,73	0,33	0,87	0,00	0,16
knn~28+21	0,68	0,00	0,92	0,39	0,27	0,95	0,00	0,05
nb~15+12	0,69	0,00	0,56	0,69	0,30	0,87	0,00	0,06
nb~33+22	0,69	0,00	0,78	0,47	0,26	0,90	0,01	0,17
svm~3+28	0,69	0,00	0,39	0,81	0,33	0,85	0,00	0,17
nb~12+32	0,69	0,00	0,64	0,69	0,33	0,89	0,00	0,05
nb~27+28	0,69	0,00	0,78	0,54	0,29	0,91	0,00	0,03
nb~39+28	0,69	0,00	0,44	0,71	0,27	0,84	0,03	0,01
nb~3+6	0,69	0,00	0,42	0,81	0,35	0,85	0,00	0,05
knn~12+6	0,69	0,00	0,64	0,67	0,32	0,88	0,00	0,02
nb~15+26	0,69	0,00	0,53	0,73	0,32	0,87	0,00	0,11
nb~16+14	0,69	0,00	0,61	0,71	0,33	0,88	0,00	0,05
rf~19+3	0,69	0,00	0,69	0,59	0,29	0,89	0,00	0,00
svm~33+28	0,69	0,00	0,69	0,56	0,27	0,88	0,00	0,04
nb~23+19	0,69	0,00	0,67	0,64	0,31	0,89	0,00	0,04
svm~30+19	0,69	0,00	0,64	0,63	0,29	0,88	0,00	0,00
rpart~13+26	0,68	0,00	0,61	0,75	0,37	0,89	0,00	0,07
svm~23+6	0,69	0,00	0,58	0,70	0,32	0,88	0,00	0,01
svm~12+26	0,69	0,00	0,47	0,83	0,40	0,87	0,00	0,10
svm~24+38	0,69	0,00	0,42	0,83	0,37	0,86	0,00	0,00
rpart~4+25	0,69	0,00	0,78	0,50	0,27	0,90	0,00	0,03
svm~33+22	0,69	0,00	0,67	0,61	0,29	0,88	0,00	0,08
rpart~43+19	0,69	0,00	0,72	0,59	0,30	0,90	0,00	0,01
nb~17+24	0,69	0,00	0,67	0,67	0,33	0,89	0,00	0,00
nb~36+19	0,69	0,00	0,81	0,51	0,28	0,92	0,00	0,02
rpart~37+28	0,68	0,00	0,69	0,61	0,30	0,89	0,00	0,16
knn~37+22	0,68	0,00	0,86	0,42	0,26	0,93	0,00	0,01
knn~33+19	0,68	0,00	0,44	0,78	0,33	0,85	0,00	0,07
nb~9+28	0,69	0,00	0,53	0,68	0,28	0,86	0,01	0,03
svm~34+6	0,69	0,00	0,72	0,60	0,30	0,90	0,00	0,00
rf~4+43	0,69	0,00	0,69	0,62	0,30	0,89	0,00	0,08
nb~25+28	0,69	0,00	0,58	0,67	0,30	0,87	0,00	0,04
knn~24+19	0,68	0,00	0,89	0,35	0,25	0,93	0,00	0,02
svm~2+19	0,69	0,00	0,72	0,47	0,25	0,88	0,02	0,06
nb~21+6	0,69	0,00	0,61	0,69	0,32	0,88	0,00	0,02

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
rpart~1+19	0,68	0,00	0,75	0,58	0,30	0,91	0,00	0,01
nb~1+6	0,69	0,00	0,56	0,73	0,33	0,87	0,00	0,03
svm~16+21	0,69	0,00	0,58	0,63	0,27	0,86	0,01	0,05
svm~33+6	0,69	0,00	0,58	0,67	0,30	0,87	0,00	0,09
rpart~16+22	0,68	0,00	0,64	0,61	0,28	0,88	0,00	0,28
svm~4+26	0,69	0,00	0,50	0,87	0,47	0,88	0,00	0,04
rpart~8+26	0,68	0,00	0,42	0,83	0,38	0,86	0,00	0,00
knn~29+32	0,68	0,00	0,83	0,38	0,24	0,90	0,01	0,02
rpart~26+28	0,68	0,00	0,56	0,73	0,33	0,87	0,00	0,01
nb~15+18	0,69	0,00	0,58	0,71	0,32	0,88	0,00	0,15
rf~39+24	0,69	0,00	0,72	0,54	0,27	0,89	0,00	0,01
nb~33+20	0,69	0,00	0,89	0,37	0,25	0,93	0,00	0,02
svm~29+18	0,69	0,00	0,36	0,81	0,31	0,84	0,02	0,10
knn~39+24	0,68	0,00	0,75	0,59	0,30	0,91	0,00	0,00
nb~11+20	0,69	0,00	0,78	0,45	0,25	0,89	0,01	0,03
svm~40+22	0,69	0,00	0,78	0,45	0,25	0,89	0,02	0,27
svm~16+32	0,69	0,00	0,50	0,78	0,35	0,87	0,00	0,26
nb~25+19	0,69	0,00	0,67	0,65	0,32	0,89	0,00	0,12
rf~4+24	0,69	0,00	0,64	0,64	0,30	0,88	0,00	0,02
nb~27+6	0,69	0,00	0,64	0,60	0,28	0,87	0,00	0,05
svm~12+40	0,69	0,00	0,61	0,60	0,27	0,87	0,05	0,12
knn~17+19	0,68	0,00	0,44	0,79	0,34	0,86	0,00	0,04
nb~13+26	0,69	0,00	0,78	0,48	0,26	0,90	0,01	0,24
rpart~41+20	0,67	0,00	0,83	0,37	0,24	0,90	0,01	0,04
knn~35+22	0,68	0,00	0,75	0,50	0,26	0,89	0,01	0,22
rpart~24+33	0,68	0,00	0,44	0,77	0,32	0,85	0,00	0,01
nb~16+8	0,69	0,00	0,58	0,67	0,30	0,87	0,01	0,13
nb~17+43	0,69	0,00	0,56	0,69	0,30	0,87	0,00	0,05
nb~12+40	0,69	0,00	0,53	0,71	0,30	0,86	0,01	0,07
rf~4+19	0,68	0,00	0,64	0,63	0,29	0,88	0,00	0,05
nb~18+13	0,68	0,00	0,69	0,54	0,27	0,88	0,01	0,48
nb~23+22	0,68	0,00	0,67	0,65	0,31	0,89	0,00	0,07
rpart~1+22	0,67	0,00	0,42	0,79	0,33	0,85	0,00	0,09
svm~17+6	0,68	0,00	0,56	0,69	0,30	0,87	0,00	0,04
nb~7+6	0,68	0,00	0,56	0,66	0,28	0,86	0,01	0,05
nb~4+30	0,68	0,00	0,56	0,78	0,38	0,88	0,00	0,02
rpart~12+32	0,68	0,00	0,69	0,69	0,35	0,90	0,00	0,53
rpart~35+6	0,68	0,00	0,56	0,69	0,30	0,87	0,00	0,26
svm~24+28	0,68	0,00	0,36	0,89	0,43	0,85	0,00	0,02
knn~43+22	0,68	0,00	0,81	0,45	0,26	0,91	0,00	0,01
nb~34+22	0,68	0,00	0,67	0,55	0,26	0,87	0,01	0,07
nb~29+6	0,68	0,00	0,61	0,73	0,35	0,89	0,00	0,07
nb~21+22	0,68	0,00	0,69	0,61	0,30	0,89	0,00	0,03
nb~29+28	0,68	0,00	0,61	0,67	0,31	0,88	0,00	0,05

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
rpart~14+20	0,67	0,00	0,78	0,50	0,27	0,90	0,00	0,01
rpart~29+20	0,67	0,00	0,78	0,50	0,27	0,90	0,00	0,01
nb~10+6	0,68	0,00	0,50	0,81	0,39	0,87	0,00	0,05
nb~41+22	0,68	0,00	0,64	0,59	0,27	0,87	0,01	0,14
nb~23+28	0,68	0,00	0,47	0,75	0,31	0,85	0,01	0,02
svm~43+28	0,68	0,00	0,58	0,72	0,33	0,88	0,00	0,01
knn~4+13	0,68	0,00	0,67	0,69	0,34	0,90	0,00	0,59
nb~17+32	0,68	0,00	0,67	0,67	0,33	0,89	0,00	0,10
svm~37+6	0,68	0,00	0,69	0,62	0,30	0,89	0,00	0,14
svm~7+28	0,68	0,00	0,58	0,60	0,26	0,86	0,03	0,26
svm~32+6	0,68	0,00	0,58	0,76	0,37	0,88	0,00	0,01
nb~31+22	0,68	0,00	0,72	0,55	0,28	0,89	0,00	0,06
svm~38+6	0,68	0,00	0,64	0,67	0,32	0,88	0,00	0,03
nb~11+19	0,68	0,00	0,69	0,62	0,30	0,89	0,00	0,07
nb~19+21	0,68	0,00	0,72	0,61	0,31	0,90	0,00	0,01
rpart~4+8	0,68	0,00	0,69	0,62	0,30	0,89	0,00	0,02
nb~15+43	0,68	0,00	0,56	0,68	0,29	0,86	0,01	0,08
svm~22+6	0,68	0,00	0,53	0,73	0,32	0,87	0,00	0,03
nb~24+31	0,68	0,00	0,53	0,76	0,35	0,87	0,00	0,00
svm~28+34	0,68	0,00	0,58	0,65	0,29	0,87	0,00	0,16
rpart~4+37	0,66	0,00	0,53	0,75	0,34	0,87	0,00	0,01
rf~4+40	0,68	0,00	0,69	0,49	0,25	0,87	0,04	0,07
svm~25+6	0,68	0,00	0,67	0,55	0,26	0,87	0,01	0,22
svm~42+16	0,68	0,00	0,47	0,73	0,29	0,85	0,02	0,12
nb~2+28	0,68	0,00	0,56	0,63	0,27	0,86	0,02	0,04
svm~35+28	0,68	0,00	0,50	0,79	0,36	0,87	0,00	0,39
nb~3+28	0,68	0,00	0,47	0,71	0,28	0,85	0,01	0,04
svm~12+39	0,68	0,00	0,36	0,81	0,31	0,84	0,02	0,12
rf~4+42	0,68	0,00	0,64	0,61	0,28	0,88	0,01	0,20
nb~29+22	0,68	0,00	0,58	0,69	0,31	0,87	0,00	0,18
nb~10+28	0,68	0,00	0,47	0,77	0,33	0,86	0,00	0,06
svm~11+22	0,68	0,00	0,61	0,69	0,32	0,88	0,00	0,40
rpart~24+34	0,67	0,00	0,36	0,89	0,43	0,85	0,00	0,00
rf~32+22	0,68	0,00	0,61	0,65	0,29	0,87	0,00	0,25
rf~24+28	0,68	0,00	0,61	0,61	0,27	0,87	0,01	0,02
nb~1+22	0,68	0,00	0,64	0,57	0,26	0,87	0,01	0,08
nb~36+20	0,68	0,00	0,78	0,55	0,29	0,91	0,00	0,01
knn~15+22	0,68	0,00	0,81	0,46	0,26	0,91	0,00	0,32
svm~10+6	0,68	0,00	0,56	0,75	0,35	0,88	0,00	0,06
nb~10+22	0,68	0,00	0,69	0,51	0,26	0,88	0,02	0,23
nb~19+34	0,68	0,00	0,69	0,66	0,33	0,90	0,00	0,01
svm~17+28	0,68	0,00	0,56	0,67	0,29	0,86	0,00	0,02
svm~37+28	0,68	0,00	0,67	0,59	0,28	0,88	0,00	0,08
nb~4+21	0,68	0,00	0,58	0,81	0,43	0,89	0,00	0,03

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	Valor p de KM	mvaHRPval
nb~37+20	0,68	0,00	0,64	0,59	0,27	0,87	0,00	0,01
svm~42+28	0,68	0,00	0,81	0,59	0,32	0,93	0,00	0,26
knn~4+40	0,67	0,00	0,75	0,51	0,27	0,90	0,01	0,23
knn~12+40	0,67	0,00	0,75	0,57	0,30	0,91	0,00	0,22
nb~18+26	0,68	0,00	0,69	0,63	0,31	0,90	0,00	0,12
rpart~15+24	0,67	0,00	0,78	0,48	0,26	0,90	0,00	0,08
nb~15+40	0,68	0,00	0,42	0,81	0,35	0,85	0,00	0,30
svm~10+19	0,68	0,00	0,64	0,67	0,32	0,89	0,00	0,01
svm~12+29	0,68	0,00	0,44	0,79	0,34	0,86	0,00	0,01
rpart~4+33	0,68	0,00	0,67	0,54	0,26	0,87	0,02	0,00
rpart~24+25	0,67	0,00	0,50	0,75	0,33	0,86	0,00	0,00
knn~15+19	0,67	0,00	0,89	0,38	0,26	0,93	0,00	0,06
knn~8+6	0,67	0,00	0,75	0,49	0,26	0,89	0,01	0,01
nb~39+22	0,68	0,00	0,72	0,47	0,25	0,88	0,02	0,08
nb~31+20	0,68	0,00	0,72	0,49	0,25	0,88	0,01	0,01
rpart~13+22	0,68	0,00	0,78	0,52	0,28	0,91	0,00	0,36
knn~4+38	0,67	0,00	0,75	0,43	0,24	0,88	0,03	0,04
rf~15+28	0,68	0,00	0,69	0,56	0,27	0,88	0,00	0,17
svm~9+22	0,68	0,00	0,56	0,72	0,32	0,87	0,00	0,16
knn~37+19	0,67	0,00	0,94	0,30	0,24	0,96	0,00	0,01
svm~15+16	0,68	0,00	0,50	0,77	0,35	0,87	0,00	0,23
nb~16+21	0,68	0,00	0,61	0,62	0,28	0,87	0,01	0,01
rf~19+6	0,68	0,00	0,67	0,66	0,32	0,89	0,00	0,01
nb~41+19	0,68	0,00	0,69	0,59	0,29	0,89	0,00	0,05
svm~7+22	0,68	0,00	0,67	0,59	0,28	0,88	0,00	0,28
nb~31+32	0,68	0,00	0,39	0,75	0,27	0,84	0,05	0,28
rf~7+22	0,68	0,00	0,75	0,49	0,26	0,89	0,01	0,14
rpart~1+24	0,67	0,00	0,58	0,77	0,38	0,88	0,00	0,00
rf~16+24	0,68	0,00	0,64	0,59	0,27	0,87	0,01	0,02
svm~16+13	0,68	0,00	0,53	0,67	0,28	0,85	0,03	0,33
rf~18+22	0,68	0,00	0,69	0,60	0,29	0,89	0,00	0,22
rf~31+22	0,68	0,00	0,75	0,56	0,29	0,90	0,00	0,10
knn~19+21	0,67	0,00	0,78	0,57	0,30	0,91	0,00	0,00

Tabla 52: biomarcadores por pares del panel de 43 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue $\leq$ 0,05) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de PSA_{dt}.

Auc.pvalue: Valor p de la prueba de Wilcoxon. MFD: Diferencia del factor de cambio de la mediana. KM: Curvas de Kaplan Meier. mvaHRPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos.

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mvaPval
svm~4+12	0,71	0,00	0,15	0,56	0,16	0,54	0,00
rpart~24+32	0,70	0,00	0,07	0,65	0,09	0,55	0,00
rpart~15+14	0,69	0,00	0,09	0,63	0,12	0,55	0,03
svm~12+24	0,70	0,00	0,04	0,71	0,08	0,57	0,01

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mvaPval
knn~12+26	0,31	0,00	0,02	0,73	0,04	0,57	0,00
svm~15+24	0,69	0,00	0,00	0,83	0,00	0,60	0,01
nb~12+19	0,69	0,00	0,28	0,50	0,24	0,55	0,00
rf~4+12	0,69	0,00	0,24	0,41	0,19	0,49	0,01
knn~12+18	0,68	0,00	0,33	0,45	0,25	0,54	0,00
svm~12+26	0,69	0,00	0,11	0,70	0,17	0,58	0,01
nb~15+24	0,69	0,00	0,15	0,59	0,17	0,55	0,00
nb~16+19	0,69	0,00	0,20	0,52	0,19	0,54	0,01
nb~12+24	0,68	0,00	0,04	0,68	0,07	0,56	0,00
rpart~12+24	0,68	0,00	0,09	0,65	0,12	0,56	0,00
rf~12+22	0,68	0,00	0,22	0,44	0,18	0,50	0,00
nb~12+6	0,68	0,00	0,37	0,44	0,27	0,55	0,00
nb~12+26	0,68	0,00	0,15	0,60	0,18	0,56	0,00
rf~12+26	0,68	0,00	0,20	0,65	0,24	0,59	0,00
nb~12+18	0,68	0,00	0,15	0,57	0,17	0,55	0,00
svm~16+24	0,68	0,00	0,07	0,71	0,11	0,57	0,01
nb~37+19	0,68	0,00	0,33	0,49	0,26	0,56	0,08
knn~12+22	0,68	0,00	0,28	0,45	0,22	0,53	0,01
svm~15+12	0,68	0,00	0,04	0,70	0,07	0,56	0,01
svm~16+19	0,68	0,00	0,35	0,48	0,27	0,57	0,02
rpart~12+6	0,67	0,00	0,37	0,43	0,27	0,55	0,03
rpart~1+24	0,67	0,00	0,17	0,57	0,19	0,55	0,01
rpart~4+16	0,67	0,00	0,35	0,48	0,27	0,57	0,03
knn~4+12	0,67	0,00	0,07	0,62	0,09	0,54	0,01
nb~15+12	0,67	0,00	0,20	0,59	0,21	0,56	0,00
svm~16+21	0,67	0,00	0,20	0,56	0,20	0,55	0,01
rf~42+19	0,67	0,00	0,41	0,34	0,26	0,51	0,16
rpart~15+24	0,66	0,00	0,46	0,34	0,28	0,53	0,04
rpart~1+6	0,67	0,00	0,35	0,46	0,27	0,56	0,14
svm~24+10	0,67	0,00	0,09	0,71	0,14	0,58	0,01
knn~24+13	0,66	0,00	0,37	0,30	0,23	0,46	0,11
rf~12+31	0,67	0,00	0,33	0,54	0,28	0,59	0,03
svm~24+8	0,66	0,00	0,13	0,72	0,21	0,60	0,30
svm~12+28	0,66	0,00	0,30	0,56	0,28	0,59	0,08
svm~12+18	0,66	0,00	0,17	0,54	0,17	0,54	0,01
svm~12+37	0,66	0,00	0,33	0,49	0,26	0,56	0,14
svm~15+38	0,66	0,00	0,15	0,61	0,18	0,56	0,01
rpart~4+32	0,66	0,00	0,24	0,50	0,21	0,54	0,05
rf~4+24	0,66	0,00	0,28	0,45	0,22	0,53	0,03
rf~12+18	0,66	0,00	0,30	0,51	0,26	0,57	0,01
nb~4+12	0,66	0,00	0,15	0,57	0,17	0,55	0,01
nb~16+24	0,66	0,00	0,13	0,65	0,17	0,57	0,00
nb~15+28	0,66	0,00	0,26	0,55	0,24	0,57	0,08

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mvaPval
nb~24+28	0,66	0,00	0,26	0,56	0,25	0,58	0,08
nb~12+22	0,66	0,00	0,30	0,51	0,26	0,57	0,01
svm~1+12	0,66	0,00	0,26	0,55	0,24	0,57	0,01
svm~15+10	0,66	0,00	0,17	0,63	0,21	0,58	0,01
nb~24+37	0,66	0,00	0,28	0,49	0,24	0,55	0,09
nb~12+28	0,66	0,00	0,39	0,48	0,30	0,58	0,02
knn~15+35	0,65	0,00	0,15	0,68	0,21	0,59	0,12
nb~10+19	0,65	0,00	0,41	0,40	0,28	0,55	0,04
svm~8+19	0,65	0,00	0,33	0,43	0,24	0,53	0,03
svm~26+19	0,65	0,00	0,22	0,55	0,21	0,56	0,03
knn~1+24	0,65	0,00	0,39	0,35	0,25	0,51	0,01
rpart~15+12	0,65	0,00	0,15	0,60	0,18	0,56	0,02
svm~13+26	0,65	0,00	0,13	0,67	0,18	0,58	0,05
knn~15+17	0,65	0,00	0,22	0,59	0,23	0,57	0,02
nb~15+14	0,65	0,00	0,09	0,71	0,14	0,58	0,04
nb~12+20	0,65	0,00	0,48	0,37	0,30	0,56	0,01
knn~4+32	0,65	0,00	0,35	0,44	0,26	0,55	0,40
rf~12+20	0,65	0,00	0,46	0,41	0,30	0,58	0,16
rf~12+19	0,65	0,00	0,33	0,50	0,27	0,57	0,01
knn~17+24	0,64	0,00	0,30	0,48	0,25	0,55	0,01
nb~16+6	0,65	0,00	0,30	0,50	0,25	0,56	0,02
nb~15+16	0,65	0,00	0,17	0,65	0,22	0,58	0,01
svm~13+19	0,65	0,00	0,48	0,30	0,28	0,51	0,31
svm~1+19	0,65	0,00	0,26	0,49	0,22	0,54	0,01
svm~24+13	0,65	0,01	0,07	0,65	0,09	0,55	0,01
knn~16+28	0,65	0,01	0,39	0,40	0,27	0,54	0,06
nb~13+19	0,65	0,01	0,52	0,32	0,30	0,54	0,11
nb~24+6	0,65	0,01	0,13	0,67	0,18	0,58	0,03
rf~4+43	0,65	0,01	0,35	0,44	0,26	0,55	0,26
knn~18+13	0,64	0,01	0,57	0,21	0,29	0,46	0,38
knn~24+43	0,64	0,01	0,35	0,45	0,26	0,55	0,04
rpart~4+15	0,64	0,01	0,15	0,59	0,17	0,55	0,04
rf~9+19	0,65	0,01	0,41	0,37	0,27	0,53	0,03
nb~16+26	0,65	0,01	0,20	0,60	0,21	0,57	0,01
knn~4+16	0,64	0,01	0,43	0,40	0,29	0,56	0,06
knn~1+28	0,64	0,01	0,57	0,17	0,28	0,41	0,15
knn~40+24	0,64	0,01	0,50	0,30	0,29	0,52	0,01
rpart~28+34	0,64	0,01	0,33	0,55	0,29	0,59	0,38
nb~16+18	0,65	0,01	0,28	0,50	0,24	0,55	0,01
nb~15+10	0,65	0,01	0,52	0,35	0,31	0,57	0,01
svm~42+16	0,65	0,01	0,17	0,61	0,20	0,57	0,01
rf~4+32	0,65	0,01	0,26	0,50	0,23	0,55	0,05
nb~35+19	0,65	0,01	0,24	0,54	0,22	0,56	0,15
nb~28+6	0,65	0,01	0,35	0,50	0,28	0,58	0,23

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mvaPval
nb~4+24	0,65	0,01	0,13	0,67	0,18	0,58	0,04
nb~16+21	0,65	0,01	0,26	0,52	0,24	0,56	0,03
rpart~43+22	0,64	0,01	0,28	0,49	0,24	0,55	0,09
svm~37+22	0,64	0,01	0,37	0,48	0,28	0,57	0,67
svm~15+13	0,64	0,01	0,26	0,52	0,24	0,56	0,10
rpart~24+8	0,64	0,01	0,20	0,73	0,29	0,62	0,21
svm~42+24	0,64	0,01	0,04	0,73	0,08	0,58	0,09
rpart~12+5	0,64	0,01	0,33	0,41	0,24	0,52	0,00
knn~4+17	0,64	0,01	0,24	0,49	0,21	0,53	0,04
svm~4+16	0,64	0,01	0,22	0,51	0,20	0,54	0,05
rf~39+19	0,64	0,01	0,50	0,33	0,29	0,54	0,03
nb~12+17	0,64	0,01	0,11	0,59	0,13	0,54	0,01
svm~12+13	0,64	0,01	0,07	0,73	0,12	0,58	0,01
nb~36+19	0,64	0,01	0,67	0,22	0,33	0,55	0,05
rf~7+19	0,64	0,01	0,52	0,29	0,29	0,52	0,18
nb~19+6	0,64	0,01	0,24	0,61	0,26	0,59	0,07
knn~4+34	0,64	0,01	0,35	0,44	0,26	0,55	0,70
nb~11+6	0,64	0,01	0,20	0,62	0,23	0,58	0,15
rpart~4+10	0,64	0,01	0,24	0,57	0,24	0,57	0,01
knn~15+37	0,64	0,01	0,48	0,29	0,28	0,50	0,11
nb~15+13	0,64	0,01	0,33	0,50	0,27	0,57	0,04
svm~12+22	0,64	0,01	0,39	0,48	0,30	0,58	0,06
rf~15+17	0,64	0,01	0,30	0,52	0,26	0,57	0,06
nb~37+6	0,64	0,01	0,24	0,59	0,24	0,58	0,14
rf~15+26	0,64	0,01	0,33	0,55	0,29	0,59	0,01
knn~15+24	0,64	0,01	0,43	0,35	0,27	0,53	0,04
nb~4+19	0,64	0,01	0,26	0,59	0,26	0,59	0,15
rpart~12+26	0,39	0,01	0,09	0,68	0,13	0,57	0,01
rpart~24+31	0,63	0,01	0,11	0,71	0,17	0,59	0,01
svm~15+16	0,64	0,01	0,15	0,65	0,19	0,58	0,01
nb~21+6	0,64	0,01	0,26	0,52	0,24	0,56	0,12
rf~4+15	0,64	0,01	0,22	0,57	0,22	0,57	0,08
nb~16+20	0,64	0,01	0,46	0,38	0,29	0,55	0,03
rf~4+16	0,64	0,01	0,41	0,41	0,28	0,56	0,23
knn~13+19	0,63	0,01	0,24	0,63	0,27	0,60	0,14
knn~4+24	0,63	0,01	0,20	0,60	0,21	0,57	0,21
knn~38+22	0,63	0,01	0,33	0,44	0,25	0,54	0,25
knn~32+22	0,63	0,01	0,26	0,48	0,22	0,53	0,11
nb~11+28	0,64	0,01	0,24	0,63	0,27	0,60	0,71
nb~12+16	0,64	0,01	0,17	0,57	0,19	0,55	0,01
rpart~24+34	0,63	0,01	0,07	0,79	0,15	0,60	0,05
nb~13+6	0,64	0,01	0,43	0,44	0,30	0,58	0,12
rf~19+21	0,63	0,01	0,33	0,37	0,22	0,49	0,01
knn~15+8	0,63	0,01	0,48	0,32	0,28	0,52	0,19

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mvaPval
nb~15+37	0,63	0,01	0,20	0,61	0,22	0,57	0,06
nb~12+37	0,63	0,01	0,37	0,46	0,28	0,57	0,08
knn~16+19	0,63	0,01	0,41	0,40	0,28	0,55	0,01
rf~39+22	0,63	0,01	0,35	0,50	0,28	0,58	0,08
rf~15+35	0,63	0,01	0,26	0,55	0,24	0,57	0,12
rf~4+42	0,63	0,01	0,37	0,49	0,29	0,58	0,23
nb~4+28	0,63	0,01	0,22	0,60	0,23	0,58	0,39
rpart~15+9	0,62	0,01	0,15	0,60	0,18	0,56	0,08
knn~12+19	0,63	0,01	0,37	0,46	0,28	0,57	0,01
rf~4+39	0,63	0,01	0,33	0,49	0,26	0,56	0,04
rpart~17+13	0,39	0,01	0,13	0,68	0,19	0,58	0,05
rpart~15+16	0,40	0,01	0,07	0,74	0,13	0,59	0,06
rpart~12+17	0,62	0,01	0,24	0,50	0,21	0,54	0,02
nb~16+17	0,63	0,01	0,17	0,65	0,22	0,58	0,01
svm~37+6	0,63	0,01	0,37	0,45	0,27	0,56	0,37
knn~12+31	0,63	0,01	0,63	0,30	0,34	0,60	0,03
rpart~4+13	0,63	0,01	0,35	0,51	0,29	0,58	0,10
rf~42+26	0,63	0,01	0,57	0,30	0,31	0,56	0,32
rf~32+22	0,63	0,01	0,30	0,46	0,24	0,54	0,06
rf~16+10	0,63	0,01	0,22	0,60	0,23	0,58	0,02
nb~37+28	0,63	0,01	0,28	0,55	0,26	0,58	0,69
nb~12+32	0,63	0,01	0,17	0,55	0,18	0,54	0,01
rf~37+19	0,63	0,01	0,41	0,37	0,27	0,53	0,20
rpart~16+41	0,63	0,01	0,24	0,55	0,23	0,56	0,01
svm~35+19	0,63	0,01	0,30	0,54	0,27	0,58	0,28
nb~4+17	0,63	0,01	0,22	0,62	0,24	0,59	0,11
knn~12+6	0,63	0,01	0,28	0,44	0,22	0,52	0,03
svm~10+19	0,63	0,01	0,28	0,51	0,25	0,56	0,00
rf~24+28	0,63	0,01	0,35	0,50	0,28	0,58	0,04
rf~24+13	0,63	0,01	0,37	0,48	0,28	0,57	0,14
rpart~4+24	0,62	0,02	0,20	0,62	0,23	0,58	0,08
knn~24+28	0,63	0,02	0,17	0,65	0,22	0,58	0,04
rpart~15+8	0,63	0,02	0,20	0,59	0,21	0,56	0,42
nb~25+6	0,63	0,02	0,33	0,52	0,28	0,58	0,09
svm~12+10	0,63	0,02	0,20	0,61	0,22	0,57	0,01
rpart~15+13	0,63	0,02	0,26	0,62	0,28	0,60	0,10
svm~19+28	0,63	0,02	0,37	0,54	0,31	0,60	0,26
svm~24+37	0,63	0,02	0,22	0,63	0,25	0,59	0,71
rpart~16+6	0,62	0,02	0,26	0,52	0,24	0,56	0,06
rpart~16+22	0,63	0,02	0,37	0,44	0,27	0,55	0,02
svm~40+19	0,63	0,02	0,37	0,44	0,27	0,55	0,16
svm~4+24	0,63	0,02	0,15	0,63	0,19	0,57	0,02
rpart~11+22	0,38	0,02	0,22	0,57	0,22	0,57	0,49
rf~12+6	0,63	0,02	0,33	0,39	0,23	0,51	0,01

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mvaPval
nb~4+16	0,63	0,02	0,17	0,63	0,21	0,58	0,06
nb~16+28	0,63	0,02	0,39	0,48	0,30	0,58	0,11
svm~11+28	0,63	0,02	0,24	0,59	0,24	0,58	0,85
knn~9+6	0,63	0,02	0,48	0,30	0,28	0,51	0,26
svm~13+6	0,63	0,02	0,39	0,50	0,31	0,59	0,63
svm~28+32	0,63	0,02	0,33	0,66	0,35	0,64	0,40
svm~40+24	0,63	0,02	0,35	0,46	0,27	0,56	0,08
rpart~14+24	0,62	0,02	0,07	0,74	0,13	0,59	0,05
rpart~16+26	0,63	0,02	0,22	0,62	0,24	0,59	0,05
knn~16+29	0,38	0,02	0,26	0,56	0,25	0,58	0,02
nb~15+6	0,63	0,02	0,15	0,66	0,20	0,58	0,03
rf~29+19	0,63	0,02	0,37	0,41	0,26	0,54	0,00
rf~4+21	0,63	0,02	0,33	0,54	0,28	0,59	0,51
nb~4+15	0,63	0,02	0,11	0,61	0,14	0,55	0,07
rf~24+19	0,63	0,02	0,26	0,56	0,25	0,58	0,02
nb~9+19	0,63	0,02	0,35	0,48	0,27	0,57	0,70
svm~21+6	0,63	0,02	0,33	0,49	0,26	0,56	0,16
rf~15+10	0,63	0,02	0,30	0,52	0,26	0,57	0,01
knn~17+37	0,62	0,02	0,65	0,26	0,33	0,57	0,28
rpart~17+18	0,39	0,02	0,22	0,56	0,22	0,56	0,14
nb~1+19	0,63	0,02	0,57	0,30	0,31	0,56	0,04
svm~1+16	0,63	0,02	0,09	0,74	0,16	0,59	0,03
rpart~42+15	0,62	0,02	0,22	0,56	0,22	0,56	0,33
rpart~4+12	0,62	0,02	0,35	0,44	0,26	0,55	0,00
rf~15+19	0,63	0,02	0,30	0,56	0,28	0,59	0,00
rf~15+24	0,63	0,02	0,30	0,50	0,25	0,56	0,06
nb~26+6	0,63	0,02	0,26	0,59	0,26	0,59	0,08
svm~16+18	0,62	0,02	0,22	0,55	0,21	0,56	0,03
nb~16+22	0,62	0,02	0,35	0,52	0,29	0,59	0,06
nb~17+6	0,62	0,02	0,28	0,63	0,30	0,61	0,10
nb~24+13	0,62	0,02	0,17	0,66	0,22	0,59	0,05
knn~12+10	0,62	0,02	0,50	0,29	0,28	0,51	0,02
knn~9+19	0,62	0,02	0,48	0,35	0,29	0,55	0,79
svm~16+26	0,62	0,02	0,20	0,60	0,21	0,57	0,02
rf~4+8	0,62	0,02	0,59	0,29	0,32	0,56	0,14
rf~10+22	0,62	0,02	0,37	0,43	0,27	0,55	0,03
nb~37+22	0,62	0,02	0,37	0,48	0,28	0,57	0,45
svm~13+28	0,62	0,02	0,35	0,46	0,27	0,56	0,42
rf~1+19	0,62	0,02	0,41	0,46	0,30	0,58	0,18
nb~15+35	0,62	0,02	0,30	0,56	0,28	0,59	0,07
svm~4+25	0,62	0,02	0,37	0,45	0,27	0,56	0,28
nb~12+13	0,62	0,02	0,26	0,59	0,26	0,59	0,04
nb~24+10	0,62	0,02	0,39	0,43	0,28	0,56	0,02
rf~10+19	0,62	0,02	0,37	0,44	0,27	0,55	0,02

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mvaPval
rpart~16+10	0,61	0,02	0,24	0,55	0,23	0,56	0,00
svm~12+5	0,62	0,02	0,39	0,41	0,27	0,55	0,06
svm~9+19	0,62	0,02	0,35	0,40	0,25	0,52	0,24
svm~32+22	0,62	0,02	0,26	0,57	0,26	0,58	0,03
knn~15+28	0,62	0,02	0,17	0,65	0,22	0,58	0,19
nb~16+32	0,62	0,02	0,26	0,55	0,24	0,57	0,03
rpart~42+24	0,62	0,02	0,17	0,68	0,24	0,60	0,07
nb~14+6	0,62	0,02	0,24	0,61	0,26	0,59	0,16
nb~12+38	0,62	0,02	0,20	0,59	0,21	0,56	0,00
rf~13+19	0,62	0,02	0,57	0,33	0,32	0,57	0,13
nb~16+37	0,62	0,02	0,33	0,44	0,25	0,54	0,21
svm~4+42	0,62	0,02	0,39	0,44	0,28	0,56	0,22
rpart~37+22	0,61	0,03	0,33	0,48	0,26	0,56	0,72
knn~18+10	0,38	0,03	0,54	0,23	0,28	0,48	0,13
rf~4+10	0,62	0,03	0,17	0,66	0,22	0,59	0,34
svm~4+28	0,62	0,03	0,30	0,59	0,29	0,60	0,58
nb~18+6	0,62	0,03	0,33	0,56	0,29	0,60	0,13
nb~12+41	0,62	0,03	0,15	0,63	0,19	0,57	0,06
nb~12+10	0,62	0,03	0,35	0,56	0,31	0,61	0,02
svm~11+22	0,62	0,03	0,33	0,54	0,28	0,59	0,71
svm~8+28	0,62	0,03	0,30	0,46	0,24	0,54	0,10
nb~10+6	0,62	0,03	0,17	0,63	0,21	0,58	0,05
rf~31+19	0,62	0,03	0,41	0,39	0,28	0,54	0,05
rf~12+2	0,62	0,03	0,33	0,49	0,26	0,56	0,04
svm~16+38	0,62	0,03	0,22	0,56	0,22	0,56	0,01
nb~39+6	0,62	0,03	0,24	0,59	0,24	0,58	0,06
rf~16+19	0,62	0,03	0,41	0,44	0,29	0,57	0,01
svm~12+6	0,62	0,03	0,30	0,49	0,25	0,56	0,01
svm~16+34	0,62	0,03	0,28	0,60	0,28	0,60	0,05
rf~15+8	0,62	0,03	0,28	0,51	0,25	0,56	0,15
nb~10+28	0,62	0,03	0,22	0,65	0,26	0,60	0,31
nb~10+20	0,62	0,03	0,37	0,45	0,27	0,56	0,10
rpart~4+18	0,61	0,03	0,35	0,51	0,29	0,58	0,89
knn~35+19	0,39	0,03	0,57	0,24	0,30	0,50	0,14
rpart~18+32	0,62	0,03	0,39	0,45	0,29	0,57	0,09
svm~7+28	0,62	0,03	0,39	0,52	0,32	0,61	0,76
knn~1+22	0,39	0,03	0,37	0,51	0,30	0,59	0,02
rpart~4+41	0,61	0,03	0,22	0,61	0,24	0,58	0,08
svm~43+22	0,62	0,03	0,22	0,62	0,24	0,59	0,25
rpart~1+28	0,62	0,03	0,33	0,48	0,26	0,56	0,60
rpart~12+31	0,62	0,03	0,28	0,59	0,28	0,59	0,05
rpart~10+22	0,61	0,03	0,33	0,50	0,27	0,57	0,01
nb~40+24	0,62	0,03	0,28	0,54	0,25	0,57	0,07
svm~4+10	0,62	0,03	0,15	0,61	0,18	0,56	0,05

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mvaPval
svm~13+32	0,62	0,03	0,24	0,71	0,31	0,62	0,52
rpart~4+1	0,39	0,03	0,52	0,35	0,31	0,57	0,35
rf~16+24	0,62	0,03	0,30	0,55	0,27	0,58	0,16
rf~4+19	0,62	0,03	0,37	0,45	0,27	0,56	0,05
rpart~24+10	0,40	0,03	0,20	0,67	0,25	0,60	0,00
svm~19+6	0,62	0,03	0,37	0,52	0,30	0,60	0,14
nb~15+36	0,62	0,03	0,26	0,55	0,24	0,57	0,01
knn~43+22	0,61	0,03	0,43	0,24	0,24	0,43	0,13
knn~4+7	0,61	0,03	0,22	0,67	0,27	0,60	0,22
nb~20+6	0,62	0,03	0,28	0,55	0,26	0,58	0,19
rpart~24+38	0,61	0,03	0,24	0,62	0,26	0,59	0,15
svm~24+25	0,61	0,03	0,20	0,66	0,24	0,59	0,07
knn~11+28	0,61	0,03	0,59	0,23	0,30	0,50	0,78
rf~24+43	0,61	0,03	0,17	0,67	0,23	0,59	0,05
rf~9+22	0,61	0,03	0,28	0,51	0,25	0,56	0,10
knn~26+2	0,61	0,03	0,59	0,21	0,29	0,47	0,22
knn~24+20	0,39	0,03	0,17	0,78	0,31	0,63	0,07
rf~24+10	0,61	0,03	0,30	0,55	0,27	0,58	0,02
svm~29+22	0,61	0,03	0,46	0,46	0,32	0,60	0,24
nb~43+6	0,61	0,03	0,20	0,62	0,23	0,58	0,11
rpart~1+15	0,61	0,03	0,22	0,63	0,25	0,59	0,05
rpart~38+22	0,61	0,03	0,39	0,40	0,27	0,54	0,87
rpart~18+13	0,61	0,03	0,43	0,44	0,30	0,58	0,95
nb~16+38	0,61	0,03	0,28	0,61	0,29	0,60	0,01
nb~18+13	0,61	0,03	0,37	0,48	0,28	0,57	0,26
nb~24+31	0,61	0,03	0,26	0,56	0,25	0,58	0,01
svm~26+37	0,61	0,03	0,15	0,68	0,21	0,59	0,95
knn~4+42	0,39	0,03	0,70	0,21	0,33	0,55	0,08
svm~16+8	0,61	0,03	0,26	0,55	0,24	0,57	0,02
rf~18+13	0,61	0,03	0,48	0,43	0,32	0,59	0,95
nb~13+28	0,61	0,04	0,33	0,54	0,28	0,59	0,61
rf~19+28	0,61	0,04	0,41	0,39	0,28	0,54	0,03
svm~36+19	0,61	0,04	0,30	0,50	0,25	0,56	0,02
svm~12+9	0,61	0,04	0,26	0,60	0,27	0,59	0,14
svm~12+27	0,61	0,04	0,30	0,52	0,26	0,57	0,01
rpart~16+3	0,41	0,04	0,11	0,82	0,25	0,62	0,67
rf~10+28	0,61	0,04	0,50	0,44	0,33	0,61	0,41
nb~35+6	0,61	0,04	0,24	0,56	0,23	0,57	0,12
knn~4+10	0,39	0,04	0,22	0,60	0,23	0,58	0,14
svm~4+11	0,61	0,04	0,13	0,63	0,17	0,57	0,20
nb~16+11	0,61	0,04	0,35	0,57	0,31	0,61	0,17
knn~37+22	0,61	0,04	0,54	0,27	0,29	0,51	0,26
rpart~16+25	0,60	0,04	0,41	0,45	0,30	0,58	0,26
nb~15+31	0,61	0,04	0,26	0,60	0,27	0,59	0,02

ES 3 015 226 T3

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mvaPval
knn~12+28	0,61	0,04	0,15	0,63	0,19	0,57	0,19
knn~4+43	0,39	0,04	0,33	0,52	0,28	0,58	0,41
svm~16+22	0,61	0,04	0,37	0,50	0,29	0,59	0,15
svm~16+28	0,61	0,04	0,33	0,51	0,27	0,58	0,19
nb~4+10	0,61	0,04	0,11	0,71	0,17	0,59	0,13
knn~16+18	0,61	0,04	0,28	0,45	0,22	0,53	0,14
knn~8+19	0,61	0,04	0,37	0,44	0,27	0,55	0,23
nb~18+37	0,61	0,04	0,35	0,49	0,28	0,57	0,41
svm~24+2	0,61	0,04	0,22	0,60	0,23	0,58	0,74
knn~18+20	0,61	0,04	0,17	0,70	0,24	0,60	0,24
knn~26+20	0,61	0,04	0,48	0,43	0,32	0,59	0,10
nb~16+13	0,61	0,04	0,26	0,54	0,24	0,56	0,14
nb~14+28	0,61	0,04	0,28	0,61	0,29	0,60	0,66
svm~42+15	0,61	0,04	0,26	0,61	0,27	0,60	0,13
svm~4+21	0,61	0,04	0,22	0,63	0,25	0,59	0,64
rpart~24+33	0,60	0,04	0,17	0,67	0,23	0,59	0,23
rpart~13+22	0,61	0,04	0,48	0,34	0,29	0,54	0,50
rf~1+28	0,61	0,04	0,37	0,39	0,25	0,52	0,21
knn~24+10	0,61	0,04	0,37	0,41	0,26	0,54	0,01
rf~40+24	0,61	0,04	0,33	0,54	0,28	0,59	0,03
knn~4+20	0,61	0,04	0,46	0,38	0,29	0,55	0,20
rpart~20+28	0,60	0,04	0,54	0,33	0,31	0,56	0,30
rf~15+16	0,61	0,04	0,17	0,61	0,20	0,57	0,01
svm~31+28	0,61	0,04	0,43	0,49	0,32	0,61	0,26
nb~10+22	0,61	0,04	0,33	0,56	0,29	0,60	0,19
knn~4+8	0,61	0,04	0,13	0,71	0,20	0,59	0,11
svm~4+19	0,61	0,04	0,35	0,43	0,25	0,54	0,19
knn~29+19	0,61	0,04	0,17	0,65	0,22	0,58	0,03
nb~38+28	0,61	0,04	0,30	0,49	0,25	0,56	0,04
svm~16+31	0,61	0,04	0,20	0,61	0,22	0,57	0,03
nb~16+29	0,61	0,04	0,26	0,63	0,29	0,60	0,09
knn~26+19	0,61	0,05	0,41	0,43	0,29	0,56	0,03
nb~22+6	0,61	0,05	0,35	0,52	0,29	0,59	0,19
svm~2+28	0,61	0,05	0,35	0,43	0,25	0,54	0,65
svm~37+28	0,61	0,05	0,37	0,46	0,28	0,57	0,99
rf~19+34	0,61	0,05	0,33	0,44	0,25	0,54	0,02
svm~4+14	0,61	0,05	0,15	0,60	0,18	0,56	0,27
svm~28+21	0,61	0,05	0,33	0,56	0,29	0,60	0,67
rpart~29+6	0,60	0,05	0,33	0,54	0,28	0,59	0,09
svm~16+13	0,61	0,05	0,24	0,57	0,24	0,57	0,09
rpart~15+6	0,60	0,05	0,33	0,52	0,28	0,58	0,31
rpart~31+6	0,60	0,05	0,39	0,50	0,31	0,59	0,40
nb~4+6	0,61	0,05	0,24	0,57	0,24	0,57	0,33
svm~15+22	0,61	0,05	0,22	0,60	0,23	0,58	0,16

(continuación)

Clasificador	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. negat.	mvaPval
svm~15+37	0,61	0,05	0,17	0,66	0,22	0,59	0,21
svm~16+32	0,61	0,05	0,13	0,67	0,18	0,58	0,02
knn~4+15	0,40	0,05	0,24	0,56	0,23	0,57	0,06
knn~12+2	0,60	0,05	0,39	0,49	0,30	0,59	0,24
nb~15+34	0,61	0,05	0,20	0,68	0,26	0,60	0,07
svm~8+32	0,61	0,05	0,22	0,66	0,26	0,60	0,03
nb~1+6	0,61	0,05	0,26	0,60	0,27	0,59	0,09
nb~12+5	0,61	0,05	0,59	0,28	0,31	0,55	0,04
svm~35+6	0,61	0,05	0,24	0,59	0,24	0,58	0,48
nb~16+31	0,61	0,05	0,24	0,59	0,24	0,58	0,05
svm~4+37	0,61	0,05	0,30	0,50	0,25	0,56	0,51
nb~12+35	0,61	0,05	0,20	0,61	0,22	0,57	0,08
rpart~10+32	0,60	0,05	0,24	0,68	0,30	0,62	0,02
svm~15+35	0,60	0,05	0,20	0,67	0,25	0,60	0,62
svm~14+6	0,60	0,05	0,37	0,59	0,33	0,62	0,25
rf~24+22	0,60	0,05	0,30	0,48	0,25	0,55	0,14

Ejemplo 13: Una biblioteca de 2040 biomarcadores para la progresión del cáncer de próstata

Para definir una biblioteca completa de biomarcadores del conjunto completo de 1,4 millones de características que presenta capacidad pronóstica, se procesó el conjunto de descubrimiento (entrenamiento y prueba) presentado en el Ejemplo 1 de la siguiente manera. En primer lugar, se eliminaron todas las características con un recuento de sondas inferior a 4 o con sondas de hibridación cruzada según lo definido por Affymetrix (<http://www.affymetrix.com>). En segundo lugar, se aplicó un filtro de fondo para asegurar la señal en la captura de expresión para cada característica. Para lograr esto, se eliminaron características que tuvieron una mediana del valor de expresión en el grupo pacientes METS y en el grupo sin METS (por separado) inferior a 1,2 veces la señal de fondo (capturada por las sondas antígenómicas de control definidas por Affymetrix (<http://www.affymetrix.com>)). En tercer lugar, la significación estadística de la expresión diferencial observada entre los grupos de METS y de sin METS se evaluó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov para cada característica. Se eliminaron las características con un valor p superior a 0,05. Por último, se calculó la importancia de la variable de Random Forest construyendo un bosque aleatorio con 450.000 árboles. Las características con disminución media de Gini (MDG, por sus siglas en inglés) ≤ 0 se descartaron y se seleccionaron características con $MDG > 6,5e-3$ y disminución media de la precisión (MDA, por sus siglas en inglés) > 0 , reduciendo el conjunto de funciones a 2.040 funciones. MDA se define como la diferencia promedio en la precisión de la variable real frente a la variable aleatoria para árboles en el bosque. MDG se define como la media del cambio en gini entre un nodo parental y un nodo secundario cuando se divide en una variable en todo el bosque.

Estos representan las características más importantes (basadas en MDG y MDA) que son estadísticamente significativas (basadas en la prueba de Kolmogorov-Smirnov) para la expresión diferencial entre pacientes METS y sin METS (Tabla 55) y proporciona una biblioteca de biomarcadores para la progresión del cáncer de próstata.

En las Tablas 53 y 54, los biomarcadores de los 2.040 en la biblioteca que resultaron estadísticamente significativos en los conjuntos de entrenamiento y de prueba basados en una prueba de Wilcoxon (valor $p \leq 0,05$) para el parámetro del área bajo la curva (AUC) ROC, se muestran para el evento de recurrencia bioquímica (BCR) y el evento de metástasis (evento de METS). Mientras que los resultados se muestran para el conjunto de prueba (como se define en el Ejemplo 1), estos biomarcadores también fueron significativos en el conjunto de entrenamiento del estudio de investigación.

La importancia adicional de las características seleccionadas se probó mediante múltiples parámetros y también se enumeran en las Tablas 53 y 54. Los parámetros se definen en el Ejemplo 12. Estos resultados demuestran, basándose en los múltiples parámetros mostrados, que la biblioteca de biomarcadores construida tiene la capacidad de capturar la biología subyacente a la progresión del cáncer de próstata, como se define por diversas variables clínicas.

Tabla 53: biomarcadores de la biblioteca de 2.040 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon ($\text{auc.pvalue} \leq 0,05$) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de BCR.

Auc.pvalue: Valor p de la prueba de Wilcoxon. KM: Curvas de Kaplan Meier. mvaHRPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos.

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
55	0,60	0,03	0,62	0,52	0,74	0,38	0,10	0,02
58	0,59	0,04	0,55	0,48	0,70	0,33	0,22	0,00
90	0,59	0,05	0,66	0,31	0,68	0,29	0,80	0,04
97	0,62	0,01	0,51	0,67	0,77	0,38	0,02	0,00
107	0,62	0,01	0,53	0,62	0,76	0,38	0,07	0,35
109	0,60	0,02	0,42	0,43	0,62	0,25	0,11	0,73
117	0,60	0,04	0,66	0,45	0,73	0,38	0,06	0,38
125	0,61	0,02	0,65	0,17	0,63	0,18	0,02	0,47
165	0,59	0,04	0,45	0,64	0,73	0,35	0,06	0,55
170	0,61	0,02	0,42	0,71	0,76	0,36	0,01	0,92
176	0,61	0,02	0,63	0,55	0,76	0,41	0,01	0,00
178	0,61	0,01	0,35	0,79	0,79	0,36	0,03	0,74
179	0,61	0,02	0,45	0,69	0,76	0,36	0,01	0,73
183	0,59	0,05	0,73	0,28	0,69	0,31	0,68	0,29
208	0,61	0,02	0,67	0,47	0,74	0,39	0,03	0,01
228	0,60	0,02	0,48	0,66	0,75	0,36	0,01	0,55
246	0,65	0,00	0,70	0,53	0,77	0,45	0,00	0,00
251	0,59	0,04	0,45	0,43	0,63	0,26	0,05	0,22
311	0,61	0,02	0,39	0,71	0,75	0,34	0,13	0,33
315	0,59	0,05	0,59	0,53	0,74	0,37	0,09	0,40
316	0,61	0,02	0,65	0,50	0,74	0,39	0,03	0,06
317	0,61	0,02	0,33	0,78	0,76	0,34	0,03	0,38
339	0,60	0,03	0,55	0,33	0,64	0,25	0,26	0,87
357	0,63	0,00	0,51	0,71	0,79	0,39	0,00	0,41
437	0,65	0,00	0,42	0,78	0,81	0,38	0,00	0,36
465	0,60	0,03	0,48	0,71	0,78	0,38	0,00	0,98
473	0,60	0,03	0,70	0,48	0,75	0,42	0,01	0,29
522	0,59	0,05	0,63	0,52	0,74	0,38	0,02	0,01
582	0,60	0,03	0,40	0,79	0,81	0,37	0,00	0,07
615	0,59	0,04	0,40	0,47	0,62	0,26	0,02	0,00
643	0,62	0,01	0,54	0,67	0,78	0,40	0,00	0,00
693	0,63	0,00	0,62	0,59	0,77	0,41	0,01	0,01
696	0,59	0,04	0,63	0,45	0,72	0,36	0,17	0,15
791	0,61	0,02	0,73	0,41	0,73	0,41	0,02	0,12
836	0,59	0,04	0,52	0,38	0,65	0,27	0,14	0,49
981	0,63	0,00	0,52	0,31	0,63	0,23	0,02	0,03
1024	0,59	0,04	0,58	0,48	0,71	0,34	0,12	0,00
1062	0,60	0,02	0,63	0,52	0,74	0,39	0,06	0,42
1094	0,60	0,02	0,48	0,34	0,62	0,23	0,03	0,52
1247	0,62	0,01	0,69	0,40	0,72	0,37	0,22	0,01
1249	0,61	0,02	0,48	0,41	0,64	0,26	0,03	0,17

(continuación)

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
1251	0,59	0,04	0,59	0,57	0,75	0,39	0,01	0,53
1270	0,59	0,04	0,47	0,67	0,76	0,36	0,05	0,16
1285	0,60	0,03	0,54	0,66	0,78	0,39	0,01	0,68
1378	0,61	0,02	0,36	0,53	0,63	0,27	0,06	0,02
1485	0,59	0,05	0,73	0,16	0,66	0,21	0,19	0,75
1509	0,60	0,03	0,43	0,36	0,60	0,22	0,02	0,02
1517	0,59	0,04	0,37	0,55	0,64	0,28	0,22	0,07
1537	0,60	0,02	0,57	0,59	0,75	0,38	0,00	0,45
1540	0,61	0,02	0,36	0,50	0,61	0,26	0,06	0,00
1541	0,62	0,01	0,69	0,50	0,75	0,42	0,01	0,01
1576	0,62	0,01	0,49	0,69	0,78	0,38	0,01	0,29
1581	0,59	0,05	0,52	0,60	0,74	0,36	0,18	0,24
1634	0,64	0,00	0,54	0,66	0,78	0,39	0,03	0,00
1656	0,60	0,03	0,36	0,76	0,77	0,35	0,02	0,54
1706	0,60	0,02	0,41	0,43	0,62	0,25	0,06	0,64
1719	0,60	0,02	0,50	0,64	0,75	0,37	0,00	0,17
1721	0,61	0,02	0,57	0,59	0,75	0,38	0,01	0,05
1783	0,61	0,02	0,63	0,53	0,75	0,39	0,02	0,83
1801	0,61	0,02	0,60	0,53	0,74	0,38	0,24	0,18
1823	0,61	0,02	0,37	0,48	0,61	0,26	0,05	0,21
1902	0,64	0,00	0,53	0,71	0,80	0,41	0,00	0,02
1958	0,60	0,03	0,67	0,50	0,75	0,41	0,00	0,00
1964	0,60	0,03	0,70	0,36	0,71	0,35	0,14	0,01
1965	0,62	0,01	0,47	0,71	0,78	0,38	0,00	0,84
2014	0,61	0,02	0,59	0,53	0,74	0,37	0,09	0,01

Tabla 54: biomarcadores de la biblioteca de 2.040 biomarcadores con significancia para el valor p de Wilcoxon (auc.pvalue $\leq$ 0,05) y otros parámetros para el criterio de valoración del evento de MET.

Auc.pvalue: Valor p de la prueba de Wilcoxon. KM: Curvas de Kaplan Meier. mvaHRPval: Valor p del análisis multivariante de la razón de riesgos instantáneos.

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
50	0,65	0,00	0,32	0,42	0,24	0,52	0,00	0,14
51	0,64	0,00	0,59	0,58	0,45	0,71	0,01	0,02
53	0,69	0,00	0,78	0,47	0,46	0,79	0,00	0,00
55	0,60	0,02	0,65	0,47	0,41	0,70	0,11	0,10
58	0,65	0,00	0,63	0,51	0,43	0,71	0,03	0,00
59	0,63	0,00	0,76	0,44	0,44	0,76	0,00	0,39
60	0,63	0,00	0,71	0,50	0,45	0,75	0,01	0,05
63	0,60	0,03	0,59	0,55	0,43	0,70	0,04	0,15
68	0,59	0,04	0,81	0,40	0,44	0,78	0,00	0,46
71	0,60	0,02	0,46	0,42	0,31	0,57	0,06	0,09
76	0,60	0,03	0,81	0,37	0,43	0,77	0,01	0,25
82	0,63	0,00	0,68	0,55	0,46	0,75	0,00	0,03

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
87	0,59	0,05	0,82	0,31	0,41	0,75	0,03	0,04
90	0,63	0,00	0,74	0,37	0,40	0,71	0,08	0,07
96	0,62	0,01	0,78	0,38	0,42	0,75	0,01	0,02
97	0,67	0,00	0,60	0,64	0,49	0,74	0,00	0,00
100	0,63	0,00	0,32	0,42	0,24	0,52	0,00	0,07
102	0,60	0,02	0,66	0,45	0,41	0,70	0,09	0,00
107	0,61	0,01	0,57	0,57	0,43	0,70	0,09	0,10
108	0,60	0,02	0,50	0,66	0,46	0,70	0,01	0,13
117	0,61	0,01	0,71	0,42	0,41	0,71	0,06	0,02
119	0,61	0,01	0,75	0,41	0,42	0,74	0,02	0,04
120	0,59	0,05	0,76	0,36	0,41	0,73	0,04	0,19
126	0,59	0,04	0,46	0,37	0,30	0,54	0,02	0,28
130	0,63	0,00	0,65	0,56	0,46	0,73	0,00	0,12
131	0,59	0,05	0,60	0,53	0,42	0,70	0,04	0,02
137	0,60	0,02	0,43	0,69	0,45	0,68	0,09	0,13
144	0,59	0,05	0,63	0,54	0,44	0,72	0,02	0,73
151	0,63	0,00	0,56	0,70	0,52	0,73	0,00	0,23
152	0,69	0,00	0,60	0,63	0,48	0,73	0,00	0,00
155	0,61	0,01	0,56	0,49	0,39	0,66	0,68	0,24
163	0,61	0,02	0,63	0,54	0,44	0,72	0,03	0,14
165	0,65	0,00	0,53	0,64	0,46	0,70	0,02	0,04
169	0,59	0,04	0,68	0,52	0,45	0,73	0,01	0,08
170	0,63	0,00	0,51	0,69	0,49	0,71	0,00	0,13
175	0,59	0,04	0,74	0,40	0,41	0,72	0,05	0,02
176	0,60	0,02	0,69	0,49	0,44	0,73	0,01	0,01
179	0,66	0,00	0,57	0,69	0,51	0,74	0,00	0,36
183	0,60	0,02	0,79	0,31	0,40	0,73	0,08	0,07
187	0,62	0,01	0,76	0,40	0,42	0,75	0,02	0,01
188	0,61	0,01	0,43	0,40	0,29	0,55	0,03	0,88
192	0,64	0,00	0,35	0,40	0,25	0,52	0,00	0,12
197	0,60	0,02	0,53	0,61	0,44	0,69	0,02	0,01
204	0,59	0,05	0,79	0,30	0,39	0,71	0,22	0,94
213	0,59	0,04	0,68	0,48	0,43	0,72	0,02	0,01
225	0,64	0,00	0,74	0,47	0,44	0,75	0,01	0,02
228	0,64	0,00	0,59	0,65	0,49	0,73	0,00	0,06
230	0,61	0,01	0,40	0,45	0,29	0,56	0,06	0,39
239	0,61	0,02	0,69	0,47	0,43	0,73	0,01	0,02
241	0,59	0,03	0,50	0,37	0,31	0,56	0,10	0,93
246	0,65	0,00	0,82	0,48	0,48	0,83	0,00	0,01
251	0,59	0,05	0,37	0,45	0,28	0,55	0,02	0,30
255	0,60	0,02	0,62	0,60	0,47	0,73	0,00	0,34
268	0,59	0,05	0,65	0,51	0,43	0,71	0,02	0,10
269	0,59	0,04	0,72	0,42	0,42	0,72	0,03	0,02
271	0,63	0,00	0,41	0,41	0,29	0,55	0,01	0,51

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
273	0,59	0,04	0,40	0,44	0,29	0,56	0,03	0,20
275	0,59	0,05	0,38	0,51	0,31	0,59	0,11	0,05
277	0,60	0,02	0,47	0,45	0,33	0,60	0,25	0,02
285	0,65	0,00	0,38	0,36	0,25	0,50	0,00	0,47
288	0,62	0,01	0,53	0,57	0,41	0,68	0,13	0,05
291	0,61	0,02	0,59	0,53	0,42	0,69	0,08	0,19
292	0,63	0,00	0,54	0,28	0,30	0,52	0,01	0,02
293	0,59	0,04	0,54	0,38	0,34	0,59	0,35	0,62
299	0,59	0,05	0,62	0,53	0,43	0,71	0,04	0,08
314	0,60	0,03	0,34	0,53	0,29	0,58	0,06	0,01
317	0,66	0,00	0,41	0,77	0,51	0,69	0,00	0,07
333	0,60	0,02	0,75	0,27	0,37	0,65	0,61	0,05
336	0,60	0,02	0,56	0,35	0,33	0,58	0,28	0,42
344	0,60	0,03	0,78	0,37	0,42	0,75	0,02	0,00
350	0,60	0,03	0,59	0,57	0,44	0,71	0,02	0,18
352	0,61	0,01	0,43	0,41	0,29	0,55	0,02	0,00
356	0,60	0,02	0,71	0,42	0,41	0,71	0,09	0,11
357	0,64	0,00	0,54	0,62	0,45	0,70	0,02	0,03
360	0,60	0,02	0,50	0,36	0,31	0,55	0,05	0,92
362	0,65	0,00	0,62	0,59	0,47	0,73	0,00	0,04
367	0,60	0,02	0,59	0,51	0,41	0,68	0,14	0,09
371	0,60	0,02	0,50	0,33	0,30	0,53	0,01	0,04
373	0,60	0,03	0,75	0,31	0,38	0,68	0,39	0,08
383	0,62	0,01	0,50	0,62	0,43	0,68	0,13	0,15
394	0,60	0,03	0,54	0,31	0,31	0,54	0,06	0,43
397	0,61	0,01	0,59	0,57	0,44	0,71	0,04	0,14
400	0,60	0,03	0,69	0,45	0,42	0,72	0,05	0,24
409	0,60	0,02	0,54	0,58	0,43	0,69	0,03	0,10
418	0,62	0,01	0,68	0,47	0,42	0,71	0,02	0,01
419	0,64	0,00	0,69	0,57	0,48	0,76	0,00	0,01
425	0,59	0,04	0,60	0,47	0,40	0,67	0,25	0,08
441	0,61	0,02	0,81	0,34	0,41	0,75	0,03	0,10
445	0,60	0,02	0,59	0,53	0,42	0,69	0,06	0,22
447	0,62	0,01	0,60	0,58	0,45	0,72	0,01	0,08
459	0,59	0,05	0,44	0,46	0,32	0,59	0,27	0,22
466	0,59	0,04	0,28	0,58	0,28	0,58	0,05	0,03
473	0,59	0,04	0,76	0,42	0,43	0,76	0,01	0,48
477	0,61	0,01	0,46	0,75	0,52	0,71	0,00	0,12
478	0,60	0,02	0,66	0,47	0,42	0,71	0,04	0,04
484	0,62	0,01	0,75	0,44	0,44	0,75	0,01	0,10
485	0,61	0,02	0,29	0,53	0,26	0,56	0,02	0,19
493	0,61	0,01	0,59	0,55	0,43	0,70	0,03	0,40
494	0,61	0,01	0,74	0,36	0,40	0,70	0,13	0,23
500	0,59	0,05	0,71	0,39	0,40	0,70	0,17	0,08

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
509	0,60	0,03	0,32	0,50	0,27	0,56	0,02	0,58
516	0,65	0,00	0,28	0,53	0,25	0,56	0,01	0,03
517	0,59	0,04	0,62	0,52	0,42	0,70	0,04	0,05
522	0,62	0,01	0,69	0,48	0,44	0,73	0,01	0,14
539	0,66	0,00	0,75	0,45	0,44	0,76	0,00	0,00
548	0,61	0,01	0,71	0,42	0,41	0,71	0,08	0,07
552	0,61	0,01	0,68	0,47	0,42	0,71	0,03	0,03
559	0,62	0,01	0,37	0,40	0,26	0,52	0,00	0,00
563	0,59	0,04	0,35	0,46	0,27	0,55	0,01	0,68
568	0,61	0,01	0,75	0,37	0,41	0,72	0,06	0,07
571	0,60	0,02	0,72	0,41	0,41	0,72	0,04	0,07
572	0,65	0,00	0,65	0,56	0,46	0,73	0,00	0,01
579	0,60	0,02	0,72	0,42	0,42	0,72	0,03	0,03
582	0,68	0,00	0,54	0,78	0,59	0,75	0,00	0,00
586	0,61	0,02	0,44	0,38	0,29	0,54	0,02	0,04
589	0,60	0,02	0,49	0,39	0,31	0,57	0,14	0,91
614	0,64	0,00	0,75	0,44	0,44	0,75	0,01	0,11
616	0,61	0,01	0,63	0,54	0,44	0,72	0,01	0,87
618	0,62	0,01	0,60	0,54	0,43	0,70	0,04	0,01
639	0,63	0,00	0,66	0,56	0,46	0,74	0,00	0,03
643	0,60	0,03	0,57	0,58	0,44	0,70	0,02	0,00
645	0,64	0,00	0,53	0,61	0,44	0,69	0,04	0,04
650	0,63	0,00	0,35	0,43	0,26	0,54	0,01	0,37
671	0,62	0,01	0,43	0,37	0,28	0,53	0,01	0,08
688	0,59	0,05	0,72	0,41	0,41	0,72	0,05	0,00
693	0,64	0,00	0,68	0,52	0,45	0,73	0,01	0,00
695	0,60	0,03	0,63	0,50	0,42	0,70	0,03	0,11
696	0,64	0,00	0,71	0,45	0,42	0,73	0,04	0,02
698	0,59	0,04	0,68	0,48	0,43	0,72	0,02	0,02
704	0,59	0,03	0,76	0,36	0,41	0,72	0,05	0,02
707	0,59	0,03	0,50	0,32	0,30	0,53	0,01	0,99
717	0,59	0,04	0,54	0,34	0,32	0,56	0,07	0,33
721	0,63	0,00	0,82	0,34	0,42	0,77	0,02	0,00
724	0,60	0,03	0,38	0,51	0,31	0,59	0,11	0,51
729	0,60	0,02	0,43	0,41	0,29	0,55	0,02	0,11
733	0,59	0,04	0,60	0,56	0,44	0,71	0,01	0,16
737	0,60	0,02	0,26	0,60	0,28	0,59	0,05	0,07
752	0,60	0,03	0,56	0,31	0,32	0,55	0,09	0,09
760	0,60	0,03	0,66	0,52	0,44	0,73	0,02	0,91
761	0,62	0,01	0,68	0,49	0,43	0,73	0,02	0,24
772	0,66	0,00	0,71	0,55	0,48	0,76	0,00	0,00
799	0,60	0,02	0,68	0,47	0,43	0,72	0,05	0,75
802	0,59	0,04	0,72	0,41	0,41	0,72	0,09	0,02
804	0,60	0,02	0,29	0,58	0,29	0,59	0,08	0,01

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
816	0,59	0,05	0,62	0,56	0,45	0,72	0,03	0,41
821	0,59	0,04	0,71	0,34	0,38	0,67	0,42	0,11
825	0,59	0,03	0,62	0,50	0,42	0,69	0,06	0,29
826	0,61	0,01	0,65	0,58	0,47	0,74	0,00	0,12
830	0,59	0,03	0,29	0,58	0,29	0,59	0,04	0,11
836	0,61	0,01	0,47	0,40	0,31	0,57	0,09	0,13
840	0,62	0,00	0,75	0,37	0,41	0,72	0,05	0,03
845	0,64	0,00	0,59	0,62	0,47	0,72	0,01	0,04
863	0,60	0,03	0,79	0,29	0,39	0,71	0,20	0,21
864	0,64	0,00	0,68	0,55	0,46	0,75	0,00	0,01
884	0,59	0,04	0,65	0,49	0,42	0,71	0,08	0,08
887	0,61	0,01	0,53	0,57	0,41	0,68	0,15	0,00
889	0,61	0,01	0,38	0,49	0,30	0,58	0,11	0,59
892	0,59	0,03	0,56	0,57	0,43	0,69	0,11	0,11
901	0,59	0,04	0,49	0,60	0,41	0,67	0,18	0,06
913	0,62	0,01	0,72	0,41	0,41	0,72	0,04	0,01
920	0,61	0,01	0,84	0,21	0,38	0,69	0,34	0,08
921	0,60	0,02	0,25	0,53	0,23	0,55	0,00	0,82
924	0,61	0,02	0,75	0,42	0,43	0,75	0,01	0,28
950	0,59	0,03	0,69	0,44	0,42	0,71	0,07	0,09
959	0,66	0,00	0,54	0,30	0,31	0,53	0,03	0,21
967	0,59	0,04	0,65	0,47	0,41	0,70	0,13	0,05
971	0,62	0,00	0,24	0,53	0,23	0,55	0,00	0,34
977	0,59	0,04	0,41	0,42	0,29	0,55	0,02	0,10
979	0,59	0,04	0,57	0,31	0,32	0,55	0,10	0,55
981	0,62	0,01	0,46	0,36	0,29	0,53	0,01	0,44
988	0,64	0,00	0,56	0,62	0,46	0,71	0,01	0,01
993	0,61	0,01	0,66	0,54	0,45	0,74	0,00	0,00
997	0,59	0,04	0,51	0,31	0,30	0,53	0,01	0,07
1001	0,63	0,00	0,66	0,58	0,47	0,75	0,00	0,08
1005	0,63	0,00	0,68	0,45	0,41	0,71	0,13	0,62
1008	0,61	0,01	0,62	0,53	0,43	0,71	0,04	0,09
1024	0,59	0,04	0,59	0,46	0,38	0,66	0,29	0,02
1032	0,60	0,02	0,38	0,43	0,28	0,55	0,01	0,14
1036	0,61	0,01	0,65	0,48	0,42	0,70	0,04	0,01
1047	0,59	0,04	0,50	0,35	0,31	0,55	0,03	0,00
1051	0,63	0,00	0,43	0,39	0,29	0,54	0,01	0,12
1055	0,64	0,00	0,68	0,52	0,45	0,73	0,01	0,08
1066	0,59	0,04	0,72	0,42	0,42	0,72	0,04	0,05
1070	0,60	0,03	0,68	0,37	0,38	0,67	0,28	0,14
1078	0,61	0,01	0,49	0,65	0,45	0,69	0,10	0,00
1079	0,64	0,00	0,79	0,42	0,44	0,78	0,00	0,02
1084	0,60	0,02	0,75	0,41	0,42	0,74	0,02	0,27
1094	0,63	0,00	0,40	0,38	0,27	0,52	0,00	0,91

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
1104	0,60	0,02	0,34	0,50	0,28	0,57	0,04	0,18
1116	0,59	0,04	0,62	0,47	0,40	0,68	0,22	0,50
1122	0,63	0,00	0,69	0,37	0,39	0,68	0,26	0,02
1130	0,61	0,01	0,41	0,46	0,30	0,57	0,09	0,61
1145	0,61	0,01	0,75	0,39	0,41	0,73	0,04	0,06
1161	0,62	0,01	0,57	0,60	0,45	0,71	0,02	0,00
1164	0,65	0,00	0,71	0,53	0,46	0,76	0,00	0,00
1166	0,61	0,01	0,56	0,61	0,45	0,71	0,02	0,01
1169	0,60	0,03	0,82	0,27	0,39	0,73	0,08	0,03
1171	0,60	0,03	0,28	0,52	0,25	0,55	0,01	0,78
1194	0,59	0,04	0,75	0,41	0,42	0,74	0,04	0,64
1200	0,59	0,04	0,62	0,51	0,42	0,70	0,07	0,02
1203	0,62	0,00	0,34	0,47	0,27	0,55	0,01	0,77
1206	0,61	0,01	0,74	0,40	0,41	0,72	0,09	0,09
1215	0,63	0,00	0,65	0,53	0,44	0,72	0,01	0,13
1227	0,60	0,02	0,66	0,47	0,42	0,71	0,03	0,13
1241	0,59	0,04	0,46	0,41	0,31	0,56	0,11	0,78
1249	0,60	0,02	0,40	0,42	0,28	0,55	0,01	0,16
1251	0,64	0,00	0,68	0,53	0,46	0,74	0,01	0,17
1257	0,61	0,02	0,51	0,34	0,31	0,55	0,05	0,91
1259	0,60	0,03	0,65	0,53	0,44	0,72	0,01	0,02
1270	0,60	0,02	0,50	0,62	0,43	0,68	0,05	0,02
1277	0,60	0,02	0,76	0,38	0,42	0,74	0,05	0,24
1290	0,60	0,03	0,68	0,53	0,45	0,74	0,01	0,05
1291	0,60	0,02	0,46	0,42	0,31	0,57	0,09	0,38
1294	0,61	0,02	0,75	0,27	0,37	0,65	0,52	0,06
1299	0,60	0,02	0,53	0,29	0,30	0,52	0,01	0,07
1307	0,59	0,04	0,75	0,35	0,40	0,71	0,09	0,11
1311	0,60	0,02	0,71	0,39	0,40	0,70	0,10	0,02
1319	0,59	0,05	0,87	0,19	0,38	0,72	0,19	0,11
1323	0,62	0,01	0,57	0,57	0,43	0,70	0,09	0,32
1324	0,66	0,00	0,59	0,60	0,46	0,72	0,02	0,15
1332	0,59	0,04	0,44	0,40	0,30	0,55	0,01	0,01
1336	0,59	0,04	0,69	0,43	0,41	0,71	0,08	0,09
1337	0,59	0,05	0,65	0,48	0,42	0,70	0,06	0,29
1339	0,64	0,00	0,82	0,34	0,42	0,77	0,01	0,04
1343	0,60	0,02	0,84	0,31	0,41	0,77	0,02	0,15
1348	0,61	0,01	0,21	0,56	0,21	0,55	0,00	0,87
1355	0,62	0,01	0,59	0,31	0,33	0,56	0,13	0,36
1366	0,61	0,01	0,78	0,41	0,43	0,76	0,01	0,09
1369	0,66	0,00	0,62	0,56	0,45	0,72	0,02	0,26
1378	0,64	0,00	0,25	0,53	0,23	0,55	0,00	0,01
1379	0,61	0,02	0,60	0,52	0,42	0,69	0,06	0,18
1380	0,60	0,02	0,63	0,48	0,41	0,70	0,11	0,13

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
1383	0,60	0,02	0,38	0,72	0,44	0,67	0,11	0,08
1388	0,61	0,02	0,68	0,42	0,40	0,69	0,17	0,12
1403	0,62	0,01	0,22	0,66	0,27	0,60	0,09	0,23
1405	0,60	0,02	0,78	0,34	0,40	0,73	0,07	0,24
1408	0,60	0,03	0,69	0,41	0,40	0,70	0,10	0,06
1413	0,61	0,02	0,65	0,55	0,45	0,73	0,00	0,11
1417	0,61	0,01	0,38	0,37	0,26	0,51	0,00	0,41
1421	0,60	0,02	0,68	0,47	0,42	0,71	0,02	0,01
1428	0,59	0,04	0,43	0,42	0,30	0,56	0,03	0,01
1439	0,60	0,02	0,47	0,42	0,32	0,58	0,19	0,97
1447	0,59	0,04	0,59	0,31	0,33	0,56	0,07	0,43
1451	0,63	0,00	0,74	0,43	0,43	0,74	0,01	0,19
1458	0,59	0,05	0,50	0,42	0,33	0,60	0,30	0,61
1465	0,61	0,01	0,40	0,47	0,30	0,58	0,06	0,00
1477	0,61	0,01	0,41	0,43	0,29	0,56	0,06	0,12
1480	0,59	0,04	0,62	0,50	0,42	0,69	0,09	0,21
1491	0,63	0,00	0,46	0,37	0,30	0,54	0,03	0,01
1500	0,60	0,03	0,63	0,53	0,44	0,72	0,01	0,21
1502	0,60	0,02	0,68	0,46	0,42	0,71	0,04	0,02
1509	0,65	0,00	0,34	0,42	0,25	0,52	0,00	0,03
1514	0,59	0,04	0,57	0,58	0,44	0,70	0,04	0,30
1517	0,63	0,00	0,28	0,54	0,26	0,57	0,02	0,04
1523	0,59	0,05	0,43	0,45	0,31	0,58	0,04	0,06
1524	0,66	0,00	0,49	0,71	0,49	0,71	0,00	0,03
1528	0,60	0,02	0,57	0,51	0,40	0,67	0,25	0,02
1535	0,61	0,01	0,60	0,64	0,49	0,74	0,00	0,27
1537	0,63	0,00	0,65	0,55	0,45	0,73	0,01	0,10
1540	0,62	0,01	0,31	0,54	0,28	0,58	0,05	0,00
1541	0,62	0,00	0,75	0,44	0,44	0,75	0,00	0,01
1543	0,59	0,04	0,57	0,52	0,41	0,68	0,20	0,15
1547	0,67	0,00	0,60	0,67	0,51	0,75	0,00	0,00
1549	0,63	0,00	0,59	0,58	0,45	0,71	0,02	0,14
1554	0,59	0,05	0,59	0,47	0,39	0,67	0,34	0,22
1558	0,60	0,02	0,66	0,46	0,41	0,70	0,09	0,12
1559	0,64	0,00	0,66	0,57	0,47	0,74	0,00	0,00
1563	0,61	0,02	0,68	0,44	0,41	0,70	0,09	0,06
1566	0,62	0,00	0,38	0,47	0,29	0,57	0,04	0,04
1576	0,59	0,04	0,49	0,59	0,41	0,67	0,18	0,13
1578	0,64	0,00	0,44	0,72	0,48	0,69	0,02	0,10
1580	0,60	0,02	0,66	0,47	0,42	0,71	0,13	0,14
1583	0,61	0,01	0,81	0,34	0,41	0,75	0,03	0,04
1586	0,59	0,04	0,63	0,47	0,41	0,69	0,20	0,02
1588	0,60	0,02	0,62	0,47	0,40	0,68	0,15	0,00
1593	0,64	0,00	0,59	0,69	0,52	0,74	0,00	0,16

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
1595	0,61	0,01	0,65	0,47	0,42	0,70	0,07	0,01
1600	0,61	0,02	0,66	0,51	0,44	0,72	0,02	0,03
1606	0,61	0,01	0,38	0,42	0,27	0,54	0,01	0,49
1615	0,61	0,01	0,60	0,49	0,41	0,68	0,15	0,03
1623	0,59	0,05	0,41	0,48	0,31	0,59	0,16	0,79
1628	0,61	0,01	0,29	0,51	0,26	0,56	0,01	0,85
1634	0,64	0,00	0,59	0,58	0,45	0,71	0,02	0,00
1642	0,63	0,00	0,75	0,43	0,43	0,75	0,01	0,24
1646	0,60	0,02	0,78	0,42	0,43	0,77	0,00	0,06
1651	0,60	0,03	0,50	0,42	0,33	0,59	0,17	0,84
1656	0,61	0,01	0,47	0,76	0,53	0,71	0,00	0,12
1660	0,59	0,04	0,78	0,39	0,42	0,75	0,01	0,09
1663	0,60	0,02	0,57	0,61	0,46	0,71	0,01	0,11
1671	0,61	0,01	0,68	0,52	0,45	0,73	0,00	0,04
1681	0,61	0,01	0,65	0,57	0,46	0,74	0,00	0,31
1683	0,60	0,03	0,72	0,45	0,43	0,74	0,01	0,07
1691	0,63	0,00	0,87	0,24	0,40	0,76	0,08	0,00
1694	0,59	0,04	0,71	0,45	0,42	0,73	0,03	0,38
1704	0,62	0,01	0,41	0,80	0,54	0,70	0,00	0,69
1705	0,61	0,01	0,43	0,42	0,30	0,56	0,05	0,79
1712	0,62	0,00	0,74	0,51	0,46	0,77	0,00	0,06
1718	0,63	0,00	0,50	0,64	0,44	0,69	0,04	0,00
1719	0,64	0,00	0,57	0,61	0,46	0,71	0,01	0,09
1720	0,62	0,01	0,54	0,23	0,29	0,47	0,00	0,17
1721	0,64	0,00	0,65	0,55	0,45	0,73	0,00	0,02
1722	0,59	0,04	0,57	0,51	0,40	0,67	0,31	0,05
1734	0,60	0,02	0,49	0,63	0,43	0,68	0,08	0,06
1738	0,61	0,01	0,79	0,35	0,41	0,75	0,02	0,05
1742	0,64	0,00	0,63	0,57	0,46	0,73	0,00	0,03
1756	0,60	0,03	0,56	0,63	0,46	0,71	0,01	0,00
1757	0,61	0,02	0,57	0,56	0,43	0,69	0,04	0,02
1764	0,59	0,05	0,85	0,26	0,40	0,76	0,07	0,02
1778	0,60	0,03	0,76	0,32	0,39	0,70	0,19	0,03
1782	0,62	0,01	0,69	0,49	0,44	0,73	0,01	0,01
1783	0,66	0,00	0,74	0,52	0,47	0,77	0,00	0,00
1784	0,59	0,03	0,76	0,36	0,41	0,72	0,04	0,02
1790	0,63	0,00	0,72	0,52	0,46	0,76	0,00	0,03
1798	0,59	0,04	0,56	0,64	0,48	0,72	0,00	0,04
1806	0,61	0,01	0,28	0,50	0,24	0,55	0,00	0,31
1814	0,63	0,00	0,43	0,35	0,27	0,51	0,00	0,20
1816	0,63	0,00	0,62	0,58	0,46	0,73	0,00	0,04
1819	0,61	0,01	0,71	0,48	0,44	0,74	0,00	0,12
1820	0,62	0,01	0,49	0,66	0,45	0,69	0,02	0,07
1821	0,59	0,05	0,57	0,59	0,45	0,71	0,03	0,44

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
1823	0,64	0,00	0,28	0,51	0,25	0,55	0,00	0,16
1824	0,61	0,01	0,49	0,67	0,46	0,69	0,01	0,08
1833	0,63	0,00	0,76	0,43	0,44	0,76	0,00	0,00
1836	0,60	0,03	0,68	0,43	0,41	0,70	0,09	0,02
1837	0,61	0,01	0,54	0,59	0,44	0,69	0,07	0,06
1838	0,59	0,04	0,50	0,64	0,44	0,69	0,05	0,46
1843	0,64	0,00	0,68	0,50	0,44	0,73	0,01	0,00
1844	0,61	0,02	0,63	0,58	0,46	0,73	0,01	0,60
1845	0,64	0,00	0,60	0,61	0,47	0,73	0,00	0,04
1852	0,62	0,01	0,51	0,63	0,44	0,69	0,05	0,10
1853	0,63	0,00	0,68	0,47	0,42	0,71	0,03	0,01
1858	0,61	0,01	0,65	0,58	0,47	0,74	0,00	0,06
1859	0,60	0,02	0,75	0,44	0,44	0,75	0,00	0,00
1864	0,59	0,05	0,53	0,60	0,43	0,69	0,08	0,34
1866	0,62	0,01	0,54	0,68	0,49	0,72	0,00	0,06
1872	0,63	0,00	0,65	0,51	0,43	0,71	0,02	0,04
1874	0,59	0,03	0,54	0,54	0,41	0,67	0,14	0,03
1877	0,59	0,04	0,51	0,67	0,47	0,71	0,01	0,08
1879	0,59	0,04	0,66	0,44	0,41	0,69	0,09	0,02
1880	0,64	0,00	0,84	0,41	0,45	0,81	0,00	0,00
1882	0,60	0,03	0,62	0,53	0,43	0,71	0,03	0,29
1902	0,62	0,01	0,60	0,63	0,48	0,73	0,00	0,38
1904	0,60	0,02	0,65	0,53	0,44	0,72	0,02	0,23
1907	0,59	0,04	0,71	0,45	0,42	0,73	0,03	0,22
1908	0,61	0,02	0,56	0,61	0,45	0,71	0,02	0,01
1912	0,61	0,01	0,79	0,36	0,42	0,75	0,01	0,06
1915	0,63	0,00	0,63	0,52	0,43	0,71	0,03	0,00
1916	0,62	0,01	0,59	0,61	0,47	0,72	0,00	0,04
1921	0,64	0,00	0,59	0,53	0,42	0,69	0,05	0,09
1922	0,60	0,02	0,65	0,54	0,45	0,73	0,00	0,13
1926	0,61	0,01	0,69	0,46	0,42	0,72	0,04	0,02
1927	0,59	0,05	0,76	0,38	0,42	0,74	0,03	0,01
1930	0,59	0,04	0,29	0,55	0,27	0,58	0,02	0,90
1932	0,59	0,03	0,50	0,61	0,43	0,68	0,06	0,00
1934	0,61	0,01	0,60	0,59	0,46	0,72	0,01	0,22
1936	0,63	0,00	0,66	0,53	0,45	0,73	0,01	0,02
1938	0,60	0,02	0,79	0,36	0,42	0,75	0,02	0,18
1939	0,59	0,05	0,47	0,48	0,34	0,61	0,51	0,04
1941	0,61	0,02	0,69	0,44	0,42	0,71	0,04	0,04
1945	0,61	0,02	0,50	0,58	0,41	0,67	0,35	0,00
1946	0,60	0,02	0,74	0,42	0,42	0,73	0,02	0,05
1948	0,60	0,02	0,65	0,50	0,43	0,71	0,02	0,03
1949	0,60	0,03	0,56	0,60	0,45	0,70	0,02	0,10
1950	0,63	0,00	0,66	0,59	0,48	0,75	0,00	0,02

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
1953	0,62	0,01	0,72	0,42	0,42	0,72	0,03	0,01
1957	0,59	0,04	0,75	0,44	0,44	0,75	0,01	0,31
1958	0,61	0,01	0,71	0,43	0,42	0,72	0,03	0,03
1959	0,61	0,02	0,72	0,46	0,43	0,74	0,01	0,02
1963	0,70	0,00	0,29	0,42	0,22	0,51	0,00	0,00
1964	0,64	0,00	0,76	0,37	0,41	0,73	0,04	0,01
1965	0,67	0,00	0,54	0,66	0,48	0,72	0,00	0,02
1967	0,62	0,01	0,56	0,59	0,44	0,70	0,03	0,01
1970	0,59	0,05	0,69	0,52	0,45	0,74	0,00	0,12
1971	0,60	0,02	0,59	0,56	0,43	0,70	0,03	0,01
1972	0,66	0,00	0,62	0,62	0,48	0,74	0,00	0,00
1976	0,59	0,05	0,66	0,48	0,42	0,71	0,05	0,09
1977	0,59	0,05	0,54	0,57	0,42	0,68	0,11	0,11
1978	0,60	0,02	0,65	0,47	0,42	0,70	0,04	0,09
1980	0,61	0,01	0,63	0,53	0,43	0,71	0,04	0,31
1981	0,59	0,04	0,60	0,55	0,44	0,71	0,03	0,58
1984	0,63	0,00	0,41	0,85	0,61	0,71	0,00	0,10
1986	0,63	0,00	0,69	0,49	0,44	0,73	0,01	0,06
1988	0,60	0,03	0,72	0,46	0,43	0,74	0,01	0,00
1990	0,62	0,01	0,56	0,62	0,46	0,71	0,01	0,01
1991	0,59	0,05	0,59	0,54	0,43	0,70	0,06	0,64
1992	0,64	0,00	0,74	0,45	0,43	0,75	0,01	0,01
1994	0,59	0,03	0,56	0,55	0,42	0,68	0,12	0,31
1998	0,66	0,00	0,60	0,60	0,47	0,72	0,00	0,00
1999	0,60	0,02	0,66	0,46	0,41	0,70	0,05	0,00
2004	0,60	0,02	0,71	0,43	0,42	0,72	0,05	0,02
2005	0,67	0,00	0,63	0,65	0,51	0,75	0,00	0,01
2007	0,62	0,01	0,54	0,62	0,45	0,70	0,01	0,02
2009	0,60	0,02	0,60	0,53	0,42	0,70	0,04	0,00
2012	0,61	0,02	0,71	0,45	0,42	0,73	0,02	0,01
2013	0,59	0,04	0,53	0,61	0,44	0,69	0,03	0,09
2014	0,59	0,04	0,59	0,47	0,39	0,67	0,36	0,21
2016	0,60	0,02	0,68	0,42	0,40	0,69	0,13	0,28
2018	0,59	0,04	0,63	0,50	0,42	0,70	0,05	0,44
2019	0,65	0,00	0,71	0,52	0,46	0,75	0,00	0,01
2023	0,61	0,02	0,57	0,59	0,45	0,71	0,01	0,00
2024	0,59	0,04	0,65	0,50	0,43	0,71	0,06	0,07
2025	0,59	0,03	0,69	0,48	0,44	0,73	0,01	0,03
2027	0,61	0,01	0,68	0,53	0,45	0,74	0,00	0,00
2030	0,61	0,01	0,66	0,47	0,42	0,71	0,04	0,01
2032	0,59	0,05	0,59	0,57	0,44	0,71	0,02	0,05
2033	0,63	0,00	0,66	0,55	0,46	0,74	0,00	0,68
2034	0,60	0,03	0,41	0,70	0,44	0,67	0,11	0,10
2036	0,62	0,01	0,68	0,47	0,42	0,71	0,04	0,17

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	auc	auc.pvalue	Sensibilidad	Especificidad	Valor pred. posit.	Valor pred. neg.	Valor p de KM	mvaHRPval
2037	0,59	0,03	0,59	0,48	0,40	0,67	0,30	0,38
2039	0,64	0,00	0,69	0,57	0,48	0,76	0,00	0,00
2042	0,59	0,05	0,78	0,35	0,41	0,73	0,04	0,59
2043	0,63	0,00	0,56	0,65	0,48	0,72	0,01	0,01
2044	0,63	0,00	0,63	0,49	0,42	0,70	0,08	0,01
2046	0,61	0,01	0,66	0,53	0,45	0,73	0,01	0,06
2048	0,62	0,01	0,69	0,51	0,45	0,74	0,01	0,96
2050	0,59	0,05	0,57	0,61	0,46	0,71	0,01	0,01
2052	0,64	0,00	0,76	0,46	0,45	0,77	0,00	0,01
2054	0,61	0,01	0,74	0,47	0,45	0,76	0,00	0,05
2056	0,62	0,01	0,71	0,48	0,44	0,74	0,00	0,01
2058	0,63	0,00	0,72	0,46	0,43	0,74	0,01	0,02
2060	0,62	0,01	0,74	0,47	0,44	0,75	0,00	0,00
2061	0,62	0,01	0,72	0,48	0,45	0,75	0,00	0,06
2062	0,59	0,04	0,82	0,31	0,41	0,76	0,04	0,42
2063	0,61	0,01	0,63	0,50	0,42	0,70	0,06	0,09
2064	0,62	0,00	0,63	0,57	0,46	0,73	0,00	0,01
2067	0,62	0,01	0,62	0,55	0,44	0,71	0,02	0,09
2068	0,60	0,02	0,53	0,58	0,42	0,68	0,07	0,11
2069	0,62	0,01	0,85	0,28	0,41	0,77	0,02	0,08
2070	0,66	0,00	0,54	0,64	0,46	0,71	0,02	0,10
2071	0,65	0,00	0,69	0,54	0,47	0,75	0,00	0,01
2072	0,59	0,04	0,74	0,38	0,41	0,71	0,07	0,06
2073	0,63	0,00	0,50	0,61	0,43	0,68	0,12	0,01
2074	0,60	0,02	0,66	0,47	0,42	0,71	0,06	0,29
2076	0,62	0,01	0,75	0,46	0,44	0,76	0,00	0,12
2080	0,60	0,03	0,75	0,42	0,43	0,75	0,01	0,01
2081	0,60	0,02	0,72	0,43	0,42	0,73	0,02	0,01
2082	0,61	0,01	0,72	0,38	0,40	0,70	0,12	0,24

Tabla 11. Lista de secuencias diana

[illegible]

(continuación)

SEQ ID NO:	SECUENCIA
SEQ ID NO: 5	CTCCTGIGTCCTTAAGTAGTCATGGGCTGGGAATGTTCCGGTTAATAATCC CGGGTATAGCACTGTCTCTGGGAGACTCTCTGTGGAACATAAAGGAAAG AGAGGGTTTAGTTAGGTTAAATCATGTAAACTCTTATTCAGGTTTAGGCAA GGTCTTCATTTACACACATTTAAATGTTGCAGGGACATACATACACATA TGTAAGCCCATAGTTACTGCCTCTTCAGG
SEQ ID NO: 6	TATACAAGGGCTCAACCGAGGCTTAATTTAAAGACAAAAACAACA AAAATACCACAGCTCAAGATAAAGAGTCTTATACAGAAATCACAAAAA GGACAGACCATCTAAGGAATAATTAAAGACGACACAAGGACAGGCT GGCAGCCTGGGTCAGGGCTCCTGGCTGTGACCTGCTTTGAGTAGGTTT CTTGAGGTACTTCTTAAAAGC
SEQ ID NO: 7	GCTGAGGCACCAATCATACCTATACAGACAGCTAAGCACATTGTGTAA GGCAGATGTTGCCCACTCACTCAGCCCAATTAGAGAGCTCATGCACCATCA AAGCCAGAAATAAGCAATAAGCCCAATGGTGATCCAAACCCCTTTG
SEQ ID NO: 8	TCAGGCTTCTGTGCAAGCCAAATGTAGGGAACCA
SEQ ID NO: 9	GCTTTCATACCTTGGAGCTCTACTGATTTTCCATCCAAGCCAACCTGTAGG GTTTTTCCTTCCTATCACCCAGAGGAGACAGGGTTAGGGGAATCCAAG AAGGTTGAAGTCAGCACT
SEQ ID NO: 10	GGTTATCTTCTAGTCCACATGTCACATAATAATGTACCTTTATTTACCTTT TAAACTGAAGTTTTTAAACCTGGGTTTTTAAAGAGAGAACACTACCCAT CAGCAATTACAGAAGACAAAGGAACCTGTGTGCTGAAGACTGAGTGT ATTTAGCAGCTCTTTGGTCAGCTTGGATTGGTCACATATGTGGAAACTGG GAAATAATAGGGGCTACTTACACTGGAGAAGAACACTACAAATGGTGTA AAGAGTGGTTTTGGGAATGTATCCAGACTTCCTCTAAATAAAAATTTAA ACAGCTGTGTTTGAGAGATGGGTATGCACAAATCTTGTAAAGAAAGACTG TGTAATGTTGAGGTCCCTTAGTCCCTGATGCTACCATTTGTTCC

(continuación)

SEQ ID NO:	SECUENCIA
SEQ ID NO: 11	GGGCAAAATAATCCTGGAGTGTGAGCAAATACATGTCACAGTCTCCAAT TTTTTTTTATTCTTACGTTAGTTCAGATTCCACTGTATCCAATATGTGCT TGAGAGTGAAAAATTGTATTAGTTTCTATTGTAATCTATCTCCAATTTCGCCT CGAGAAAAATTA
SEQ ID NO: 12	TGTCGAGGCCCGGTTGGCTTTCAGAGGCGTATCCATGGGAGTAGGTGTC ATGTAATCAAAATAGGAGATTCAAAAGTCAGCTGTTACCACGGCTACAGAAA TGCCAGTCTTTTTCCTAAGAGTGGAA
SEQ ID NO: 13	CCGGTATCAGATGGTTATTATCCGACC
SEQ ID NO: 14	GTTGCAACTATCTATGCTGCCCTGTAGCAGACACACTCCAGCTCTAAGGAT ACATATAGAAATGAAGTAAGGGATGAAAAGAAAGATGCTCCATGCAAA TGGAACAACAAGACGGTAGGGTGGCTATACTTACATCAGGCAAAAT AGACTTTTAGTCAAAAATTATAACAAGAGACAAAAGGAGCTCACTATATA ATTATAAAGGGCTAATTCATCAAGAGGATATAAAAATTATAAGTACATA TGCACATAATGTACAGACCTAAATATATATATTTACATAAACTGAAG GGAGAACAGCAATATAATAATCTAGCGGACTTCAGTA
SEQ ID NO: 15	CCTTGACCTGGGAAAGCCATTACTCTTGTGTCTGCTACIGCCCTCCCACA GTCACCCCAATATTACAAGCACTGCCCCAGCGGCTTGATTTCCCTCTGC CTTCTTCTCTGCACTCCACAAGCCAGGGCCAGGCTCCCCATCCCT ACCTCCCACTGCATCAGCAGTGGGTCTCTGCCCTTCTGAGTCTAGGC AGCTCTGCTGTGATCTGCACACCCCTCAACCTGGGCAGGGACTGGG GGGATGCAGTGTGTATTAGTGCCCAATGTGGCAATTGTGGCACTGTGCCCC CCAATGGCGGCAATGGCAAGATGACCCTTCCATTAGCTTCAAGTCTGTCT CTTGCTGTGGTCTGTTTAATATGTGGGTCACTAGGGTATTTATCTTCT CCCATCCTTACACTCTGGATCATTGTGAGACATTAATCAGGGTTTAAACG CTTTCATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGTAGCTCAAGAGAGTCTCAT TTCCCTATTCAAACTAATACCCATGCCGIGTTTTTACCTTGGATTAAA GTCACCTTAGGTGGGGCAACAGATTCTCACTCATGTTTA

(continuación)

SEQ ID NO:	SECUENCIA
SEQ ID NO: 15	TTCGAATGTTTCAGAGCGCAGGGCCGTTCTCCCTCGTGTCTCTGGACCC ACCCGCCCTTCCCTGCTGTTGGCAGGGACATCACCCACATGCCCCA GCTCTGGACCTGCGAGCTCTGTGTCCAGGCCACAGCAAGGCTGTG AACCCCTCCCTCCATTCCAGTTATCTGGGTCTCTGGATTCTTCTGTTT TTGAATCAGGCTCTGCTTTCCCTAGCCACTACAGGCAGCTCTGACAG TGCCGCTTACTTGCATTCTGCAAGCAATTACATGTGTCCTTTTGAATCCTTG CCCAACTTCCCTCCCTCTCCAGCTCTGGCCCTGGCCAGGGCCCCC TTGCTGTTTTTACCTCTGTCTCTGGGCTAGTACCCAGCAAGCACCCA AATGGGGAGGTTTGGGATGAGAGGAGGAACGTTGTAACCTGTAAACA TCTGTGGCTCTTCCCCAGAAAGTTTGTGTTTATACATAAATGTTTCCAC GCTGGATCATAATGTGACGTGCGAGTTCTGCTGCTGGGGAGCCACA TGAAGCTTCCCTGGCTAACTTGCTACCCCGCAGCAATCCAGTGTGGCC GTCTGCTTGTAAAAAATG
SEQ ID NO: 17	TCACGATGAAGCATGCTAGAAGCTGTACAGAAATACATAGAGAATAATG AGGAGTTTATGATGGAACTTAATATAATAATGTGGCAGCGATTTTAGT TCAATATTGTACTGTTATCTATCTGCTGTATATGGAATTCCTTTTAATTC AAACGCTGAAAGAATCAGCATTTAGTCTTGCCAGGCACACCCAATAAT CAGTCATGTGTAATATGCACAAGTTTGTGTTTTGTTTTTTTGTG GTTGGTTTGTGTTTTTGTCTTAAAGTTGCATGATCTTCTGCAGGAATAAGT CACTCATCCCACTCCACATAAGGGGTTTAGTAAGAGAAGCTGTCTGTCT GATGATGGATAGGGGCAAACTCTTTTCCCTTCTGTTAATAGTCATCA CATTCTATGCCAAACAGGAACAATCCATAACTTTAGTCTTAATGTACAC ATTGCAATTTGATAAAATTAATTTTGTGTGTTCTTGTGAGGTTGATCGTIG TGTGTGTTTTTGTCTGCACCTTTTACTTTTTTGGCTGTGGAGCTGTATTCC CGAGACCAACG

(continuación)

SEQ ID NO:	SECUENCIA
SEQ ID NO: 18	GTCCATCGAGGTGTTTCATAAAGTTTTTGGGTGTTTCTGGGTGCTCTAT GTGCATATGGTTTTACTTTTCCTCCTTTTTCGTTTTTCAGAACATTTTCT GTCGTTTGGATTCACTGCTTCCATTTTACAGAAATGTCACCTCTTAGACT CTCAGTCCATCATGCCAATCGGGTACTCTTGTTCAGTGTAAATTTTATTAC ATGCGGTTATTCCCTAACGATGIGCTATTACGTTCACTCTTCAAACTCA TTTTCCATCAGCCAGTGTCTACTATTAGTCCCTGGCTCTATTTCGGTCC TCCTCCCCGGCTTTCCTGGCTGCTGTGCTGGCCAAAGCAATGGGCTTT ATTCTCTCCATTGGCTGCTGCTCCACCTTAGAGGTGTGACCTCACTAGCG TTGACTG
SEQ ID NO: 19	CCCACTTTAGTCACGAGATCTTTTCTGCTAACTGTTCATAGTCTGTGTAG TGTCCATGGGTTCTTCATGTGCTATGATCTCTGAAGAACGTTATCACCT TAAAGCTCAAATTCFTTGGGATGGTTTTTACTTAAGTCCATTAAACAATTC AGGTTTCTAACGAGACCCATCCTAATAATCTGTTTCTAGATTTTAAATGT CAAGTTCCCAAGTTCCCCCTGCTGGTCTATAATTAAACAGAACTGCAGTC TTCTGCTAGCCAATAGCAATTAACCTGATGGCAGCTAGTTATGCAAGCTTC AGGAGAATTTGAACAATAACAAGAAATAGGGTAAGCTGGGATAGAAAGG CCACCTCTTCACTCTCTATAGAATATAGTAACCTTTATGAACGGGGCCA TATAGTTTGGTTATGACATCAATATTTTACCTAGGTGAAATTTGTTAGGC TTAATGTACCTTCGTCAATA

(continuación)

SEQ ID NO:	SECUENCIA
SEQ ID NO: 20	ATTAGCAGCCATATTCACAGTTCCTATAATTTTACTGGGGGGATTG TGATAGGAAGTCTTGGGAAACATTTCCAATCTTTCAAAATATTATTG GTATCTTAAGAAAGTATAGGAACHTGTATGTTGAAATGTGTATGTTAGT CTTGATAGTTAAATAATAATCTTTTAAAGAGTTAATGATAAGCATAATG TATGTGCATTAATAATAAATAGTGGCCACTTAGGTAATACCCACTTTTA TCTTGTGCTGGTACTCTGGTACTGAGATAAATAAGGCACCTGGACAT CCTCACGTGGAGTTACAGGCTCATCAGTGAATTTCTGTACCAATTTCAA CCTTGTTAATTTAGTTAATGGAATATACATTTCTTAGTATTGCCGTGATTA TTTAAATTTGTGAGGGGATGTCATGTGCTTTATTGGCCTGTAAAAAT AGCTAGTTTGGTAAGATTGTGCTCGCACCTTCCATCTTTGCTACCCACAT TAAAGATGAGCTTGTAAAAAAGGAAAGCATATTTCTCTGATIGCCCCCTAT GGAGAAATA
SEQ ID NO: 21	GGCTTCTGACGCCAATGGGCTTCCATGTGTACCCCTGGACAAGAGGC AACCACCCACCTCCCGTAGGAGCAGAGAGCACCCCTGGTGGGGCGG AGTGGTTCCCAACAACCCGCTTCTGTGTGATTTCTGGGGAAGTCCCGGC CCCTCTCTGGGCTCAGTAGGGCTCCAGGCTGCAAGGGGTGGACTGTG GGATGCAATGCCCTGGCAACATTTGAAGTTTCGATCATGG
SEQ ID NO: 22	GTGATTTCTGTATAGGACTCTTTAATCTTGAGCTGTG
SEQ ID NO: 23	AGAGGATGTCCATGTTCAATCACCACTGTGCCAATTCAGAAAGCTCAGAA CGCTGGACTCTCCCTTTGCAG
SEQ ID NO: 24	AGAACTAGCATGTCTTCGTGGCCGATTGTGACAAGGGCAATATATGGAGT GCAGAAAAGGGGGAACCTCAAA
SEQ ID NO: 25	AAGACCACCCAGGAACCATCCACAAGACTGCTAACCCAG
SEQ ID NO: 26	GTGTCTTGCTTATCCCACTGACTGCTGGGAGAGAGCCCTCTGGGACTTTT CTTTGGGGCATCATTTTGTGTTTGTCTTTCGTAGCAGGGAAGGATATGAC AATGGGGAGGACAGTTCTTTTGGAGGTTGGAGGGGCCAAGCCAAAGGAC AGGAGCAAGTGTGCCCTCATTTTGTTC

(continuación)

SEQ ID NO:	SECUENCIA
SEQ ID NO: 27	CGTTACGGCTTCACCTGAGTATAATGGCAATCTGTGCCCTTTGTGCAAA AGATCCTGTAAAGGAGAGAAAGAGCTCATGCTAGGCAATGTTGGTGAAA AATATAAATGTAAAGCGGGAGTATCTGAAGC
SEQ ID NO: 28	AACAAGATGAACAAGTCGGACTTCTCTGGGAAAGGGGGAAGGCCAAAGG GGAAAAAACAACAATGGCTGAAGTTTTCCTTCTCCGCGTGGTCAAAAG AGTCATTCCACGAATAACCATAGAAATGAA
SEQ ID NO: 29	GTCCAGGCGGTCTAGCAGTGATGAGCAGGGCCTCTCGTATCATCTT
SEQ ID NO: 30	AAGAGATACTCAGAGATGGATGATGATCATATTATGAGTGTGAAATAGATTGT CTCTTGAC
SEQ ID NO: 31	AGCCAACTTGGCTCGGATTCAGGAGGACCGCACTGTGATTGTGTCTCT GTGTTTGACAACAATTCGTTTGTGACACCTTCAAACTGGATAAGTATGAAC GGCAGTTGATGGTTTAACTGGGAACTCTGGTGGCCGCTACGATGCAC CCACAAG
SEQ ID NO: 32	ATTAAATTAAGTCTCATTCAGAGGGGATATGATTCGGATCCTGTGAAG GC
SEQ ID NO: 33	AAACGCTGGCGTCCGTTTCTGCTGAGAGCGTGGGCTTCTCTGCAAGTG GGGGTGGGAGATGAGGGTTTGGATGAGGGTGTGGGAGGACCTAAAC TGATTCCTCATGCTAGTTGGAGAAAGAAAGGTGGATGAGGATAAAGTT TTCATGGTGACCAAGGTGACCTCCGCTCAGAGGGACGAGCGGAGCCCG GCAAAACCACTGCTGCTTGTAGTTCAGCTTTGGGGATGATCAGCTC CCAAGAAATTGTCTGTGGGGTGGGGGGCTGTGGGTGACCCAATTTGGGC AGAGGGCCTACAGGTCTGAGGCTGCCTGCACA
SEQ ID NO: 34	CATTCTCTCTGTGTGGGAGCCGAGCAGATCTGCTGGGAGAGAAATCG GAAAAGGGGGGAGAGAGAAAGGAAAGGGGACTTGGAGAGAGACTTT GTGCTTCAATGTTTC
SEQ ID NO: 35	TTTGAGTCAGGTTATCTCTGTGGCTCAAGCT

(continuación)

SEQ ID NO:	SECUENCIA
SEQ ID NO: 36	ACATTGTCTGCTTGGGCTGTCTATAACAATAATACCATCGACTAGTGTA AATAAATACTATATCTCTCAGTCTCTGGATGCTAGAAAGTCCAGAGTAA GGTGCCATATAATTAAGTTCTGGGAAGGCTCTTCTCTGGCTTGTAGTCA GTGCCCTTCTGTCTGCCCCACCTTGGCCCTATCCACCTGTGAACACAAT AAATACTCTGTGTTTCTCTCTCTCTCTTATGTGAACATGTGTCTATGG AATTAGGGCCCTCCTCTGTGACTTCA
SEQ ID NO: 37	AGTGAGACATGTGGCCCTGGAAAGTCTTTCAGACACCCACCTCAGAGAAGT CAAGTTTAAAGTGGATGTCTCTCAGAGAAATTTTCATTTCTGAAAATGTG TTTGTCTTATAGAAATATAACAGAGTTGACTAGAAAGAGAGAAACAACCTG CATACTAATCTTTTAAAGCCTTTAACAGTTGCTTTTAACTTCTTTTAA ATGTTTCATGACTCTTCACCTATTTTAAATGGGGACGAAGAGATA TGAAAACCTGAGACATAAGACAAATACCTAGAAACCTCTAAGACTGCACA TATGATTTGGTAGAAGTCTGAAGGTATACACATTGTAAAGAGGCAGACCT A
SEQ ID NO: 38	CAGGGTCTAATCATGATATTGGTTACA
SEQ ID NO: 39	CTGGCCCTGTGATATAACACAGATCAGCAATGGATTCAATACTCTCTG GCTATGTGACAACAAGATGCAGGTCACTCCAGCAACTCGACACTTCTCTCA GACCACTACAGGTCAAAAGTCAATTCCTGATCCAACTAGAAATGTCACGA ACATGCCCTTTCAGATG
SEQ ID NO: 40	GATGAGACTAGGCAGGGTGACAAGGTGGGCTGACCGGGAGTAGGAGCA GTTTTAGGGTGGCAGCGGGAAGGGGGCAAGAAAGCGGAGTTAACC CTTACTAAGCATTTACCCCTGGGCTTC
SEQ ID NO: 41	TTCCTTTTATGTCAACGACGCCATAG
SEQ ID NO: 42	ATGAGGACAGGCCCTTGAGTCTGTCTCTGGTCTCTGGAAATCACGGTGTCTAG TAGAGGCCAGCACACAGCAATAATATAAATGTACAAATGAGTGAATGA AGAGAATCTGATTGGCCCTTAAGGAACCTACGCACCTTAAATAATTTGGGC AGAAAGAGAACGAGTGAAGGAGTGCAGAGGCATCACCTGA

(continuación)

SEQ ID NO:	SECUENCIA
SEQ ID NO: 43	AGCACAAATGGCTGGAGGTCAGATGCCCCACTAGGAGATGCT

Tabla 55.

ID del conjunto de sondas de Affymetrix= Aff P-ID						
A = Categoría: 1 = No_codificante (Intergenic); 2 = No_codificante (Utr); 3 = NO_CODIFICANTE (Nctranscript); 4 = No_codificante (Intronic); 5 = No_codificante (Cds_Antisense); 6 = No_codificante (Non_Unique); 7 = No_codificante (Utr_antisense); 8 = No_codificante (Intronic_Antisense); 9 = Codificante						
B = Gen asociado; C = valor <i>p</i> de Kolmogorov Smirnov; D = Disminución media de Gini; E = Disminución media de precisión						
SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
313	2315652	1		0,013881148	0,009628618	4,57E-06
1865	2318066	1		0,000124059	0,007038957	3,54E-06
851	2318095	2	KCNAB2	0,017721275	0,008633649	5,18E-06
375	2320530	3	NPPA-AS1	0,017194217	0,009820199	7,40E-06
1289	2321544	4	KAZN	0,015428709	0,007819131	3,23E-06
1326	2324753	9	ZBTB40	0,0060277	0,007357121	4,99E-06
2077	2324895	2	C1QB	0,001253978	0,006841561	3,40E-06
418	2326211	5	STMN1	7,48E-05	0,021492165	1,52E-05
1954	2326780	2	SFN	0,000243178	0,00786279	3,51E-06
1304	2327444	4	PHACTR4	0,002984774	0,006653744	2,06E-06
1385	2329291	4	ZNF362	0,012844897	0,007545796	4,23E-06
135	2329991	5	CLSPN	0,001302035	0,022069922	1,50E-05
143	2329993	3	RP11-435D7.3	9,91E-07	0,026064562	2,95E-05
56	2329994	3	RP11-435D7.3	4,78E-07	0,046754573	5,18E-05
1342	2330255	4	ADPRHL2	0,000235082	0,00711415	4,83E-06
1861	2330579	5	GRIK3	0,003259761	0,007150962	7,11E-06
1747	2330744	2	DNALI1	0,001040005	0,007171718	4,91E-06
403	2332283	2	FOXO6	0,000604099	0,012992693	6,72E-06
1225	2332781	4	C1orf50	0,021592904	0,006558798	3,37E-06
976	2334624	2	TSPAN1	0,018262733	0,006574417	5,96E-06
1628	2337238	9	HEATR8	0,000113163	0,008182282	4,36E-06
104	2337538	3	RP11-90C4.1	0,000731459	0,018213477	1,45E-05
832	2337700	5	PPAP2B	0,00035324	0,006977438	4,81E-06
451	2338845	4	NFIA	0,002123679	0,009137592	7,92E-06
414	2343884	4	LPHN2	6,92E-05	0,01266909	6,27E-06
1141	2344229	6		0,000731459	0,006584977	4,40E-06
1197	2345198	9	HS2ST1	0,005416181	0,007195699	2,34E-06
2026	2345779	7	GBP4	0,000276837	0,007850394	6,56E-06
668	2348920	4	CDC14A	0,023196567	0,007069116	4,57E-06
761	2348926	4	CDC14A	0,015428709	0,007499352	5,74E-06
1586	2349294	8	RP5-936J12.1	0,0015655	0,006876156	5,64E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1770	2350297	3	PRPF38B	0,000683093	0,006540911	5,89E-06
734	2351311	4	KCNC4	0,000115017	0,008419847	6,31E-06
583	2351412	6		0,000118813	0,013583363	8,53E-06
593	2351598	3	RP11-96K19.2	0,010913939	0,012701614	1,35E-05
932	2352425	6		6,62E-06	0,01526752	1,41E-05
474	2352537	9	LRIG2	0,000177948	0,011098091	8,26E-06
796	2353802	4	TTF2	0,005280805	0,007398234	4,66E-06
1426	2354664	4	PHGDH	0,00022254	0,008825131	7,03E-06
859	2354667	3	PHGDH	0,001151831	0,007373918	4,66E-06
61	2355118	6		0,033605237	0,024962916	4,91E-05
717	2356711	5	FMO5	0,00032469	0,011169866	8,71E-06
1815	2358768	4	PIP5K1A	0,001426456	0,006739963	5,31E-06
1906	2358817	4	PIP5K1A	0,00011347	0,008659372	2,79E-06
1344	2358866	9	ZNF687	0,047189944	0,007896143	2,93E-06
318	2359022	4	TUFT1	0,008412239	0,019281699	2,24E-05
1991	2359172	7	S100A10	2,46E-05	0,008579579	1,13E-05
1973	2360177	9	HAX1	0,000475873	0,007177691	5,19E-06
619	2361306	4	LMNA	9,15E-05	0,010680811	5,62E-06
60	2361561	7	IQGAP3	6,53E-05	0,052285286	7,62E-05
591	2361774	9	NTRK1	0,001689593	0,009588501	9,17E-06
1397	2361937	1		0,008429307	0,011369338	9,16E-06
1609	2362760	2	SLAMF8	0,000293755	0,008851971	3,93E-06
415	2362943	2	ATP1A2	0,000931652	0,010267038	8,99E-06
1121	2363443	7	RP11-297K8.2	0,000105163	0,008348104	5,02E-06
1478	2363596	2	TOMM40L	0,001351803	0,006766808	2,02E-06
1807	2363918	2	DUSP12	6,39E-06	0,008024841	5,36E-06
1775	2364168	9	UHMK1	9,30E-05	0,006583588	3,54E-06
1636	2365136	4	MGST3	0,001286836	0,006751106	3,74E-06
1433	2367711	8	AL645568.1	1,65E-05	0,009625929	4,05E-06
1255	2368310	8	KIAA0040	0,000252191	0,006744191	4,61E-06
1258	2369335	4	C1orf49; C1 orf220; AL5 13013.1	0,004267545	0,007220492	2,75E-06
1571	2370215	9	KIAA1614	0,004407176	0,006575102	1,91E-06
1835	2371053	2	DHX9	0,001027681	0,009724721	7,95E-06
1246	2371206	7	NMNAT2	0,000742232	0,007072308	5,66E-06
1968	2373881	4	PTPRC	0,003830941	0,008142194	4,66E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1910	2374274	1		1,92E-05	0,007591419	3,48E-06
251	2375421	3	RP11-480112.3	2,80E-05	0,014753778	1,93E-05
1405	2376434	5	KLHDC8A	3,24E-05	0,008440933	7,36E-06
276	2376513	1		0,000310846	0,011470781	7,56E-06
1891	2376804	4	IKBKE	4,25E-05	0,006524562	4,11E-06
1161	2377129	2	PFKFB2	2,67E-05	0,01046144	7,14E-06
261	2378098	9	HSD11B1	0,012161553	0,014861289	1,03E-05
358	2379173	9	FAM71A	6,53E-05	0,012088903	5,38E-06
467	2379454	9	RPS6KC1	0,015937432	0,011695155	1,18E-05
811	2379471	4	RPS6KC1	6,60E-05	0,011990906	1,17E-05
572	2379903	9	CENPF	2,09E-05	0,019043146	1,94E-05
845	2379907	9	CENPF	4,92E-05	0,016468854	9,51E-06
525	2381284	4	MOSC2	0,000881522	0,01234807	6,65E-06
539	2382372	9	DEGS1	3,86E-06	0,020088544	1,45E-05
316	2382373	4	DEGS1	6,13E-05	0,019451886	1,79E-05
1948	2382443	2	CNIH4	0,000243178	0,008587751	4,58E-06
1652	2382480	4	CNIH3	0,002187152	0,006827297	3,25E-06
1435	2383093	5	PARP1	0,017390197	0,00692499	4,35E-06
743	2384613	5	C1orf96	0,00026838	0,007981474	5,05E-06
1238	2386188	5	IRF2BP2	0,000108061	0,008100112	2,38E-06
1678	2386782	4	GPR137B	0,001757031	0,007939934	4,07E-06
1381	2389967	1		2,60E-06	0,008282347	6,16E-06
908	2391060	4	C1orf159	9,88E-05	0,011500656	5,14E-06
825	2391846	2	GNB1	0,000128482	0,014644576	1,14E-05
529	2393322	1		0,010386073	0,008019303	4,22E-06
606	2395510	9	ENO1	0,000156233	0,019298761	2,09E-05
333	2396027	9	LZIC	1,95E-06	0,020081931	2,37E-05
348	2397591	5	KAZN	1,81E-06	0,015572111	1,63E-05
695	2398901	6		7,23E-06	0,016623913	1,75E-05
1507	2399450	9	UBR4	3,56E-05	0,008422828	4,92E-06
1181	2400148	3	RP4-749H3.1	0,001221904	0,010206572	5,86E-06
152	2400178	2	CAMK2N1	9,01E-06	0,026063706	2,59E-05
582	2400179	2	CAMK2N1	4,47E-05	0,01559515	9,45E-06
97	2400180	2	CAMK2N1	3,66E-06	0,031824392	3,10E-05
58	2400181	9	CAMK2N1	0,000198282	0,038963268	4,21E-05
575	2400707	9	RAP 1 GAP	0,003098917	0,010613844	6,50E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1813	2401703	4	MYOM3; R P11-293P20.3	7,38E-05	0,006696158	3,40E-06
1753	2402420	2	C1orf135	0,00010346	0,009232187	3,30E-06
643	2402463	2	STMN1	2,42E-06	0,018080299	1,07E-05
484	2402464	9	STMN1	0,000363271	0,023971946	2,62E-05
1879	2402466	9	STMN1	4,53E-05	0,010009361	5,91E-06
1581	2406442	9	CLSPN	0,000150908	0,010372461	7,04E-06
1799	2406443	9	CLSPN	0,000126082	0,008736274	4,61E-06
1562	2406607	3	TRAPPC3	0,002919457	0,007068394	3,93E-06
450	2409634	4	ERI3	0,00060261	0,008504212	4,47E-06
139	2410530	2	POMGNT1	0,004360173	0,017748354	1,83E-05
1411	2413541	4	HSPB11	0,011398396	0,006601892	4,14E-06
1011	2414409	4	PPAP2B	0,003064934	0,007911982	5,54E-06
754	2414437	5	PRKAA2	4,32E-05	0,011624453	7,82E-06
1378	2415125	1		1,22E-05	0,00685264	1,64E-06
222	2415666	5	NFIA	0,013961818	0,010182727	9,23E-06
234	2420021	1		0,022075503	0,011356751	8,96E-06
1362	2423947	3	RP11-86H7.6	0,000333103	0,006732521	4,49E-06
544	2423977	1		0,002202047	0,009340892	1,02E-05
203	2425002	5	PALMD	0,001460097	0,011648419	1,24E-05
708	2425301	5	CDC14A	0,028404922	0,006591512	4,33E-06
1886	2425955	7	AMY2B; AC TG1P4	0,000731459	0,007223839	4,52E-06
1256	2428116	2	KCND3	0,003923309	0,00762346	5,07E-06
866	2428148	4	KCND3	0,000333956	0,00838534	4,70E-06
1653	2428490	6		1,05E-05	0,006690888	3,07E-06
1030	2428505	2	SLC16A1	8,27E-06	0,012777404	7,84E-06
1824	2428507	9	SLC16A1	0,000131632	0,007514531	2,97E-06
536	2431143	9	NOTCH2	3,08E-05	0,012700774	8,14E-06
1737	2432473	6		5,28E-06	0,007929227	4,32E-06
1109	2432882	6		0,002356255	0,006664499	3,11E-06
699	2433254	2	FMOS	0,00580501	0,009377878	2,79E-06
1560	2433880	4	RP11-744H18.2	0,000454879	0,006744412	3,44E-06
964	2434001	6		3,58E-06	0,013245904	1,02E-05
1858	2434095	1		0,001705241	0,006866301	4,85E-06
1432	2434340	5	CA14; snoU 13.115; CA1 4	0,008706715	0,006743011	5,10E-06
1647	2435365	4	THEM4	6,81E-05	0,006800674	2,64E-06
2045	2435391	2	S100A10	2,12E-05	0,007179441	6,15E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
138	2435392	9	S100A10	1,64E-06	0,029375761	3,58E-05
420	2436400	5	CREB3L4	0,010140998	0,009145342	7,79E-06
2046	2436718	2	UBE2Q1	1,24E-05	0,008826572	5,71E-06
1559	2436760	9	ADAR	0,000333103	0,007188607	4,31E-06
2081	2436777	9	ADAR	0,00055537	0,006511312	3,94E-06
1816	2438283	2	IQGAP3	0,019281916	0,007219209	5,36E-06
1403	2438403	4	RP11-284F21.7	0,009861702	0,007020494	4,83E-06
702	2439112	9	FCRL1	0,00180613	0,010454141	6,09E-06
697	2439713	1		0,018818925	0,009054474	6,05E-06
713	2440486	9	F11R	0,002951948	0,009184105	4,04E-06
1854	2440934	6		0,000329714	0,009574997	9,06E-06
1880	2441254	7	UHMK1	0,000674778	0,007808112	7,85E-06
479	2441293	1		0,04486637	0,007065833	3,64E-06
52	2442609	9	CD247	1,32E-08	0,058186499	7,57E-05
146	2442711	4	CREG1	0,044564191	0,016459758	1,51E-05
1139	2443145	2	DPT	0,001689593	0,008816218	5,73E-06
1553	2445386	9	ASTN1	0,00081399	0,007829511	7,28E-06
201	2445439	4	ASTN1	0,000986793	0,015663776	1,28E-05
1306	2445596	1		2,37E-05	0,008143377	5,57E-06
1045	2445659	4	AL359075.1; SEC16B	2,89E-05	0,008115986	5,64E-06
2059	2446213	2	TOR1AIP2	0,000701725	0,006905728	3,97E-06
1017	2449595	9	ASPM	0,00028481	0,011214528	1,13E-05
1479	2450707	7	IGFN1	0,008126841	0,006840666	3,17E-06
1990	2452640	2	NUCKS1	6,19E-05	0,006513548	4,46E-06
1907	2452665	9	NUCKS1	1,22E-05	0,00700385	2,12E-06
226	2453257	3	C1orf132	0,003864295	0,015604689	1,46E-05
856	2454934	7	VASH2	9,17E-05	0,01002888	5,93E-06
1742	2455571	5	CENPF	0,000909538	0,012399382	9,59E-06
1382	2455740	9	USH2A	6,92E-05	0,008670255	3,56E-06
367	2458002	4	PARP1	8,76E-05	0,022724911	2,24E-05
494	2458051	9	PARP1; NV L	0,000839994	0,018192256	2,19E-05
614	2458059	9	PARP1; NV L	0,001013073	0,018177128	2,33E-05
772	2458061	9	PARP1; NV L	0,000120755	0,016719436	1,39E-05
371	2460770	7	RP5-865N13.2	0,030881616	0,013148273	1,70E-05
240	2461554	1		1,71E-05	0,015540624	6,99E-06
647	2461808	3	ARID4B	1,85E-05	0,009733544	4,19E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1888	2461983	2	GNG4	2,45E-05	0,006679482	3,66E-06
987	2462132	4	LYST	0,005853836	0,008761152	3,61E-06
646	2462390	5	EDARADD	0,009608615	0,008062889	5,07E-06
391	2462402	6		0,024995647	0,013921384	1,34E-05
148	2463199	4	GREM2	5,31E-05	0,020014135	1,68E-05
1688	2463907	6		3,87E-05	0,009135293	5,78E-06
480	2464645	5	KIF26B	0,000394997	0,01015051	6,15E-06
1745	2464725	5	KIF26B	0,02996467	0,007436111	2,41E-06
961	2465112	4	SMYD3	0,000740426	0,00859054	3,68E-06
1228	2468077	1		0,001320494	0,008632826	6,05E-06
1438	2468096	1		0,00199727	0,006948306	3,18E-06
1499	2468976	2	IAH1	6,79E-05	0,009755437	5,56E-06
1773	2469870	9	GREB1	0,005601625	0,007192075	3,14E-06
369	2469885	4	GREB1	0,004872298	0,010268236	8,27E-06
660	2470495	2	FAM84A	0,028813689	0,01106141	8,18E-06
1270	2470675	9	DDX1	0,000126422	0,011859396	8,45E-06
807	2471816	1		0,003031295	0,011034735	1,03E-05
1190	2472863	4	KLHL29	0,00028481	0,008335196	6,23E-06
1359	2472904	5	ATAD2B	7,63E-05	0,010695906	5,99E-06
822	2473804	4	EPT1	0,00515944	0,009520516	5,10E-06
604	2473817	2	EPT1	0,000162598	0,009646651	3,60E-06
740	2473976	2	C2orf18; CE NPA	0,000228432	0,008345388	4,46E-06
1033	2473979	2	C2orf18; CE NPA	0,001106343	0,006681413	3,51E-06
1926	2474461	4	TRIM54	2,15E-05	0,006718124	3,84E-06
1650	2475693	2	LBH; AC104 698.1	2,46E-05	0,010241028	5,98E-06
291	2475695	2	LBH; AC104 698.1	9,56E-07	0,016675474	1,27E-05
1191	2477478	1		0,000269075	0,00759234	2,13E-06
857	2480873	5	CALM2; C2 orf61	2,34E-05	0,007532819	2,91E-06
1481	2483422	1		0,000297559	0,008805039	2,45E-06
641	2484202	5	BCL11A	0,015223504	0,008222288	7,55E-06
732	2485722	2	CEP68	0,000146537	0,008285681	2,36E-06
1594	2487212	2	ANTXR1	0,006898401	0,008932501	1,10E-05
1005	2487217	2	ANTXR1	0,000374519	0,013610335	2,20E-05
1684	2487383	4	AC092431.1	0,000701725	0,007954263	5,49E-06
432	2488699	4	SMYD5	7,87E-05	0,015768425	1,14E-05
1395	2489016	4	ACTG2	0,022775596	0,007854953	6,38E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
982	2489925	1		0,004689092	0,006770824	1,87E-06
169	2491288	2	TMSB10	1,18E-07	0,02981693	4,03E-05
1034	2492588	6		1,82E-05	0,009689749	6,82E-06
1538	2492639	6		0,00115456	0,007687908	5,59E-06
1697	2496842	9	MAP4K4	0,000896506	0,006816041	2,44E-06
719	2500274	4	BCL2L11	0,000106893	0,013001365	7,72E-06
129	2500383	6		0,000862602	0,031191838	3,41E-05
1098	2500950	4	SLC20A1	0,016212799	0,007999574	6,76E-06
1080	2502419	1		0,009101689	0,00713435	5,92E-06
942	2503248	1		0,032905271	0,009185376	8,32E-06
1587	2504114	4	CNTNAP5	0,020351547	0,006559961	4,15E-06
1404	2504466	1		0,001732949	0,007924953	6,78E-06
1730	2505547	3	PTPN18	0,033429032	0,007152644	5,39E-06
736	2508938	5	ZEB2; ZEB2; AC009951.1	0,000595218	0,008601963	6,26E-06
302	2510012	4	LYPD6B	0,001713115	0,010465528	8,12E-06
1633	2511767	4	UPP2	0,000134132	0,009381362	4,93E-06
1883	2512731	9	PSMD14	2,46E-05	0,008283694	5,51E-06
1140	2514422	9	BBS5; RP11 724O16.1; K BTBD10	0,000293755	0,012231572	7,96E-06
241	2514660	9	UBR3	0,043299568	0,009434778	9,95E-06
303	2515814	2	RAPGEF4	5,13E-05	0,012849118	1,19E-05
849	2516546	8	ATF2	0,049782645	0,008503428	5,55E-06
170	2518113	8	AC009478.1	3,25E-07	0,026250826	2,61E-05
1251	2518123	1		6,28E-06	0,013391344	1,23E-05
317	2518126	1		2,05E-05	0,020141631	1,48E-05
1537	2518128	1		0,000144203	0,008894878	3,10E-06
1719	2518146	1		3,51E-05	0,00934739	5,22E-06
1852	2518152	1		0,009120022	0,007551326	5,14E-06
1965	2518159	1		9,59E-05	0,006815639	4,29E-06
357	2518161	1		2,94E-05	0,018291423	1,92E-05
1470	2519298	4	FAM171B	0,000281159	0,008194504	4,50E-06
2016	2519657	2	COL3A1	4,06E-05	0,008943244	6,69E-06
2051	2519667	5	COLSA2	0,000620704	0,007056377	5,54E-06
1620	2521265	2	CCDC150	0,01434388	0,007186124	3,87E-06
1321	2522030	4	C2orf47	0,000509079	0,007679796	4,01E-06
84	2522842	7	ALS2CR4	0,003428273	0,021356529	1,53E-05

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
492	2523250	9	BMPR2	3,28E-05	0,012246342	1,00E-05
1635	2524751	4	FASTKD2	0,000873066	0,00892817	5,63E-06
915	2527797	3	CTDSP1	0,00051035	0,00707731	4,80E-06
198	2528111	9	CYP27A1	0,006771364	0,012183336	1,06E-05
1455	2529187	5	EPHA4	0,001895132	0,006902755	5,45E-06
850	2533263	3	TRPM8	0,006310467	0,008444188	3,54E-06
1064	2533688	4	AGAP1	0,005613406	0,008401337	5,08E-06
682	2534019	2	CXCR7	0,007173756	0,01141102	7,05E-06
1657	2534732	9	FAM132B	1,12E-05	0,009726611	8,21E-06
728	2535587	1		6,50E-05	0,008364795	5,93E-06
862	2535780	4	GPC1	0,04726916	0,007338948	3,68E-06
354	2536222	9	ANO7	2,05E-05	0,014644119	1,34E-05
71	2536223	9	ANO7	0,000206799	0,028782637	2,44E-05
485	2536224	2	ANO7	0,000570716	0,011820556	1,20E-05
277	2536236	9	ANO7	2,42E-05	0,016689851	1,24E-05
140	2536237	9	ANO7	0,017291959	0,017903985	1,67E-05
109	2536238	9	ANO7	0,000173296	0,024766753	2,94E-05
1491	2536242	3	ANO7	0,012572419	0,006741049	3,26E-06
321	2536250	4	ANO7	0,000142667	0,018967199	1,42E-05
1449	2536358	2	SEPT2	9,99E-06	0,009644912	8,09E-06
1198	2537304	1		0,002329878	0,00823596	5,31E-06
768	2537460	5	SNTG2	0,000192114	0,010858597	5,00E-06
803	2537866	8	MYT1L	0,021197932	0,006898528	6,62E-06
502	2538478	1		0,000173296	0,013636136	1,07E-05
1472	2539249	5	RNF144A	4,58E-05	0,00662945	5,00E-06
162	2539540	4	KIDINS220	2,33E-06	0,018153181	1,91E-05
258	2540638	5	GREB1	0,004267545	0,016181776	1,93E-05
278	2542638	8	AC013400.2	0,00877735	0,010171152	9,08E-06
182	2543788	8	KLHL29	1,26E-06	0,021121055	2,52E-05
722	2544499	4	ADCY3	0,000333956	0,012620568	6,33E-06
911	2545313	1		0,001054975	0,009808729	6,93E-06
721	2545500	4	CGREF1	0,008310486	0,008345871	6,14E-06
1808	2546680	5	LBH	0,000150908	0,00755128	3,85E-06
694	2548823	4	ATL2	0,002912998	0,009530356	6,26E-06
1266	2552574	1		0,016649629	0,007187407	7,40E-06
2053	2555538	3	XPO1	0,001173835	0,007493161	3,61E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1439	2556553	1		0,001280802	0,006668129	4,29E-06
293	2556767	4	SPRED2	0,000188103	0,013452402	9,14E-06
897	2558656	4	TGFA	0,02996467	0,007536374	5,60E-06
1414	2559989	9	DCTN1	0,037954575	0,006518274	3,07E-06
1229	2567271	4	CHST10	0,001429788	0,007566499	4,27E-06
1634	2570887	4	AC068491.1	0,001219026	0,008462262	3,38E-06
1058	2571158	6		0,00022254	0,008954674	6,74E-06
1477	2571255	7	ZC3H6	2,01E-05	0,007653159	2,75E-06
114	2572052	1		0,000364196	0,019834692	2,14E-05
776	2573159	5	AC069154.2	0,000205715	0,0076573	4,39E-06
903	2573284	1		9,46E-05	0,009345976	3,05E-06
812	2574817	9	MAP3K2	0,000425014	0,013698999	8,31E-06
1592	2576618	6		3,46E-05	0,008938034	4,32E-06
1985	2576850	6		3,58E-06	0,006932694	7,40E-06
830	2577477	5	MGAT5	0,002388272	0,007909049	6,65E-06
1839	2577916	9	MCM6	3,19E-05	0,009421871	2,84E-06
795	2577927	9	MCM6	1,29E-05	0,013004413	6,45E-06
675	2579064	4	LRP1B	0,016903952	0,007936997	7,43E-06
1368	2580293	5	ACVR2A	0,001709174	0,007527767	3,54E-06
1127	2581981	1		0,001070147	0,011265964	9,12E-06
1097	2582242	3	AC021849.1	0,010636495	0,006584575	2,40E-06
677	2582451	2	CYTIP	0,0015655	0,011798932	1,18E-05
1739	2587120	1		0,000260166	0,006806629	3,86E-06
194	2587539	4	SP3	0,009861702	0,012931293	1,26E-05
1176	2589145	3	PDE11A; A CC11998.1	0,019718284	0,011752117	1,04E-05
1794	2590293	1		0,004699102	0,007499753	4,42E-06
1734	2590313	4	AC009478.1	3,34E-05	0,008654695	7,53E-06
1642	2590317	4	AC009478.1	4,52E-05	0,008749677	5,73E-06
179	2590322	4	AC009478.1	1,05E-07	0,023171685	2,54E-05
1578	2590330	1		0,007866301	0,00767295	6,39E-06
1656	2590333	1		0,000194662	0,008938714	7,05E-06
228	2590342	4	AC009478.1	5,66E-07	0,021717658	1,52E-05
1524	2590346	1		3,04E-05	0,009745903	8,95E-06
477	2590349	1		1,31E-05	0,015351436	1,07E-05
1108	2590723	9	FRZB	4,39E-05	0,00810083	4,99E-06
836	2591456	4	TFPI	0,009724683	0,007478175	2,86E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
2062	2591636	5	COL3A1	0,00028925	0,007114892	8,20E-06
345	2591688	9	COLSA2	0,000442481	0,007495535	6,23E-06
1066	2592274	4	STAT1	0,000449203	0,00766067	5,93E-06
1338	2592645	4	TMEFF2	0,014482591	0,009295027	5,86E-06
118	2592648	9	TMEFF2	0,013588933	0,024063565	2,28E-05
535	2595779	1		6,19E-05	0,010523583	4,82E-06
1974	2597276	2	C2orf67	0,035105592	0,006946012	7,83E-06
781	2599275	4	TNS1	9,17E-05	0,008975208	8,42E-06
1632	2599476	2	USP37	0,029541528	0,006562388	4,64E-06
910	2599863	1		4,52E-05	0,008829888	5,90E-06
965	2599915	9	C2orf24	0,000742232	0,007348425	2,98E-06
335	2600704	9	EPHA4	1,55E-05	0,018536235	1,63E-05
378	2600943	1		0,014566395	0,008784565	3,86E-06
1809	2601389	4	WDFY1	0,000306094	0,007084701	3,35E-06
154	2601681	9	DOCK10	7,88E-06	0,02628921	2,68E-05
1081	2602465	3	5S_rRNA.4 24	0,000144203	0,007318832	2,05E-06
1234	2602539	4	SHKAP	9,28E-05	0,008361255	2,05E-06
1157	2602918	9	TRIP12	1,47E-05	0,008997078	6,95E-06
2061	2602948	9	TRIP12	0,000753154	0,007525896	5,35E-06
396	2603204	1		0,012720391	0,008693728	8,76E-06
723	2603264	5	CAB39	0,011153791	0,00928397	4,96E-06
286	2605670	5	FAM132B; AC016757.1	0,003288508	0,011313889	6,50E-06
788	2605785	9	PER2	0,000524526	0,009752043	4,77E-06
1004	2606698	1		5,32E-05	0,011144864	8,01E-06
1695	2606919	9	KIF1A	0,042209752	0,006760359	3,63E-06
2067	2608200	3	TRNT1	5,06E-05	0,007942636	2,32E-06
1430	2608310	8	SUMF1	0,000664925	0,010575278	7,69E-06
1942	2608320	4	LRRN1	0,006310467	0,007137097	3,69E-06
155	2608321	2	LRRN1	0,000173296	0,019550721	1,90E-05
1549	2608324	9	LRRN1	0,000363271	0,011008854	7,59E-06
645	2608325	2	LRRN1	6,21E-05	0,019434045	1,39E-05
1008	2608339	5	SUMF1	2,54E-05	0,012507145	5,22E-06
1746	2608671	9	ITPR1	0,000933891	0,006561627	5,98E-06
1597	2611429	1		0,000611594	0,007531947	4,72E-06
1532	2612685	5	RFTN1	0,000197241	0,007072248	3,46E-06
1419	2616182	4	CRTAP	0,001052466	0,006830214	3,37E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
916	2617484	9	DLEC1	0,013431886	0,008587469	5,38E-06
816	2617540	9	DLEC1	0,017888918	0,007446384	3,41E-06
1694	2618614	2	EIF1B	6,41E-05	0,006862005	2,47E-06
98	2619175	9	TRAK1	0,004114217	0,025408058	2,25E-05
269	2622081	7	RHOA	2,76E-05	0,023574859	3,36E-05
545	2623385	5	IQCF1	0,00071035	0,008401967	6,10E-06
690	2626663	8	FHIT	0,007866301	0,010201017	7,71E-06
1156	2627422	9	ATXN7	8,27E-06	0,012122322	1,25E-05
651	2629053	5	FOXP1	0,000436951	0,011217143	6,81E-06
409	2629551	7	RYBP	0,001173835	0,015072362	1,96E-05
738	2629744	4	PPP4R2	0,04726916	0,008537673	9,19E-06
1410	2630507	4	ROBO2	0,001302035	0,008310638	3,52E-06
1748	2635824	9	PLCXD2	3,62E-05	0,008886785	7,53E-06
1166	2636575	6		0,002123679	0,009197633	9,18E-06
423	2638147	9	C3orf15	0,009193693	0,007970185	8,90E-06
1233	2638761	2	SLC15A2	0,000352341	0,00718282	1,84E-06
1834	2642793	4	DNAJC13	0,045938047	0,007033282	3,08E-06
184	2643246	4	PTF1; TF	0,018126	0,010721006	8,87E-06
1052	2643765	1		0,000108061	0,008880817	1,02E-05
510	2644440	9	CLDN18	0,003266926	0,017008691	1,45E-05
1523	2647113	4	CPA3	6,21E-05	0,008005576	4,00E-06
1771	2647816	6		1,85E-05	0,010052151	7,45E-06
952	2647934	9	MED12L	0,004800285	0,007000581	2,37E-06
1723	2648885	9	GMPS	0,000172838	0,007554839	3,61E-06
1035	2649525	1		8,59E-05	0,007182612	3,53E-06
934	2649935	2	IQCJ-SCHIP1; AC 063955.1	6,02E-05	0,010720906	8,75E-06
1421	2650228	9	SMC4	3,17E-06	0,016266742	1,10E-05
2003	2650244	9	SMC4	1,68E-05	0,00695319	2,52E-06
907	2651198	3	RP11-298O21.6; R P11-298021.2	5,24E-07	0,013460027	1,71E-05
1508	2651858	4	GPR160	1,95E-05	0,008579857	3,86E-06
1855	2652236	5	TNIK	9,17E-05	0,007559912	2,17E-06
1823	2652297	1		3,08E-05	0,006668549	3,20E-06
526	2653422	8	TBL1XR1	0,003210012	0,010540491	6,82E-06
445	2655291	5	ABCC5	6,39E-06	0,015888528	1,09E-05
1939	2658515	1		3,13E-05	0,007764126	4,87E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1213	2658524	1		0,002147887	0,007985716	5,27E-06
93	2658918	5	C3orf21	0,000102061	0,020156465	1,03E-05
616	2660844	4	SUMF1	0,002052564	0,013982945	1,22E-05
1801	2660916	4	SUMF1	0,006537209	0,006595054	4,89E-06
296	2661905	4	AC087859.1	7,38E-05	0,010850848	7,91E-06
757	2662405	3	RPUSD3	0,011000613	0,009676955	5,52E-06
1357	2663942	3	GRIP2	0,003473534	0,00850067	5,57E-06
1027	2664336	2	COLQ	0,000769819	0,007370036	1,10E-06
963	2666262	3	THRB; AC1 12217.2	2,79E-05	0,009236679	6,52E-06
696	2666522	9	TOP2B	2,38E-06	0,013163028	1,15E-05
1149	2666743	1		0,005051331	0,008825818	3,83E-06
883	2667008	1		6,41E-05	0,007673324	2,51E-06
1552	2670412	1		0,004140901	0,008171632	8,16E-06
2022	2673028	9	MAP4	2,38E-06	0,007570706	7,03E-06
113	2673623	9	CELSR3	0,003413307	0,016791865	2,15E-05
704	2674247	2	RHOA	3,07E-06	0,018909578	2,10E-05
1602	2676932	2	RP11-884K10.5	0,003181899	0,006579698	2,72E-06
512	2676993	5	CACNA2D 3	0,013302264	0,012413878	1,18E-05
1547	2677357	2	WNT5A	0,000483071	0,008107545	3,23E-06
774	2678668	1		0,000183201	0,013190267	1,35E-05
1371	2678742	2	FHIT	5,15E-05	0,008580237	6,43E-06
1189	2678879	4	FHIT	0,034438352	0,007911619	3,61E-06
829	2679967	9	PRICKLE2	0,000250234	0,010916403	6,29E-06
1847	2680050	2	ADAMTS9	6,62E-06	0,008282353	5,23E-06
1085	2680626	4	LRIG1	0,001040005	0,00879174	3,90E-06
264	2682971	9	CNTN3	0,015576799	0,011505616	5,10E-06
770	2685234	3	RP11-91A15.1	0,008044591	0,00862745	5,44E-06
470	2686545	9	ABI3BP	0,000628393	0,011468681	7,23E-06
751	2687361	1		0,002066608	0,007528671	2,37E-06
2023	2688904	4	C3orf17	0,000438052	0,00735558	2,33E-06
975	2689033	5	BOC	0,000143818	0,008308479	5,46E-06
1755	2689214	6		1,57E-05	0,007486134	3,62E-06
106	2689313	9	KIAA1407	0,015311147	0,019661807	1,60E-05
382	2691686	9	HCLS1	0,039015171	0,014788972	1,95E-05
1669	2692363	4	ADCY5	0,00180613	0,0065665	2,64E-06
1037	2693582	4	ZXDC	0,047746878	0,008220293	6,80E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1354	2694294	1		0,000674778	0,00923119	7,11E-06
996	2696131	9	SLCO2A1	0,003217076	0,010887966	6,31E-06
1099	2698045	5	CLSTN2	6,11E-05	0,007604148	1,93E-06
372	2698593	9	TFDP2	2,19E-05	0,010880081	5,99E-06
1117	2699041	2	PCOLCE2	0,008011904	0,009640861	1,01E-05
581	2699705	9	PLSCR2	4,99E-05	0,013537973	1,13E-05
1699	2701408	1		8,76E-05	0,006644833	2,64E-06
1866	2701986	6		0,000461778	0,009788617	6,40E-06
780	2703842	9	SLITRK3	0,002842819	0,00956677	5,48E-06
1928	2704213	9	PDCD10	0,000203565	0,008620506	6,27E-06
532	2705096	5	CLDN11	0,000256815	0,01098403	7,29E-06
809	2706654	6		2,79E-05	0,009580406	3,21E-06
547	2706734	3	RP11-385J1.2	0,000413384	0,014860356	8,42E-06
805	2708067	2	KLHL6	0,009399078	0,008372295	5,09E-06
373	2708335	2	ABCC5	7,23E-06	0,021678507	2,02E-05
939	2708654	1		0,029020011	0,007307342	7,26E-06
624	2708847	3	TMEM41A	0,001685702	0,010692634	7,69E-06
671	2710829	1		0,000480661	0,012195242	9,06E-06
1884	2711363	1		6,02E-05	0,006846258	7,64E-07
824	2711369	1		0,00250353	0,008479945	8,04E-06
74	2712860	2	UBXN7	0,00020038	0,035827272	4,83E-05
1006	2713195	2	DLG1	0,005359393	0,008326261	5,45E-06
1146	2713748	6		0,000151311	0,012719493	1,44E-05
1806	2714218	3	MYL5	0,005051331	0,007306045	2,72E-06
1527	2714265	9	PCGF3	0,00055537	0,006717865	2,23E-06
810	2714497	2	FGFRL1	0,000131632	0,009136359	6,17E-06
1686	2715217	2	C4orf48	5,66E-05	0,009995655	4,38E-06
361	2715538	4	FAM193A	0,014622507	0,010400399	1,38E-05
1143	2715773	4	GRK4	1,60E-05	0,008298962	6,27E-06
947	2717272	4	SORCS2	0,013148205	0,007377617	5,17E-06
312	2717882	9	GPR78; CPZ	0,038548018	0,010132666	9,20E-06
1025	2718833	1		0,038548018	0,006597734	7,31E-06
1651	2719625	9	BST1	0,000130223	0,008372717	2,39E-06
1639	2719826	1		0,000909538	0,007775232	3,00E-06
94	2720275	9	NCAPG	2,38E-05	0,025732286	2,34E-05
1227	2720285	9	NCAPG	1,10E-05	0,010793838	5,59E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
210	2720599	4	SLIT2	0,000279712	0,011956609	7,08E-06
838	2720737	2	PACRGL	0,000111639	0,008424719	2,21E-06
1040	2721165	4	RP11-412P11.1	0,011398396	0,009482342	5,16E-06
592	2724294	4	WDR19	4,25E-05	0,009963907	5,26E-06
1193	2725201	4	LIMCH1	0,00081399	0,007780391	4,53E-06
2034	2725364	2	TMEM33	0,000760518	0,007417092	5,94E-06
1848	2728354	7	HOPX	2,26E-05	0,009545719	6,32E-06
337	2728905	1		0,03372316	0,015384819	1,83E-05
622	2731160	4	RP11-692D12.1	0,000158328	0,011497866	7,81E-06
1018	2731449	4	MTHFD2L	0,000391017	0,00826973	4,23E-06
594	2732857	9	ANXA3	0,000487927	0,008250723	5,40E-06
1273	2733095	4	RP11-438E5.1	0,000314052	0,00752303	3,35E-06
426	2734127	8	RP11-8L2.1	0,002481187	0,014163778	1,48E-05
1873	2735462	4	HERC3	0,004105357	0,007182623	6,66E-06
674	2736504	9	BMPR1B	0,000254163	0,013616013	1,23E-05
933	2736527	4	BMPR1B	0,009101689	0,006962968	2,94E-06
1950	2737930	5	CENPE	0,000664925	0,007944468	5,90E-06
176	2737932	5	CENPE	2,22E-06	0,026656504	2,45E-05
867	2737940	5	CENPE	4,53E-05	0,015521495	1. 13E-05
1447	2740920	4	NDST3	0,001339198	0,008462414	8,23E-06
1930	2746264	1		0,000292246	0,006691996	4,00E-06
280	2746800	9	ARHGAP10	0,000356857	0,010703669	8,03E-06
161	2746996	1		0,006154763	0,011745989	6,30E-06
238	2747807	1		0,004167745	0,012491376	6,74E-06
700	2750636	4	CPE	0,013148205	0,013210393	1,20E-05
1147	2750647	4	CPE	0,00059375	0,011114732	9,38E-06
1003	2751964	4	GALNT7	0,000111337	0,006519285	3,50E-06
1259	2751997	5	HMGB2	0,000731459	0,014936895	1,55E-05
1860	2754413	5	MLF1IP	0,000257482	0,008133228	5,30E-06
1274	2757410	1		0,000310049	0,008014173	7,49E-06
1130	2757591	4	WHSC2	0,012547908	0,007213149	4,68E-06
88	2758470	1		0,003071703	0,024935438	2,95E-05
385	2759511	5	SORCS2	0,000790656	0,006915943	5,83E-06
504	2759598	2	AFAP1	0,021792834	0,006631939	1,53E-06
1327	2762889	5	SLIT2	0,025498894	0,007381634	3,06E-06
1676	2763219	4	KCNIP4	9,72E-05	0,007286607	5,33E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
231	2763921	9	CCDC149	4,35E-07	0,020155155	2,18E-05
275	2767308	4	BEND4	0,002052564	0,017199346	1,77E-05
475	2769840	9	KDR	0,000199853	0,007321611	4,45E-06
489	2771025	5	LPHN3	0,000172838	0,01109885	9,41E-06
574	2771634	4	RP11-584P21.2	0,003428273	0,009027656	3,62E-06
1248	2772766	5	SLC4A4	5,40E-05	0,009353946	6,89E-06
573	2773378	1		0,000425014	0,008077849	2,20E-06
817	2775033	4	ANTXR2	0,002641545	0,011265019	7,43E-06
814	2775038	9	ANTXR2	0,045938047	0,010132648	2,35E-06
340	2775115	1		0,000146929	0,015266238	9,71E-06
948	2776793	3	MAPK10	0,001522517	0,00974321	4,48E-06
1164	2776796	2	MAPK10	0,003534738	0,007120783	3,70E-06
555	2778529	4	UNC5C	0,005485054	0,009116757	6,23E-06
45	2780211	9	CENPE	7,94E-08	0,085631944	0,000102736
821	2780715	3	RP11-710F7.2	0,004749446	0,009335921	7,74E-06
565	2781004	2	PAPSS1	0,002537394	0,011813474	8,67E-06
1966	2782139	1		0,000402054	0,006574721	2,46E-06
1129	2788582	1		0,014042909	0,007952057	7,05E-06
1902	2790298	5	KIAA0922	2,67E-05	0,008591867	4,35E-06
1604	2792487	5	CPE	0,00241526	0,007846726	2,23E-06
840	2793953	2	HMGB2	1,54E-05	0,017289428	1,47E-05
730	2794726	4	ASB5	0,024147101	0,007418717	7,68E-06
861	2795876	1		0,029646817	0,009793545	8,29E-06
1119	2796405	4	IRF2	0,003781407	0,008632721	4,33E-06
1330	2798289	1		0,001108971	0,00695949	1,53E-06
1703	2798596	4	PDCD6	0,003906364	0,006523124	7,17E-06
801	2799905	1		0,026532368	0,007637195	7,17E-06
1047	2800042	9	ADAMTS1 6	0,049865614	0,007127301	7,62E-06
909	2801585	1		0,001054975	0,009377942	6,51E-06
1356	2803060	4	FBXL7	0,001602179	0,007148233	4,28E-06
1721	2803194	7	FAM134B	0,000412342	0,009777832	1,19E-05
1961	2806221	4	TTC23L	0,003181899	0,007438554	4,93E-06
1031	2807753	9	C7	0,001320494	0,009484133	6,00E-06
2057	2810394	2	MAP3K1	0,00010346	0,006765207	3,83E-06
199	2810960	5	PDE4D	0,000625307	0,017332263	1,85E-05
520	2811016	5	PDE4D	0,000249584	0,013631798	1,22E-05

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
127	2811062	5	PDE4D	1,71E-05	0,024255342	2,78E-05
1137	2811064	5	PDE4D	0,009608615	0,007519077	2,39E-06
1158	2811075	3	CTD-2254N19.1	0,001065067	0,007478452	5,17E-06
1896	2811116	8	PDE4D	0,005601625	0,006976064	4,08E-06
1743	2811117	8	PDE4D	0,00811033	0,007133926	2,86E-06
1644	2811124	8	PDE4D	0,001463501	0,006801354	4,84E-06
875	2811133	8	PDE4D	0,004194748	0,011585515	1,06E-05
1374	2811137	8	PDE4D	0,008310486	0,00749324	3,24E-06
587	2814538	6		0,003217076	0,009592647	6,55E-06
679	2814695	9	CARTPT	0,001127536	0,009790303	8,15E-06
1334	2818565	9	VCAN	4,84E-05	0,014054659	1,35E-05
951	2818582	2	VCAN	2,99E-05	0,013285949	1,06E-05
1039	2819807	3	GPR98	0,000212853	0,010053274	4,60E-06
711	2820736	5	MCTP1	0,000175608	0,010900573	6,10E-06
215	2820823	3	FAM81B	0,027553244	0,01114295	1,20E-05
1601	2820990	4	RHOBTB3	0,013562644	0,007317207	7,76E-06
831	2821794	2	RGMB	0,000373569	0,013055543	9,09E-06
1496	2822927	1		0,000189098	0,008702002	3,67E-06
164	2823841	9	WDR36	2,38E-06	0,01812122	1,20E-05
827	2824081	1		0,000280435	0,009511252	5,20E-06
1781	2824971	1		0,046795588	0,006732733	6,92E-06
1124	2827090	4	GRAMD3	0,008480701	0,006592995	5,52E-06
550	2827181	9	CSorf48	0,000701725	0,010009205	4,36E-06
309	2827382	2	MEGF10	0,00195225	0,012497339	9,89E-06
1752	2827801	9	ADAMTS1 9	3,34E-05	0,008103524	2,94E-06
1361	2828481	2	SLC22A4	0,015786268	0,007598853	6,85E-06
570	2828804	2	LEAP2	0,021355142	0,006802107	3,41E-06
1010	2829040	1		4,84E-06	0,011084794	9,79E-06
1841	2829806	4	CTC-321K16.1	2,01E-05	0,007691385	6,15E-06
1053	2829898	5	IL9	0,000185636	0,007264838	4,67E-06
1184	2830875	9	EGR1	0,012281121	0,006583967	3,65E-06
128	2832532	7	TAF7; AC00 5618.1	0,001173835	0,021583374	2,37E-05
466	2834899	4	ABLIM3	4,52E-06	0,012756132	5,66E-06
680	2835934	7	SPARC	1,72E-06	0,018740722	2,49E-05
1483	2836555	4	GALNT10	0,001171064	0,007953627	3,86E-06
2012	2836811	9	LARP 1	5,49E-05	0,008860871	6,50E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
904	2840276	4	KCNIP1	0,003724362	0,007065134	1,81E-06
1911	2840930	7	FBXW 11	0,000269075	0,007625411	4,11E-06
455	2842772	4	UNC5A	0,001157296	0,011866543	6,61E-06
1798	2844247	2	CANX	9,77E-05	0,009485266	1,11E-05
1222	2844255	4	CANX	0,000636171	0,00806974	3,62E-06
1615	2844539	2	SQSTM1	0,002162534	0,008729973	9,01E-06
211	2844540	2	SQSTM1	0,036159066	0,011382357	7,36E-06
1645	2844718	4	CNOT6	6,32E-05	0,006891649	2,87E-06
1525	2845394	4	SLC9A3	0,000104877	0,007173792	4,58E-06
635	2845607	4	BRD9	0,001877871	0,010609655	7,35E-06
1484	2845672	5	NKD2	0,001354972	0,007318934	3,90E-06
1221	2845675	5	NKD2	0,009101689	0,009826739	8,25E-06
1536	2846862	1		4,46E-05	0,007535106	1,50E-06
1185	2847247	1		0,033429032	0,007973611	7,35E-06
1897	2847334	6		0,001587412	0,006770776	3,66E-06
818	2848815	9	CTNND2	0,000155817	0,007745231	4,67E-06
1032	2849087	9	DNAH5	8,61E-05	0,00794934	5,03E-06
1333	2849099	9	DNAH5	0,040101547	0,007167069	3,66E-06
1285	2849102	9	DNAH5	0,002537394	0,006928127	3,69E-06
841	2849152	9	DNAH5	0,013562644	0,007538097	6,90E-06
145	2849177	3	DNAH5	0,000297559	0,019731072	9,73E-06
460	2849511	4	ANKH	0,006926925	0,010661478	7,13E-06
1611	2849802	5	FBXL7	0,001124866	0,006581459	5,10E-06
117	2849995	2	FAM134B	0,00014459	0,026361181	3,38E-05
1701	2850497	6		0,008143382	0,007243822	3,72E-06
503	2851189	1		0,000191608	0,011471627	7,40E-06
944	2854889	2	HEATR7B2	0,030501101	0,007657939	3,05E-06
1012	2856493	4	MOCS2	0,000310049	0,007523726	3,12E-06
739	2856671	4	ARL15	0,001095886	0,007898792	4,05E-06
1390	2857094	4	RP11-528L24.3	0,003174906	0,006645723	3,59E-06
1101	2858235	4	PDE4D	0,001709174	0,007746921	6,08E-06
476	2858299	4	PDE4D	0,016744596	0,010941528	4,86E-06
368	2858312	4	PDE4D	0,007144307	0,010799351	6,79E-06
436	2858317	4	PDE4D	0,000553994	0,012556713	8,30E-06
469	2858354	4	PDE4D	0,000367918	0,014805117	1,60E-05
1605	2858355	4	PDE4D	0,01732465	0,007281016	1,82E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1360	2858366	4	PDE4D	0,006926925	0,009640878	7,22E-06
1445	2858387	4	PDE4D	0,001543869	0,009130611	7,79E-06
1392	2858392	4	PDE4D	0,000931652	0,008377171	7,70E-06
1867	2858399	4	PDE4D	0,001283816	0,006649943	4,90E-06
507	2858418	4	PDE4D	0,000328031	0,013378586	4,08E-06
835	2858532	4	PDE4D	0,000984436	0,01321077	1,06E-05
1720	2858540	4	PDE4D	0,000720832	0,00689557	3,83E-06
398	2858550	4	PDE4D	0,000175143	0,015741974	1,65E-05
563	2858551	4	PDE4D	0,00160589	0,011660697	6,79E-06
1566	2858567	4	PDE4D	0,001752996	0,008574915	4,99E-06
360	2858575	4	PDE4D	0,000142286	0,016665493	1,59E-05
973	2858577	4	PDE4D	4,53E-05	0,013041407	1,47E-05
1466	2858619	9	DEPDCIB	0,019828743	0,007090047	4,33E-06
384	2860275	3	RP11-83M16.5	0,038217335	0,014699721	1,45E-05
262	2860360	1		0,004426107	0,013556498	1. 14E-05
1372	2863463	2	ZBED3	2,19E-05	0,008828438	5,87E-06
253	2863936	4	LHFPL2	1,57E-06	0,015136691	1,37E-05
374	2864082	4	ARSB	0,001480634	0,012463709	7,11E-06
336	2864402	1		0,004699102	0,012757132	1,00E-05
1733	2869244	7	PAM	0,042209752	0,008127007	4,53E-06
1424	2869909	4	EFNA5	0,000722593	0,010990528	7,75E-06
756	2870559	1		0,004851623	0,009976688	7,50E-06
1979	2871561	5	KCNN2	0,017956371	0,007538282	3,77E-06
304	2873260	7	CSNK1G3	0,001286836	0,013895424	1,35E-05
1503	2873713	4	RP11-114J13.1	8,45E-05	0,006843065	4,69E-06
2056	2873861	7	LMNB1	0,001797859	0,008557564	6,17E-06
540	2874627	4	CTC-575N7.1	0,007850273	0,012194012	1,37E-05
1019	2876122	5	SEC24A	1,65E-05	0,008469393	7,83E-06
891	2877487	4	ETF1	0,002849134	0,008531733	6,73E-06
1558	2877961	2	DNAJC18	0,003692121	0,007016632	2,32E-06
692	2878005	2	TMEM173	8,12E-06	0,010978292	9,08E-06
775	2880995	4	CSNK1A1	0,000385118	0,010477403	7,49E-06
684	2881838	1		0,00021174	0,007683315	6,31E-06
1997	2882121	2	SPARC	3,72E-05	0,008293392	7,47E-06
115	2882122	2	SPARC	5,12E-06	0,032841204	3,86E-05
2054	2882125	2	SPARC	1,71E-05	0,007415852	3,23E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
2079	2882128	9	SPARC	1,47E-05	0,00652917	2,77E-06
1643	2882142	9	SPARC	3,85E-06	0,012687273	1,48E-05
518	2884192	4	EBF1	0,000885779	0,011197582	6,32E-06
792	2885859	5	ODZ2	0,002565937	0,007653162	8,95E-06
1554	2886153	9	PANK3	1,62E-05	0,008848725	5,11E-06
1353	2887118	9	STK10	0,000160023	0,008064688	4,64E-06
365	2887495	2	STC2	0,000619177	0,018246493	2,35E-05
1188	2887512	4	STC2	0,039351871	0,008021546	4,68E-06
546	2888080	1		4,89E-05	0,010112214	5,90E-06
1727	2888742	2	F12	0,000183201	0,007635791	5,72E-06
1209	2889481	1		0,000292999	0,0077346	3,92E-06
227	2890130	5	RUFY1	0,003458386	0,015862344	1,98E-05
1442	2890334	9	TBC1D9B	0,01496327	0,007323032	1,43E-06
767	2891058	4	GNB2L1	0,016586586	0,006763538	5,07E-06
1346	2891302	4	DUSP22	0,000958852	0,007004444	1,00E-06
1000	2893481	3	RP1-80N2.2	0,049041286	0,007653208	3,62E-06
957	2893660	4	RREB1	1,26E-05	0,010296887	6,32E-06
1217	2894668	2	PAK1IP1	0,000323032	0,00766513	2,99E-06
147	2896936	9	CAP2	0,032161453	0,02300686	3,11E-05
1783	2898612	3	GMNN	0,01160212	0,01009499	9,29E-06
1595	2898626	2	GMNN	6,42E-05	0,009780056	3,60E-06
1239	2899122	4	HFE	3,62E-05	0,007219004	2,43E-06
2043	2901929	2	TUBB	0,003390971	0,008049603	8,03E-06
1186	2902700	5	VAR5	0,000252847	0,00748735	2,36E-06
1007	2902874	3	CFB; XXbac BPG116M5. 17	0,016243657	0,006650439	4,11E-06
936	2903195	9	HLA-DRA	0,000384143	0,013596025	1,40E-05
216	2903200	9	HLA-DRA	0,000226058	0,023137572	2,88E-05
1913	2903425	9	HLA-DPB1	0,019535405	0,007421118	6,20E-06
1810	2903456	3	HLA-DPB2	0,001140973	0,007189358	4,98E-06
1173	2903747	4	SYNGAP1	0,006813471	0,006836913	3,73E-06
914	2904304	9	UHRF1BP1	0,009512851	0,008610073	5,37E-06
1311	2905788	2	ZFAND3	0,000250234	0,009189307	1,18E-05
1522	2906151	1		0,027602711	0,006514376	3,25E-06
753	2907867	4	TTBK1	2,23E-05	0,010219124	7,77E-06
1617	2909086	5	RCAN2	0,000200907	0,007185162	2,21E-06
424	2909642	1		0,016461142	0,010554498	4,48E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
292	2909752	1		0,022567667	0,011174444	1,02E-05
967	2910038	1		0,000792576	0,007667081	3,42E-06
720	2916447	6		1,19E-06	0,013525256	1,66E-05
1842	2918773	3	RP11-14I4.3	3,52E-05	0,008939061	7,01E-06
1845	2919791	4	AIM1	0,000116584	0,007440145	4,92E-06
650	2923986	2	CLVS2	2,50E-05	0,014201609	9,88E-06
1180	2926824	9	MYB	0,000449203	0,006598249	3,58E-06
1550	2927252	1		3,56E-05	0,006844416	4,85E-06
1446	2929703	1		0,000272577	0,008755676	5,51E-06
229	2934526	4	SLC22A3	0,000205715	0,018234968	1,72E-05
1291	2934538	9	SLC22A3	0,00362841	0,009917021	1,07E-05
1427	2934539	9	SLC22A3	0,001777336	0,007323945	3,98E-06
266	2934543	4	SLC22A3	6,72E-05	0,017329092	1,57E-05
1565	2934557	4	SLC22A3	0,000509079	0,00868456	8,95E-06
180	2934569	4	SLC22A3	4,44E-05	0,022037658	2,59E-05
513	2934571	4	SLC22A3	0,000771692	0,013671209	1. 16E-05
1174	2934586	4	SLC22A3	0,02563769	0,010772341	8,50E-06
990	2934942	8	AGPAT4	0,000540412	0,00716353	4,90E-06
787	2935707	1		5,15E-05	0,011241051	7,14E-06
584	2936726	3	RP11-568A7.2	0,02244372	0,011771471	1,03E-05
1366	2937410	4	XXyac-YX65C7_A. 2	1,83E-05	0,014910823	1,15E-05
925	2937411	4	XXyac-YX65C7_A. 2	3,03E-05	0,017161552	9,44E-06
895	2937484	5	WDR27	0,039759255	0,008047812	5,15E-06
741	2938547	7	FOXF2	0,000412342	0,008173684	5,12E-06
381	2938741	9	GMDS	0,014877417	0,008255843	7,22E-06
412	2941607	7	TMEM14C	0,000933891	0,019147592	1,94E-05
672	2941759	6		0,000378341	0,00855831	5,95E-06
174	2941893	2	NEDD9	0,006757381	0,017550027	2,12E-05
1631	2943773	5	CAP2	0,023624431	0,006508257	4,92E-06
1179	2944071	2	DEK	1,41E-06	0,012319789	1,03E-05
246	2945999	5	LRRC16A	2,93E-05	0,01735269	1,41E-05
1712	2948594	7	TUBB	0,002029355	0,013237004	7,19E-06
537	2949541	3	EHMT2	0,033900726	0,007162816	5,30E-06
1358	2949792	4	PRRT1	3,41E-05	0,010959106	4,97E-06
954	2950359	3	HLA-DPA2	0,0264846	0,006794213	5,43E-06
1074	2950628	1		0,002531721	0,007373825	5,32E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1957	2951240	9	C6orf106	0,000742232	0,006740159	2,55E-06
1705	2951657	2	FKBP5	0,01612054	0,006552065	5,39E-06
1150	2952044	4	CPNE5	0,000292246	0,007034962	1,80E-06
270	2952341	9	MDGA1	0,029384212	0,01770572	1,92E-05
437	2952713	5	DNAH8	0,000896506	0,012004253	1,16E-05
1280	2954808	3	GTPBP2	0,008619147	0,009128367	6,34E-06
1607	2956143	5	GPR115	0,004167745	0,007592338	4,65E-06
1918	2965266	1		7,04E-05	0,006704181	4,77E-06
89	2965642	1		2,62E-05	0,025473063	1,96E-05
1267	2968105	4	SEC63	0,002641545	0,00762644	6,71E-06
1406	2969569	1		7,50E-05	0,009287234	7,32E-06
1046	2970405	1		1,39E-06	0,012220589	9,68E-06
1903	2974773	1		0,000450333	0,006875027	2,38E-06
869	2976265	1		0,000148906	0,008014361	2,11E-06
1216	2980527	9	CNKSR3	0,006618995	0,010696705	8,84E-06
779	2980896	4	NOX3	0,044188955	0,0069985	8,86E-06
763	2982371	4	SOD2	0,000562297	0,007631489	4,53E-06
1154	2982612	5	SLC22A3	0,00199727	0,007947392	5,12E-06
1299	2982619	5	SLC22A3	0,000394997	0,009799409	9,65E-06
598	2982626	5	SLC22A3	0,008884278	0,009911085	7,59E-06
1038	2983744	1		0,025498894	0,008506019	9,12E-06
1545	2985812	2	THBS2	9,90E-05	0,012219435	9,02E-06
173	2985814	2	THBS2	7,38E-07	0,023947968	2,18E-05
1365	2985815	2	THBS2	4,36E-06	0,0130199	8,34E-06
257	2985821	9	THBS2	5,55E-05	0,019474651	1,88E-05
912	2985825	9	THBS2	0,000212296	0,009058079	5,43E-06
55	2985827	9	THBS2	2,10E-08	0,04925015	6,11E-05
1672	2985830	9	THBS2	0,00060261	0,008283886	6,83E-06
1900	2985852	4	THBS2	1,07E-05	0,006706587	7,05E-07
1263	2986383	4	DLL1	0,00076237	0,006667557	2,62E-06
1041	2986512	4	PSMB1	0,012305161	0,007787863	2,74E-06
1517	2987970	6		0,000701725	0,008122069	6,02E-06
1160	2988685	5	FBXL18	2,14E-06	0,013965334	9,39E-06
301	2988989	9	USP42	5,20E-06	0,018386695	1,25E-05
1278	2989490	5	COL28A1	0,003684101	0,006751514	1,06E-06
1425	2989606	4	AC006465.3; GLCC11	0,024995647	0,00697113	4,25E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
893	2990835	5	AGMO	0,000106893	0,008642024	4,81E-06
1859	2993333	7	CYCS	1,63E-05	0,009327163	5,44E-06
558	2993375	1		0,000920533	0,009480199	2,07E-06
465	2993385	1		0,000496534	0,011230659	7,84E-06
1709	2994249	1		0,000611594	0,008053291	5,10E-06
1065	2994656	4	CREB5	2,98E-05	0,00904156	8,03E-06
1001	2995111	7	SCRN1	0,000242546	0,006895394	4,13E-06
1026	2995377	1		4,39E-05	0,00926322	5,50E-06
1782	2995444	9	GARS	5,76E-05	0,011995848	8,82E-06
404	2997012	1		0,000118492	0,012317168	6,55E-06
370	2997133	4	SEPT7	7,71E-05	0,010482923	5,22E-06
444	2997175	6		0,009101689	0,013517476	1,49E-05
1450	2997383	4	ANLN	0,023754148	0,009205054	7,66E-06
79	2997407	9	ANLN	1,29E-05	0,027389498	2,57E-05
628	2997645	5	ELMO1	0,021002867	0,009159887	6,97E-06
1779	2998743	4	C7orf10	0,00011347	0,007120881	5,41E-06
2070	2998957	7	AC005027.3; 1NHBA	6,01E-05	0,006964308	2,98E-06
718	2999112	5	GLI3	0,001466913	0,009358662	6,89E-06
2058	3000529	7	IGFBP3	0,000391017	0,006979675	2,90E-06
823	3006506	1		1,22E-05	0,009439851	9,16E-06
1980	3010073	5	TMEM60	0,00041969	0,006577928	3,02E-06
991	3010612	5	SEMA3C	0,001082945	0,009528208	6,30E-06
446	3011436	9	RUNDC3B	5,65E-05	0,009499059	7,55E-06
1463	3012549	9	ANKIB1	0,000586459	0,008029494	2,20E-06
548	3013157	9	COL1A2	1,66E-06	0,017474811	1,42E-05
1418	3013369	4	PPP1R9A	4,61E-05	0,009215595	3,64E-06
1622	3013678	4	DYNC1I1	0,029646817	0,006940481	2,98E-06
1796	3014762	2	BUD31	0,000120755	0,007722082	4,42E-06
1626	3015101	6		0,002212029	0,00893252	8,09E-06
1793	3015540	2	PILRA	3,04E-05	0,006597037	4,97E-06
497	3017037	4	LRRC17	0,000200907	0,013948871	7,99E-06
1269	3017439	4	LHFPL3	0,011739756	0,006799509	2,22E-06
1890	3017590	9	MLL5	0,000333103	0,008691028	6,56E-06
585	3017615	9	MLL5	0,004464194	0,007736726	6,92E-06
1218	3018430	9	HBP1	0,005019305	0,006977198	6,61E-06
900	3020009	4	MDFIC	3,41E-05	0,013179927	1,10E-05

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
209	3022789	7	IMPDH1	0,037823788	0,01275585	1,46E-05
1057	3023361	9	SMO	0,000729678	0,007489073	4,24E-06
1196	3023750	4	KLHDC10	9,02E-05	0,009325147	9,03E-06
1696	3024264	8	AC058791.2	0,000454879	0,006967013	4,72E-06
1829	3024911	5	CHCHD3	0,01615124	0,006700971	3,74E-06
1726	3027105	4	CLEC2L	2,22E-05	0,007139137	3,31E-06
1885	3027444	1		0,008028233	0,006511512	4,30E-06
487	3027586	5	BRAF	5,28E-06	0,01350394	8,95E-06
1485	3028591	1		0,000945161	0,007818806	4,35E-06
1153	3029904	2	CNTNAP2	0,006827559	0,006900031	5,28E-06
1529	3030862	1		4,47E-05	0,010863593	6,72E-06
747	3030882	3	SSPO	0,001705241	0,008747664	3,19E-06
323	3031189	4	ATP6V0E2	5,87E-06	0,015735604	8,36E-06
1310	3031580	3	GIMAP5	0,003557945	0,007082989	2,22E-06
1452	3031668	9	ABP1	0,002849134	0,00784346	4,34E-06
764	3032568	1		0,001797859	0,006590099	2,66E-06
417	3033649	1		3,28E-05	0,016185129	1,54E-05
1497	3034150	5	PTPRN2	0,001268815	0,006942742	3,14E-06
1400	3034165	5	PTPRN2	0,000142286	0,007604817	5,46E-06
62	3034212	5	PTPRN2	5,67E-06	0,041004965	4,35E-05
1509	3034226	5	PTPRN2	4,26E-05	0,009473058	6,04E-06
449	3034229	5	PTPRN2	7,50E-05	0,01521519	1,17E-05
1769	3034583	6		0,001374129	0,007171184	4,35E-06
1792	3034982	5	SUN1; GET 4	0,003031295	0,008267621	3,22E-06
1925	3034996	4	ADAP1; CO X19	0,001925692	0,007392579	3,91E-06
1260	3035770	3	GRIFIN	0,000180795	0,007217638	2,93E-06
1115	3036697	5	WIPI2	0,000167867	0,00903808	4,79E-06
1516	3036972	6		9,88E-05	0,007741062	6,32E-06
1683	3037200	9	EIF2AK1	2,49E-05	0,007813506	5,78E-06
1958	3037328	6		5,98E-06	0,008945527	7,37E-06
1464	3037738	1		0,006389661	0,007386167	4,59E-06
784	3039035	5	SCIN	7,97E-05	0,009191604	2,92E-06
1383	3039818	2	AGR2	0,000128137	0,011486351	1,09E-05
629	3041213	4	AC099759.1	0,004590062	0,011694926	8,46E-06
254	3042471	3	HNRNPA2 B1	0,003098917	0,012381991	9,24E-06
1118	3043075	7	RP5-110315.1; A C004009.3	0,000701725	0,010817936	7,40E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1457	3043108	8	RP5-110315.1; A C004009.3	0,013431886	0,008758105	6,86E-06
330	3044438	1		0,000224879	0,011215692	7,96E-06
1448	3044555	1		0,032104854	0,006681803	7,10E-06
136	3044692	9	PDE1C	3,19E-05	0,020143883	1,83E-05
255	3046448	2	SFRP4	1,66E-06	0,023764559	2,43E-05
350	3046449	2	SFRP4	6,33E-07	0,020534054	3,08E-05
868	3046453	9	SFRP4	8,12E-06	0,017228888	1,44E-05
630	3046457	9	SFRP4	4,28E-06	0,01509688	1,74E-05
49	3046459	9	SFRP4	2,62E-09	0,069643156	0,000104049
1318	3047600	2	AC005027.3; INHBA	0,000729678	0,012639164	1,27E-05
943	3047613	4	AC005027.3; INHBA	0,000339114	0,011103507	3,96E-06
1475	3049299	9	IGFBP3	0,002537394	0,011328252	9,82E-06
284	3050416	9	DDC	0,02980537	0,010140623	1,36E-05
1163	3051219	1		0,00102279	0,00821568	4,94E-06
559	3052483	6		0,005952617	0,012033356	1,36E-05
742	3052982	6		0,032963108	0,009953901	6,39E-06
1444	3056252	4	STX1A	7,08E-06	0,007013993	4,56E-06
1204	3058806	4	SEMA3C	0,01496327	0,007578283	3,96E-06
1125	3062164	5	DYNC1I1	0,000553994	0,007395291	5,33E-06
567	3062175	5	DYNC1I1	0,000837966	0,007293075	6,55E-06
1257	3063591	2	AZGP1	0,007770575	0,010789364	8,53E-06
889	3063598	9	AZGP1	0,002481187	0,013545858	1,28E-05
1094	3063601	9	AZGP1	0,001219026	0,010779914	8,76E-06
724	3063605	6		0,001184984	0,012200652	1,10E-05
376	3064449	1		0,004304377	0,007354949	4,54E-06
979	3065014	9	ALKBH4	0,003217076	0,007568557	3,61E-06
625	3066949	4	CTB-111H14.1	0,012043037	0,006585706	3,61E-06
1988	3067307	9	LAMB 1	1,96E-05	0,009872566	7,52E-06
1658	3067310	9	LAMB 1	5,38E-06	0,011224347	8,31E-06
1606	3067585	4	NRCAM	0,000354141	0,009376832	8,46E-06
1443	3068373	6		0,004416632	0,006818008	5,24E-06
416	3070220	9	AASS	0,016398739	0,0070476	9,29E-06
440	3072337	4	UBE2H	4,44E-05	0,011046023	6,90E-06
2064	3074661	6		5,67E-06	0,007879089	7,19E-06
778	3075021	4	DGKI	0,002232119	0,007232854	4,83E-06
1949	3076101	9	SLC37A3	0,001173835	0,008365773	5,62E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1637	3077525	2	FAM115A	0,006757381	0,006736752	1,22E-06
363	3077790	4	TPK1	0,026532368	0,009554661	1,31E-05
1531	3081037	7	INSIG1	2,94E-05	0,011796154	8,27E-06
2060	3082100	7	DNAJB6	0,011785961	0,007939522	6,41E-06
813	3082532	1		0,000206799	0,008814925	6,04E-06
1096	3082626	5	ERICH1	4,91E-05	0,009444815	6,17E-06
1132	3083218	5	CSMD1	0,003855932	0,008232629	5,74E-06
1384	3084878	1		0,003420783	0,008068285	1,37E-06
448	3090530	4	DOCKS	0,02092529	0,006719573	4,33E-06
1077	3090561	4	DOCKS	0,011465942	0,007494898	6,10E-06
553	3090589	9	DOCKS	0,00084815	0,008174387	6,42E-06
955	3090592	4	DOCKS	0,042066262	0,007251473	6,58E-06
1060	3093827	9	KCNU1	2,12E-05	0,012045129	4,30E-06
1249	3094697	5	FGFR1	0,000120755	0,006868788	3,88E-06
578	3097271	1		0,006687861	0,010902639	1,13E-05
1107	3099025	4	LYN	0,000180795	0,007929824	4,64E-06
1711	3100547	3	CLVS1	0,031155964	0,008689629	4,81E-06
2000	3101370	7	ARMC1	0,001873579	0,008741283	4,65E-06
1952	3102393	9	SULF1	0,00035324	0,009114519	5,56E-06
1870	3102402	4	SULF1	0,000740426	0,007834969	3,81E-06
1343	3102414	9	SULF1	0,000462937	0,012550374	8,12E-06
828	3102439	9	SULF1	2,80E-06	0,015931026	1,68E-05
2010	3102445	9	SULF1	0,000194662	0,008480409	5,98E-06
1759	3102461	2	SULF1	0,000177948	0,009249871	6,69E-06
2037	3102463	2	SULF1	0,000131986	0,008176341	7,53E-06
1982	3102464	2	SULF1	4,81E-05	0,008098921	4,23E-06
1380	3103453	5	UBE2W	5,92E-05	0,010791524	6,97E-06
1576	3103632	2	GDAP1	0,000629941	0,011534464	8,50E-06
218	3103710	4	PI15	0,000674778	0,015711899	1,73E-05
1528	3104056	4	ZFHx4	0,0001169	0,006655882	2,13E-06
2071	3104305	2	PKIA	0,001547455	0,007394509	6,93E-06
1986	3104626	5	TPD52	1,85E-05	0,008255373	5,59E-06
1893	3104778	7	ZNF704	0,037111478	0,006548322	6,22E-06
1577	3105433	9	LRRCC1	0,000172838	0,007157123	2,51E-06
1183	3105924	9	CPNE3	0,009861702	0,007692419	7,28E-06
1055	3106288	9	OSGIN2	3,12E-06	0,012037745	1,11E-05

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1802	3106314	4	DECR1	0,004800285	0,007172927	6,53E-06
881	3107647	6		2,38E-05	0,016569088	1,45E-05
612	3107695	3	INTS8	0,004639335	0,010553457	9,22E-06
1316	3107732	4	C8orf38	5,22E-05	0,008155705	5,18E-06
1812	3107789	4	C8orf38	0,000450333	0,007765135	5,80E-06
499	3107876	4	KB-1047C11.2	0,033900726	0,007197605	3,82E-06
1670	3108459	9	MTDH	0,006687861	0,00668549	3,67E-06
2039	3108479	2	MTDH	2,93E-05	0,006961325	4,37E-06
1345	3108839	5	STK3	1,98E-05	0,011035218	8,64E-06
1016	3108873	4	OSR2	0,002531721	0,006675267	5,33E-06
533	3109199	2	POLR2K	5,32E-05	0,017958214	1,73E-05
1500	3109252	3	SPAG1	0,000306094	0,010773506	7,30E-06
1916	3109448	6		9,77E-05	0,012137832	1,07E-05
797	3109660	8	KB-1930G5.4	0,009842021	0,007123883	3,92E-06
1704	3109903	7	UBR5	0,000260842	0,007334514	3,82E-06
1805	3109920	5	UBR5	0,000103742	0,009519129	5,07E-06
1049	3110126	4	KB-1507C5.2; KB-1507C5.3	0,025777155	0,007009345	8,94E-06
439	3110185	9	ATP6V1C1	4,20E-06	0,017215388	9,26E-06
213	3110198	2	ATP6V1C1	1,58E-05	0,023734636	1,63E-05
1975	3110329	9	CTHRC1	0,000134132	0,00898655	5,05E-06
1548	3110790	4	RP11-127H5.1	0,000101783	0,00824034	1,85E-06
441	3112570	4	UTP23	9,04E-06	0,021427543	1,64E-05
1043	3112714	1		0,00160589	0,009852004	4,57E-06
1363	3112879	5	EXT1	0,027405312	0,009431374	7,50E-06
858	3113688	3	HAS2-AS1	0,000219649	0,012595807	9,78E-06
1062	3114046	3	RP11-557C18.3	1,20E-05	0,011270582	7,70E-06
1476	3114081	9	WDR67	0,000280435	0,013530226	1,04E-05
633	3114092	9	WDR67	8,88E-05	0,013744083	7,95E-06
1909	3114096	9	WDR67	0,000862602	0,008984675	8,61E-06
1551	3114703	5	MTSS1	0,002997998	0,0115069	6,12E-06
1708	3114847	9	SQLE	0,001236387	0,009381479	7,07E-06
1837	3115587	3	PVT1	0,000212296	0,007279185	1,96E-06
1661	3115998	4	RP11-473O4.5	0,000553994	0,011864556	1,23E-05
411	3117908	6		0,002991379	0,011194815	2,75E-06
339	3118152	1		0,010386073	0,011188769	6,80E-06
1168	3118707	3	DENND3	0,001965656	0,007321616	4,60E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
185	3119251	2	C8orf55	1,42E-05	0,015914535	1,24E-05
137	3119919	7	EPPK1	4,35E-06	0,028826853	2,57E-05
560	3119979	9	SPATC1	0,0060277	0,013334373	1,31E-05
1300	3120764	5	ARHGAP39	0,000122727	0,010438117	4,98E-06
806	3124365	2	AF131216.2	1,77E-05	0,01362045	1,26E-05
1947	3124528	5	FDFT1	0,023281585	0,007309709	5,45E-06
848	3125600	9	MSR1	0,000181274	0,017085539	1,35E-05
929	3127573	1		0,048959505	0,007288313	3,51E-06
664	3129039	9	CHRNA2	0,002388272	0,011092138	6,33E-06
1458	3129619	4	KIF13B	0,001135581	0,00738277	4,70E-06
386	3132919	1		0,005684569	0,01383766	1,03E-05
2042	3134154	9	PRKDC	7,26E-05	0,00675565	4,66E-06
1629	3135385	1		0,002024742	0,008228586	4,97E-06
902	3135419	1		0,002543079	0,009783809	9,62E-06
2052	3138424	2	ARMC1	3,35E-05	0,009405851	3,32E-06
1488	3138480	9	PDE7A	0,01575619	0,011220854	1,37E-05
1971	3138675	7	RRS1; ADH FE1	0,006898401	0,006687195	5,87E-06
1983	3138814	9	VCPIP1	5,66E-05	0,007953518	1,54E-06
2063	3139046	2	ARFGEF1	0,000629941	0,007275746	6,32E-06
984	3139077	4	ARFGEF1	0,001852254	0,008893133	6,29E-06
119	3139107	9	ARFGEF1	6,61E-08	0,033566027	3,81E-05
1079	3139108	9	ARFGEF1	1,18E-05	0,015040305	6,57E-06
265	3139551	5	SULF1	2,63E-05	0,021575493	2,25E-05
1236	3139562	7	SULF1	2,88E-05	0,01622433	1,99E-05
1337	3139607	9	SLCO5A1	0,01612054	0,00752669	5,63E-06
186	3139630	9	SLCO5A1	0,000367918	0,0111111055	1,14E-05
1706	3139726	2	NCOA2	3,46E-05	0,009051694	5,98E-06
1822	3139788	9	NCOA2	1,08E-05	0,008651908	6,79E-06
820	3139840	4	NCOA2	6,21E-05	0,016208818	1,23E-05
256	3139841	4	NCOA2	1,77E-05	0,014482929	1,28E-05
1585	3139843	3	NCOA2	0,004639335	0,007233204	3,77E-06
1969	3139907	2	TRAM1	6,51E-05	0,008461955	5,00E-06
1944	3139925	9	TRAM1	0,002671169	0,007740888	7,55E-06
2001	3139926	9	TRAM1	1,31E-05	0,008848099	5,28E-06
447	3140775	2	UBE2W	0,001052466	0,017989974	1,81E-05
1526	3140795	4	UBE2W	0,005613406	0,009006123	6,57E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1830	3141853	4	MRPS28	0,003636318	0,00677358	3,50E-06
1663	3141865	2	TPD52	0,000637737	0,011384196	1,16E-05
1959	3141883	9	TPD52	4,84E-05	0,007772796	7,02E-06
1920	3141894	4	TPD52	0,000961152	0,007445917	4,49E-06
638	3142136	2	ZNF704	0,025498894	0,012518258	1,63E-05
1838	3142146	2	ZNF704	6,13E-05	0,006851634	5,15E-06
1460	3142170	2	ZNF704	0,000357766	0,009437061	6,74E-06
716	3142182	9	ZNF704	0,002612225	0,011108751	5,96E-06
1022	3143340	4	FAM82B	5,59E-05	0,01435305	9,55E-06
325	3143470	4	CNGB3	2,71E-05	0,017979346	2,25E-05
1584	3143922	4	RP11-37B2.1	3,87E-05	0,007023854	5,38E-06
2036	3144771	9	RBM12B	0,001852254	0,007359204	5,57E-06
1393	3145100	6		0,011131791	0,007702451	5,96E-06
777	3145187	5	C8orf38	0,000468776	0,009489743	4,21E-06
204	3145592	9	MTERFD1	2,95E-06	0,023094718	1,57E-05
454	3145807	2	TSPYL5	0,001925692	0,011918826	6,99E-06
102	3145886	5	MTDH	3,41E-05	0,03013173	3,38E-05
130	3145888	7	MTDH	2,84E-05	0,027153197	2,73E-05
149	3145890	7	MTDH	0,000101783	0,020297858	2,08E-05
1811	3145981	2	HRSP12	4,53E-05	0,009789405	6,30E-06
1722	3146344	4	RP11-410L14.2	2,08E-05	0,008830151	5,09E-06
1738	3146442	9	COX6C	0,000110135	0,010882068	6,38E-06
1244	3146529	9	FBXO43	0,003390971	0,011341658	9,24E-06
1215	3146566	2	RNF19A	0,000148906	0,010441166	1,00E-05
362	3146569	9	RNF19A	0,00010545	0,021503954	1,92E-05
2019	3146577	9	RNF19A	0,000885779	0,006579631	3,15E-06
478	3146675	2	ANKRD46	3,35E-05	0,019301227	1,64E-05
1945	3146698	3	ANKRD46	0,006376399	0,006617936	4,09E-06
639	3146904	6		1,45E-05	0,020079582	2,10E-05
1126	3147061	2	ZNF706	0,002671169	0,009051504	4,43E-06
1323	3147137	5	GRHL2	5,83E-05	0,007715533	3,80E-06
1821	3147154	5	GRHL2	0,000250234	0,006855299	2,16E-06
1778	3147288	2	RRM2B	0,000691504	0,00650489	5,26E-06
1312	3147309	4	RRM2B	0,002509145	0,006651229	1,26E-06
133	3147316	8	KB-431C1.4	1,68E-05	0,02024896	1,20E-05
95	3147353	9	UBR5	1,40E-05	0,029777153	2,71E-05

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1951	3147355	9	UBR5	4,38E-05	0,008446581	2,80E-06
57	3147362	9	UBR5	3,58E-05	0,042037758	5,21E-05
693	3147378	4	UBR5	1,55E-05	0,014008764	7,94E-06
1937	3147416	4	UBR5	1,05E-05	0,007966735	3,42E-06
571	3147425	9	UBR5	0,000504026	0,016922667	1,60E-05
90	3147426	9	UBR5	3,18E-06	0,031095942	3,24E-05
175	3147427	9	UBR5	5,48E-06	0,025869674	1,89E-05
1992	3147613	9	AZIN1	0,000264928	0,007282996	6,61E-06
1750	3147677	7	ATP6V1C1	0,02057934	0,007555028	6,58E-06
793	3148720	9	TMEM74	0,007582294	0,010273983	6,22E-06
1693	3148899	4	SYBU	4,91E-05	0,006815011	2,32E-06
1953	3149782	3	EIF3H	4,99E-05	0,006519112	2,50E-06
1978	3149863	9	RAD21	3,09E-05	0,010598225	6,84E-06
2069	3149864	9	RAD21	0,000142286	0,006938925	5,44E-06
96	3149866	9	RAD21	5,86E-05	0,032413212	3,97E-05
566	3150181	4	EXT1	0,007337714	0,011167989	7,79E-06
200	3150260	1		0,005450518	0,009774559	1,03E-05
1535	3150537	4	RP11-4K16.2	1,59E-05	0,012061709	7,83E-06
1956	3150666	9	TAF2	2,80E-05	0,007484629	3,54E-06
221	3151057	1		1,19E-06	0,016560632	1,54E-05
1758	3151568	4	ATAD2	0,000958852	0,006912877	2,11E-06
1148	3151571	9	ATAD2	2,14E-06	0,01249276	1,03E-05
1530	3151576	9	ATAD2	0,021434136	0,007350183	7,31E-06
1931	3151874	1		0,00010865	0,008065512	2,97E-06
1544	3151880	1		0,000986793	0,007880354	4,89E-06
1541	3151942	5	RNF139	0,000302186	0,01206077	9,57E-06
725	3151996	9	MTSS1	2,75E-05	0,013085414	6,46E-06
2011	3152016	9	MTSS1	0,001921299	0,006534607	2,49E-06
1564	3152038	4	MTSS1	0,002514771	0,006782061	3,70E-06
1573	3152088	9	MTSS1	0,038614454	0,007217448	6,83E-06
1877	3152261	9	KIAA0196	0,000153344	0,008032919	2,64E-06
1042	3152298	5	NSMCE2	0,031432454	0,00702341	4,58E-06
496	3152302	5	NSMCE2	0,000199853	0,012091556	8,22E-06
1029	3152910	8	PVT1	0,025177619	0,00679582	3,81E-06
874	3152978	8	PVT1	0,018228464	0,007100921	6,91E-06
157	3153331	2	FAM49B	8,86E-07	0,031562714	3,42E-05

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
481	3153338	4	FAM49B	0,000449203	0,008890397	4,61E-06
1474	3153369	2	FAM49B	0,016492423	0,010486458	6,26E-06
542	3153531	9	ASAP1	0,000611594	0,015079374	1,42E-05
791	3153572	4	ASAP1	0,000563692	0,013482063	1,03E-05
1713	3153586	4	ASAP1	0,003557945	0,007447963	1,39E-06
517	3155043	5	KHDRBS3	0,000319739	0,010247178	7,03E-06
1984	3155047	5	KHDRBS3	0,000192114	0,006667798	4,43E-06
1262	3155524	4	FAM135B	0,00247563	0,006678738	3,02E-06
490	3156104	4	TRAPPC9	0,000636171	0,01047113	6,63E-06
1914	3156387	9	PTK2	0,036159066	0,008448362	6,92E-06
958	3156443	4	PTK2	0,000130223	0,010054359	6,30E-06
388	3158057	5	SPATC1	5,48E-05	0,018175287	1,55E-05
745	3158586	9	SLC39A4	0,000385118	0,010205084	4,89E-06
1461	3158698	2	CYHR1	0,004759574	0,010659625	7,27E-06
239	3158768	2	AC084125.3; RECQL4	0,000189098	0,02025759	2,25E-05
332	3160259	8	KIAA0020	0,009010521	0,018759046	1,78E-05
205	3162826	5	NFIB	0,000288505	0,016847222	1,49E-05
1420	3163197	7	PSIP1	7,08E-06	0,009902923	2,89E-06
2041	3164984	4	MTAP, CDK N2B-AS1	0,01575619	0,006644381	4,63E-06
644	3165859	9	TEK	0,001040005	0,011526316	8,47E-06
1214	3168684	4	RP11-22011.1	0,008902214	0,008733067	7,44E-06
876	3173552	6		0,001890803	0,008001967	7,79E-06
886	3173564	4	PGM5	0,001187787	0,007799223	4,99E-06
1281	3173991	4	FAM189A2	0,022116149	0,007416716	3,04E-06
1349	3174918	3	RP11-549A6.1	0,007322669	0,00657993	4,06E-06
524	3175377	9	PCSK5	0,015107347	0,00744564	4,09E-06
1864	3179420	4	CENPP	8,56E-06	0,008122664	4,87E-06
1878	3180308	6		7,16E-05	0,006665582	1,89E-06
878	3180982	2	HABP4	0,000525832	0,014120969	1,08E-05
1598	3183013	4	NIPSNAP3 B	0,027405312	0,006936068	3,26E-06
953	3184500	2	PALM2; PA LM2-AKAP2; AK AP2	0,001852254	0,008987807	5,92E-06
1871	3184589	2	PALM2-AKAP2; AK AP2	0,000408197	0,009970306	8,46E-06
413	3184813	5	LPAR1	0,002868156	0,010363738	7,70E-06
1922	3184980	2	DNAJC25; DNAJC25-GNG10; GN G10	1,35E-05	0,009724691	6,25E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
969	3187623	9	CEP110	0,041709394	0,008605407	4,58E-06
1741	3187835	1		2,54E-05	0,007378865	4,73E-06
1429	3188396	3	RABGAP1	0,000570716	0,006841685	6,73E-06
315	3188421	5	STRBP	0,000850201	0,01607902	1,45E-05
712	3188741	4	NEK6	0,000100405	0,010689095	8,10E-06
534	3189377	9	PBX3	0,006232171	0,00879012	7,47E-06
989	3190108	3	RP11-228B15.4	0,005040635	0,006714995	6,12E-06
405	3191266	5	FNBP1	0,023538302	0,014455398	1,63E-05
1151	3193448	1		0,011131791	0,009354179	9,05E-06
399	3196844	2	RFX3	0,002978182	0,009216545	4,49E-06
2047	3203380	6		6,62E-06	0,006812633	5,06E-06
698	3203820	3	UBAP2	0,002817689	0,016552722	1,81E-05
1386	3204770	9	TLN1	0,035351019	0,008277517	1,13E-05
167	3204782	9	TLN1	0,023971749	0,016308237	1,76E-05
429	3205204	4	RNF38	4,84E-05	0,013951133	8,09E-06
245	3205740	2	SHB	0,002743526	0,0122041	1,11E-05
1054	3208576	8	PIP5K1B	0,003024609	0,006720951	4,71E-06
1241	3210613	4	PRUNE2	0,007218138	0,007096218	4,96E-06
259	3212839	7	PHBP7	4,89E-05	0,017439809	1,18E-05
2048	3214846	2	ASPN	0,00021566	0,007049369	3,82E-06
1938	3214862	9	ASPN	6,07E-06	0,006832329	4,54E-06
1023	3215437	5	PTPDC1	0,027851225	0,007438226	1,37E-06
1504	3219170	5	RAD23B	0,001095886	0,007364521	2,15E-06
250	3220872	2	SUSD1	0,009531934	0,011306015	8,69E-06
1917	3221558	2	CDC26	0,00011347	0,006784429	2,24E-06
1172	3222049	5	ATP6V1G1	0,00160961	0,011736719	9,61E-06
1561	3223277	1		0,0264846	0,006904205	5,16E-06
656	3223629	9	FBXW2	4,32E-05	0,012411705	9,21E-06
1833	3224597	9	STRBP	0,000148906	0,008661385	4,92E-06
1784	3224614	2	STRBP	6,13E-05	0,007866017	4,57E-06
195	3224665	4	DENND1A	0,00877735	0,010604445	9,39E-06
595	3224695	4	DENND1A	8,71E-06	0,010346806	7,49E-06
64	3224721	4	DENND1A	0,000204101	0,030370222	2,60E-05
2055	3225482	9	MAPKAP1	0,000357766	0,007505626	3,36E-06
683	3225668	1		0,015967819	0,007726744	4,05E-06
662	3226162	9	ST6GALNA C6	0,008619147	0,010328204	3,83E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
235	3226361	2	PTGES2	0,000332253	0,01043034	6,55E-06
1724	3227198	9	FNBP1	0,019499011	0,006759972	5,10E-06
972	3227514	1		0,029020011	0,007096129	5,16E-06
1145	3227768	4	RAPGEF1	0,003105755	0,009440612	3,72E-06
663	3228519	4	RALGDS	0,012305161	0,00667609	3,78E-06
1401	3228844	4	SARDH	0,001647248	0,007061409	3,19E-06
1195	3229079	9	BRD3	0,004454644	0,010177232	9,25E-06
1325	3232245	1		0,000288505	0,006672542	4,35E-06
383	3233209	4	NET1	0,000490372	0,014676043	1,08E-05
1600	3233220	6		0,005404779	0,011800116	1,59E-05
1768	3233333	4	C10orf18	0,002531721	0,006884206	4,90E-06
1219	3233453	9	FBXO18	0,003781407	0,008479823	5,51E-06
1791	3233454	4	FBXO18	0,006245159	0,006903255	5,00E-06
678	3237409	9	CACNB2	0,006442959	0,009187946	6,21E-06
1367	3238738	9	ARMC3	0,001558259	0,006682987	5,03E-06
219	3238928	1		0,048552369	0,014256799	5,10E-06
1264	3242177	5	PARD3	0,044114238	0,007389697	4,64E-06
609	3243790	1		0,004987466	0,009165899	5,63E-06
706	3245925	4	WDFY4	0,000481864	0,010700417	3,49E-06
983	3245926	4	WDFY4	0,001628328	0,007000229	3,48E-06
1301	3246011	3	RP11-507P23.3	0,003133247	0,007051697	5,62E-06
906	3247960	1		0,008412239	0,007147019	6,25E-06
846	3248990	1		0,001314314	0,007676396	8,78E-06
1981	3250089	9	DDX21	0,007597824	0,007720875	6,45E-06
1728	3251407	2	DDIT4	0,002001825	0,00976791	1,12E-05
1895	3251899	2	SEC24C	0,009861702	0,006512534	6,03E-06
1279	3253147	5	KCNMA1	3,45E-05	0,008675527	4,82E-06
1817	3256044	9	LDB3	0,002743526	0,00667878	5,31E-06
2065	3257391	9	KIF20B	0,00010865	0,006823504	5,42E-06
1211	3258781	9	TMEM20	0,006523669	0,007770014	6,38E-06
949	3258921	4	HELLS	0,003504013	0,009449736	7,75E-06
272	3258959	2	HELLS; RP1 1-119K6.6	9,61E-05	0,020646723	1,09E-05
1666	3260203	1		0,014792007	0,007368352	7,25E-06
1616	3260608	6		0,000117217	0,009690655	4,08E-06
790	3260609	2	SCD; AL139 819.1	0,000153753	0,01256466	6,16E-06
1827	3261067	9	TLX1	0,000620704	0,007366558	7,93E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1319	3261680	9	NFKB2	0,00620627	0,007045917	5,59E-06
1087	3262195	7	USMG5	1,18E-05	0,011314813	4,65E-06
1308	3262201	9	PDCD 11	0,003266926	0,008070873	4,26E-06
714	3263441	1		0,000273283	0,011872655	6,77E-06
1994	3263816	9	SMC3	2,66E-05	0,00676427	4,02E-06
2066	3263824	9	SMC3	0,000146929	0,007441363	6,30E-06
297	3265208	9	TDRD1	0,011264381	0,012192501	1,62E-05
2080	3266824	7	C10orf46	1,60E-05	0,006900786	2,85E-06
1340	3268609	9	ACADSB	0,00453157	0,007532844	4,87E-06
2072	3268687	6		0,000408197	0,006896832	5,98E-06
549	3270603	1		0,001587412	0,010264099	7,78E-06
1608	3270778	1		3,33E-05	0,00732201	4,59E-06
2033	3271719	9	PPP2R2D	1,57E-05	0,006604433	4,28E-06
752	3271859	9	JAKMIP3	0,007566793	0,009133827	1,66E-06
1317	3273492	2	LARP4B	0,000163031	0,008013788	4,84E-06
1831	3273589	7	IDI2-AS1	0,045476068	0,007550062	5,19E-06
1134	3273785	9	ADARB2	0,041003559	0,007815956	5,26E-06
1465	3274485	1		0,015428709	0,009244812	1,10E-05
1682	3276980	1		0,024015481	0,007284984	4,12E-06
1116	3277460	1		8,36E-05	0,007347087	4,76E-06
468	3280630	2	NEBL	0,00349637	0,007402615	5,15E-06
1232	3281132	4	PIP4K2A	0,000412342	0,008458062	6,54E-07
1093	3281422	7	KIAA1217	0,000272577	0,00776324	3,40E-06
926	3281437	1		0,00877735	0,010032762	6,39E-06
2017	3282231	9	YME1L1	4,43E-06	0,006735584	3,51E-06
1970	3283993	2	KIF5B	0,000784922	0,007852174	3,97E-06
1820	3283995	2	KIF5B	5,94E-05	0,008521667	5,86E-06
1621	3284211	9	ITGB1	1,31E-05	0,01042158	1,05E-05
1648	3284305	9	NRP1	0,006429597	0,011846842	1,13E-05
1762	3284324	9	NRP1	6,28E-06	0,008755286	5,38E-06
110	3289058	9	TIMM23	2,58E-05	0,018804344	1,65E-05
673	3289482	2	A1CF	0,04509417	0,00800955	7,31E-06
1757	3290799	9	CCDC6	1,95E-05	0,009372214	7,09E-06
1999	3290817	9	CCDC6	6,16E-06	0,007807125	6,97E-06
920	3292591	2	PBLD	0,000264928	0,00979269	6,69E-06
1732	3292766	4	SLC25A16	0,000164774	0,006568018	1,05E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
193	3293219	9	TYSND1	0,037563396	0,014951746	2,22E-05
1413	3293539	2	PCBD1	0,00020953	0,012455715	5,62E-06
905	3293767	2	PSAP	6,74E-06	0,014379385	1,31E-05
1194	3294169	2	P4HA1	3,50E-05	0,008388232	5,05E-06
884	3294190	9	P4HA1	0,000151311	0,012053017	9,96E-06
1767	3294612	9	USP54	0,002152759	0,006663838	5,69E-06
1582	3295307	7	SAMD8	7,16E-05	0,008856807	3,98E-06
1502	3295752	5	C10orf11	0,003914828	0,008579333	3,46E-06
177	3296861	8	ZMIZ1	0,000850201	0,017485614	1,56E-05
1341	3297947	5	NRG3	0,014905986	0,006924227	7,73E-06
392	3298214	1		0,000954268	0,009857566	6,07E-06
839	3298765	9	WAPAL	0,023239041	0,007619348	8,04E-06
1856	3301491	4	SORBS1	0,020694087	0,006725547	5,24E-06
2018	3301871	9	TM9SF3	0,000358678	0,010592662	6,42E-06
602	3301947	9	PIK3AP1	0,040239182	0,009496091	6,27E-06
407	3302849	2	HPS1	0,000475873	0,011980131	1,06E-05
1940	3303460	6		0,000933891	0,006757907	5,65E-06
108	3303461	6		6,24E-07	0,02895629	2,30E-05
597	3304424	4	ACTR1A	0,004749446	0,008965086	8,27E-06
125	3305521	5	SORCS3	0,002324635	0,016042517	9,05E-06
1575	3306389	8	ADD3	0,04624829	0,00697595	7,55E-06
2038	3306415	8	ADD3	0,000862602	0,00712363	4,55E-06
667	3306762	4	BBIP1	0,001080374	0,007248372	4,19E-06
759	3307486	1		0,005416181	0,008128483	3,67E-06
69	3308170	1		1,05E-05	0,037128898	3,04E-05
131	3309791	9	MCMBP	1,23E-05	0,026269881	2,80E-05
843	3309876	1		0,024015481	0,008960388	5,20E-06
1350	3310831	1		0,000802243	0,006806731	3,45E-06
53	3312502	9	MKI67	4,20E-06	0,060126952	7,13E-05
1716	3312508	9	MKI67	0,004061321	0,007855735	5,63E-06
48	3312516	9	MKI67	1,16E-08	0,076247204	0,00010532
307	3312517	9	MKI67	3,35E-06	0,022040564	1,75E-05
322	3312528	9	MKI67	0,000276123	0,011794395	7,23E-06
1192	3316579	3	RP13-870H17.3	4,46E-05	0,007081656	4,90E-06
456	3317399	4	KCNQ1	0,006154763	0,010928167	7,03E-06
2082	3318045	2	RRM1	0,0001169	0,00747355	4,30E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
77	3319231	5	CYB5R2	0,007337714	0,028273098	4,44E-05
731	3320141	2	ADM	0,000194662	0,007431738	2,85E-06
1849	3321317	2	FAR1	0,00094743	0,00693472	6,58E-06
1231	3322467	4	OTOG	0,00877735	0,007993957	8,02E-06
343	3326990	4	LDLRAD3	0,008566991	0,009998305	9,60E-06
346	3329359	9	MDK	0,000111942	0,019795601	2,22E-05
1760	3329848	7	CELF1	0,005225318	0,007191149	5,91E-06
1309	3329913	2	NDUFS3	0,02450122	0,006617557	5,96E-06
236	3331846	3	GLYATL1	0,002099724	ND	ND
279	3331847	9	GLYATL1	0,003636318	0,013971736	1,16E-05
488	3331877	6		0,040446406	0,011268756	7,13E-06
1593	3331913	2	FAM111B	1,74E-05	0,009308618	5,06E-06
1489	3332111	3	AP000442.1	0,011353565	0,006946152	3,91E-06
168	3332705	2	CD6	6,62E-06	0,024221205	2,00E-05
654	3332877	4	DAK; RP11-286N22.3	4,74E-05	0,008544328	3,23E-06
2009	3333236	6		0,000457168	0,009182253	5,87E-06
632	3333240	7	FADS1	9,43E-05	0,014572418	1,23E-05
1972	3333487	2	ASRGL1	0,001265835	0,006689375	4,50E-06
187	3333728	2	SLC3A2	3,46E-05	0,02137965	1,84E-05
1679	3334217	5	MACROD1	0,000438052	0,007910565	3,13E-06
1889	3334931	2	MRPL49	9,46E-05	0,00816066	3,93E-06
1744	3335187	3	MALAT1	2,12E-05	0,006711132	4,85E-06
2032	3335239	3	NEAT1	0,000296032	0,007557915	4,73E-06
1640	3335344	4	SSSCA1; FA M89B	4,05E-05	0,007034036	6,22E-06
283	3335444	9	PCNXL3	0,009647164	0,012006177	6,85E-06
2035	3335570	1		7,50E-05	0,006753736	2,46E-06
2078	3335635	6		5,37E-05	0,007183286	6,76E-06
1624	3335777	9	SART1	0,000133772	0,007144549	4,34E-06
1764	3336464	5	RBM4B	0,00271316	0,009071279	8,82E-06
669	3336491	4	C11orf80	0,000122396	0,008642129	3,62E-06
183	3336510	4	C11orf80	2,67E-05	0,021906893	2,50E-05
248	3336517	4	C11orf80	0,000611594	0,017681213	2,55E-05
473	3336722	4	KDM2A	6,62E-06	0,015914087	1,54E-05
1202	3336851	2	ADRBK1	0,005203274	0,007814406	2,76E-06
1009	3337064	9	CARNS1	0,005348101	0,00726324	2,93E-06
1226	3338508	9	PPFIA1	0,043299568	0,006560039	7,24E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
873	3339046	6		0,003098917	0,007737485	4,79E-06
815	3339248	9	RNF121	0,000337386	0,006535423	3,33E-06
1599	3339697	5	FCHSD2	0,000228432	0,006761278	4,54E-06
794	3339872	2	ARHGEF17	0,034740252	0,006686228	3,12E-06
92	3340087	4	PAAF1	2,10E-06	0,030966825	3,44E-05
1268	3340183	9	PPME1	0,002514771	0,007854617	3,58E-06
111	3340387	4	SPCS2	6,42E-05	0,027924152	2,54E-05
758	3340768	4	UVRAG	0,006855816	0,012411782	9,19E-06
1787	3340811	4	UVRAG	7,63E-05	0,008875995	5,36E-06
1574	3341181	9	CAPN5	0,000496534	0,009800362	6,74E-06
1294	3341189	2	CAPN5	0,009436864	0,015307962	1,31E-05
1857	3341212	4	CAPN5	2,80E-05	0,006838246	3,07E-06
617	3345158	4	PIWIL4	0,006687861	0,010150886	6,44E-06
2013	3345244	9	AMOTL1	0,001689593	0,006558789	5,28E-06
1534	3345406	3	SRSF8	0,010080553	0,006911306	3,45E-06
82	3345480	4	RP11-712B9.2	1,81E-08	0,037576248	4,27E-05
1964	3345483	4	RP11-712B9.2	1,05E-05	0,010257851	4,80E-06
959	3345752	5	MAML2	0,001302035	0,007036077	1,13E-06
1290	3346491	4	YAP1	0,000368854	0,008650836	4,28E-06
401	3348854	2	DLAT	0,025452776	0,011991906	1,01E-05
349	3349774	4	ZBTB16	0,017855277	0,010864318	6,21E-06
1915	3350647	6		0,00028925	0,007811622	4,02E-06
1210	3350849	6		0,038283273	0,007497037	3,10E-06
1024	3351637	4	UBE4A	0,0001886	0,013100313	9,63E-06
1511	3351903	3	C2CD2L	0,000138152	0,006533071	1,21E-06
83	3352135	7	MFRP; AP0 03396.1; C1 QTNF5	1,97E-07	0,031497369	3,10E-05
992	3352315	1		0,000142286	0,008881946	2,42E-06
1718	3354757	6		0,00050277	0,011369051	1,04E-05
482	3355746	4	FLI1	0,018924879	0,010554527	5,80E-06
554	3355776	9	FLI1	0,010763744	0,009348037	6,32E-06
1467	3355783	9	FLI1	0,000731459	0,00654568	4,54E-06
971	3357277	4	RP11-700F16.3	0,000111639	0,013337881	8,58E-06
516	3357313	3	ACAD8	2,85E-06	0,014817037	1,29E-05
1814	3357388	2	GLB1L3	0,00180613	0,008448428	5,79E-06
1086	3359084	3	H19	2,99E-05	0,013078059	7,77E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
528	3359501	3	NAP 1L4	9,46E-05	0,014646313	1,11E-05
842	3360089	3	OR55B1P	0,006167603	0,010590966	7,17E-06
1780	3360163	1		0,002951948	0,006890013	7,80E-06
430	3360381	9	OR52A1	0,000412342	0,009965671	3,84E-06
611	3360900	1		0,000148906	0,009149581	4,11E-06
230	3361622	5	TUB	0,000457168	0,017258817	1,23E-05
1111	3361630	2	RIC3	0,010262873	0,007017678	4,08E-06
91	3361748	1		0,001151831	0,018169375	1,73E-05
122	3362161	2	NRIP3	0,007173756	0,01771743	1,45E-05
649	3364941	9	ABCC8	0,001173835	0,011380468	9,19E-06
242	3365534	2	SPTY2D1	0,000208981	0,010413807	5,07E-06
1417	3366734	5	LUZP2	1,89E-05	0,00914798	8,89E-06
457	3369637	5	LDLRAD3	0,00020038	0,010462696	7,14E-06
425	3370248	6		0,008126841	0,0128565	1,47E-05
887	3370702	3	RP11-384E5.2	0,0007279	0,006946076	3,70E-06
735	3370815	6		1,54E-06	0,013058631	1,33E-05
505	3371611	9	AMBRA1	0,004360173	0,007627791	2,57E-06
434	3372262	2	CELF1	1,18E-05	0,011210977	4,51E-06
427	3374540	4	RP11-142C4.6	0,000148906	0,011207134	8,37E-06
634	3374581	4	RP11-142C4.6	0,013588933	0,010869048	7,19E-06
1090	3375092	2	SLC15A3	0,000358678	0,009310369	7,70E-06
160	3375544	2	FADS1	2,85E-06	0,023685263	2,93E-05
1749	3375547	2	FADS1	0,002152759	0,00685867	2,62E-06
2074	3375864	2	MTA2	0,000461778	0,007768584	5,69E-06
1462	3376302	3	SNHG1	0,000579253	0,008432056	3,82E-06
495	3376751	9	MACROD1	0,001974641	0,014172182	1,21E-05
126	3377027	9	PYGM	0,00035324	0,01933795	1,59E-05
1872	3377621	7	NEAT1	2,62E-05	0,008003529	4,98E-06
442	3377625	7	NEAT1	1,99E-06	0,018865238	1,97E-05
85	3377627	7	NEAT1	0,002805201	0,030343821	4,67E-05
1514	3377629	7	NEAT1	8,09E-05	0,009289123	3,99E-06
826	3377633	7	NEAT1	3,71E-06	0,014719313	1,56E-05
1790	3377635	7	NEAT1	0,000417578	0,006683799	4,19E-06
1329	3377637	7	NEAT1	9,78E-06	0,011817785	1,08E-05
1646	3377641	7	NEAT1	0,000129873	0,010091592	9,01E-06
1590	3377659	7	MALAT1	3,52E-06	0,009063684	6,47E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
760	3378515	3	RP11-658F2.3	1,71E-05	0,011361311	9,90E-06
894	3379539	8	PPP6R3	3,93E-05	0,011032576	9,23E-06
580	3379566	5	PPP6R3	0,006456347	0,011482378	1,43E-05
395	3379697	1		0,001001048	0,01468751	1,53E-05
290	3379916	1		0,002099724	0,00944787	5,89E-06
1596	3380081	2	ORAOV1	0,000102061	0,006925599	2,34E-06
68	3380323	4	AP000487.6	0,000119134	0,03317763	4,24E-05
1302	3380437	4	SHANK2; A P001271.5	0,000378341	0,006723456	4,70E-06
217	3381818	2	UCP2	5,30E-06	0,022035487	2,14E-05
997	3383041	2	RSF1	0,039284329	0,007912749	2,11E-06
2007	3386740	6		8,24E-05	0,00957179	7,94E-06
864	3387255	2	SESN3	1,75E-06	0,014386509	9,69E-06
1050	3389367	9	CASP1	0,005684569	0,008445273	5,16E-06
150	3391911	8	ZBTB16	0,005359393	0,01781851	1,50E-05
1501	3392582	8	AP000797.3	0,00060261	0,007086086	3,38E-06
880	3393305	8	CEP164	2,01E-05	0,008257925	3,45E-06
1627	3394419	9	THY1	0,00080419	0,007549673	4,89E-06
1415	3397595	2	ETS1	0,042209752	0,009491646	1,11E-05
387	3398942	5	NTM	0,005672651	0,012339334	1,02E-05
319	3399568	4	NCAPD3	0,005792861	0,010903697	8,85E-06
921	3399590	9	NCAPD3	0,001666372	0,010212699	6,68E-06
1171	3399602	9	NCAPD3	0,001095886	0,008878141	5,06E-06
1498	3401999	4	KCNA1; RP 3-377H17.1	0,030501101	0,00691775	4,16E-06
431	3402336	3	CD9	0,000194662	0,013880303	7,94E-06
172	3402965	2	RPL13P5; L RRC23	0,000284076	0,015901702	1,90E-05
596	3404455	4	CLEC2D	0,004749446	0,013360002	1,34E-05
501	3405316	4	LOH12CR1	0,008884278	0,011806462	6,56E-06
237	3405606	2	GPRC5A	2,19E-05	0,020038313	1,78E-05
802	3406085	9	ATF7IP	6,62E-06	0,012402676	9,80E-06
1245	3406450	8	EPS8	0,043006584	0,007576256	5,93E-06
590	3408793	7	BHLHE41	0,000617654	0,008783782	3,44E-06
855	3409273	4	PPFIBP1	0,030178237	0,007142121	5,18E-06
727	3411330	9	LRRK2	0,008812862	0,008052347	5,33E-06
1021	3412547	6		0,001543869	0,010561963	5,59E-06
988	3413308	2	TMEM106C	3,81E-05	0,017324674	1,55E-05
2027	3413826	9	TUBA1C	1,38E-05	0,009416863	6,80E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
607	3414084	4	RP11-133N21.2	0,01309721	0,011337491	8,76E-06
116	3415017	9	SCN8A	0,005756556	0,027631416	3,31E-05
922	3415243	4	NR4A1	0,004790078	0,00857609	7,18E-06
919	3415245	2	NR4A1	0,036791598	0,008209899	4,22E-06
511	3415254	9	NR4A1	0,000146537	0,010832039	6,60E-06
1131	3415256	4	NR4A1	0,00421284	0,007543327	3,79E-06
486	3415264	4	NR4A1	4,81E-05	0,013327502	1,58E-05
1619	3416307	4	AC012531.1; HOXC6	1,54E-05	0,007942225	4,10E-06
1692	3418367	9	ARHGEF25	0,000310049	0,007360913	4,16E-06
1520	3419870	9	TBK1	0,000261519	0,008358427	3,52E-06
888	3419989	2	TBC1D30	0,000436951	0,0081496	9,21E-06
1662	3420374	4	HMG2	0,00051035	0,007578034	4,27E-06
985	3421317	3	MDM2	0,000444711	0,013007873	1,22E-05
710	3421365	7	CPM	0,002052564	0,011613351	1,08E-05
613	3421368	7	CPM	0,017687915	0,008834732	8,09E-06
1331	3422466	9	TRHDE	0,003428273	0,007617866	7,06E-06
112	3426457	1		0,015458225	0,015811581	9,94E-06
923	3426889	1		0,000389041	0,006909422	6,41E-07
1072	3426905	1		0,002836517	0,006581456	3,08E-06
783	3427524	4	RMST	0,001689593	0,009272144	3,88E-06
273	3428610	9	MYBPC1	0,000102061	0,019860486	1,97E-05
121	3428624	9	MYBPC1	0,000138152	0,025277716	2,87E-05
50	3428626	9	MYBPC1	2,14E-07	0,070836699	9,91E-05
421	3428630	9	MYBPC1	5,22E-05	0,012819523	8,90E-06
509	3428631	9	MYBPC1	0,001171064	0,014030378	9,24E-06
1901	3428639	9	MYBPC1	4,76E-05	0,007216313	4,05E-06
1440	3428640	9	MYBPC1	0,011488537	0,007374662	2,66E-06
100	3428641	9	MYBPC1	7,61E-05	0,029360211	3,68E-05
498	3428643	9	MYBPC1	0,000547163	0,014490122	1,22E-05
1495	3428647	9	MYBPC1	0,005280805	0,008215244	3,64E-06
459	3428651	9	MYBPC1	0,000664925	0,015153353	1,32E-05
355	3428655	9	MYBPC1	0,000579253	0,015754106	1,72E-05
202	3428665	9	MYBPC1	0,003339377	0,020953424	2,12E-05
970	3429167	9	STAB2	0,045322973	0,007449469	6,24E-06
1104	3430743	2	FICD	0,00551979	0,008200033	5,38E-06
1313	3431048	9	ACACB	0,001298982	0,006971522	3,36E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1840	3431135	6		0,00023941	0,010844051	5,73E-06
224	3432191	5	TMEM116	0,003302969	0,016329795	1,27E-05
899	3433246	1		0,01286993	0,008994596	7,50E-06
627	3433531	1		0,000170561	0,015569748	1,05E-05
1825	3435731	8	PITPNM2	0,001877871	0,007175536	7,03E-06
1654	3436139	9	DNAH10	0,009627872	0,006840034	6,70E-06
271	3439162	2	P2RX2	0,000425014	0,015078838	9,02E-06
334	3439330	1		0,001332936	0,008574024	3,79E-06
1199	3440108	4	CACNA2D 4	0,000318921	0,007172134	3,04E-06
1555	3440184	3	RP5-1096D14.2	0,012305161	0,008586488	8,01E-06
81	3440944	6		0,00180613	0,026417303	3,09E-05
1169	3442059	9	CHD4	0,000570716	0,009351255	8,12E-06
1114	3448127	8	SSPN	0,011131791	0,007354431	5,34E-06
379	3448205	4	ITPR2	0,003147077	0,013261635	1,12E-05
107	3449806	9	DENND5B	0,001925692	0,017715275	1,68E-05
626	3452385	1		9,00E-05	0,009592315	3,89E-06
1819	3452862	7	TMEM106C	0,000319739	0,008530675	3,81E-06
993	3453875	6		1,50E-05	0,017942905	1,38E-05
2014	3454060	4	FMNL3	0,000984436	0,006743349	4,61E-06
1908	3454236	9	RACGAP1	0,000165652	0,008552193	5,05E-06
1892	3454247	9	RACGAP1	0,007337714	0,008243299	4,88E-06
1591	3454249	9	RACGAP1	0,004304377	0,011117041	8,17E-06
1689	3454251	4	RACGAP1	0,00076237	0,010799497	7,64E-06
1797	3454663	2	CSRNP2	0,026058101	0,006874234	7,89E-06
377	3455102	5	NR4A1	0,000708617	0,013562634	1,16E-05
994	3455119	1		0,034019558	0,007187542	3,36E-06
1468	3455129	1		0,024191116	0,006911722	5,22E-06
389	3455389	1		0,014179003	0,010346618	6,20E-06
1436	3456343	1		0,013379902	0,008092246	3,37E-06
1977	3457204	2	SARNP	0,00011347	0,007559171	2,29E-06
924	3457859	9	TIMELESS	7,10E-06	0,011459793	8,55E-06
1048	3461394	4	CPM	0,000172838	0,008653889	5,97E-06
1453	3462104	2	ZFC3H1	0,002887295	0,008108262	5,31E-06
2025	3462988	9	OSBPL8	0,000563692	0,006950222	6,46E-06
2040	3462998	9	OSBPL8	0,015311147	0,007361228	4,24E-06
749	3465245	1		0,000552621	0,006681797	3,72E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
589	3468064	5	MYBPC1	0,000873066	0,012604826	6,35E-06
192	3468071	5	MYBPC1	4,98E-05	0,018785189	1,97E-05
419	3468104	2	GNPTAB	0,000655208	0,015552323	1,51E-05
1936	3468105	9	GNPTAB	1,12E-05	0,007894032	6,49E-06
1843	3468121	9	GNPTAB	9,90E-05	0,010165009	7,09E-06
618	3468122	9	GNPTAB	6,95E-06	0,011918652	7,85E-06
1921	3468125	9	GNPTAB	0,00020953	0,007617622	6,03E-06
579	3468126	9	GNPTAB	3,85E-06	0,014435127	1,06E-05
1015	3469401	1		0,003557945	0,008173686	6,81E-06
1076	3469805	5	RIC8B	0,025498894	0,009095378	6,52E-06
73	3470260	4	SART3	0,01575619	0,021496487	3,64E-05
189	3470958	4	TRPV4	3,23E-05	0,013118108	8,19E-06
543	3471602	4	ATXN2	0,001339198	0,012656175	7,58E-06
1136	3471633	9	ATXN2	0,004061321	0,008273273	6,75E-06
1028	3471764	5	MAPKAPK 5	0,001705241	0,007376753	3,38E-06
687	3472790	4	TBX3	0,002880903	0,008033958	6,27E-06
556	3473370	5	RNFT2	2,29E-06	0,012094303	1,14E-05
1518	3473458	9	TESC	4,91E-05	0,007870352	2,49E-06
47	3473622	9	KSR2	4,80E-07	0,065638753	8,65E-05
311	3473690	9	KSR2	0,000664925	0,013784107	1,32E-05
557	3473708	1		0,046404092	0,008792034	8,42E-06
452	3474192	9	CIT	0,001852254	0,018785154	1,33E-05
1441	3474713	3	AC069214.1	0,002217036	0,008112305	5,71E-06
364	3474739	4	AC069214.1	0,01809196	0,007620008	2,94E-06
72	3475900	2	ABCB9; RP 11-197N18.4	0,000368854	0,025422078	2,24E-05
931	3475981	2	PITPNM2	0,00592778	0,007346276	5,13E-06
267	3476305	5	ATP6V0A2	0,040585072	0,011750362	7,01E-06
347	3476911	8	TMEM132B	0,001093286	0,011585565	1,01E-05
366	3481437	4	TNFRSF19	0,001095886	0,012314567	6,70E-06
798	3481446	4	TNFRSF19	4,12E-05	0,011301562	3,72E-06
945	3481456	9	TNFRSF19	2,53E-05	0,009087909	6,89E-06
1490	3482106	6		0,009647164	0,006783836	4,16E-06
879	3484182	1		0,00587839	0,006816243	3,47E-06
1905	3485957	7	POSTN	0,000905174	0,006832111	4,62E-06
1492	3487850	4	SERP2	1,77E-05	0,009359098	3,89E-06
1469	3492720	5	PCDH9	4,68E-05	0,008721471	8,18E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
551	3494195	4	LMO7	0,000367918	0,009638476	5,96E-06
1976	3494747	1		0,001265835	0,006763304	1,25E-06
1887	3497274	3	DNAJC3; R P11-10E18.2	3,19E-05	0,009677701	3,97E-06
87	3497377	4	HS6ST3	7,38E-05	0,027178585	2,76E-05
1082	3497692	2	RAP2A	0,008795089	0,007805083	5,00E-06
1882	3499158	9	ITGBL1	9,32E-06	0,009461541	7,12E-06
1993	3499164	9	ITGBL1	1,12E-05	0,007754542	4,29E-06
521	3499195	9	ITGBL1	0,002350957	0,016058117	1,81E-05
1459	3499197	2	ITGBL1	0,000475873	0,009854259	3,60E-06
1261	3499203	4	RP11-397O8.4	0,013881148	0,006923667	2,88E-06
163	3499919	1		3,23E-06	0,02130792	1,70E-05
1020	3499954	1		0,046404092	0,008798959	6,33E-06
158	3501363	9	COL4A2	0,011533849	0,018104363	2,52E-05
1408	3502223	9	ATP11A	0,002212029	0,006829333	5,34E-06
913	3506074	6		3,18E-06	0,016317744	1,38E-05
1569	3507963	2	KATNAL1	0,015967819	0,010333182	8,40E-06
1929	3510072	9	POSTN	0,002951948	0,010200983	8,04E-06
1568	3510096	9	POSTN	6,49E-06	0,008737308	7,60E-06
1777	3510099	9	POSTN	0,000751323	0,008159496	4,59E-06
1332	3510150	4	TRPC4	1,22E-05	0,008844699	3,51E-06
519	3511633	5	TNFSF11	0,000595218	0,012364946	6,51E-06
463	3512032	4	ENOX1	0,033960096	0,007007489	5,15E-06
1613	3513641	1		7,74E-06	0,009463004	4,74E-06
1123	3517038	1		0,012450296	0,006662742	3,90E-06
786	3517930	4	KLF12	0,00059375	0,008249929	2,90E-06
191	3521655	5	HS6ST3	0,031823166	0,016338133	2,03E-05
428	3523505	7	IGBL1; PR 11-39708.4	0,006310467	0,014771455	1,26E-05
1471	3524517	1		0,006129156	0,007067951	6,11E-06
1570	3525217	1		0,000794501	0,008468936	4,75E-06
799	3525316	2	COL4A1	0,00034347	0,014745656	1,67E-05
282	3525317	2	COL4A1	6,70E-07	0,02435786	2,92E-05
120	3525318	2	COL4A1	9,07E-07	0,029855107	3,15E-05
1702	3525346	9	COL4A1	0,017555038	0,007078593	7,84E-06
1572	3525347	9	COL4A1	0,002951948	0,008002999	5,89E-06
2002	3525376	9	COL4A1	0,00140662	0,008255721	7,04E-06
1138	3527440	9	PARP2	0,000417578	0,009113313	4,95E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1135	3527672	2	RNASE6	0,000909538	0,012047043	1,21E-05
1084	3527990	6		3,69E-05	0,017132822	1,65E-05
999	3528533	4	AE000661.2 8	0,005348101	0,006614602	5,62E-06
1208	3529692	4	RNF31	0,035044469	0,007877746	3,05E-06
980	3529894	4	LTB4R	0,045706551	0,007831994	3,62E-06
1869	3531193	4	COCH	0,030285522	0,006501799	5,60E-06
642	3532227	7	SNX6	4,38E-05	0,010058046	7,03E-06
1850	3533039	1		0,002187152	0,007213692	5,97E-06
327	3535010	1		0,002182207	0,013765072	9,95E-06
1102	3536724	4	LGALS3; A L139316.1	0,011264381	0,007864671	3,99E-06
1162	3537877	7	C14orf37	0,039082309	0,007619176	4,86E-06
766	3540148	2	HSPA2	0,014622507	0,007412038	3,46E-06
927	3540771	1		3,85E-06	0,010896849	6,72E-06
1630	3542092	2	SLC39A9	8,12E-06	0,010138736	5,76E-06
2031	3542093	2	SLC39A9	1,71E-05	0,008672443	6,82E-06
1583	3543814	8	C14orf43	0,047987301	0,006772589	5,92E-06
1412	3544272	9	YLPM1	0,003965967	0,006997005	4,50E-06
750	3544533	4	FOS	0,004800285	0,008329058	7,28E-06
181	3544721	4	TTLL5	0,008619147	0,018014742	1,83E-05
2075	3545532	6		0,003188906	0,007127484	3,35E-06
1376	3546925	4	FLRT2	0,013721065	0,007711219	4,82E-06
1105	3549156	5	ITPK1	0,00247563	0,007281351	2,35E-06
298	3549159	5	ITPK1	0,000122396	0,011814315	4,49E-06
410	3550007	7	CLMN	0,024191116	0,007528968	1,46E-06
1182	3550126	1		0,019902689	0,006509539	3,04E-06
1307	3550432	9	PAPOLA	0,002543079	0,008731933	6,43E-06
1152	3550451	2	PAPOLA	1,66E-05	0,015015134	8,97E-06
620	3551602	4	EVL	0,001526056	0,010602987	6,67E-06
1243	3552386	1		0,000731459	0,00793614	3,48E-06
515	3553052	4	WDR20	8,57E-07	0,018753834	1,95E-05
1912	3553727	9	MARK3	0,00041969	0,007515649	5,85E-06
134	3553758	2	MARK3	0,000265615	0,022135548	2,26E-05
166	3553838	9	C14orf153; RP11-73M18.2; A L139300.1	9,17E-05	0,018661694	2,19E-05
1681	3554544	7	CDCA4	0,001054975	0,010173309	7,36E-06
1287	3554623	2	PACS2	0,009193693	0,006617289	5,66E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1932	3554841	2	CRIP2	9,17E-05	0,007654287	3,52E-06
351	3556347	9	SUPT16H	1,29E-06	0,02158001	2,25E-05
568	3557916	9	TM9SF1; RP 11-468E2.1	6,72E-05	0,01010437	7,35E-06
243	3557960	4	TM9SF1; RP 11-468E2.1; AL 096870.1; C HMP4A	0,000191608	0,016704805	1,10E-05
960	3560007	8	AKAP6	0,009417954	0,009483293	6,50E-06
637	3560223	5	NPAS3	0,006389661	0,009451309	7,54E-06
937	3560438	2	EGLN3	0,001877871	0,009109859	6,72E-06
1960	3561338	9	MBIP	0,001877871	0,00715965	1,92E-06
220	3561724	1		5,66E-05	0,02169482	2,54E-05
124	3561767	8	CTD-2058B24.1	0,000146145	0,013827712	1,59E-05
2008	3562015	9	TRAPPC6B	9,90E-05	0,007586042	5,75E-06
1774	3562032	6		1,42E-05	0,009799503	2,98E-06
1589	3562055	5	CTAGE5	0,03244577	0,007294252	6,93E-06
1543	3562729	9	FKBP3	0,000158328	0,012294869	8,50E-06
1394	3565024	9	DDHD1	0,014650635	0,00854315	5,67E-06
144	3565594	9	WDHD1	3,92E-06	0,029618511	3,19E-05
1320	3565810	1		0,039419514	0,006735638	4,08E-06
1803	3565943	1		0,009323916	0,006563171	4,38E-06
898	3566362	1		2,38E-06	0,01176147	1,04E-05
733	3570152	7	SLC39A9	8,43E-06	0,017920236	1,69E-05
676	3570164	1		0,000742232	0,007613108	4,51E-06
729	3571068	4	DPF3	0,003217076	0,00842338	9,64E-06
1293	3571928	2	NPC2	1,42E-05	0,014150671	1,02E-05
1756	3572106	5	YLPM1	0,001143679	0,008301208	6,42E-06
1167	3572167	2	RPS6KL1	0,011762838	0,006906632	3,92E-06
978	3575711	1		0,046404092	0,008276865	7,07E-06
755	3576107	1		0,000579253	0,007787951	3,24E-06
1275	3576442	2	CCDC88C	0,000894351	0,006736738	4,90E-06
1580	3576864	4	TRIP 11	0,002951948	0,006832084	5,69E-06
1828	3577079	2	LGMN	2,67E-05	0,009777743	6,33E-06
941	3577685	2	SERPINA9	0,047746878	0,009206783	9,30E-06
1818	3579555	9	WARS	0,004639335	0,006620066	5,48E-06
1710	3580123	6		0,000674778	0,008482164	4,73E-06
514	3580457	8	TRAF3	0,002404431	0,00816779	3,06E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
208	3581157	9	AKT1	9,72E-07	0,017106987	1,81E-05
1846	3584519	4	SNRPN; SN ORD108	0,005336831	0,006734131	8,20E-06
1894	3587051	6		0,000483071	0,006821996	2,71E-06
1853	3588099	2	TMEM85	0,000587911	0,00910916	9,28E-06
493	3590406	9	NUSAP1	5,35E-07	0,018890824	2,23E-05
1073	3590434	9	RTF1	0,002874523	0,01035944	1,38E-05
1272	3591735	4	WDR76	6,02E-05	0,010372129	5,14E-06
141	3594180	1		0,020503158	0,019553702	2,88E-05
471	3595274	3	AC016525.1	0,006090929	0,010571349	1,04E-05
1106	3595459	9	GCOM1; AC 090651.1; G RINL1A	0,000540412	0,00953604	8,67E-06
2083	3596392	6		0,00360478	0,006859042	4,20E-06
1128	3597927	4	SNX22	0,005236373	0,009698804	7,02E-06
771	3598798	9	SMAD6	0,0079631	0,013209737	1,11E-05
950	3598809	4	SMAD6	7,32E-06	0,013268823	5,23E-06
658	3600663	5	PKM2	6,11E-05	0,006935628	3,53E-06
691	3600707	7	CELF6	0,005817181	0,008292249	4,96E-06
1265	3602135	9	C15orf39	0,000348767	0,008774654	6,01E-06
300	3602538	9	FBXO22	0,000271873	0,010327297	4,23E-06
2024	3605298	6		0,000516748	0,007297057	4,19E-06
531	3606365	9	AKAP13	0,011925564	0,014048446	1,47E-05
789	3606371	4	AKAP13	0,000562297	0,008998609	4,54E-06
689	3606507	8	KLHL25	0,001268815	0,008091689	3,62E-06
1567	3607176	1		0,03244577	0,006957836	8,45E-06
1962	3607875	4	ZNF710	0,002887295	0,00824511	3,71E-06
1122	3608291	9	CRTC3	7,71E-05	0,006560753	1,92E-06
1051	3608380	1		1,52E-05	0,014679978	1,04E-05
171	3608542	9	AC068831.1; UNC45A	0,024147101	0,014062914	1,15E-05
308	3609034	1		0,00809385	0,008166242	6,40E-06
1409	3610580	1		0,018126	0,008073478	3,34E-06
461	3610850	4	IGF1R	0,000115329	0,011783696	6,89E-06
1480	3613297	5	CYFIP1	0,000338249	0,007322941	3,43E-06
433	3615994	9	MTMR10	0,032789863	0,012174049	9,65E-06
472	3619652	9	DNAJC17	0,020051318	0,007567661	2,83E-06
1335	3619970	5	TYROS	0,024995647	0,007527987	5,58E-06
408	3622256	9	DUOXA1	0,001111606	0,013225165	8,44E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1685	3623298	6		0,001201893	0,008487235	4,64E-06
1201	3624150	9	DMXL2	0,000113163	0,008737126	3,53E-06
603	3625209	1		0,000909538	0,009521061	6,84E-06
1355	3626324	9	ALDH1A2	0,006363163	0,006967527	5,37E-06
329	3626947	4	MYO1E	0,000165213	0,012396011	8,86E-06
1297	3629800	5	SLC24A1	0,00241526	0,007108487	5,22E-06
1649	3630807	4	ITGA11	0,043006584	0,007070619	3,20E-06
800	3631715	5	THSD4	0,002350957	0,008460984	5,38E-06
1881	3631998	9	PKM2	1,77E-05	0,008339926	7,97E-06
1707	3633108	7	CSK	0,00010346	0,006803205	1,99E-06
281	3633239	2	RPP25	0,004749446	0,011305801	9,00E-06
701	3633468	2	PTPN9	8,24E-05	0,01263796	9,39E-06
342	3633789	1		0,031655198	0,010760075	1,29E-05
1785	3635006	1		0,007013144	0,007732766	5,49E-06
506	3636219	1		0,000487927	0,011230631	7,37E-06
530	3636467	3	C15orf40	3,19E-05	0,012446094	6,72E-06
320	3636521	5	TM6SF1	7,74E-05	0,013827425	7,45E-06
1927	3636531	6		4,46E-05	0,006967514	2,72E-06
1955	3636534	9	AC024270.1	6,74E-06	0,008661601	7,98E-06
522	3639047	9	PRC1	0,000293755	0,021280706	1,95E-05
123	3639054	9	PRC1	0,010100664	0,025201383	3,68E-05
1923	3642244	4	PCSK6	0,00076237	0,006698636	2,18E-06
1486	3642303	9	PCSK6	0,011398396	0,006563752	4,97E-06
935	3644067	4	MAPK8IP3	0,014482591	0,006785207	4,01E-06
1142	3644647	9	E4F1	0,012043037	0,009620411	8,84E-06
70	3645319	1		0,009940781	0,024791572	2,57E-05
306	3645476	2	KREMEN2	0,025777155	0,009389094	7,22E-06
341	3645652	1		0,022361426	0,016525847	1,46E-05
552	3646448	9	UBN1	0,000120755	0,016425661	1,61E-05
1680	3646802	4	RBFOX1	0,023281585	0,00682901	3,36E-06
1155	3649263	4	BFAR	5,94E-05	0,009644722	5,18E-06
2068	3650718	7	ARL6IP1	0,000408197	0,008537529	6,97E-06
491	3650720	7	ARL6IP1	0,000397001	0,017872044	1,57E-05
2049	3650850	2	ITPRIPL2	0,000563692	0,006746985	5,10E-06
1336	3656881	1		3,67E-05	0,007684195	2,95E-06
1276	3658909	5	SHCBP1	0,000483071	0,010824915	7,91E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1482	3659265	1		0,024995647	0,006856396	6,12E-06
1133	3659928	1		0,000457168	0,012434795	1,58E-05
1205	3662100	4	MT3	0,000203565	0,007595331	6,87E-07
705	3663746	1		0,040170313	0,010447485	7,74E-06
252	3665867	4	NUTF2	0,002293409	0,012252329	1,43E-05
1120	3667448	5	HYDIN	0,00051035	0,007418618	2,56E-06
1623	3667557	1		0,003781407	0,006522573	2,35E-06
159	3668335	1		0,006389661	0,018264551	2,24E-05
1177	3668759	5	FA2H	0,000165213	0,009488445	5,47E-06
1924	3671836	7	COTL1	2,19E-05	0,009188463	4,39E-06
46	3672375	1		9,32E-08	0,068293918	8,00E-05
153	3672652	9	FOXC2	0,010386073	0,014074276	1,46E-05
1506	3672970	2	JPH3	0,004521888	0,007853911	3,53E-06
78	3673319	6		0,011533849	0,025675715	3,77E-05
917	3675052	3	AXIN1	0,046795588	0,007478615	2,60E-06
406	3676115	2	NME3	0,000203565	0,011839051	7,55E-06
1315	3676601	4	CASKIN1	0,001168298	0,007803578	3,44E-06
299	3677917	2	ADCY9	4,55E-05	0,019273282	1,32E-05
974	3680474	7	SNN	0,001283816	0,008241237	7,03E-06
2015	3680538	9	ZC3H7A	6,62E-06	0,008429013	5,75E-06
1898	3681408	4	PARN	0,000110135	0,006617645	5,82E-06
1242	3685365	1		0,030555206	0,008234817	1,17E-05
1091	3685648	9	ARHGAP17	0,005416181	0,009485484	9,37E-06
1253	3685774	1		0,01415169	0,011101576	7,70E-06
1422	3685788	1		0,002080741	0,008376621	5,65E-06
331	3686345	4	XPO6	0,002571681	0,009429634	1,25E-06
1324	3686981	8	RUNDC2C	0,000751323	0,010013645	2,70E-06
1100	3687400	1		2,99E-05	0,009900281	3,48E-06
435	3687775	5	ZNF48	0,009627872	0,010281022	1,32E-05
244	3687981	3	C16orf93	3,74E-05	0,012026254	7,79E-06
207	3688068	3	CTF2P	3,07E-06	0,018860953	1,72E-05
2044	3689930	2	VPS35	0,000319739	0,007906231	5,17E-06
1660	3689951	9	VPS35	6,38E-06	0,00913068	8,04E-06
1364	3690072	5	GPT2	0,001561876	0,010540522	6,53E-06
1989	3694664	2	CDH11	0,00207602	0,008120261	7,70E-06
1250	3694693	9	CDH11	4,31E-05	0,008270469	7,34E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
928	3695096	9	AC132186.2	0,008619147	0,011094646	1,11E-05
1423	3695391	7	CES4A	0,0038061	0,006571526	5,20E-06
586	3696274	1		0,001689593	0,009564298	6,29E-06
1247	3699295	5	ZNRF1	0,000873066	0,008486615	4,04E-06
1690	3699734	9	ADAT1	0,000712087	0,006749163	2,51E-06
685	3699913	1		1,41E-06	0,013152305	1,07E-05
295	3703547	1		0,000221959	0,015552834	1,72E-05
1715	3704487	4	FAM38A	0,022526284	0,006567648	3,55E-06
640	3704496	1		0,012720391	0,009555613	5,12E-06
1995	3707126	2	ARRB2	0,001628328	0,006507684	4,21E-06
1610	3708862	9	CD68	0,00071035	0,010528404	1,33E-05
541	3711048	6		0,000996275	0,008838354	6,05E-06
1493	3711987	9	PIGL	0,013379902	0,008147589	7,37E-06
1454	3717119	9	NF1	2,26E-05	0,009405833	4,88E-06
561	3718005	5	ACCN1	0,033664154	0,007046032	5,45E-06
1112	3718104	5	ACCN1	9,72E-05	0,009822418	5,26E-06
665	3718684	4	AP2B1	0,000742232	0,008729072	4,07E-06
1314	3719372	9	AATF	0,000461778	0,007820628	6,09E-06
847	3719860	1		0,019317948	0,007902788	4,29E-06
1387	3719966	4	PSMB3	0,000155402	0,008781182	3,21E-06
762	3720001	2	LASP1	0,000136311	0,015837481	1,21E-05
59	3720978	5	TOP2A	1,72E-06	0,047128916	4,13E-05
44	3720986	5	TOP2A	6,24E-07	0,096289981	0,000148557
1557	3720988	5	TOP2A	0,000229029	0,01011419	8,45E-06
51	3720992	5	TOP2A	2,14E-08	0,063588907	7,19E-05
877	3721456	9	FKBP10	7,36E-05	0,009162263	6,97E-06
1512	3726146	1		2,49E-05	0,007143351	5,19E-06
1941	3726285	7	COL1A1	2,08E-05	0,010400379	8,52E-06
397	3726287	5	COL1A1	5,98E-06	0,021237214	1,83E-05
833	3726289	5	COL1A1	2,23E-05	0,016265471	1,43E-05
688	3726379	9	EME1	0,000474683	0,00860949	8,22E-06
1144	3728550	1		0,000862602	0,011254423	5,64E-06
615	3728572	1		0,00028925	0,009148564	6,03E-06
1305	3728970	9	PRR11	2,42E-05	0,013089929	7,09E-06
99	3729181	9	CLTC	6,11E-08	0,03000392	3,82E-05
1068	3730880	5	STRADA	3,45E-05	0,008004559	4,75E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1655	3731133	1		0,001204733	0,00994669	1,39E-05
1674	3731143	6		8,09E-05	0,006870019	2,73E-06
1254	3732739	6		6,32E-05	0,009173345	7,10E-06
569	3734860	9	KIAA0195	0,000712087	0,010991321	6,89E-06
1110	3735014	2	MYO15B	0,000203031	0,0074482	3,26E-06
773	3735349	9	C17orf106	0,012043037	0,009510322	6,39E-06
844	3735745	1		0,004194748	0,007501714	3,37E-06
938	3737994	4	RP13-766D20.2	6,62E-06	0,009372956	8,59E-06
940	3740825	3	MIR132	0,006674036	0,007581392	2,03E-06
225	3742407	4	PFN1	0,000909538	0,012421274	8,61E-06
223	3743231	1		4,19E-05	0,015381152	5,64E-06
599	3743292	3	MIR497HG	0,001098492	0,009759828	2,84E-06
1788	3745080	1		0,000126422	0,008893994	4,71E-06
870	3748225	9	FLII	0,025777155	0,009133044	8,23E-06
608	3748820	7	RNF112	0,001543869	0,008899881	2,96E-06
344	3749011	2	ULK2	1,52E-05	0,014790792	6,57E-06
1388	3749061	9	LTLK2	0,000310049	0,006756375	6,24E-06
1539	3749447	6		0,003773209	0,006991449	6,66E-06
1391	3750115	1		0,013302264	0,009082288	7,05E-06
2004	3750596	7	TMEM97	4,69E-05	0,010906008	6,44E-06
1071	3751077	4	C17orf63	0,000645623	0,008905467	3,00E-06
1286	3752264	9	EVI2B	2,99E-05	0,012105796	6,65E-06
1519	3752342	5	RAB11FIP4	0,00401772	0,006569666	5,67E-07
66	3755466	5	LASP1	4,43E-06	0,036109365	2,80E-05
65	3755470	6		4,15E-06	0,044191091	5,33E-05
1013	3755539	9	PLXDC1	0,001501439	0,007489452	3,31E-06
1863	3755856	2	IKZF3	0,00016045	0,007545863	2,81E-06
1375	3756091	1		0,006167603	0,00745408	3,32E-06
268	3756105	7	MSL1	1,95E-05	0,015854797	1,50E-05
151	3756196	9	TOP2A	1,82E-06	0,028647724	1,83E-05
1556	3756197	9	TOP2A	0,008619147	0,0072412	3,45E-06
54	3756230	9	TOP2A	8,74E-07	0,053313237	6,05E-05
1206	3756234	2	TOP2A	0,003465953	0,010570624	8,22E-06
63	3756235	2	TOP2A	3,94E-06	0,043172399	4,70E-05
1434	3757088	9	KRT15	0,008028233	0,00842142	6,04E-06
1203	3757100	9	KRT15	0,000689814	0,009508723	9,53E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
577	3757573	4	ZNF385C	0,00240984	0,008390462	4,38E-06
196	3757645	9	KAT2A	7,65E-07	0,020633913	2,39E-05
214	3757985	9	PSMC3IP	0,006245159	0,015412602	1,46E-05
464	3758792	2	TMEM101	0,002047903	0,009826673	1,07E-05
1998	3758943	2	ATXN7L3	0,002162534	0,007948762	3,78E-06
1178	3759233	4	GPATCH8	1,09E-05	0,00904615	6,29E-06
872	3760226	1		0,032732293	0,00868694	6,90E-06
178	3761459	2	HOXB7; HO XB9	0,023754148	0,016255176	1,79E-05
75	3762200	2	COL1A1	0,000102339	0,036754271	4,77E-05
438	3762201	2	COL1A1	1,26E-06	0,020791186	1,69E-05
67	3762203	2	COL1A1	0,000124394	0,038573659	5,08E-05
76	3762204	9	COL1A1	2,02E-05	0,035560963	4,53E-05
1456	3762206	9	COL1A1	4,39E-05	0,014078043	9,84E-06
324	3762208	9	COL1A1	1,53E-05	0,025263426	1,75E-05
746	3762212	9	COL1A1	3,75E-05	0,013541175	1,07E-05
80	3762238	9	COL1A1	5,32E-05	0,027867168	2,65E-05
1224	3762257	9	COL1A1	0,000120755	0,013331704	1,14E-05
686	3762258	9	COL1A1	9,74E-05	0,014149484	1,04E-05
703	3762268	9	COL1A1	5,08E-05	0,018236337	1,83E-05
2076	3764125	2	SRSF1	0,000628393	0,007325163	4,57E-06
1510	3764880	5	CLTC	0,000142667	0,010897302	5,34E-06
1369	3765948	5	TLK2	5,31E-05	0,009267069	3,83E-06
1240	3766160	1		0,000402054	0,009821347	6,87E-06
1283	3766835	6		0,015281883	0,006658549	3,35E-06
860	3767533	1		0,000306094	0,006888914	3,37E-06
326	3768673	9	ABCA8	0,00659163	0,009956292	7,56E-06
458	3769694	4	AC007639.1	0,000547163	0,009413625	2,22E-06
1170	3770533	4	C17orf28	0,000357766	0,007280479	2,38E-06
197	3770609	9	HN1	0,002303775	0,025254776	2,62E-05
142	3770610	9	HN1	2,02E-05	0,021529189	1,88E-05
402	3770724	2	SLC25A19	0,000228432	0,011282404	7,12E-06
1014	3772175	5	AFMID	0,007582294	0,006943524	2,20E-06
1763	3772574	4	CYTH1	2,15E-05	0,008498103	5,41E-06
1351	3772842	9	RBFOX3	0,004426107	0,006930221	4,64E-06
1862	3775861	9	TYMS	0,003071703	0,008057605	3,71E-06
1836	3775862	9	TYMS	1,38E-05	0,009694831	4,94E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1754	3778001	9	KIAA0802	2,89E-05	0,0068828	3,01E-06
1295	3778069	9	KIAA0802	0,000663296	0,006827917	4,67E-06
1540	3779045	5	FAM38B	8,85E-06	0,006719053	3,01E-06
661	3782809	1		0,020732462	0,009591141	7,34E-06
1061	3784854	4	FHOD3	0,00010346	0,009326947	5,90E-06
1665	3784859	9	FHOD3	0,024456705	0,007280018	5,36E-06
1740	3787462	8	ZBTB7C	0,002951948	0,006763521	4,40E-07
986	3787934	6		0,001628328	0,015025107	1,58E-05
314	3788043	1		0,001628328	0,011501453	7,55E-06
1431	3788695	9	DCC	0,000802243	0,007942304	3,46E-06
709	3790001	4	NEDD4L	0,002951948	0,008086304	6,49E-06
623	3791665	5	BCL2	0,007675909	0,012378141	1,24E-05
260	3794316	5	ZNF516	1,63E-06	0,017848595	1,49E-05
1612	3794399	1		5,57E-05	0,007036327	2,08E-06
918	3795871	5	TYMS	0,000413384	0,009451406	6,52E-06
666	3797622	9	LAMA1	0,000132342	0,012744611	1,54E-05
1521	3798448	7	RAB31	0,017588173	0,01180553	1,14E-05
274	3799752	8	C18orf1	0,022526284	0,009387286	1,00E-05
1844	3799904	5	C18orf1	1,71E-05	0,007083003	2,77E-06
1664	3800020	5	C18orf1	0,035784134	0,007025272	3,31E-06
1187	3802335	1		0,002298587	0,007497642	2,52E-06
659	3803102	1		9,78E-06	0,012949041	5,98E-06
657	3803770	5	DTNA	0,000264928	0,011040738	1,09E-05
1159	3809977	5	NEDD4L	0,004913892	0,007014438	2,16E-06
527	3810024	5	NEDD4L	0,000151311	0,010952355	3,58E-06
462	3810026	5	NEDD4L	0,002571681	0,008565392	4,49E-06
328	3810046	5	NEDD4L	0,001233477	0,010318079	8,37E-06
249	3810508	1		0,024859934	0,011192154	5,93E-06
538	3811176	7	KIAA1468	6,13E-05	0,012391652	3,65E-06
1296	3816342	9	SF3A2	0,002514771	0,007861145	2,79E-06
605	3816537	5	AC092068.1; GNG7	0,001119544	0,006736721	5,36E-06
1513	3817492	7	SH3GL1	0,002242228	0,008418791	8,39E-06
1494	3818943	9	PNPLA6	4,60E-05	0,008429176	4,84E-06
1088	3819244	5	AC010336.1	0,0207709	0,007382382	4,02E-06
1614	3819416	4	LASS4	0,002453518	0,006618225	3,85E-06
1515	3819433	9	LASS4	0,000142286	0,007928883	2,25E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
631	3820347	9	PPAN-P2RY11; PP AN	0,004924341	0,010289222	1,17E-05
1677	3821267	2	CNN1	0,00140662	0,006567496	3,81E-06
681	3822704	9	CD97	2,74E-06	0,013772023	4,92E-06
1328	3823462	4	AC020911.1	0,032789863	0,006785128	6,44E-06
998	3824263	7	PLVAP	2,71E-05	0,013076432	1,57E-05
1874	3824338	2	FAM125A	0,000385118	0,007035401	1,60E-06
1292	3824841	2	PIK3R2	0,005543059	0,007453355	8,22E-06
652	3824886	2	IFI30	4,52E-06	0,017855887	1,23E-05
1377	3824888	2	IFI30	0,003684101	0,010168272	1,04E-05
1671	3825896	5	PBX4	4,91E-05	0,007660187	5,03E-06
1200	3829042	7	ANKRD27	0,000124059	0,007752649	1,97E-06
1212	3830127	5	AC020907.3	0,03121109	0,010360673	8,51E-06
896	3832101	8	ZNF573	0,009627872	0,008241546	3,50E-06
393	3832546	9	RYS1	1,49E-05	0,011890674	7,57E-06
1876	3832722	2	ACTN4	3,39E-05	0,008349225	6,66E-06
968	3832980	4	ZFP36	0,004114217	0,010049579	4,54E-06
1284	3833496	7	BLVRB	0,03685538	0,006962699	6,88E-06
443	3833552	9	SPTBN4	0,005040635	0,011004892	3,37E-06
853	3834543	9	ARHGEF1	0,018924879	0,0080258	3,50E-06
1943	3835890	2	APOE	0,000524526	0,007074782	5,65E-06
1832	3837064	2	GRLF1	0,002080741	0,007511443	5,05E-06
600	3837159	9	SAE1	0,004749446	0,010789705	3,01E-06
310	3837244	1		5,29E-05	0,013243168	9,18E-06
610	3837791	2	GRIN2D	0,001921299	0,009458325	6,40E-06
1271	3837819	1		0,030881616	0,00909433	3,40E-06
995	3840810	2	ZNF765	2,12E-05	0,009499038	5,84E-06
188	3841985	4	EPS8L1	0,007398176	0,018336943	1,47E-05
1352	3843632	1		0,012019459	0,006787939	6,05E-06
1789	3844578	4	SHC2	0,002420691	0,006584521	3,73E-06
852	3844980	9	SBNO2	0,009627872	0,008088964	6,05E-06
564	3847993	4	CD70	0,019681587	0,007379819	3,29E-07
1373	3850013	9	COL5A3	0,034258318	0,006866394	6,03E-06
1935	3850053	4	EIF3G	3,34E-05	0,006523882	3,13E-06
1641	3850436	9	KRI1	6,18E-06	0,009498748	5,51E-06
523	3850559	4	TMED1	0,001219026	0,011207839	1,11E-05
785	3851376	1		0,008812862	0,010323631	5,63E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1416	3851726	9	HOOK2	4,98E-05	0,008114691	5,42E-06
105	3852452	9	RFX1	0,000124394	0,017123737	1,54E-05
819	3852796	4	DNAJB1	0,002849134	0,00888026	4,00E-06
1933	3852890	9	EMR2	0,029699585	0,006995595	3,97E-06
483	3853114	2	NOTCH3	0,000126422	0,016671556	1,24E-05
1729	3853116	2	NOTCH3	0,003872676	0,007830713	5,66E-06
1282	3854920	2	LSM4	0,020465161	0,008117307	7,33E-06
1165	3855225	9	COMP	0,010785085	0,009827647	9,87E-06
562	3855231	9	COMP	0,000103742	0,016123279	1,50E-05
636	3855232	9	COMP	0,000674778	0,012020397	1,25E-05
1089	3855522	4	TMEM161 A	0,027951183	0,008592818	4,08E-06
247	3856015	2	AC104523.1	8,64E-05	0,01488092	6,53E-06
808	3856288	6		0,002024742	0,010085361	9,23E-06
782	3857807	1		0,002293409	0,007008648	1,30E-06
1348	3857937	1		4,98E-05	0,008955614	5,35E-06
1095	3859962	7	C19orf55	2,42E-05	0,00991284	3,70E-06
2020	3860139	2	TYROBP	0,003716277	0,008084936	7,41E-06
1533	3861561	9	LGALS4	0,012305161	0,008083965	4,75E-06
1288	3862193	9	FCGBP	0,020351547	0,00902822	8,96E-06
1687	3865345	2	PPP1R13L	0,000579253	0,007965781	2,31E-06
956	3867149	4	LMTK3	4,32E-05	0,008497033	5,08E-06
1370	3867534	5	FTL	0,000617654	0,006556618	4,97E-06
1579	3867772	9	SLC6A16	0,0015655	0,007315823	5,70E-06
977	3868126	2	PNKP	0,001843787	0,007146769	4,84E-06
1714	3868195	9	IL4I1	0,041003559	0,007474114	2,69E-06
1067	3868892	3	KLK14	0,018331444	0,008434542	8,81E-06
1063	3868997	2	CLDND2	0,000998659	0,006686711	1,02E-06
648	3869569	6		0,005648885	0,007042573	6,92E-06
854	3869641	6		0,008706715	0,008642584	1,06E-05
981	3870896	2	CDC42EP5	0,001409908	0,012765074	9,25E-06
1795	3871283	9	PPP6R1	0,000982084	0,006611289	4,50E-06
1919	3872856	9	A1BG; ZNF 497	0,000570716	0,007014539	5,81E-06
1967	3873181	2	TRIB3	9,59E-05	0,006721722	2,86E-06
400	3876447	5	JAG1	5,48E-06	0,017523697	1,48E-05
1934	3878250	6		0,002600581	0,007315515	4,90E-06
394	3879946	7	NCRNA002 61	0,001670221	0,009304477	7,16E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1786	3880845	2	GIN51	0,000570716	0,007449206	4,29E-06
1322	3881457	9	TPX2	1,47E-05	0,011597387	5,87E-06
1223	3881458	9	TPX2	0,003181899	0,011954527	9,58E-06
165	3882316	1		2,10E-06	0,027157072	2,16E-05
1904	3884900	4	FAM83D	0,000483071	0,007216721	4,26E-06
1546	3886774	2	SEMG1	0,005890702	0,009568906	6,81E-06
1826	3887717	7	SULF2	0,006618995	0,007122866	2,39E-06
1668	3889268	4	RP4-723E3.1	0,004322902	0,006987245	4,02E-06
1070	3890589	2	RAE1	0,002811439	0,009946063	9,48E-06
1059	3890610	4	RBM38	0,033605237	0,007490625	3,98E-06
338	3891323	5	CTSZ	1,03E-06	0,019701911	1,99E-05
1717	3893625	4	ZGPAT	0,004976894	0,007043225	5,36E-06
865	3894010	9	MYT1	0,031823166	0,007346013	6,25E-06
1092	3895779	4	RP11-119B16.2	0,000152935	0,007248562	4,58E-06
1277	3896023	2	PRNT	0,018126	0,007004643	4,38E-06
1078	3896401	4	GPCPD1	0,000192114	0,009048337	5,25E-06
1963	3899419	4	OVOL2	0,003024609	0,006721937	3,45E-06
1563	3899905	5	RIN2	8,88E-05	0,008535517	1,66E-06
305	3901183	5	GZF1	0,006537209	0,011649055	8,10E-06
1588	3901363	2	CST1	0,000435853	0,006853365	3,36E-06
2028	3902753	7	ASXL1	2,67E-05	0,006638061	3,60E-06
2030	3903852	3	EDEM2; MT 1P3	0,000532413	0,007106081	6,51E-06
1731	3904090	9	FER1L4; AL 389875.1	5,05E-05	0,007249279	5,01E-06
871	3904560	2	NDRG3	0,017888918	0,009731465	6,23E-06
901	3907235	2	SDC4	9,59E-05	0,014513443	9,93E-06
232	3908635	2	PREX1	0,000518037	0,014616305	1,08E-05
1083	3910198	5	TSHZ2	0,000637737	0,007642783	4,14E-06
2005	3910788	2	AURKA	0,002303775	0,008034016	6,32E-06
1776	3911737	5	GNAS	1,65E-05	0,006751443	4,63E-06
655	3911768	2	CTSZ	0,000126082	0,017035647	1,84E-05
715	3911769	9	CTSZ	8,58E-06	0,016324218	1,44E-05
769	3912527	5	CDH4	0,004061321	0,009439512	1,15E-05
892	3913561	4	DIDO1	0,001283816	0,008853705	3,51E-06
962	3913575	9	DIDO1	2,25E-05	0,010752142	1,01E-05
1542	3913577	4	DIDO1	0,002951948	0,00662747	1,65E-06
1804	3913713	2	YTHDF1	0,000722593	0,007517051	5,77E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1875	3917818	8	TIAM1	0,000272577	0,006979198	6,08E-06
1220	3918161	4	C21orf63	0,04726916	0,008466627	6,54E-06
1638	3918604	2	IFNAR1	0,000200907	0,007891488	3,40E-06
453	3919218	7	RCAN1	0,001643447	0,006886772	3,36E-06
1437	3920026	9	CHAF1B	0,000197761	0,007853932	4,30E-06
1044	3921056	1		0,003428273	0,009262185	5,83E-06
206	3922319	1		0,044564191	0,014070978	1,58E-05
1659	3923366	4	AGPAT3	0,000462937	0,006632473	3,14E-06
1766	3923935	7	SUMO3	0,000873066	0,009282175	6,64E-06
1396	3925911	8	C21orf34	0,044263782	0,007994666	5,95E-06
1772	3927606	1		0,002641545	0,006502541	3,15E-06
2073	3929666	2	TMEM50B; AP000300.3	0,000525832	0,007247528	2,97E-06
2006	3930023	5	MRPS6; AP 000318.2	0,000153753	0,007677257	6,18E-06
1207	3932278	3	HMGN1	0,00195225	0,009766647	7,74E-06
1398	3932707	4	DSCAM	0,014179003	0,007108958	2,59E-06
1673	3934672	9	SUMO3	0,007946892	0,009316771	7,21E-06
1298	3936105	7	CECR1	0,002629781	0,007226038	4,30E-06
670	3936779	3	DGCR5	0,006297356	0,007821734	5,43E-06
882	3937768	9	SNAP29	0,000509079	0,008037211	5,22E-06
1735	3937798	2	CRKL	0,000113778	0,011359599	1,07E-05
653	3939344	1		0,012377537	0,006710491	7,82E-06
1725	3939351	1		0,002481187	0,007874982	3,76E-06
1175	3939354	1		0,0264846	0,007324555	6,75E-06
707	3939358	1		0,00040614	0,010891317	8,74E-06
576	3939495	2	MMP11	0,001268815	0,014070716	9,94E-06
726	3940746	4	ADRBK2	0,003965967	0,011477167	1,06E-05
1069	3942014	9	RFPL1	4,10E-05	0,006778254	3,28E-06
233	3942071	9	NF2	1,05E-06	0,019752284	1,31E-05
1946	3942670	3	MTMR3; TU G1	0,000153344	0,009669208	9,02E-06
930	3943191	1		0,000468776	0,010341943	7,19E-06
1451	3943222	2	YWHAH	0,00021566	0,013533518	1,67E-05
1252	3943311	3	RP1-90G24.10	8,73E-05	0,007568258	3,79E-06
1851	3944661	2	KCTD17	0,023538302	0,007190772	5,18E-06
359	3944775	1		0,000800301	0,009903548	4,44E-06
966	3944939	9	NOL12; TRI OBP	0,002849134	0,008944874	4,95E-06
601	3945520	2	APOBEC3A	8,40E-07	0,014765996	1,11E-05

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
356	3947246	9	SEPT3	0,004699102	0,013660068	1,15E-05
1428	3947350	6		0,000372622	0,006796499	3,83E-06
380	3948681	9	FBLN1	0,006969913	0,009183224	6,72E-06
101	3949198	9	GRAMD4	3,80E-05	0,021704647	1,73E-05
1075	3949566	1		0,000248937	0,007112984	2,14E-06
1751	3951205	6		0,000130223	0,007570276	4,56E-06
1603	3952519	9	DGCR14	0,015281883	0,008978517	1,28E-05
1899	3953861	7	CRKL	0,001504933	0,007170792	4,34E-06
1237	3954368	2	TOP3B	0,037498543	0,007241529	1,28E-06
2021	3956783	2	AP1B1	7,26E-05	0,007011229	3,96E-06
1700	3956841	1		0,00515944	0,006531317	3,49E-06
1235	3957024	9	ASCC2	0,015136312	0,007228397	3,59E-06
1339	3958074	7	YWHAH	6,02E-05	0,01323046	7,68E-06
885	3958175	9	SLC5A4	0,000873066	0,011103233	8,58E-06
422	3960135	9	CARD 10	0,042066262	0,010130553	1,11E-05
289	3962111	7	SREBF2	0,000511623	0,017319589	1,35E-05
1113	3962470	6		0,003098917	0,007741604	4,41E-06
804	3962932	3	SCLTBE1	0,000197241	0,010510173	4,00E-06
190	3965086	1		0,001219026	0,012512162	7,10E-06
103	3965316	2	BRD1	0,000113778	0,025245222	2,10E-05
287	3967872	1		0,01020177	0,012116789	1,25E-05
1473	3968670	8	MIDI	0,006297356	0,007050988	1,23E-06
132	3968897	1		1,39E-05	0,017841672	1,98E-05
834	3971935	4	ZFX	0,040585072	0,007638758	3,94E-06
353	3973877	2	RP5-972B16.2; C YBB	8,88E-05	0,019334343	2,32E-05
1230	3974321	1		0,000103742	0,009748928	6,08E-06
748	3974602	3	RP11-169L17.2	7,28E-05	0,01454949	1,06E-05
1407	3975196	1		0,013854351	0,006635681	5,98E-06
1036	3976688	2	EBP	0,002157641	0,013487046	1,43E-05
1868	3977052	9	MAGIX	1,55E-05	0,00881525	6,38E-06
1505	3977310	4	CLCN5	0,023452452	0,007299256	7,03E-06
1303	3978435	2	TSR2	0,013747629	0,011233971	1,17E-05
2050	3979989	2	AR	0,00041969	0,007110435	2,61E-06
1347	3981275	4	NHSL2	0,001484083	0,007898961	8,62E-06
2029	3981889	1		0,001070147	0,007759571	5,95E-06
1389	3982824	4	SH3BGRL	0,000425014	0,007299911	3,97E-06

ES 3 015 226 T3

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
1996	3984554	9	CSTF2	0,01560657	0,006911261	6,59E-06
1379	3985558	2	NGFRAP1	1,89E-05	0,013521885	1,10E-05
863	3985758	9	PLP1	7,71E-05	0,010589385	6,72E-06
890	3988764	4	RP5-1139I1.1	0,000246362	0,009691417	4,17E-06
737	3990584	9	UTP14A	0,000438052	0,011094743	5,44E-06
744	3990660	9	BCORL1	0,013881148	0,008292344	8,84E-06
588	3991537	5	GPC3	0,032963108	0,009771426	5,77E-06
946	3991667	4	PHF6	7,84E-05	0,009377693	4,41E-06
1987	3991676	9	PHF6	0,00022254	0,007170117	5,77E-06
1691	3991722	2	HPRT1	0,000125743	0,008299216	5,16E-06
1618	4001867	2	SH3KBP1	0,000155817	0,008800731	7,41E-06
390	4001936	9	SH3KBP1	2,85E-05	0,018253605	1,50E-05
1800	4004831	9	DYNLT3	3,14E-05	0,007135752	4,30E-06
263	4005034	5	RP5-972B16.2; T SPAN7	6,09E-05	0,014111468	1,22E-05
1402	4005967	4	CASK	0,001561876	0,007092994	4,08E-06
1761	4007481	5	EBP	0,000111942	0,009912108	5,20E-06
837	4007956	9	CACNA1F	0,030881616	0,008004059	3,19E-06
1736	4009008	6		6,02E-05	0,008854541	6,11E-06
212	4011774	2	SNX 12	3,98E-05	0,017028115	1,23E-05
500	4011923	2	ZMYM3	0,004052566	0,008667107	6,03E-06
1399	4015424	1		6,21E-05	0,007349564	1,18E-06
1103	4019335	9	RP13-347D8.6; RP 13-347D8.5	0,000982084	0,007331499	2,59E-06
1002	4021793	9	IGSF1	0,010262873	0,007382385	5,45E-06
1698	4023960	4	FGF13	0,000102061	0,006988413	4,80E-06
1625	4024213	4	ATP11C	0,000292246	0,00706917	3,99E-06
86	4025394	6		3,32E-07	0,027696162	2,93E-05
765	4025854	6		0,001587412	0,013914483	1,16E-05
288	4027060	9	MECP2	2,41E-05	0,01789865	1,05E-05
1667	4030249	1		0,002577437	0,007582739	2,71E-06
1675	4030633	1		0,000126422	0,008284604	3,42E-06
352	4033522	6		0,000972729	0,011250995	1,11E-05
294	4037889	1		0,004841315	0,00915344	6,80E-06
1056	4040209	6		0,00587839	0,008940693	5,30E-06
156	4041204	6		0,008812862	0,014698895	1,37E-05
1765	4044236	6		0,005170366	0,007435892	4,42E-06

(continuación)

SEQ ID NO	Aff P-ID	A	B	C	D	E
621	4046788	1		0,000460621	0,011139661	8,65E-06
285	4053554	9	AGRN	0,005853836	0,006573388	4,59E-06
1487	4053582	9	AGRN	0,000183201	0,00684421	3,08E-06
508	4053813	4	RILPL1	0,03724011	0,010183757	7,18E-06

Ejemplo 14: Validación del clasificador genómico de cáncer de próstata de 22 marcadores en múltiples cohortes de riesgo clínico variable.

5 Anteriormente, los presentes inventores han notificado el desarrollo y la validación independiente de un clasificador genómico (GC) de 22 marcadores que predice la progresión rápida de la enfermedad metastásica después de la prostatectomía radical (PR). Este clasificador inicialmente se desarrolló y se validó de forma independiente en una cohorte de pacientes sometidos a PR entre 1987 y 2001 con características clínicas y patológicas de riesgo alto y posteriormente se validó en una cohorte independiente de pacientes de alto riesgo de la misma institución que se sometieron a PR entre 2000 y 2006. En esos estudios, se demostró que GC pudo predecir mejor la progresión de la enfermedad metastásica (METS) entre los pacientes con características clínicamente de riesgo alto. El riesgo creciente basado en las puntuaciones de GC se correlacionó con un resultado más pobre basado en datos de seguimiento amplio en los pacientes que comprendían estas cohortes. Asimismo, la utilidad clínica del GC se ha demostrado mediante un tercer estudio sobre el impacto de las decisiones de los facultativos del GC en las recomendaciones de tratamiento (Tx) (Ejemplo 10). En este proyecto, los presentes inventores han evaluado además la asociación de GC con un resultado escaso en cuatro cohortes independientes de pacientes de cáncer de próstata de múltiples instituciones. Se presentan también los resultados para las cohortes de investigación y de validación notificados previamente para su comparación. En las cohortes donde está disponible el resultado metastásico (el criterio de valoración primario para el que se desarrolló el GC), los presentes inventores evaluaron la capacidad del GC para clasificar pacientes basándose en su probabilidad predicha de metástasis en 5 años. Para las cohortes donde hay datos de resultados limitados, incluyendo cuando los pacientes finalmente desarrollaron enfermedad metastásica, los presentes inventores utilizaron criterios de valoración patológicos sustitutos para correlacionar estos con la probabilidad predicha de metástasis basada en la biología tumoral.

25 **Métodos**

Las validaciones perseguidas en este estudio se basaron en los siguientes conjuntos de datos:

30 1) Institute of Cancer Research - Reino Unido (ICR): 28 muestras de tejido congelado primario obtenidas de pacientes que se sometieron a PR. Las características clínicas y los detalles sobre la preparación de tejidos, la extracción de ARN, la amplificación y la hibridación se pueden encontrar en el estudio correspondiente (Jhavar *et al.*, BJU Int, vol. 103, n.º 9, págs. 1256-69, 2009) y en el conjunto de datos depositado GSE12378 de Gene Expression Omnibus (GEO). Los criterios de valoración utilizados para este estudio son: recurrencia bioquímica (BCR), puntuación de Gleason y estadio patológico.

35 2) Memorial Sloan Kettering Cancer Centre - EE.UU. (MSKCC): 131 muestras de tejido fresco congelado primario y 19 metastásico obtenidas de 150 pacientes post PR. Las características clínicas y los detalles sobre la preparación de tejidos, la extracción de ARN, la amplificación y la hibridación se pueden encontrar en el estudio correspondiente (Taylor *et al.*, Cancer Cell, vol. 18, n.º 1, págs. 11-22, 2010) y en el conjunto de datos depositados de GEO GSE21034. Las variables clínicas y los criterios de valoración utilizados para este estudio son: Edad, BCR, desarrollo de metástasis, puntuación de Gleason y estadio patológico.

40 3) Fundació Institut Mar d'Investigacions Mèdiques - España (FIMIM): 18 muestras primarias de tejido congelado obtenidas de 18 pacientes post PR. Las características clínicas y los detalles sobre la preparación de tejidos, la extracción de ARN, la amplificación y la hibridación se pueden encontrar en el estudio correspondiente (Agell *et al.*, Am J Pathol, vol. 181, n.º 5, págs. 1585-94, 2012) y en el conjunto de datos depositados de GEO GSE30521. Los criterios de valoración utilizados para este estudio son: puntuación de Gleason y estadio patológico.

45 4) Erasmus Medical Center - Países Bajos (EMC): 48 muestras primarias de tejido congelado obtenidas de 48 pacientes post PR. Las características clínicas y los detalles sobre la preparación de tejidos, la extracción de ARN, la amplificación y la hibridación se pueden encontrar en el estudio correspondiente (Boormans *et al.*, Int J Cancer. 133(2):335-45; 15 de julio de 2013) y en el conjunto de datos depositado de GEO GSE41408. Las variables clínicas y los criterios de valoración utilizados para este estudio son: BCR, desarrollo de metástasis, puntuación de Gleason y estadio patológico.

Las muestras de estas cuatro cohortes se preprocesaron usando un promedio de matrices múltiples robusto congelado (fRMA), con normalización de cuantiles y resumen promedio ponderado robusto.

5 Mayo Clinic - Capacitación y Primera Validación Independiente (Mayo Clinic I y II): 359 y 186 muestras de tejido primarias fijadas en formalina y embebidas en parafina (FFPE), respectivamente. Las características clínicas y los detalles sobre la preparación de tejidos, la extracción de ARN, la amplificación, la hibridación y el preprocesamiento se pueden encontrar en el Ejemplo 1. Las variables clínicas y los criterios de valoración utilizados para este estudio son: BCR, desarrollo de metástasis, puntuación de Gleason y estadio patológico.

10 6) Mayo Clinic - Segunda Validación Independiente (Mayo Clinic III): 219 muestras primarias de tejido FFPE. Los criterios de inclusión del estudio, las características clínicas y los detalles sobre la preparación de tejidos, la extracción de ARN, la amplificación, la hibridación y el preprocesamiento se pueden encontrar en el Ejemplo 1. Las variables clínicas y los criterios de valoración utilizados para este estudio son: BCR, desarrollo de metástasis, puntuación de Gleason y estadio patológico. Esta cohorte se basa en un diseño de casos en una cohorte, que permite evaluar la supervivencia mediante el método de Barlow (Barlow *et al.* J Clin Epidemiol, vol. 52, n.º 12, págs. 1165-72, 1999).

Para cada cohorte, los valores de expresión asociados para los 22 marcadores en GC se extrajeron de las Human Exon Arrays de Affymetrix disponibles para cada paciente y se calculó la puntuación de GC. Se usó una curva de predicción utilizando el modelo de regresión de Cox para convertir la puntuación de GC de 22 marcadores de la micromatriz de oligonucleótidos en una probabilidad del paciente de metástasis clínica en 5 años tras la PR (en lo sucesivo denominada probabilidad de GC). La curva se modeló usando una población de 1.010 hombres de riesgo alto tratados para cáncer de próstata con PR (Ejemplo 1), para el criterio de valoración de metástasis clínica en 5 años tras la PR. Se crea una función que traduce las puntuaciones de GC en probabilidades de eventos de metástasis de 5 años clínicas y la línea resultante de mejor ajuste se usa para predicciones futuras para nuevos pacientes. Esta probabilidad se informa como una probabilidad porcentual en 5 años tras la PR. Se calculó la probabilidad de riesgo de metástasis en cinco años para cada uno de los pacientes. Las probabilidades de riesgo se dicotomizaron aún más en torno al riesgo promedio de metástasis de un 6 % en 5 años que se observó en el estudio de validación con enmascaramiento de diseño prospectivo de una población de riesgo alto tratada en Mayo Clinic (Ejemplo 1). Se calcularon el valor predictivo negativo (VPN) y el valor predictivo positivo (VPP) para reflejar una prevalencia poblacional de un 4,5 % (Solo *et al.*, ASCO Annual Meeting, vol. 29. Journal of Clinical Oncology, pág. resumen 4637). Cuando una cohorte de estudio tenía los datos para el análisis de supervivencia, todos los parámetros utilizados para evaluar el rendimiento de GC, tal como el área bajo la curva de eficacia diagnóstica, la precisión, la sensibilidad y la especificidad, se calcularon utilizando métodos adecuados para datos de supervivencia censurados estadísticamente y descritos en (Heagerty *et al.*, Biometrics, vol. 56, n.º 2, págs. 337-44, 2000).

Resultados

Las 1008 muestras evaluadas en este estudio corresponden a tejido fijado en formalina y embebido en parafina (FFPE) o fresco congelado obtenido después de una prostatectomía radical (PR) y presentan niveles de riesgo variables según lo determinado por las directrices clínicas y en función de las características clínicas y patológicas del paciente. De las 7 cohortes evaluadas en este estudio, cinco de ellas (MSKCC, EMC y Mayo Clinic I, II y III) correspondientes a 962 pacientes únicos, tenían datos de resultados de metástasis, el criterio principal de valoración para el que se desarrolló el GC. En estos 962 pacientes, un 46 % eran pacientes > 65 años en PR y más de un 60 % se definieron por las pautas de NCCN como de riesgo alto y candidatos para radioterapia posoperatoria (Tabla 56). Con el fin de cuantificar la capacidad pronóstica de GC en estas cinco cohortes, los presentes inventores han calculado el área bajo la curva (AUC) de eficacia diagnóstica (ROC) sobre las probabilidades de riesgo de metástasis obtenidas con el ensayo. El parámetro AUC les permite evaluar una herramienta de pronóstico en todos los umbrales de sensibilidad y especificidad representados en la curva ROC. Los valores mayores, más cerca de 1, indican un mejor rendimiento. El AUC en estas cohortes varía de 0,76 (Mayo Clinic II) a 0,88 (cohorte MSKCC), con el mayor rendimiento obtenido de 0,90 en Mayo Clinic I, el conjunto de entrenamiento utilizado para desarrollar GC (Tabla 56). Las probabilidades de riesgo de GC se dicotomizaron en torno al riesgo promedio de metástasis de un 6 % en 5 años que se observó en el estudio de validación con enmascaramiento de diseño prospectivo de una población de riesgo alto tratada en Mayo Clinic (Ejemplo 1). Usando este umbral, la precisión general varía entre un 70 % (cohorte del Erasmus Medical Center) y un 89 % (cohorte del MSKCC) y la sensibilidad y especificidad promedio es de un 69 % y un 80 % respectivamente, con un valor predictivo negativo (VPN) medio de un 98,2 %. Esto demuestra un rendimiento fuerte de GC en estas cinco cohortes según los parámetros mencionados anteriormente. La puntuación de Gleason, posiblemente la variable patológica más pronóstica en el cáncer de próstata, tuvo una precisión, sensibilidad y especificidad promedio, VPN y VPP de solo un 72 %, un 61 %, un 77 %, un 97,7 %, un 11,3 % cuando se dicotomizó en pacientes con una puntuación de Gleason ≥ 8 frente a una puntuación de Gleason < 8 . Otros factores clínicos y patológicos de rutina tuvieron una capacidad mucho menor para pronosticar el desarrollo de metástasis en estas cohortes (datos no mostrados). Como se señaló en los informes anteriores de los presentes inventores, GC proporcionó información de pronóstico independiente y es un factor predictivo de metástasis mejor que las variables clínicas o patológicas entre los hombres con riesgo de recurrencia debido a su especificidad aumentada significativamente. De hecho, la adición de factores clínicos y patológicos de rutina, incluida la puntuación de Gleason, al GC no mejora significativamente su capacidad para predecir las probabilidades de metástasis de 5 años. Además, estos resultados sugieren que GC es una prueba

sólida para predecir la probabilidad de riesgo de metástasis en cinco años que se puede usar de manera fiable en cohortes de diferentes características clínicas y escenarios de práctica, con una gran capacidad para identificar correctamente a los pacientes que no tienen un riesgo real de metástasis debido a la naturaleza biológica de su tumor, como lo demuestra la alta especificidad y el VPN. Es importante tener en cuenta que estas estadísticas de rendimiento se confunden por la asignación no aleatoria del tratamiento adyuvante posoperatorio y de rescate, lo que puede retrasar significativamente y en algunos casos, incluso evitar el desarrollo de metástasis (véase más adelante). En conjunto, dentro de estas cinco cohortes, los pacientes sin evento metastásico tienen una mediana de la probabilidad de riesgo que cae por debajo del umbral de un 6 % (Figura 56). Por consiguiente, los pacientes que tuvieron metástasis tienen una mediana de la probabilidad de riesgo por encima del umbral de un 6 %, muchos de ellos presentan una clara biología tumoral de riesgo alto. Si bien esta tendencia observada está de acuerdo con los resultados esperados, hay algunos pacientes que corresponden a probabilidades de bajo riesgo con metástasis y a probabilidades de riesgo alto sin el evento. Varios factores pueden explicar estos resultados. En primer lugar, en los pacientes con una alta probabilidad de riesgo pronosticado puede que no se produjera metástasis debido a la intervención temprana y a la extirpación del tumor primario localizado con PR que resultó curativa. En segundo lugar, los datos de seguimiento insuficientes pueden dar como resultado un evento de metástasis no registrado (el tiempo para desarrollar metástasis en el cáncer de próstata puede tardar entre 8 y 10 años después de la cirugía). Por último, el tratamiento secundario posterior a la PR de los pacientes (por ejemplo, radiación o terapia hormonal) puede retrasar o suprimir significativamente la progresión a la enfermedad metastásica.

De las 7 cohortes con probabilidades calculadas de metástasis en cinco años, los datos de resultados de metástasis no estaban disponibles para 2 de ellos (ICR, FIMIM). Aún así, se puede explorar una evaluación de la correlación entre las probabilidades de GC y el riesgo clínico. La prevalencia conjunta de recurrencia bioquímica (BCR), la enfermedad pT3 y la puntuación de Gleason (GS) alta se usaron como pautas para clasificar las 7 cohortes de menor a mayor riesgo (Figura 57). Como se esperaba, la proporción de pacientes clasificados como de bajo riesgo según las probabilidades de GC disminuye a medida que aumenta el riesgo clínico de la cohorte. Por consiguiente, la proporción de pacientes evaluados como de alto riesgo por GC aumenta a medida que aumenta el riesgo clínico. Por ejemplo, en las poblaciones de más bajo riesgo (ICR, MSKCC), GC no sobrestimó el riesgo ya que menos de un 6,7 % de los pacientes tenían altas probabilidades. Por el contrario, en las cohortes de Mayo, más de un 23 % de los pacientes tenían las probabilidades más altas de GC (con una probabilidad de metástasis en 5 años superior a un 13 %). Este análisis muestra en 1008 pacientes que la distribución de probabilidades de GC, como era de esperar, refleja el riesgo biológico subyacente de progresión de la enfermedad metastásica en diversas poblaciones de pacientes. Mientras que el evento de metástasis es el criterio de valoración más directo que se puede utilizar para evaluar el rendimiento de GC, también pueden resultar útiles otras características disponibles para la mayoría de las cohortes descritas aquí para comprender su capacidad para predecir adecuadamente la probabilidad de metástasis.

Una característica patológica establecida que se utiliza entre los facultativos para las decisiones de tratamiento (solo o junto con otras variables clínicas) es la puntuación de Gleason (GS, por sus siglas en inglés). Si bien este es un parámetro subjetivo que se basa en la interpretación de la histología, se ha demostrado que es la característica pronóstica de mayor rendimiento en el cáncer de próstata cuando lo realiza un patólogo genitourinario experto. Sin embargo, la mayoría de los pacientes con cáncer de próstata se clasifican como GS7, que es un grupo que ha demostrado ser altamente heterogéneo en términos de resultados clínicos. En conjunto, los valores más altos de GS son indicativos de una arquitectura tisular alterada y se correlacionan con un mal resultado. Por tanto, la distribución de las probabilidades de riesgo previstas de metástasis en cinco años por GC debe ser de modo que aumente con una GS mayor. La distribución de las probabilidades de riesgo previstas de metástasis en 997 pacientes de 7 cohortes con GS disponible muestra que esta tendencia se confirma (Figura 58), con un valor medio creciente de esta probabilidad de riesgo a medida que aumenta la GS. Además, GC demuestra precisión al categorizar eventos metastásicos dentro de grupos GS (Figura 58). Como se esperaba, la variación más amplia de la probabilidad de GC se observó en el grupo GS7. Aún así, la mayoría de las muestras GS7 que desarrollaron metástasis tenían altas probabilidades de GC. Estos resultados destacan el papel potencial conjunto del GC con la información histopatológica para mejorar la predicción del riesgo.

Además de GS, 414 pacientes dentro de las 7 cohortes tienen información sobre el evento de BCR. Mientras que BCR tiene baja especificidad para el desarrollo de metástasis (Pound *et al.*, JAMA, vol. 281, n.º 17, págs. 1591-7, 1999) y por tanto, la evaluación de la correlación de las probabilidades de GC con BCR podría no ser informativa, para el conjunto de pacientes en los que no se observó BCR después de la PR, el resultado esperado de una prueba que tiene una alta especificidad es que la mayoría de los pacientes tendrían un riesgo bajo de probabilidad de metástasis en cinco años. Como se esperaba, al centrarse en pacientes que no presentaron BCR tras la PR dentro de estas 7 cohortes, la mediana de la probabilidad de metástasis se encuentra constantemente por debajo del umbral de un 6 %, correspondiente a un resultado de prueba de GC de bajo riesgo (Figura 59). Aún así, para una pequeña fracción de los 414 pacientes, la probabilidad de riesgo cae por encima del umbral de un 6 %, lo que puede explicarse por varios factores discutidos anteriormente para el criterio de valoración metastásico. Para aquellos pacientes de las cohortes de la Mayo Clinic que fueron tratados después de PR (y antes de BCR, Figura 59), la proporción de pacientes tratados dentro del grupo de probabilidad de bajo riesgo es menor que la proporción de pacientes tratados dentro del grupo de probabilidad de alto riesgo (Tabla 57). Curiosamente, muchos de los pacientes con probabilidades previstas por encima del umbral de un 6 % se sometieron a tratamiento (probablemente como consecuencia de otros factores patológicos adversos, tales como márgenes quirúrgicos positivos), sugiriendo que para pacientes con altas

probabilidades de GC, la intensificación con la terapia adyuvante secundaria puede retrasar o suprimir la BCR y la enfermedad metastásica posterior para los adenocarcinomas primarios que se presentaron inicialmente con una biología tumoral agresiva.

- 5 GC se ha evaluado en 7 cohortes independientes con un total de 1.008 pacientes con cáncer de próstata que se sometieron a PR para su tumor primario. Los resultados de rendimiento de GC fueron coherentes en todas las cohortes de validación y no sobreestimaron la metástasis en pacientes de menor riesgo, mostrando una distribución esperada de probabilidades entre diversas poblaciones de pacientes en función de su riesgo biológico de progresión de la enfermedad metastásica. En conjunto, GC es un factor predictivo independiente y mejor de metástasis que las
- 10 variables clínicas o patológicas entre los hombres con riesgo de recurrencia y también puede identificar pacientes que no tienen un riesgo real de metástasis, ahorrándoles así terapias más agresivas adicionales. La especificidad robusta y el valor predictivo negativo de GC demostrado en estudios retrospectivos y prospectivos establece la validez clínica de la prueba de GC.

15 Tabla 56

Estudio	MSKCC (N = 150)	EMC, (N = 48)	Mayo I (N = 359)	Mayo II (N = 186)	Mayo III (N = 219)	Global (N = 962)
Institución	Memorial Sloan Kettering	Erasmus Medical Center	Mayo Clinic	Mayo Clinic ¹	Mayo Clinic ²	
% Metástasis (Prevalencia en la cohorte)	19 %	19 %	40 %	37 %	8 %	33 %
% Pacientes > 65 años	17 %	-	57 %	55 %	33 %	46 %
% alto riesgo de NCCN	45 %	67 %	62 %	58 %	74 %	61 %
% pT3	31 %	54 %	47 %	46 %	43 %	44 %
% Gleason 8+	16 %	19 %	39 %	38 %	37 %	35 %
AUC	0,88	0,82	0,90	0,76	0,79	0,82
Precisión global	89 %	71 %	82 %	70 %	70 %	71 %
Sensibilidad	61 %	78 %	67 %	72 %	78 %	69 %
Especificidad	96 %	69 %	9,1 %	69 %	62 %	80 %
VPN ³	98,1 %	98,5 %	98,3 %	98,1 %	98,4 %	98,2 %
VPP ³	41,8 %	10,6 %	26,0 %	9,9 %	8,8 %	14,0 %

Las características del estudio de 5 cohortes con información de metástasis disponible y rendimiento de Decipher en la predicción de la precisión global de metástasis, la sensibilidad y la especificidad reflejan un límite de probabilidad de metástasis de un 6 %. Riesgo alto de NCCN definido por el estadio tumoral patológico pT3 o márgenes quirúrgicos positivos (SM).

Tabla 57

Estudio	Mayo	Mayo II	Mayo III
Por debajo del límite	25 %	35 %	45 %
Por encima del límite	55 %	44 %	53 %

20 **Ejemplo 15: Rendimiento de un clasificador genómico de 22 marcadores que predice metástasis después de una prostatectomía radical en pacientes recomendados para terapia secundaria por las directrices de práctica clínica de AUA y NCCN**

Los presentes inventores han descrito previamente un clasificador genómico (GC) de 22 marcadores que tiene un rendimiento mejorado sobre las variables clinicopatológicas estándar en la detección del potencial de metástasis basada en el perfil genético de un tumor primario en PR. Aquí examinan si los pacientes con cáncer de próstata designados como de riesgo alto por los criterios de la AUA o la NCCN después de la PR pueden categorizarse con mayor precisión en función de su perfil genómico (es decir, la puntuación de riesgo de GC), identificando así a los

25 hombres que pueden beneficiarse de la intensificación de la terapia y a los que pueden evitar un tratamiento innecesario.

30 (a) Selección y procesamiento de especímenes

Este estudio se centró en una cohorte de pacientes del registro de tumores de Mayo Clinic que se sometieron a PR

por adenocarcinoma prostático entre 2000 y 2006 (Ejemplo 1). Esta población era clínicamente de riesgo alto de metástasis, definido por niveles preoperatorios de antígeno prostático específico (PSA) >20 ng/ml, puntuación de Gleason patológica ≥ 8 , SVI o GPSM (puntuación de Gleason; PSA preoperatorio; SVI; SM) puntuación ≥ 10 (Thompson *et al.*, The Journal of urology. 2007;178(2):459-63). Los presentes inventores diseñaron un estudio de casos en una cohorte que muestreó aleatoriamente ~20 % de la cohorte y añadió a los pacientes metastásicos al conjunto de datos que no se seleccionaron en el muestreo aleatorio. Después de la exclusión por falta de disponibilidad de tejido y control de calidad, se identificaron 159 pacientes de esta población (48 con metástasis y 111 sin ella) que tenían enfermedad pT3N0M0 patológicamente confirmada o enfermedad pT2N0M0 con márgenes quirúrgicos positivos; se recomendó a los pacientes con estas características que recibieran radioterapia adyuvante según las directrices de la AUA y la NCCN (Rosenfeld S. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Prostate Cancer. 2013; Thompson *et al.*, Adjuvant and Salvage Radiotherapy After Prostatectomy: AUA/AS-TRO Guideline. J Urol.)

Tras la revisión histopatológica de los casos anteriores, los tejidos de adenocarcinoma prostático primario fijados en formalina y embebidos en parafina (FFPE) se macrodisecionaron como se ha descrito anteriormente. A continuación, se extrajo el ARN total y se purificó utilizando el kit de extracción de ácido nucleico RNeasy FFPE (Qiagen Inc., Valencia, California) y se sometió a amplificación del transcriptoma completo utilizando el sistema FFPE WT-Ovation (NuGen, San Carlos, California). Los productos amplificados se fragmentaron, se marcaron e hibridaron con Human Exon 1.0 ST GeneChips (Affymetrix, Santa Clara, California). Tras el control de calidad de micromatrices utilizando los paquetes Power Tools de Affymetrix (Lockstone, Briefings in bioinformatics. 2011; 12 (6): 634-44) el resumen y la normalización del conjunto de sondas se realizó mediante un análisis de múltiples matrices robusto congelado, que está disponible a través de Bioconductor (McCall *et al.*, Biostatistics (Oxford, Inglaterra). 2010;11(2):242-53). La expresión de las 22 características en la matriz que componen el GC (Ejemplo 3) se utilizó como aporte para calcular la puntuación de cada uno de los 159 pacientes de alto riesgo.

(b) Análisis estadístico

Se usaron métodos de diagnóstico gráfico, basados en curvas de eficacia diagnóstica (ROC) y datos censurados estadísticamente, para determinar un límite de puntuación de GC provisional para el grupo de NCCN con un mayor riesgo de metástasis en comparación con el conjunto de datos de validación original (Ejemplo 1). GC se comparó con las variables clinicopatológicas estándar para predecir el criterio de valoración primario de metástasis. Se usó el índice de resumen de concordancia (índice c), una extensión del área bajo la curva (AUC) de ROC para datos de supervivencia censurados estadísticamente, para comparar el rendimiento del clasificador para predecir metástasis. Se evaluaron las curvas ROC de supervivencia (Heagerty *et al.*, Biometrics. 2000;56(2):337-44) para la predicción de metástasis dentro de los 5 años posteriores a la PR. Para la función de ROC de supervivencia, se utilizó el estimador del vecino más cercano con $\lambda=0,002$ para aproximar la densidad de la función de supervivencia.

Se utilizó un análisis de riesgos instantáneos proporcionales ponderados de Cox para probar las asociaciones con el criterio de valoración metastásico para un diseño de estudio de casos en una cohorte (Lin y Ying, Journal of the American Statistical Association. 88(424):1341-1349; Barlow *et al.*, Journal of clinical epidemiology. 1999;52(12):1165-72). Las asunciones de riesgos instantáneos proporcionales del modelo de Cox se confirmaron mediante la evaluación de los residuos de Schoenfeld escalados (Grambsch PM, Therneau TM. Proportional Hazards Tests and Diagnostics Based on Weighted Residuals. 2013;81(3):515-526). GC se utilizó como variable continua (tamaño de etapa = 0,1); la puntuación de Gleason patológica se dividió en < 8 y ≥ 8 ; los valores de PSA preoperatorios se transformaron logarítmicamente debido a su distribución asimétrica; SVI, SM, ECE y administración de terapia hormonal adyuvante se utilizaron como variables binarias. Las curvas de incidencia acumulada se construyeron utilizando el análisis de riesgos competitivos de Fine-Gray para acomodar la censura estadística debido a los decesos y otros eventos (Fine et al, Journal of the American Statistical Association. 94(446):496-509). Los análisis dependientes del tiempo se realizaron ponderando los pacientes sin metástasis, como sugiere Barlow (Barlow WE. Robust Variance Estimation for the Case-Cohort Design. 2013;50(4):1064-1072). El beneficio clínico neto se estimó utilizando una extensión del análisis de la curva de decisión para los datos de supervivencia (Vickers *et al.*, BMC medical informatics and decisionmaking. 2008; 8:53).

Todos los análisis estadísticos se realizaron en R v2.14.1. Todas las pruebas fueron bilaterales con una probabilidad de error de tipo I de un 5 %.

RESULTADOS

Este estudio identificó a 159 pacientes que cumplieron con los criterios de la AUA y la NCCN para considerar la radioterapia adyuvante. Un total de 57 (35,8 %) hombres tenían pT2N0M0 con márgenes quirúrgicos positivos y 102 (64,2 %) hombres tenían pT3N0M0 o enfermedad mayor de casos en una cohorte de pacientes con cáncer de próstata de riesgo alto (Tabla 58). Un total de 83 (52,2 %) pacientes experimentaron recurrencia bioquímica (BCR), 48 (30,2 %) desarrollaron enfermedad metastásica como lo demuestran las gammagrafías óseas y/o las tomografías computarizadas y 18 (11,3 %) fallecieron a causa de la enfermedad en el último seguimiento.

Para comprender la capacidad pronóstica del clasificador de 22 marcadores, GC, dentro de este grupo de pacientes,

se construyeron curvas ROC de supervivencia en 5 años para el criterio de valoración de metástasis para este clasificador, así como para variables clinicopatológicas establecidas evaluadas en PR (Figura 60). GC mostró un AUC de 0,82 mientras que la variable clinicopatológica más significativa fue la puntuación de Gleason patológica (pGS) con un AUC de 0,67. Además, el límite inferior para el intervalo de confianza (IC) del 95 % asociado para GC no solapó con el límite superior para ninguna variable clinicopatológica distinta de pGS, lo que sugiere que GC supera significativamente a la mayoría de las variables establecidas. El AUC de GC también fue mayor que el de varios genes pronósticos notificados anteriormente para el cáncer de próstata (Figura 61). GC también se comparó con otros nomogramas clínicos estandarizados, que incluía el nomograma de Stephenson (Stephenson *et al.*, Postoperative Nomogram Predicting the 10-Year Probability of Prostate Cancer Recurrence After Radical Prostatectomy. 2008;23(28):7005-7012) y de CAPRA-S (Cooperberg *et al.*, Cancer. 2011;117(22):5039-46.) (Figura 62). GC superó los dos nomogramas establecidos (AUC de 0,82, 0,76 y 0,71, respectivamente) para la predicción de metástasis a los 5 años después de la PR.

Para considerar el papel pronóstico potencial de las variables clinicopatológicas en combinación, se construyó un clasificador solo clínico (CC; que incluye pGS, PSA preoperatorio, ECE, SVI, SM) para esta cohorte de pacientes y a continuación, se combinó con GC para producir un clasificador genómico-clínico (GCC). Si bien el AUC de CC (0,73) fue comparable a los otros nomogramas solo clínicos, su combinación con GC (como GCC) aumentó su AUC a 0,86. Sin embargo, la superposición de los IC del 95 % para GCC y GC indicó que sus rendimientos eran estadísticamente comparables. La combinación de GC con el nomograma de Stephenson, el mejor clasificador solo clínico de esta cohorte, aumentó el AUC a 0,84, aunque los IC del 95 % aún indicaban que su rendimiento era comparable al de GC solo.

A continuación, se utilizaron curvas de decisión para comparar el beneficio clínico neto (es decir, la implicación clínica de los falsos positivos) de los clasificadores basados en genómica con factores clinicopatológicos y modelos solo clínicos. Cuando se compara con las variables clinicopatológicas, GC mostró un beneficio neto mucho mayor (Figura 63A). Cuando se compara con los modelos de riesgo solo clínicos, los clasificadores basados en genómica (es decir, GC y GCC) tuvieron un beneficio neto comparablemente mayor, lo que sugiere que los modelos de GC tienen una especificidad aumentada (es decir, menos falsos positivos), sin sacrificar la sensibilidad (Figura 63B).

El rendimiento de GC dentro de este grupo de pacientes se evaluó además mediante análisis de supervivencia univariante y multivariante. El análisis univariante mostró que la GC fue significativamente pronóstica para el criterio de valoración de metástasis ($p < 0,001$; Tabla 59A). La GS patológica ($p < 0,001$) y la ECE ($p=0,02$) también fueron factores predictivos significativos de metástasis con IC del 95 % más amplios. El análisis multivariante mostró que la capacidad pronóstica de GC se mantuvo, tras ajustar por variables clinicopatológicas y tratamiento hormonal adyuvante ($HR=1,59$, IC 95 %=[1,33,1,90], $p < 0,001$), la mayoría de las variables clinicopatológicas, con la excepción del PSA preoperatorio ($p=0,009$), se volvieron estadísticamente no significativas (Tabla 59B). Estas observaciones persistieron incluso cuando los grados de Gleason patológicos primario y secundario se consideraron por separado (Tabla 60). Si bien el análisis univariante también mostró que los nomogramas solo clínicos que incluyen CC, el nomograma de Stephenson y CAPRA-S fueron significativamente pronósticos para el criterio de valoración de metástasis (todos $p < 0,001$; Tabla 61A), el análisis multivariable emparejado de GC con cada nomograma solo clínico mostró que GC independientemente tenía el mayor potencial de pronóstico ($p < 0,001$) con el índice de riesgo más alto (Tabla 61B).

Las puntuaciones de GC asociadas con pacientes en esta cohorte de alto riesgo variaron de 0,0086 a 0,9906 con una mediana de 0,35 (IQR: 0,21, 0,604). Los pacientes asociados con puntuaciones más bajas pueden representar (i) casos falsos negativos o (ii) los de un riesgo menor que el estimado por las directrices de AUA y NCCN. Para abordar esta observación, un umbral óptimo que maximiza la sensibilidad y la especificidad para la puntuación de GC se derivó primero en 0,4. A continuación, los pacientes se categorizaron en grupos de bajo riesgo de GC ($GC < 0,4$) y de alto riesgo de GC ($GC \geq 0,4$) en función de sus puntuaciones de GC. Como se muestra en la Figura 64, solo 13 de 88 (14,8 %) pacientes en el grupo de riesgo bajo de GC tuvieron un evento metastásico en comparación con un 49,3 % de los casos en el grupo de riesgo alto de GC. Esta diferencia en el número de eventos metastásicos sugiere que las puntuaciones bajas de GC dentro de esta cohorte corresponden a pacientes que podrían necesitar una reevaluación de sus niveles de riesgo. La proporción de hombres que sufrieron metástasis según esta agrupación de sus puntuaciones de GC fue comparable incluso después de excluir a los pacientes que recibieron tratamientos adyuvantes (Figura 65).

Para evaluar además la distribución de las puntuaciones de GC descritas anteriormente, se generaron gráficas de incidencia acumulada que representaban la frecuencia de desarrollo de metástasis a lo largo del tiempo para los grupos de riesgo GC-bajo y GC-alto (Figura 66). Las probabilidades de incidencia acumulada de desarrollar metástasis fueron significativamente diferentes entre los dos grupos de riesgo según las puntuaciones de GC ($p < 0,001$), con una incidencia de un 2 % en 5 años (5 % en 10 años) para el grupo de bajo riesgo de GC en comparación con un 14 % de incidencia en 5 años (25 % en 10 años) para el grupo de alto riesgo de GC. Los resultados de la reclasificación y la incidencia acumulada sugieren que hay un número significativo de pacientes en el grupo de alto riesgo de GC que podrían beneficiarse del tratamiento, mientras que los pacientes en el grupo de bajo riesgo de GC pueden no tener un riesgo alto de progresar a metástasis y por tanto, no necesitan un tratamiento intensificado.

Anteriormente, los presentes inventores han demostrado que un GC multivariable compuesto por 22 marcadores tiene un valor pronóstico independiente para detectar el cáncer de próstata metastásico en comparación con las variables clinicopatológicas establecidas en el escenario posterior a la PR. Si bien el GC es un pronóstico para la enfermedad de riesgo alto después de la prostatectomía, las decisiones clínicas con respecto a la intensificación del tratamiento con radiación adyuvante actualmente se guían por la presencia de características de riesgo alto que incluyen enfermedad T3 (pT3N0M0) o enfermedad T2 con márgenes positivos (pT2N0M0, SM+). Los resultados presentados en este estudio detallan la capacidad de GC para predecir la enfermedad metastásica en tales pacientes después de la PR.

Tabla 58

	Total	Casos	Controles
Factores clinicopatológicos	n	n (fila %)	n (fila %)
Cohorte de estudio	159	48 (30,0)	111 (70,0)
Estadio patológico			
pT2N0M0	57	8 (14,0)	49 (86,0)
pT3/4N0M0	102	40 (39,2)	62 (60,8)
Puntuación de Gleason patológica (ruta GS)			
≤ 6	10	0 (0,0)	10 (100,0)
7	95	22 (23,2)	73 (76,8)
≥ 8	54	26 (48,1)	28 (51,9)
Antígeno prostático específico preoperatorio (PSA preoperatorio)			
< 10 ng/ml	97	26 (26,8)	71 (73,2)
10-20 ng/ml	42	14 (33,3)	28 (66,7)
> 20 ng/ml	20	8 (40,0)	12 (60,0)
Invasión de vesículas seminales (SVI)	63	24 (38,1)	39 (61,9)
Estado del margen quirúrgico (SM)	105	28 (26,7)	77 (73,3)
Extensión extracapsular (ECE)	74	30 (40,5)	44 (59,5)
Antígeno prostático específico preoperatorio (PSA preoperatorio)			
Recurrencia bioquímica (BCR)	83	48 (57,8)	35 (42,2)
Mortalidad específica por cáncer de próstata (PCSM)	18	18 (100,0)	0 (0,0)
Radioterapia adyuvante	22	9 (40,9)	13 (59,1)
Terapia adyuvante de privación de andrógenos	42	16 (38,1)	26 (61,9)
Radioterapia de rescate	56	23 (41,1)	33 (58,9)
Terapia de privación de andrógenos de rescate	65	45 (69,2)	20 (30,8)

Tabla 59A

	Total	Casos	Controles
Factores clinicopatológicos	n	n (fila %)	n (fila %)
Cohorte de estudio	159	48 (30,0)	111 (70,0)
Estadio patológico			
pT2N0M0	57	8 (14,0)	49 (86,0)

(continuación)

	Total	Casos	Controles
Factores clinicopatológicos	n	n (fila %)	n (fila %)
pT3/4N0M0	102	40 (39,2)	62 (60,8)
Puntuación de Gleason patológica (ruta GS)			
≤ 6	10	0 (0,0)	10 (100,0)
7	95	22 (23,2)	73 (76,8)
≥ 8	54	26 (48,1)	28 (51,9)
Antígeno prostático específico preoperatorio (PSA preoperatorio)			
< 10 ng/ml	97	26 (26,8)	71 (73,2)
10-20 ng/ml	42	14 (33,3)	28 (66,7)
> 20 ng/ml	20	8 (40,0)	12 (60,0)
Invasión de vesículas seminales (SVI)	63	24 (38,1)	39 (61,9)
Estado del margen quirúrgico (SM)	105	28 (26,7)	77 (73,3)
Extensión extracapsular (ECE)	74	30 (40,5)	44 (59,5)
Recurrencia bioquímica (BCR)	83	48 (57,8)	35 (42,2)
Mortalidad específica por cáncer de próstata (PCSM)	18	18 (100,0)	0 (0,0)
Radioterapia adyuvante	22	9 (40,9)	13 (59,1)
Terapia adyuvante de privación de andrógenos	42	16 (38,1)	26 (61,9)
Radioterapia de rescate	56	23 (41,1)	33 (58,9)
Terapia de privación de andrógenos de rescate	65	45 (69,2)	20 (30,8)
¹ Razón de riesgos instantáneos notificado para incrementos de 0,1 unidades de puntuación bruta.			
² Razón de riesgos instantáneos notificado para incrementos de 1,0 unidades del nivel transformado logarítmicamente.			

Tabla 59B

Factores genómicos y clinicopatológicos	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	p
GC ¹	1,59 (1,33-1,91)	< 0,001
Factores genómicos y clinicopatológicos	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	p
Puntuación de Gleason patológica ≥ 8	1,82 (0,78-4,22)	0,16
Antígeno prostático específico preoperatorio ²	1,78 (1,16-2,73)	0,009
Extensión extracapsular	1,15 (0,49-2,67)	0,75
¹ Razón de riesgos instantáneos notificado para incrementos de 0,1 unidades de puntuación bruta.		
² Razón de riesgos instantáneos notificado para incrementos de 1,0 unidades del nivel transformado logarítmicamente.		

5

Tabla 60A

Factores genómicos y clinicopatológicos	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	p
GC ¹	1,61 (1,37-1,89)	< 0,001
Grado patológico de Gleason primario	3,07 (1,77-5,32)	< 0,001
Grado de Gleason patológico secundario	1,47 (0,83-2,61)	0,19

(continuación)

Factores genómicos y clinicopatológicos	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	p
Antígeno prostático específico preoperatorio ²	1,41 (0,96-2,05)	0,08
Invasión de vesículas seminales	1,75 (0,90-3,39)	0,10
Margen quirúrgico positivo	0,66 (0,33-1,29)	0,22
Extensión extracapsular	2,25 (1,14-4,46)	0,02
Terapia hormonal adyuvante	1,53 (0,74-3,15)	0,25
Radioterapia adyuvante	1,51 (0,62-3,67)	0,36
¹ Razón de riesgos instantáneos notificado para incrementos de 0,1 unidades de puntuación bruta. ² Razón de riesgos instantáneos notificado para incrementos de 1,0 unidades del nivel transformado logarítmicamente.		

Tabla 60B

Factores genómicos y clinicopatológicos	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	p
GC ¹	1,60 (1,35-1,90)	< 0,001
Grado patológico de Gleason primario	2,73 (1,48-5,05)	0,001
Antígeno prostático específico preoperatorio ²	1,85 (1,22-2,82)	0,004
Extensión extracapsular	0,91 (0,42-1,99)	0,82
¹ Razón de riesgos instantáneos notificado para incrementos de 0,1 unidades de puntuación bruta. ² Razón de riesgos instantáneos notificado para incrementos de 1,0 unidades del nivel transformado logarítmicamente.		

5

Tabla 61A

Factores genómicos y clinicopatológicos	Razón de riesgos instantáneos (IC del 95 %)	p
GC ¹	1,61 (1,37-1,89)	< 0,001
CC ¹	1,41 (1,19-1,67)	< 0,001
GCC ¹	1,47 (1,27-1,69)	< 0,001
5 años de Stephenson ¹	1,41 (1,23-1,62)	< 0,001
CAPRA-S	1,50 (1,28-1,75)	< 0,001
¹ Razón de riesgos instantáneos notificado para incrementos de 0,1 unidades de puntuación bruta.		

Tabla 61B

Factores genómicos y clinicopatológicos	Razón de riesgos instantáneos* (IC del 95 %)	p
GC ¹	1,56 (1,32-1,84)	< 0,001
CC ¹	1,20 (0,96-1,51)	0,12
GC ¹	1,52 (1,27-1,82)	< 0,001
5 años de Stephenson ¹	1,35 (1,10-1,66)	0,005
GC ¹	1,56 (1,32-1,85)	< 0,001
CAPRA-S	1,45 (1,17-1,79)	< 0,001
¹ Razón de riesgos instantáneos notificado para incrementos de 0,1 unidades de puntuación bruta. *Ajustado para hormona adyuvante y radioterapia		

Ejemplo 16: Evaluación de un clasificador genómico de 22 marcadores para una estratificación de riesgos mejorada en pacientes con cáncer de próstata con patologías adversas específicas después de cirugía.

10

La presencia de características patológicas adversas (APF), tal como invasión de vesículas seminales (SVI), extensión extracapsular (ECE), márgenes quirúrgicos (SM) o puntuación de Gleason (GS) ≥ 7 , en los especímenes de prostatectomía radical (PR) se consideran factores de riesgo para la progresión de la enfermedad metastásica. La mayoría de los pacientes que tienen APF tras la PR, sin embargo, no desarrollarán enfermedad metastásica en su vida y morirán de cáncer de próstata. En este punto, los presentes inventores evalúan la capacidad de un clasificador genómico (GC, Ejemplo 3) para predecir la progresión de la enfermedad metastásica después de la PR en subgrupos de pacientes de APF de SVI+, ECE+, SM+ o GS ≥ 7 .

Métodos

Se combinaron la cohorte de pacientes de estudios de cáncer de próstata genómico descritos anteriormente de Mayo Clinic (riesgo alto, Ejemplo 1) y del Memorial Sloan Kettering Cancer Center (también conocido como MSKCC, riesgo intermedio-bajo, Ejemplo 14). Los detalles sobre estas dos cohortes se pueden encontrar en el Ejemplo 1 y en el Ejemplo 14, respectivamente.

Se excluyeron los pacientes con afectación de ganglios linfáticos, la información ausente de APF o los especímenes de tumores no primarios. La información clínica y genómica estuvo disponible para 285 pacientes para generar puntuaciones de GC (Tabla 62).

Los datos de expresión de los 22 marcadores para cada paciente recuperados del Human Exon Array de Affymetrix y la combinación de estos en el GC (algoritmo de Random Forest) se utilizaron para obtener una puntuación del paciente de 0 a 1. Se calcularon las puntuaciones de GC para cada paciente. Las puntuaciones de GC varían de 0 (bajo potencial metastásico) a 1 (alto potencial metastásico).

Análisis estadístico

Se seleccionaron subconjuntos de pacientes de la cohorte combinada final de acuerdo con la característica de patología adversa correspondiente (SM+, ECE+, SVI+ o GS ≥ 7).

Se realizó un análisis de ROC estándar en la cohorte general y en los subconjuntos. Las razones de posibilidades se calcularon mediante un modelo de regresión logística multivariable e incluyeron las puntuaciones de GC con todos los APF relevantes. Variable proporcionada independiente y estadísticamente significativa en $p < 0,05$.

Las puntuaciones de GC se dicotomizaron en riesgo alto (GC $\geq 0,4$) y bajo. Se evaluó la reclasificación de subgrupos de APF por categorías de riesgo de GC.

Resultados

En ambas cohortes de pacientes, el índice c de GC fue 0,79 y fue significativamente más alto que cualquier APF individual (intervalo 0,54-0,72) para predecir la enfermedad metastásica después de la PR (Figura 67). Los índices c de GC en el análisis de subconjuntos de APF para los subconjuntos de SVI+, ECE+, SM+ y GS ≥ 7 fueron 0,83, 0,79, 0,86 y 0,77, respectivamente (Figuras 68-71). El análisis multivariable reveló que GC fue el factor predictivo más significativo de la progresión de la enfermedad metastásica en ambas cohortes (Tabla 63) y dentro de todos los subconjuntos de APF con razones de posibilidades (para incrementos de 0,1 unidades) de 1,87, 1,56, 1,86 y 1,58 en los subconjuntos de SVI+, ECE+, SM+ y GS ≥ 7 , respectivamente (todos $p < 0,001$) (Tabla 64). El análisis de reclasificación reveló que la mayoría de las muertes específicas por cáncer de próstata ocurrieron en pacientes con una puntuación alta de GC (GC $\geq 0,4$) (Tabla 65).

Este análisis de subconjuntos sugiere que un enfoque de clasificador genómico proporciona información pronóstica adicional a las variables patológicas y mantiene un rendimiento coherente para predecir metástasis entre subconjuntos de pacientes con APF específicas.

Tabla 62

Variable Clínica	Factores patológicos/Criterios de valoración	Estudio (%)
Pacientes	-	285
Seguimiento	Mediana, años (intervalo)	5,66 (0,15-12,4)
PSA preoperatorio	< 10ng/ml	187
	10-20 ng/ml	62
	> 20 ng/ml	36
Puntuación de Gleason patológica	≤ 6	42
	7	159
	≥ 8	84

(continuación)

Variable Clínica	Factores patológicos/Criterios de valoración	Estudio (%)
Pacientes	-	285
Características de patología adversa	Márgenes quirúrgicos positivos	126
	Extensión extracapsular	139
	Invasión de vesículas seminales	72
	Gleason patológico ≥ 7	243
Recurrencia bioquímica	Evento	109
Enfermedad metastásica	Evento	60
PCSM	Evento	20

Tabla 63

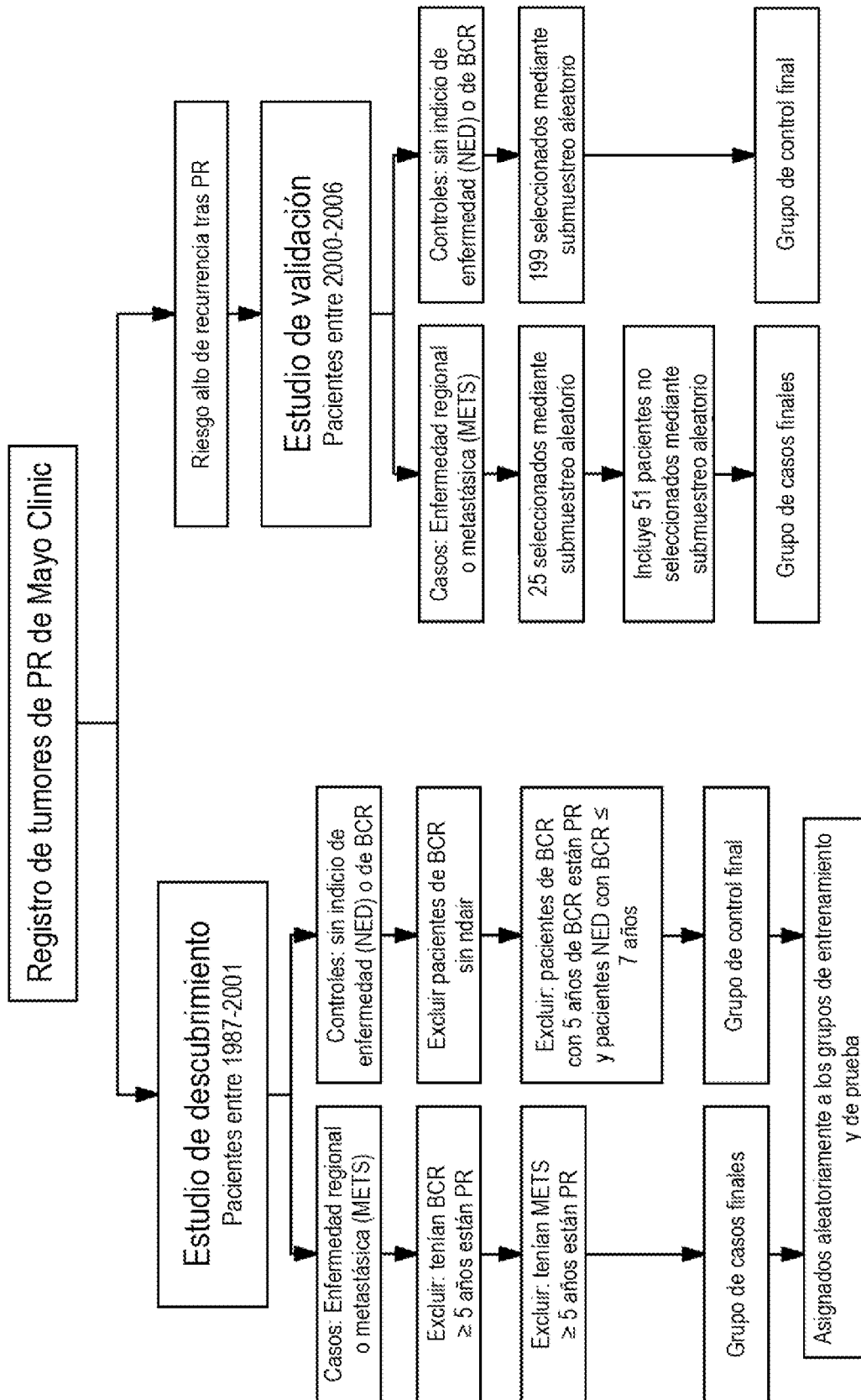
MVA en la cohorte de pacientes global (N=285)			
	OR	IC 95 %	valor p
GC ¹	1,54	1,31 – 1,81	<0,0001
SM+	1,00	0,50 – 2,00	0,99
ECE	1,54	0,78 – 3,07	0,22
SVI	1,87	0,92 – 3,82	0,08
Path GS ²	2,92	1,47 – 5,77	0,002
PSAp ³	1,25	0,92 – 1,69	0,16

Tabla 64

Pacientes SVI+				Pacientes ECE+			
	OR	IC 95 %	valor p		OR	IC 95 %	valor p
GC	1,87	1,37 – 2,56	0,0001	GC	1,56	1,24 – 1,96	0,0001
SM+	4,03	0,92 – 17,63	0,06	SM+	1,01	0,39 – 2,58	0,99
ECE	0,37	0,08 – 1,65	0,19	SVI	1,11	0,44 – 2,82	0,82
Path GS	1,62	0,48 – 5,65	0,45	Path GS	2,33	0,94 – 5,80	0,07
PSAp	1,07	0,66 – 1,77	0,78	PSAp	1,32	0,89 – 1,95	0,17
Pacientes GS+				Pacientes de GS ≥ 7			
	OR	IC 95 %	valor p		OR	IC 95 %	valor p
GC	1,26	1,43 – 2,42	<0,0001	GC	1,56	1,35 – 1,84	<0,0001
ECE	1,34	0,29 – 4,36	0,64	SM+	0,88	0,45 – 1,73	0,70
SVI	3,74	1,07 – 13,08	0,04	ECE	1,48	0,78 – 2,91	0,25
Path GS	1,65	0,55 – 4,98	0,38	SVI	1,60	0,76 – 3,24	0,19
PSAp	1,21	0,78 – 1,88	0,39	PSAp	1,21	0,88 – 1,65	0,22

REIVINDICACIONES

1. Un método para pronosticar cáncer de próstata en un sujeto que tiene dicho cáncer, que comprende:
 - 5 (a) determinar un nivel de expresión de una pluralidad de dianas en una muestra del sujeto, en donde la pluralidad de dianas comprende al menos 6 dianas seleccionadas de IQGAP3, ANO7, ZWILCH, CAMK2N1, RABGAP1, EPPK1, GLYATLIP4/PCAT-80, LASPI, MYBPCI, NFIB, NUSAP1, PBXI, PCAT-32, PCDH7, SIPR4, THBS2, TNFRSF19, C6orf10, UBE2C, SENP7, ANLN, C10orf116, PPP6R3, PDSSB, TOP2A, ILIRAP, CENPE, GALNT8, KCNQ1, C6orf155, LUZP2, HEATR3, TMEML, CFBXXbac-BPG1 16M5.17, ECHDC2, ARNTL o SEQ ID NO. 1-43;
 - 10 y
 - (b) pronosticar el cáncer, basándose en los niveles de expresión de la pluralidad de dianas.
2. El método de la reivindicación 1, en donde la pluralidad de dianas comprende una diana codificante o una diana no codificante.
- 15 3. El método de la reivindicación 2, en donde la diana codificante es una secuencia antisentido codificante o una secuencia exónica.
4. El método de la reivindicación 2, en donde la diana no codificante comprende una secuencia intrónica, solapa parcialmente a una secuencia intrónica, una secuencia intergénica, una UTR o se solapa parcialmente con una secuencia UTR.
- 20 5. El método de la reivindicación 1, en donde la pluralidad de dianas comprende una secuencia de ácido nucleico.
- 25 6. El método de la reivindicación 5, en donde la secuencia de ácido nucleico se selecciona del grupo que consiste en una secuencia de ADN y una secuencia de ARN.
7. El método de la reivindicación 1, en donde la pluralidad de dianas comprende al menos 7, 8, 9 dianas como se define en la reivindicación 1.
- 30 8. El método de la reivindicación 1, en donde la pluralidad de dianas se selecciona de IQGAP3, ANO7, ZWILCH, CAMK2N1, RABGAP1, EPPK1, GLYATL1P4/PCAT-80, LASP1, MYBPC1, NFIB, NUSAP1, PBX1, PCAT-32, PCDH7, S1PR4, THBS2, TNFRSF19, C6orf10, UBE2C, o las SEQ ID NO: 1-22.
- 35 9. El método de la reivindicación 1, que incluye además determinar la malignidad del cáncer el estadio del cáncer, el grado del cáncer, el riesgo de recurrencia del cáncer o una combinación de los mismos.
10. El método de la reivindicación 1, que comprende además secuenciar la pluralidad de dianas.
- 40 11. El método de la reivindicación 1, que comprende además hibridar la pluralidad de dianas en un soporte sólido.
12. El método de la reivindicación 11, en donde el soporte sólido es una perla o una matriz.

**FIG. 1**

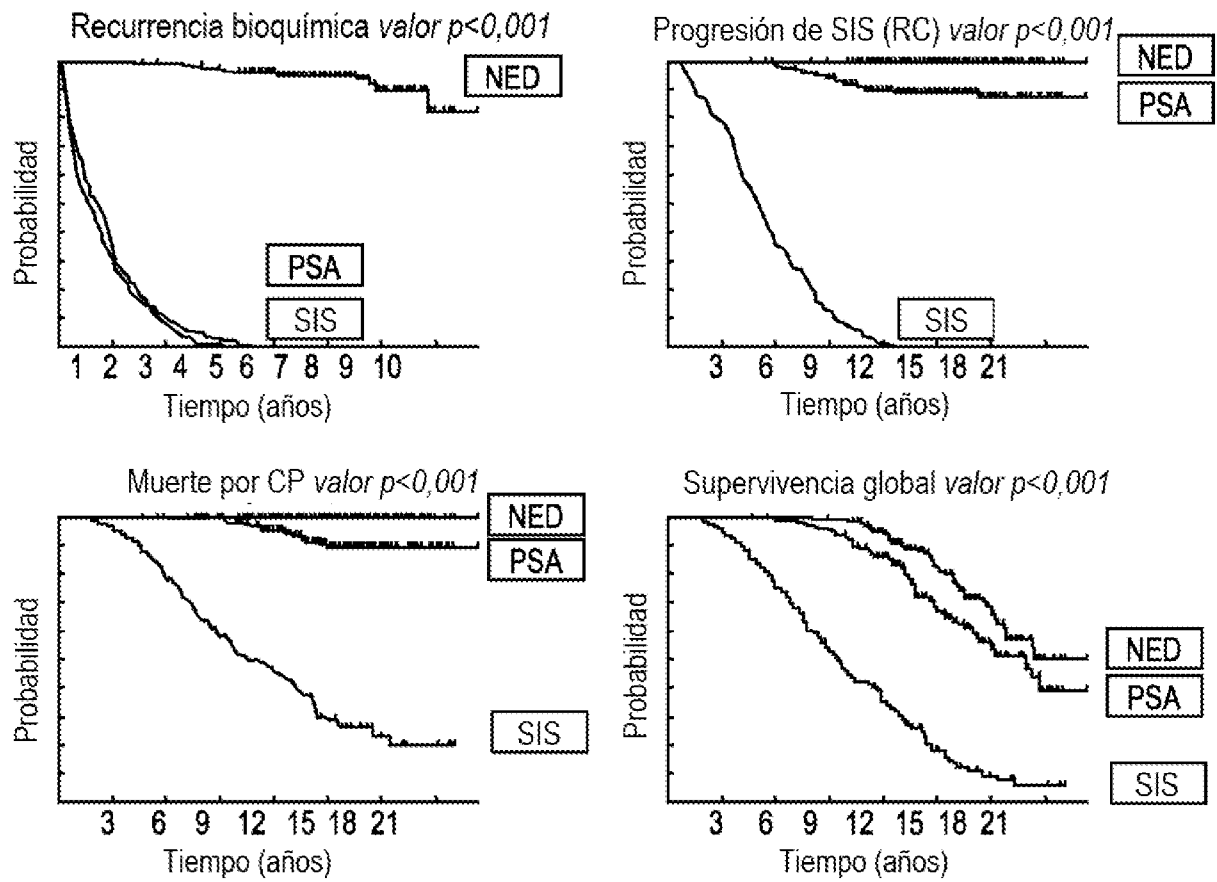


FIG. 2

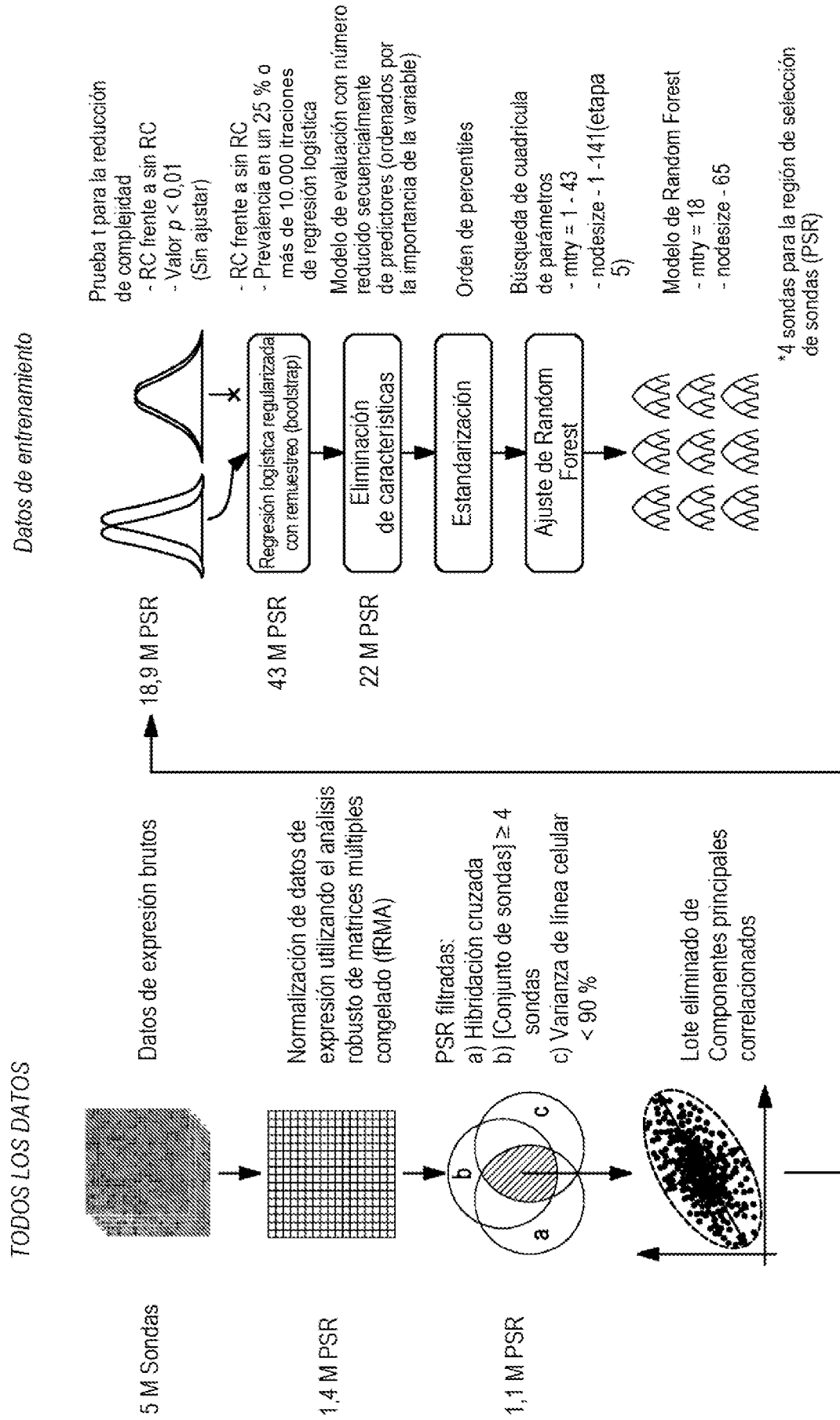


FIG. 3

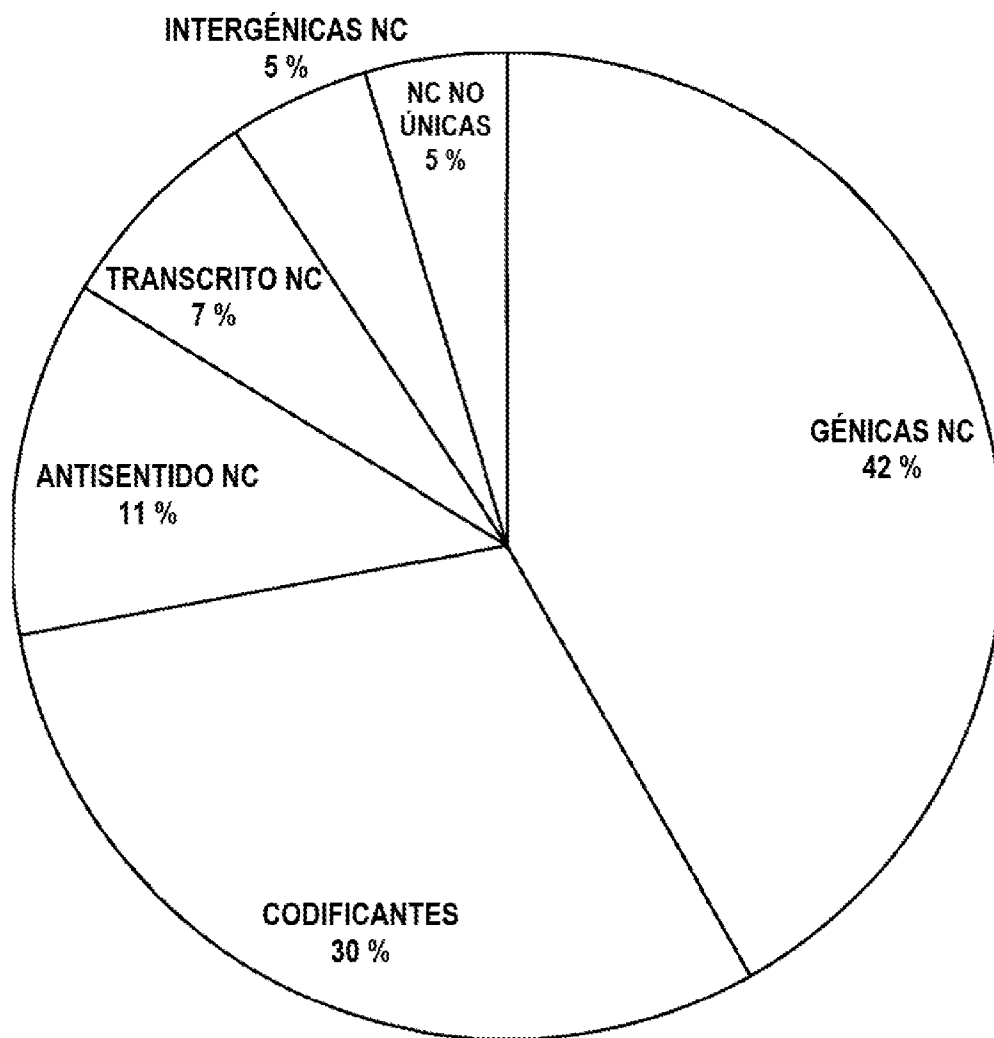


FIG. 4

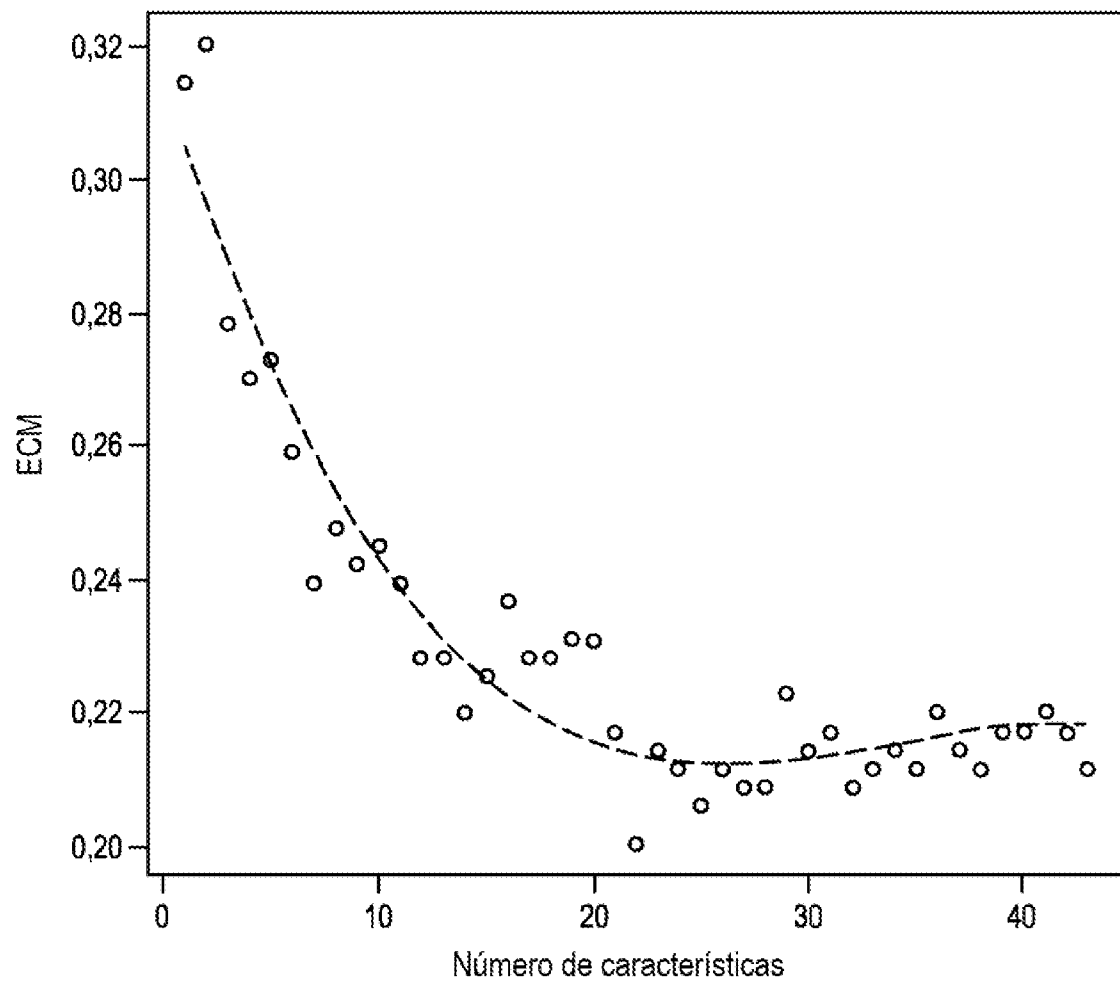
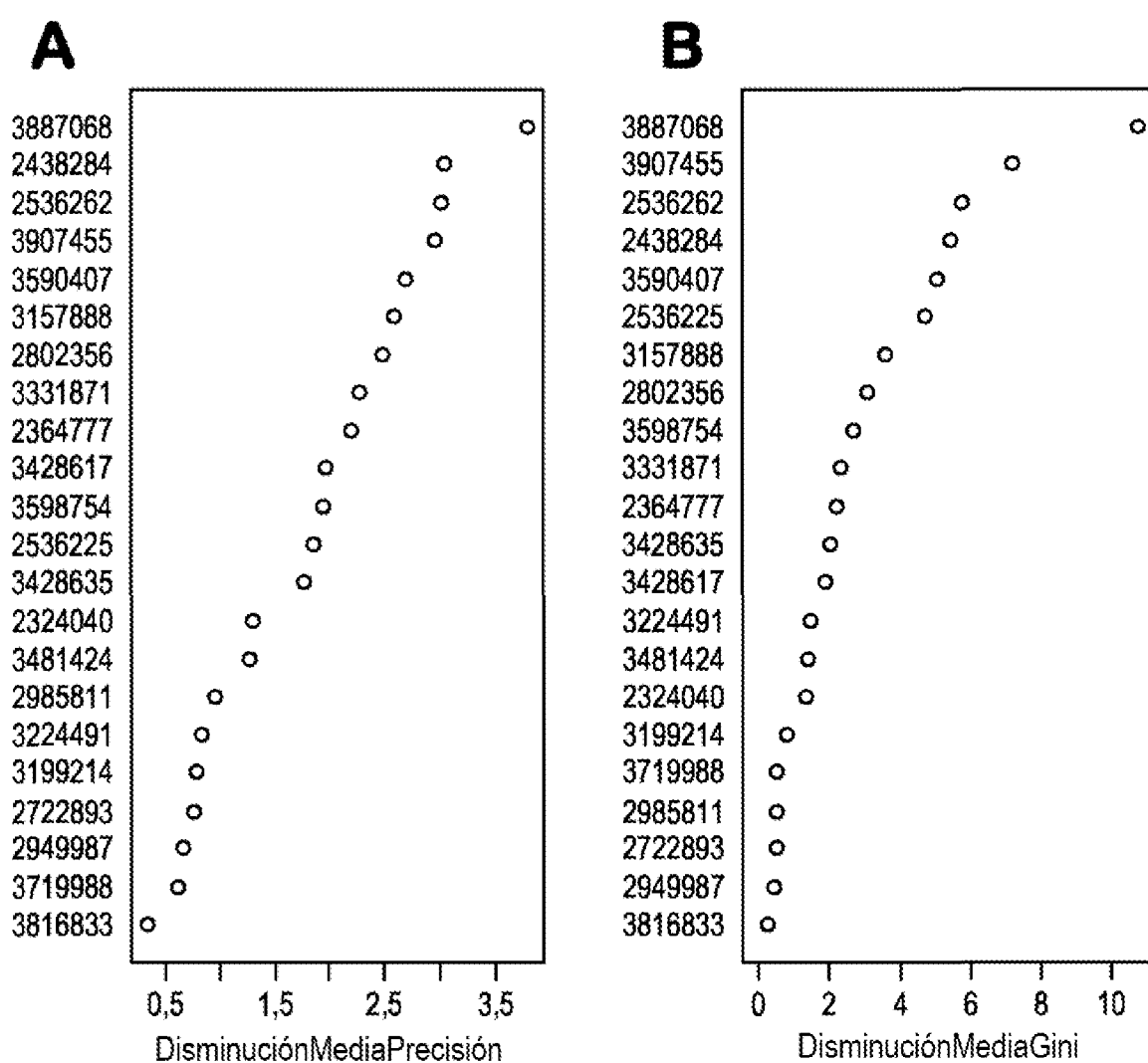


FIG. 5

**FIG. 6**

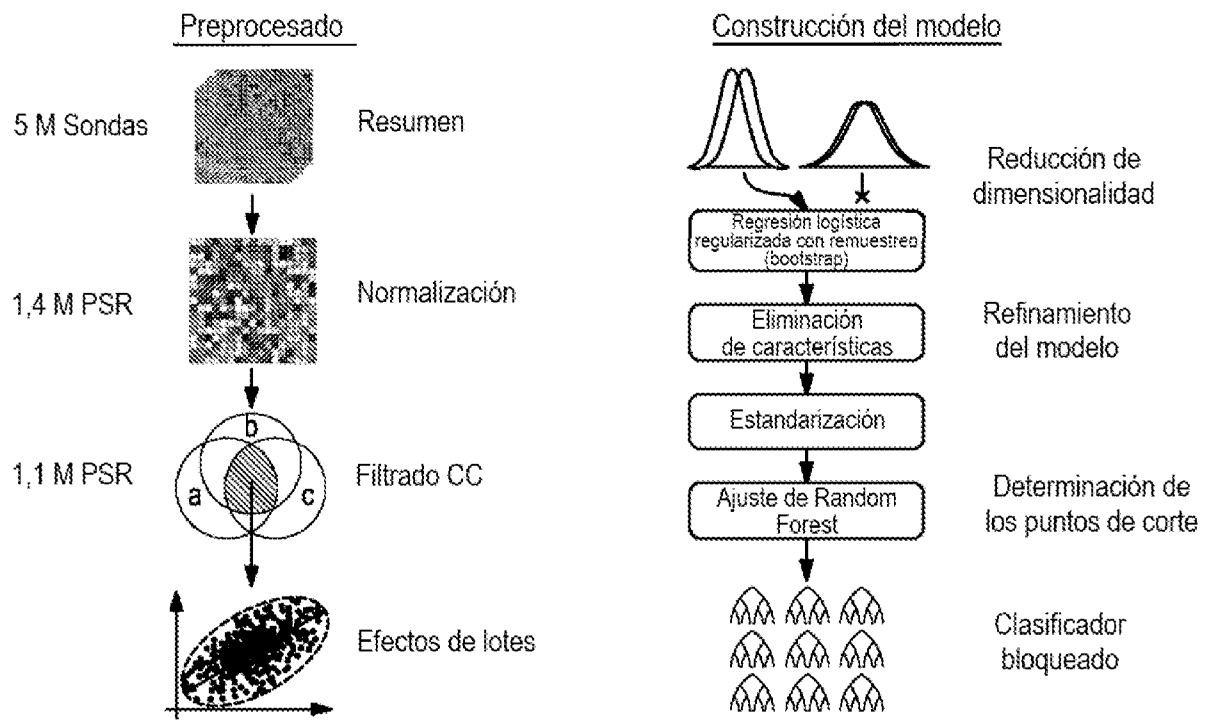


FIG. 7

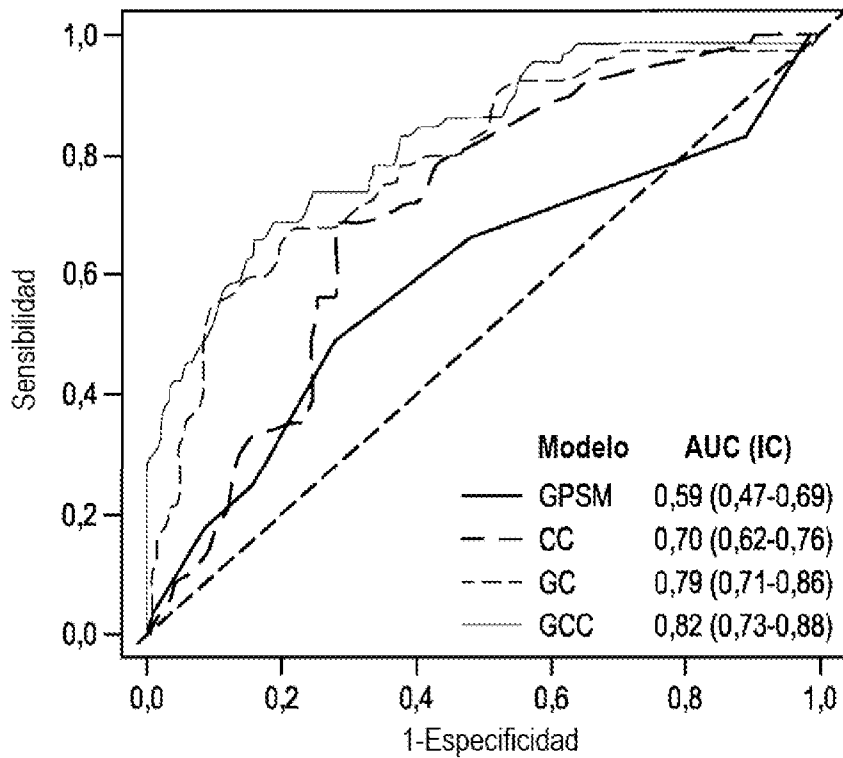


FIG. 8

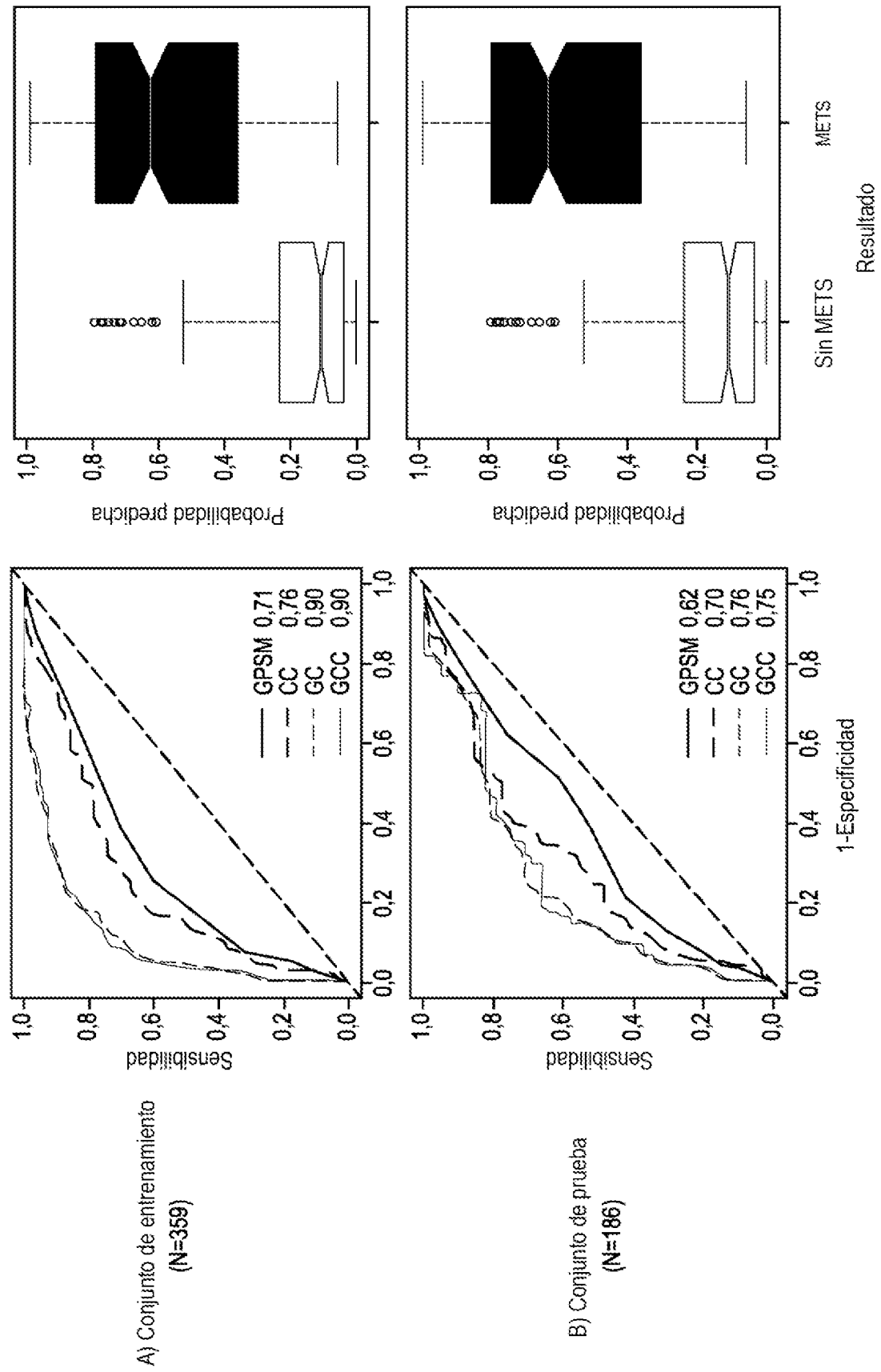


FIG. 9

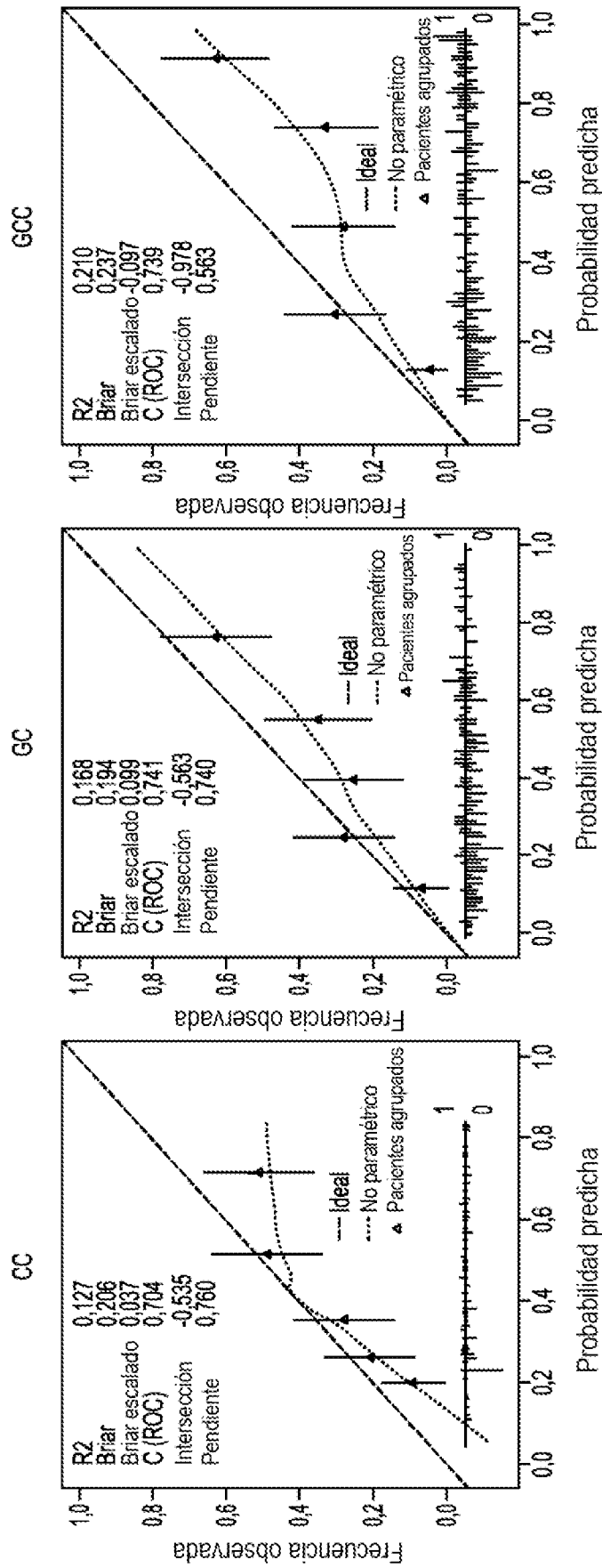


FIG. 10

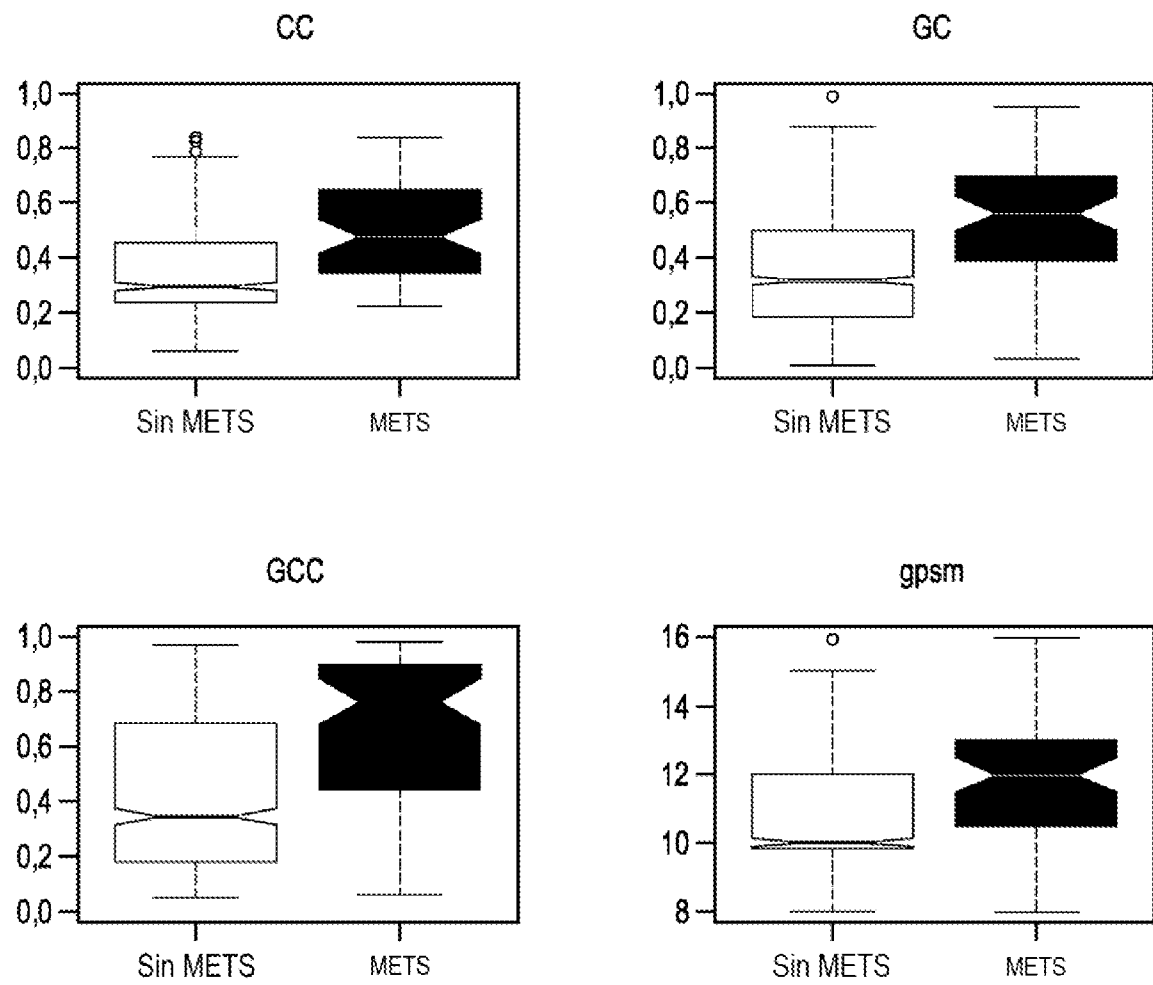


FIG. 11

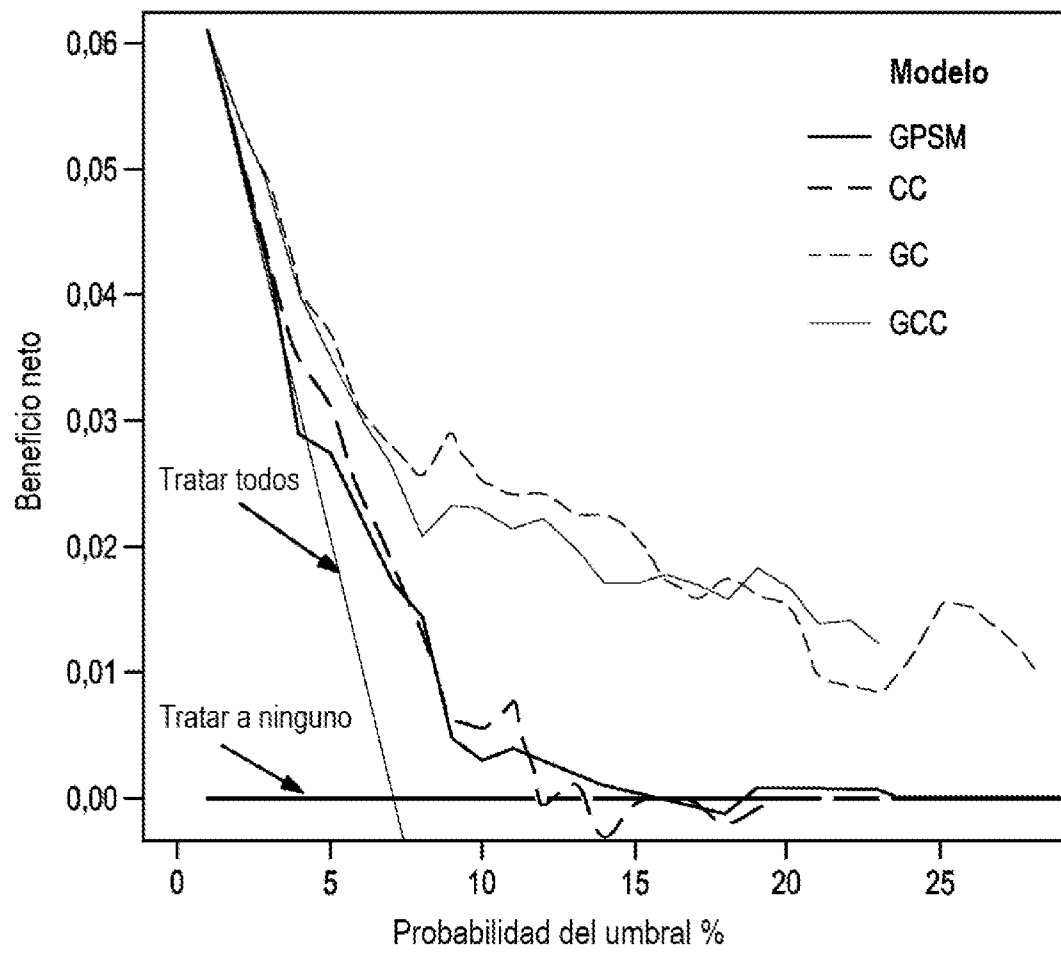


FIG. 12

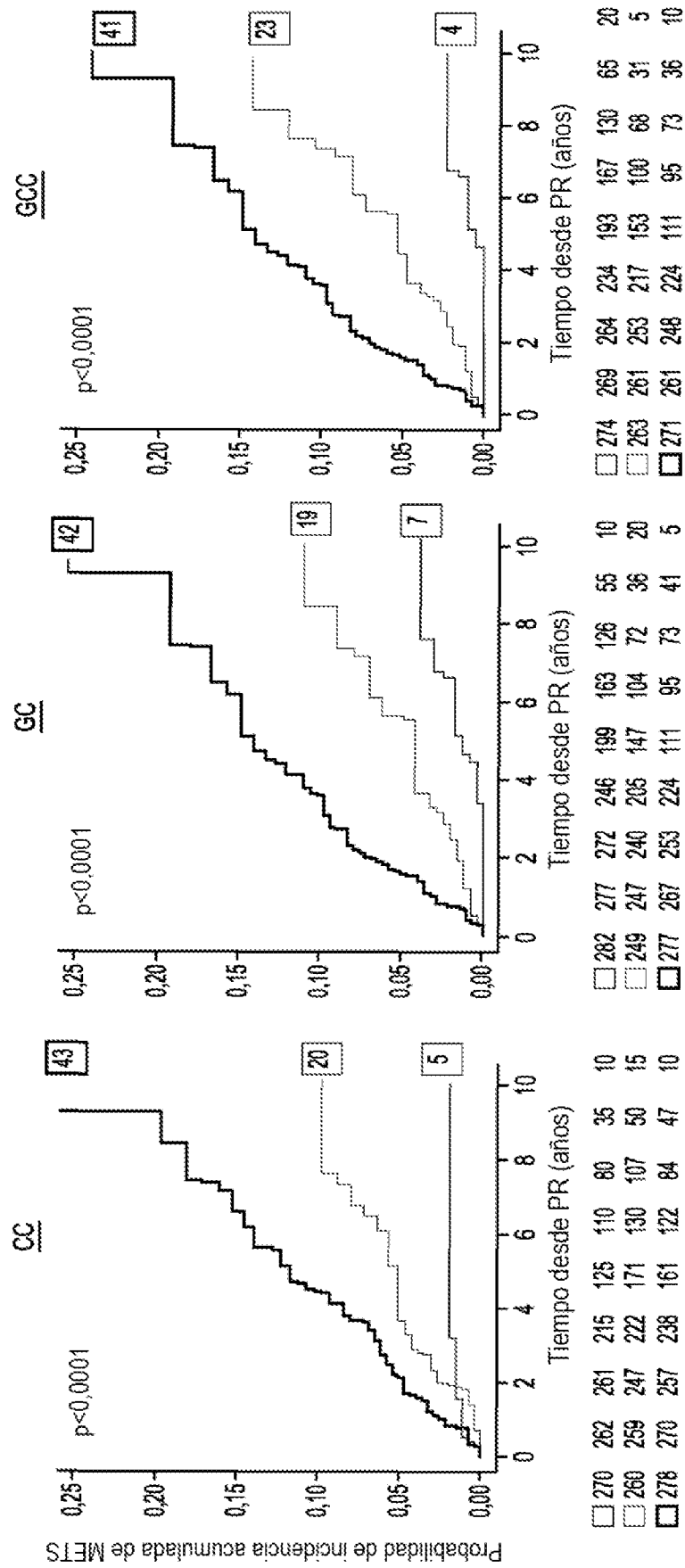
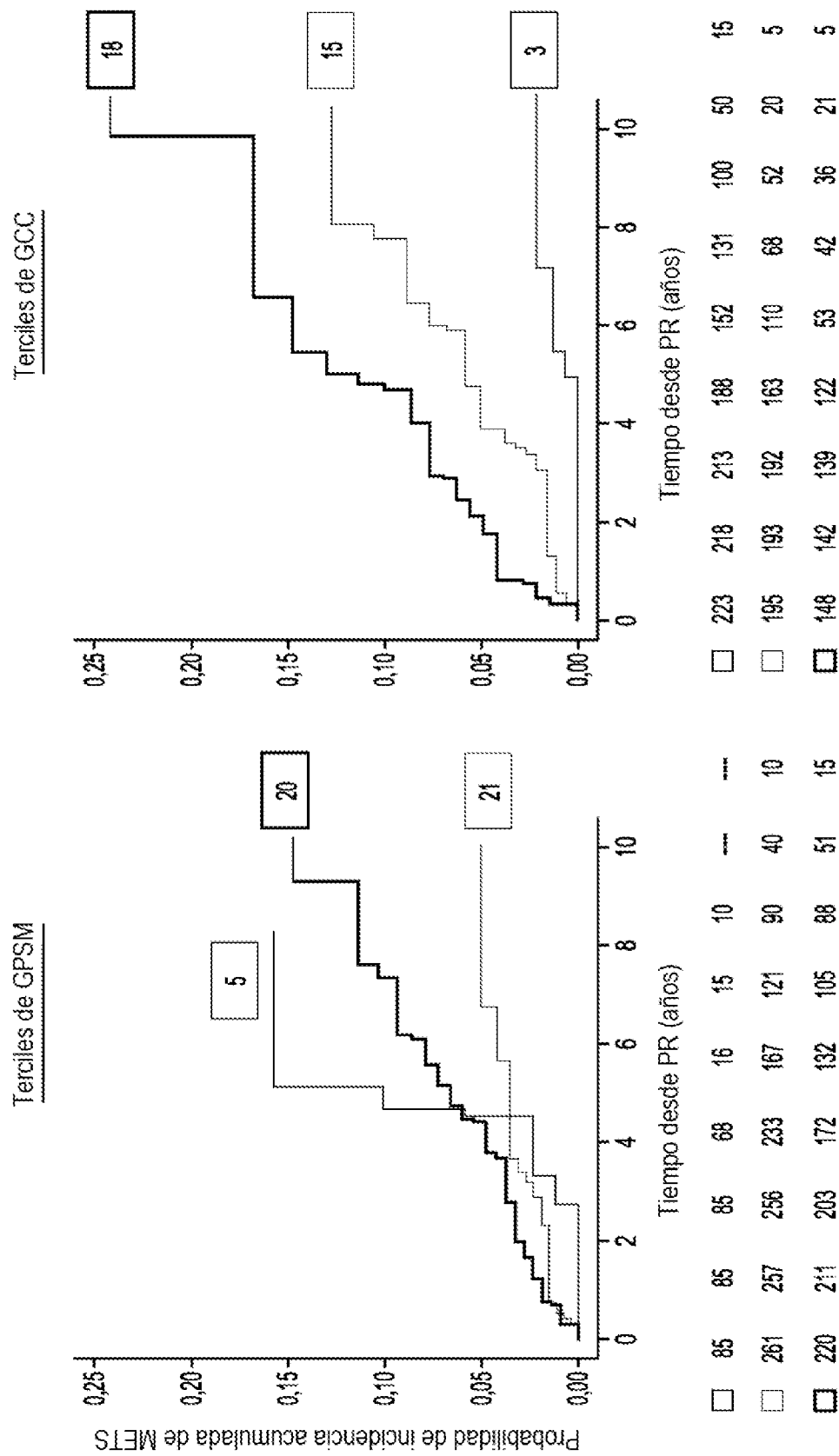
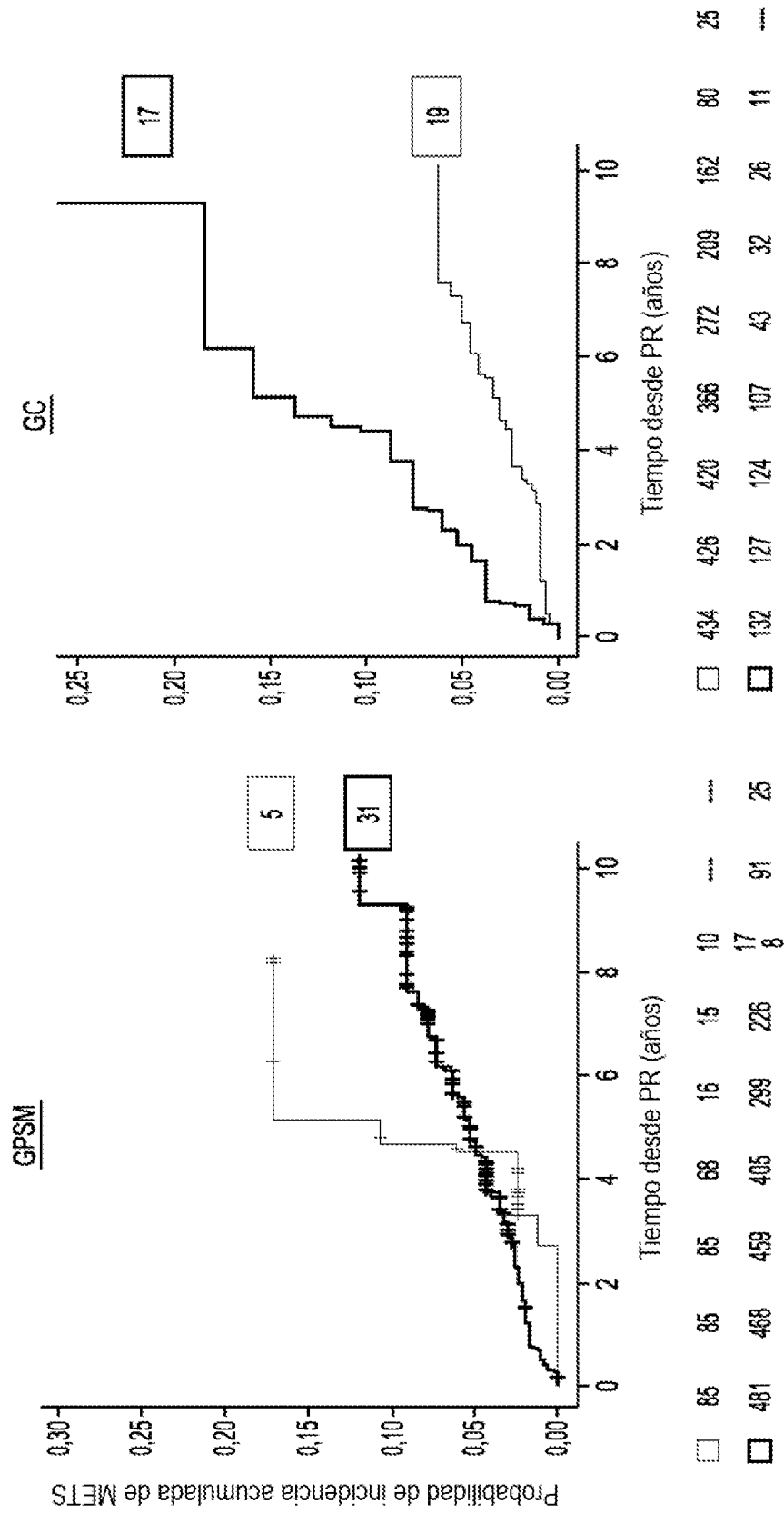


FIG. 13





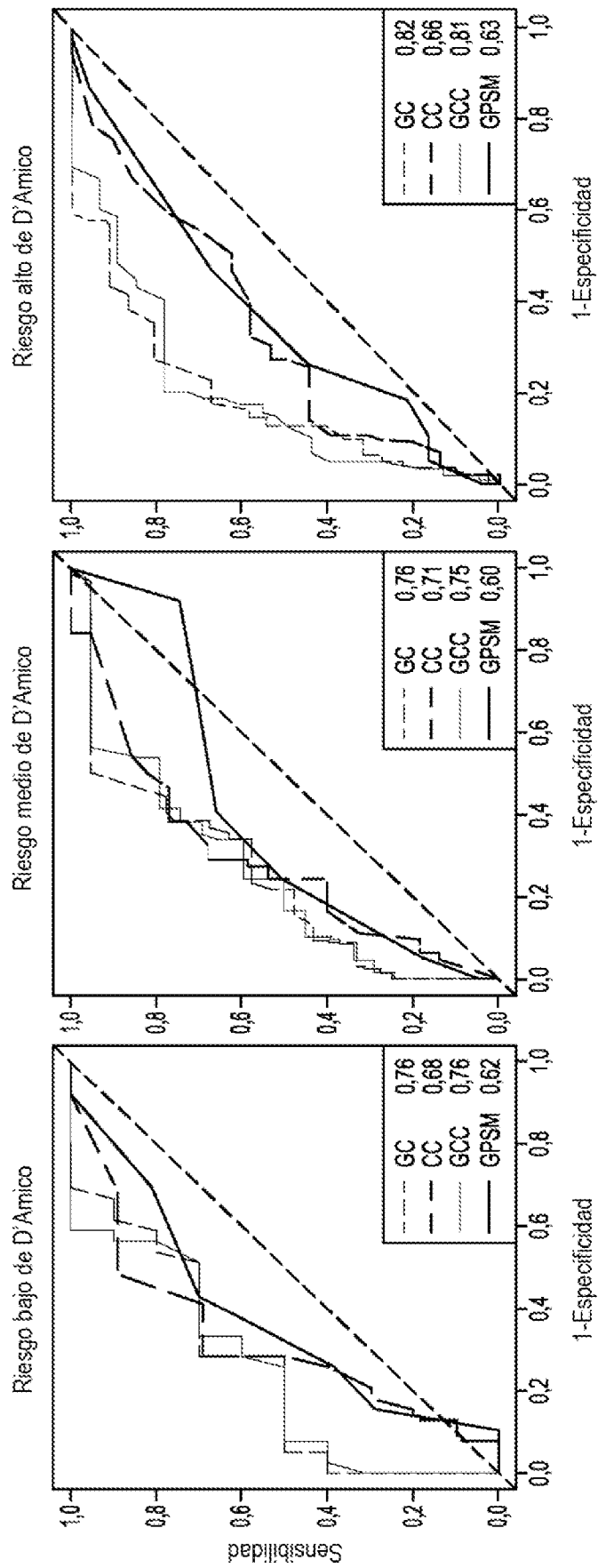


FIG. 16

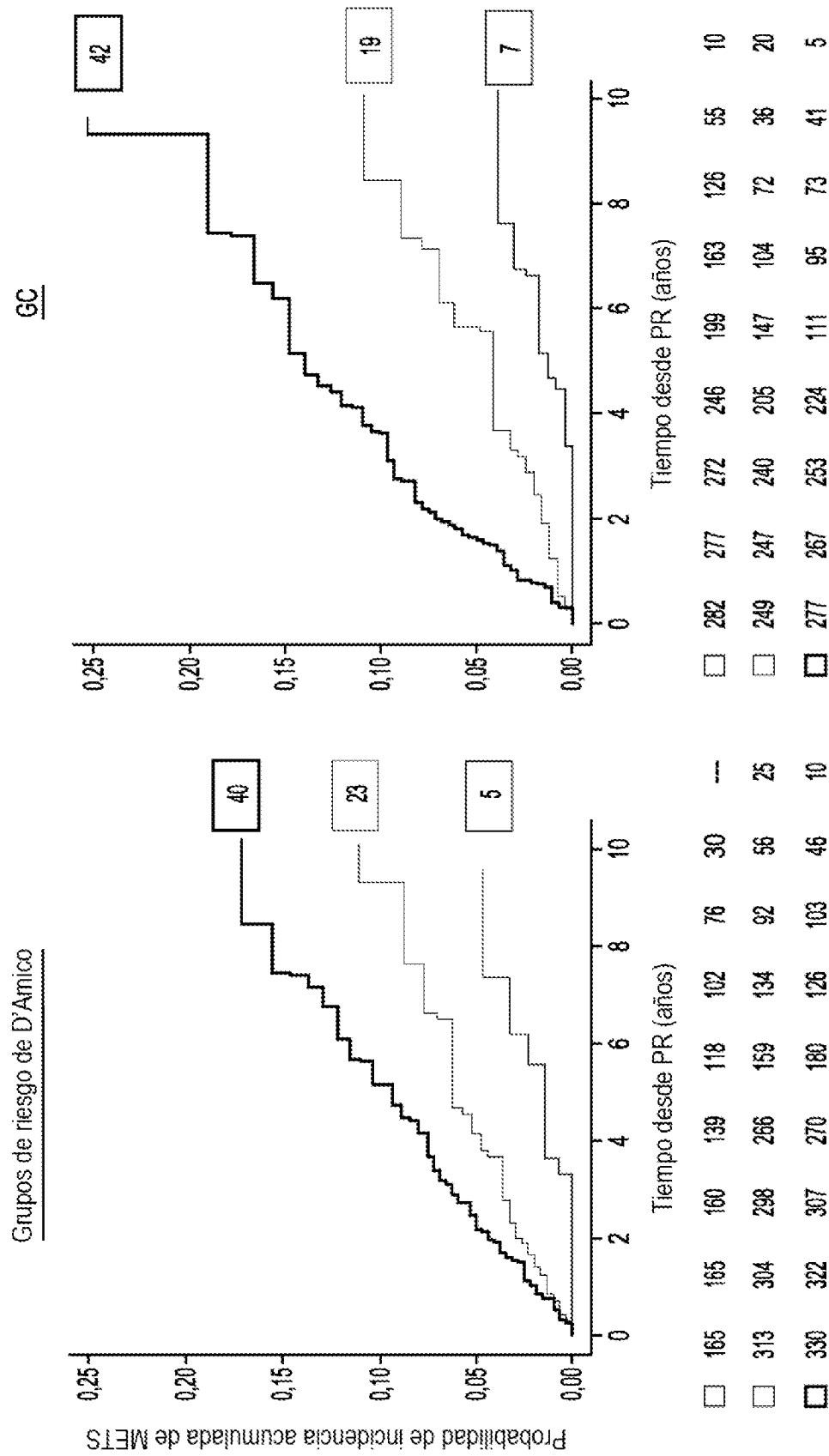


FIG. 17

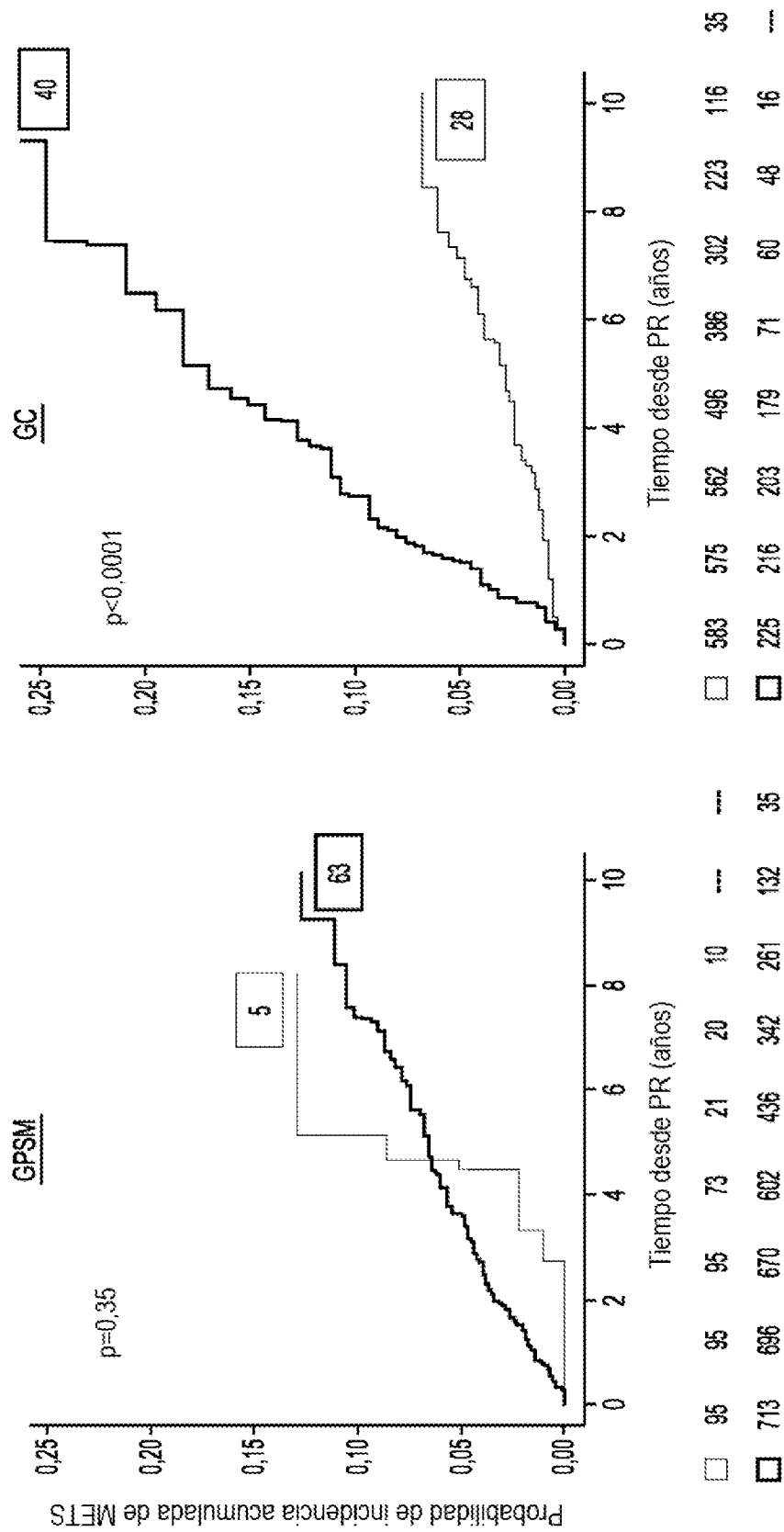


FIG. 18

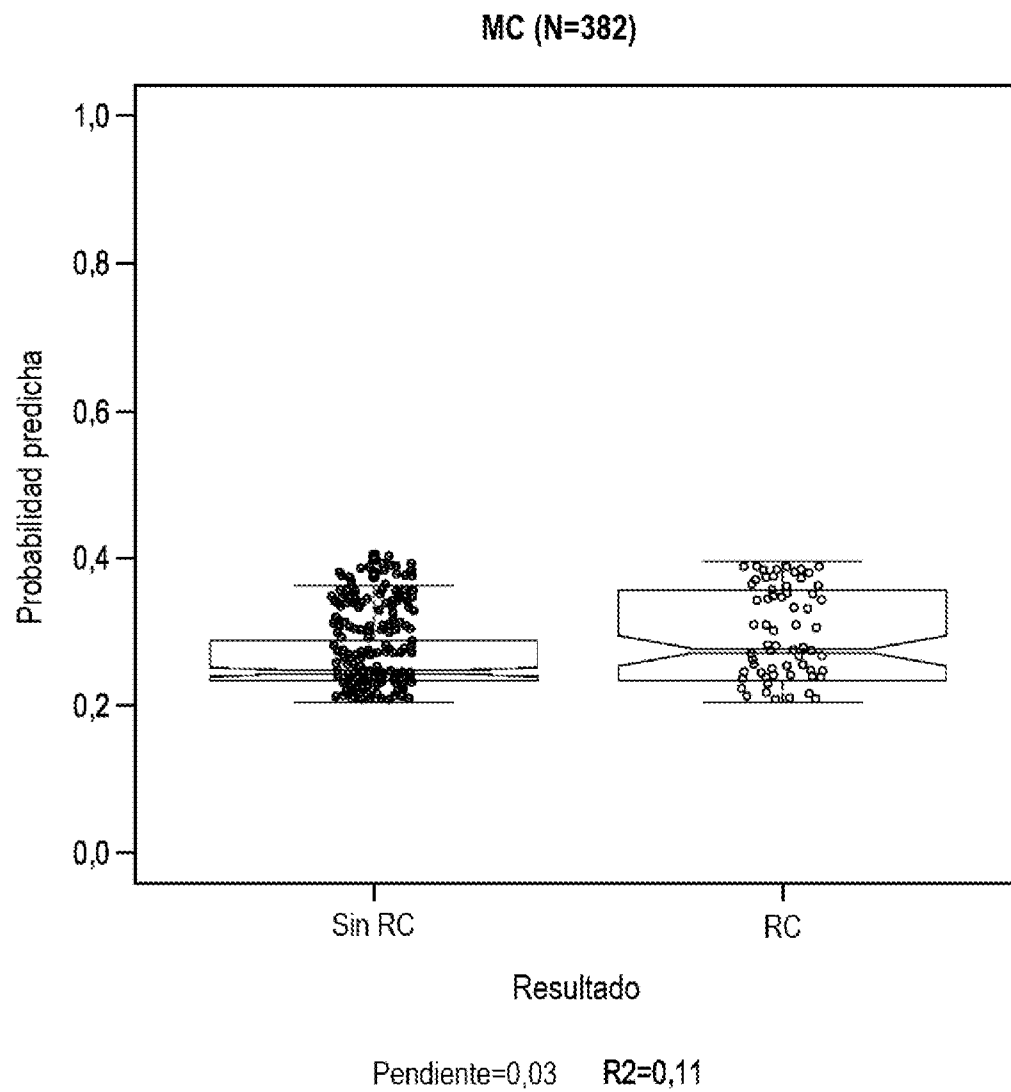


FIG. 19A

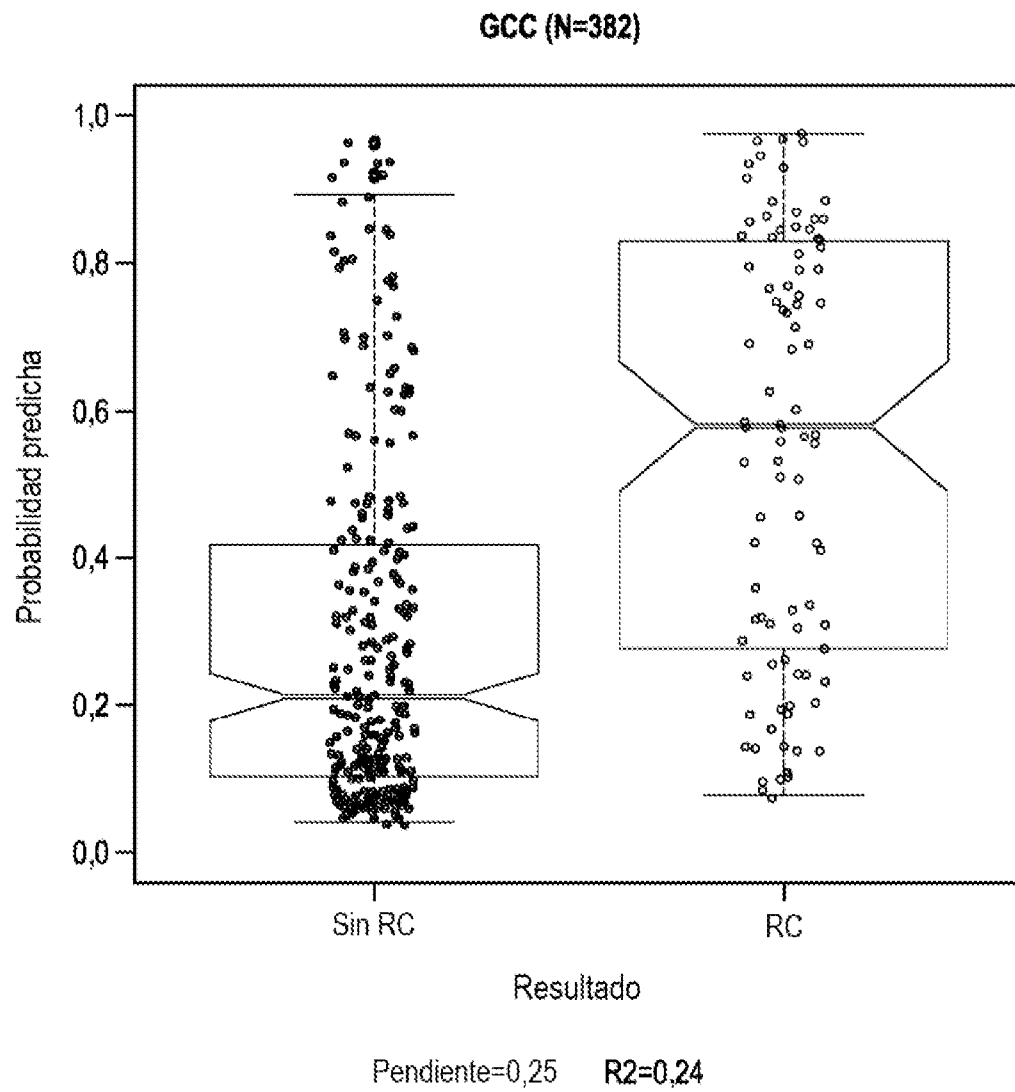


FIG. 19B

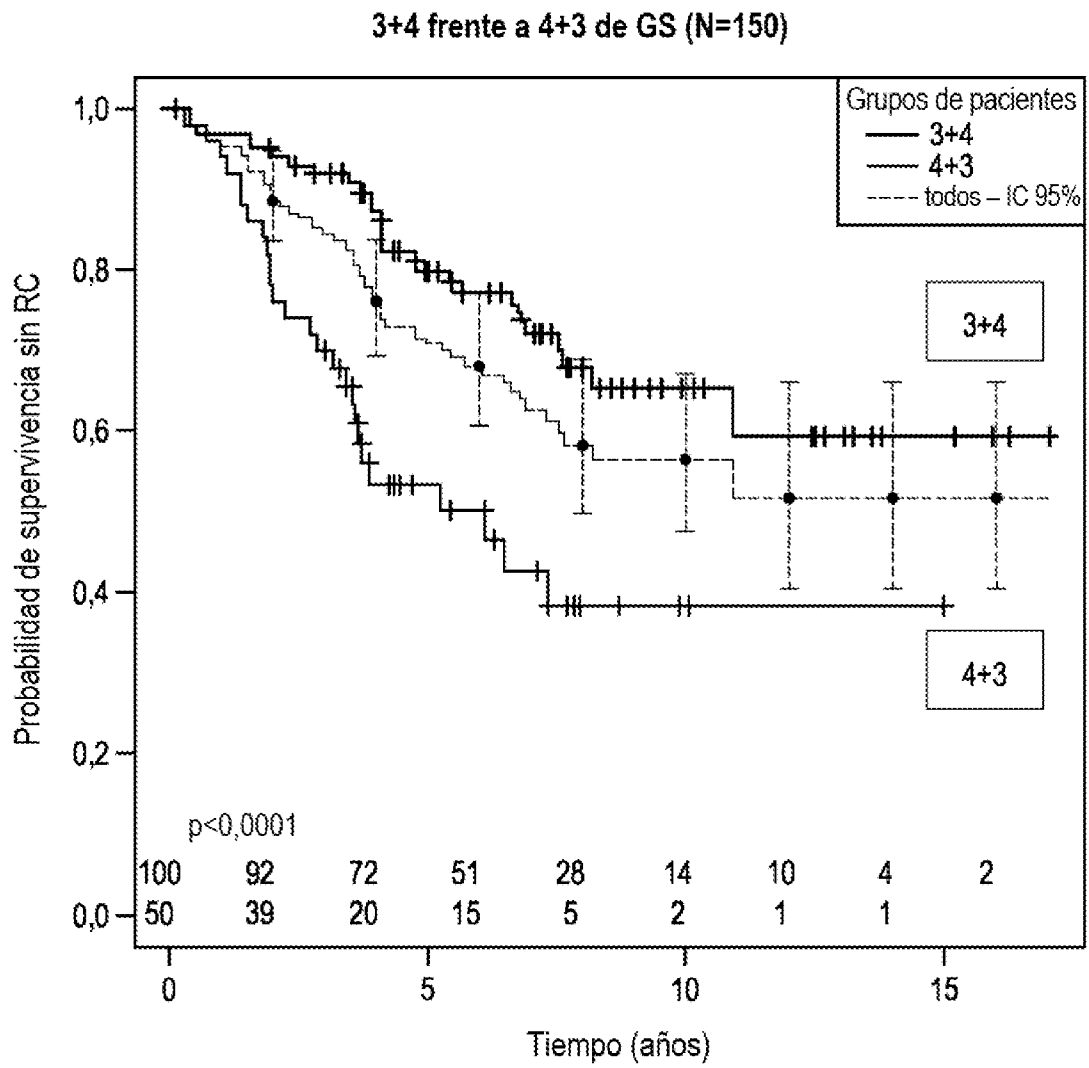


FIG. 20A

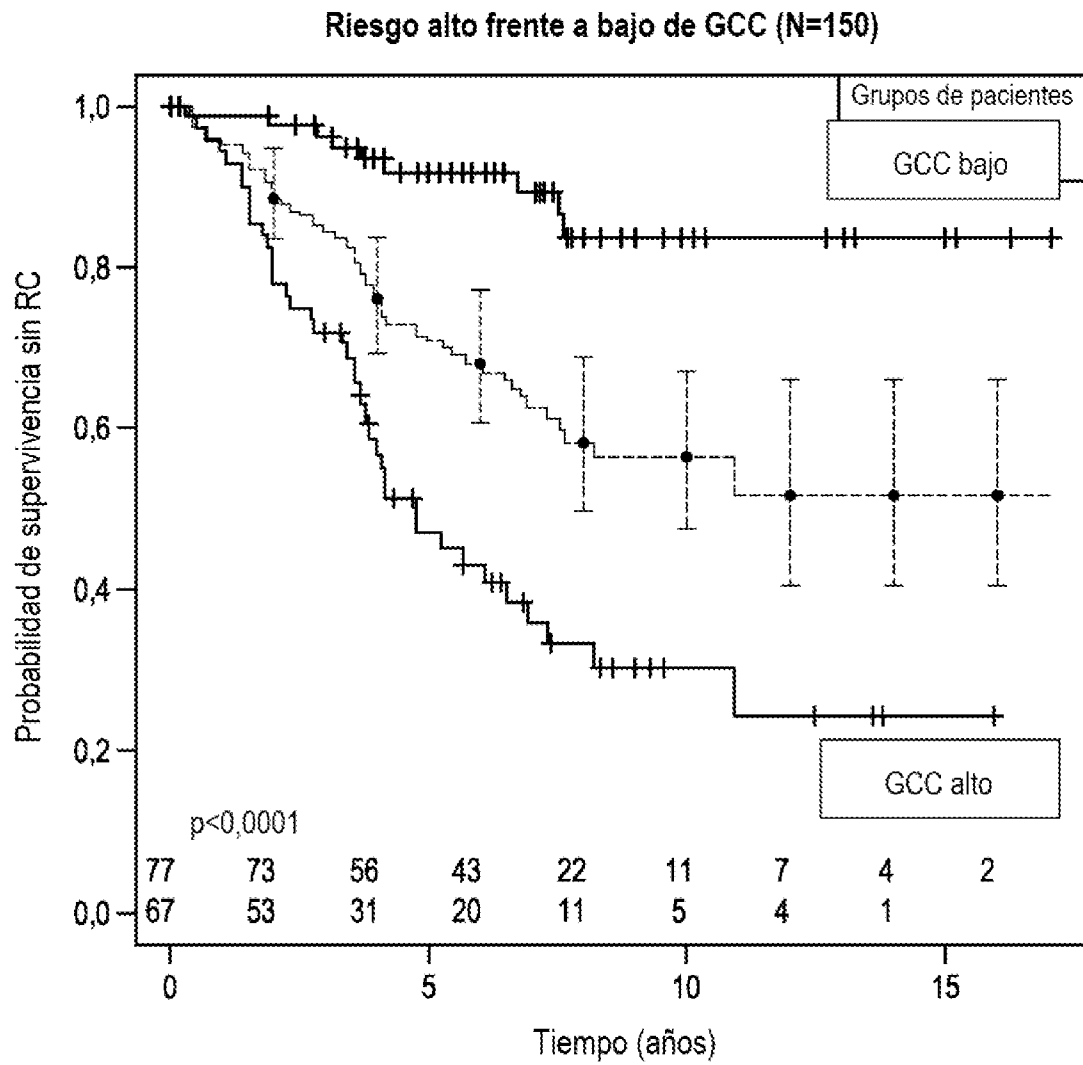


FIG. 20B

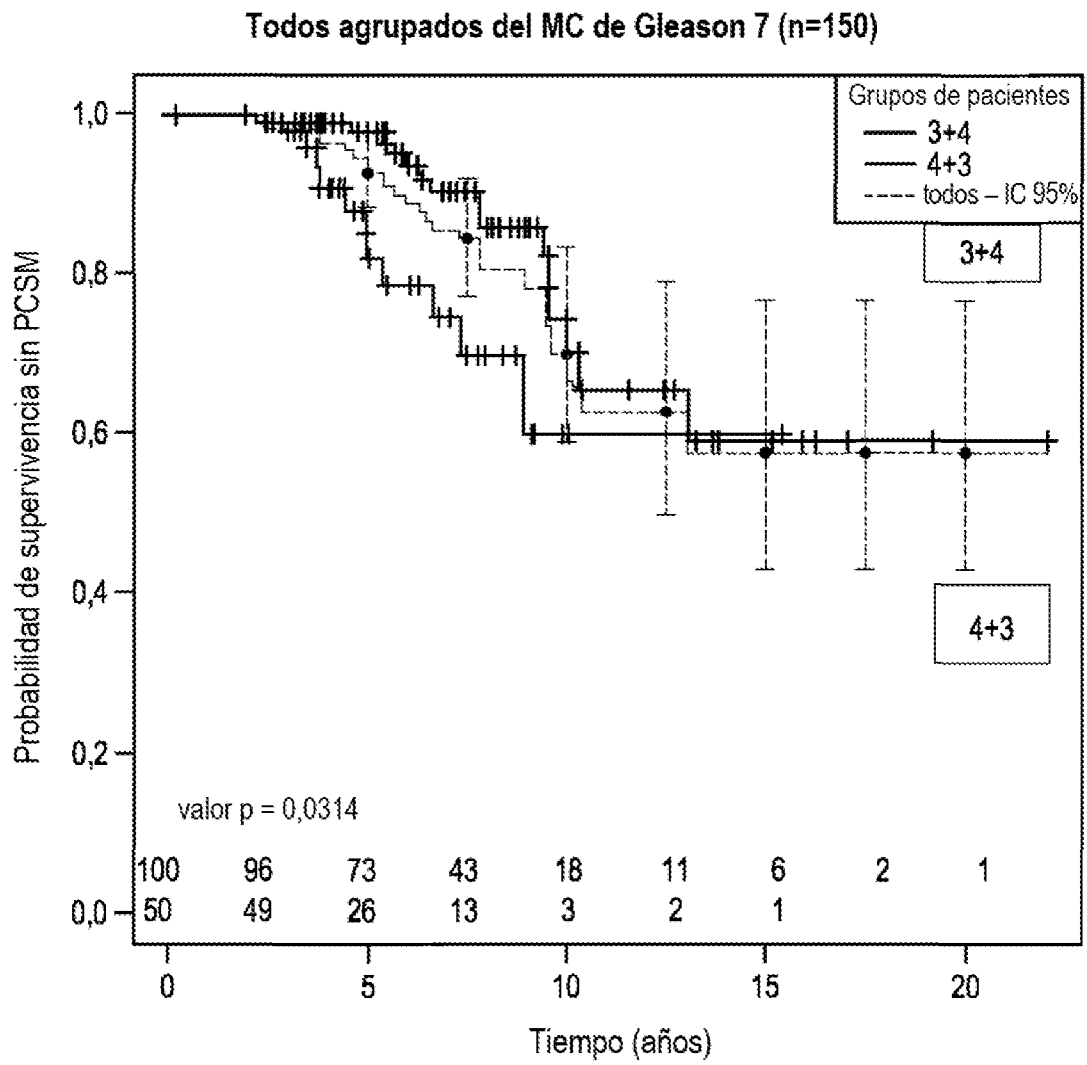


FIG. 21A

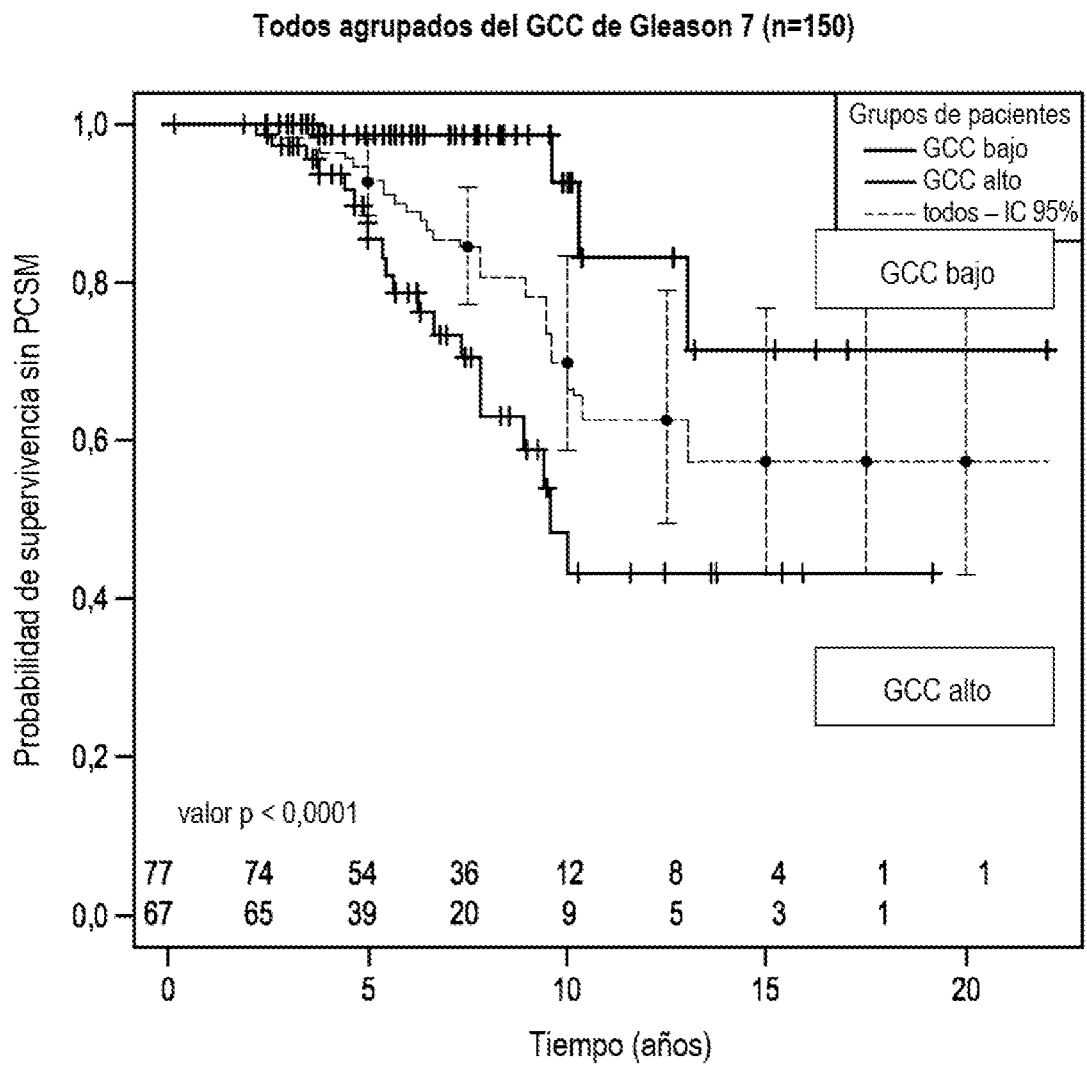


FIG. 21B

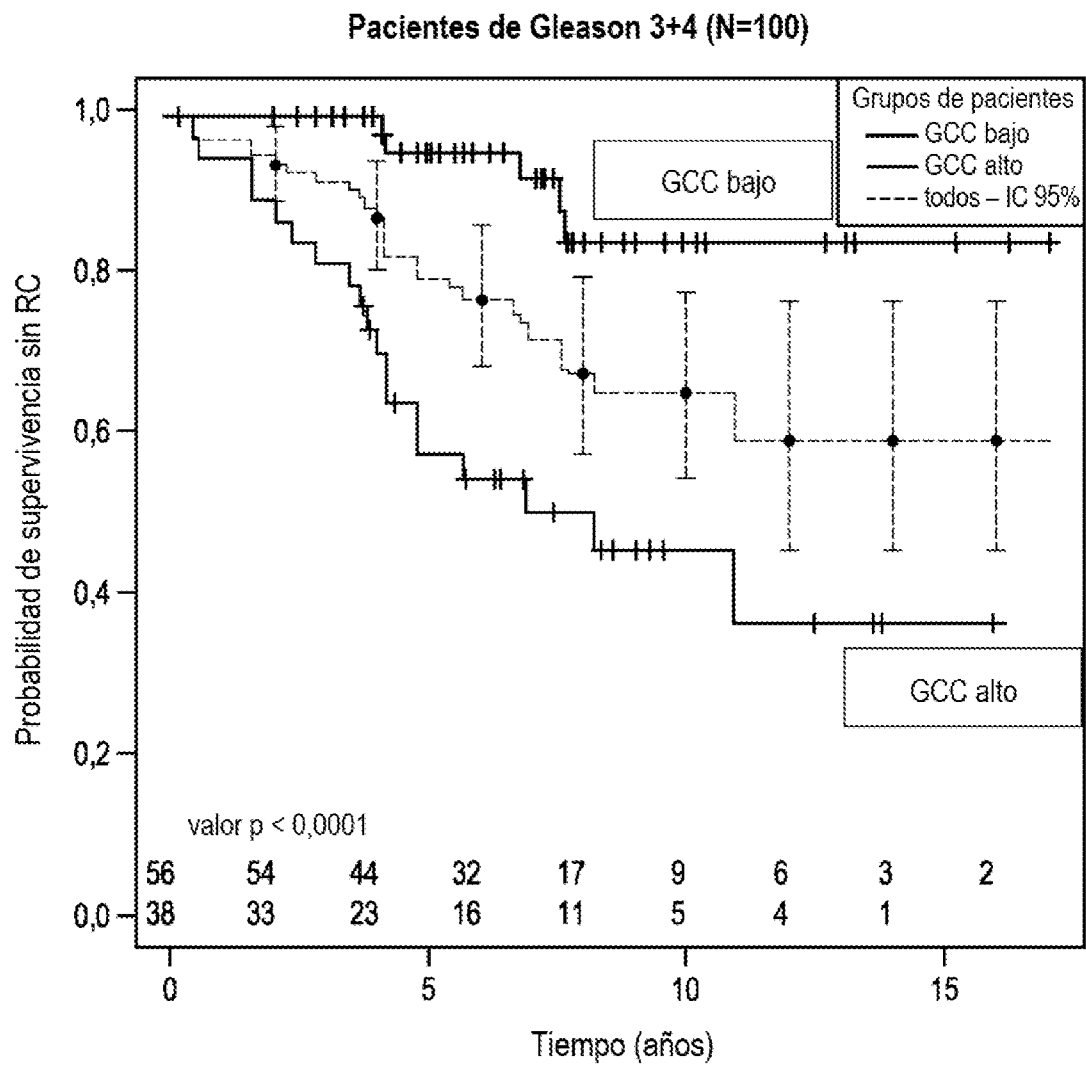


FIG. 22A

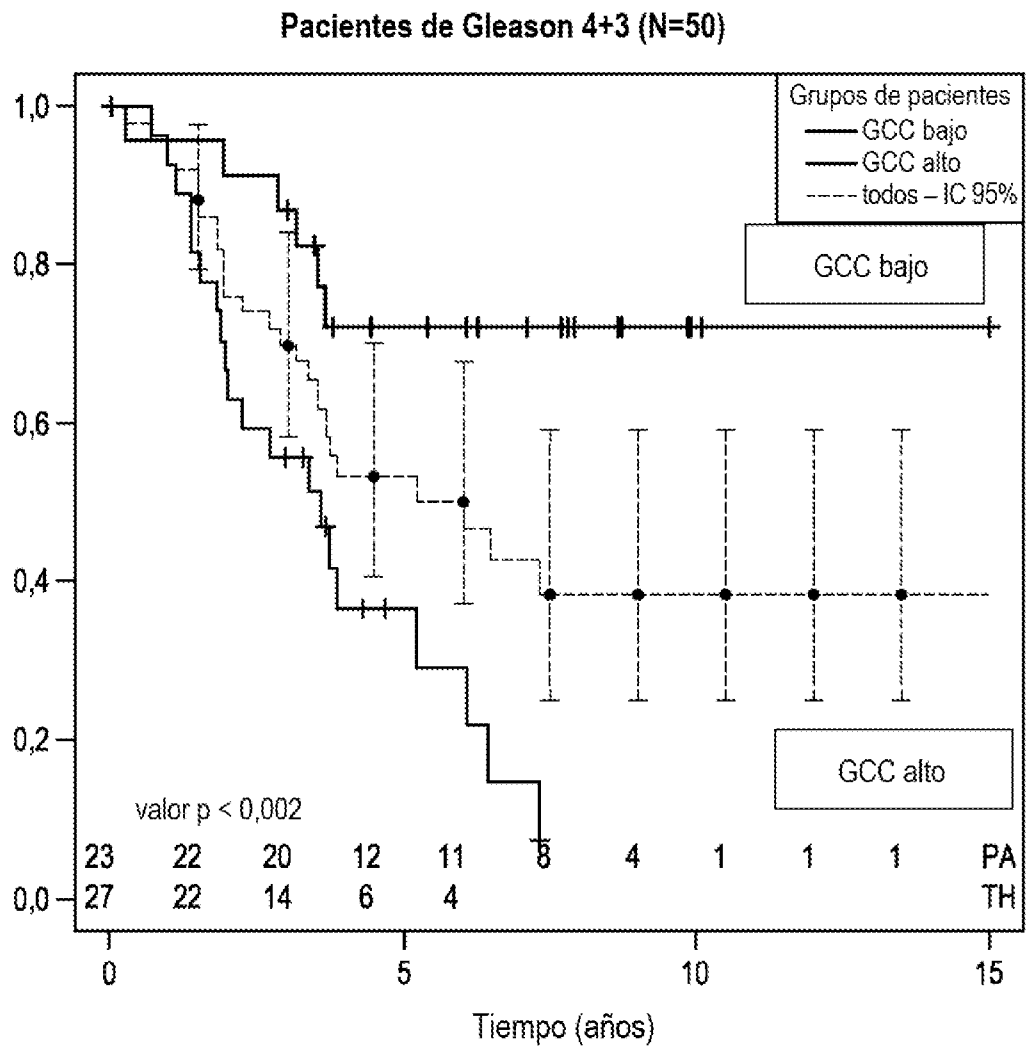


FIG. 22B

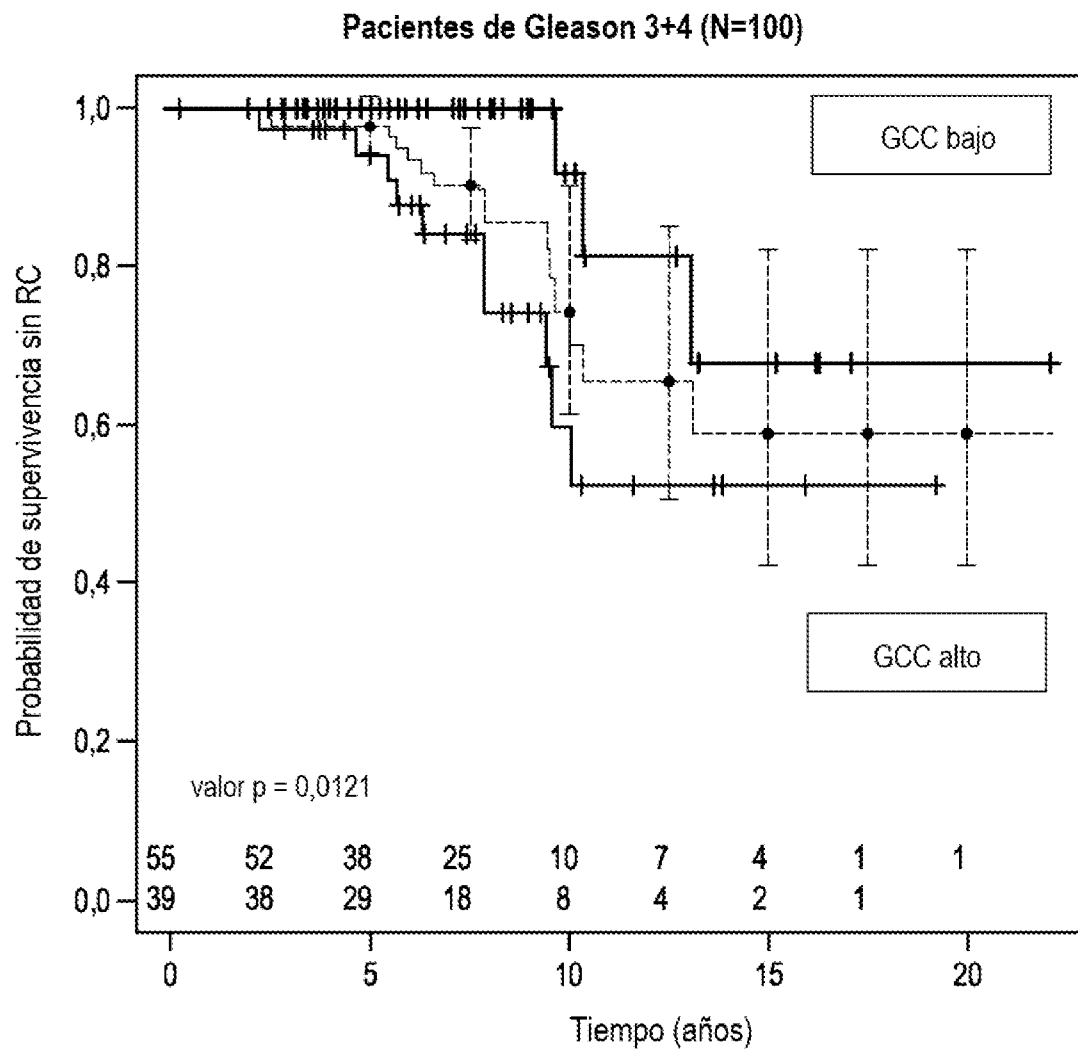


FIG. 23A

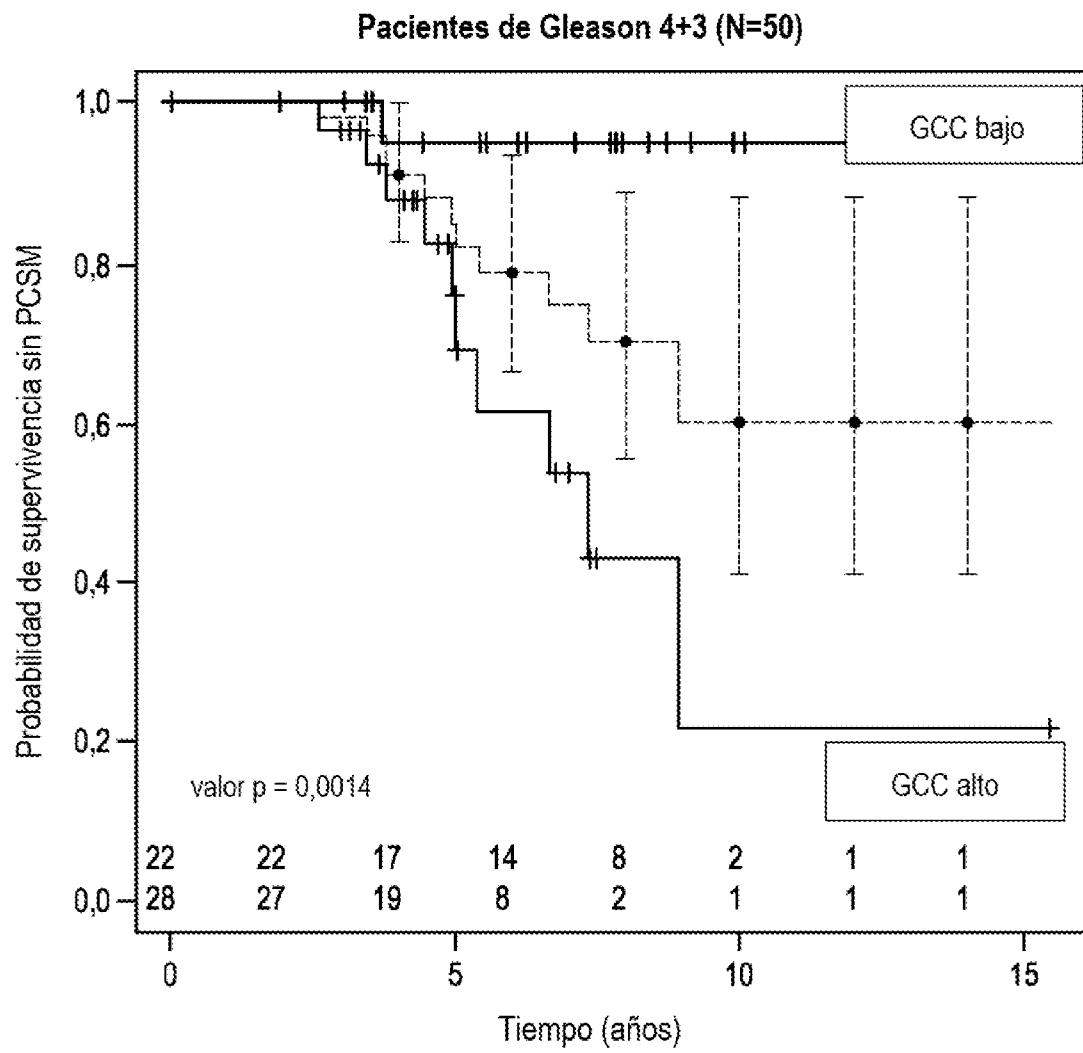


FIG. 23B

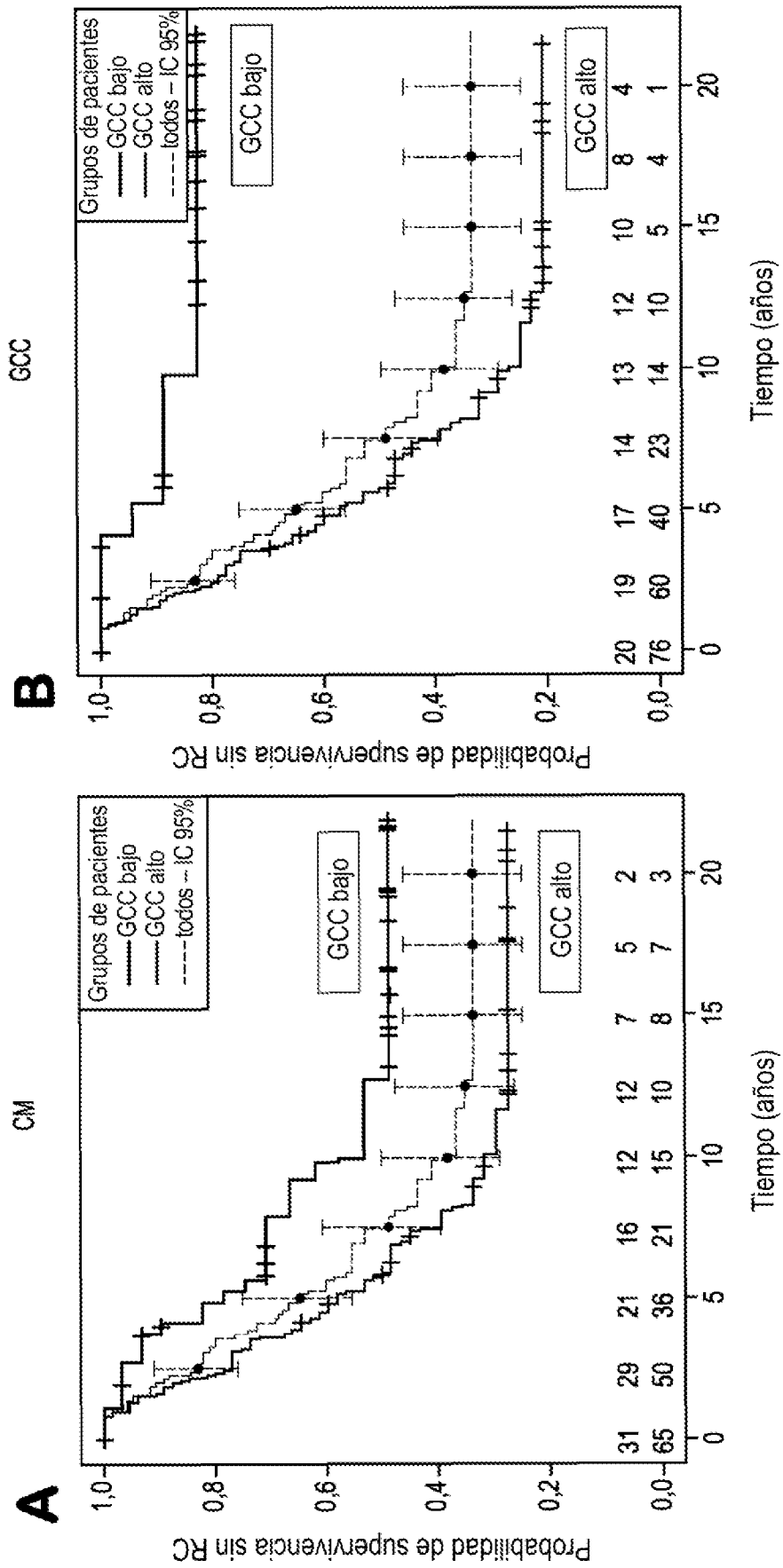


FIG. 24

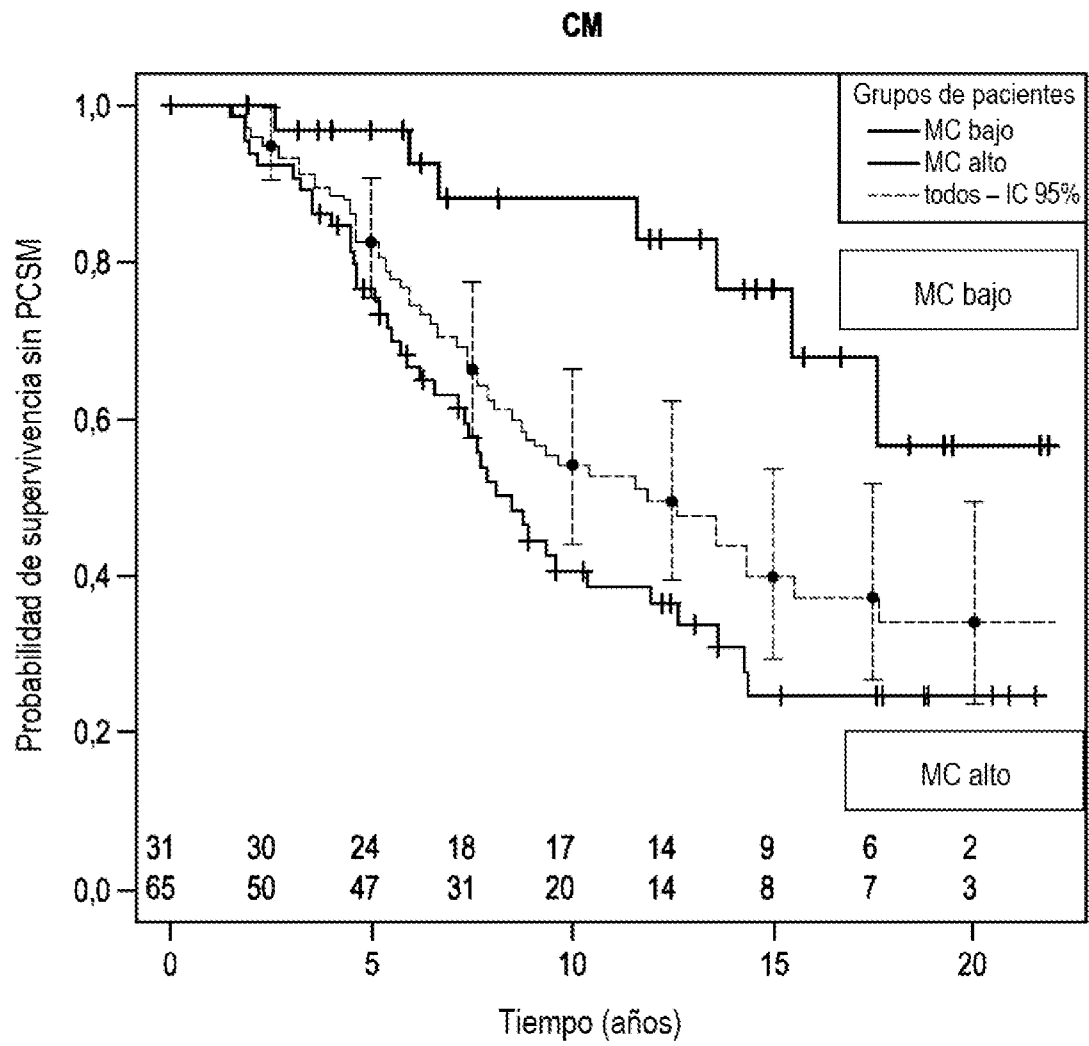


FIG. 25A

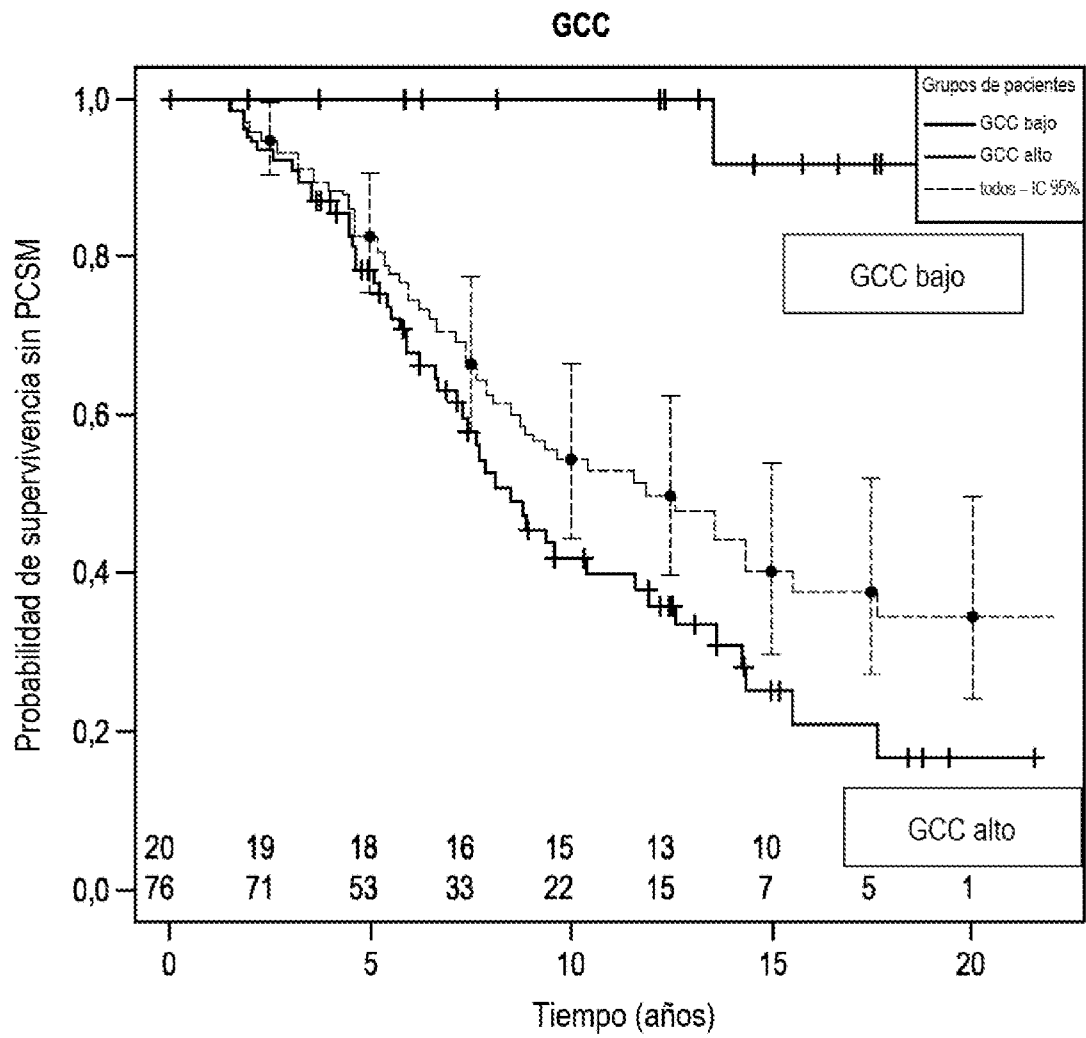


FIG. 25B

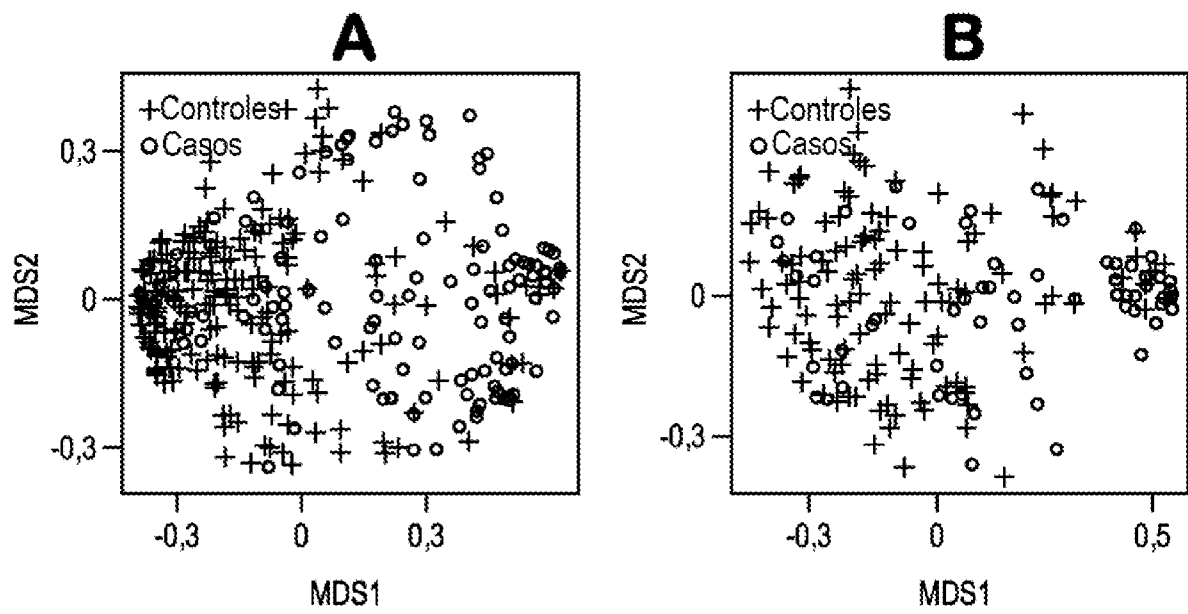


FIG. 26

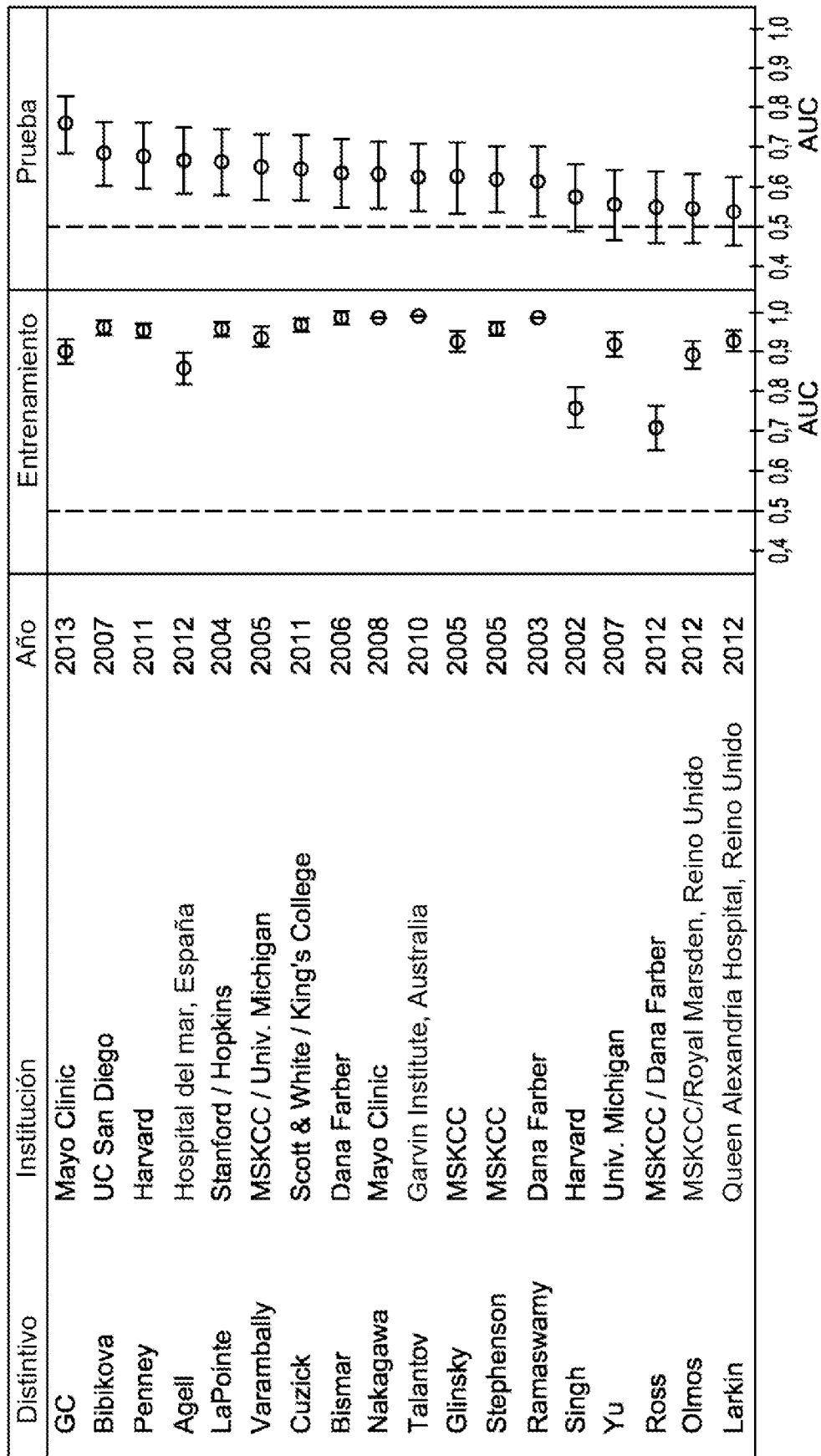


FIG. 27

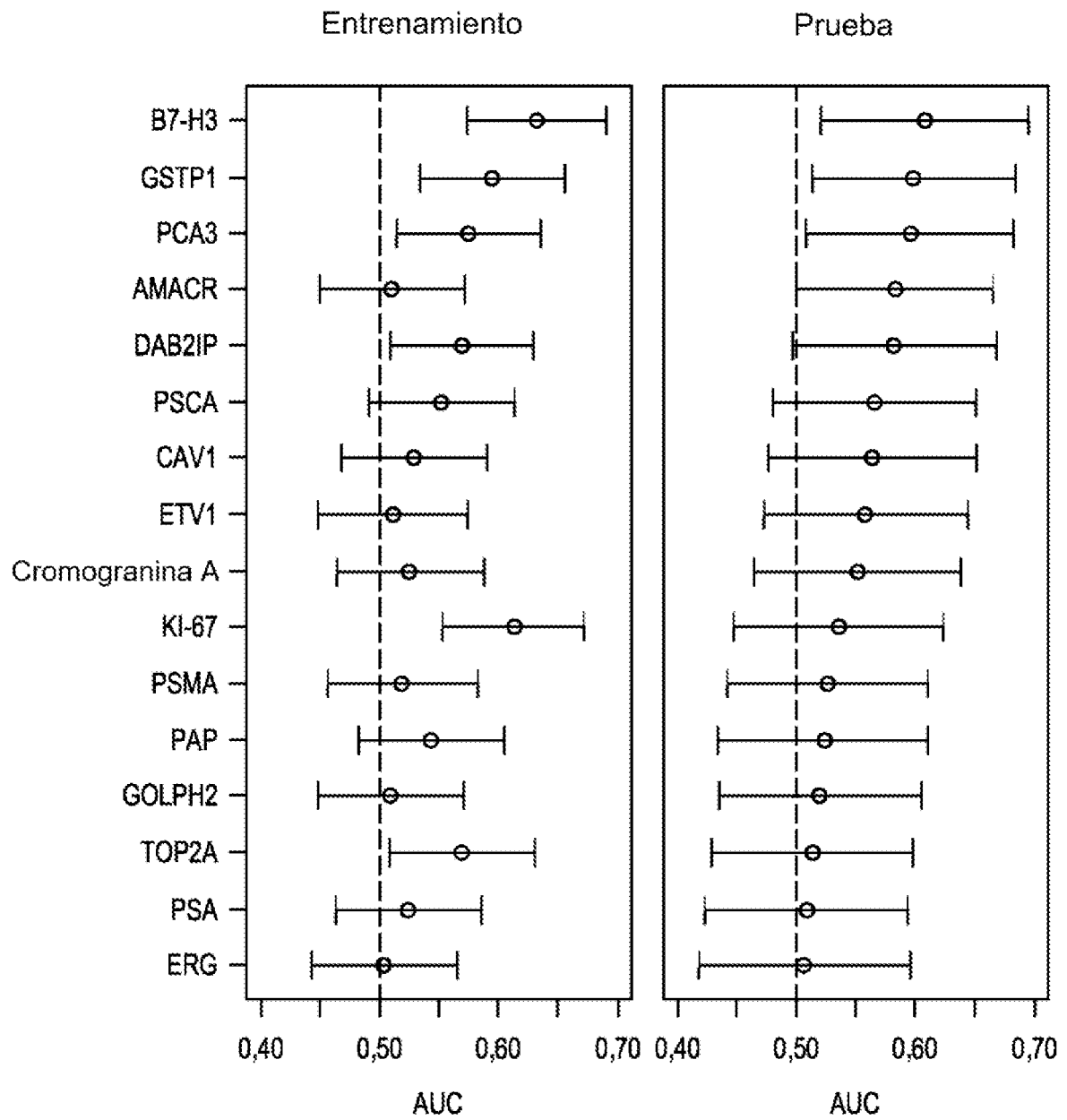


FIG. 28

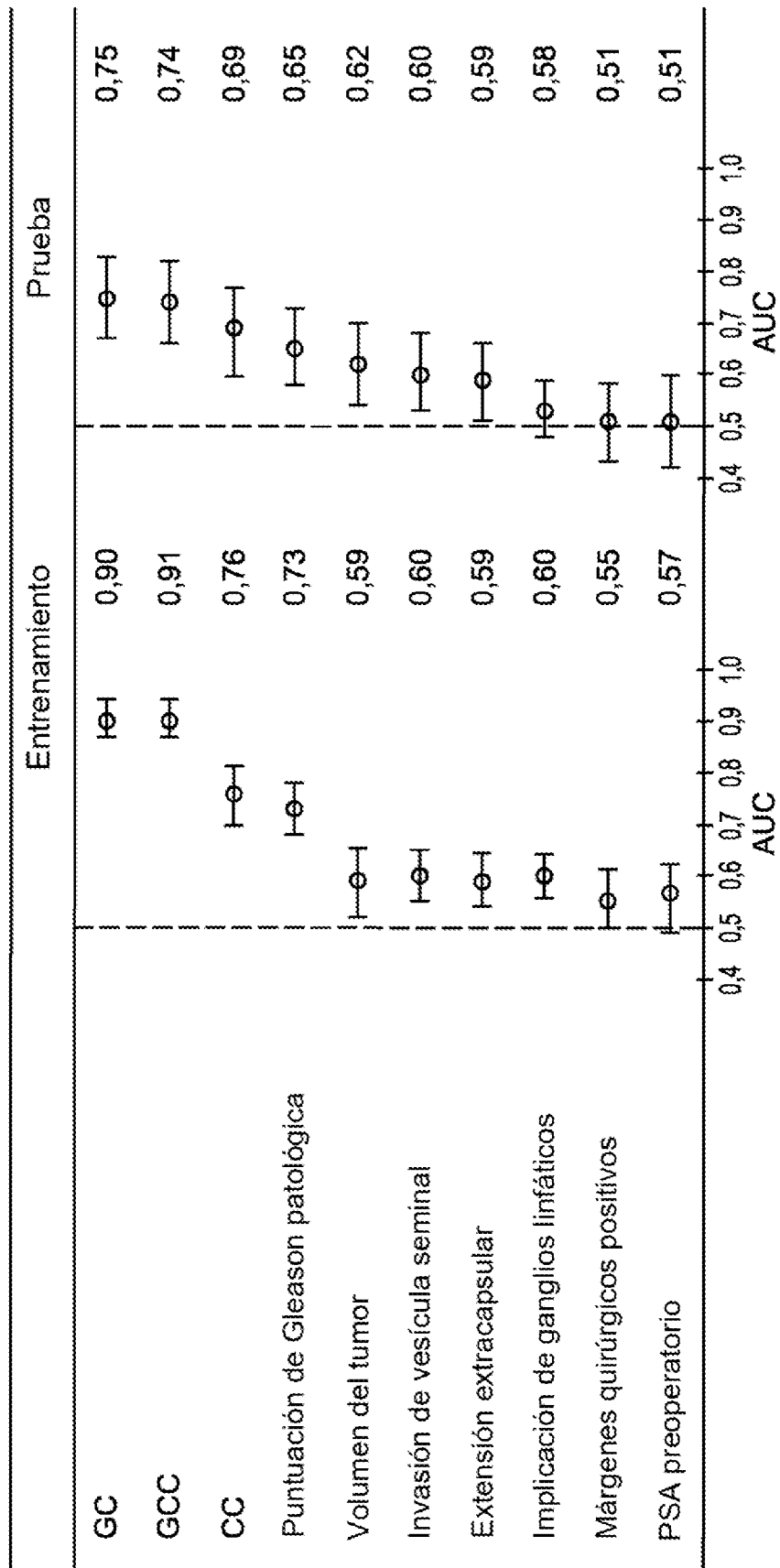


FIG. 29

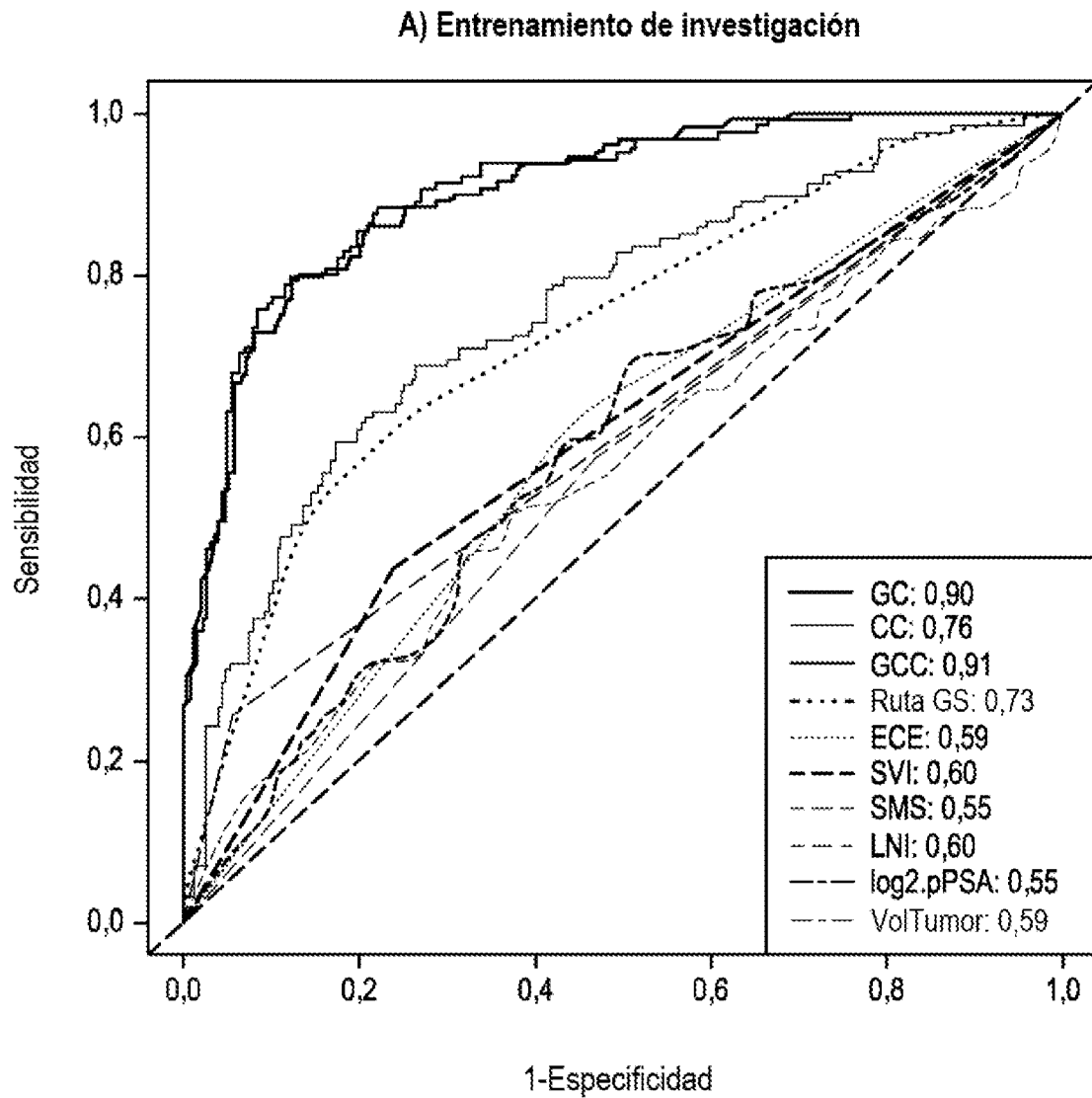


FIG. 30A

B) Prueba de investigación

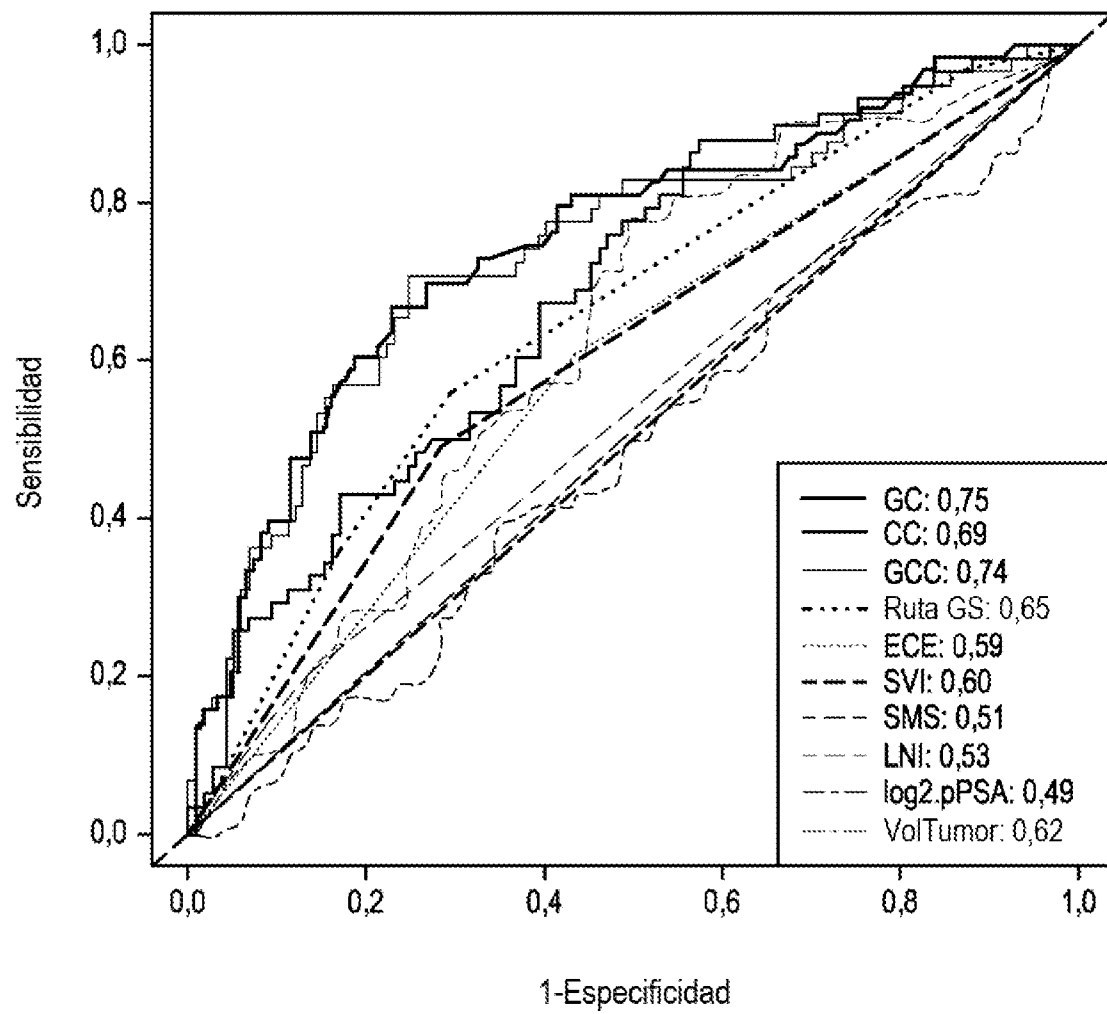


FIG. 30B

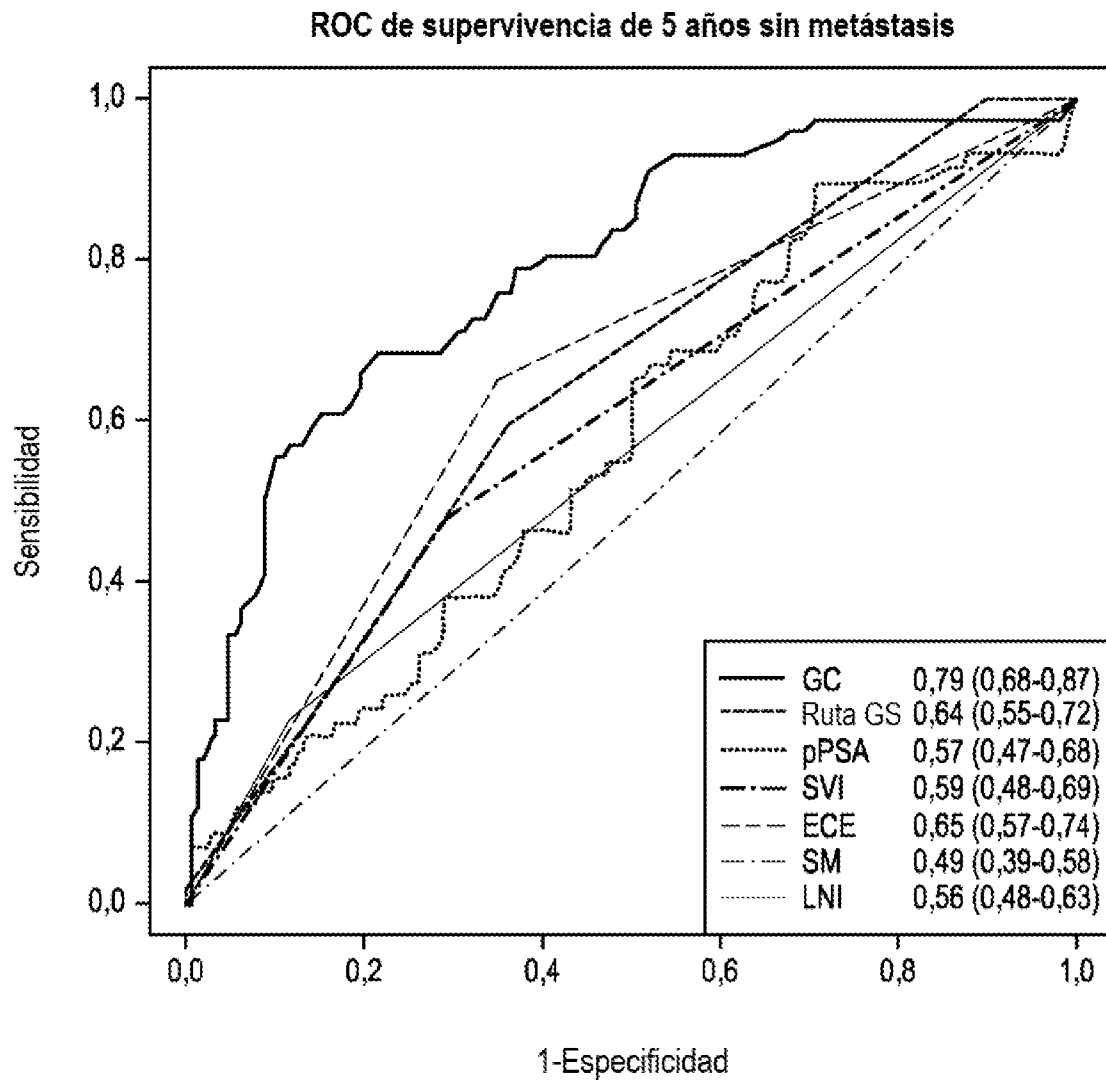


FIG. 31

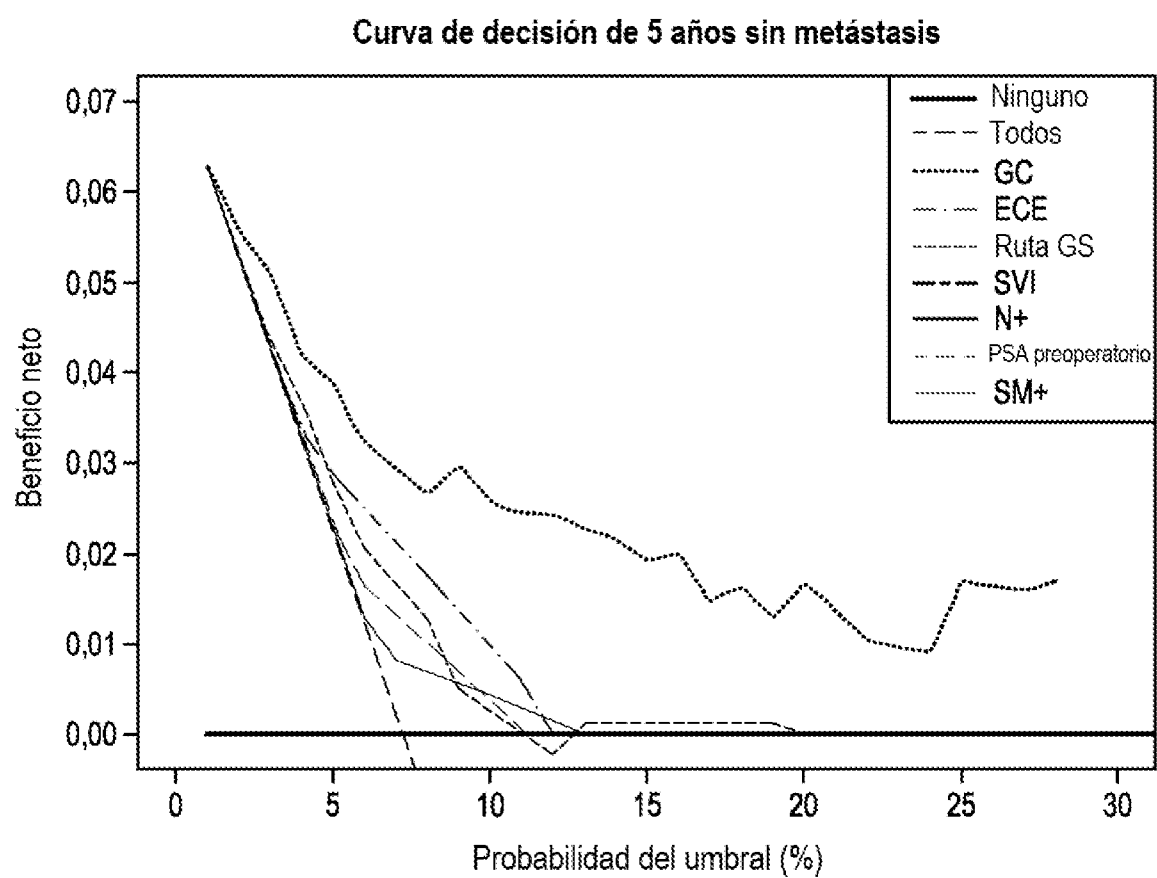


FIG. 32

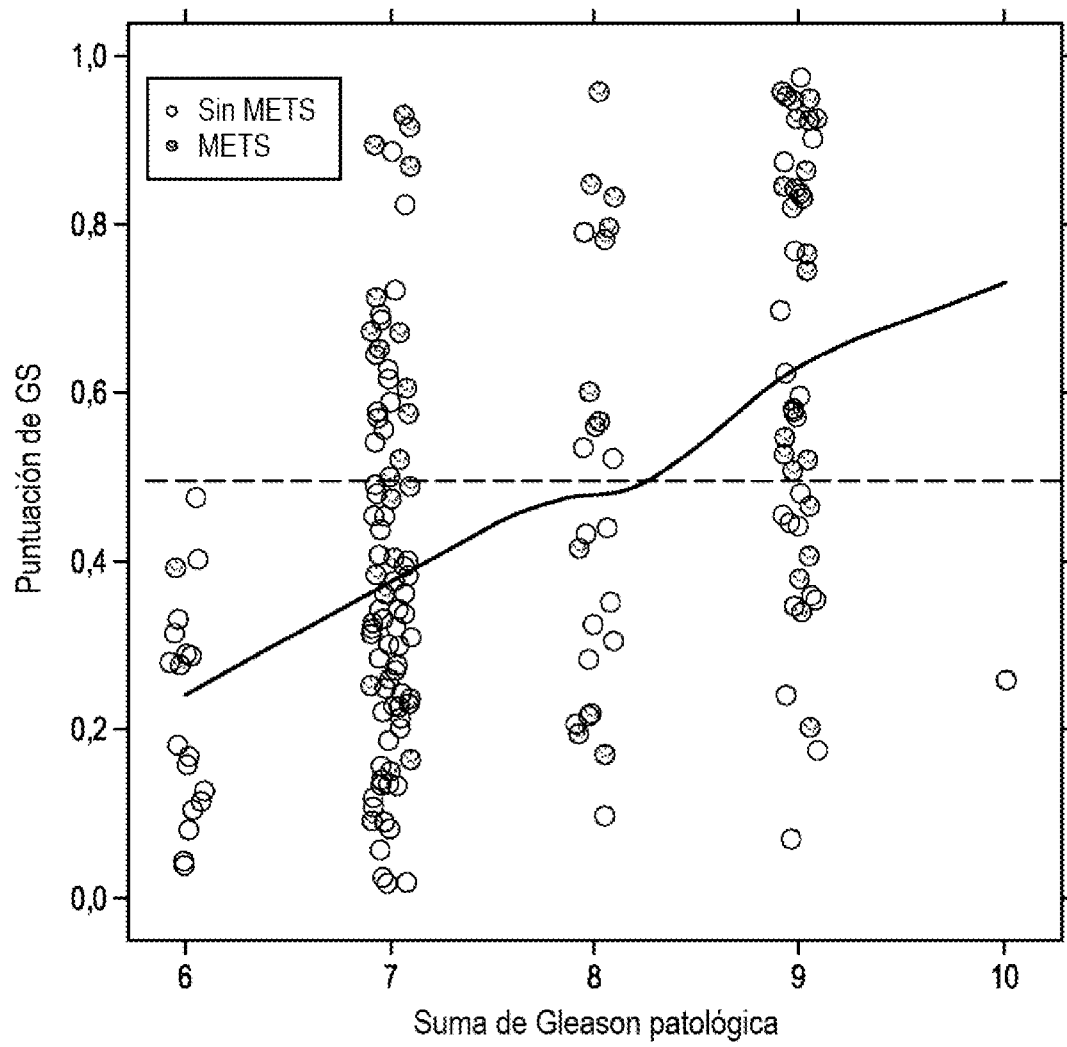


FIG. 33

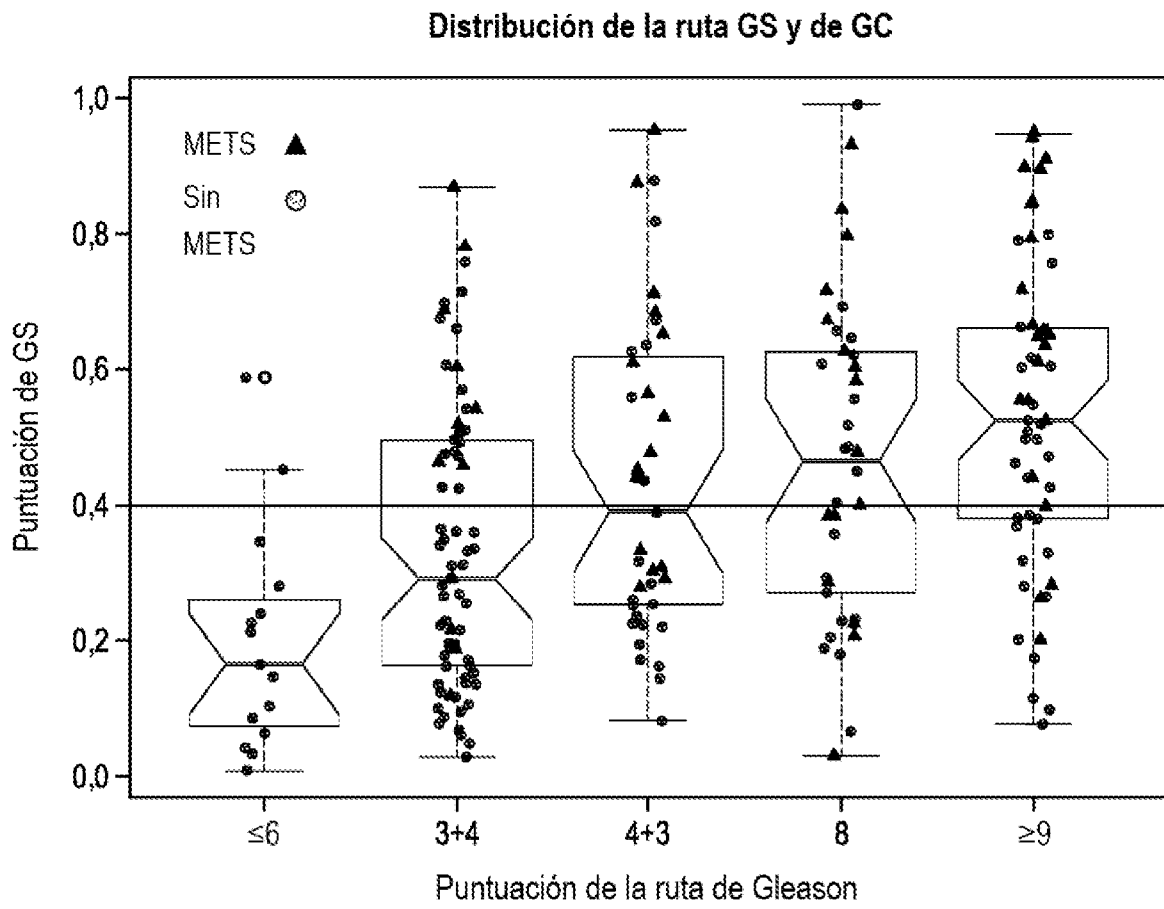


FIG. 34

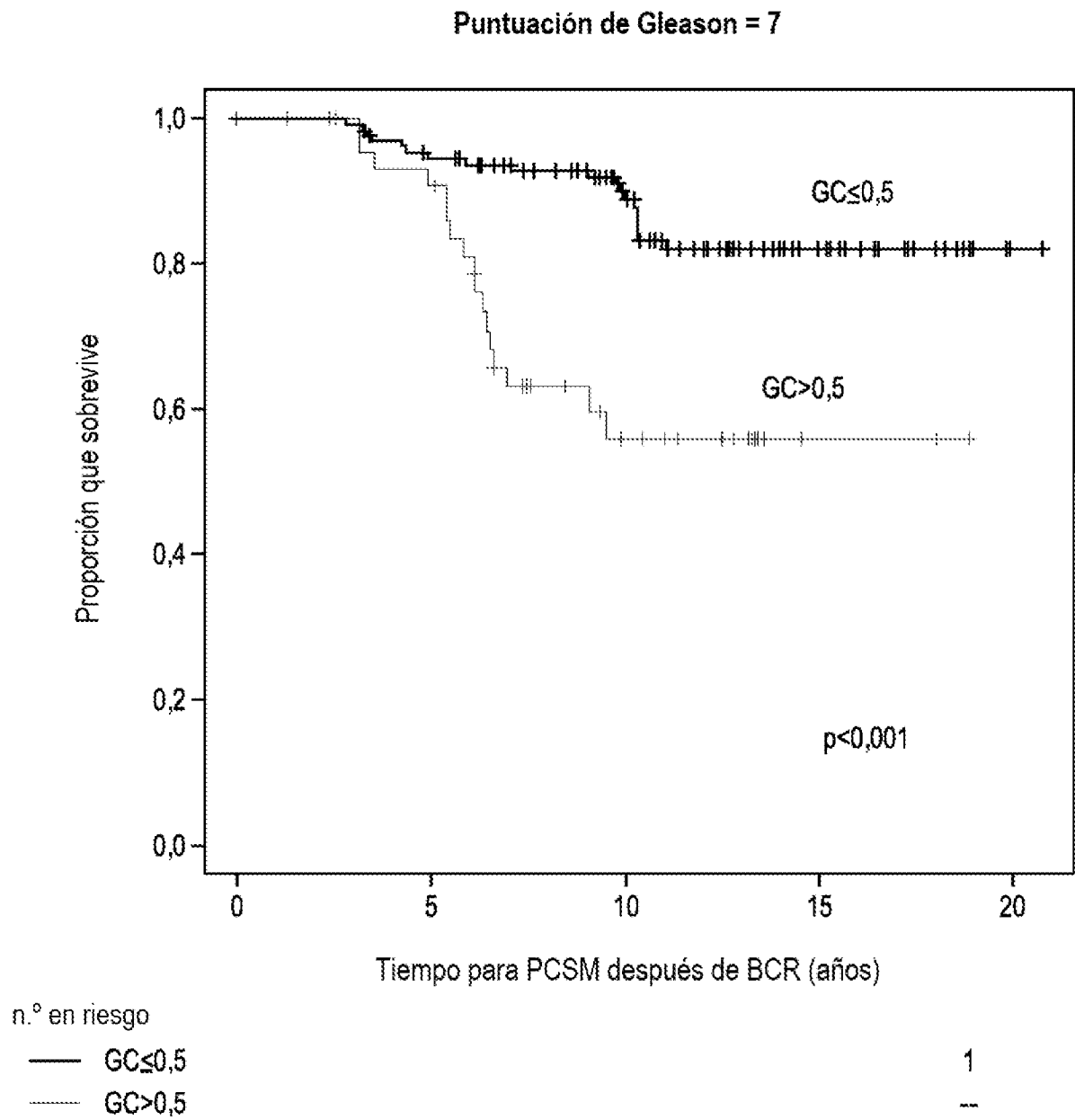
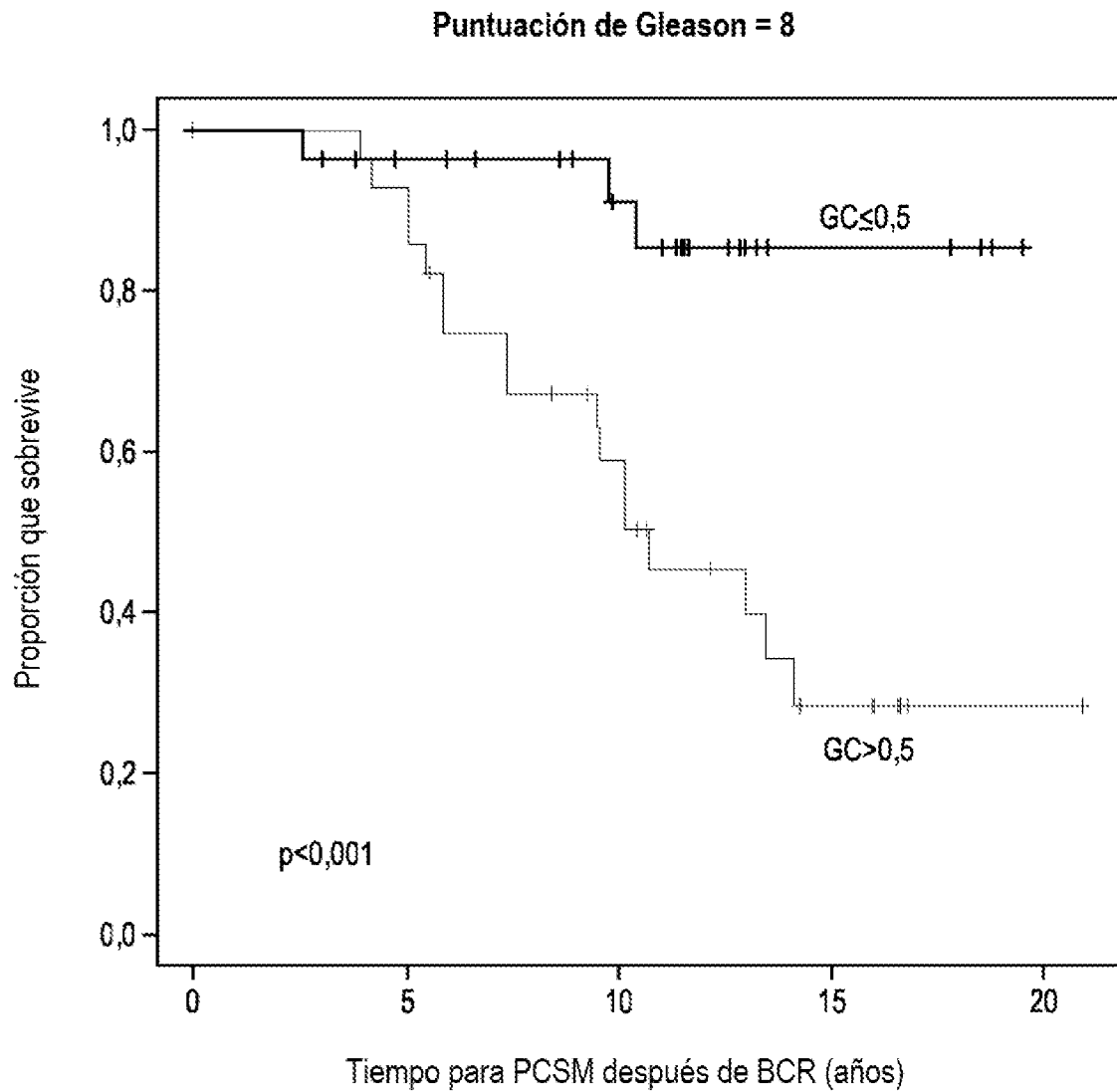


FIG. 35A



n.º en riesgo

— GC ≤ 0,5	38	22	16	4	—
..... GC > 0,5	30	26	14	4	1

FIG. 35B

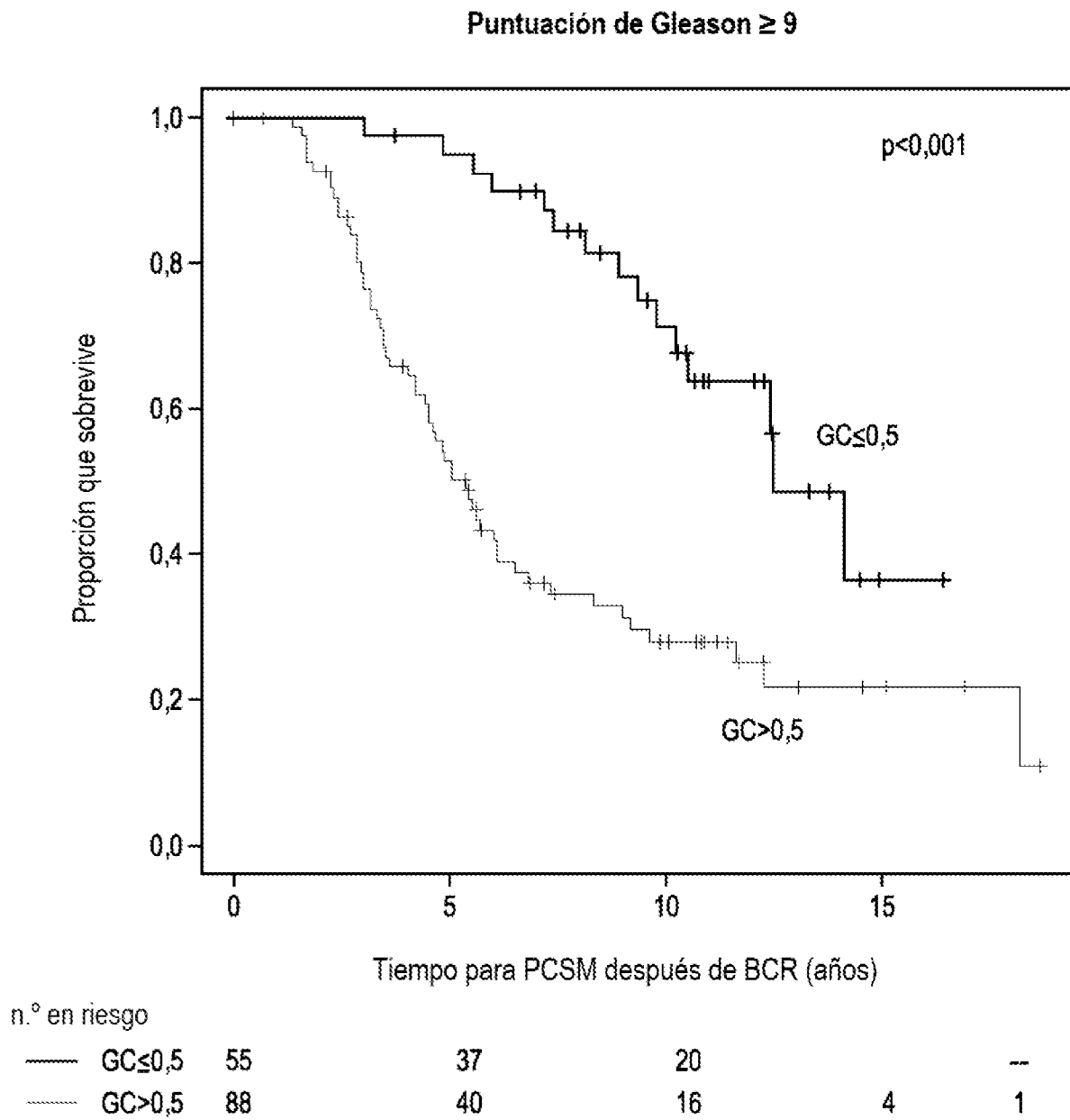


FIG. 35C

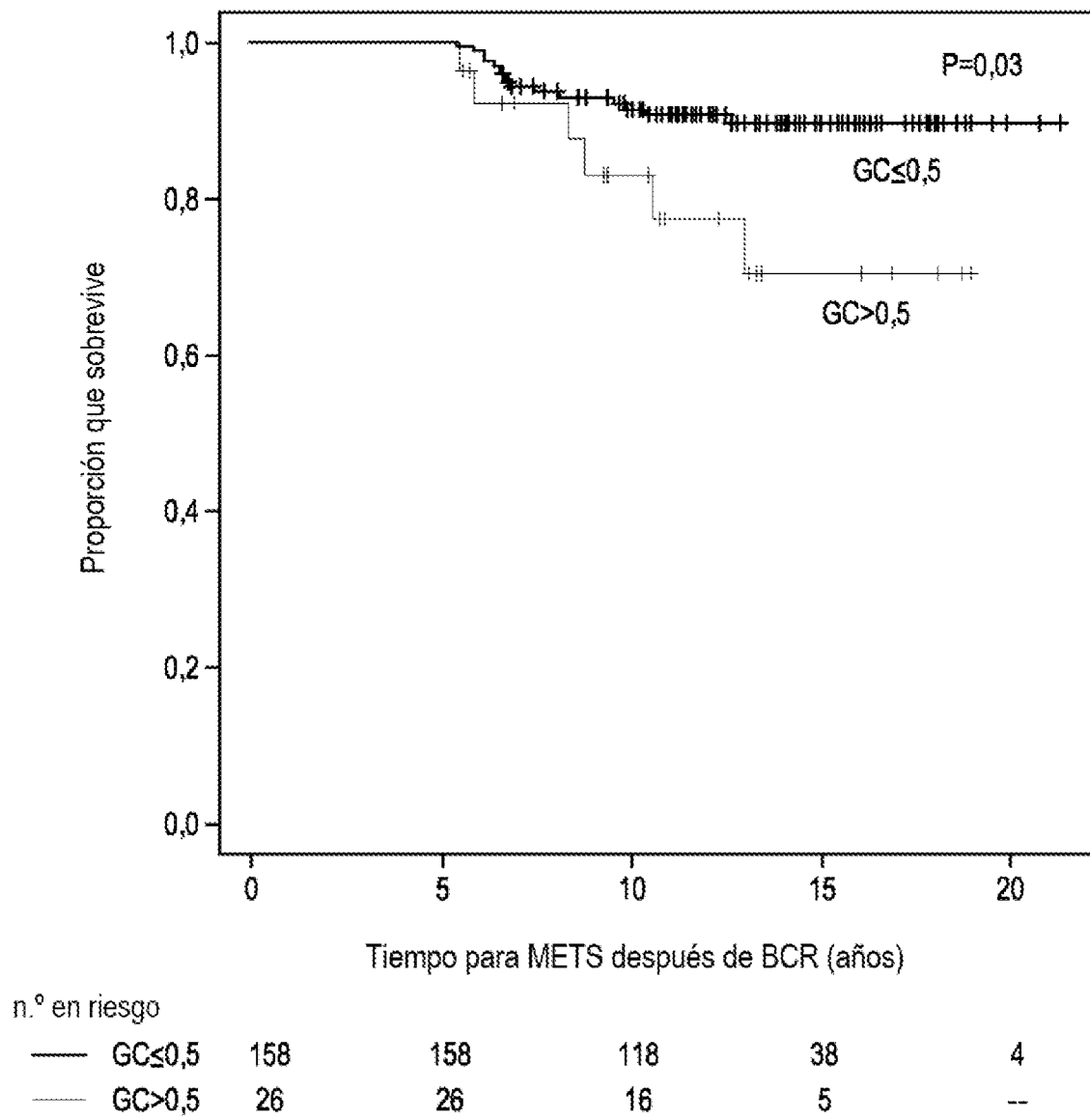


FIG. 36

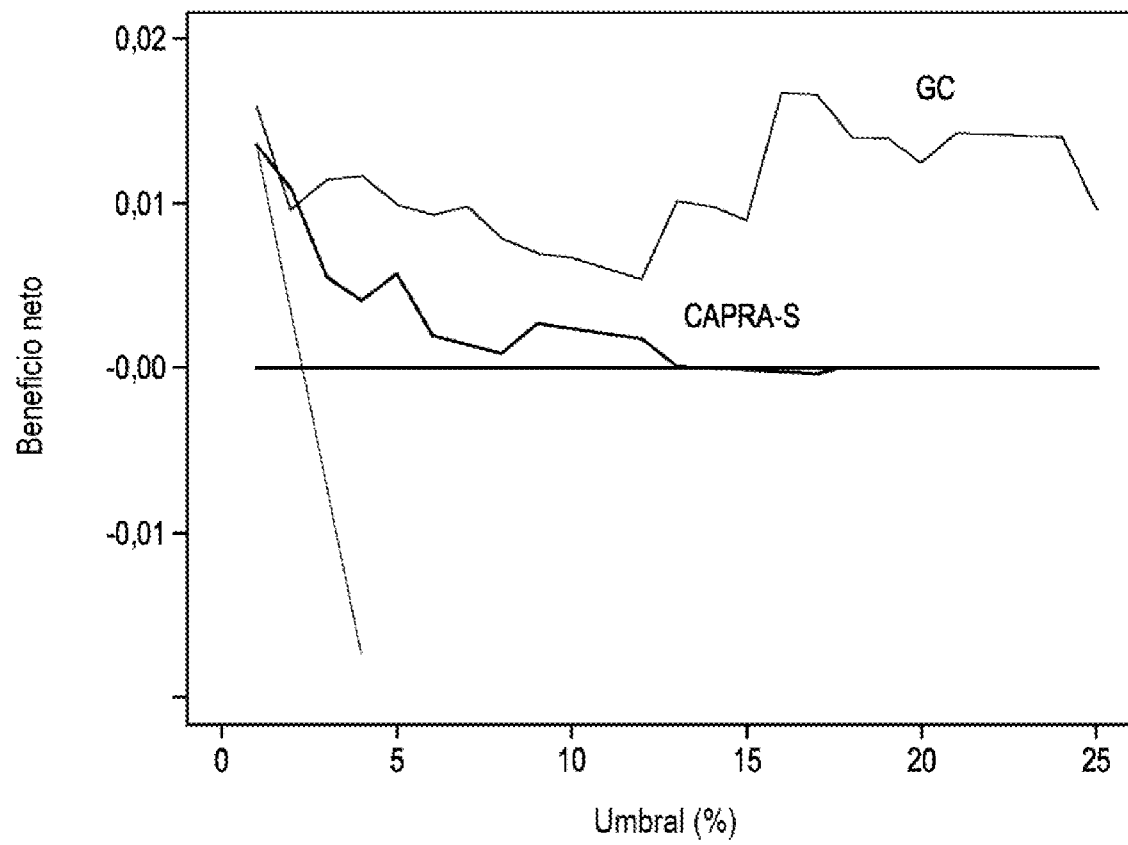


FIG. 37

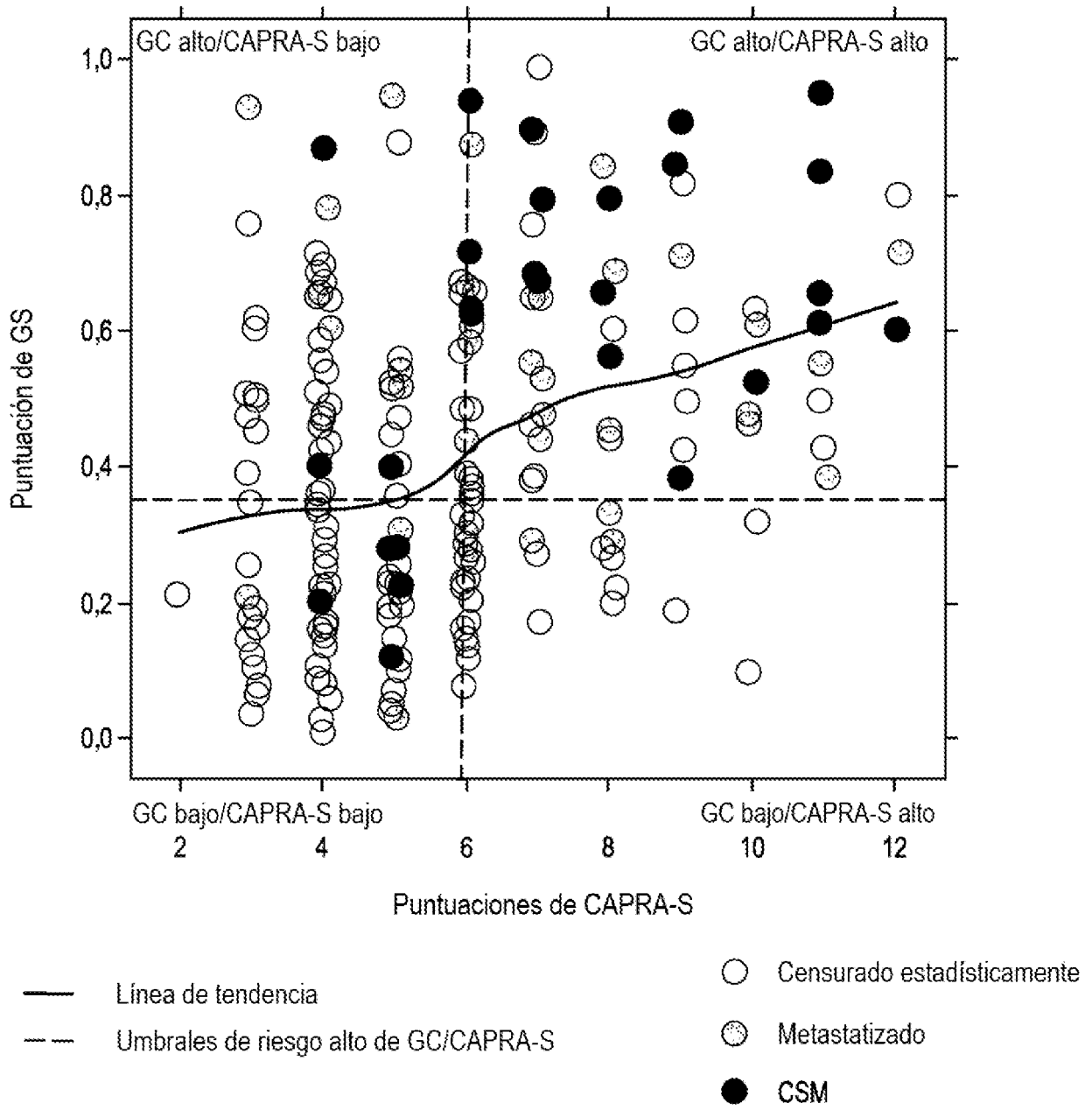


FIG. 38

CAPRA-S ≥ 6

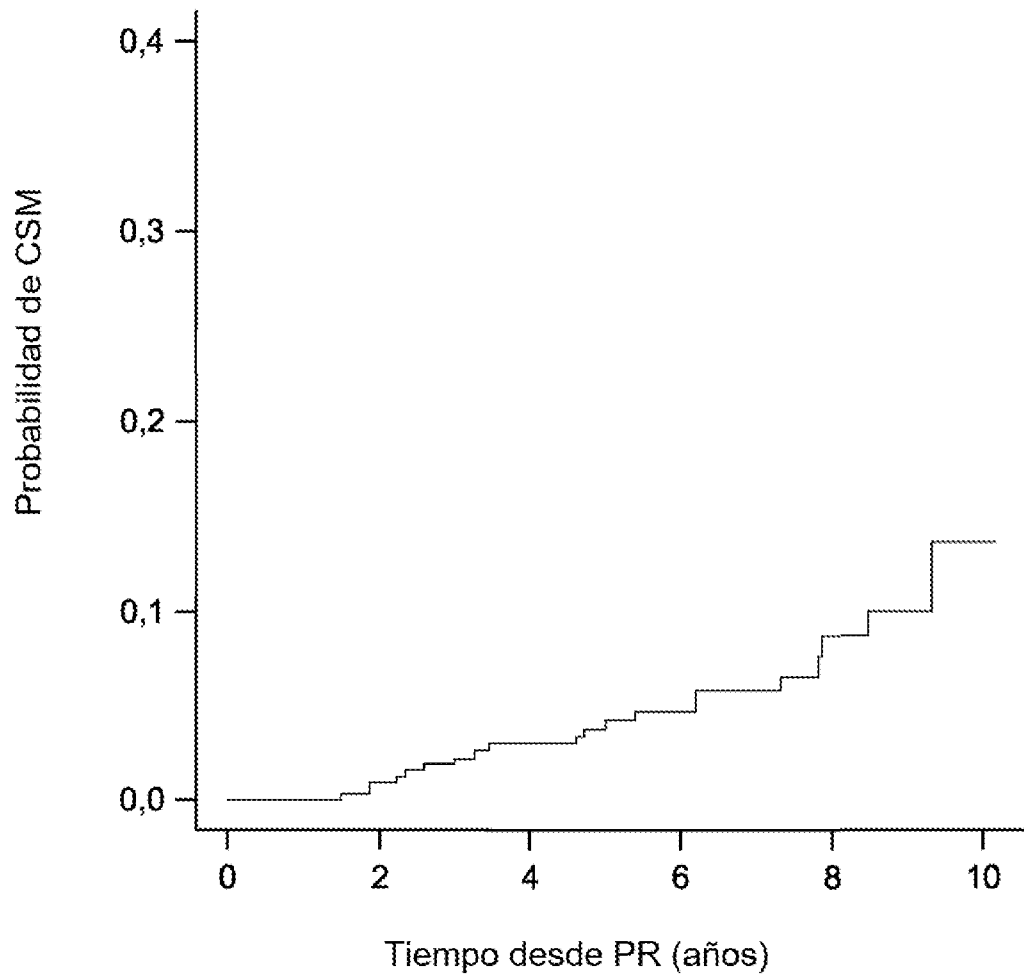


FIG. 39A

Estratificación de CAPRA-S ≥ 6 mediante GC

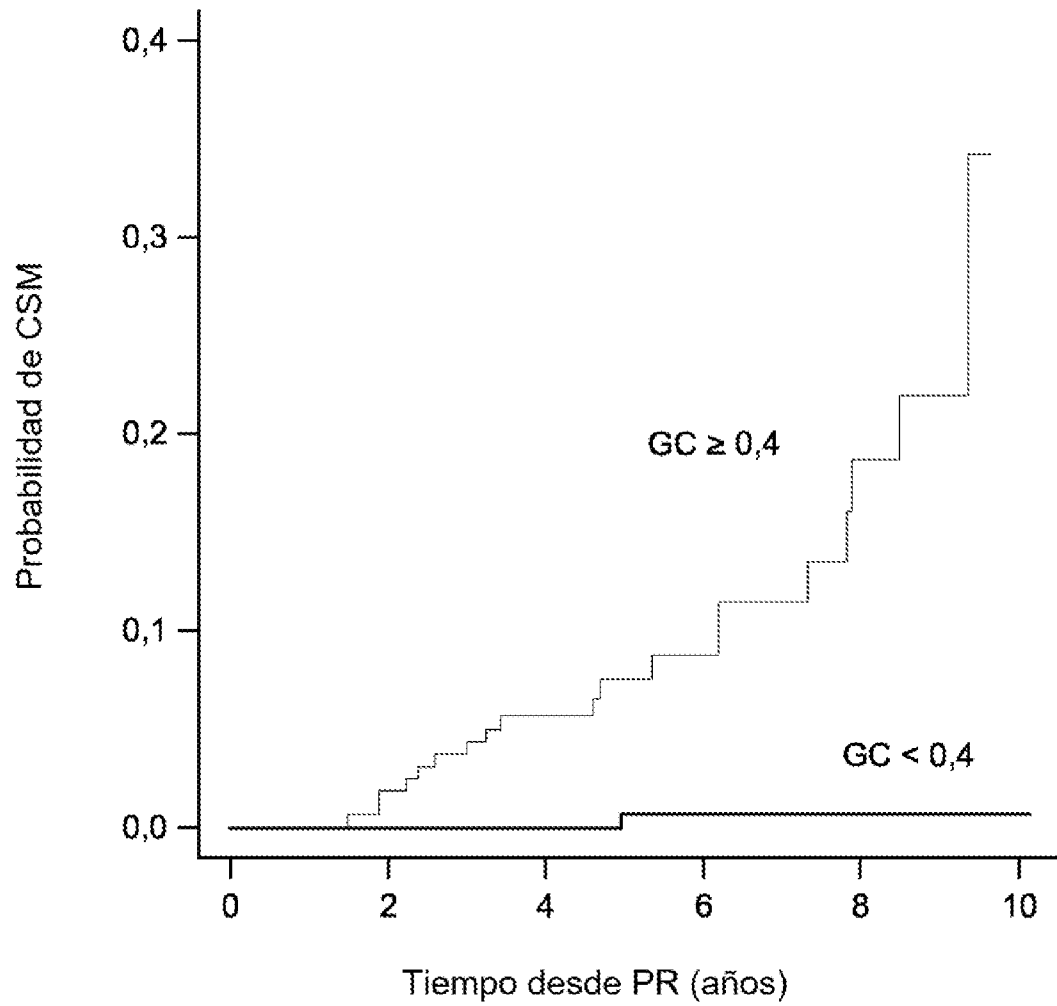


FIG. 39B

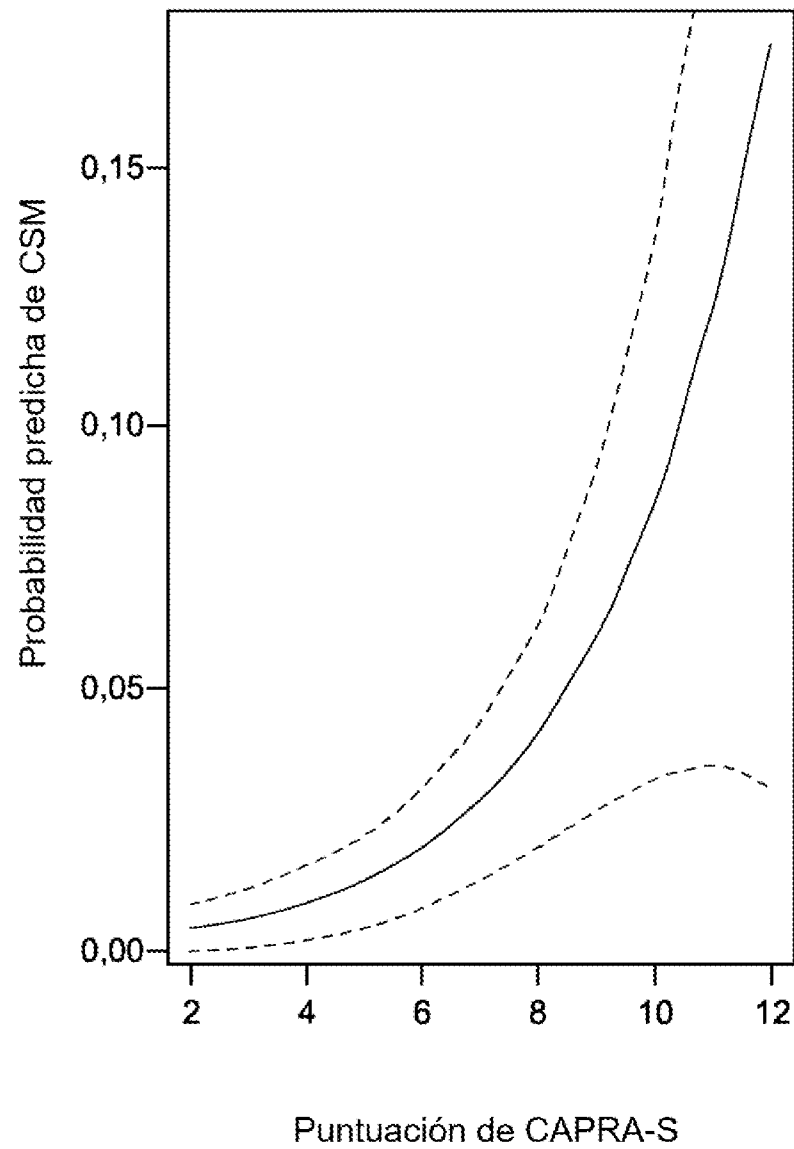


FIG. 40A

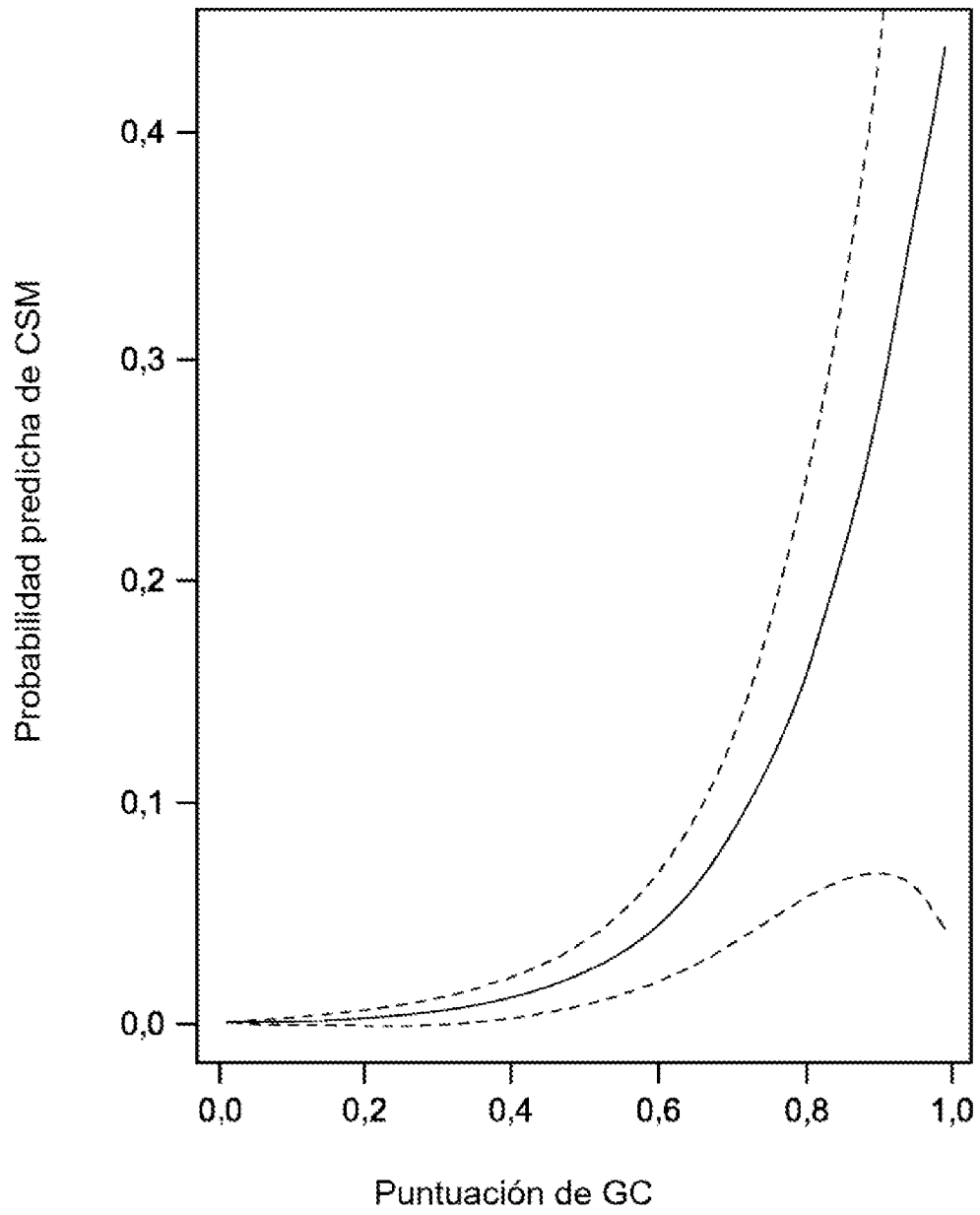


FIG. 40B

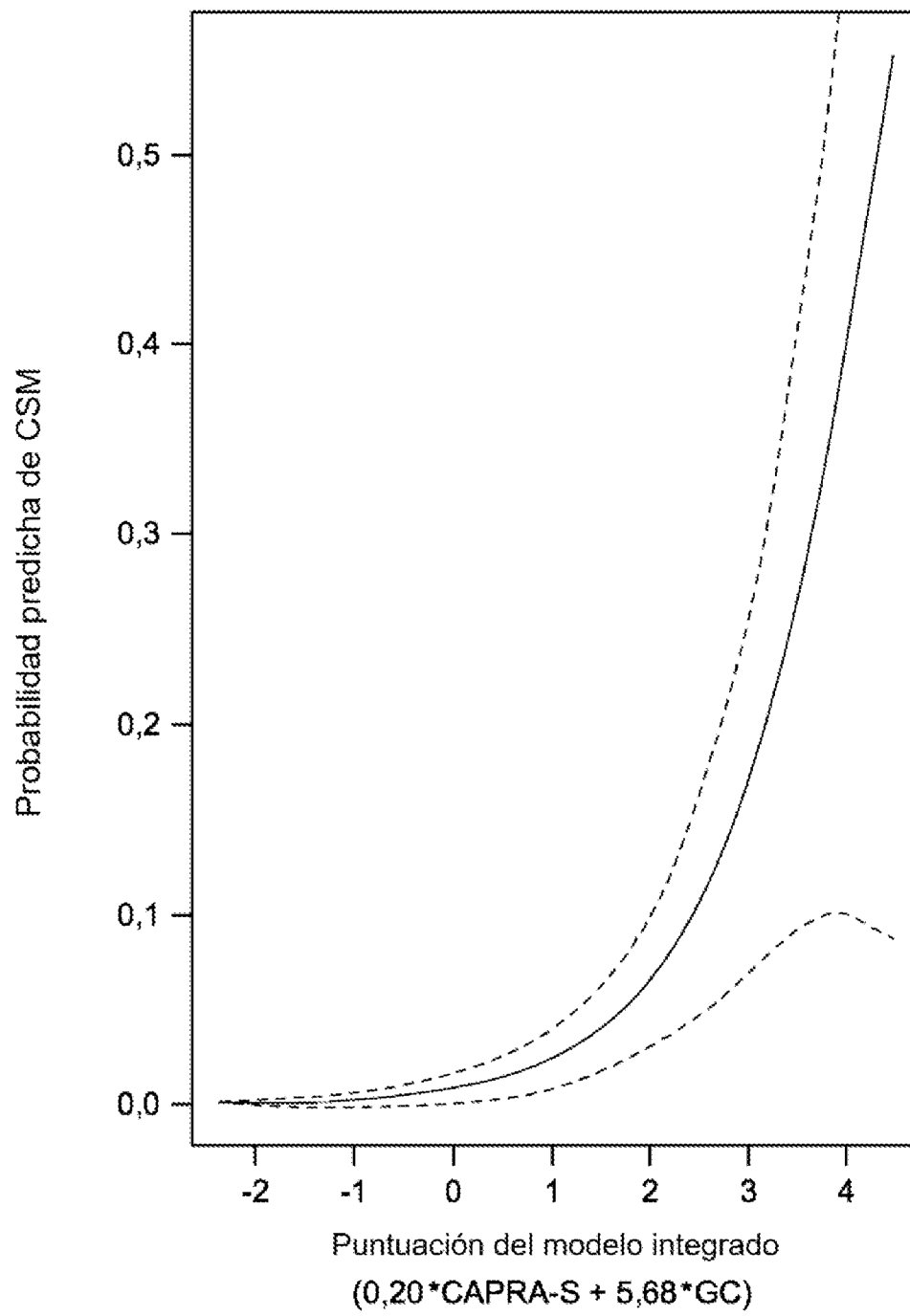


FIG. 40C

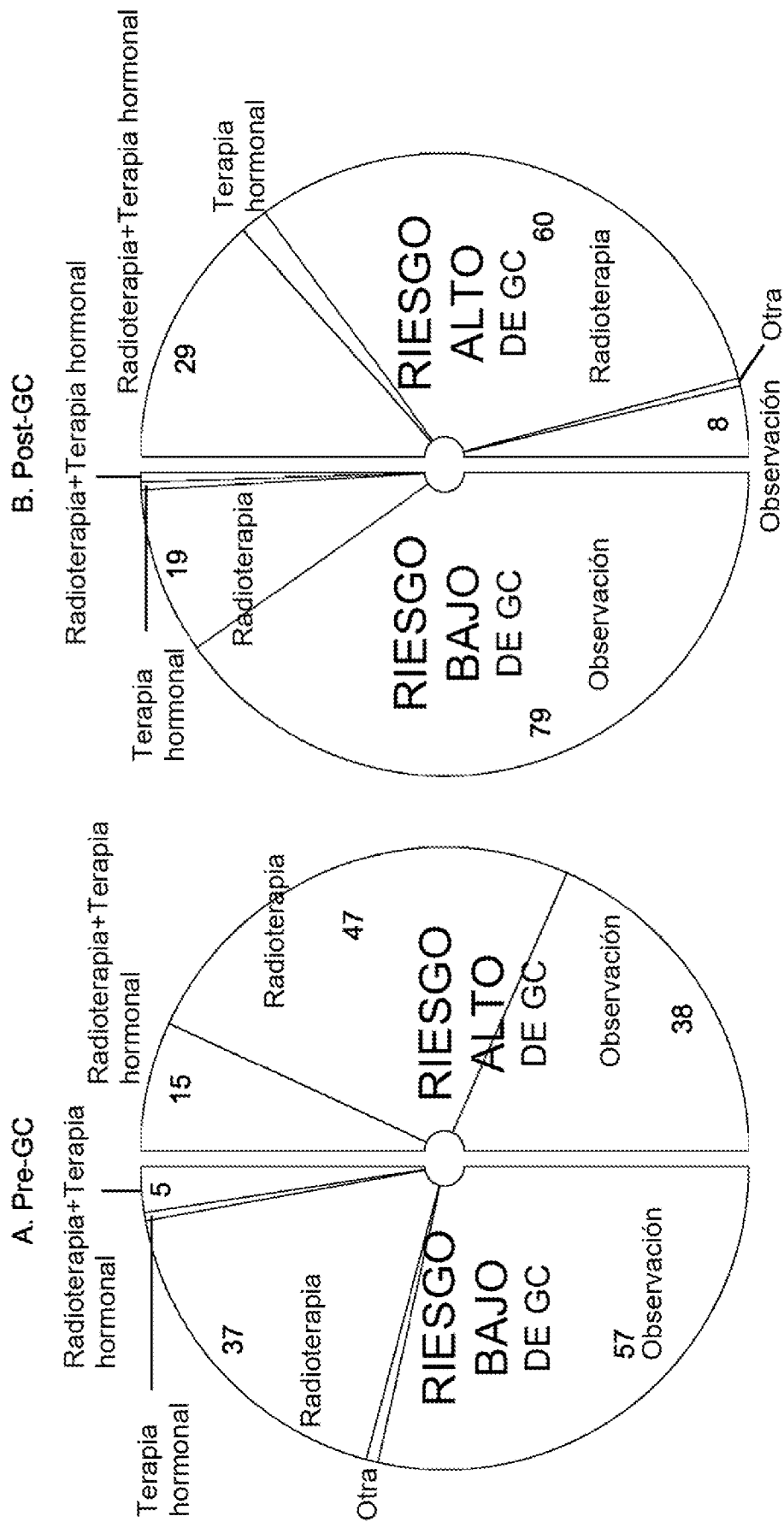


FIG. 41

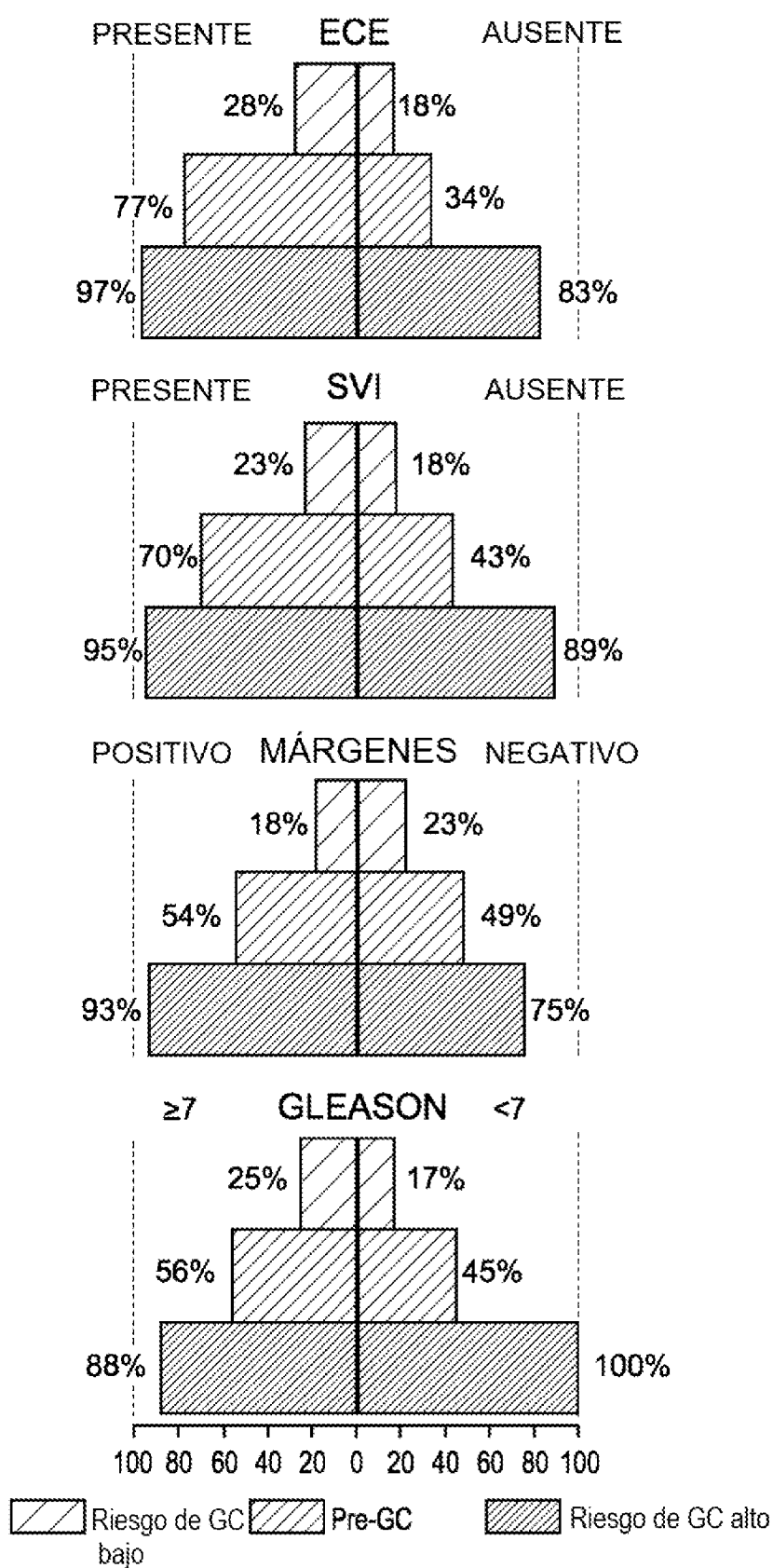


FIG. 42

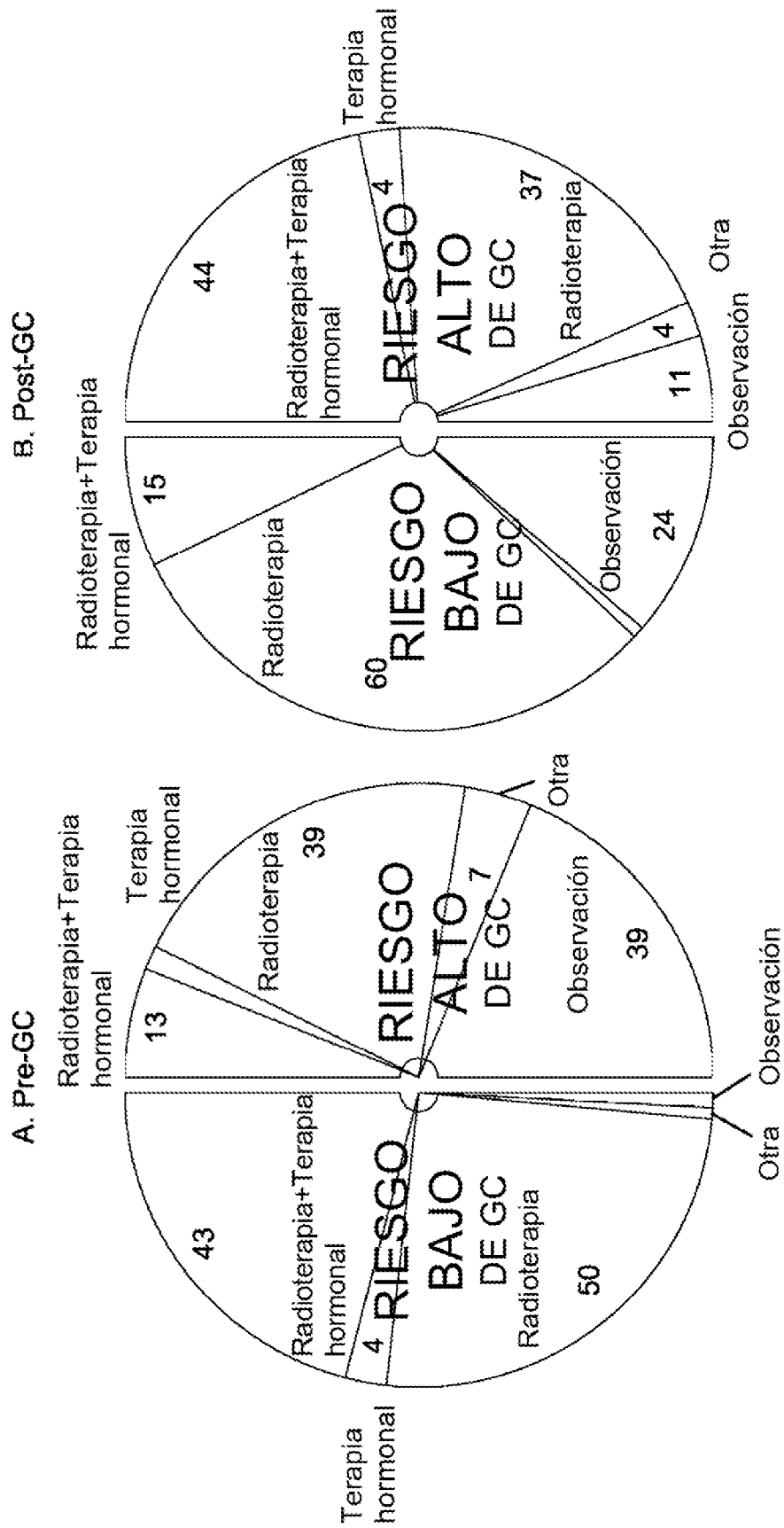


FIG. 43

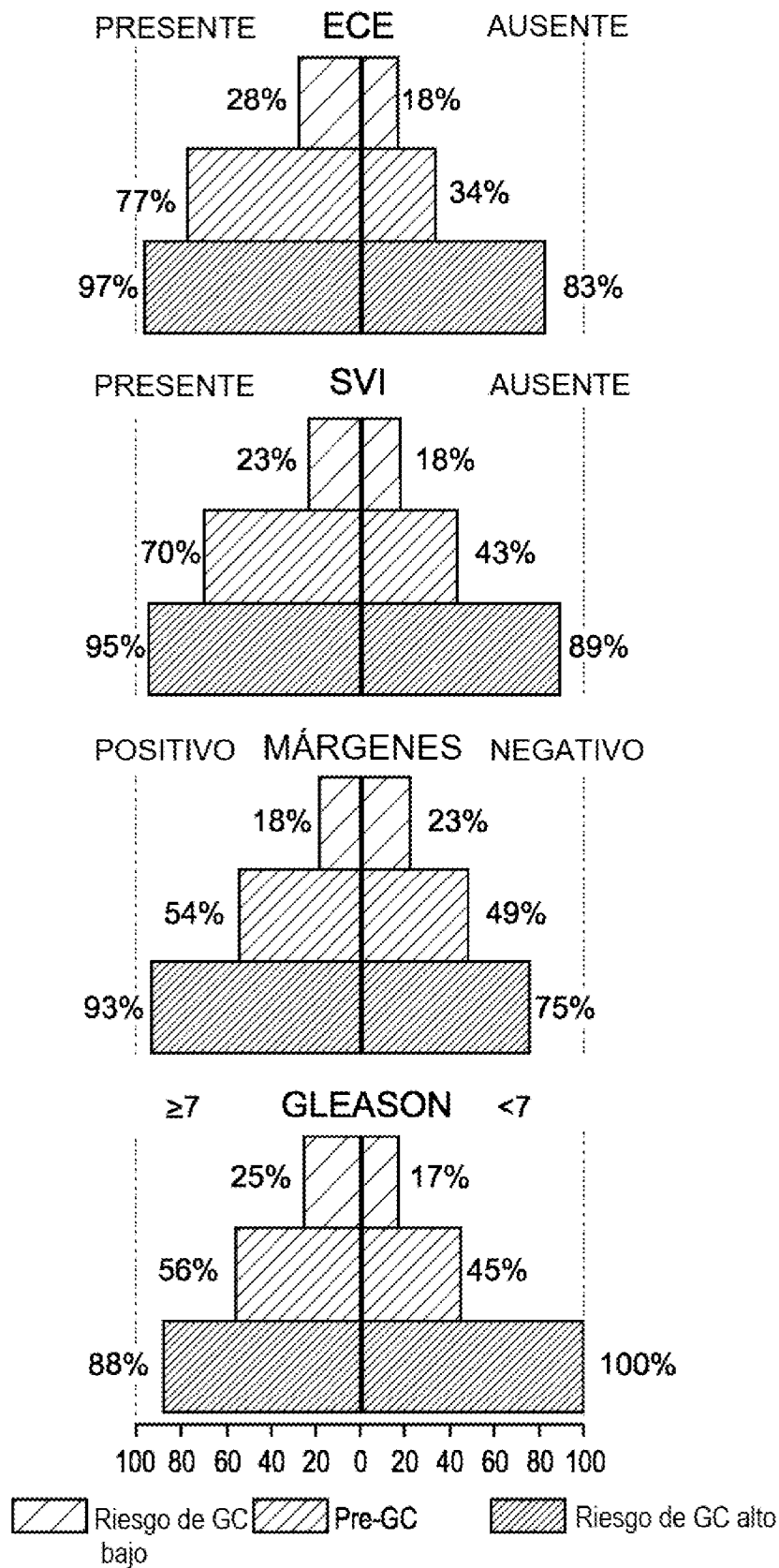


FIG. 44A

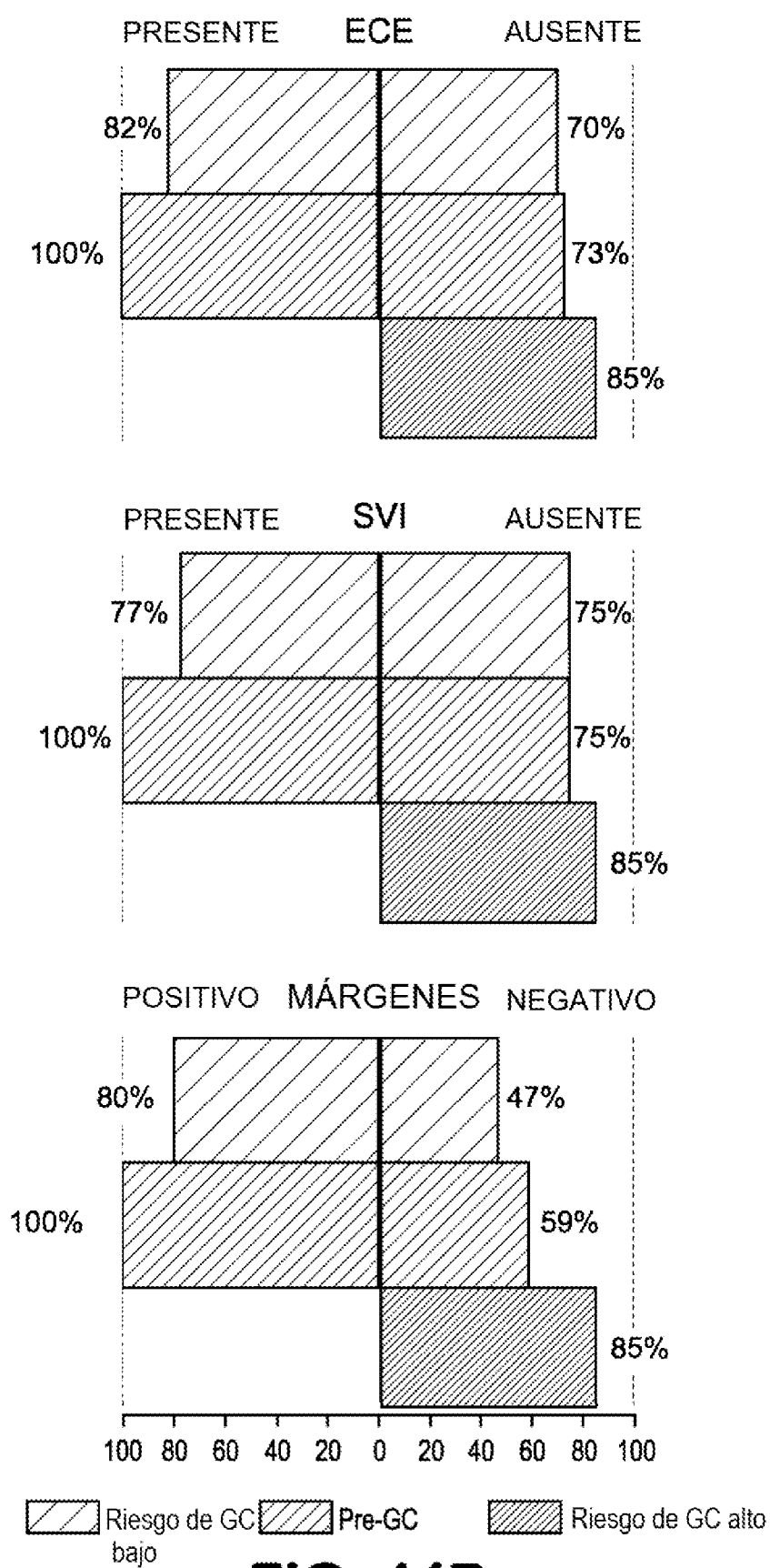


FIG. 44B

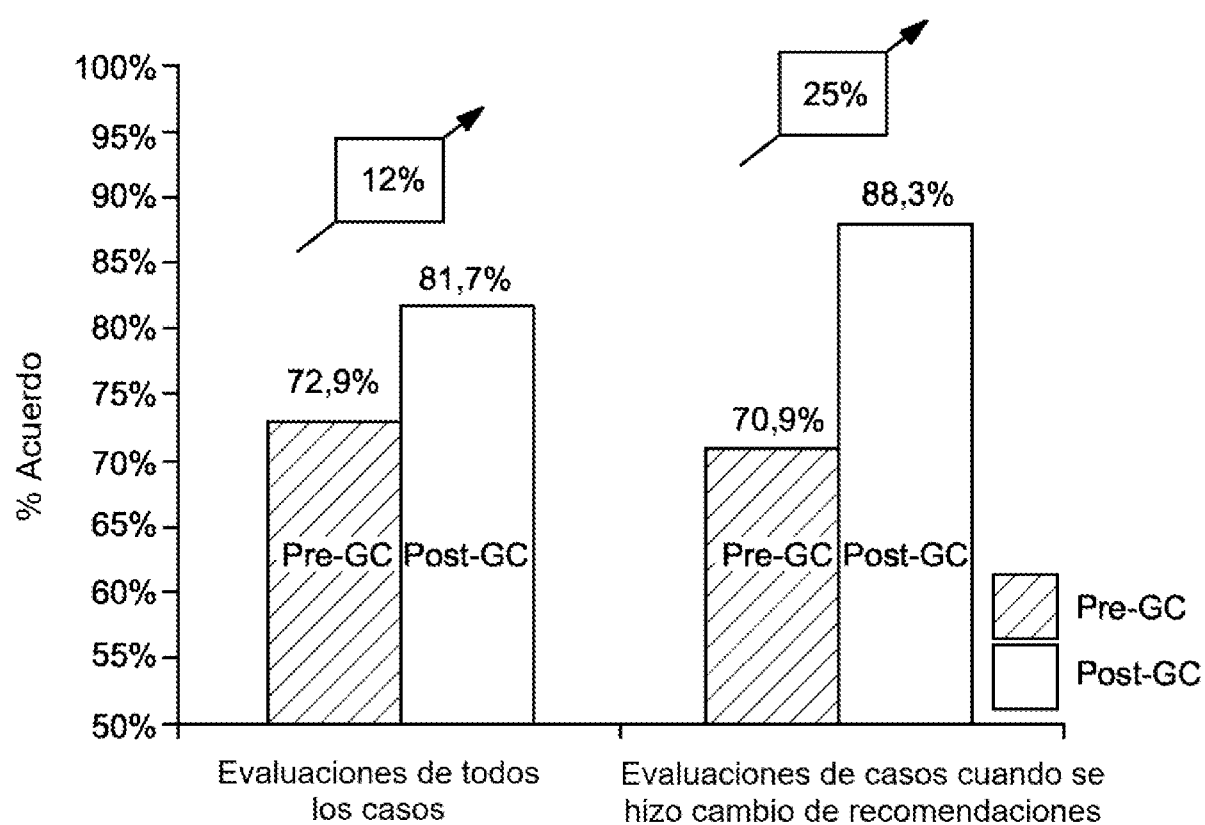
**FIG. 45**

Gráfico de cajas de discriminación de pacientes de BCR solo

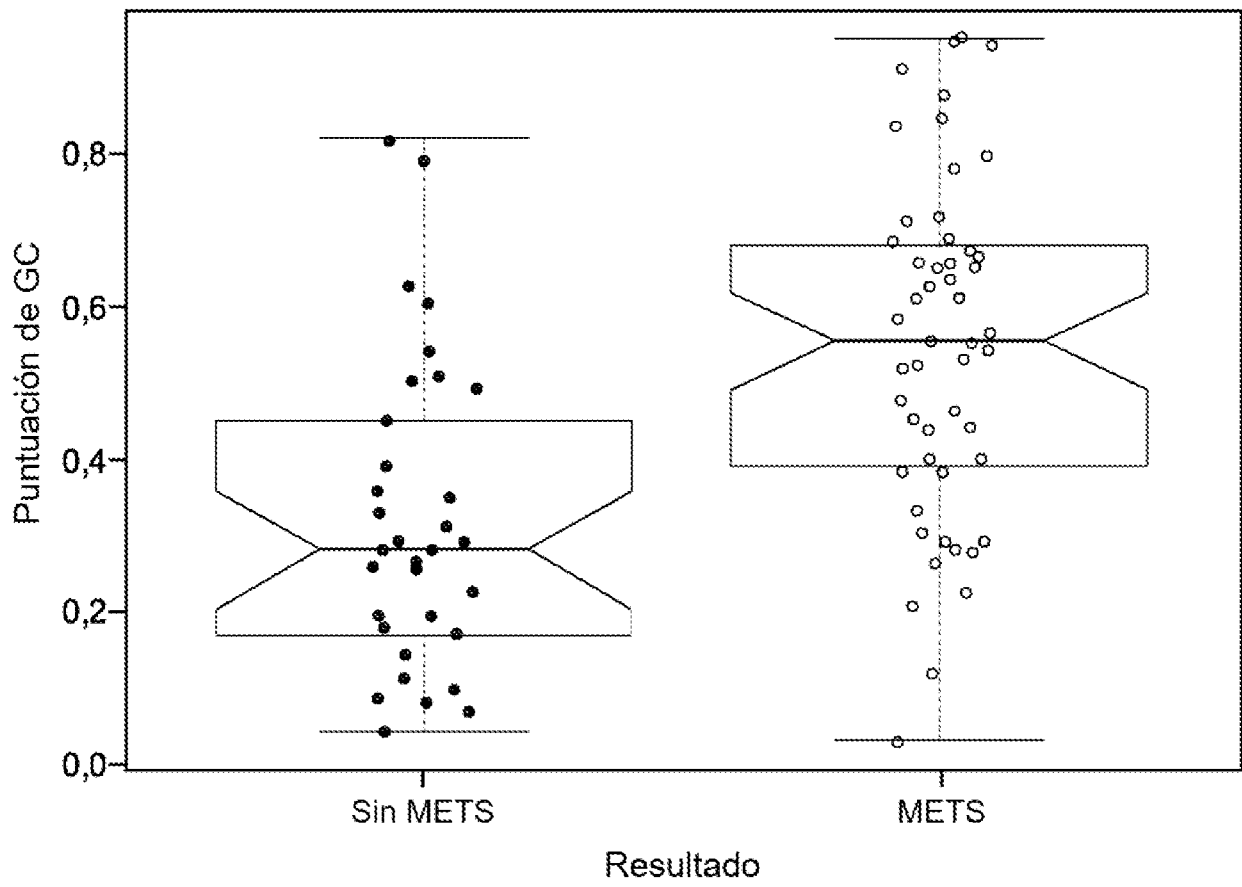


FIG. 46

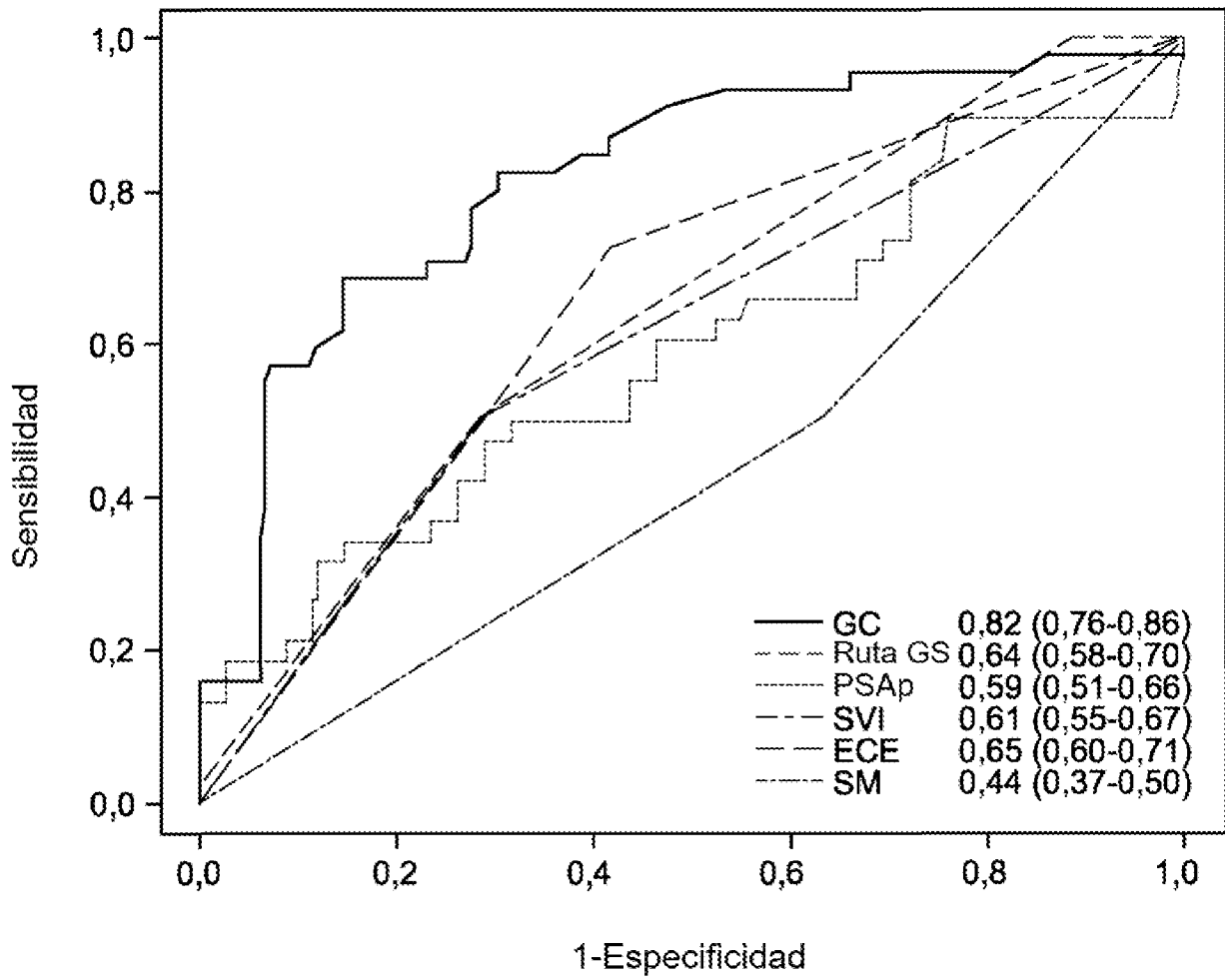
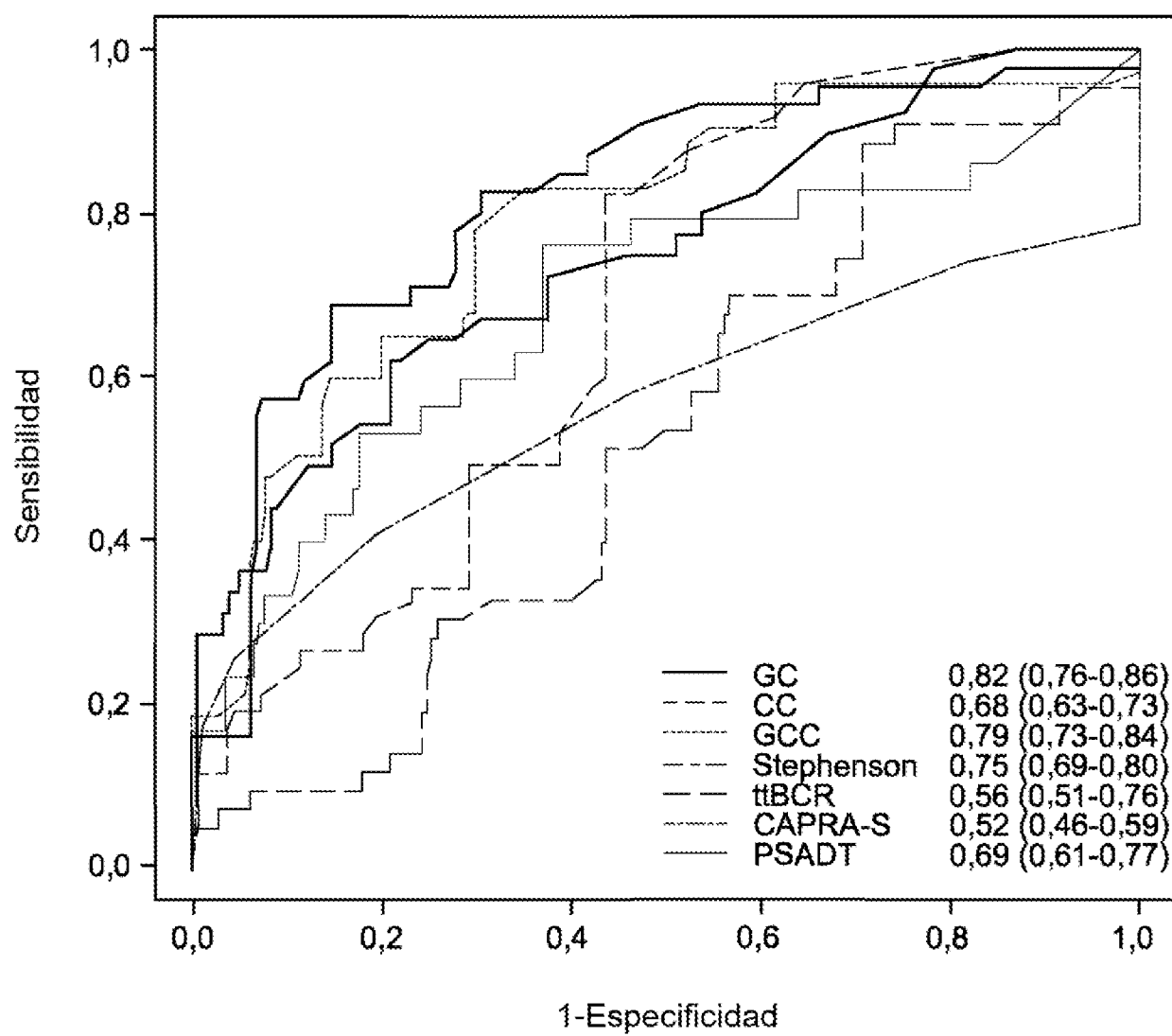
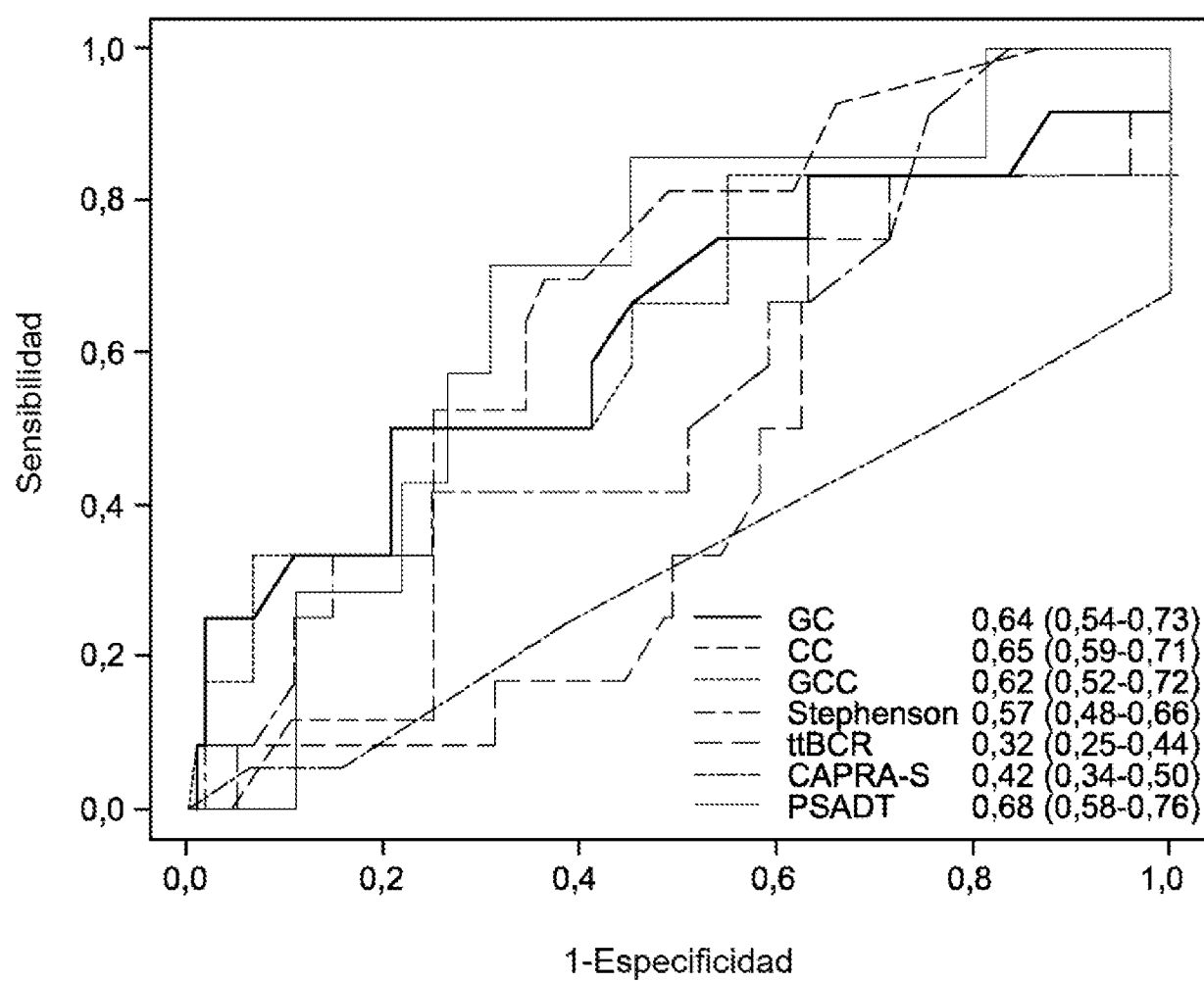


FIG. 47

**FIG. 48**

**FIG. 49**

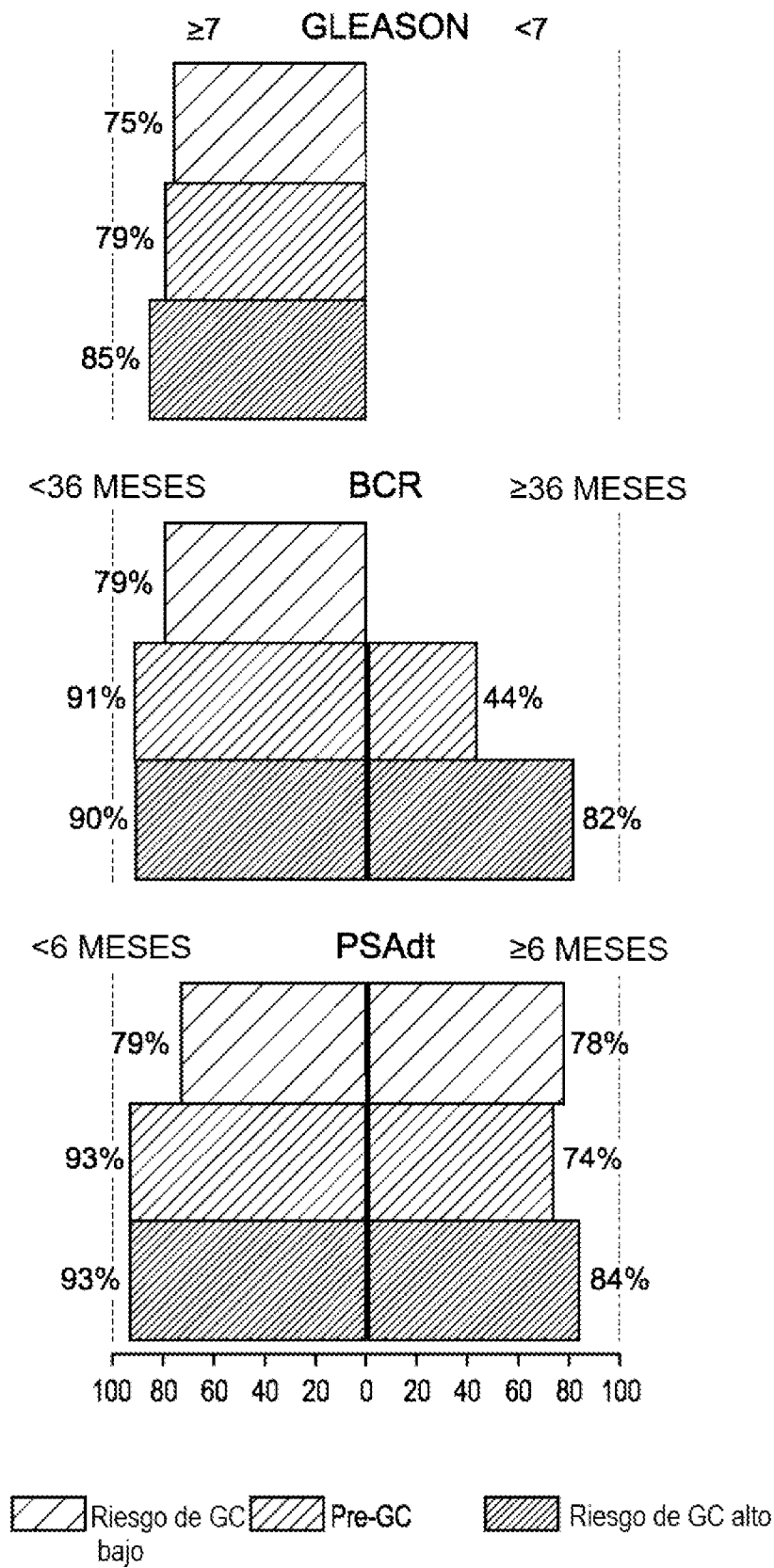


FIG. 50

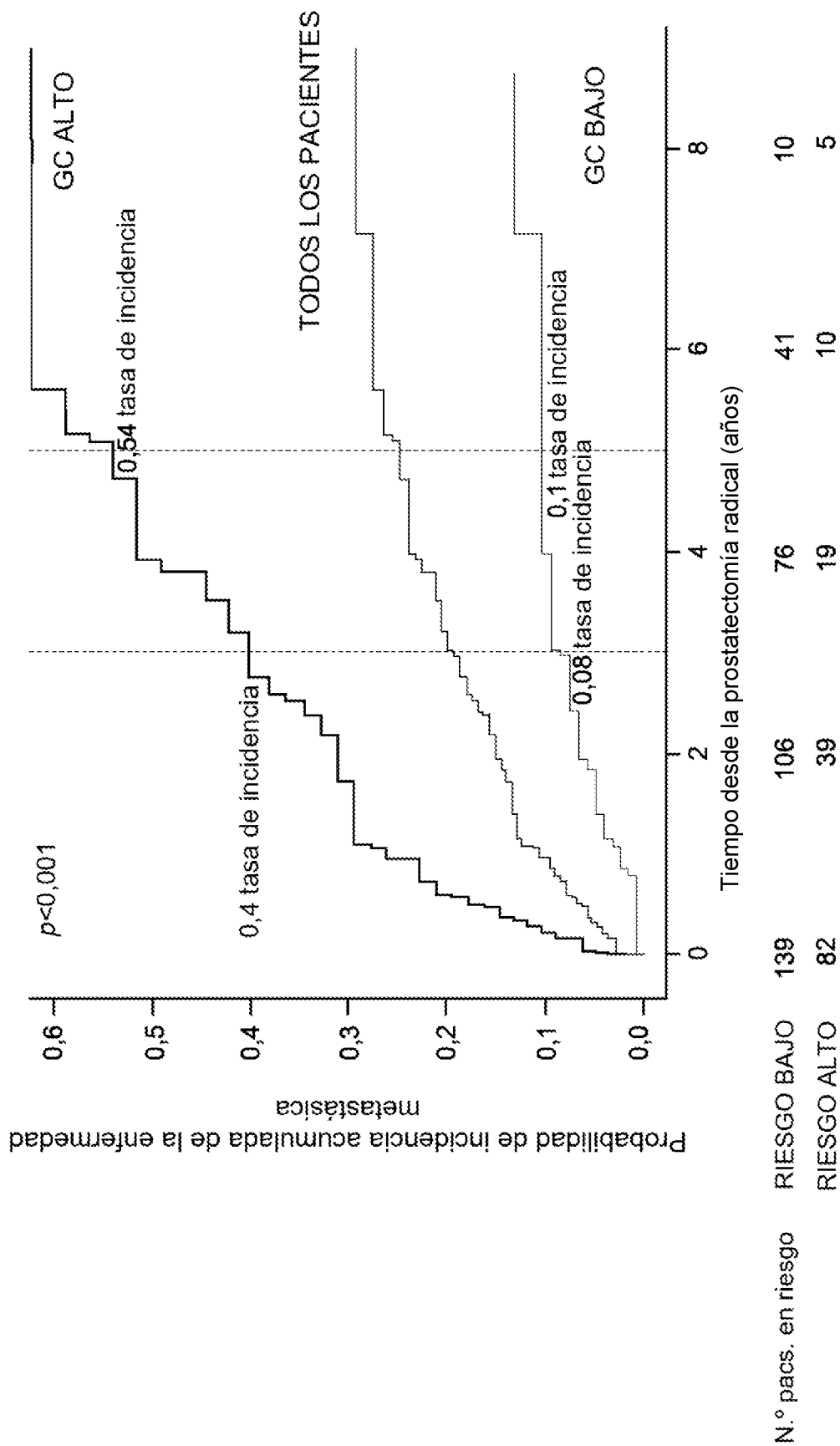


FIG. 51

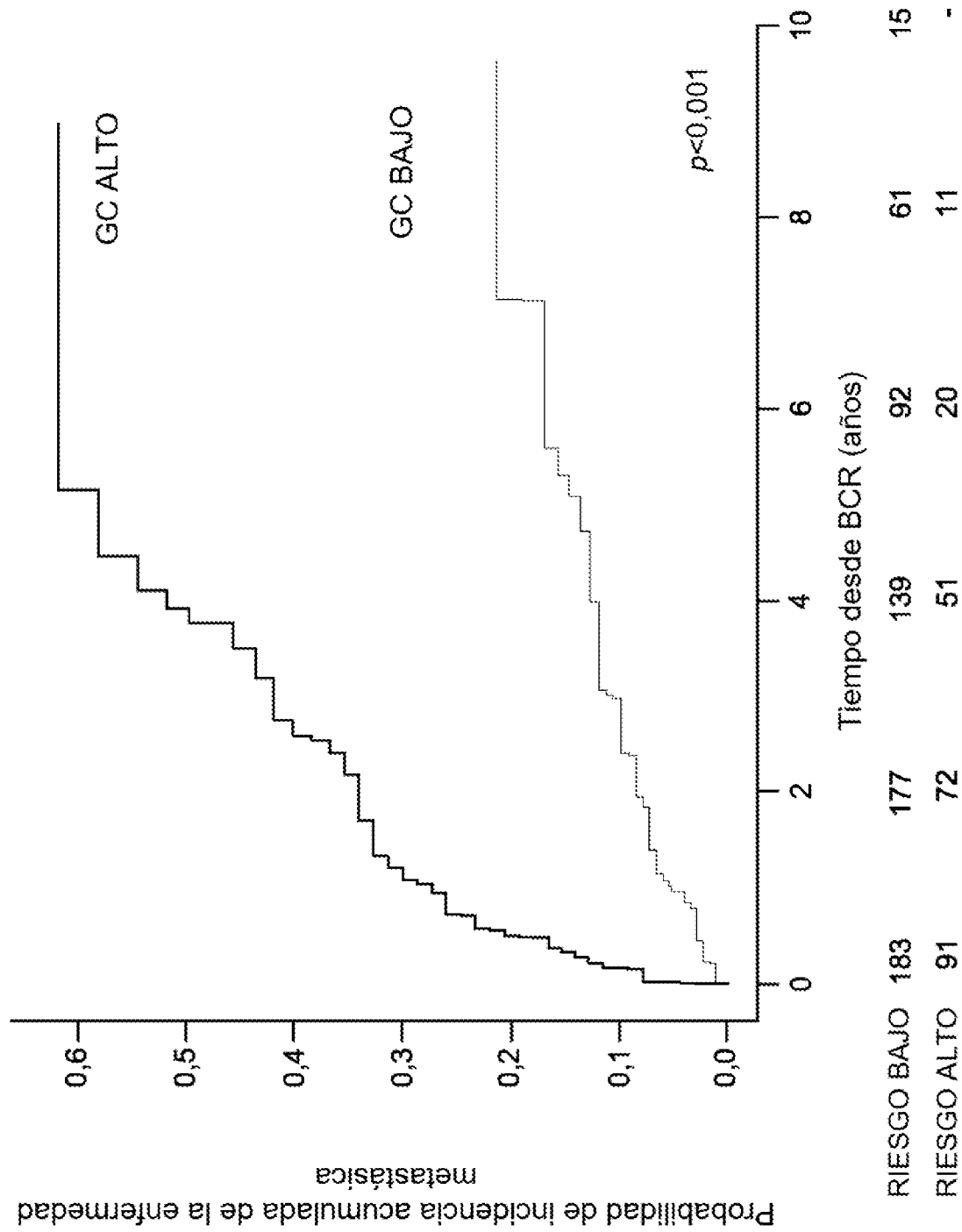


FIG. 52

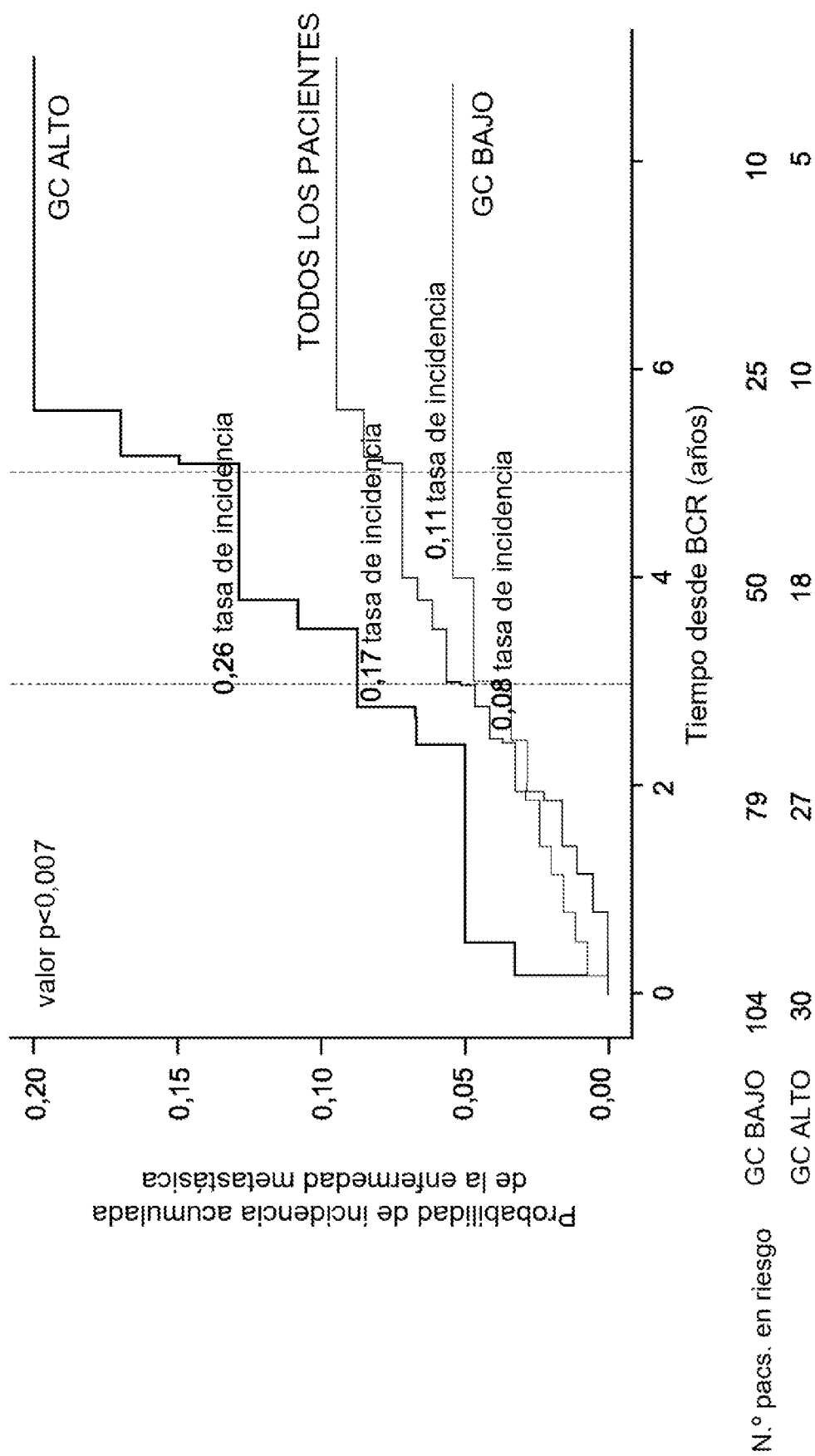


FIG. 53

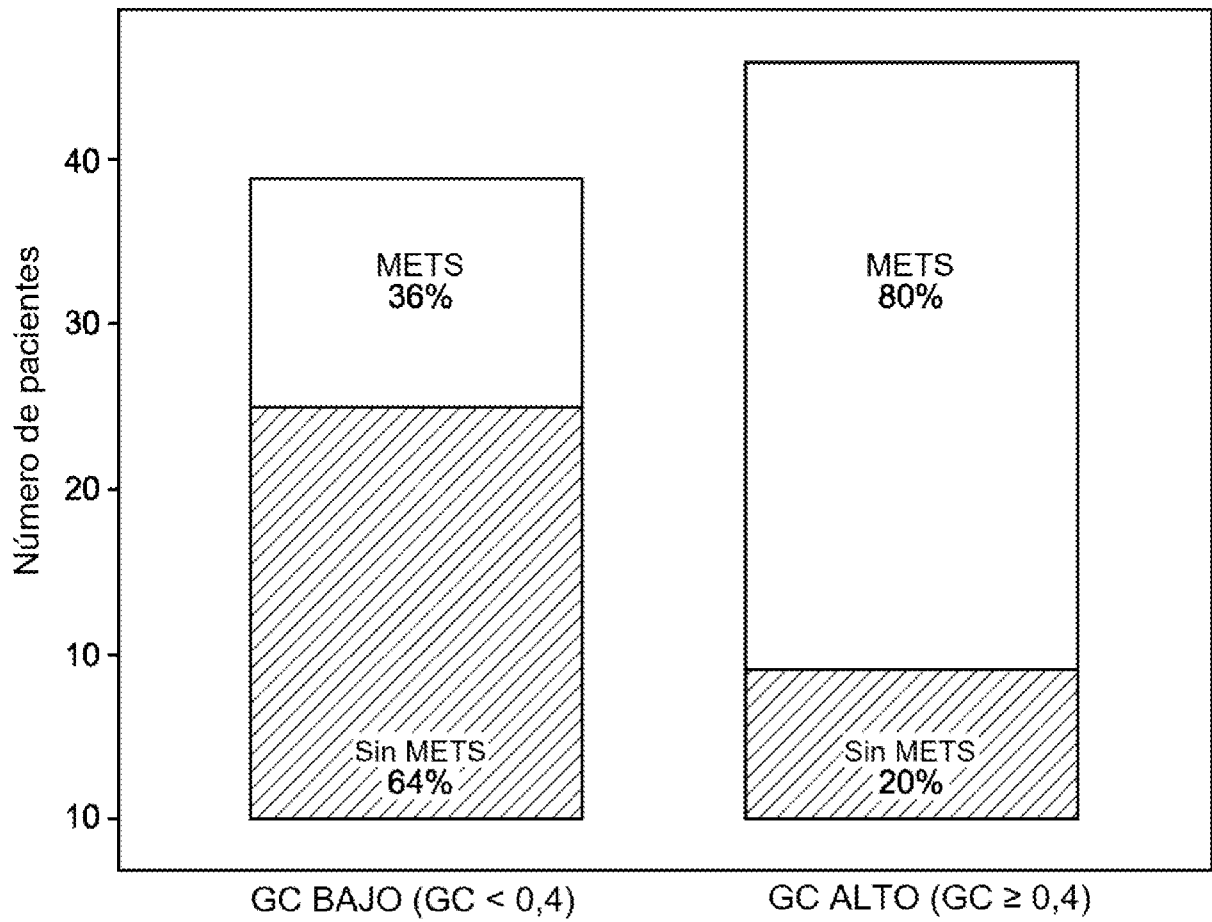


FIG. 54

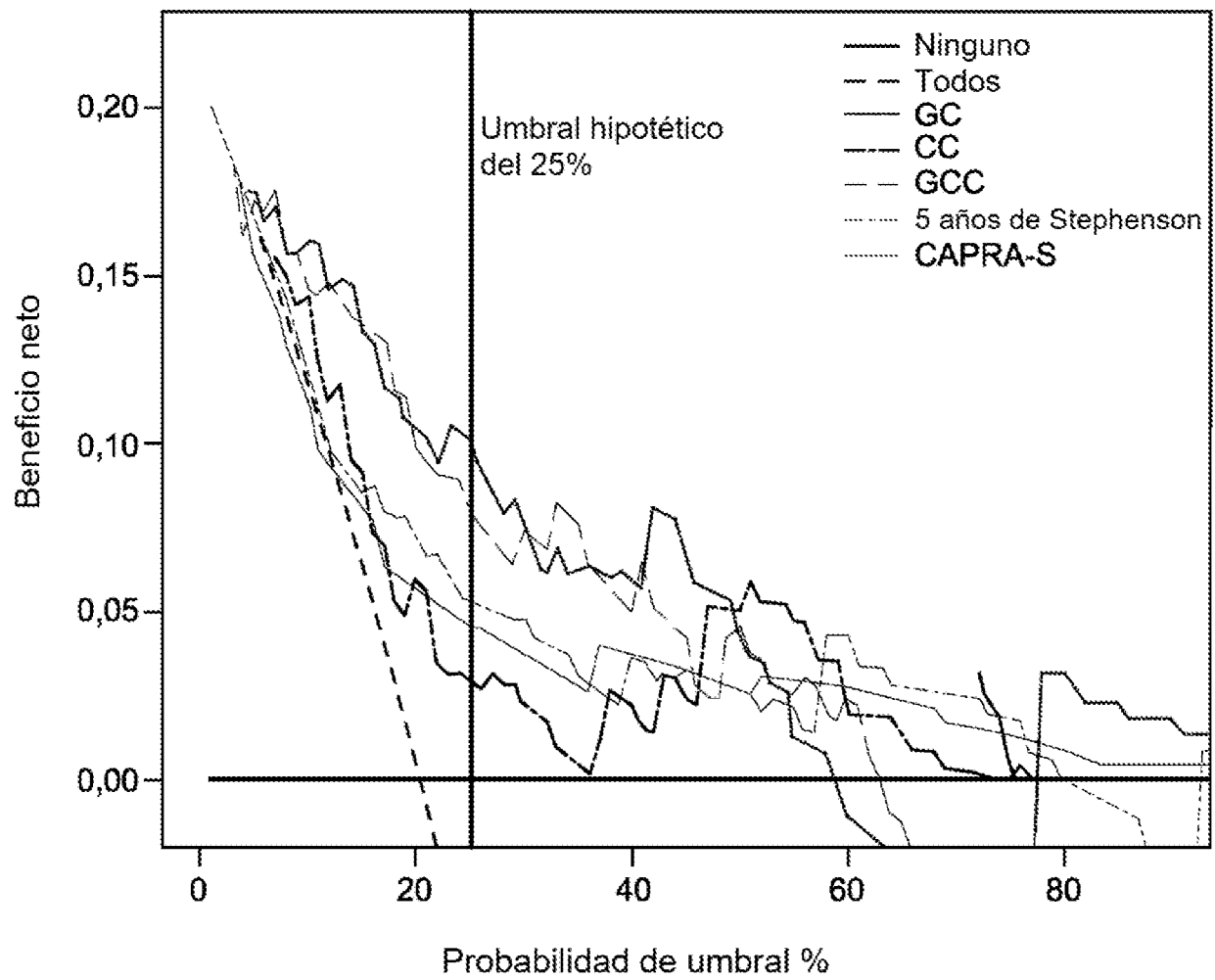
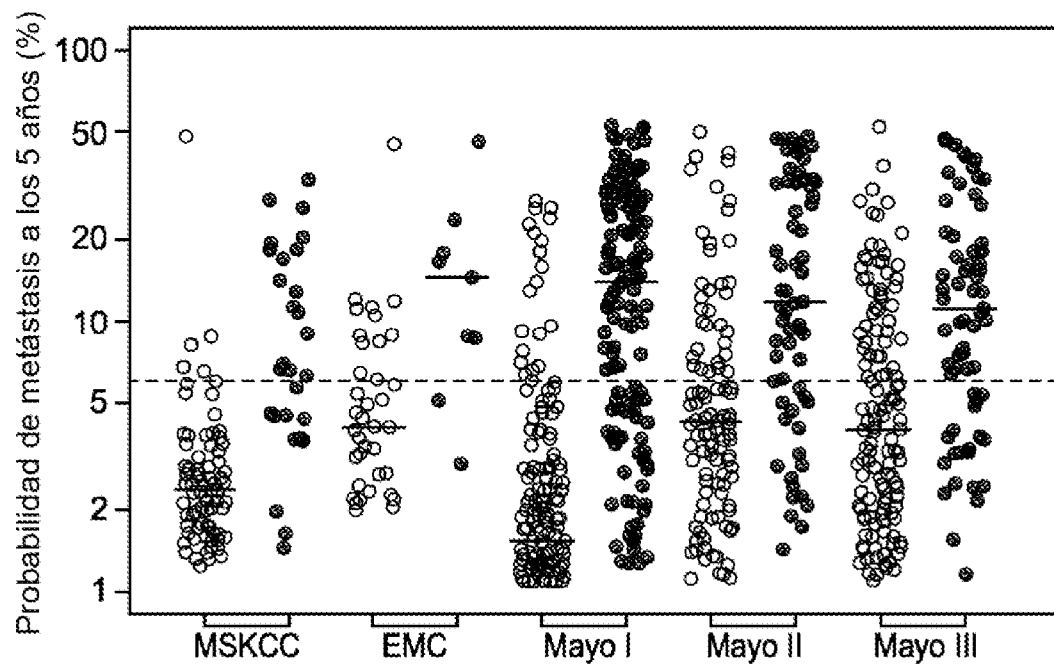
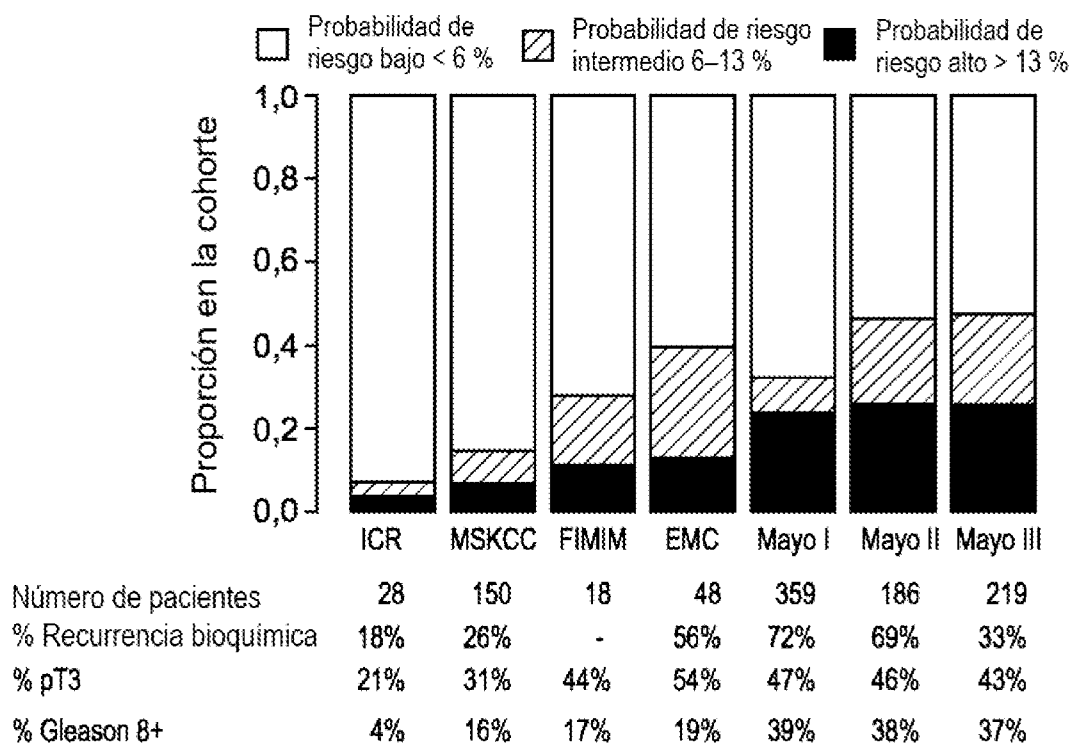


FIG. 55

**FIG. 56****FIG. 57**

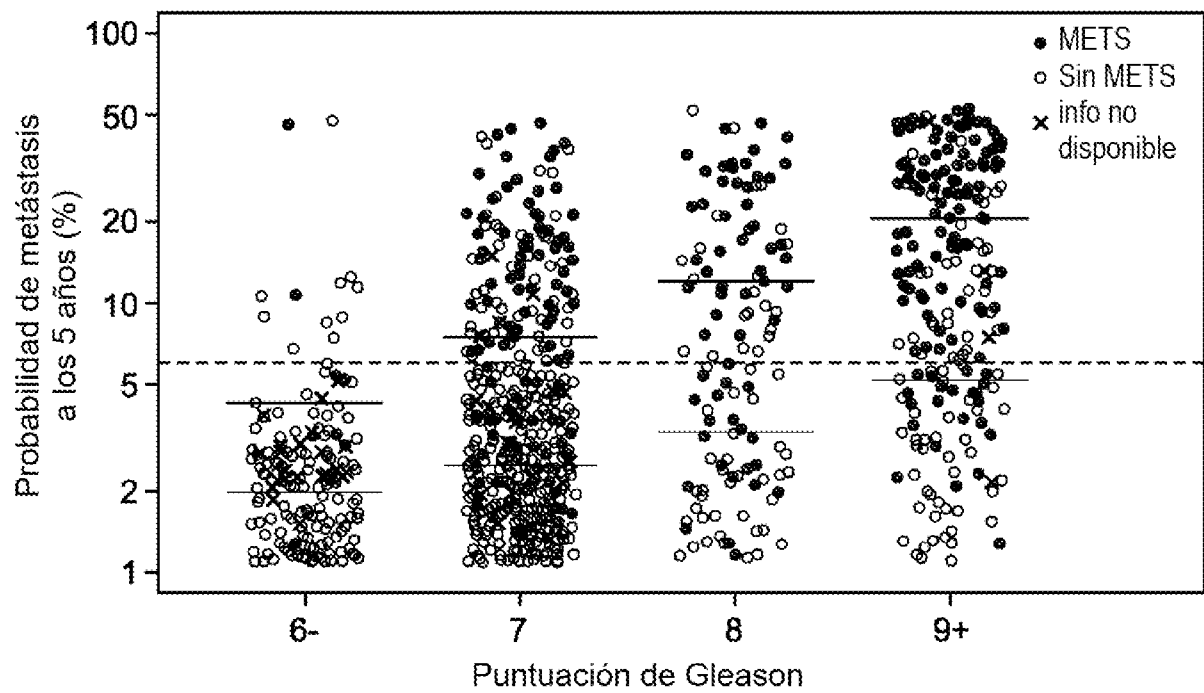


FIG. 58

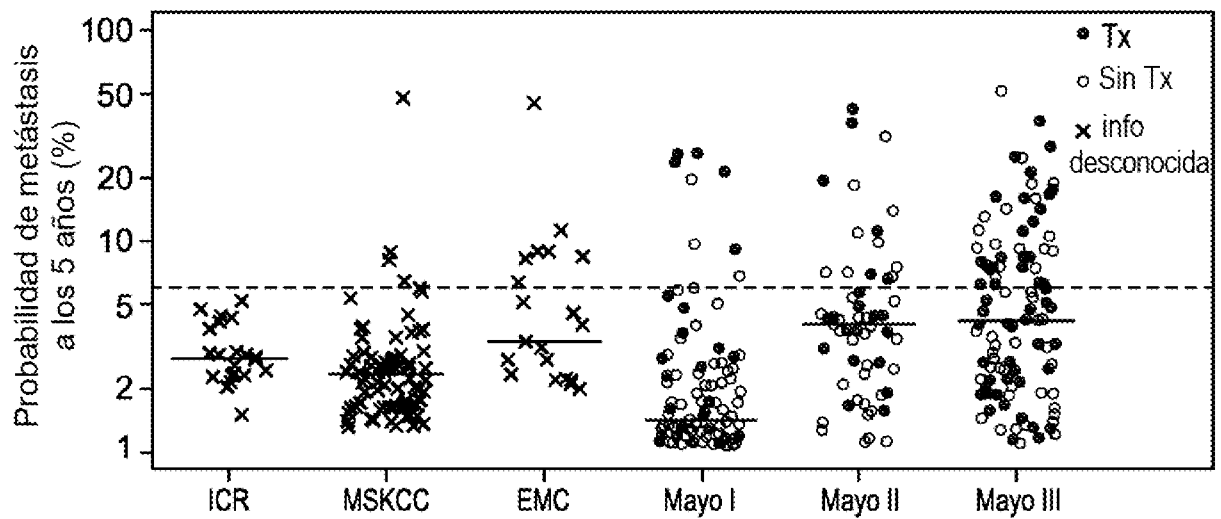


FIG. 59

ROC de supervivencia de 5 años después de PR

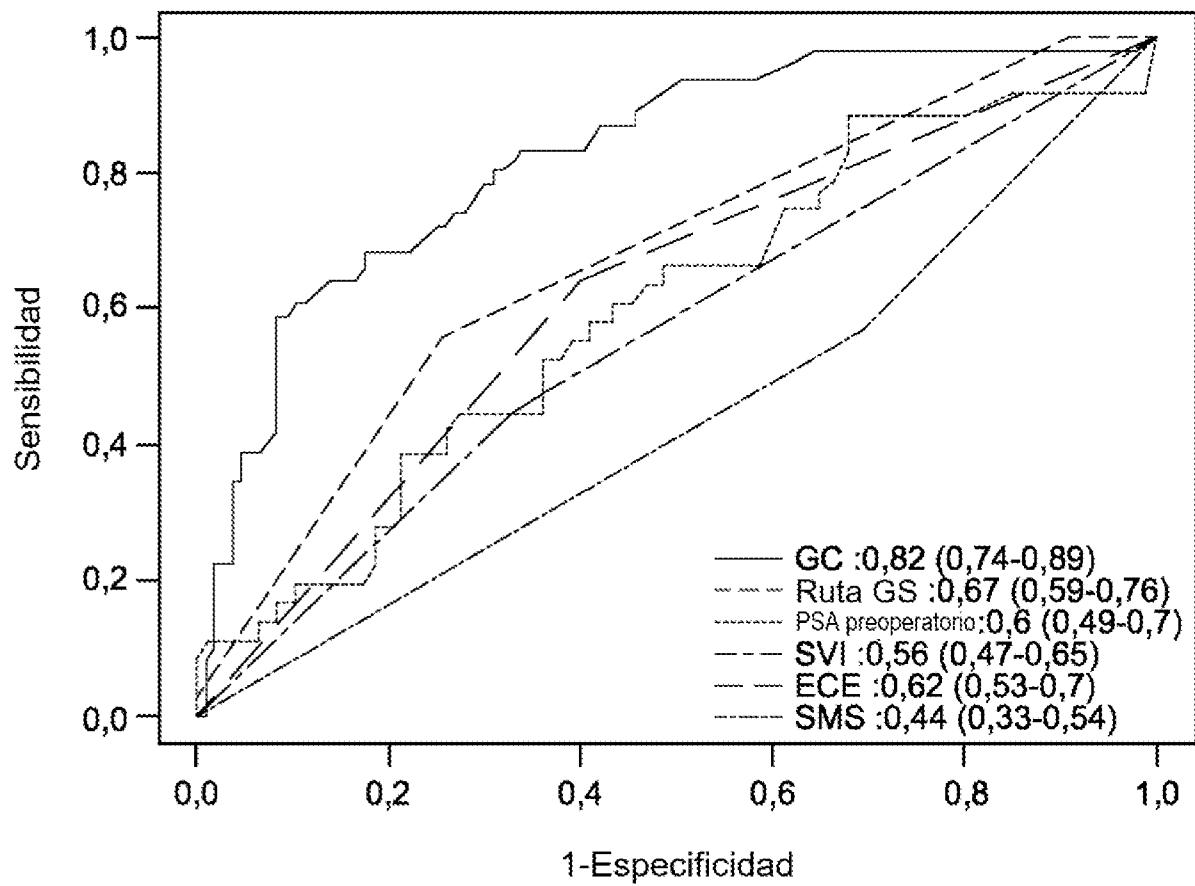
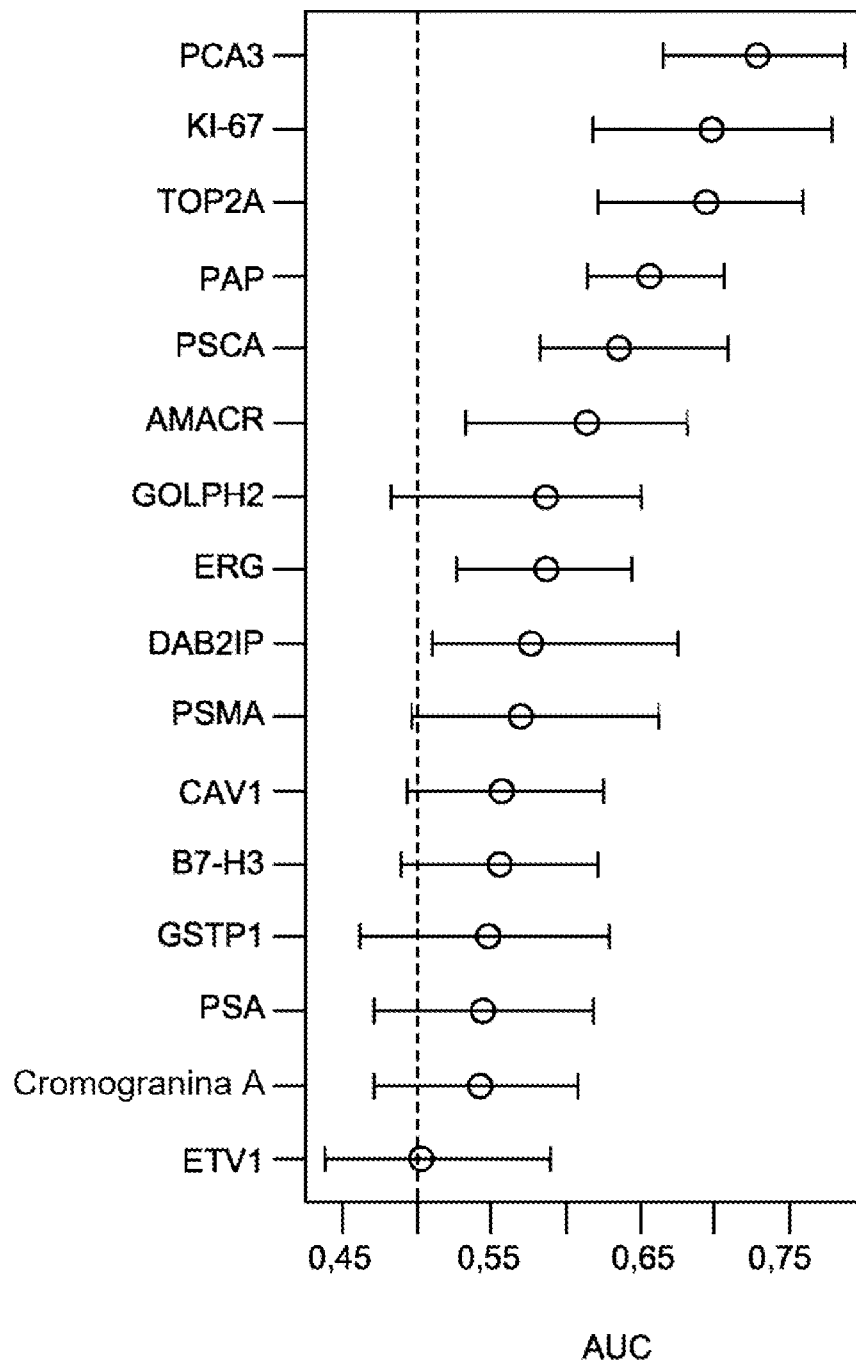


FIG. 60

**FIG. 61**

ROC de supervivencia de 5 años después de PR

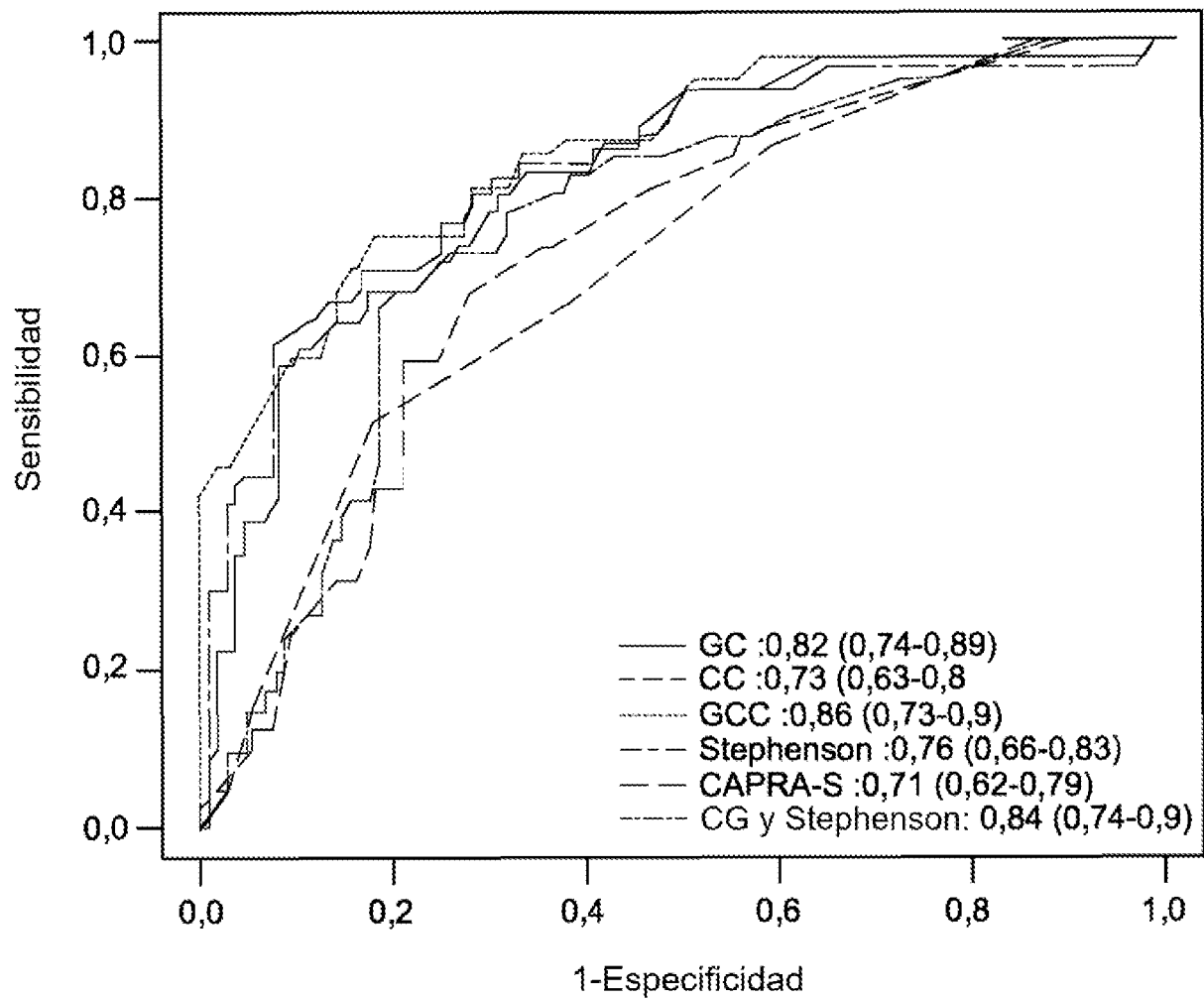


FIG. 62

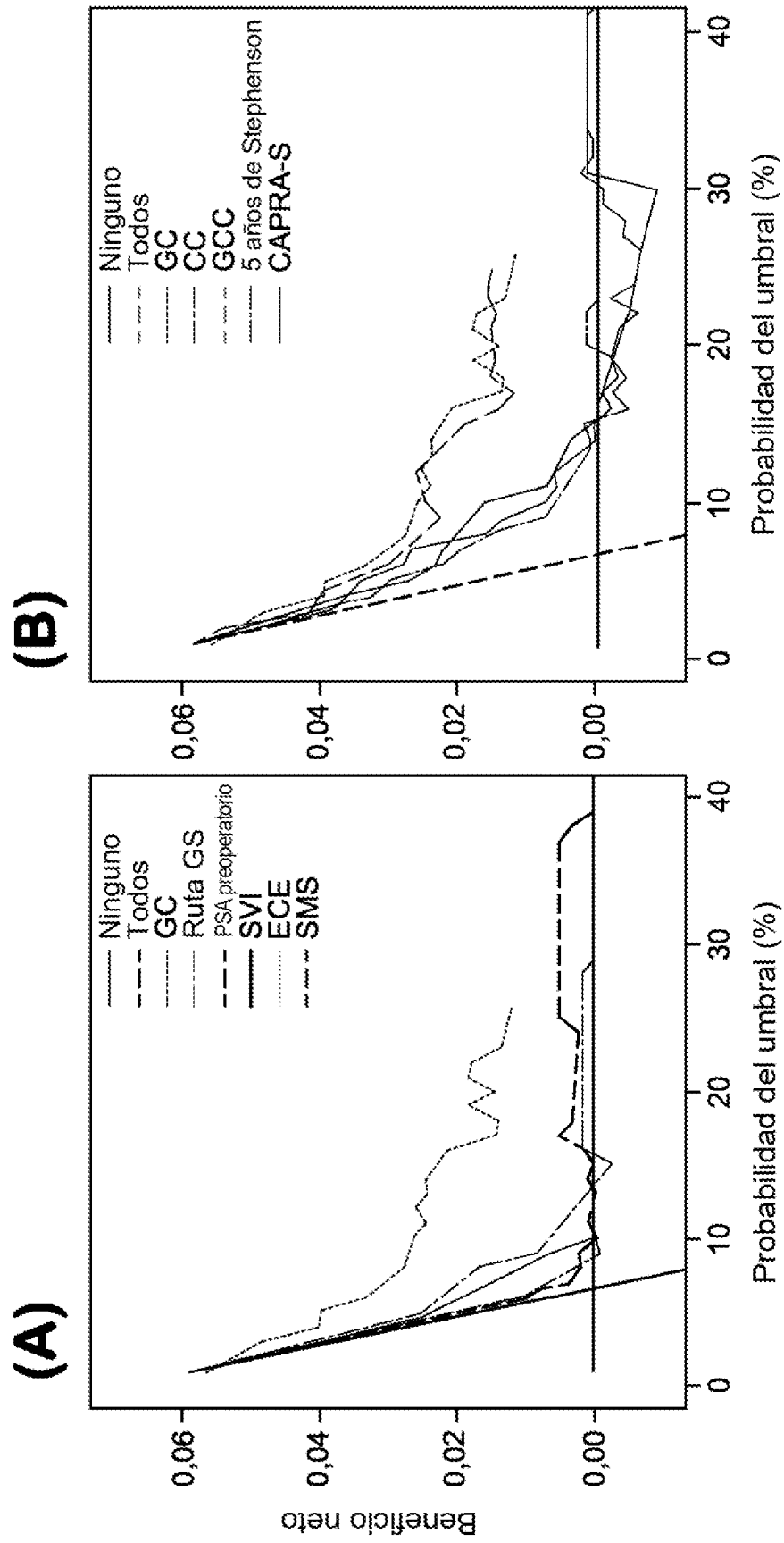


FIG. 63

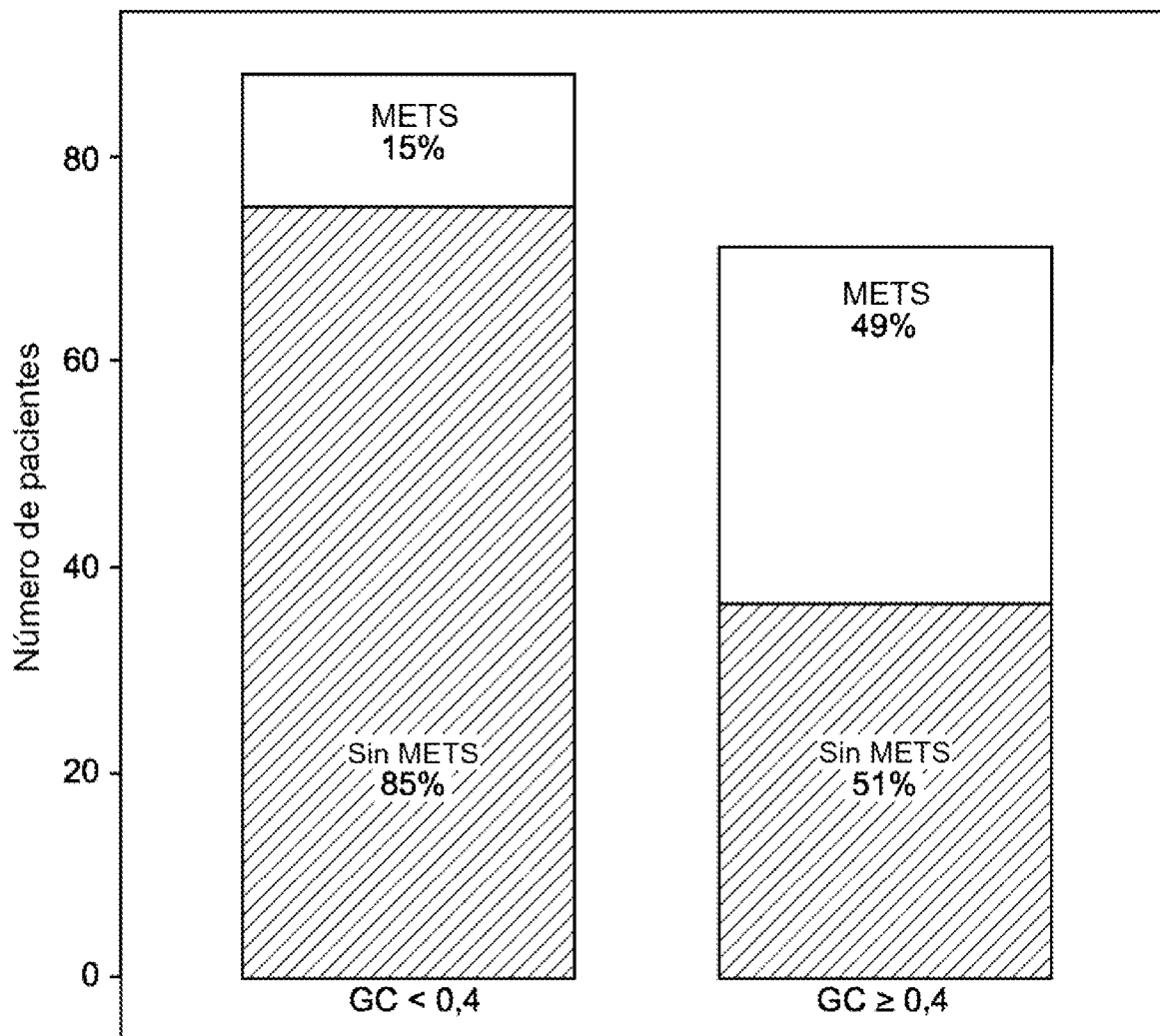


FIG. 64

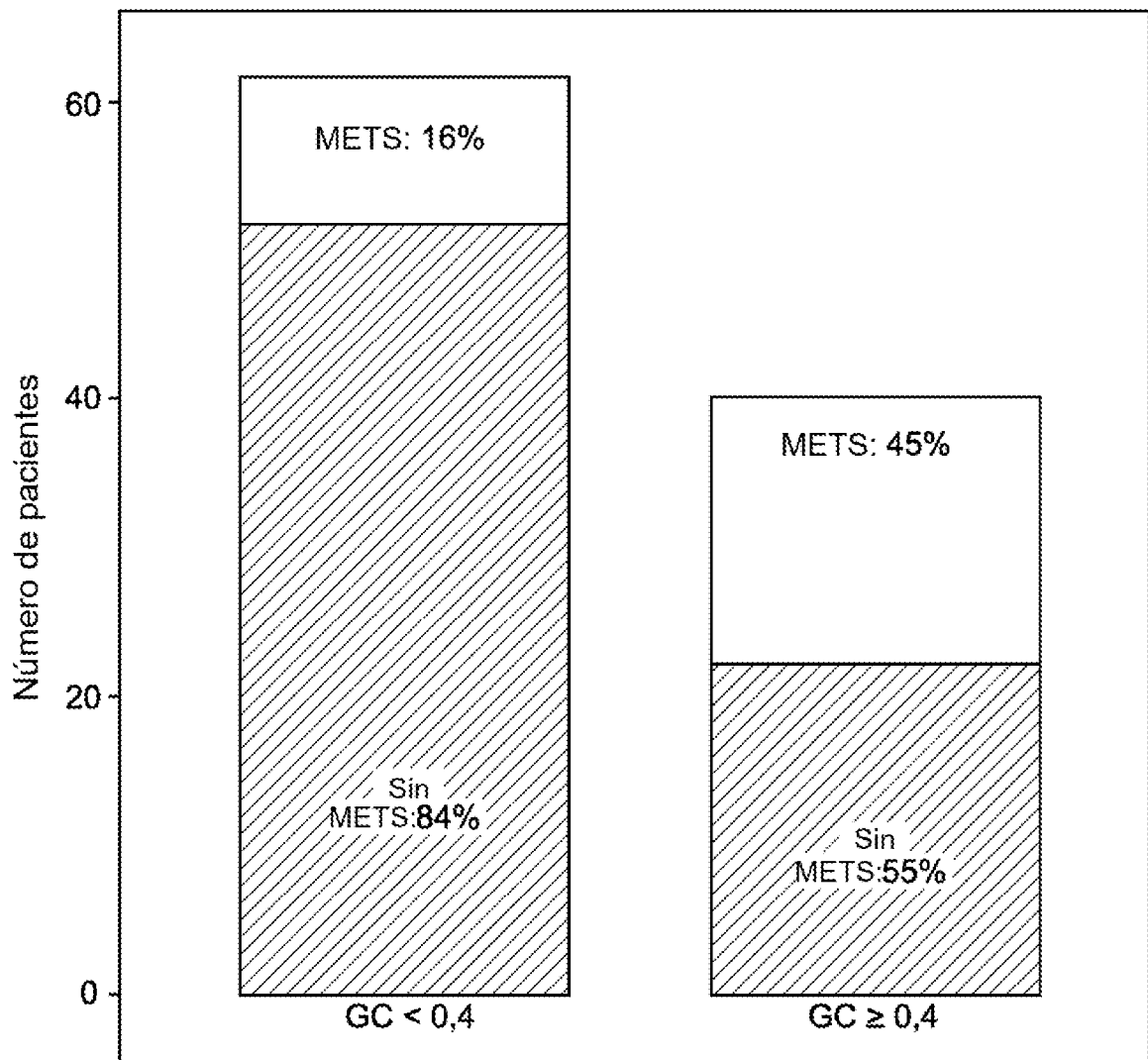


FIG. 65

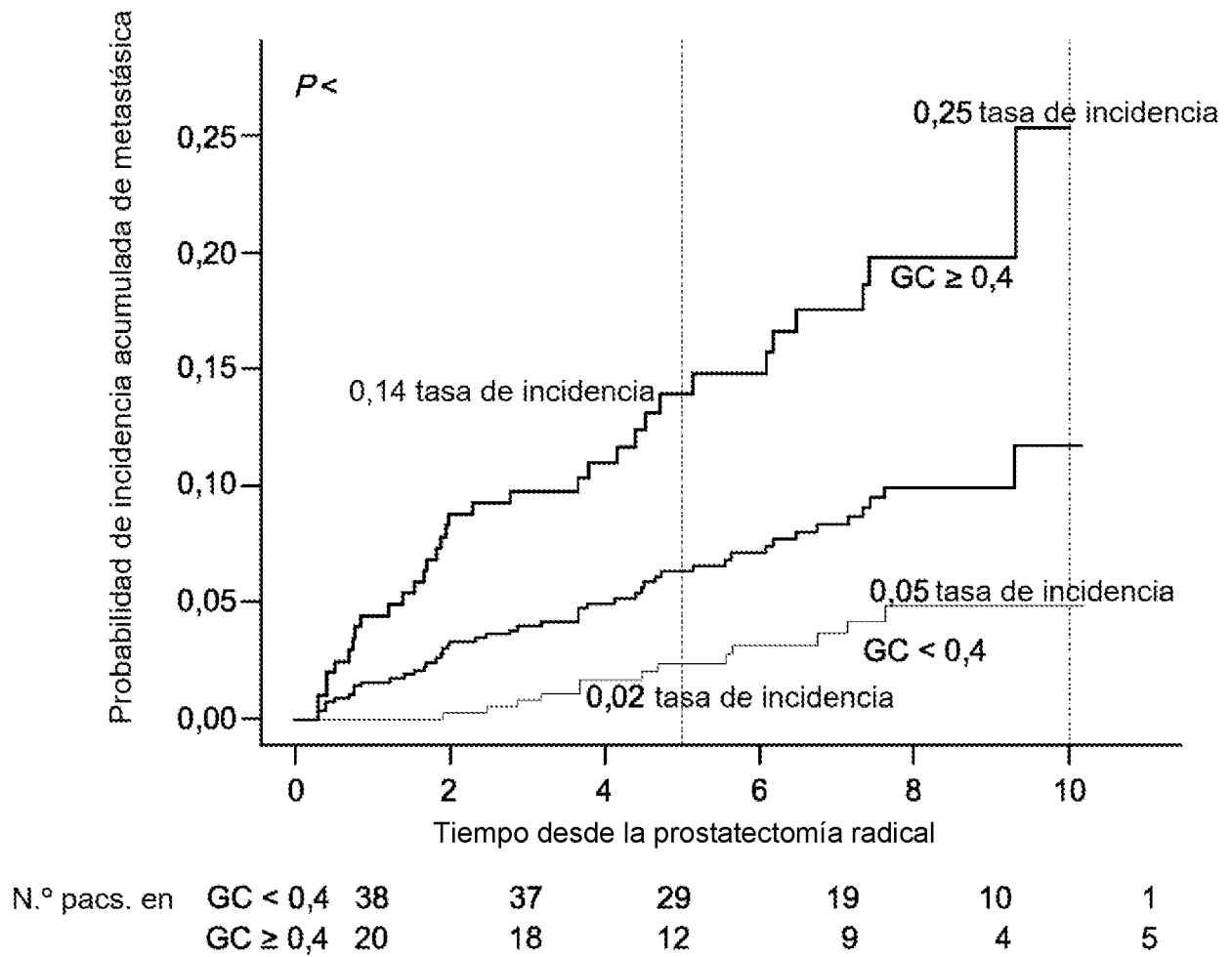


FIG. 66

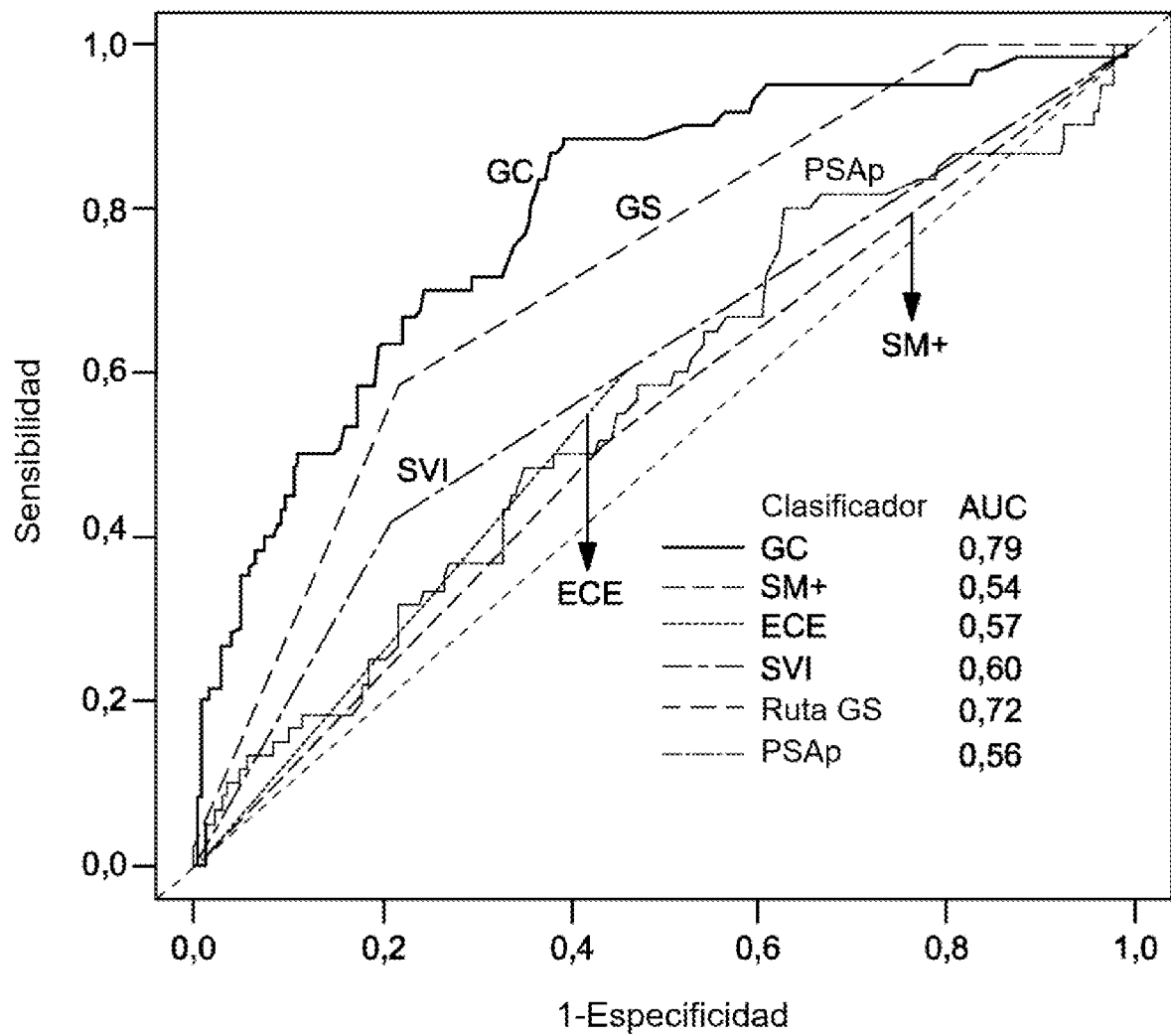


FIG. 67

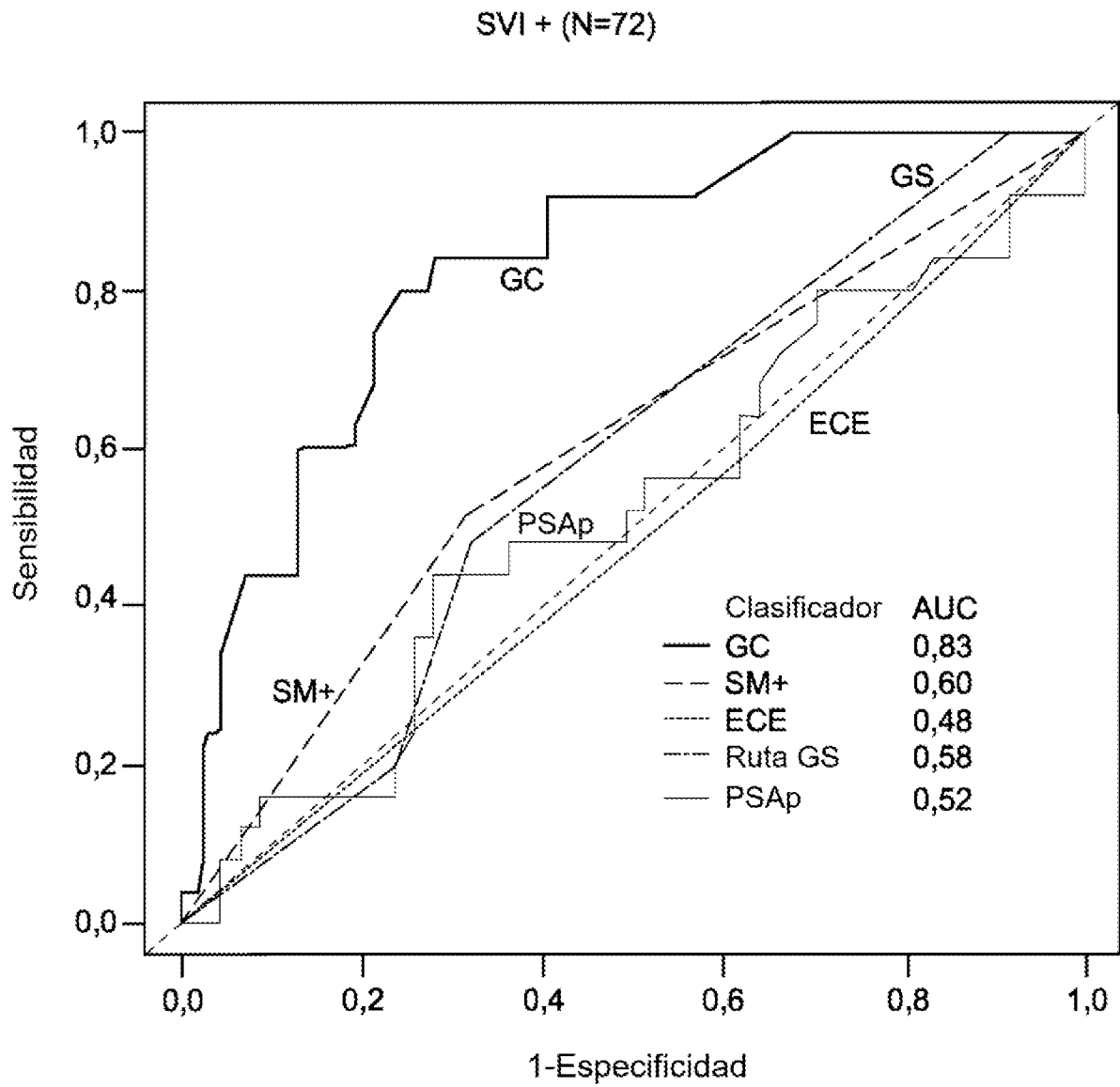
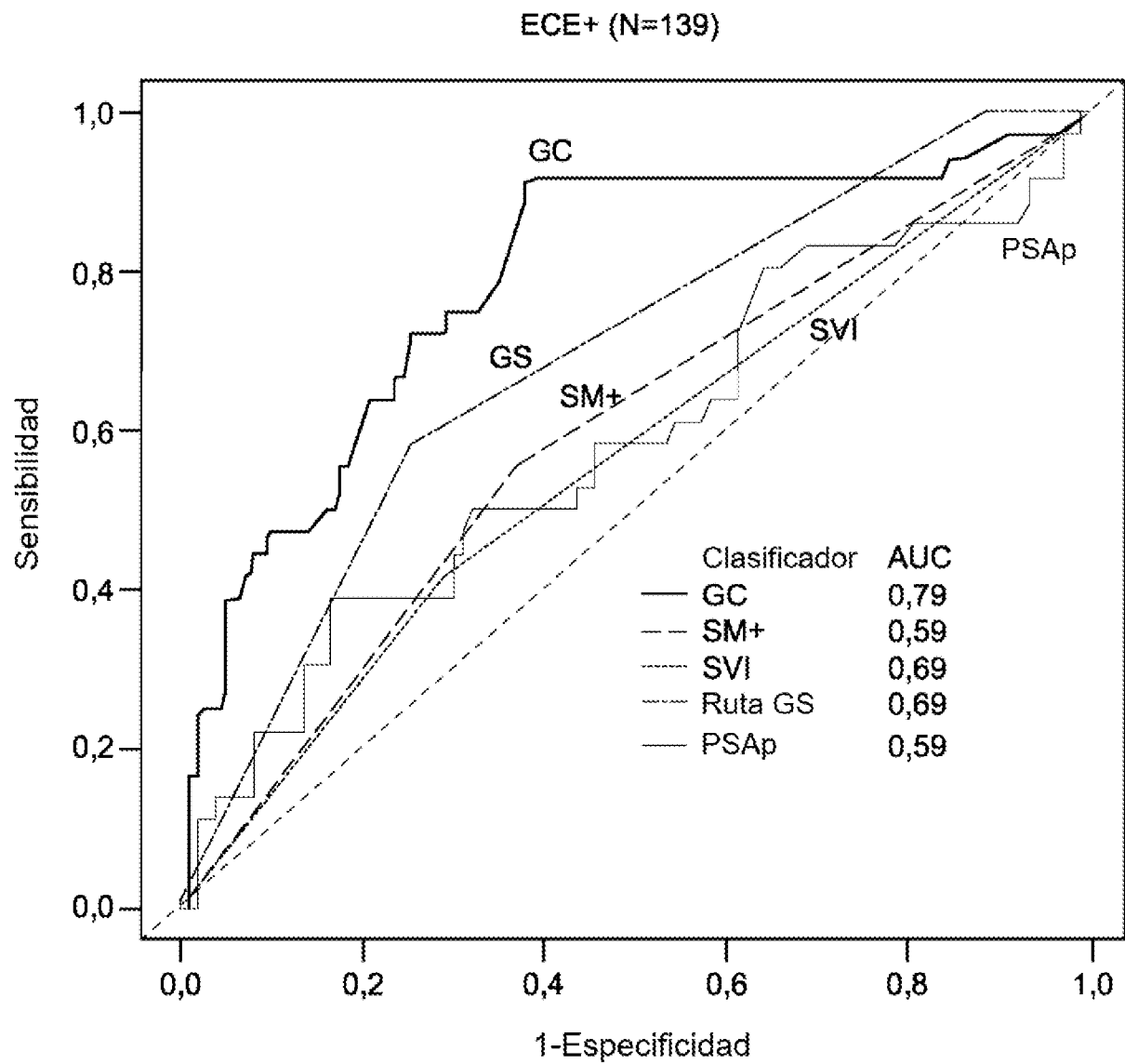


FIG. 68

**FIG. 69**

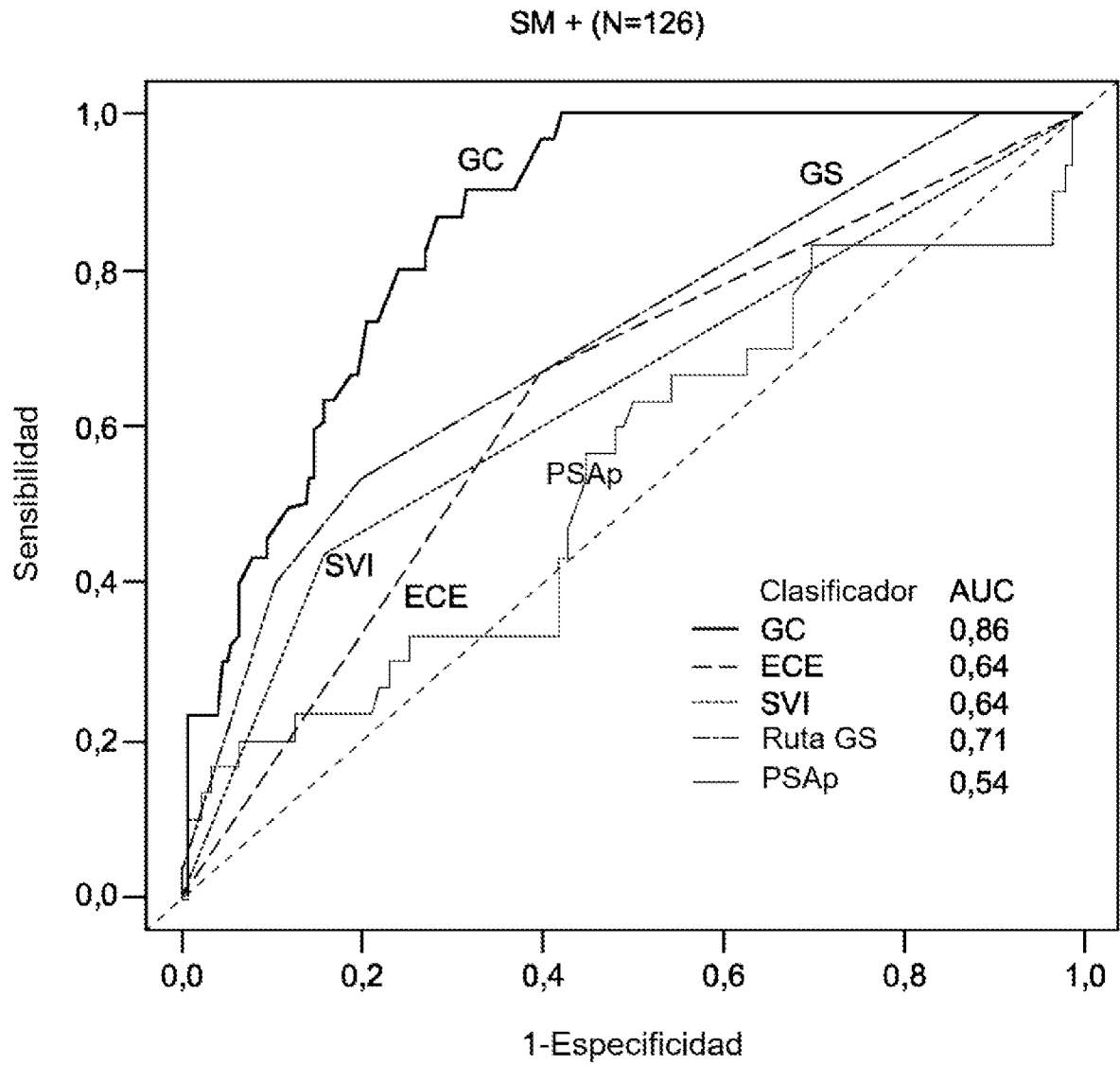


FIG. 70

