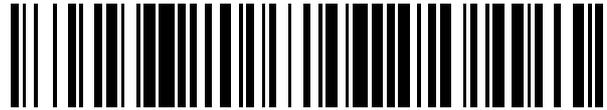


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 195**

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.08.2010 E 10744513 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.04.2015 EP 2462242**

54 Título: **Sensibilidad a inhibidores de la angiogénesis**

30 Prioridad:

**04.08.2009 EP 09167184**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**21.05.2015**

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (33.3%)  
Grenzacherstrasse, 124  
4070 Basel, CH;  
VIB VZW (33.3%) y  
LIFE SCIENCES RESEARCH PARTNERS VZW  
(33.3%)**

72 Inventor/es:

**FOERNZLER, DOROTHEE;  
DELMAR, PAUL;  
SCHERER, STEFAN;  
LAMBRECHTS, DIETHER y  
CARMELIET, PETER**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 536 195 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

Sensibilidad a inhibidores de la angiogénesis

5 La presente invención se refiere a bevacizumab para su uso en mejorar la supervivencia global o la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece cáncer en el que se determina de una muestra del paciente si el paciente que padece dicho cáncer tiene el alelo de variante del gen de VEGFR-1 correspondiente a rs9554316 (SEC ID N° 1), en el que la posición 51 es G, y por medio del cual se administra bevacizumab a dicho paciente que tiene dicho alelo de variante del gen de VEGFR-1.

10 La presente invención también se refiere a bevacizumab para su uso en una pauta de quimioterapia para un paciente que padece cáncer en el que se determina de una muestra del paciente si un paciente que padece dicho cáncer tiene el alelo de variante del gen de VEGFR-1 correspondiente a rs9554316 (SEC ID N° 1), en el que la posición 51 es G, y por medio del cual se administra bevacizumab al paciente que tiene el alelo de variante del gen de VEGFR-1.

15 La presente invención se refiere además a un método *in vitro* para la identificación de un paciente que responde a o un paciente sensible a bevacizumab, comprendiendo dicho método determinar de una muestra del paciente si un paciente que padece cáncer tiene el alelo de variante del gen de VEGFR-1 correspondiente a rs9554316 (SEC ID N° 1), en el que la posición 51 es G, por medio del cual la presencia de dicho alelo del gen de VEGFR-1 es indicativa de un paciente que responde o es indicativa de una sensibilidad del paciente a bevacizumab. La invención también se refiere al uso de un kit para llevar a cabo un método tal, en el que el kit comprende cebadores o sondas que pueden determinar la presencia del alelo de variante del gen de VEGFR-1 correspondiente a rs9554316 (SEC ID N°: 1).

20 Además, la invención se refiere al uso de cebadores y/o sondas para predecir la respuesta a o sensibilidad a terapia con bevacizumab de un paciente que padece o que se sospecha que padece cáncer pancreático metastásico o cáncer de células renales en el que los cebadores y/o sondas pueden detectar el alelo de variante de rs9554316 (SEC ID N° 1), por medio del cual una G en la posición 51 de rs9554316 (SEC ID N° 1) es indicativa de una respuesta del paciente o sensible a terapia con bevacizumab.

25 La angiogénesis contribuye a enfermedades benignas y malignas tales como el desarrollo de cáncer y, especialmente en cáncer, es necesaria para el crecimiento tumoral primario, invasividad y metástasis. Con el fin de crecer, un tumor debe someterse a cambio angiogénico. Se requiere factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) para inducir este cambio angiogénico. VEGF y los genes en la ruta de VEGF se consideran importantes mediadores de la progresión del cáncer. La familia del gen de VEGF incluye el gen de VEGF, también denominado VEGFA, incluyendo homólogos para VEGF factor de crecimiento placentario (P1GF), VEGFB, VEGFC, VEGFD, los receptores de VEGF, que incluyen VEGFR-1 y VEGFR-2 (también denominados FLT1 y FLK1/KDR, respectivamente), los inductores de VEGF, que incluyen factores inducibles por hipoxia HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$ , y los sensores de oxígeno PHD1, PHD2 y PHD3.

30 La importancia de esta ruta en el crecimiento de células del cáncer y la metástasis ha conducido al desarrollo de agentes antiangiogénesis para su uso en terapia contra el cáncer. Estas terapias incluyen, entre otros, bevacizumab, pegaptanib, sunitinib, sorafenib y vatalanib. A pesar de la supervivencia significativamente prolongada obtenida con los inhibidores de la angiogénesis, tales como bevacizumab, los pacientes todavía mueren de cáncer. Además, no todos los pacientes responden a la terapia inhibidora de la angiogénesis. El mecanismo subyacente a la no sensibilidad sigue siendo desconocido. Además, la terapia inhibidora de la angiogénesis está asociada a efectos secundarios, tales como perforación gastrointestinal, trombosis, hemorragia, hipertensión y proteinuria.

35 Schneider, Bryan P., et al. ("Association of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor-2 genetic polymorphisms with outcome in a trial of paclitaxel compared with paclitaxel plus bevacizumab in advanced breast cancer: ECOG 2100". Journal of Clinical Oncology 26.28 (2008): 4672-4678) desvelan una asociación entre el genotipo de VEGF y la mediana de la supervivencia global, además de hipertensión de grado 3 o 4 si se usa bevacizumab en cáncer de mama metastásico.

40 Por consiguiente, existe la necesidad de métodos de determinar qué pacientes responden particularmente bien a la terapia inhibidora de la angiogénesis.

45 Por tanto, la presente divulgación proporciona un método para mejorar la supervivencia global de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implican angiogénesis fisiológica y patológica mediante el tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis, comprendiendo dicho método las siguientes etapas:

- 50 (a) determinar de una muestra del paciente si el paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1; y
- 55 (b) administrar un inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

5 Por consiguiente, la presente divulgación se refiere a un método para mejorar la supervivencia global de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica mediante tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis, comprendiendo dicho método las siguientes etapas:

- (a) obtener una muestra de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica;
- 10 (b) determinar si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1; y
- (c) administrar un inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

15 La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

Por tanto, la presente divulgación se refiere a un método para mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica mediante tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis, comprendiendo dicho método las siguientes etapas:

- (a) determinar de una muestra del paciente si el paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1; y
- 20 (b) administrar un inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático o cáncer de células renales. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

30 La presente divulgación se refiere a un método para mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica mediante tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis, comprendiendo dicho método las siguientes etapas:

- (a) obtener una muestra de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica;
- 35 (b) determinar si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1; y
- (c) administrar un inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

40 La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático o cáncer de células renales. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

La presente divulgación proporciona un método *in vitro* para la identificación de un paciente que responde a o un paciente sensible a un inhibidor de la angiogénesis, comprendiendo dicho método determinar de una muestra del paciente si el paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 por medio de los cuales la presencia del uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 es indicativa de un paciente que responde o es indicativo de una sensibilidad del paciente al inhibidor de la angiogénesis. La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático o cáncer de células renales. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

Por consiguiente, la presente divulgación se refiere a un método *in vitro* para la identificación de un paciente que responde a o un paciente sensible a un inhibidor de la angiogénesis, comprendiendo dicho método las siguientes etapas:

- (a) obtener una muestra de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica; y
- 55 (b) determinar si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1;

60 por medio del cual la presencia del uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 es indicativa de un paciente que responde o es indicativa de una sensibilidad del paciente al inhibidor de la angiogénesis. La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático o cáncer de células renales. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

65 Según las realizaciones desveladas en el presente documento, la presente invención proporciona los medios y métodos de identificación de un paciente o grupo de pacientes que padecen una enfermedad maligna o una

enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica que se benefician del tratamiento con inhibidores de la angiogénesis, en particular al tratamiento con bevacizumab.

En la presente invención se identificaron sorprendentemente variaciones en el gen de VEGFR-1 como marcadores/predictores de supervivencia global y/o supervivencia libre de progresión para el tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis. Los términos “marcador” y “predicador” pueden usarse indistintamente y se refieren a variantes de alelo específicas de genes, en particular el gen de VEGFR-1 (véase, por ejemplo, Ensembl ID ENSG00000102755). La variación o marcador también puede denominarse un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP).

Preferentemente, el uno o más alelos de variante están en la región que engloba el dominio de tirosina cinasa del gen de VEGFR-1. En particular, preferentemente el uno o más alelos de variante están en la región que codifica el dominio de tirosina cinasa del gen de VEGFR-1. Más preferible, el uno o más alelos de variante están en la región que engloba los exones 25 a 30 del gen de VEGFR-1. Incluso más preferentemente, el uno o más alelos de variante están en un intrón del gen de VEGFR-1. Incluso más preferentemente, el uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 se seleccionan del grupo que consiste en rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9554320 (SEC ID N° 4) y/o rs9513070 (SEC ID N° 3). Lo más preferentemente, el uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 se seleccionan del grupo que consiste en rs9582036 (SEC ID N° 2) y/o rs9554316 (SEC ID N° 1) o el grupo que consiste en rs9554316 (SEC ID N° 1) y/o rs9513070 (SEC ID N° 3).

Por consiguiente, la divulgación proporciona un método para mejorar la supervivencia global de un paciente que padece un cáncer pancreático metastásico mediante tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis que comprende las siguientes etapas:

- (a) determinar de una muestra del paciente si el paciente que padece cáncer pancreático metastásico tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1, en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4); y
- (b) administrar al paciente el inhibidor de la angiogénesis que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

La divulgación se refiere a un método para mejorar la supervivencia global de un paciente que padece un cáncer pancreático metastásico mediante tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis que comprende las siguientes etapas:

- (a) obtener una muestra de un paciente que padece cáncer pancreático metastásico;
- (b) determinar de una muestra del paciente si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1, en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4); y
- (c) administrar al paciente el inhibidor de la angiogénesis que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

La divulgación se refiere a un método para mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece un cáncer pancreático metastásico mediante tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis que comprende las siguientes etapas:

- (a) determinar, de una muestra del paciente, si el paciente que padece cáncer pancreático metastásico tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1, en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en rs9554316 (SEC ID N° 1), los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4); y
- (b) administrar al paciente el inhibidor de la angiogénesis que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

La divulgación se refiere a un método para mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece un cáncer pancreático metastásico mediante tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis que comprende las siguientes etapas:

- (a) obtener una muestra de un paciente que padece cáncer pancreático metastásico;

(b) determinar, de una muestra del paciente, si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1, en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4); y

5 (c) administrar al paciente el inhibidor de la angiogénesis que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

10 Por consiguiente, la divulgación proporciona un método para mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece un cáncer de células renales mediante tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis que comprende las siguientes etapas:

15 (a) determinar, de una muestra del paciente, si el paciente cáncer de células renales tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1, en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en rs9554316 (SEC ID N° 1) y rs9513070 (SEC ID N° 3); y

(b) administrar al paciente el inhibidor de la angiogénesis que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

20 El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

La divulgación se refiere a un método para mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece un cáncer de células renales mediante tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis que comprende las siguientes etapas:

25 (a) obtener una muestra de un paciente que padece cáncer de células renales;

(b) determinar, de una muestra del paciente, si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1, en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en rs9554316 (SEC ID N° 1) y rs9513070 (SEC ID N° 3); y

30 (c) administrar al paciente el inhibidor de la angiogénesis que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

35 Además de los SNP descritos en el presente documento, también están con el alcance de la presente divulgación SNP que están ligados a los SNP descritos en el presente documento. En el contexto de la presente invención, desequilibrio del enlace se define por tener un  $D' > 0,8$ . Para determinar estos cálculos estimados del desequilibrio ( $D_{ij}$ ) entre combinaciones en parejas de alelos se usó la siguiente definición:  $D_{ij} = h_{ij} - p_i q_j$  por medio de la cual  $h_{ij}$  representa la frecuencia del haplotipo observado con el alelo  $i$  en el sitio 1 y el alelo  $j$  en el sitio 2, y  $p_i$  y  $q_j$  las frecuencias de ambos alelos. El coeficiente de desequilibrio del enlace  $D'_{ij}$  se normaliza por su valor máximo como  $D' = D/D_{máx}$ . Si  $D < 0$ , entonces  $D_{máx} = -pq$ ; si  $D > 0$ , entonces  $D_{máx} = p(1-q)$ . Los SNP ligados identificados según esta definición pueden localizarse dentro de la región que engloba los exones 25 a 30 del gen de VEGFR-1, pero también en la dirección 5' o en la dirección 3' de la región que engloba los exones 25 a 30 del gen de VEGFR-1. Por ejemplo, usando este método de definir el enlace desequilibrio, los SNP ligados incluyen rs17619037 (SEC ID N° 5), rs9579177 (SEC ID N° 6), rs9579176 (SEC ID N° 7), rs9554319 (SEC ID N° 8), rs7996030 (SEC ID N° 9), rs9513075 (SEC ID N° 10), rs7993418 (SEC ID N° 11), rs9513071 (SEC ID N° 12), rs11620238 (SEC ID N° 13), rs17618631 (SEC ID N° 14), rs12429309 (SEC ID N° 15), rs7982251 (SEC ID N° 16), rs9508016 (SEC ID N° 17), rs7982957 (SEC ID N° 18) y rs3794400 (SEC ID N° 19).

50 El experto en la materia entenderá que también pueden aplicarse otros métodos bien aceptados y/o relacionados de determinar el equilibrio del enlace para determinar SNP adicionales ligados a los SNP desvelados en el presente documento, por ejemplo, los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y/o rs9554320 (SEC ID N° 4). En el contexto de la presente divulgación, por ejemplo, el coeficiente de correlación  $r^2$  se usó como medida adicional. Para determinar cálculos estimados de la correlación entre combinaciones en parejas de alelos puede usarse la siguiente definición:  $D = h - p_1 q_1$  por medio de la cual  $h$  representa la frecuencia del haplotipo observado con el alelo 1 en el sitio 1 y el alelo 1 en el sitio 2, y  $p_1$  y  $q_1$  son las frecuencias de ambos alelos. Si  $p_2$  y  $q_2$  se definen respectivamente como  $(1-p_1)$  y  $(1-q_1)$ , el coeficiente de correlación entre pares de sitios puede definirse como

$$r = \frac{D}{\sqrt{p_1 p_2 q_1 q_2}}$$

60 Por consiguiente, usando esta definición, el desequilibrio de enlace puede definirse por tener un  $r^2$  igual o superior a 0,12 para, por ejemplo, rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) o rs9554320 (SEC ID N° 4). El umbral de  $r^2$  igual o superior a 0,12 se aplicó debido a que este valor de  $r^2$  representa el menor

nivel de desequilibrio de enlace entre los cuatro SNP (SEC ID N° 1 a 4) descritos dentro del alcance de la presente divulgación e identificados como marcadores/predictores para supervivencia global y/o supervivencia libre de progresión para el tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis. Por consiguiente, usando este método alternativo de definir el desequilibrio de enlace, los SNP ligados incluyen, además de aquellos identificados anteriormente (es decir, SEC ID N° 5 a 19), rs45455097 (SEC ID N° 40), rs1886233 (SEC ID N° 41), rs9554309 (SEC ID N° 42), rs11619230 (SEC ID N° 43), rs9554311 (SEC ID N° 44), rs4771233 (SEC ID N° 45), rs6491274 (SEC ID N° 46), rs7982639 (SEC ID N° 47), rs12877718 (SEC ID N° 48), rs10507382 (SEC ID N° 49), rs57354941 (SEC ID N° 50), rs17086497 (SEC ID N° 51), rs3794395 (SEC ID N° 52), rs9554317 (SEC ID N° 53), rs9513073 (SEC ID N° 54), rs9513074 (SEC ID N° 55), rs9508015 (SEC ID N° 56), rs2011950 (SEC ID N° 57), rs9513110 (SEC ID N° 58), rs9513112 (SEC ID N° 59), rs9513113 (SEC ID N° 60), rs9551471 (SEC ID N° 61), rs2296285 (SEC ID N° 62), rs9513116 (SEC ID N° 63), rs9551473 (SEC ID N° 64), rs7330109 (SEC ID N° 65), rs9508037 (SEC ID N° 66), rs1924981 (SEC ID N° 67), rs34140996 (SEC ID N° 68), rs7985584 (SEC ID N° 69), rs7992940 (SEC ID N° 70) y rs718273 (SEC ID N° 71).

En el contexto de la invención descrita en el presente documento, los SNP ligados descritos en el presente documento pueden usarse solos, en combinación con los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y/o rs9554320 (SEC ID N° 4) o en combinación con otros SNP ligados descritos en el presente documento en los métodos y o usos descritos en el presente documento.

Por consiguiente, la presente divulgación se refiere a variaciones en el gen de VEGFR-1 que incluyen sustitución (sustituciones), delección (delecciones) o adición (adiciones) de nucleótidos en la posición correspondiente al SNP. Por ejemplo, para rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9554320 (SEC ID N° 4) y/o rs9513070 (SEC ID N° 3), las variaciones incluyen una sustitución (sustituciones), delección (delecciones) o adición (adiciones) en la posición 51 de rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y/o rs9554320 (SEC ID N° 4). Por consiguiente, en otra realización de la presente divulgación, el uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 se seleccionan del grupo que consiste en:

(a) una secuencia correspondiente a rs9554316 (SEC ID N° 1) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs9554316 (SEC ID N° 1) que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido correspondiente a la posición 51 de rs9554316 (SEC ID N° 1);

(b) una secuencia correspondiente a rs9582036 (SEC ID N° 2) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs9582036 (SEC ID N° 2) que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido correspondiente a la posición 51 de rs9582036 (SEC ID N° 2);

(c) una secuencia correspondiente a rs9513070 (SEC ID N° 3) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs9513070 (SEC ID N° 3) que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido correspondiente a la posición 51 de rs9513070 (SEC ID N° 3); y

(d) una secuencia correspondiente a rs9554320 (SEC ID N° 4) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs9554320 (SEC ID N° 4) que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido correspondiente a la posición 51 de rs9554320 (SEC ID N° 4).

En el contexto de la divulgación, la homología anteriormente descrita, con respecto a los SNP identificados, se aplica a cada aspecto de la divulgación descrito en el presente documento en el que se citan SNP específicos.

Además, las variaciones pueden incluir una sustitución (sustituciones), delección (delecciones) o adición (adiciones) en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101 de rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y/o rs9554320 (SEC ID N° 4). Por consiguiente, en otra realización de la presente divulgación, el uno o más alelos de variante del gen de VEGFR1-1 se seleccionan del grupo que consiste en:

(a) una secuencia correspondiente a rs9554316 (SEC ID N° 1) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs9554316 (SEC ID N° 1), en la que la posición 51 es una T o G y que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101;

(b) una secuencia correspondiente a rs9582036 (SEC ID N° 2) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs9582036 (SEC ID N° 2) en la que la posición 51 es una C o A y que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101;

(c) una secuencia correspondiente a rs9513070 (SEC ID N° 3) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs9513070 (SEC ID N° 3) en la que la posición 51 es una G o A y que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101; y

(d) una secuencia correspondiente a rs9554320 (SEC ID N° 4) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs9554320 (SEC ID N° 4) en la que la posición 51 es una C o A y que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101.

En el contexto de la divulgación, la homología anteriormente descrita, con respecto a los SNP identificados, se aplica a cada realización descrita en el presente documento en la que se citan SNP específicos.

La presente divulgación también se refiere a variaciones en el gen de VEGFR-1 que incluyen sustitución (sustituciones), delección (delecciones) o adición (adiciones) de nucleótidos en la posición correspondientes a SNP ligados, además de otros SNP ligados cerca, pero en la dirección 5' o en la dirección 3' del gen de VEGFR-1, y localizados en el gen de subunidad de ribonucleasa específica de poli(A), Ensembl ID ENSG00000152520, ("gen PAN3") o en regiones de ADN intergénico. Por ejemplo, las variaciones en el gen de VEGFR-1 incluyen los SNP ligados rs17619037 (SEC ID N° 5), rs9579177 (SEC ID N° 6), rs9579176 (SEC ID N° 7), rs9554319 (SEC ID N° 8), rs7996030 (SEC ID N° 9), rs9513075 (SEC ID N° 10), rs7993418 (SEC ID N° 11), rs9513071 (SEC ID N° 12), rs12429309 (SEC ID N° 15), rs7982251 (SEC ID N° 16), rs9508016 (SEC ID N° 17), rs7982957 (SEC ID N° 18), rs3794400 (SEC ID N° 19), rs3794395 (SEC ID N° 52), rs9554317 (SEC ID N° 53), rs9513073 (SEC ID N° 54), rs9513074 (SEC ID N° 55), rs9508015 (SEC ID N° 56), rs2011950 (SEC ID N° 57), rs9513110 (SEC ID N° 58), rs9513112 (SEC ID N° 59), rs9513113 (SEC ID N° 60), rs9551471 (SEC ID N° 61), rs2296285 (SEC ID N° 62), rs9513116 (SEC ID N° 63), rs9551473 (SEC ID N° 64), rs7330109 (SEC ID N° 65), rs9508037 (SEC ID N° 66), rs1924981 (SEC ID N° 67), rs34140996 (SEC ID N° 68), rs7985584 (SEC ID N° 69), rs7992940 (SEC ID N° 70) y rs718273 (SEC ID N° 71), y variaciones en la dirección 5' del gen de VEGFR-1, que incluyen los SNP ligados correspondientes a variaciones en el gen PAN3, tales como rs45455097 (SEC ID N° 40), rs1886233 (SEC ID N° 41), rs9554309 (SEC ID N° 42), rs11619230 (SEC ID N° 43) y rs9554311 (SEC ID N° 44), y los SNP ligados correspondientes a variaciones en las regiones de ADN intergénico, tales como rs11620238 (SEC ID N° 13), rs17618631 (SEC ID N° 14), rs4771233 (SEC ID N° 45), rs6491274 (SEC ID N° 46), rs7982639 (SEC ID N° 47), rs12877718 (SEC ID N° 48), rs10507382 (SEC ID N° 49), rs57354941 (SEC ID N° 50) y rs17086497 (SEC ID N° 51). Por consiguiente, las variaciones incluyen una sustitución (sustituciones), delección (delecciones) o adición (adiciones) en la posición 51 de rs17619037 (SEC ID N° 5), rs9579177 (SEC ID N° 6), rs9579176 (SEC ID N° 7), rs9554319 (SEC ID N° 8), rs7996030 (SEC ID N° 9), rs9513075 (SEC ID N° 10), rs7993418 (SEC ID N° 11), rs9513071 (SEC ID N° 12), rs11620238 (SEC ID N° 13), rs17618631 (SEC ID N° 14), rs12429309 (SEC ID N° 15), rs7982251 (SEC ID N° 16), rs9508016 (SEC ID N° 17), rs7982957 (SEC ID N° 18), rs3794400 (SEC ID N° 19), rs45455097 (SEC ID N° 40), rs1886233 (SEC ID N° 41), rs9554309 (SEC ID N° 42), rs11619230 (SEC ID N° 43), rs9554311 (SEC ID N° 44), rs4771233 (SEC ID N° 45), rs6491274 (SEC ID N° 46), rs7982639 (SEC ID N° 47), rs12877718 (SEC ID N° 48), rs10507382 (SEC ID N° 49), rs57354941 (SEC ID N° 50), rs17086497 (SEC ID N° 51), rs3794395 (SEC ID N° 52), rs9554317 (SEC ID N° 53), rs9513073 (SEC ID N° 54), rs9513074 (SEC ID N° 55), rs9508015 (SEC ID N° 56), rs2011950 (SEC ID N° 57), rs9513110 (SEC ID N° 58), rs9513112 (SEC ID N° 59), rs9513113 (SEC ID N° 60), rs9551471 (SEC ID N° 61), rs2296285 (SEC ID N° 62), rs9513116 (SEC ID N° 63), rs9551473 (SEC ID N° 64), rs7330109 (SEC ID N° 65), rs9508037 (SEC ID N° 66), rs1924981 (SEC ID N° 67), rs34140996 (SEC ID N° 68), rs7985584 (SEC ID N° 69), rs7992940 (SEC ID N° 70) y rs718273 (SEC ID N° 71).

Por consiguiente, en otra realización de la presente divulgación, el uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 incluyen variaciones en el gen de VEGFR-1 correspondientes a SNP ligados, además de otros SNP ligados en la dirección 5' o en la dirección 3' del gen de VEGFR-1 correspondientes a variaciones en el gen PAN3 y en ADN intergénico, seleccionados del grupo que consiste en:

(a) una secuencia correspondiente a rs17619037 (SEC ID N° 5) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs17619037 (SEC ID N° 5) que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido correspondiente a la posición 51 de rs17619037 (SEC ID N° 5);

(b) una secuencia correspondiente a rs9579177 (SEC ID N° 6) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs9579177 (SEC ID N° 6) que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido correspondiente a la posición 51 de rs9579177 (SEC ID N° 6);

(c) una secuencia correspondiente a rs9579176 (SEC ID N° 7) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs9579176 (SEC ID N° 7) que tiene una







tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido correspondiente a la posición 51 de rs9508037 (SEC ID N° 66);

(qq) una secuencia correspondiente a rs1924981 (SEC ID N° 67) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs1924981 (SEC ID N° 67) que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido correspondiente a la posición 51 de rs1924981 (SEC ID N° 67);

(rr) una secuencia correspondiente a rs34140996 (SEC ID N° 68) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs3794400 rs34140996 (SEC ID N° 68) que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido correspondiente a la posición 51 de rs34140996 (SEC ID N° 68);

(ss) una secuencia correspondiente a rs7985584 (SEC ID N° 69) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs7985584 (SEC ID N° 69) que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido correspondiente a la posición 51 de rs7985584 (SEC ID N° 69);

(tt) una secuencia correspondiente a rs7992940 (SEC ID N° 70) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs7992940 (SEC ID N° 70) que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido correspondiente a la posición 51 de rs7992940 (SEC ID N° 70); y

(uu) una secuencia correspondiente a rs718273 (SEC ID N° 71) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs718273 (SEC ID N° 71) que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido correspondiente a la posición 51 de rs718273 (SEC ID N° 71).

En el contexto de la divulgación, la homología anteriormente descrita, con respecto a los SNP identificados, se aplica a cada realización descrita en el presente documento en la que se citan SNP específicos.

Además, las variaciones pueden incluir una sustitución (sustituciones), delección (delecciones) o adición (adiciones) en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101 de rs17619037 (SEC ID N° 5), rs9579177 (SEC ID N° 6), rs9579176 (SEC ID N° 7), rs9554319 (SEC ID N° 8), rs7996030 (SEC ID N° 9), rs9513075 (SEC ID N° 10), rs7993418 (SEC ID N° 11), rs9513071 (SEC ID N° 12), rs1162028 (SEC ID N° 13), rs17618631 (SEC ID N° 14), rs12429309 (SEC ID N° 15), rs7982251 (SEC ID N° 16), rs9508016 (SEC ID N° 17), rs7982957 (SEC ID N° 18), rs3794400 (SEC ID N° 19), rs45455097 (SEC ID N° 40), rs1886233 (SEC ID N° 41), rs9554309 (SEC ID N° 42), rs11619230 (SEC ID N° 43), rs9554311 (SEC ID N° 44), rs4771233 (SEC ID N° 45), rs6491274 (SEC ID N° 46), rs7982639 (SEC ID N° 47), rs12877718 (SEC ID N° 48), rs10507382 (SEC ID N° 49), rs57354941 (SEC ID N° 50), rs17086497 (SEC ID N° 51), rs3794395 (SEC ID N° 52), rs9554317 (SEC ID N° 53), rs9513073 (SEC ID N° 54), rs9513074 (SEC ID N° 55), rs9508015 (SEC ID N° 56), rs2011950 (SEC ID N° 57), rs9513110 (SEC ID N° 58), rs9513112 (SEC ID N° 59), rs9513113 (SEC ID N° 60), rs9551471 (SEC ID N° 61), rs2296285 (SEC ID N° 62), rs9513116 (SEC ID N° 63), rs9551473 (SEC ID N° 64), rs7330109 (SEC ID N° 65), rs9508037 (SEC ID N° 66), rs1924981 (SEC ID N° 67), rs34140996 (SEC ID N° 68), rs7985584 (SEC ID N° 69), rs7992940 (SEC ID N° 70) y rs718273 (SEC ID N° 71).

Por consiguiente, en otra realización de la presente divulgación, el uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 incluyen variaciones en el gen de VEGFR-1 correspondiente a SNP ligados, además de otros SNP ligados en la dirección 5' o en la dirección 3' del gen de VEGFR-1 correspondientes a variaciones en el gen PAN3 y en ADN intergénico, seleccionadas del grupo que consiste en:

(a) una secuencia correspondiente a rs17619037 (SEC ID N° 5) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs17619037 (SEC ID N° 5), en la que la posición 51 es una A o G y que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101;

(b) una secuencia correspondiente a rs9579177 (SEC ID N° 6) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos 99% al rs9579177 (SEC ID N° 6), en la que la posición 51 es una A o G y que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101;

(c) una secuencia correspondiente a rs9579176 (SEC ID N° 7) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs9579176 (SEC ID N° 7), en la que la posición 51 es una A o G y que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101;







(qq) una secuencia correspondiente a rs1924981 (SEC ID N° 67) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs1924981 (SEC ID N° 67), en la que la posición 51 es una T o C y que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101;

(rr) una secuencia correspondiente a rs34140996 (SEC ID N° 68) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs34140996 (SEC ID N° 68), en la que la posición 51 es una G o A y que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101;

(ss) una secuencia correspondiente a rs7985584 (SEC ID N° 69) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs7985584 (SEC ID N° 69), en la que la posición 51 es una G o A y que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101;

(tt) una secuencia correspondiente a rs7992940 (SEC ID N° 70) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs7992940 (SEC ID N° 70), en la que la posición 51 es una T o G y que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101; y

(uu) una secuencia correspondiente a rs718273 (SEC ID N° 71) o que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, o más preferentemente al menos el 90 %, o incluso más preferentemente, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de homología con rs718273 (SEC ID N° 71), en la que la posición 51 es una T o C y que tiene una sustitución, delección o adición de al menos un nucleótido en cualquier posición de la posición 1 a 50 y 52 a 101.

En el contexto de la divulgación, la homología anteriormente descrita, con respecto a los SNP identificados, se aplica a cada realización descrita en el presente documento en la que se citan SNP específicos.

En el contexto de la presente divulgación, se entiende que “homología” se refiere en el contexto de “alelos de variante” a una identidad de secuencias de al menos el 80 %, particularmente una identidad de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 % y todavía más preferentemente al menos el 95 % sobre la longitud completa de la secuencia como se define por las SEC ID N° proporcionadas en el presente documento. En el contexto de la presente divulgación, un experto entendería que la homología cubre adicionalmente variación (variaciones) en los “alelos de variante” en diferentes grupos étnicos.

Como se documenta en los ejemplos adjuntos, podría mostrarse sorprendentemente que los biomarcadores como se proporcionan en el presente documento y/o la evaluación del entorno genético individual de un sujeto dado en el gen de VEGF-R1 no solo están asociados a supervivencia global, sino también a riesgo de progresión en pacientes tratados con inhibidores de la angiogénesis, como bevacizumab.

Según las enseñanzas de la presente invención, cuatro SNP en el gen de VEGFR-1 se correlacionaron con supervivencia global en el grupo tratado con bevacizumab en un estudio que trata cáncer pancreático metastásico con gemcitabina-erlotinib más bevacizumab o placebo. Los cuatro SNP identificados se derivan para los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4). La secuencia del SNP más significativo, rs9582036 (SEC ID N° 2), mostrada en la Figura 1, tuvo un valor de  $p \leq 3e-4$  en un modelo del efecto del riesgo alélico. Con respecto a portadores AA, la razón de riesgo fue 2,0 (IC=1,2-3,4;  $p=0,009$ ) y 4,7 (IC=2,1-10,7;  $p=0,0002$ ) para portadores AC y CC, respectivamente. La mediana de la supervivencia global aumentó de 4,8 meses en portadores CC (n=9) a 6,0 y 10,3 meses en portadores AC (n=28) y AA (n=40). Más específicamente, este análisis indica que para rs9582036 (SEC ID N° 2), los pacientes con genotipo AA tienen supervivencia más larga que los pacientes con genotipos AC, y los pacientes con genotipos AC tienen supervivencia más larga que los pacientes con genotipo CC. Se observó una asociación similar con el criterio de valoración de progresión libre supervivencia. Después del ajuste para los factores de pronóstico iniciales (cifras de neutrófilos, CRP y localización del tumor), el efecto se atenuó pero no se suprimió. No se detectó efecto en el grupo de control. Una prueba para la interacción entre el genotipo de rs9582036 (SEC ID N° 2) y el tratamiento produjo un valor de p de 0,02. Asimismo, la razón de riesgo para portadores TG y GG en el SNP rs9554316 (SEC ID N° 1) fue 2,07 (IC=1,25-3,43;  $p=0,0047$ ) y 4,69 (IC=1,75-12,95;  $p=0,0021$ ). Específicamente, este análisis indica que para rs9554316 (SEC ID N° 1), los pacientes con genotipo GG tienen supervivencia más larga que el paciente con genotipos TG, y los pacientes con genotipos TG tienen supervivencia más larga que los pacientes con genotipo TT. Curiosamente, otros dos SNP en el gen de VEGFR-1, es decir, rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4), también se correlacionaron con la mediana de la supervivencia global mejorada. Los 4 SNP se localizaron en la misma región cromosómica que engloba los exones 25 a 30 del gen de VEGFR-1 y que codifican el dominio de tirosina-cinasa de receptor (TK) esencial.

Según las enseñanzas de la presente invención, dos SNP en el gen de VEGFR-1 se correlacionaron con supervivencia libre de progresión en el grupo tratado con bevacizumab en un estudio que trata cáncer de células

renales con interferón alfa más bevacizumab o interferón alfa más placebo. Los dos SNP identificados se derivan para los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1) y rs9513070 (SEC ID N° 3). Los portadores AA de rs9513070 (SEC ID N°: 3) mostraron elevada progresión libre supervivencia en comparación con portadores AG y GG en el grupo tratado con bevacizumab (Figura 13). Los portadores GG de rs9554316 (SEC ID N°:1) mostraron elevada progresión libre supervivencia en comparación con portadores GT y TT en el grupo tratado con bevacizumab (Figura 15).

Por consiguiente, la presente invención proporciona un inhibidor de la angiogénesis para su uso en una pauta de quimioterapia mejorada para un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica en el que se determina de una muestra del paciente si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 y por medio del cual el inhibidor de la angiogénesis va a administrarse a un paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1. El inhibidor de la angiogénesis que va a administrarse puede administrarse con otros agentes quimioterapéuticos o pautas de quimioterapia. La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático o cáncer de células renales. El inhibidor de la angiogénesis es bevacizumab.

La presente invención se refiere a bevacizumab para su uso en una pauta de quimioterapia mejorada para un paciente que padece cáncer pancreático en el que se determina de una muestra del paciente si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 y por medio del cual va a administrarse bevacizumab a un paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1. El bevacizumab que va a administrarse puede administrarse con otros agentes quimioterapéuticos o pautas de quimioterapia, tales como terapia de gemcitabina-erlotinib.

La presente invención se refiere a bevacizumab para su uso en una pauta de quimioterapia mejorada para un paciente que padece cáncer de células renales en el que se determina de una muestra del paciente si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 y por medio del cual va a administrarse bevacizumab a un paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1. El bevacizumab que va a administrarse puede administrarse con otros agentes quimioterapéuticos o pautas de quimioterapia, tales como terapia de interferón alfa.

Pueden aplicarse los siguientes usos similares, cambiando lo que haya que cambiar.

La presente divulgación proporciona el uso de un inhibidor de la angiogénesis para mejorar la supervivencia global de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica, que comprende las siguientes etapas:

- (a) determinar de una muestra del paciente si el paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1; y
- (b) administrar el inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

Por consiguiente, la presente divulgación se refiere al uso de un inhibidor de la angiogénesis para mejorar la supervivencia global de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica, que comprende las siguientes etapas:

- (a) obtener una muestra de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica;
- (b) determinar si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1; y
- (c) administrar el inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

La presente invención se refiere a un inhibidor de la angiogénesis para su uso en mejorar la supervivencia global de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica en el que se determina de una muestra del paciente si el paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 y por medio del cual el inhibidor de la angiogénesis va a administrarse al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1. La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático. El inhibidor de la angiogénesis es bevacizumab.

La presente divulgación proporciona el uso de un inhibidor de la angiogénesis para mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica, que comprende las siguientes etapas:

- 5 (a) determinar de una muestra del paciente si el paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1; y  
(b) administrar el inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

10 La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático o cáncer de células renales. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

15 Por consiguiente, la presente divulgación se refiere al uso de un inhibidor de la angiogénesis para mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica, que comprende las siguientes etapas:

- (a) obtener una muestra de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica;  
20 (b) determinar si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1; y  
(c) administrar el inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

25 La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático o cáncer de células renales. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

30 La presente invención se refiere a un inhibidor de la angiogénesis para su uso en mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica en el que se determina de una muestra del paciente si el paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 y por medio del cual el inhibidor de la angiogénesis va a administrarse a dicho paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1. La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático o cáncer de células renales. El inhibidor de la angiogénesis es bevacizumab.

35 Por consiguiente, la divulgación proporciona el uso de un inhibidor de la angiogénesis para mejorar la supervivencia global de un paciente que padece un cáncer pancreático metastásico que comprende las siguientes etapas:

- 40 (a) determinar de una muestra del paciente si el paciente que padece cáncer pancreático metastásico tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1, en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4); y  
(b) administrar el inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

45 El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab. El inhibidor de la angiogénesis puede administrarse con otros agentes quimioterapéuticos o pautas de quimioterapia, tales como gemcitabina-erlotinib.

50 La divulgación se refiere al uso de un inhibidor de la angiogénesis para mejorar la supervivencia global de un paciente que padece un cáncer pancreático metastásico que comprende las siguientes etapas:

- (a) obtener una muestra de un paciente que padece cáncer pancreático metastásico;  
(b) determinar de una muestra del paciente si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1, en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4); y  
55 (c) administrar el inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

60 El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab. El inhibidor de la angiogénesis puede administrarse con otros agentes quimioterapéuticos o pautas de quimioterapia, tales como gemcitabina-erlotinib.

65 La presente invención, por tanto, se refiere a un inhibidor de la angiogénesis para su uso en mejorar la supervivencia global de un paciente que padece cáncer pancreático metastásico en el que se determina de una muestra del paciente si el paciente que padece cáncer pancreático metastásico tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 y por medio del cual el inhibidor de la angiogénesis va a administrarse al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

El inhibidor de la angiogénesis es bevacizumab. El inhibidor de la angiogénesis puede administrarse con otros agentes quimioterapéuticos o pautas de quimioterapia, tales como terapia de gemcitabina-erlotinib.

5 Por consiguiente, la divulgación proporciona el uso de un inhibidor de la angiogénesis para mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece un cáncer pancreático metastásico que comprende las siguientes etapas:

- 10 (a) determinar de una muestra del paciente si el paciente que padece cáncer pancreático metastásico tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1, en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4); y
- (b) administrar el inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

15 El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab. El inhibidor de la angiogénesis puede administrarse con otros agentes quimioterapéuticos o pautas de quimioterapia, tales como terapia de gemcitabina-erlotinib.

20 Por consiguiente, la divulgación se refiere al uso de un inhibidor de la angiogénesis para mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece un cáncer pancreático metastásico que comprende las siguientes etapas:

- 25 (a) obtener una muestra de un paciente que padece cáncer pancreático metastásico;
- (b) determinar de una muestra del paciente si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1, en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4); y
- (c) administrar el inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

30 El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab. El inhibidor de la angiogénesis puede administrarse con otros agentes quimioterapéuticos o pautas de quimioterapia, tales como terapia de gemcitabina-erlotinib.

35 La presente invención, por tanto, se refiere a un inhibidor de la angiogénesis para su uso en mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece cáncer pancreático metastásico en el que se determina de una muestra del paciente si el paciente que padece cáncer pancreático metastásico tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 y por medio del cual el inhibidor de la angiogénesis va a administrarse al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1. El inhibidor de la angiogénesis es bevacizumab. El inhibidor de la angiogénesis puede administrarse con otros agentes quimioterapéuticos o pautas de quimioterapia, tales como terapia de gemcitabina-erlotinib.

40 Por consiguiente, la divulgación proporciona el uso de un inhibidor de la angiogénesis para mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece un cáncer de células renales que comprende las siguientes etapas:

- 45 (a) determinar de una muestra del paciente si el paciente que padece cáncer de células renales tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1, en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en rs9554316 (SEC ID N° 1) y rs9513070 (SEC ID N° 3); y
- (b) administrar el inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

50 El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab. El inhibidor de la angiogénesis puede administrarse con otros agentes quimioterapéuticos o pautas de quimioterapia, tales como terapia de interferón alfa.

Por consiguiente, la divulgación se refiere al uso de un inhibidor de la angiogénesis para mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece un cáncer de células renales que comprende las siguientes etapas:

- 55 (a) obtener una muestra de un paciente que padece cáncer de células renales;
- (b) determinar si el paciente tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1, en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en rs9554316 (SEC ID N° 1) y rs9513070 (SEC ID N° 3); y
- 60 (c) administrar el inhibidor de la angiogénesis al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1.

El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab. El inhibidor de la angiogénesis puede administrarse con otros agentes quimioterapéuticos o pautas de quimioterapia, tales como terapia de interferón alfa.

65 Por tanto, la presente invención se refiere a un inhibidor de la angiogénesis para su uso en mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece cáncer de células renales en el que se determina de una muestra del

paciente si el paciente que padece cáncer de células renales tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 y por medio del cual el inhibidor de la angiogénesis va a administrarse al paciente que tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 se administra un inhibidor de la angiogénesis. El inhibidor de la angiogénesis es bevacizumab. El inhibidor de la angiogénesis puede administrarse con otros agentes quimioterapéuticos o pautas de quimioterapia, tales como terapia de interferón alfa.

Según los métodos de la presente divulgación, los SNP identificados en el presente documento son predictivos de pacientes que padecen una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica, en particular cáncer pancreático metastásico o cáncer de células renales, que es receptivo o sensible al tratamiento con un inhibidor de la angiogénesis, en particular bevacizumab. Por consiguiente, la presente invención se refiere a un método de predecir la respuesta a o sensibilidad a un inhibidor de la angiogénesis de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica que comprende determinar de una muestra del paciente si un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1. La enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica puede ser cáncer pancreático o cáncer de células renales. El inhibidor de la angiogénesis es bevacizumab.

La presente divulgación proporciona un método de predecir la respuesta a o sensibilidad a la terapia inhibidora de la angiogénesis de un paciente que padece cáncer pancreático metastásico que comprende determinar de una muestra del paciente si un paciente que padece cáncer pancreático metastásico tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1. El uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 pueden seleccionarse del grupo que consiste en los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4), por medio del cual una G en la posición 51 de rs9554316 (SEC ID N° 1), una A en la posición 51 de rs9582036 (SEC ID N° 2), una A en la posición 51 de rs9513070 (SEC ID N° 3) y/o una C en la posición 51 de rs9554320 (SEC ID N° 4) es indicativo de una respuesta del paciente o sensible a terapia inhibidora de la angiogénesis. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab. La divulgación, por tanto, se refiere al uso de cebadores y/o sondas específicos para la preparación de una composición para predecir la respuesta a o sensibilidad a la terapia inhibidora de la angiogénesis de un paciente que padece cáncer pancreático metastásico en el que los cebadores y/o sondas pueden detectar al menos uno de los alelos de variante seleccionados del grupo que consiste en los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4), por medio del cual una G en la posición 51 de rs9554316 (SEC ID N° 1), una A en la posición 51 de los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2), una A en la posición 51 de rs9513070 (SEC ID N° 3) y/o una C en la posición 51 de rs9554320 (SEC ID N° 4) es indicativo de una respuesta del paciente o sensible a terapia inhibidora de la angiogénesis. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

La presente divulgación también proporciona un método de predecir la respuesta a o sensibilidad a la terapia inhibidora de la angiogénesis de un paciente que padece cáncer de células renales que comprende determinar de una muestra del paciente si el paciente que padece cáncer de células renales tiene uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 de una muestra del paciente en el que el uno o más alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1) y rs9513070 (SEC ID N° 3) por medio del cual una G en la posición 51 de rs9554316 (SEC ID N° 1) y/o una A en la posición 51 de rs9513070 (SEC ID N° 3) es indicativo de una respuesta del paciente o sensible a terapia inhibidora de la angiogénesis. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab. La divulgación, por tanto, se refiere al uso de cebadores y/o sondas específicos para la preparación de una composición para predecir la respuesta a o sensibilidad a la terapia con bevacizumab de un paciente que padece cáncer de células renales en el que los cebadores y/o sondas pueden detectar al menos uno de los alelos de variante se seleccionan del grupo que consiste en al menos uno de los alelos de variante seleccionados del grupo que consiste en los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1) y rs9513070 (SEC ID N° 3) por medio del cual una G en la posición 51 de rs9554316 (SEC ID N° 1) y/o una A en la posición 51 de rs9513070 (SEC ID N° 3) es indicativo de una respuesta del paciente o sensible a terapia inhibidora de la angiogénesis. El inhibidor de la angiogénesis puede ser bevacizumab.

La muestra que va a usarse en los métodos proporcionados en el presente documento es una muestra biológica y puede ser una muestra de sangre y/o de tejido. Preferentemente, la muestra es una muestra de sangre y más preferentemente una muestra de sangre periférica. Incluso más preferentemente, la muestra es una muestra de ADN. La muestra de ADN puede ser ADN de la línea germinal o ADN somático. Preferentemente, el ADN es ADN de la línea germinal.

La muestra se obtiene preferentemente de un paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica. Ejemplos de una enfermedad maligna incluyen, pero no se limitan a, cáncer pancreático, cáncer de células renales, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, linfoma, cáncer de huesos, cáncer de ovario, melanoma, tumor maligno hematológico de próstata y/o formas metastásicas de los cánceres anteriormente identificados. Preferentemente, la muestra se obtiene de un paciente que padece cáncer pancreático, cáncer de células renales, cáncer de pulmón, cáncer de mama y/o cáncer colorrectal. Incluso más preferentemente, la muestra se obtiene de un paciente que padece cáncer pancreático metastásico, cáncer de células renales, cáncer colorrectal metastásico, cáncer de mama metastásico y/o cáncer de pulmón de células no pequeñas no escamosas. Lo más preferentemente, el paciente padece cáncer pancreático

metastásico o cáncer de células renales. Ejemplos de enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica incluyen, pero no se limitan a, glioma de alto grado, glioblastoma, enfermedades de M. Rendu-Osler, de von-Hippel-Lindau, hemangiomas, psoriasis, sarcoma de Kaposi, neovascularización ocular, artritis reumatoide, endometriosis, aterosclerosis, isquemia miocárdica, isquemia periférica, isquemia cerebral y cicatrización.

El término “inhibidor de la angiogénesis” en el contexto de la presente divulgación se refiere a todos los agentes que alteran la angiogénesis (por ejemplo, el proceso de formación de vasos sanguíneos) e incluye agentes que inhiben la angiogénesis, que incluyen, pero no se limitan a, angiogénesis tumoral. En este contexto, inhibición puede referirse a bloquear la formación de vasos sanguíneos y detener o ralentizar el crecimiento de vasos sanguíneos. Ejemplos de inhibidores de la angiogénesis incluyen bevacizumab (también conocido como Avastin<sup>®</sup>), pegaptanib, sunitinib, sorafenib y vatalanib. Un inhibidor de la angiogénesis preferido es bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>), que es un anticuerpo IgG1 monoclonal humanizado recombinante que se une a e inhibe la actividad biológica de VEGFA humano en un sistema de ensayo *in vitro* e *in vivo*. El término “bevacizumab” engloba todos los anticuerpos anti-VEGF correspondientes que satisfacen los requisitos necesarios para obtener una autorización de comercialización como producto idéntico o biosimilar en un país o territorio seleccionado del grupo de países que consiste en EE.UU., Europa y Japón.

En el contexto de la presente invención, “administración” o “administrar” significa la administración de una composición farmacéutica, tal como un inhibidor de la angiogénesis, al paciente. Por ejemplo, pueden administrarse 2,5 mg/kg de peso corporal a 15 mg/kg de peso corporal de bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>) cada semana, cada 2 semanas o cada 3 semanas, dependiendo del tipo de cáncer que esté tratándose. Dosificaciones preferidas incluyen 5 mg/kg, 7,5 mg/kg, 10 mg/kg y 15 mg/kg. Dosificaciones incluso más preferidas son 5 mg/kg cada 2 semanas, 10 mg/kg cada 2 semanas y 15 mg/kg cada 3 semanas. Con respecto a bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>) para el tratamiento de cáncer pancreático metastásico, las dosificaciones incluyen 5 mg/kg o 10 mg/kg de peso corporal administradas una vez cada 2 semanas, o 7,5 mg/kg o 15 mg/kg de peso corporal administradas una vez cada 3 semanas. Para el tratamiento de cáncer de células renales, las dosificaciones de bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>) incluyen 10 mg/kg de peso corporal administradas una vez cada 2 semanas.

Las dosificaciones de bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>) para los tratamientos de cánceres específicos, según la EMEA, son las siguientes (para detalles véase <http://www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/avastin/emea-combined-h582en.pdf>). Para carcinoma metastásico de colon o recto (mCRC), dosificaciones preferidas son 5 mg/kg o 10 mg/kg de peso corporal administradas una vez cada 2 semanas o 7,5 mg/kg o 15 mg/kg de peso corporal administradas una vez cada 3 semanas, para cáncer de mama metastásico (mBC), dosificaciones preferidas son 10 mg/kg de peso corporal administradas una vez cada 2 semanas o 15 mg/kg de peso corporal administradas una vez cada 3 semanas como infusión intravenosa, y para cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), dosificaciones preferidas son 7,5 mg/kg o 15 mg/kg de peso corporal administradas una vez cada 3 semanas como infusión intravenosa. El beneficio clínico en pacientes con NSCLC se ha demostrado con dosis de tanto 7,5 mg/kg como 15 mg/kg. Para detalles se refiere a la sección 5.1 Propiedades farmacodinámicas, cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). Para cáncer de células renales avanzado y/o metastásico (mRCC), dosificaciones preferidas son 10 mg/kg de peso corporal administradas una vez cada 2 semanas como infusión intravenosa (además de quimioterapia basada en platino durante hasta 6 ciclos de tratamiento seguido de bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>) como único agente hasta la progresión de la enfermedad). Para glioblastoma, una dosificación preferida es 10 mg/kg cada 2 semanas.

En el contexto de la presente divulgación, el inhibidor de la angiogénesis puede administrarse además de o como una co-terapia o un co-tratamiento con uno o más agentes quimioterapéuticos administrados como parte de la pauta de quimioterapia estándar como se conoce en la técnica. Ejemplos de agentes incluidos en tales pautas de quimioterapia estándar incluyen 5-fluorouracilo, leucovorina, irinotecan, gemcitabina, erlotinib, capecitabina, taxanos, tales como docetaxel y paclitaxel, interferón alfa, vinorelbina y agentes quimioterapéuticos basados en platino, tales como paclitaxel, carboplatino, cisplatino y oxaliplatino. Ejemplos de co-tratamientos para cáncer pancreático metastásico incluyen gemcitabina-erlotinib más bevacizumab a una dosificación de 5 mg/kg o 10 mg/kg de peso corporal administradas una vez cada dos semanas o 7,5 mg/kg o 15 mg/kg de peso corporal administradas una vez cada tres semanas. Ejemplos de co-tratamientos para cáncer de células renales incluyen interferón alfa más bevacizumab a una dosificación de o 10 mg/kg de peso corporal administradas una vez cada dos semanas. Además, un paciente puede co-tratarse con una combinación de irinotecan, 5-fluorouracilo, leucovorina, también denominado IFL, como, por ejemplo, IFL en bolo, con una combinación de oxaliplatino, leucovorina y 5-fluorouracilo, también denominada pauta de FOLFOX4, o con una combinación de capecitabina y oxaliplatino, también denominada XELOX. Por consiguiente, en otra realización de la divulgación, el paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica está siendo tratado con uno o más agentes quimioterapéuticos tales como 5-fluorouracilo, leucovorina, irinotecan, gemcitabina-erlotinib, capecitabina y/o agentes quimioterapéuticos basados en platino, tales como paclitaxel, carboplatino y oxaliplatino. Ejemplos de co-terapia o co-tratamiento incluyen 5 mg/kg de bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>) cada dos semanas con IFL en bolo o 10 mg/kg de bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>) cada 2 semanas con FOLFOX4 para cáncer colorrectal metastásico, 15 mg/kg de bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>) cada 3 semanas con carboplatino/paclitaxel para cáncer de pulmón de células no pequeñas no escamosas y 10 mg/kg de bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>) cada 2 semanas con paclitaxel para cáncer de

mama metastásico. Además, el inhibidor de la angiogénesis que va a administrarse puede administrarse como una co-terapia o un co-tratamiento con radioterapia.

5 Como se usa en el presente documento, “agente quimioterapéutico” o “pauta de quimioterapia” incluye cualquier agente activo que pueda proporcionar un efecto terapéutico antineoplásico y pueda ser un agente químico o un agente biológico, en particular, que pueda interferir con células cancerosas o tumorales. Agentes activos preferidos son aquellos de agentes antineoplásicos (quimiotóxicos o quimiostáticos) que inhiben o previenen el desarrollo, maduración o proliferación de células malignas. Ejemplos no limitantes de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes tales como mostazas de nitrógeno (por ejemplo, mecloretamina, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalan y clorambucilo), nitrosoureas (por ejemplo, carmustina (BCNU), lomustina (CCNU) y semustina (metil-CCNU)), etileniminas/ metilmelaminas (por ejemplo, trietilenmelamina (TEM), trietileno, tiofosforamida (tiotepa), hexametilmelamina (HMM, altretamina)), sulfonatos de alquilo (por ejemplo, busulfan) y triazinas (por ejemplo, dacarbazina (DTIC)); antimetabolitos tales como análogos del ácido fólico (por ejemplo, metotrexato, trimetrexato), análogos de pirimidina (por ejemplo, 5-fluorouracilo, capecitabina, fluorodesoxiuridina, gemcitabina, citosina arabinósido (AraC, citarabina), 5-azacitidina, 2,2'-difluorodesoxicitidina) y análogos de purina (por ejemplo, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, azatioprina, 2'-desoxicoformicina (pentostatina), eritrohidroxinoniladenina (EHNA), fosfato de fludarabina y 2-clorodesoxiadenosina (cladribina, 2-CdA)); fármacos antimetabólicos desarrollados a partir de productos naturales (por ejemplo, paclitaxel, alcaloides de la vinca (por ejemplo, vinblastina (VLB), vincristina y vinorelbina), docetaxel, estramustina y fosfato de estramustina), epipodofilotoxinas (por ejemplo, etopósido, tenipósido), antibióticos (por ejemplo, actinomicina D, daunomicina (rubidomicina), daunorubicin, doxorubicina, epirubicina, mitoxantrona, idarubicina, bleomicinas, plicamicina (mitramicina), mitomicina C, actinomicina), enzimas (por ejemplo, L-asparaginasa) y modificadores de la respuesta biológica (por ejemplo, interferón-alfa, IL-2, G-CSF, GM-CSF); diversos agentes que incluyen complejos de coordinación de platino (por ejemplo, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino), antracenedionas (por ejemplo, mitoxantrona), urea sustituida (es decir, hidroxiaurea), derivados de metilhidracina (por ejemplo, N-metilhidracina (MIH), procarbazona), supresores adrenocorticales (por ejemplo, mitotano (o,p'-DDD), aminoglutetimida); hormonas y antagonistas que incluyen antagonistas adrenocorticosteroides (por ejemplo, prednisona y equivalentes, dexametasona, aminoglutetimida), progestinas (por ejemplo, caproato de hidroxiprogesterona, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol), estrógenos (por ejemplo, dietilestilbestrol, etinilestradiol y equivalentes de los mismos); antiestrógenos (por ejemplo, tamoxifeno), andrógenos (por ejemplo, propionato de testosterona, fluoximesterona y equivalentes de los mismos), antiandrógenos (por ejemplo, flutamida, análogos de la hormona liberadora de gonadotropina, leuprolida), antiandrógenos no esteroideos (por ejemplo, flutamida), inhibidores del factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo, erlotinib, lapatinib, gefitinib), anticuerpos (por ejemplo, trastuzumab), irinotecan y otros agentes tales como leucovorina. Para el tratamiento de cáncer pancreático metastásico, agentes quimioterapéuticos para administración con bevacizumab incluyen gemcitabina y erlotinib y combinaciones de los mismos (véanse también los ejemplos proporcionados en el presente documento). Para el tratamiento de cáncer de células renales, agentes quimioterapéuticos para administración con bevacizumab incluyen interferón alfa (véanse también los ejemplos proporcionados en el presente documento).

40 El término “paciente que responde a un inhibidor de la angiogénesis” significa en el contexto de la presente invención que un sujeto/paciente que padece una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica muestra una respuesta a un tratamiento con el inhibidor de la angiogénesis. Un experto estará fácilmente en posición de determinar si una persona tratada con el inhibidor de la angiogénesis muestra una respuesta. Por ejemplo, una respuesta a un inhibidor de la angiogénesis puede reflejarse por la disminución del sufrimiento de una enfermedad maligna o una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica, tal como una disminución y/o detención del crecimiento de un tumor y/o una reducción del tamaño de un tumor, la prevención de formación de metástasis o una reducción del número o tamaño de metástasis.

50 El término “paciente sensible a un inhibidor de la angiogénesis”, en el contexto de la presente invención, se refiere a un paciente que muestra de alguna forma una reacción positiva cuando se trata con un inhibidor de la angiogénesis. La reacción del paciente puede ser menos pronunciada cuando se compara con un paciente que responde al tratamiento como se ha descrito anteriormente en este documento. Por ejemplo, el paciente puede experimentar menos sufrimiento de una enfermedad maligna, tal como cáncer, aunque no pueda medirse una reducción en el crecimiento tumoral. La reacción del paciente al inhibidor de la angiogénesis también puede ser solo de naturaleza transitoria, es decir, el crecimiento de (a) tumor y/o (a) metástasis puede solo reducirse o detenerse temporalmente.

55 El término “un paciente que padece”, en el contexto de la presente invención, se refiere a un paciente que muestra signos clínicos respecto a una cierta enfermedad maligna, tal como cáncer, una enfermedad que implica angiogénesis fisiológica y patológica y/o enfermedad tumoral.

60 El término “para mejorar la supervivencia global”, en el contexto de la presente invención, se refiere a la supervivencia promedio del paciente dentro de un grupo de pacientes. Como apreciará el experto, la supervivencia global de un paciente mejora o se potencia si el paciente pertenece a un subgrupo de pacientes que tiene un tiempo de supervivencia medio más largo estadísticamente significativo en comparación con otro subgrupo de pacientes.

65 El término “para mejorar la supervivencia libre de progresión”, en el contexto de la presente invención, se refiere, con respecto a un paciente dentro de un grupo de pacientes, a la longitud de tiempo promedio durante y después del

tratamiento en la que la enfermedad de un paciente no empeora. Como apreciará el experto, una supervivencia libre de progresión del paciente mejora o se potencia si el paciente pertenece a un subgrupo de pacientes que tiene una longitud de tiempo media significativamente más larga durante la cual la enfermedad no empeora en comparación con otro subgrupo de pacientes.

El término “oligonucleótido” y “polinucleótido” se usan indistintamente y en el contexto de la presente invención se refieren a una molécula que comprende dos o más desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos, preferentemente más de tres. Su tamaño exacto dependerá de muchos factores, que a su vez dependen de la función definitiva o uso del oligonucleótido. Un oligonucleótido puede derivarse sintéticamente o clonando. Las quimeras de desoxirribonucleótidos y ribonucleótidos también pueden estar en el alcance de la presente invención.

La amplificación de secuencias es un método para generar grandes cantidades de una secuencia diana. En general, uno o más cebadores de amplificación se hibridan con una secuencia de ácidos nucleicos. Usando enzimas apropiadas, se amplifican secuencias encontradas adyacentes a o entre los cebadores.

El cebador de la amplificación es un oligonucleótido que puede hibridarse con una secuencia diana y servir de punto de iniciación para la síntesis de ADN cuando se pone en condiciones en las que se inicia la síntesis del primer producto de extensión que es complementario a un ácido nucleico. Los cebadores según la presente invención pueden diseñarse como comúnmente se conoce en la técnica basándose en las secuencias de los SNP proporcionadas en el presente documento. Los cebadores tienen preferentemente 10 a 45 nucleótidos de longitud y más preferentemente 15 a 30 nucleótidos de longitud.

Según la invención descrita en el presente documento, un cebador diseñado para unirse en la dirección 5' de un SNP se usa en combinación con un segundo cebador diseñado para unirse en la dirección 3' del mismo SNP. Ejemplos de cebadores de ácido nucleico derivados para los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4) se muestran en la Figura 2. Más específicamente, para rs9554316 (SEC ID N° 1) pueden usarse ACGTTGGATGATCGTAAAGACATCATTTCG (SEC ID N° 25) y ACGTTGGATGTGCTGGAGACCATGACCAAG (SEC ID N° 26). Para los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2) pueden usarse ACGTTGGATGACTGTGCCAGCAACAATAG (SEC ID N° 20) y ACGTTGGATGGCATAATAGCACTTTACTCC (SEC ID N° 21). Para rs9513070 (SEC ID N° 3) puede usarse ACGTTGGATGGCAAGCTTGCCCACTTGTG (SEC ID N° 35) y ACGTTGGATGGTTTGTGTTGGGCTGCACTC (SEC ID N° 36). Para rs9554320 (SEC ID N° 4) puede usarse ACGTTGGATGGTGGGAGGCCAGTTTGTAAAC (SEC ID N° 30) y ACGTTGGATGAGCAAGGTTCTGTGTAG (SEC ID N° 31).

Como entenderá el experto habitual, pueden diseñarse una multitud de sondas para cada SNP identificado en el presente documento. Por ejemplo, sondas que son cebadores extensibles, que puede extenderse en una reacción de extensión por terminación, se muestran en la Figura 2 con productos de extensión. Para rs9554316 (SEC ID N° 1) se usó AAGACATCATTTCGATTTTTTTTCT (SEC ID N° 27). Para los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2) se usó AGCAACAATAGCCTTCTT (SEC ID N° 22). Para rs9513070 (SEC ID N° 3) se usó CGTGTGGCCACGGGCT (SEC ID N° 37). Para rs9554320 (SEC ID N° 4) se usó ACAGCGCTTTGCAGTGC (SEC ID N° 32). Las sondas que son cebadores extensibles tienen preferentemente 15 a 30 nucleótidos de longitud y más preferentemente 15 a 25 nucleótidos de longitud.

La presente invención proporciona oligonucleótidos o polinucleótidos útiles para determinar la presencia de al menos uno o más alelos de variante del gen de VEGF-R1. Los oligonucleótidos o polinucleótidos pueden comprender cebadores y/o sondas. Con respecto a los cebadores, los cebadores pueden seleccionarse del grupo que consiste en SEC ID N° 20, SEC ID N° 25, SEC ID N° 30, SEC ID N° 35, SEC ID N° 21, SEC ID N° 26, SEC ID N° 31 y SEC ID N° 36. Con respecto a las sondas, esas sondas pueden seleccionarse del grupo que consiste en SEC ID N° 22, SEC ID N° 27, SEC ID N° 32 y SEC ID N° 37.

Un experto también tendrá la capacidad de usar sondas, tales como sondas de hibridación, que pueden marcarse mediante técnicas de marcaje estándar tales como con un radiomarcador, un marcador enzimático, un marcador fluorescente, un marcador de biotina-avidina, quimioluminiscencia y similares. Después de la hibridación, las sondas pueden visualizarse usando técnicas conocidas.

La presente divulgación también se refiere a una composición de diagnóstico o kit que comprende cualquiera de los oligonucleótidos mencionados y opcionalmente medios adecuados para la detección.

El kit de la divulgación puede usarse ventajosamente para llevar a cabo un método de la invención y podría emplearse, entre otras cosas, en una variedad de aplicaciones, por ejemplo, en el campo del diagnóstico o como herramienta de investigación. Las partes del kit de la divulgación pueden estar envasadas individualmente en viales o en combinación en recipientes o unidades de múltiples recipientes. La fabricación del kit sigue preferentemente procedimientos convencionales que son conocidos para el experto en la materia. El kit o las composiciones de diagnóstico pueden usarse para la detección del uno o más alelos de variante del gen de VEGFR-1 según los métodos descritos en el presente documento de la invención, empleando, por ejemplo, técnicas de amplificación como se describen en el presente documento.

Por consiguiente, en otra realización de la presente divulgación se proporciona un kit útil para llevar a cabo los métodos descritos en el presente documento, que comprende oligonucleótidos o polinucleótidos que pueden determinar la presencia de al menos uno o más alelos de variante del gen de VEGF-R1. Los oligonucleótidos o polinucleótidos pueden comprender cebadores y/o sondas. Con respecto a los cebadores, los cebadores pueden seleccionarse del grupo que consiste en SEC ID N° 20, SEC ID N° 25, SEC ID N° 30, SEC ID N° 35, SEC ID N° 21, SEC ID N° 26, SEC ID N° 31 y SEC ID N° 36. Con respecto a las sondas, las sondas pueden seleccionarse del grupo que consiste en SEC ID N° 22, SEC ID N° 27, SEC ID N° 32 y SEC ID N° 37.

La presente invención se describe adicionalmente por referencia a las siguientes figuras y ejemplos no limitados. La invención se define por las reivindicaciones.

**Figura 1:** Secuencia de SNP. Se identifica el alelo de diagnóstico para cada SNP. La Figura 1A son SNP genotipados en el estudio AVITA y asociados al resultado con bevacizumab. La Figura 1B son SNP ligados que pertenecen al bloque de haplotipos de rs9554316 (SEC ID N° 1) y rs9582036 (SEC ID N° 2) (dentro del sitio). La Figura 1C son SNP ligados en la dirección 5' o en la dirección 3' del bloque de haplotipos (fuera del sitio) y en LD ( $D' > 0,8$ ) con rs9554316 (SEC ID N° 1) y rs9582036 (SEC ID N° 2). La Figura 1D son SNP ligados con  $r^2$  igual o superior a 0,12 para rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) o rs9554320 (SEC ID N° 4).

**Figura 2:** Cebadores para los SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4). También se proporcionan los cebadores sin extender (sondas), cebadores extendidos (sondas) y sus masas.

**Figura 3:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia global, probabilidad frente al tiempo en el estudio (días), por genotipo de rs9582036 (SEC ID N° 2) en el sub-grupo tratado con bevacizumab del ensayo AVITA (pacientes con cáncer pancreático metastásico tratados con terapia de bevacizumab más gemcitabina-erlotinib (GE)). En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos: 0 es AA (n=40, mediana=309), 1 es AC (n=28, mediana=171) y 2 es CC (n=9, mediana=144). 1 frente a 0 (HR=2,00 [3,36, 1,19], p de la prueba de Wald=0,0091) y 2 frente a 0: (HR=4,72 [10,68, 2,08], p de la prueba de Wald=0,0002). En la figura, la línea continua es para el genotipo AA, la línea discontinua es para el genotipo AC y la línea de puntos es para el genotipo CC.

**Figura 4:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia global, probabilidad frente al tiempo en el estudio (días), por genotipo de rs9582036 (SEC ID N° 2) en el sub-grupo tratado con placebo del ensayo AVITA (pacientes con cáncer pancreático metastásico tratados con terapia de placebo más gemcitabina-erlotinib (GE)). En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos: 0 es AA (n=38, mediana=226), 1 es AC (n=29, mediana=177) y 2 es CC (n=10, mediana=149). 1 frente a 0 (HR=1,62 [2,68, 0,97], p de la prueba de Wald=0,063) y 2 frente a 0: (HR=1,53 [3,12, 0,75], p de la prueba de Wald=0,240). En la figura, la línea continua es para el genotipo AA, la línea discontinua es para el genotipo AC y la línea de puntos es para el genotipo CC.

**Figura 5:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia libre de progresión, probabilidad frente al tiempo en el estudio (días), por genotipo de rs9582036 (SEC ID N° 2) en el sub-grupo tratado con bevacizumab del ensayo AVITA (pacientes con cáncer pancreático metastásico tratados con terapia de bevacizumab más gemcitabina-erlotinib (GE)). En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos: 0 es AA (n=40, mediana=218), 1 es AC (n=28, mediana=133) y 2 es CC (n=9, mediana=102). 1 frente a 0 (HR=1,86 [3,10, 1,11], p de la prueba de Wald=0,0180) y 2 frente a 0: (HR=3,63 [8,05, 1,64], p de la prueba de Wald=0,0015). En la figura, la línea continua es para el genotipo AA, la línea discontinua es para el genotipo AC y la línea de puntos es para el genotipo CC.

**Figura 6:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia libre de progresión, probabilidad frente al tiempo en el estudio (días), por genotipo de rs9582036 (SEC ID N° 2) en el sub-grupo tratado con placebo del ensayo AVITA (pacientes con cáncer pancreático metastásico tratados con terapia de placebo más gemcitabina-erlotinib (GE)). En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos: 0 es AA (n=38, mediana=147), 1 es AC (n=29, mediana=120) y 2 es CC (n=10, mediana=134). 1 frente a 0 (HR=1,36 [2,22, 0,83], p de la prueba de Wald=0,23) y 2 frente a 0: (HR=1,04 [2,11, 0,51], p de la prueba de Wald=0,91). En la figura, la línea continua es para el genotipo AA, la línea discontinua es para el genotipo AC y la línea de puntos es para el genotipo CC.

**Figura 7:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia global, probabilidad frente al tiempo en el estudio (días), por genotipo de rs9554316 (SEC ID N° 1) en el sub-grupo tratado con bevacizumab del ensayo AVITA (pacientes con cáncer pancreático metastásico tratados con terapia de bevacizumab más gemcitabina-erlotinib (GE)). En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos: 0 es GG (n=42, mediana=309), 1 es TG (n=30, mediana=148) y 2 es TT (n=5, mediana=132). 1 frente a 0 (HR=2,07 [3,43, 1,25], p de la prueba de Wald=0,0047) y 2 frente a 0: (HR=4,69 [12,59, 1,75], p de la prueba de Wald=0,0021). En la figura, la línea continua es para el genotipo GG, la línea discontinua es para el genotipo TG y la línea de puntos es para el genotipo TT.

**Figura 8:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia global, probabilidad frente al tiempo en el estudio (días), por genotipo de rs9554316 (SEC ID N° 1) en el sub-grupo tratado con placebo del ensayo AVITA (pacientes con

cáncer pancreático metastásico tratados con terapia de placebo más gemcitabina-erlotinib (GE)). En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos: 0 es GG (n=43, mediana=222), 1 es TG (n=26, mediana=177) y 2 es TT (n=7, mediana=149). 1 frente a 0 (HR=1,34 [2,22, 0,81], p de la prueba de Wald=0,25) y 2 frente a 0: (HR=1,36 [3,04, 0,60], p de la prueba de Wald=0,46). En la figura, la línea continua es para el genotipo GG, la línea discontinua es para el genotipo TG y la línea de puntos es para el genotipo TT.

**Figura 9:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia libre de progresión, probabilidad frente al tiempo en el estudio (días), por genotipo de rs9554316 (SEC ID N° 1) en el sub-grupo tratado con bevacizumab del ensayo AVITA (pacientes con cáncer pancreático metastásico tratados con terapia de bevacizumab más gemcitabina-erlotinib (GE)). En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos: 0 es GG (n=42, mediana=213), 1 es TG (n=30, mediana=121) y 2 es TT (n=5, mediana=65). 1 frente a 0 (HR=1,86 [3,05, 1,13], p de la prueba de Wald=0,0150) y 2 frente a 0: (HR=4,60 [12,42, 1,70], p de la prueba de Wald=0,0026). En la figura, la línea continua es para el genotipo GG, la línea discontinua es para el genotipo TG y la línea de puntos es para el genotipo TT.

**Figura 10:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia libre de progresión, probabilidad frente al tiempo en el estudio (días), por genotipo de rs9554316 (SEC ID N° 1) en el sub-grupo tratado con placebo del ensayo AVITA (pacientes con cáncer pancreático metastásico tratados con terapia de placebo más gemcitabina-erlotinib (GE)). En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos: 0 es GG (n=43, mediana=122), 1 es TG (n=26, mediana=121) y 2 es TT (n=7, mediana=134). 1 frente a 0 (HR=1,26 [2,06, 0,77], p de la prueba de Wald=0,3700) y 2 frente a 0: (HR=1,00 [2,25, 0,45], p de la prueba de Wald=0,9900). En la figura, la línea continua es para el genotipo GG, la línea discontinua es para el genotipo TG y la línea de puntos es para el genotipo TT.

**Figura 11:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia libre de progresión, probabilidad frente un estudio mes, para la población total del ensayo AVOREN (pacientes con cáncer de células renales tratados con terapia de bevacizumab más interferón alfa (IFN) o terapia de placebo más interferón alfa (IFN)). En la figura, la línea discontinua es para pacientes tratados con placebo más interferón alfa y la línea continua es para pacientes tratados con bevacizumab más interferón alfa.

**Figura 12:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia libre de progresión, probabilidad frente al mes de estudio, para la población de genotipo del ensayo AVOREN (pacientes con cáncer de células renales tratados con terapia de bevacizumab más interferón alfa (IFN) o terapia de placebo más interferón alfa (IFN)). En la figura, la línea discontinua es para pacientes tratados con placebo más interferón alfa y la línea continua es para pacientes tratados con bevacizumab más interferón alfa.

**Figura 13:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia libre de progresión, probabilidad frente al tiempo en el estudio (mes), por genotipo de rs9513070 (SEC ID N° 3) en el sub-grupo tratado con bevacizumab del ensayo AVOREN (pacientes con cáncer de células renales tratados con terapia de bevacizumab más interferón alfa (IFN)). Los genotipos son AA (n=19/17, med=18,53), AG (n=28/28, med=12,78) y GG (n=9/9, med=13,6). AG frente a AA (HR=1,89 [3,50, 1,02], p de la prueba de Wald=0,044) y GG frente a AA: (HR=2,69 [6,29, 1,15], p de la prueba de Wald=0,022). En la figura, la línea continua es para el genotipo AA, la línea discontinua es para el genotipo AG y la línea de puntos es para el genotipo GG.

**Figura 14:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia libre de progresión, probabilidad frente al tiempo en el estudio (mes), por genotipo de rs9513070 (SEC ID N° 3) en el sub-grupo tratado con placebo del ensayo AVOREN (pacientes con cáncer de células renales tratados con terapia de placebo más interferón alfa (IFN)). Los genotipos son AA (n=11/10, med=5,52), AG (n=26/19, med=14,23) y GG (n=8/8, med=3,71). AG frente a AA (HR=0,44 [0,97, 0,21], p de la prueba de Wald=0,04) y GG frente a AA: (HR=1,54 [3,95, 0,60], p de la prueba de Wald=0,37). En la figura, la línea continua es para el genotipo AA, la línea discontinua es para el genotipo AG y la línea de puntos es para el genotipo GG.

**Figura 15:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia libre de progresión, probabilidad frente al tiempo en el estudio (mes), por genotipo de rs9554316 (SEC ID N° 1) en el sub-grupo tratado con bevacizumab del ensayo AVOREN (pacientes con cáncer de células renales tratados con terapia de bevacizumab más interferón alfa (IFN)). Los genotipos son GG (n=36/34, med=16,66), GT (n=18/18, med=10,15) y TT (n=1/1, med=14,52). GT frente a GG (HR=1,96 [3,56, 1,08], p de la prueba de Wald=0,026) y TT frente a GG: (HR=2,15 [16,17, 0,29], p de la prueba de Wald=0,457). En la figura, la línea continua es para el genotipo GG, la línea discontinua es para el genotipo GT y la línea de puntos es para el genotipo TT.

**Figura 16:** Curva de Kaplan-Meier: Supervivencia libre de progresión, probabilidad frente al tiempo en el estudio (mes), por genotipo de rs9554316 (SEC ID N° 1) en el sub-grupo tratado con placebo del ensayo AVOREN (pacientes con cáncer de células renales tratados con terapia de placebo más interferón alfa (IFN)). Los genotipos son GG (n=26/21, med=7,95), GT (n=17/15, med=13,37) y TT (n=2/1, med=8,11). GT frente a GG (HR=0,944 [1,839, 0,485], p de la prueba de Wald=0,866) y TT frente a GG: (HR=0,413 [3,082, 0,055], p de la prueba de Wald=0,389). En la figura, la línea continua es para el genotipo GG, la línea discontinua es para el genotipo GT y la línea de puntos es para el genotipo TT.

Como se ha documentado en los ejemplos ilustrativos adjuntos, los medios y métodos proporcionados en el presente documento se refieren al análisis y evaluación de muestras biológicas de caucásicos.

### Ejemplo 1:

La determinación genética puede influir en la sensibilidad del endotelio a VEGF. Según esto y en el contexto de la presente invención, los presentes inventores exploraron la variabilidad genética en rutas de señalización subyacentes con el fin de descubrir patrones predictivos para el tratamiento anti-angiogénico. En este análisis se evaluó la correlación de variabilidad genética en la ruta de señalización de VEGF con desenlace clínico de pacientes con cáncer pancreático metastásico tratados con gemcitabina-erlotinib (GE) más bevacizumab o placebo en un ensayo de fase III (AVITA).

Estuvo disponible ADN de la línea germinal de 154 de los 607 pacientes, de los que 77 recibieron GE más bevacizumab y 77 GE solo (mediana de la supervivencia global = 7,5 y 6,8 meses); véase el estudio AVITA (BO17706) accesible en <http://www.roche-trials.com/patient/trials/trial11.html>. Se seleccionaron polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) comunes localizados en el factor inducible por hipoxia  $1\alpha$  y  $2\alpha$ , VEGF, sus receptores (VEGFR-1 y -2) y otros genes relevantes usando un enfoque de marcado del SNP ( $f \geq 0,1$  y  $r^2 \leq 0,8$ ). Se genotiparon satisfactoriamente 157 SNP usando espectrometría de masas MALDI-TOF. Los cálculos estimados del riesgo y la supervivencia se calcularon usando análisis de regresión de Cox.

Cuatro SNP en el gen de VEGFR-1 se correlacionaron con supervivencia global y supervivencia libre de progresión en el grupo tratado con bevacizumab. El SNP más significativo, rs9582036, tuvo el valor de  $p \leq 3e-4$  en un modelo de efecto del riesgo alélico. Con respecto a portadores AA, la razón de riesgo fue 2,0 (IC=1,2-3,4;  $p=0,009$ ) y 4,7 (IC=2,1-10,7;  $p=0,0002$ ) para portadores AC y CC, respectivamente. La mediana de la supervivencia global aumentó de 4,8 meses en portadores CC (n=9) a 6,0 y 10,3 meses en portadores AC (n=28) y AA (n=40). Se observó una asociación similar con el criterio de valoración PFS. Después del ajuste para factores de pronóstico iniciales (cifras de neutrófilos, CRP y localización tumoral), el efecto se atenuó pero no se suprimió. No se detectó efecto en el grupo de control. Una prueba para la interacción entre el genotipo de rs9582036 (SEC ID N° 2) y el tratamiento produjo un valor de  $p$  de 0,02. Los 4 SNP se localizaron en la misma región cromosómica que engloba los exones 25 a 30 del gen de VEGFR-1 y que codifican el dominio de tirosina-cinasa de receptor (TK) esencial. Además, se encontró sorprendentemente que no pudo detectarse asociación con el polimorfismo de VEGF -2578C/A previamente informado en este conjunto de datos.

Estos datos del subgrupo proporcionan un sitio genético en el gen de VEGFR-1, en particular, en el dominio TK de VEGFR-1 que se correlaciona con el desenlace clínico en pacientes con cáncer, por ejemplo, en pacientes con cáncer pancreático tratados con un inhibidor de la angiogénesis, como bevacizumab. Por consiguiente, pueden obtenerse valores predictivos usando los parámetros descritos en el presente documento. Estos parámetros, es decir, las variaciones descritas en el presente documento del gen de VEGFR-1 pueden usarse para la evaluación del efecto beneficioso del tratamiento antiangiogénico en sujetos que padecen cáncer. Por consiguiente, la invención como se ha proporcionado en el presente documento se refiere a la provisión de novedosos e inventivos biomarcadores para evaluaciones predictivas, así como de pronóstico.

## PACIENTES Y MÉTODOS

### Muestras

En el ensayo AVITA hubo 607 pacientes elegibles. El protocolo del ensayo fue autorizado por el comité de ética médica en cada sitio y se realizó según la Declaración de Helsinki, las actuales buenas prácticas clínicas de la Agencia estadounidense del medicamento y requisitos éticos y legales locales. Estuvieron disponibles muestras de sangre completa congeladas de 160 de los 607 pacientes (26,4 %), 154 de estos tuvieron un evento de progresión de la enfermedad y para 150 pacientes la enfermedad fue letal. De estos 160 pacientes, 6 fueron de etnia asiática, mientras que los 154 pacientes restantes fueron de origen caucásico. Como los pacientes de origen asiático son genéticamente distintos de los pacientes caucásicos y las frecuencias de SNP pueden diferenciarse entre ambos grupos étnicos, estos 6 pacientes se omitieron de análisis adicionales. Los 154 especímenes de ADN restantes se proporcionaron a los investigadores en un modo no identificado. Todos los pacientes correspondientes proporcionaron consentimiento informado por escrito separado para la prueba de biomarcadores genéticos.

### Evaluaciones

Se evaluaron pacientes como se ha descrito previamente (Van Cutsem et al., J. Clin. Oncol. 27, 2231-7 (2009)). Brevemente, se hicieron evaluaciones de los tumores según las pautas de Criterios de Evaluación de Respuestas en Tumores Sólidos al principio, semanas 8, 16, 24, 32, 40, y cada 12 semanas después hasta la progresión de la enfermedad. Los pacientes se siguieron para supervivencia y posterior tratamiento de la enfermedad hasta la muerte, pérdida del seguimiento o fin del ensayo. Se recogieron semanalmente evaluaciones del estado de rendimiento de Karnofsky (KPS) y el peso corporal. Los acontecimientos adversos se registraron en cada visita usando National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events versión 3.0 (NCICTCAE v3). Se

recogieron muestras de sangre para los análisis de biomarcadores genéticos antes de empezar el tratamiento del ensayo.

### Selección de polimorfismos de un solo nucleótido

- 5 Se seleccionaron los siguientes genes que participaron en la cascada de señalización de VEGF: el ligando de VEGF, los homólogos de VEGF (factor de crecimiento placentario o PIGF, VEGF-B y -C, además de VEGF-D o FIGF), el receptor-2 de VEGF (KDR o VEGFR-2) y el receptor-1 de VEGF (FLT1 o VEGFR-1). Se usaron las
- 10 secuencias genómicas de 5 kb en la dirección 5' del sitio de inicio de la traducción hasta el sitio de poli-A adenilación de 3' de cada gen para seleccionar SNP de la base de datos HapMap (HapMap Data Rel 24/phaseII Nov08, en NCBI B36 assembly, dbSNP b126). Se seleccionaron SNP de marcado usando Tagger (Pe'er, I., et al., Nat. Genet. 38, 663-7 (2006)) como se ha proporcionado en el paquete de software HAPLOVIEW (Barrett, J.C., et al., Bioinformatics. 21, 263-5 (2005)). Solo se consideraron los SNP que se producen comúnmente, es decir, con una
- 15 frecuencia de alelos menor  $f \geq 0,1$  y un umbral de  $r^2$  mínimo  $\geq 0,8$ . En total, se seleccionaron 167 SNP de marcado siguiendo estos criterios. Adicionalmente se seleccionaron 11 SNP localizados en secuencias exónicas y que indujeron cambios de aminoácidos no sinónimos a una frecuencia  $f \geq 0,1$  de la base de datos dbSNP, además de 4 SNP en VEGF (rs699947, rs833061, rs2010963 y rs3025039), 1 SNP en VEGFR-1 (rsTP53\_R-1) y 1 SNP en VEGFR-2 (rs2071559), que previamente se ha informado que afecta la función o expresión de estos genes.
- 20 La localización y posición cromosómica de cada SNP dentro del gen de VEGFR-1 para los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4) se muestra, junto con la variación alélica y el alelo de referencia.

ID de variación	Posición (pb)	Posición con respecto al transcrito	Alelos	Alelo de referencia	Ensayo de genotipado	Frecuencia (N=154)
rs9554320 (SEC ID N° 4)	27784927	Intrón 25	A/C	A	6	0,43
rs9582036 (SEC ID N° 2)	27783408	Intrón 27	C/A	C	3	0,7
rs9554316 (SEC ID N° 1)	27779335	Intrón 28	T/G	T	7	0,25
rs9513070 (SEC ID N° 3)	27777839	Intrón 29	G/A	A	5	0,60

### 25 Genotipado

Se muestreó sangre periférica en tubos Vacutainer de plástico K2EDTA. Después de la centrifugación, se extrajo ADN de la línea germinal de la fracción de células leucocitarias precipitadas según procedimientos convencionales. El genotipado para los SNP se llevó a cabo en el Centro de Investigación Vesalius usando la plataforma Sequenom®

30 iPLEX, como se ha descrito previamente por el fabricante. Todos los SNP que dejaron de proporcionar genotipos robustos en una primera ronda de genotipado se volvieron a diseñar usando un conjunto diferente de cebadores de PCR y se probaron de nuevo. En caso de fallo repetitivo en el segundo diseño, estos SNP se consideraron fallidos. De los 184 SNP seleccionados, fallaron 27 SNP (14,7%) y 157 (85,3%) se genotiparon satisfactoriamente. La tasa de éxito de genotipos global fue del 98,5 %. Al nivel de muestra individual, todas las muestras se genotiparon con una alta tasa de éxito (es decir, <5 % de las muestras tuvieron una tasa de éxito < 95 %, mientras que >70 % de las

35 muestras tuvieron una tasa de éxito >99 %). No se excluyeron muestras del análisis y no se observaron desviaciones significativas de Hardy-Weinberg.

Los cebadores de amplificación diseñados para los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4) se muestran en la Figura 2. Para rs9554316 (SEC ID N° 1) se usaron ACGTTGGATGATCGTAAAGACATCATTTCG (SEC ID N° 25) y ACGTTGGATGTGCTGGAGACCATGACCAAG (SEC ID N° 26). Para SNP rs9582036 (SEC ID N° 2) se usaron ACGTTGGATGACTGTGCCAGCAACAATAG (SEC ID N° 20) y ACGTTGGATGGCATAATAGCACTTTACTCC (SEC ID N° 21). Para rs9513070 (SEC ID N° 3) se usaron ACGTTGGATGGCAAGCTTGCCCAACTTGTG (SEC ID N° 35) y ACGTTGGATGGTTTGTGTTGGGCTGCACTC (SEC ID N° 36). Para rs9554320 (SEC ID N° 4) se usaron ACGTTGGATGGTGGGAGGCCAGTTTGTAAAC (SEC ID N° 30) y ACGTTGGATGAGCAAGTTTCTGTGTGTAG (SEC ID N° 31).

Los cebadores sin extender (sondas) diseñados para los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4) también se muestran en la Figura 2. Para rs9554316 (SEC ID N° 1) se usó AAGACATCATTTCGATTTTTTTTCT (SEC ID N° 28). Para los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2) se usó AGCAACAATAGCCTTCTT (SEC ID N° 22). Para rs9513070 (SEC ID N° 3) se usó CGTGTGGCCACGGGCT (SEC ID N° 37). Para rs9554320 (SEC ID N° 4) se usó ACAGCGGCTTTCAGTGC (SEC ID N° 32).

### 55 Estadística

5 Cuando se usó el modelo alélico, los pacientes homocigóticos con el alelo menor se codificaron como 2, los pacientes heterocigóticos se codificaron como 1 y los pacientes homocigóticos para el alelo principal se codificaron como 0. Se modeló un modelo separado independiente para cada SNP.

10 Se usó el modelo de regresión de riesgo proporcional de Cox para evaluar el efecto de diferentes genotipos sobre la supervivencia global y supervivencia libre de progresión.

15 En el modelo de Cox se usó el tiempo desde la entrada en el estudio hasta la muerte o censura como criterio de valoración de supervivencia global. Se usó el tiempo desde la entrada en el estudio hasta la progresión de la enfermedad o muerte y el criterio de valoración de supervivencia de la progresión.

20 Para la supervivencia global, la hipótesis nula estableció que el genotipo no tiene efecto sobre la supervivencia global. Se usó la prueba de relación de probabilidad para calcular un valor de p correspondiente a esta hipótesis para cada SNP probado.

25 Para la supervivencia libre de progresión, la hipótesis nula estableció que el genotipo no tiene efecto sobre el riesgo de progresión o supervivencia. Se usó la prueba de relación de probabilidad para calcular un valor de p correspondiente a esta hipótesis para cada SNP probado.

30 Los análisis primarios se realizaron en el sub-grupo de pacientes en el brazo de bevacizumab del ensayo. Se realizaron análisis adicionales en el sub-grupo de pacientes en el brazo de placebo del ensayo, y se evaluó el tratamiento por interacción de genotipos en el modelo que incluye ambos.

35 En el análisis primario, solo los genotipos se incluyeron como predictores en el modelo. Con el fin de caracterizar y confirmar adicionalmente los resultados primarios, se realizaron algunos análisis complementarios con ajuste para factores pronósticos clínicos secundarios. Esto se logró ejecutando modelos de regresión adicionales que toman este factor pronóstico como covariables, además del efecto del genotipo.

40 Para explicar las pruebas múltiples, el valor de p se consideró significativo si está por debajo de 0,0005 (5.e-4).

45 Se calcularon curvas de supervivencia y la mediana del tiempo de supervivencia usando cálculos estimados de Kaplan-Meier estándar.

**35 Características clínicas de la población de pacientes genéticos**

40 Como el ADN de la línea germinal se obtuvo de solo el 26,4 % de los participantes del estudio (160 de los 607 pacientes), primero se evaluó si este subgrupo presentó características de enfermedad similares a la cohorte de pacientes completa. Todas las características demográficas iniciales de la subpoblación genética fueron similares a la población del estudio total. Hubo 77 pacientes en el brazo de placebo y 77 pacientes en el brazo de bevacizumab. En general, el subgrupo disponible para el análisis genético se comportó muy similar, presentando un distribución de edad y sexo comparable, estado de tabaquismo, KPS, escala analógica visual para dolor, supervivencia libre de progresión y supervivencia global. La mediana de la supervivencia global en el sub-grupo fue 7,2 y 6,1 meses en el brazo de bevacizumab y de placebo, la mediana de la supervivencia libre de progresión fue 4,6 y 3,6 meses, respectivamente.

Las características demográficas iniciales se equilibraron entre los brazos de tratamiento.

	Medicación del primer ensayo				Todos	
	Bevacizumab		Placebo			
	N	%	N	%	N	%
<b>Sexo</b>						
<b>FEMENINO</b>	26	37,14	25	37,31	51	37,23
<b>MASCULINO</b>	44	62,86	42	62,69	86	62,77
<b>Categoría de edad (años)</b>						
<b>&lt;65</b>	41	58,57	44	65,67	85	62,04
<b>&gt;=65</b>	29	41,43	23	34,33	52	37,96
<b>Categoría de KPS (%) en el nivel inicial</b>						
<b>&lt;80%</b>	8	11,43	6	8,96	14	10,22
<b>&gt;=80%</b>	62	88,57	61	91,04	123	89,78
<b>Categoría de VAS en el nivel inicial</b>						

<20	47	67,14	50	74,63	97	70,80
>=20	23	32,86	17	25,37	40	29,20
KPS: Estado de rendimiento de Karnofsky						
VAS: Escala analógica visual de dolor en el nivel inicial						

Los SNP en VEGFR-1 se correlacionaron con la supervivencia global en el brazo de tratamiento.

**Análisis de supervivencia global**

5

**Análisis en el sub-grupo de pacientes tratados con bevacizumab**

Supervivencia global por genotipo - Sin covariables - Subconjunto: Brazo de bev

	SNP	gen	HR	IC_95	valor de p	estrella	valor de p ajust.	N/Neventos
152	rs9582036	VEGFR1	2,113	(1,45,3,07)	1,4e-04	***	2,2e-02	77/68
150	rs9554316	VEGFR1	2,119	(1,42,3,17)	4,2e-04	***	6,6e-02	77/68
80	rs3025035	VEGF	0,327	(0,14,0,77)	1,7e-03	**	2,6e-01	74/65
146	rs9513070	VEGFR1	1,67	(1,14,2,44)	8,1e-03	**	1,0e+00	74/65
151	rs9554320	VEGFR1	1,543	(1,11,2,14)	9,7e-03	**	1,0e+00	75/67

**Análisis en el sub-grupo de pacientes tratados con placebo**

10

Supervivencia global por genotipo - Sin covariables - Subconjunto: Brazo de placebo

	SNP	gen	HR	IC_95	valor de p	estrella
151	rs9554320	VEGFR1	1,377	(1,02, 1,85)	3,6e-02	*
149	rs9554311	VEGFR1	1,541	(1,01, 2,34)	4,3e-02	*
134	rs7982639	VEGFR1	1,554	(1, 2,42)	5,5e-02	
128	rs7673274	VEGFR2	0,721	(0,51, 1,02)	5,8e-02	
29	rs1485766	VEGF-C	0,707	(0,49, 1,02)	6,0e-02	

No se detectaron genotipos que se asociaran a supervivencia global en el sub-grupo de placebo.

**Análisis del tratamiento por interacción de genotipos**

15

Supervivencia global por genotipo - Sin covariables - Prueba de interacción - Subconjunto: NULO

	SNP	HR_SNP	HR_trat	HR_inter	valor p_inter	N/Neventos	estrella	gen
150	rs9554316	1,189	0,587	1,814	2,3e-02	153/143	*	VEGFR1
152	rs9582036	1,302	0,635	1,632	4,1e-02	154/143	*	VEGFR1
19	rs12505758	0,73	0,69	1,845	9,1e-02	154/143		VEGFR2
93	rs3936415	1,301	1,016	0,668	1,3e-01	154/143		VEGFR1

Se realizó un análisis de regresión de Cox para cada uno de los SNP para evaluar un efecto sobre la supervivencia global en el brazo de tratamiento. Para corregir para pruebas múltiples, el nivel de significancia se fijó a  $p < 0,0005$ . Dos SNP predijeron un mediana de la supervivencia global favorable ( $p = 0,00014$  y  $p = 0,00042$  para rs9582036 (SEC ID N° 2) y rs9554316 (SEC ID N° 1), respectivamente). Ambos SNP se localizaron en VEGFR-1 y demostraron una supervivencia global superior con un efecto de riesgo aditivo: con respecto a los portadores AA de rs9582036 (SEC ID N° 2), la razón de riesgo (HR) fue 2,0 (IC=1,2-3,4;  $p = 0,009$ ) y 4,7 (IC=2,1-10,7;  $p = 0,0002$ ) para los portadores AC y CC, respectivamente. La mediana de la supervivencia global aumentó de 4,8 meses en portadores CC a 6,0 y 10,3 meses en portadores AC y AA. Asimismo, la razón de riesgo para portadores TG y GG en el SNP rs9554316 (SEC ID N° 1) fue 2,07 (IC=1,25-3,43;  $p = 0,0047$ ) y 4,69 (IC=1,75-12,95;  $p = 0,0021$ ). Curiosamente, otros dos SNP en el gen de VEGFR-1, es decir, rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4), también se correlacionaron con la mediana de la supervivencia global mejorada. Estos 2 SNP tuvieron valores de p muy bajos ( $p = 0,0081$  y  $p = 0,0097$ , respectivamente), pero no alcanzaron el umbral del valor de p ajustado por multiplicidad.

20

25

30

35

Una regresión de Cox para rs9582036 (SEC ID N° 2) y rs9554316 (SEC ID N° 1) en el brazo de placebo dejó de revelar una correlación significativa con supervivencia global. De hecho, con respecto a portadores AA de rs9582036 (SEC ID N° 2), la razón de riesgo fue 1,62 (IC=0,97-2,68;  $p = 0,063$ ) y 1,53 (IC=0,75-3,12;  $p = 0,24$ ) para portadores AC y CC de rs9582036 (SEC ID N° 2), respectivamente. Asimismo, la razón de riesgo para portadores TG y GG de rs9554316 (SEC ID N°: 1) fue 1,34 (IC=0,81-2,22;  $p = 0,25$ ) y 1,36 (IC=0,60-3,04;  $p = 0,46$ ) con respecto a portadores TT de rs9554316. Por consiguiente, un análisis de regresión que evalúa la interacción entre genotipos y tratamiento fue significativo ( $p = 0,023$  para rs9582036 (SEC ID N° 2) y  $p = 0,041$  para rs9554316 (SEC ID N° 1)), que indica que rs9582036 (SEC ID N° 2) y rs9554316 (SEC ID N° 1) fueron marcadores predictivos, en vez de marcadores de pronóstico.

**Análisis en el sub-grupo de pacientes tratados con bevacizumab, ajustando para factores de pronóstico secundarios: los SNP en VEGFR-1 son marcadores predictivos independientes para el tratamiento**

Supervivencia global por genotipo - Con covariables - Subconjunto: Brazo de bev								
	SNP	gen	HR	IC_95	valor de p	estrella	valor de p ajust.	N/Neventos
152	rs9582036	VEGFR1	1,921	(1,27, 2,9)	2,0e-03	**	3,0e-01	71/63
150	rs9554316	VEGFR1	1,826	(1,17, 2,86)	8,9e-03	**	1,0e+00	71/63
44	rs1830792	VEGFR1	1,723	(1,14, 2,61)	1,6e-02	*	1,0e+00	69/61
80	rs3025035	VEGF	0,392	(0,16, 0,95)	1,7e-02	*	1,0e+00	68/60
123	rs7324547	VEGFR1	1,711	(1,11, 2,64)	2,1e-02	*	1,0e+00	71/63
136	rs7995976	VEGFR1	1,958	(1,13, 3,4)	2,2e-02	*	1,0e+00	69/61

5 Para evaluar si rs9582036 y rs9554316 se correlacionaron con supervivencia global independientemente de otras co-variables conocidas por afectar la respuesta al tratamiento, se realizó un modelo de regresión de Cox mientras que se ajustaba para las cifras de neutrófilos, niveles de CRP y localización tumoral. Solo los pacientes con niveles de albúmina normales se consideraron en este análisis.

10 Aunque se atenuó la correlación con la supervivencia global, no se suprimió y siguió significativa para ambos SNP ( $p=0,002$  y  $p=0,0089$ ).

15 rs9582036 (SEC ID N° 2) tiene el menor valor de p y un valor de p muy por debajo de 0,05. rs9554316 (SEC ID N° 1) también tiene un valor de p inferior a 0,05. Esto sugiere adicionalmente que rs9582036 (SEC ID N° 2) y rs9554316 (SEC ID N° 1) están asociados a supervivencia global en pacientes tratados con bevacizumab independientemente de otros factores pronósticos.

**Supervivencia libre de progresión****20 Análisis en el sub-grupo de pacientes tratados con bevacizumab**

Supervivencia libre de progresión por genotipo - Sin covariables - Subconjunto: Brazo de bev								
	SNP	gen	HR	IC_95	valor de p	estrella	valor de p ajust.	N/Neventos
152	rs9582036	VEGFR1	1,889	(1,32, 2,71)	8,1e-04	***	1,3e-01	77/72
150	rs9554316	VEGFR1	1,989	(1,33, 2,98)	1,2e-03	**	1,9e-01	77/72
151	rs9554320	VEGFR1	1,442	(1,05, 1,99)	2,7e-02	*	1,0e+00	75/71
146	rs9513070	VEGFR1	1,503	(1,05, 2,16)	2,8e-02	*	1,0e+00	74/69
44	rs1830792	VEGFR1	1,537	(1,05, 2,25)	3,6e-02	*	1,0e+00	75/70
81	rs3025039	VEGF	1,797	(1,06, 3,05)	3,9e-02	*	1,0e+00	77/72

25 Los presentes inventores también analizaron si rs9582036 (SEC ID N° 2) y rs9554316 (SEC ID N° 1) se correlacionaron con la supervivencia libre de progresión. rs9582036 (SEC ID N° 2) y rs9554316 (SEC ID N° 1) tienen ambos un valor de p muy bajo cuando se mira la asociación con la supervivencia libre de progresión en el grupo tratado con bevacizumab. Esto proporciona pruebas de que no solo están asociados a supervivencia global, sino también al riesgo de progresión en pacientes tratados con bevacizumab. En el brazo de bevacizumab, hubo una correlación clara y significativa con la supervivencia libre de progresión. Con respecto a los portadores AA, la razón de riesgo para portadores AC y CC de rs9582036 (SEC ID N° 2) fue 1,86 (IC=1,11-3,10;  $p=0,018$ ) y 3,63 (IC=1,64-8,05;  $p=0,0015$ ). Tal efecto no se observó en el brazo de placebo. Se observó una situación similar para el SNP rs9554316 (SEC ID N° 1), que muestra una correlación significativa con PFS en el brazo de bevacizumab, pero no el brazo de placebo.

**SNP de VEGFR-1 definen un sitio en el dominio de tirosina-cinasa de VEGFR-1**

35 Como dos SNP en VEGFR-1 estuvieron significativamente asociados al desenlace relacionado con bevacizumab y otros dos SNP en VEGFR-1 también tendieron a asociarse al desenlace, la localización exacta de estos SNP en el gen de VEGFR-1, además de los haplotipos que representan como SNP de marca, se estudiaron en más detalle. Curiosamente, los 4 SNP se localizaron próximos entre sí (es decir, en los intrones 25, 27, 28 y 29) respectivamente para los SNP rs9554320 (SEC ID N° 4), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9554316 (SEC ID N° 1) y rs9513070 (SEC ID N° 3) y representaron 4 haplotipos consecutivos en el gen de VEGFR-1. Como consecuencia de su localización próxima, estos 4 SNP también estuvieron en desequilibrio de enlace significativo y no se produjeron independientemente entre sí.

45 Cuando se considera el valor de p de cada SNP como una medida de su asociación con la supervivencia global en el brazo de bevacizumab, y representando estos valores en función de su localización en el gen de VEGFR-1, se observó una sorprendente señal de asociación que engloba los exones 25 a 30. Tal señal de asociación no se observó en el grupo de placebo. El exón 25 a 30 del gen de VEGFR-1 codifica el residuo de aminoácido 1029 a 1338, que son parte del dominio de tirosina-cinasa (TK) de receptor en VEGFR-1 que contienen dos sitios de autofosforilación importantes en el gen de VEGFR-1.

50

**Ejemplo 2**

En el contexto de la invención se exploró la variabilidad genética en rutas de señalización subyacentes con el fin de descubrir patrones predictivos para el tratamiento anti-angiogénico. En este análisis se evaluó la correlación de la variabilidad genética en la ruta de señalización de VEGF con desenlaces clínicos de pacientes con cáncer de células renales metastásico (mRCC) tratados con interferón alfa (IFN) más bevacizumab o placebo en un ensayo de fase III (AVOREN); véase el número de estudio BO17705E; Escudier et al., Lancet 370: 2103-2111 (2007). Los pacientes se aleatorizaron para recibir bevacizumab (Avastin®) 10 mg/kg como infusión IV cada 2 semanas más interferón alfa (IFN) empezando a 9 MUI tres veces a la semana (n=327) o placebo más IFN (n=322). Los pacientes se trataron con bevacizumab (Avastin®) o placebo hasta la progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable. Se suspendió el IFN después de un máximo de 52 semanas, pero continuaron bevacizumab (Avastin®) o placebo hasta después de la progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable.

**Muestras y selección de polimorfismos de un solo nucleótido**

Estuvo disponible ADN de la línea germinal de 110 de los 649 pacientes, de los cuales 51 recibieron interferón alfa más placebo y 59 de los cuales recibieron interferón alfa más bevacizumab; número de estudio BO17705E; Escudier et al., Lancet 370: 2103-2111 (2007). Como en el Ejemplo 1, no se analizó la muestra de 1 paciente de etnia asiática. Se evaluaron inicialmente cuatro SNP identificados en el Ejemplo 1 más un SNP de VEGFA adicional (rs699947).

**Genotipado**

Como en el Ejemplo 1, se muestreó sangre periférica en tubos Vacutainer de plástico K2EDTA. Después de la centrifugación, se extrajo ADN de la línea germinal de la fracción de células leucocitarias precipitadas según procedimientos convencionales. El genotipado para los SNP seleccionados se llevó a cabo en el Centro de Investigación Vesalius usando la plataforma Sequenom® iPLEX, como se ha descrito previamente por el fabricante. Todos los SNP que dejaron de proporcionar genotipos robustos en una primera ronda de genotipado se volvieron a diseñar usando un conjunto diferente de cebadores de PCR y se probaron de nuevo. En caso de fallo repetitivo en el segundo diseño, estos SNP se consideraron fallidos. De los 184 SNP seleccionados, fallaron 27 SNP (14,7%) y 157 (85,3%) se genotiparon satisfactoriamente. La tasa de éxito de genotipos global fue del 98,5 %. Al nivel de muestra individual, todas las muestras se genotiparon con una alta tasa de éxito (es decir, <5 % de las muestras tuvieron una tasa de éxito <95 %, mientras que >70 % de las muestras tuvieron una tasa de éxito >99 %). No se excluyeron muestras del análisis y no se observaron desviaciones significativas de Hardy-Weinberg.

Los cebadores de amplificación diseñados para los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4) se muestran en la Figura 2. Para rs9554316 (SEC ID N° 1) se usaron ACGTTGGATGATCGTAAAGACATCATTCG (SEC ID N° 25) y ACGTTGGATGTGCTGGAGACCATGACCAAG (SEC ID N° 26). Para SNP rs9582036 (SEC ID N° 2) se usaron ACGTTGGATGACTGTGCCAGCAACAATAG (SEC ID N° 20) y ACGTTGGATGGCATAATAGCACTTTACTCC (SEC ID N° 21). Para rs9513070 (SEC ID N° 3) se usaron ACGTTGGATGGCAAGCTTGCCCAACTTGTG (SEC ID N° 35) y ACGTTGGATGGTTTGTGTTGGGCTGCACTC (SEC ID N° 36). Para rs9554320 (SEC ID N° 4) se usaron ACGTTGGATGGTGGGAGGCCAGTTTGTAAAC (SEC ID N° 30) y ACGTTGGATGAGCAAGTTCCTGTGTGTAG (SEC ID N° 31).

Los cebadores sin extender (sondas) diseñados para los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9513070 (SEC ID N° 3) y rs9554320 (SEC ID N° 4) también se muestran en la Figura 2. Para rs9554316 (SEC ID N° 1) se usó AAGACATCATTCGATTTTTTTTCT (SEC ID N° 28). Para los SNP rs9582036 (SEC ID N° 2) se usó AGCAACAATAGCCTTCTT (SEC ID N° 22). Para rs9513070 (SEC ID N° 3) se usó CGTGTGGCCACGGGCT (SEC ID N° 37). Para rs9554320 (SEC ID N° 4) se usó ACAGCGGCTTGCAGTGC (SEC ID N° 32).

**Estadística**

Cuando se usó el modelo alélico, los pacientes homocigóticos con el alelo menor se codificaron como 2, los pacientes heterocigóticos se codificaron como 1 y los pacientes homocigóticos para el alelo principal alelo se codificaron como 0. Se modeló un modelo separado independiente para cada SNP.

Se usó el modelo de regresión de riesgo proporcional de Cox para evaluar el efecto de diferentes genotipos sobre la supervivencia libre de progresión.

En el modelo de Cox se usó el tiempo desde la entrada en el estudio hasta la progresión de la enfermedad o se usó la muerte como criterio de valoración de la supervivencia libre de progresión.

Para la supervivencia libre de progresión, la hipótesis nula estableció que el genotipo no tiene efecto sobre el riesgo de progresión o supervivencia. Se usó la prueba de relación de probabilidad para calcular un valor de p correspondiente a esta hipótesis para cada SNP probado.

5 Los análisis primarios se realizaron en el sub-grupo de pacientes en el brazo de bevacizumab del ensayo. Se realizaron análisis adicionales en el sub-grupo de pacientes en el brazo de placebo del ensayo, y se evaluó el tratamiento por interacción de genotipos en el modelo que incluye ambos.

10 El valor de p inferior a 0,05 se consideró estadísticamente significativo. No fue necesaria corrección para múltiples pruebas en un análisis de confirmación de los hallazgos del Ejemplo 1.

Se calcularon curvas de supervivencia y la mediana del tiempo de supervivencia usando cálculos estimados de Kaplan-Meier estándar.

15 **Características clínicas de la población de pacientes genéticos**

Todas las características demográficas iniciales de la subpoblación genética fueron similares a la población de estudio total.

	Placebo + IFN N=322	Placebo + IFN (población de genotipo) N=51	Bevacizumab + IFN N=327	Bevacizumab + IFN (población de genotipo) N=59
<b>Sexo</b>				
Femenino	87 (27%)	13 (25%)	105(32%)	17 (29%)
Masculino	235 (73%)	38 (75%)	222 (68%)	42 (71%)
n	322	51	327	59
<b>Edad en años</b>				
Media	59,4	60,1	60,1	59,4
DE	10,89	10,74	10,12	10,32
EEM	0,61	1,50	0,56	1,34
Mediana	60,0	61,0	61,0	59,0
Mín-Máx	18-81	38-80	30-82	36-82
n	322	51	327	59
<b>Peso en kg</b>				
Media	77,52	76,86	75,99	76,36
DE	14,797	13,523	15,033	13,954
EEM	0,828	1,894	0,831	1,817
Mediana	76,00	76,90	75,00	78,00
Mín-Máx	42,0-121,0	46,5-118,0	40,0-115,0	54,0-109,0
n	319	51	327	59
<b>Altura en cm</b>				
Media	169,9	170,2	169,8	171,5
DE	8,84	8,82	9,07	9,24
EEM	0,50	1,25	0,50	1,20
Mediana	170,5	171,0	170,0	173,0
Mín-Máx	147-198	152-191	146-194	178,190
n	314	50	325	59
<b>Área superficial del cuerpo (m<sup>2</sup>)</b>				
Media	1,89	1,88	1,87	1,92
DE	0,199	0,196	0,207	0,198
EEM	0,011	0,028	0,011	0,026
Mediana	1,87	1,88	1,86	1,91
Mín-Máx	1,4-2,5	1,4-2,5	1,3-2,4	1,5-2,3
n	312	50	325	59
<b>Categoría de edad (años)</b>				
< 65	204 (63%)	30 (59%)	206 (63%)	37 (63%)
> = 65	118 (37%)	21 (41%)	121 (37%)	22 (37%)
n	322	51	327	59

Raza				
Negra	1 (<1%)	-	2 (<1%)	-
Otra	1 (<1%)	-	2 (<1%)	-
Caucásica/blanca	312 (97%)	51 (100%)	312 (95%)	58 (98 %)
Asiática	8 (2%)	-	11 (3%)	1 (2%)
n	322	51	327	59
Estado de tabaquismo en el cribado				
Nunca fumó	148 (46%)	22 (43%)	154 (47%)	30 (51%)
Antiguo fumador	129 (40%)	20 (39%)	126 (39%)	23 (39%)
Actual fumador	43 (13%)	9 (18%)	45 (14%)	6 (10%)
n	320	51	325	59

**Resumen de supervivencia libre de progresión**

Las curvas de Kaplan-Meier de supervivencia libre de progresión cruzan al mismo tiempo la población total y la población de genotipos (Figuras 11 y 12). Pero la población de genotipos tuvo un mejor desenlace clínico total que la población total (véase la siguiente tabla, tiempo hasta el acontecimiento).

5

	Placebo + IFN N=322	Bevacizumab + IFN N=327	Placebo + IFN (población de genotipo) N=51	Bevacizumab + IFN (población de genotipo) N=59
Pacientes con acontecimientos	298 (92,5 %)	301 (92,0 %)	42 (82,4 %)	56 (94,9 %)
Pacientes sin acontecimientos	24 (7,5 %)	26 (8,0 %)	9 (17,6 %)	3 (5,1 %)
Tiempo hasta el acontecimiento (meses)				
Mediana #	5,5	10,2	8,7	15,5
IC del 95 % para la mediana #	[4,2; 5,7]	[7,7; 11,1]	[7,2; 14,2]	[13,5; 18,4]
Centiles 25 y 75	2,0; 10,4	3,7; 16,6	4,0; 20,1	9,4; 21,7
Intervalo	0,5 a 45,8	0,4 a 44,1	1,8 a 41,1	1,4 a 41,3
Valor de p (prueba del orden logarítmico)	0,0004		0,7345	
Valor de p (prueba de Wilcoxon)	< 0,0001		0,0561	
Razón de riesgo	0,75		0,93	
IC del 95 %	[0,64; 0,88]		[0,62; 1,40]	

Los SNP en VEGFR-1 se correlacionaron con supervivencia libre de progresión en el brazo de tratamiento de bevacizumab.

10

*Análisis en el grupo tratado con placebo (supervivencia libre de progresión, sin covariables, S\_BEV=0)*

SNP	gen	HR	IC_95	valor de p	estrella	holm_valor de p	N/Neventos	Frec. gen.
1	rs699947	VEGF	0,632 (0,4, 1)	4,70e-02	*	2,35e-01	45/37	14/22/9
5	rs9582036	VEGFR1	0,768 (0,5, 1,19)	2,25e-01		8,99e-01	45/37	21/17/7
3	rs9554316	VEGFR1	0,826 (0,47, 1,44)	4,93e-01		1,00e+00	45/37	26/17/2
2	rs9513070	VEGFR1	1,109 (0,59, 2,08)	7,48e-01		1,00e+00	45/37	11/26/8
4	rs9554320	VEGFR1	0,977 (0,64, 1,49)	9,14e-01		1,00e+00	45/37	14/21/10

No se detectaron genotipos que se asociaran a supervivencia libre de progresión en los pacientes tratados con placebo.

15

*Análisis en el grupo tratado con bevacizumab (supervivencia libre de progresión, sin covariables, S\_BEV=1)*

SNP	gen	HR	IC_95	valor de p	estrella	holm_valor de p	N/Neventos	Frec. gen.
-----	-----	----	-------	------------	----------	-----------------	------------	------------

2	rs9513070	VEGFR1	1,679	(1,12, 2,51)	1,18e-02 *	5,92e-02	56/54	19/28/9
3	rs9554316	VEGFR1	1,812	(1,08, 3,05)	3,26e-02 *	1,30e-01	55/53	36/18/1
5	rs9562036	VEGFR1	1,262	(0,65, 1,88)	2,63e-01	7,90e-01	56/54	30/20/6
1	rs699947	VEGF	1,178	(0,81, 1,71)	3,92e-01	7,90e-01	55/53	19/24/12
4	rs9554320	VEGFR1	1,115	(0,76, 1,63)	5,76e-01	7,90e-01	52/50	20/22/10

Dos SNP, rs9513070 (SEC ID N°: 3) y rs9554316 (SEC ID N°:1), en el gen de VEGFR-1 se correlacionaron con supervivencia libre de progresión en el grupo tratado con bevacizumab solo (véanse las Figuras 13 a 16). Los portadores AA de rs9513070 (SEC ID N°: 3) mostraron elevada supervivencia libre de progresión en comparación con portadores AG y GG en el grupo tratado con bevacizumab (Figura 13). Los portadores GG de rs9554316 (SEC ID N°:1) mostraron elevada supervivencia libre de progresión en comparación con los portadores GT y TT en el grupo tratado con bevacizumab solo (Figura 15).

LISTADO DE SECUENCIAS

10

<110> F. Hoffmann - La Roche AG Life Science Research Partners vzw VIB vzw

<120> Sensibilidad a inhibidores de la angiogénesis

15

<130> R2351 PCT S3

<150> EP 09 16 7184.2

<151> 04-08-2009

20

<160> 71

<170> PatentIn versión 3.3

25

<210> 1

<211> 101

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

30

<400> 1

**atagacacaa attctaagaa atcgtaaaga catcattcga ttttttttct kgaactcaat 60**

**ggaattctca gccccagcc cttggtcattg gtctccagca a 101**

35

<210> 2

<211> 101

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<400> 2

**tgctgcgatt acaggcacga gccactgtgc ccagcaacaa tagccttctt mcaaaatgta 60**

40

**tactaaagta tttaggagta aagtgcattt atgccttaag c 101**

45

<210> 3

<211> 101

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<400> 3

ES 2 536 195 T3

**ttgcttttta tactataatg caagcttgcc caacttgtgg cccaegggct rcatgaatcc 60**  
**caggatggct ttgagtgcag cccaacacaa actcgtaaac t 101**

5 <210> 4  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 4

**tttccggggc tgtgagcaag gttcctgtgt gtagctgatc attctcccc mgcaactgcaa 60**  
**agccgctgtt acaaactggc ctcccaccac tcaaggcaca c 101**

10 <210> 5  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 5

**agtgcaaaac atccacaaag ccccaggaaa aaaagtgtcc aagacaggca rgcaagtgca 60**  
**atltgcacag tggagaaagc ctcacatgga caccogaaaa g 101**

20 <210> 6  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 6

**acattactgg cgttggtgtt tggagggat ctgaagaagg ggtctatcgg rgtgcactag 60**  
**gtaccttaac ttcacgactt acatcaaaca tggagggtggc a 101**

30 <210> 7  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 7

**ccccttagcc cctcaacccc acatcacagg gctttagaga gaagagctgg ragacctctt 60**  
**gtttgccagg ctatactggt tagcttctcc cattgtgatt g 101**

40 <210> 8  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 8

45 <210> 9  
 <211> 101  
 <212> ADN

50 <210> 9  
 <211> 101  
 <212> ADN

ES 2 536 195 T3

<213> *Homo sapiens*  
 <400> 9

**ctcccagagg gacctactct ggtccgttgt gaaatcagag aatgccagac rtaggagaga 60**  
**ctggaggcat catctcgtct gagtgccca tggcacagga g 101**

5

<210> 10  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 10

**gaggacacca cgcaccagtg acaagaacag gtcccctccc gcttccctac rctcaggcag 60**  
**agctccccag cctcgtgtt gggcctgagt ctctgtcca c 101**

15

<210> 11  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

20

<400> 11

**tcttcaaagg ttttgattct ttccaggctc atgaacttga aagcatttac rtatctaag 60**  
**aagaacacaga aagaattatc aagacaggaa aaggcatcca g 101**

25

<210> 12  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

30

<400> 12

**ttacttgtgc tgggagatgg cggttgctgg ggaaaaaacc tgagaaacc kagttcatat 60**  
**cctccctctg acacttctta gaggtatgcc tttagggggc g 101**

35

<210> 13  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

40

<400> 13

**aggaagtgca tgatcttttc tgacctggcc tccaagccat gcagtgtccc ktctttcaca 60**  
**ttgcattgat cacaagtgag tcttaaagct agctctgatt c 101**

45

<210> 14  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 14

**ottcaagtca tttgcctgaa tgaatgattt tattccttatg ttatgaaacc sataatactt 60**  
**tttaaaggat ttcagattct tgaagacaaa atgcctcttg c 101**

5 <210> 15  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 15

**gcagtgtatg agggttccaa tttctccata tctctgccac actgacttca yctagctatc 60**  
**ctcatggggcg taaagtggta tcttatggta atttctttcc c 101**

10  
 <210> 16  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 16

**gtggctgtct gcaggacat gctctgcatt cagagagaac actggggaga ygacacgttt 60**  
**ctcttttttgt gaaacatgct cccgtagtga ttactaaatg a 101**

20  
 <210> 17  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 17

**agggaggaca tgggaggtca tccacaaaag tgaaaaataa cactatgtct raaacaagc 60**  
**aggaagaga agccagtacg agccagcggg gagatgctag g 101**

30  
 <210> 18  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 18

**agaacactgg ggagacgaca cgtttctctt tttgtgaaac atgctcccgt wgtgattact 60**  
**aatgacatt cctcccagag catgcaacac gggcagagct a 101**

40  
 <210> 19  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 19

**agaaggacag aaatacgttt gaggagggga gaggcaaaag ccagcctccc ygcctcttaa 60**  
**ccagaccctt gcgagtagag cggcttcttg ttactgtcac a 101**

45  
 <210> 20  
 <211> 30

ES 2 536 195 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 5 <221> fuente  
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador sintetizado artificialmente para PCR"  
  
 <400> 20  
 10 acgttgatg actgtgccca gcaacaatag 30  
  
 <210> 21  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 15  
  
 <220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador sintetizado artificialmente para PCR"  
 20  
  
 <400> 21  
 acgttgatg gcataatagc actttactcc 30  
  
 <210> 22  
 <211> 18  
 25 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <221> fuente  
 30 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: una sonda sintetizada artificialmente"  
  
 <400> 22  
 agcaacaata gccttctt 18  
 35  
  
 <210> 23  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
  
 <220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota = Descripción de la secuencia artificial: una sonda sintetizada artificialmente o un producto de  
 extensión de PCR"  
 45  
  
 <400> 23  
 agcaacaata gccttctt 19  
  
 <210> 24  
 <211> 19  
 50 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <221> fuente  
 55 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: una sonda sintetizada artificialmente o un producto de  
 extensión de PCR"  
  
 <400> 24  
 60 agcaacaata gccttctta 19  
  
 <210> 25  
 <211> 29  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 65  
  
 <220>

# ES 2 536 195 T3

<221> fuente  
<223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador sintetizado artificialmente para PCR"

5 <400> 25  
atcgtaaaga catcattcg 29

<210> 26  
<211> 30  
<212> ADN  
10 <213> Secuencia artificial

<220>  
<221> fuente  
<223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador sintetizado artificialmente para PCR"

15 <400> 26  
acgttgatg tgctggagac catgaccaag 30

<210> 27  
<211> 24  
<212> ADN  
20 <213> Secuencia artificial

<220>  
<221> fuente  
<223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: una sonda sintetizada artificialmente"

25 <400> 27  
aagacatcat tcgattttt ttct 24

30 <210> 28  
<211> 25  
<212> ADN  
35 <213> Secuencia artificial

<220>  
<221> fuente  
<223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: una sonda sintetizada artificialmente o un producto de extensión de PCR"

40 <400> 28  
aagacatcat tcgattttt ttctg 25

<210> 29  
<211> 25  
<212> ADN  
45 <213> Secuencia artificial

<220>  
<221> fuente  
<223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: una sonda sintetizada artificialmente o un producto de extensión de PCR"

50 <400> 29  
aagacatcat tcgattttt ttctt 25

<210> 30  
<211> 30  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial

<220>  
<221> fuente  
<223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador sintetizado artificialmente para PCR"

65 <400> 30

ES 2 536 195 T3

gtgggaggcc agtttgaac 30

5 <210> 31  
<211> 30  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador sintetizado artificialmente para PCR"

15 <400> 31  
acgttgatg agcaagggtc ctgtgtgtag 30

20 <210> 32  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: una sonda sintetizada artificialmente"

30 <400> 32  
acagcggctt tgcagtgc 18

35 <210> 33  
<211> 19  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: una sonda sintetizada artificialmente o un producto de extensión de PCR"

45 <400> 33  
acagcggctt tgcagtgcg 19

50 <210> 34  
<211> 19  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: una sonda sintetizada artificialmente o un producto de extensión de PCR"

60 <400> 34  
acagcggctt tgcagtgct 19

65 <210> 35  
<211> 30  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

70 <220>  
<221> fuente  
<223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador sintetizado artificialmente para PCR"

75 <400> 35  
gcaagcttgc ccaactgtg 30

80 <210> 36  
<211> 30

ES 2 536 195 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador sintetizado artificialmente para PCR"

10

<400> 36  
 acgttgatg gttgtgtg ggctgcactc 30

15

<210> 37  
 <211> 17  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20

<220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: una sonda sintetizada artificialmente"

25

<400> 37  
 cgtgtggccc acgggct 17

30

<210> 38  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

35

<220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: una sonda sintetizada artificialmente o un producto de extensión de PCR"

40

<400> 38  
 cgtgtggccc acgggcta 18

45

<210> 39  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

50

<220>  
 <221> fuente  
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: una sonda sintetizada artificialmente o un producto de extensión de PCR"

55

<400> 39  
 cgtgtggccc acgggctg 18

60

<210> 40  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 40  
**tgtgtttttt taaaattttt taaaaaccaa tttcttaata ctttacattt yattattaat 60**  
**attatactt ctaagtattt ttcttaagga aaaagtactt c 101**

<210> 41  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 41

ES 2 536 195 T3

**tactgggaga aaaattatgg agcatcaact gggtaaacta taatacaaac raacgttaag 60**  
**cgtgaaggga tagaaacata gggcagtgtt tgtgtaaaaa t 101**

5 <210> 42  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 42

**taaataattt catagaagtt cagtatagta cgtaattctt gtaagagtat ygtatgcaag 60**  
**ctctctgtat gccacccact gttagttcaa attgagattt t 101**

10 <210> 43  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 43

**tgtatgccac cactgttag ttcaaattga gatttttgtt ttgttttgtt yttaagaaca 60**  
**taccaagaaa ataccagtga attggtggat atgaattccc t 101**

20 <210> 44  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 44

**aaattgagat ttttgttttg ttttgttctt aagaacatac caagaaaata ycagtgaatt 60**  
**gttggatatg aattccctgt tagttgattt aaatccttcc t 101**

30 <210> 45  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 45

**gagccagag ttttgagaca ggcctgggca acatagtgag accttgtctc yacaaaaagt 60**  
**aaaatcagcc aggcattgtg tcacgcacct gtagccccag c 101**

40 <210> 46  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 46

**ggagcacctt cacatggcct ccatgtggct taggtttctc caagtatggc ygctgggtcc 60**  
**ctggcgggaa ctggtgaaga gtgagtgatc caagactcag g 101**

45 <210> 47  
 <211> 101

ES 2 536 195 T3

<212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 47  
 5  
     **ttcaaaagtc agggaaaaga ggtaaaacca gcaaaagaga caggtagcct rtgagatggg** 60  
     **aagaagaaag tatcatgtcc tggaaccaa ctgaagttgt t** 101  
  
 <210> 48  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 48  
 10  
     **ataagtgtgt tcctttaag cactttaaat agttgctggc acatattggg yactcaaag** 60  
     **atagcaatga tagcaattac tagctatcac tgcttccaa a** 101  
 15  
  
 <210> 49  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 49  
 20  
     **tgggaaaaag aaggataata taggtatggt tcaaaacaaa tatattttag yctgagatta** 60  
     **agcccttcca ccttttaaaa tgggttttct cctatgaaaa g** 101  
 25  
  
 <210> 50  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 50  
 30  
     **aacattagta gcatctgggt ggattttggg ttttttttt cccctccct yaagtgttct** 60  
     **tagctcgcag aatagaagaa tggccatccc tgtgttggga t** 101  
 35  
  
 <210> 51  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 51  
 40  
     **agtttccaga gccatgagaa catttctaaa ctgacgtgac attgattcct maagcattct** 60  
     **tcaagtcatt tgctgaatg aatgatttta ttcttatggt a** 101  
 45  
  
 <210> 52  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 52  
 50

ES 2 536 195 T3

**tggcatggct acacggctaa atattattta atggcataat cgagtgctag ygccaggctt 60**  
**gtattttgtg tgtgtgtgtg attacagatt gggagaattg g 101**

<210> 53  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 53

**ccatctcggc ctcccagagt gctgggatta caggcgtgag ccactgtgcc yggccgcaag 60**  
**cagtattttc tgactgtgc agcttcttcc catatcttcc c 101**

10 <210> 54  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 54

**tatgtaaaga cttgaagggt tgagaaagtc caaagcagtt tttggtccaa rgctgatgtg 60**  
**actttgtacc tctgagttat ttgcgaccac agcctgggta t 101**

20 <210> 55  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 55

**atgcttaaaa tagtggcact tataagcacc aaataactat ttaatcagta ytattcaata 60**  
**ctgttataat aaaaactaat ttcaggccag gcatggaggc t 101**

30 <210> 56  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 56

**tagtggcact tataagcacc aaataactat ttaatcagta ctattcaata ygtttataat 60**  
**aaaaactaat ttcaggccag gcatggaggc tcagcctgt a 101**

40 <210> 57  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

45 <400> 57

**ctgcaatctc cgcttcatag gctcaagtga ttctcatgcc tcagcctccc ragtagctgc 60**  
**caccaggccc ggctaacttt tgtattttta gtagagacgg g 101**

<210> 58  
 <211> 101

ES 2 536 195 T3

<212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 58  
 5  
     **aacagatctt tgttttagaa agaagaaaag acaatccaga aacaaccagg kggactctag** 60  
     **acacccatgg aggaggtgat cagagctcat gagagtacca g** 101  
 <210> 59  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 59  
 10  
     **tagctctata gtaggcagaa atatccttta agttcattaa aggttctcag rtcttattta** 60  
     **aagaaatgta cccaatgct agcaatgatt acaaccttgc a** 101  
 15  
 <210> 60  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 60  
 20  
     **cgttacacgt ttttgttgc aagttattcc atttccatgg cgagaaatgt ygatgaaaa** 60  
     **caacactagc ttgaggctga tgcattaatc tttcatacat a** 101  
 25  
 <210> 61  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 61  
 30  
     **acaatccctt ttcttcacc tagaatcatg caatagaaat accagtctac rctcttcaaa** 60  
     **acaaaacccc cagacatcaa aagacagtat ctatgcatat c** 101  
 35  
 <210> 62  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 62  
 40  
     **ccagttgaaa aagggggaaa aaaatcaaat taccttcccc caacagatta waaaggaat** 60  
     **accaaacagc cacaaagaag ctcgaaacct tttctatcgc c** 101  
 45  
 <210> 63  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 63  
 50

ES 2 536 195 T3

**ctctaaaagc caataccaat ttcagcactg ggtccactga aattctatcc raagatatca 60**  
**gaacttcagt gatttgtgtc cctccaaaca ctatgcaaaa c 101**

5 <210> 64  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 64

**acatataaaa agaattatat acaatgccca agtgggattt ttttcaggaa kgcaagattg 60**  
**gtttaacatc caaaaaccaa tgtaattact atatcatgtc a 101**

10 <210> 65  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 65

**taaaatggca gaagaaggat ttgacaaaaa tccaagctcc tttcgtgatg waaacactca 60**  
**ggaaaatggg aattgcactg aatttctctca acctaataaa t 101**

20 <210> 66  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 66

**agaaattaa gaagatctac taagtgggaa acatctcatg ttcattggatt rgaagactta 60**  
**atattgttaa gatgttaatg tcccccaaat tgatctacag a 101**

25 <210> 67  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 67

**atacatgaaa gaacctcaaa aatattatgc tgagtgaaag aaattagtca yaaaagacta 60**  
**caaattatgt attctattta tataaaatat ccatgagaca a 101**

30 <210> 68  
 <211> 101  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 68

**ataaggggtg atagctaaag gctatggagt ttattttgag acaatgacat rttctaaaat 60**  
**tgaccgtgat gatgatggtt gcatatatct gtcaatatgc t 101**

40 <210> 69  
 <211> 101

ES 2 536 195 T3

<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

<400> 69

5

**tgtaaatatg ctacaaacca ctgaatcatc attttaaatg ggtgtggtat rtaaaccata 60**

**tctcaataaa acttattttg aattaaaca gaggtttagt c 101**

<210> 70  
<211> 101  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

10

<400> 70

**aataagaagt gcctctttct aaaaagagc tctttgcta ctacctgct ktcctcagaa 60**

**gaaagacatt gctttttggt ttgctttggt ttgctttggt t 101**

15

<210> 71  
<211> 101  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

20

<400> 71

**ccttgaagct attactgacc aatcagaata ctatcactaa ggatctctct ygcctccttc 60**

**ctcccccat cctcagctct ctctctctct tctccccctt c 101**

25

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Bevacizumab para su uso en mejorar la supervivencia global de un paciente que padece cáncer en el que se determina, de una muestra del paciente, si el paciente que padece dicho cáncer tiene el alelo de variante del gen de VEGFR-1 correspondiente a rs9554316 (SEC ID N° 1), en el que la posición 51 es G, y por medio del cual el bevacizumab se administra a dicho paciente que tiene dicho alelo de variante del gen de VEGFR-1.
- 10 2. Bevacizumab para su uso en mejorar la supervivencia libre de progresión de un paciente que padece cáncer en el que se determina, de una muestra del paciente, si el paciente que padece dicho cáncer tiene el alelo de variante del gen de VEGFR-1 correspondiente a rs9554316 (SEC ID N° 1), en el que la posición 51 es G, y por medio del cual el bevacizumab se administra a dicho paciente que tiene dicho alelo de variante del gen de VEGFR-1.
- 15 3. Bevacizumab para su uso en una pauta de quimioterapia para un paciente que padece cáncer en el que se determina, de una muestra del paciente, si un paciente que padece dicho cáncer tiene el alelo de variante del gen de VEGFR-1 correspondiente a rs9554316 (SEC ID N° 1), en el que la posición 51 es G, y por medio del cual bevacizumab se administra al paciente que tiene el alelo de variante del gen de VEGFR-1.
- 20 4. El bevacizumab para su uso en un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la muestra del paciente es una muestra de sangre.
5. El bevacizumab para su uso en un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que bevacizumab se administra como co-tratamiento con un agente quimioterapéutico o pauta de quimioterapia.
- 25 6. El bevacizumab para su uso en un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el paciente está siendo co-tratado con uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en interferón alfa, 5-fluorouracilo, leucovorina, irinotecan, gemcitabina-erlotinib y agentes quimioterapéuticos basados en platino.
- 30 7. El bevacizumab para su uso en un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el cáncer es cáncer pancreático.
8. El bevacizumab para su uso en un método de la reivindicación 7, en el que el paciente está siendo co-tratado con terapia de gemcitabina-erlotinib.
- 35 9. El bevacizumab para su uso en un método según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en el que el cáncer es cáncer de células renales.
10. El bevacizumab para su uso en un método según la reivindicación 9, en el que el paciente está siendo co-tratado con terapia de interferón alfa.
- 40 11. El bevacizumab para su uso en un método según la reivindicación 7 u 8, que comprende además determinar si el paciente tiene más alelos de variante del gen de VEGFR-1 seleccionados del grupo que consiste en:
  - 45 (a) rs9582036 (SEC ID N° 2), en el que la posición 51 es A,
  - (b) rs9513070 (SEC ID N° 3), en el que la posición 51 es A; y
  - (c) rs9554320 (SEC ID N° 4), en el que la posición 51 es C.
- 50 12. El bevacizumab para su uso en un método según la reivindicación 9 o 10, que comprende además determinar si el paciente tiene el alelo de variante del gen de VEGFR-1 correspondiente a rs9513070 (SEC ID N° 3), en el que la posición 51 es A.
- 55 13. Un método *in vitro* para la identificación de un paciente que responde a o un paciente sensible a bevacizumab, comprendiendo dicho método determinar, de una muestra del paciente, si un paciente que padece cáncer tiene el alelo de variante del gen de VEGFR-1 correspondiente a rs9554316 (SEC ID N° 1), en el que la posición 51 es G, por medio del cual la presencia de dicho alelo del gen de VEGFR-1 es indicativa de un paciente que responde o es indicativo de una sensibilidad del paciente a bevacizumab.
- 60 14. El método *in vitro* según la reivindicación 13, en el que la muestra del paciente es una muestra de sangre.
15. El método *in vitro* según la reivindicación 13 o 14, en el que el cáncer es cáncer pancreático.
- 65 16. El método *in vitro* según la reivindicación 13 o 14, en el que el cáncer es cáncer de células renales.
17. El método *in vitro* según la reivindicación 15, que comprende además determinar si el paciente tiene más alelos de variante del gen de VEGFR-1 seleccionados del grupo que consiste en:
  - (a) rs9582036 (SEC ID N° 2), en el que la posición 51 es A,

- (b) rs9513070 (SEC ID N° 3), en el que la posición 51 es A; y
- (c) rs9554320 (SEC ID N° 4), en el que la posición 51 es C.

5 18. El método *in vitro* según la reivindicación 16, que comprende además determinar si el paciente tiene el alelo de variante del gen de VEGFR-1 correspondiente a rs9513070 (SEC ID N° 3), en el que la posición 51 es A.

10 19. Uso de cebadores y/o sondas para predecir la respuesta a o sensibilidad a la terapia con bevacizumab de un paciente que padece o que se sospecha que padece cáncer pancreático metastásico o cáncer de células renales en el que los cebadores y/o sondas pueden detectar el alelo de variante de rs9554316 (SEC ID N° 1), por medio del cual una G en la posición 51 de rs9554316 (SEC ID N° 1) es indicativa de una respuesta del paciente o sensible a terapia con bevacizumab.

15 20. Uso de un kit para llevar a cabo los métodos según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 18, que comprende cebadores o sondas que pueden determinar la presencia del alelo de variante del gen de VEGFR-1 correspondiente a rs9554316 (SEC ID N° 1).

21. El uso de la reivindicación 20, en el que

- 20 (a) los cebadores se seleccionan del grupo que consiste en SEC ID N° 25 y SEC ID N° 26; o
- (b) las sondas se seleccionan del grupo que consiste en SEC ID N° 27, SEC ID N° 28 o SEC ID N° 29.

Figura 1A

SNP genotipados en AVITA y asociados con el resultado de bevacizumab

	SNP_ID	Alelo de diagnóstico raro	SECUENCIA
SEC ID N° :1	rs9554316	T	ATAGACACAAAATTCCTAAGAAATCGTAAAGACATCATTCGATTTTTTTTCTT[G]GAACTCAATG GAATTCAGCCCCCAGCCCTTGGTTCATGGTCTCCAGCAA
SEC ID N° :2	rs9582036	C	TGCTGCGATTACAGGCACGAGCCACTGTGCCCAGCAACAATAGCCTTCTT[C/A]CAAAATGT ATACTAAAGTATTTAGGAGTAAAGTGCTATTATGCCCTTAAGC
SEC ID N° :3	rs9513070	G	TTGCTTTTTTACTATAATGCAAGCTTGCCCAACTTGTGGCCCAACGGGCT[G/A]CATGAAATCC CAGGATGGCTTTGAGTGCAGCCCAACAACTCGTAAACT
SEC ID N° :4	rs9554320	A	TTTCCGGGGCTGTGAGCAAGGTTCCCTGTGTAGCTGATCATTCTCCCCC[A/C]GCACTGCA AAGCCGCTGTTACAAACTGGCCTCCACCACCTCAAGGCACAC

Figura 1B

SNP que pertenecen al bloque de haplotipos de rs9554316 y rs9582036 (dentro del sitio), pero no se genotipan dentro de AVITA

	SNP_ID	Alelo de diagnóstico raro	SECUENCIA
SEC ID N° :5	rs17619037	G	AGTGCAAAACATCCACAAGCCCAAGGAAAAAAGTGTCCAAGACAGGGCA[A/G]GCAAGTG CAATTTGCACAGTGGAGAAAGCCTCACATGGACACCCGAAAAG
SEC ID N° :6	rs9579177	G	ACATTACTGGCGTGGTGTGGAAAGGATCTGAAGAAGGGGTCTATCGG[G/A]GTGCACT AGGTACCTTAACCTCACGACTTACATCAAAACATGGAGTGGCA
SEC ID N° :7	rs9579176	G	CCCTTAGCCCTCAACCCACATCACAGGGCTTAGAGAGAAGAGCTGG[G/A]JAGACCTCT TGTTGSCAGGCTACTGGTTAGCTTCTCCCATTTGTGATTG
SEC ID N° :8	rs9554319	C	CTTCTTCCAAAATGTATACTAAAGTATTTAGGAGTAAAGTGCTATTATG[C/T]TTAAGCCTC CTTTAAATGGTTGGCAAAAAGAAAAATCCGTAACAAACA
SEC ID N° :9	rs7996030	A	CTCCAGAGGGACCTACTCTGGTCCGTTGTGAAATCAGAGAAATGCCAGAC[A/G]TAGGAGA GACTGGAGGCATCATCTCGTCTGAGTGCCCAATGGCACAGGAG
SEC ID N° :10	rs9513075	G	GAGGACACCACCGCACCAGTGACAAGAACAGGTCCTCCCTCCCTAC[G/A]CTCAGGC AGAGCTCCCAAGCCCTGCTGTGGGCCTGAGTCTCCTGTCCAC
SEC ID N° :11	rs7993418	G	TCITCAAAGGTTTGGATTGTTCCAGGCTCATGAACCTTGAAAGCATTTAC[G/A]TATCTAATGA AGAAACAGAAAGAAATATCAAGACAGGAAAGGATCCAG
SEC ID N° :12	rs9513071	G	TTACTTGTGCTGGGAGATGGCGGTTGCTGGGGAAAAACCTGAGAAACCC[T/G]AGTTCAT ATCCTCCCTCTGACACTTCTTAGAGGTATGCCCTTAGGGGGCG

Figura 1C

SNP ligados en la dirección 5' o en la dirección 3' del bloque de haplotipos (fuera del sitio) y en LD ( $D'/LOD > 0,8$ ) con rs9554316 y rs9582036, pero no tipados en AVITA

	SNP_ID	Alelo de diagnóstico raro	SECUENCIA
SEC ID N°:13	rs11620238	G	AGGAAGTGCATGATCTTTCTGACCTGGCTCCAAGCCATGCAGTGTCCTCC[T/G]TCTTTC ACATTGCATTGATCACAAGTGAGTCCTAAAGCTAGCTCTGATT
SEC ID N°:14	rs17618631	G	CTTCAAGTCATTTGCCCTGAATGAATGATTTTATTCTTATGTTATGAAACC[C/G]ATAATAC TTTTAAAGGATTCAGATTCTTGAAGACAAAATGCCTCTTGC
SEC ID N°:15	rs12429309	C	GCAGTGTATGAGGGTTCCAAATTTCCATATCCTGCCACACTGACTTCA[T/C]CTAGCT ATCCTCATGGCGTAAAGTGGTATCTTATGGTAAATTTCTTTCCC
SEC ID N°:16	rs7982251	C	GTGGCTGTCTGCAGGGACATGCTCTGCATTTCAGAGAGAACACTGGGGAGA[C/T]GACAC GTTTCTCTTTTGTGAAACATGCTCCCGTAGTACTAAATGA
SEC ID N°:17	rs9508016	A	AGGGAGGACATGGGAGGTTCACACAAAAGTGAAAAATAACACTATGTCT[A/G]AAAAAC AAGCAGGGAAGAGAAGCCAGTACGAGCCAGCGGGGAGATGCTAGG
SEC ID N°:18	rs7982957	A	AGAACACTGGGGAGACGACACGTTTCTCTTTTGTGAAACATGCTCCCGT[A/T]GTGATT ACTAAATGACATTCCTCCAGAGCATGCAACACCGGGCAGAGCTA
SEC ID N°:19	rs3794400	T	AGAAGGACAGAAATACGTTTGAAGGGGGAGAGGCAAAAGCCAGCCTCCC[T/C]GCCT CTTAACCCAGACCCTTGGGAGTAGAGCGGCTTCTGGTTACTGTACACA

El desequilibrio del enlace se definió aquí por tener una  $D'/LOD > 80$

Figura 1D

SNP ligados con  $r^2$  igual o superior a 0,12 para rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) o rs9554320 (SEC ID N° 4).

	SNP_ID	Alelo de diagnóstico raro	SECUENCIA
SEC ID N°: 40	rs45455097	C	TGTGTTTTTAAAATTTTTAAAAACCAATTTCTTAATACTTTACATTTT/CJATTATTAATATTT ATACTTCTAAGTATTTTCTAAGGAAAAAGTACTTC
SEC ID N°: 41	rs1886233	A	TACTGGAGAAAAATTTATGGAGCATCAACTGGGTAAACTATAATACAAAC/A/GJAACGTTAAG CGTGAAGGGATAGAAACATAGGCCAGTGTGGTAAATAAT
SEC ID N°: 42	rs9554309	C	TAAATAATTCATAGAAGTTCAGTATAGTACGTAATCTTGTAAAGAGTAT/C/TJGTATGCAAGC TCTCTGTATGCCACCCTGTTAGTTCAAATIGAGATTTT
SEC ID N°: 43	rs11619230	T	TGTATGCCACCCTGTTAGTTCAAATIGAGATTTTGTGTTTGTTC/TJTTAAGAACAATA CCAAGAAATACCAAGTGAATGTTGGATATGAATCCCT
SEC ID N°: 44	rs9554311	C	AAATTGAGATTTTGTGTTTGTTCCTAAGAACATACCAAGAAAAATA/C/TJCAGTGAATTG TTGGATATGAATCCCTGTTAGTGTGATTTAAATCCTTCT
SEC ID N°: 45	rs4771233	T	GAGCCAGAGTTTGGACAGGCCCTGGGCAACATAGTGAGACCTTGTCTC/T/CJACAAAAAG TAAATCAGCCAGGATGTTGTCACGCCCTGTAGCCCCAGC
SEC ID N°: 46	rs6491274	C	GGAGCACCTTCACTGGCTCCATGTGGCTTAGGTTTCCAAAGTATGGCT/CJGCTGGGTC CCTGGGGAACTGTTGAAGAGTGTACCAAGACTCAGG
SEC ID N°: 47	rs7982639	G	TTCAAAAGTCAGGAAAAAGAGTTAAACCAGCAAAAGAGACAGGTTAGCCT/A/GJTGAGATGG GAAAGAAAGTATCATGCTCCTGGAAACCAAACTGAAGTTGT
SEC ID N°: 48	rs1287718	C	ATAAGTGTGTTCTTTAAAGCACTTAAATAGTGTGGCACATATTGGG/T/CJACTCAAATGA TAGCAATGATAGCAATTAAGCTATCACTGCTTCCCAA
SEC ID N°: 49	rs10507382	C	TGGAAAAAGAGGATAATAGGTATGTTCAAACAAATATATTTAG/T/CJCTGAGATTAA GCCCTCCACCCTTTAAAATGGTTTTCTCTATGAAAAG
SEC ID N°: 50	rs57354941	T	AACATTAGTAGCATCTGGTTGGATTTGGTTTTTTTTTCCCTCCCTC/TJAAAGTGTCTT AGCTGCAGAAATAGAAAGATGGCCATCCCTGTGTGGGAT
SEC ID N°: 51	rs17086497	A	AGTTCCAGAGCCATGAGAACATTTCAAACGCTGACGTTGATTCCT/C/AJAAAGCATTCTT CAAAGTATTTGCTGCTGAATGAATGATTTATCTTATGTTA
SEC ID N°: 52	rs3794395	T	TGGCATGGCTACACGGCTAAATATTTAATGGCATAATCGAGTGTAG/C/TJGCCAGGCTT GTATTTTGTGTGTGTGATTACAGATTGGGAGAAATGG
SEC ID N°: 53	rs9554317	T	CCATCTGGCCCTCCAGAGTCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACTGTGCC/C/TJGGCCGCAA GCAGTATTTCTGACTGCTGCAGCTTCTCCATATCTTCCC
SEC ID N°: 54	rs9513073	G	TATGTAAGACTTGAAGGTTTGAAAGTCCAAAGCAGTTTTTGGTCCAA/A/GJGCTGATGTG ACTTTGTACTCTGAGTTATTGGGACCACAGCCCTGGGTAT

SNP ligados con  $r^2$  igual o superior a 0,12 para rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) o rs9554320 (SEC ID N° 4).

	SNP_ID	Alelo de diagnóstico raro	SECUENCIA
SEC ID N° : 55	rs9513074	T	ATGCTTAAATAGTGGCCTTATAAGCACCAATAAATACTTTAATCAGTA[C/T]TATTCAATAC TGTTATAATAAACTAATTCAGGCCAGGCATGGAGGCT
SEC ID N° : 56	rs9508015	T	TAGTGGCACTTAAAGCACCAATAAATACTTTAATCAGTACTATTCAATA[C/T]TGTATAATAA AACTAATTCAGGCCAGGCATGGAGGCTCACGCCCTGTA
SEC ID N° : 57	rs2011950	G	CTGCAATCTCCGCTTAGGCTCAAGTGAATCTCATGCCCTCAGCCTCCC[A/G]JAGTAGCTGC CACCAGSCCGGTAACCTTTTGATTTTAGTAGAGCGGG
SEC ID N° : 58	rs9513110	G	AACAGATCTTTGTTTAGAAAGAAAGAACAAATCCAGAAACAACCCAGG[T/G]GGACTCTAG ACCCATGGAGGAGGTGATCAGAGCTCATGAGAGTACCAG
SEC ID N° : 59	rs9513112	A	TAGCTATAGTAGGCAGAAATACTTTAAGTTCATTAAGGTTCTCAG[G/A]TCTTATTTAA AGAAATGTACCCCAATGTAGCAATGATTACAACCTTGCA
SEC ID N° : 60	rs9513113	T	CGTTACAGCTTTGTTGCTAAGTATTCATTTCCATGGCGGAGAAATG[T/C]TIGATGAAAAAC AACACTAGCTTGAGGCTGATGCAATTAATCTTTCATACATA
SEC ID N° : 61	rs9551471	G	ACAATCCCTTTTCCACCTAGAAATGCAATGCAATAGAAATACCAGTCTAC[A/G]CTCTTCAAAA CAAAACCCCGAGCATCAAAAACAGCATCTATGCAATC
SEC ID N° : 62	rs2296285	A	CCAGTTGAAAAGGGGAAAAAATCAAATACCTTCCCCCAACAGATTA[T/A]JAAAGGAAAT ACCAAACGCCCCAAGAAGCTCGAAACCTTTTCTATCGCC
SEC ID N° : 63	rs9513116	A	CTTAAAGCCCAATACCAATTCAGCACTGGGTCCACTGAAATTCATCC[G/A]AAGATATCA GAACCTCAGTGATTTGTTGCTCCCTCCAACACTATGCAAAAAC
SEC ID N° : 64	rs9551473	G	ACATATAAAAGAAATATATACAAATGCCCAAGTGGGATTTTTCAGGAA[T/G]GCAAGATTG GTTTAAATCCAAAACCAATGTAATTAATCATATCATGTCA
SEC ID N° : 65	rs7330109	T	TAAATGGCAGAAAGGATTTGACAAAATCCAAGCTCCTTTGGTGATG[A/T]JAAACACTCA GGAAATGGGAATTCGCAATTCCTCAACCTAATAAAT
SEC ID N° : 66	rs9508037	G	AGAAATAAAGAAATCTAAGTGGGAAACATCTCATGTTTATGGATT[A/G]GAAGACTTA ATATTGTTAAAGATGTTAATGTCGCCCAATGATCTACAGA
SEC ID N° : 67	rs1924981	T	ATACATGAAAGAACCTCAAAAATATTATGCTGAGTGAAGAAAATTAGTCA[C/T]JAAAAGACTA CAAAATATGATTTCTAATTAATAAAAATCCATGAGACAA
SEC ID N° : 68	rs34140996	G	ATAAGGGTGATAGCTAAGGCTATGGGTTTATTTGAGACAATGACAT[A/G]TCTTAAAAAT TGACCGTATGATGATGTTGATATATCTGCAATATGCT
SEC ID N° : 69	rs7985584	A	TGTCATATGCTACAAAACCACTGAATCATCATTTTAAATGGGTGGTAT[G/A]TAAATTTATAT CTCAATAAACTATTTTGAATTAACAGAGGTTTAGTC
SEC ID N° : 70	rs7992940	G	ATAAAGAAGTCCCTTTCTAAAAAAGAGCTTTTGCCTACTACCTGCCTT[G]TCTCAGAA GAAAGACATTGCTTTTGTGTTTGTGTTTGTGTTT

SNP ligados con  $r^2$  igual o superior a 0,12 para rs9554316 (SEC ID N° 1), rs9582036 (SEC ID N° 2), rs9513070 (SEC ID N° 3) o rs9554320 (SEC ID N° 4).

	SNP_ID	Alelo de diagnóstico raro	SECUENCIA
SEC ID N° : 71	rs718273	T	CCTTGAAGCTATTACTGACCAATCAGAATACTACTACTAAGGATCTCTTC/TTGGCCTCCTTCC TCCCCTCATCCCTCAGTCTCTTCTCCCTCTTC

Figura 2

	SNP ID	SEC DEL CEBADOR DE LA 2ª PCR	
SEC ID N°:2	rs9582036	ACGTTGGATGACTGTGCCAGCAACAATAG	SEC ID N°:20
SEC ID N°:1	rs9554316	ACGTTGGATGATCGTAAAGACATCATTCG	SEC ID N°:25
SEC ID N°:4	rs9554320	ACGTTGGATGTTGGCAGGCCAGTTGTAAC	SEC ID N°:30
SEC ID N°:3	rs9513070	ACGTTGGATGGCAAGCTTGCCCAACTGTG	SEC ID N°:35

	SNP ID	SEC DEL CEBADOR DE LA 1ª PCR	
SEC ID N°:2	rs9582036	ACGTTGGATGGCATAATAGCACTTTACTCC	SEC ID N°:21
SEC ID N°:1	rs9554316	ACGTTGGATGTGCTGGAGACCATGACCAAG	SEC ID N°:26
SEC ID N°:4	rs9554320	ACGTTGGATGAGCAAGGTTCCCTGTGTGTAG	SEC ID N°:31
SEC ID N°:3	rs9513070	ACGTTGGATGTTGTGTGGGCTGCACTC	SEC ID N°:36

	SNP ID	AL	MT	UEP_MASA	UEP_SEC	
SEC ID N°:2	rs9582036	91	46,9	5442,6	AGCAACAATAGCCTTCTT	SEC ID N°:22
SEC ID N°:1	rs9554316	100	48,2	7282,8	AAGACATCATTCGATTTTCT	SEC ID N°:27
SEC ID N°:4	rs9554320	93	98,4	5515,6	ACAGCGCTTTCAGTGC	SEC ID N°:32
SEC ID N°:3	rs9513070	93	97	5203,4	CGTGTGGCCCCACGGGCT	SEC ID N°:37

Figura 2 (continuación)

SEC ID N°:	SNP ID	EXT1 CALL	EXT1 MASA	EXT1 SEC	SEC ID N°:
SEC ID N°:23	rs9582036	C	5689,8	AGCAACAATAGCCCTTCTTC	SEC ID N°:23
SEC ID N°:28	rs9554316	G	7570	AAGACATCATTCGATTTTTTCTG	SEC ID N°:28
SEC ID N°:33	rs9554320	C	5802,8	ACAGCGGCTTTGCAAGTGCG	SEC ID N°:33
SEC ID N°:38	rs9513070	A	5474,6	CGTGTGGCCACCGGGCTA	SEC ID N°:38

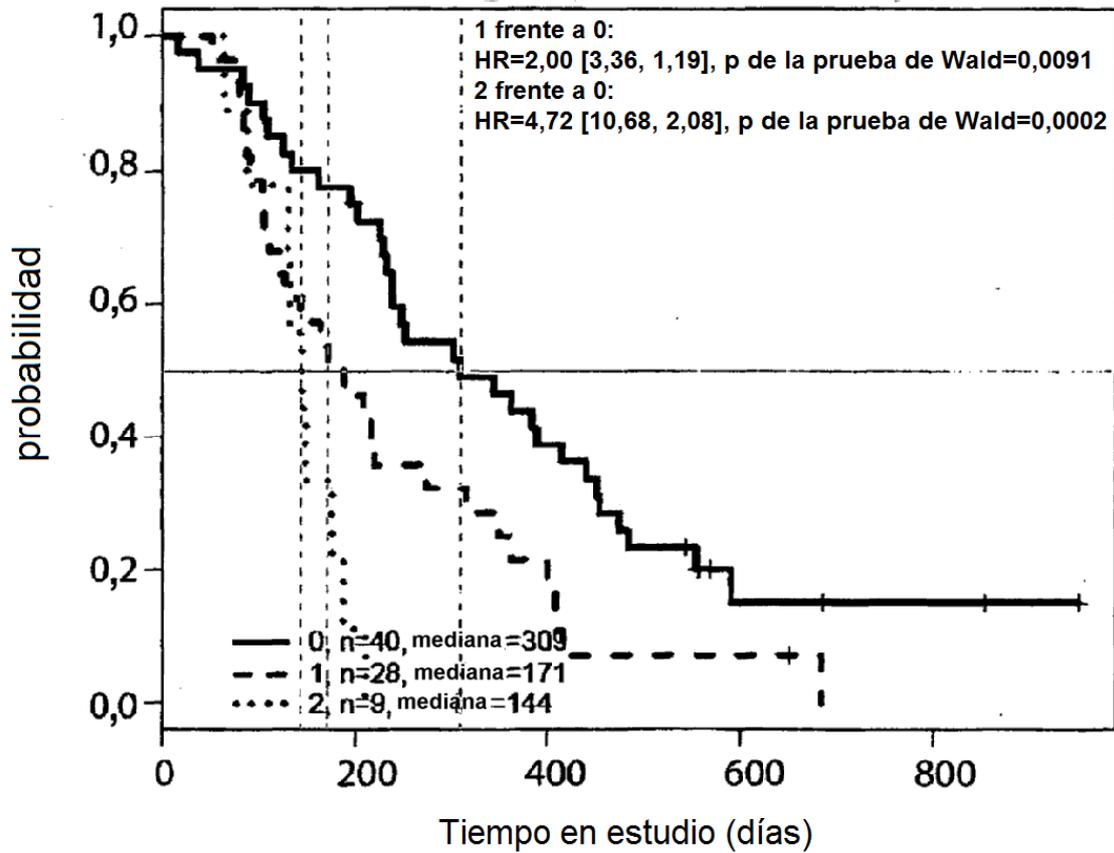
SEC ID N°:	SNP ID	EXT2 CALL	EXT2 MASA	EXT2 SEC	SEC ID N°:
SEC ID N°:24	rs9582036	A	5713,8	AGCAACAATAGCCCTTCTTA	SEC ID N°:24
SEC ID N°:29	rs9554316	T	7609,9	AAGACATCATTCGATTTTTTCTT	SEC ID N°:29
SEC ID N°:34	rs9554320	A	5842,7	ACAGCGGCTTTGCAAGTGCT	SEC ID N°:34
SEC ID N°:39	rs9513070	G	5490,6	CGTGTGGCCACCGGGCTG	SEC ID N°:39

Abreviaturas:

- SEC Secuencia
- AL LONGITUD DEL AMPLICÓN
- TF Temperatura de fusión
- UEP Masa del cebador sin extender
- EXT1 Producto 1 extendido
- EXT2 Producto 2 extendido

Figura 3

Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia global rs9582036 (SEC ID N° 2) en el grupo tratado con bevacizumab (Avastin®) (solo caucásicos)



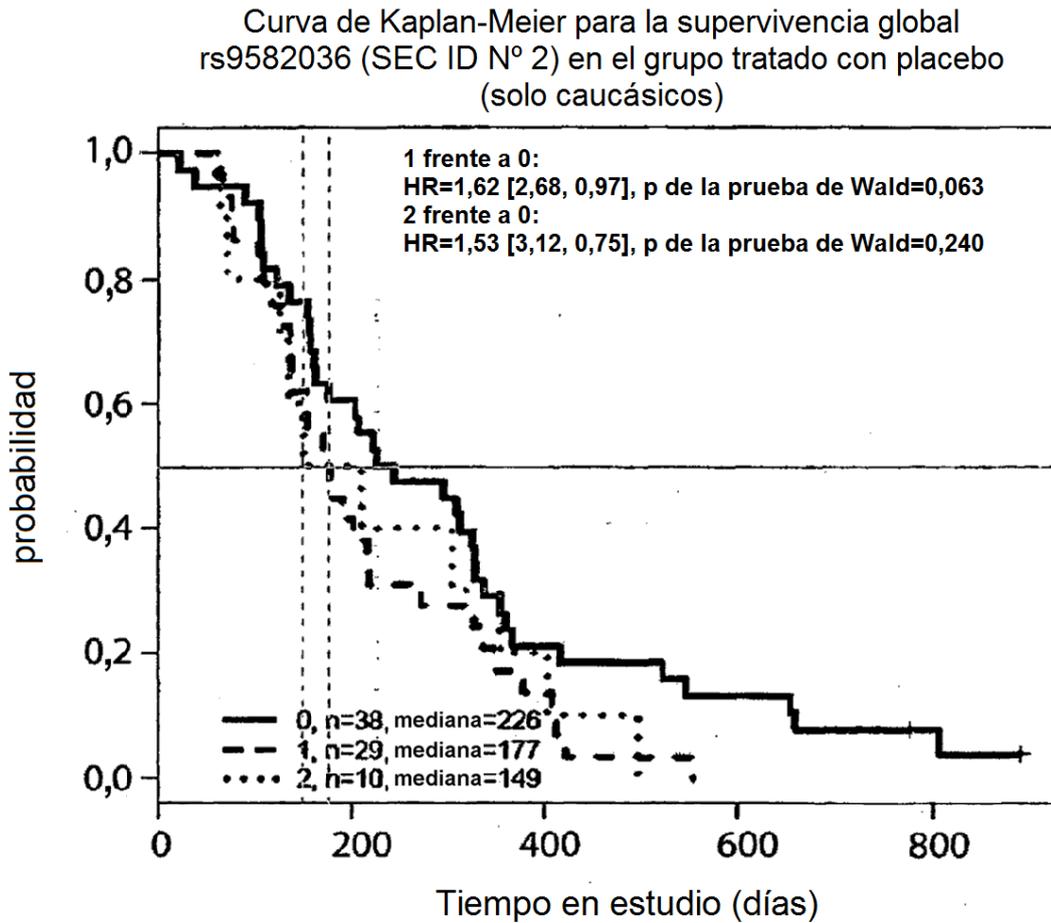
En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos:

0: AA (n=40, mediana =309)

1: AC (n=28, mediana=171)

2: CC (n=9, mediana=144)

Figura 4



En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos:

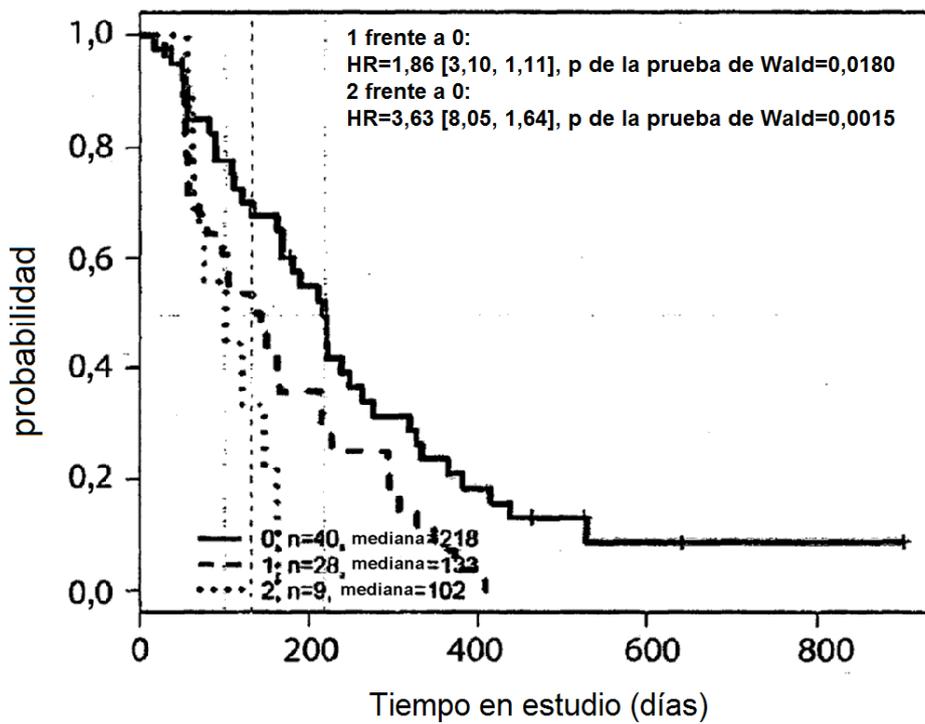
0: AA (n=38, mediana =226)

1: AC (n=29, mediana =177)

2: CC (n=10, mediana =149)

Figura 5

Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia libre de progresión rs9582036 (SEC ID N° 2) en el grupo tratado con bevacizumab (Avastin®) (solo caucásicos)

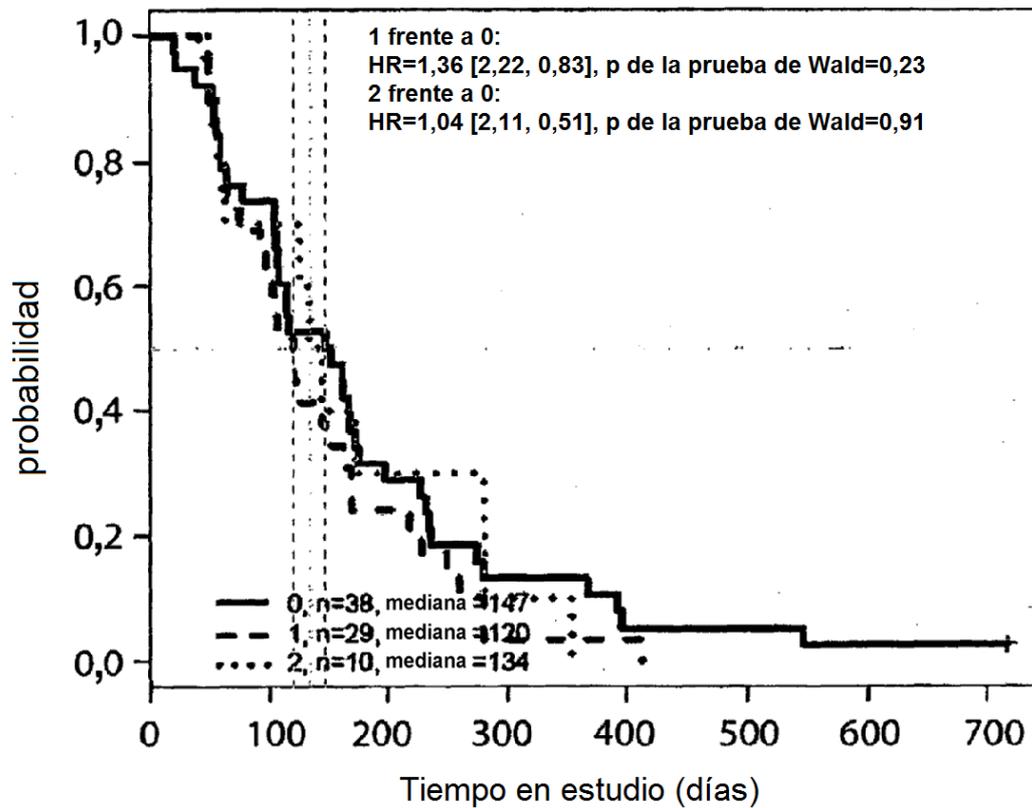


En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos:

- 0: AA (n=40, mediana =218)
- 1: AC (n=28, mediana =133)
- 2: CC (n=9, mediana =102)

Figura 6

Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia libre de progresión  
rs9582036 (SEC ID N° 2) en el grupo tratado con placebo  
(solo caucásicos)

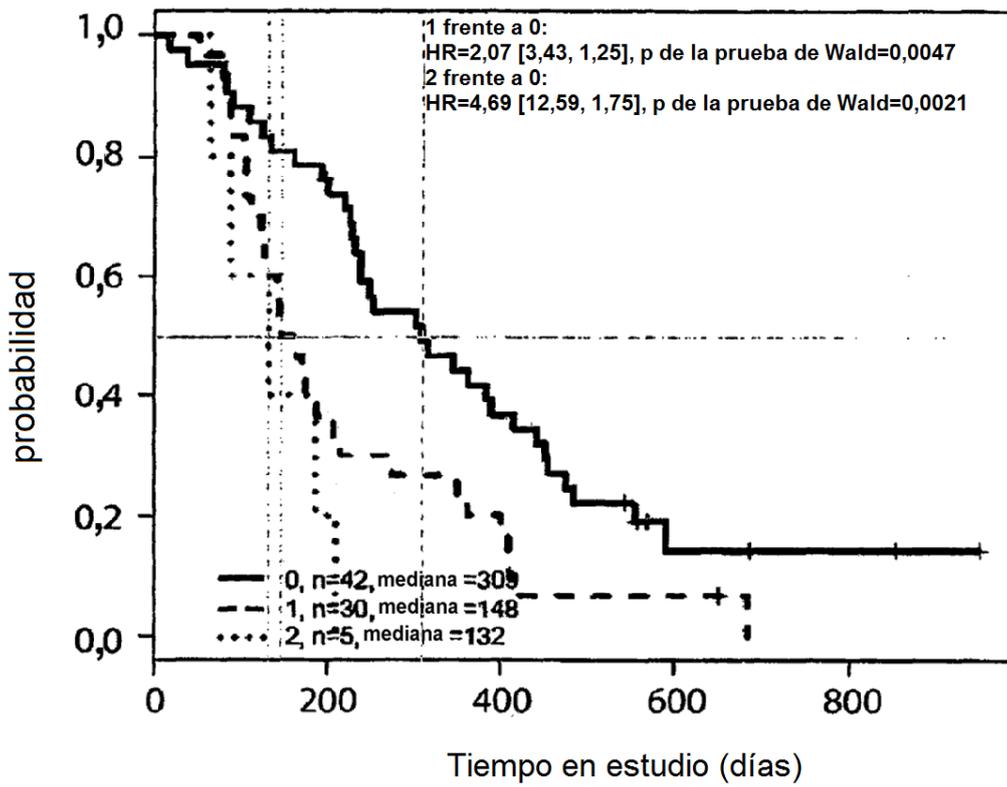


En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos:

- 0: AA (n=38, mediana =147)
- 1: AC (n=29, mediana =120)
- 2: CC (n=10, mediana =134)

Figura 7

Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia global  
rs9554316 (SEC ID N° 1) en el grupo tratado con bevacizumab  
(Avastin®) (solo caucásicos)



En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos:

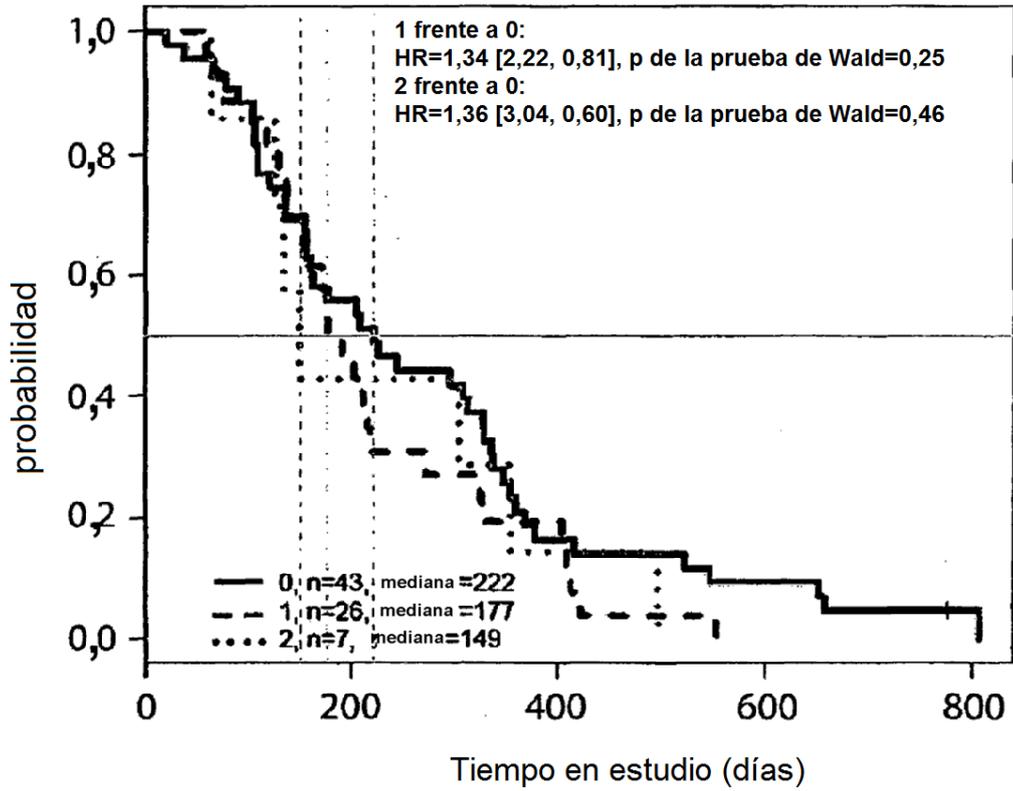
0: GG (n=42, mediana =309)

1: TG (n=30, mediana =148)

2: TT (n=5, mediana =132)

Figura 8

Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia global  
rs9554316 (SEC ID N° 1) en el grupo tratado con placebo  
(solo caucásicos)



En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos:

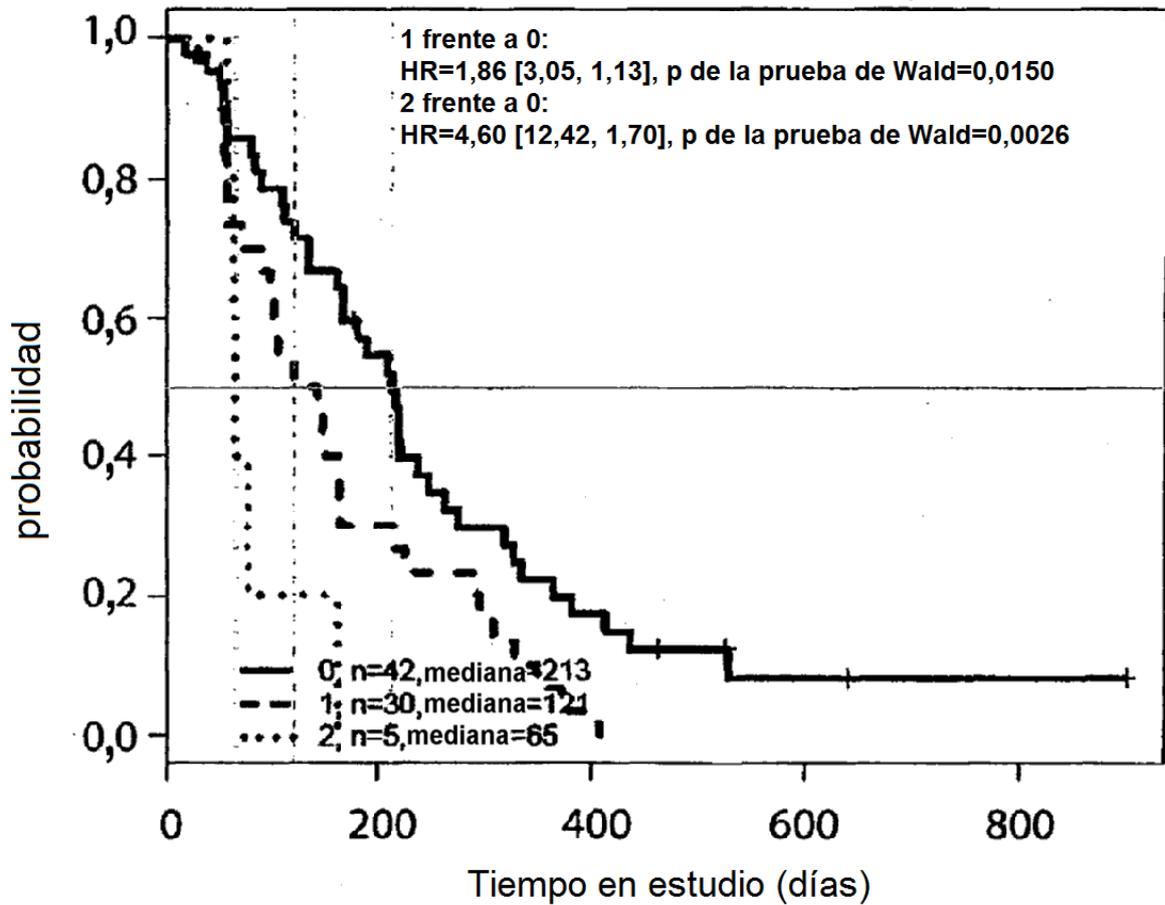
0: GG (n=43, mediana =222)

1: TG (n=26, mediana =177)

2: TT (n=7, mediana =149)

Figura 9

Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia libre de progresión rs9554316 (SEC ID N° 1) en el grupo tratado con bevacizumab (Avastin®) (solo caucásicos)



En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos:

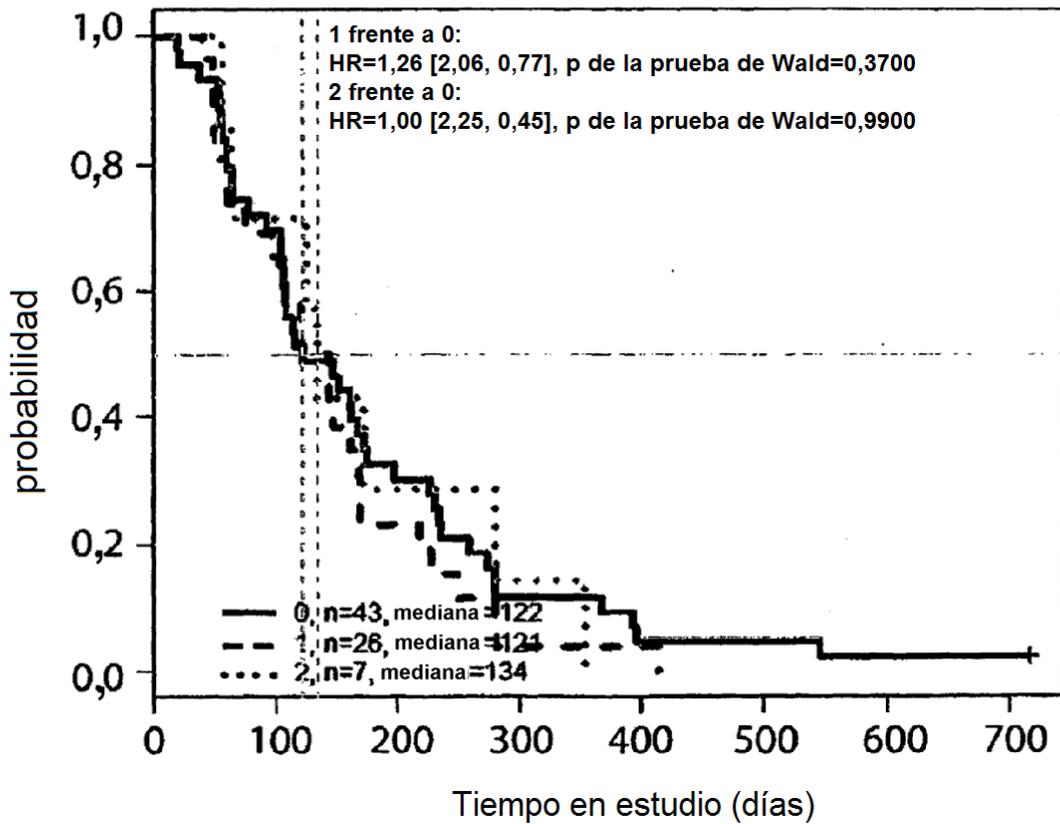
0: GG (n=42, mediana =213)

1: TG (n=30, mediana =121)

2: TT (n=5, mediana =65)

Figura 10

Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia libre de progresión  
rs9554316 (SEC ID N° 1) en el grupo tratado con placebo  
(solo caucásicos)



En la leyenda 0, 1 y 2 se refieren a los genotipos:

0: GG (n=43, mediana =122)

1: TG (n=26, mediana =121)

2: TT (n=7, mediana =134)

Figura 11

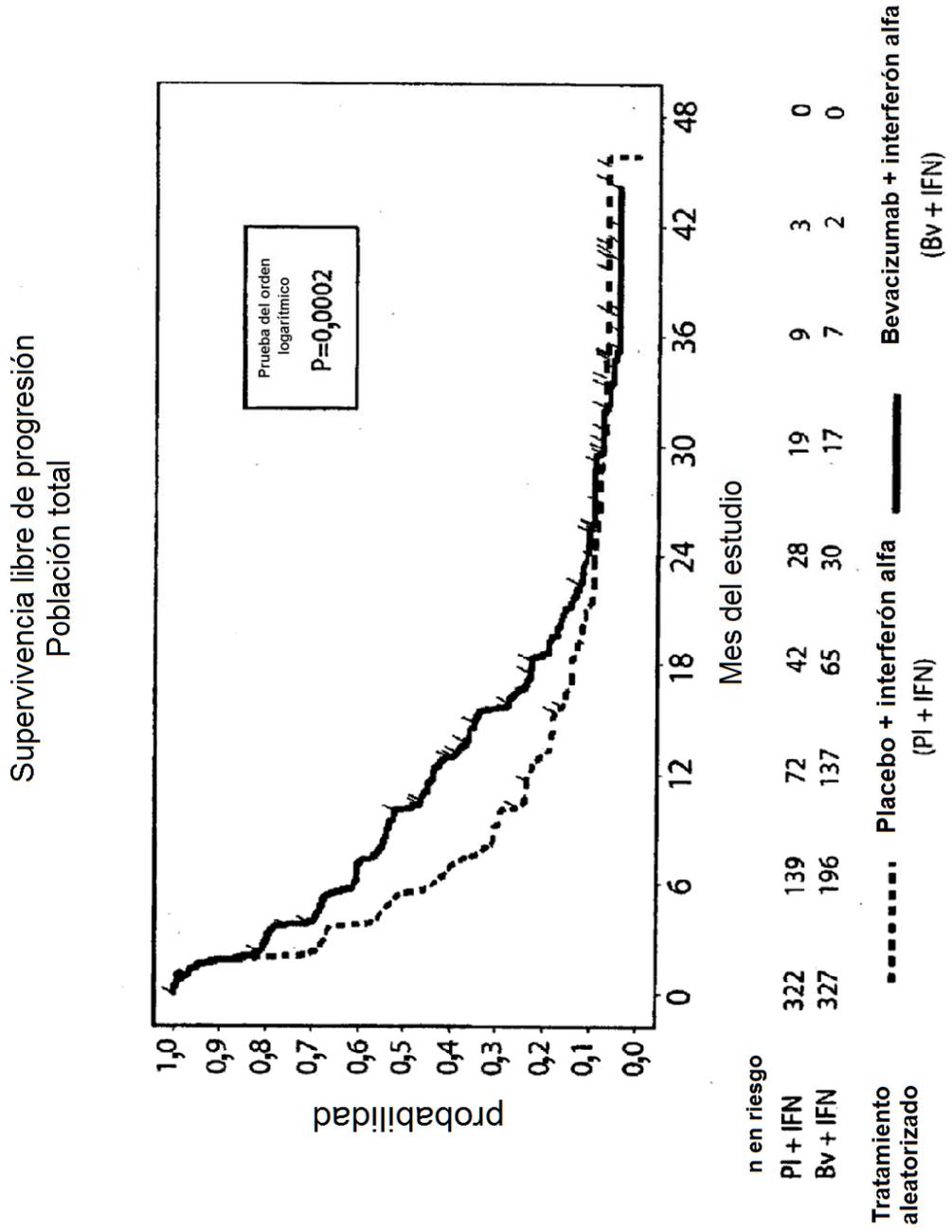


Figura 12

Supervivencia libre de progresión  
Población de genotipo

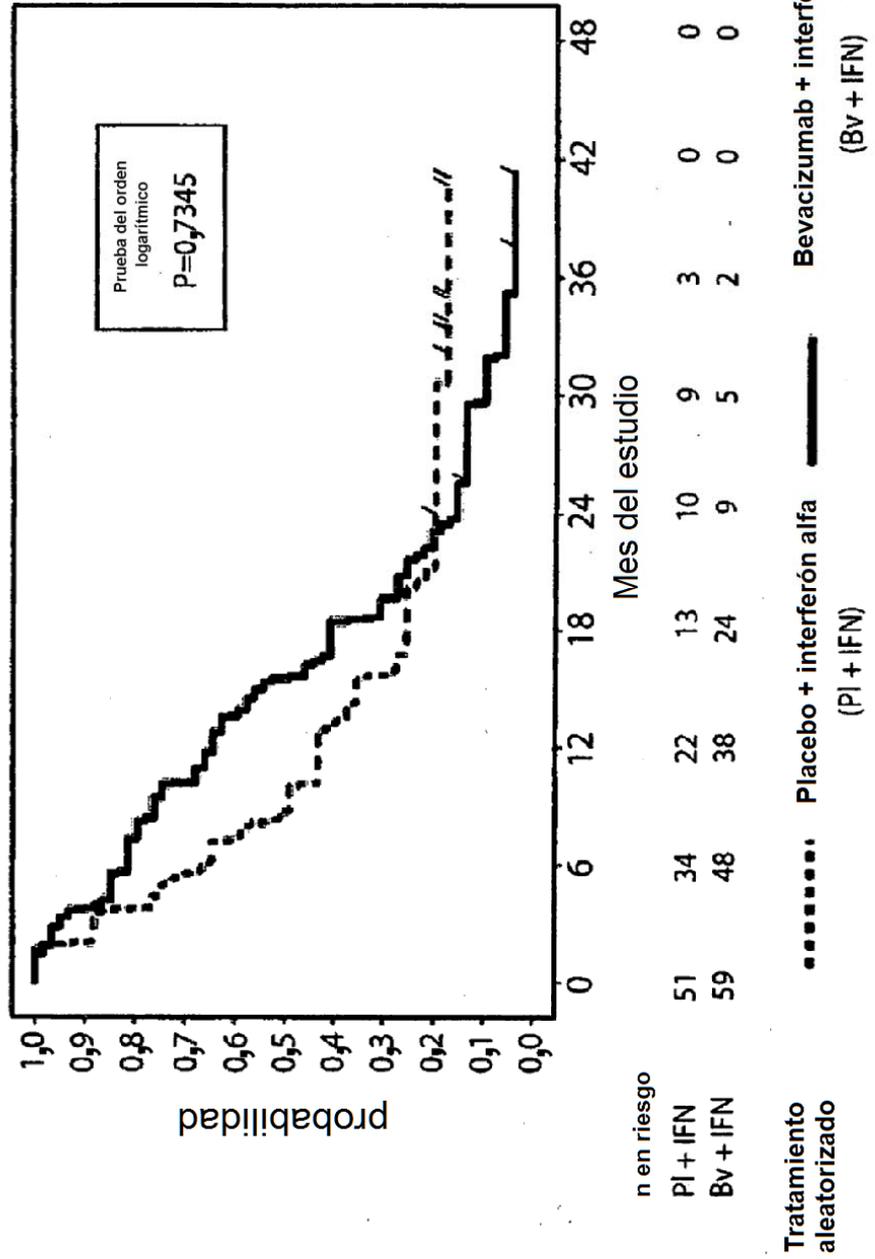
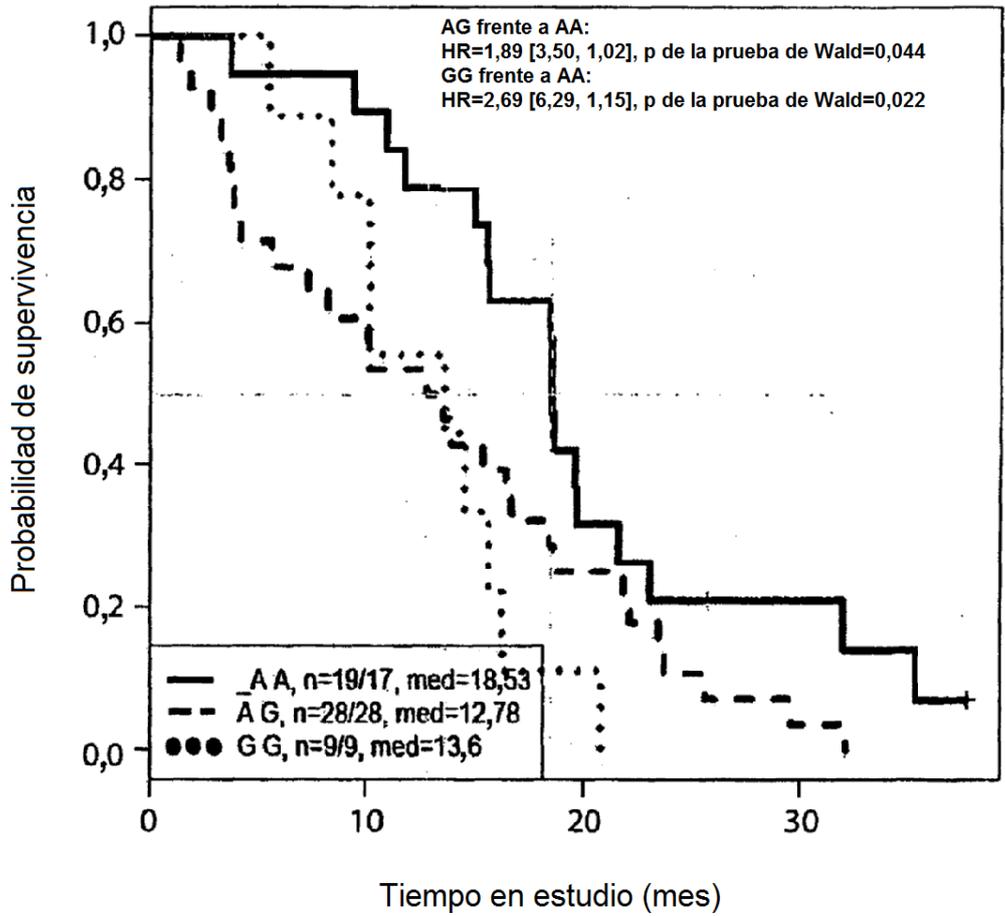


Figura 13

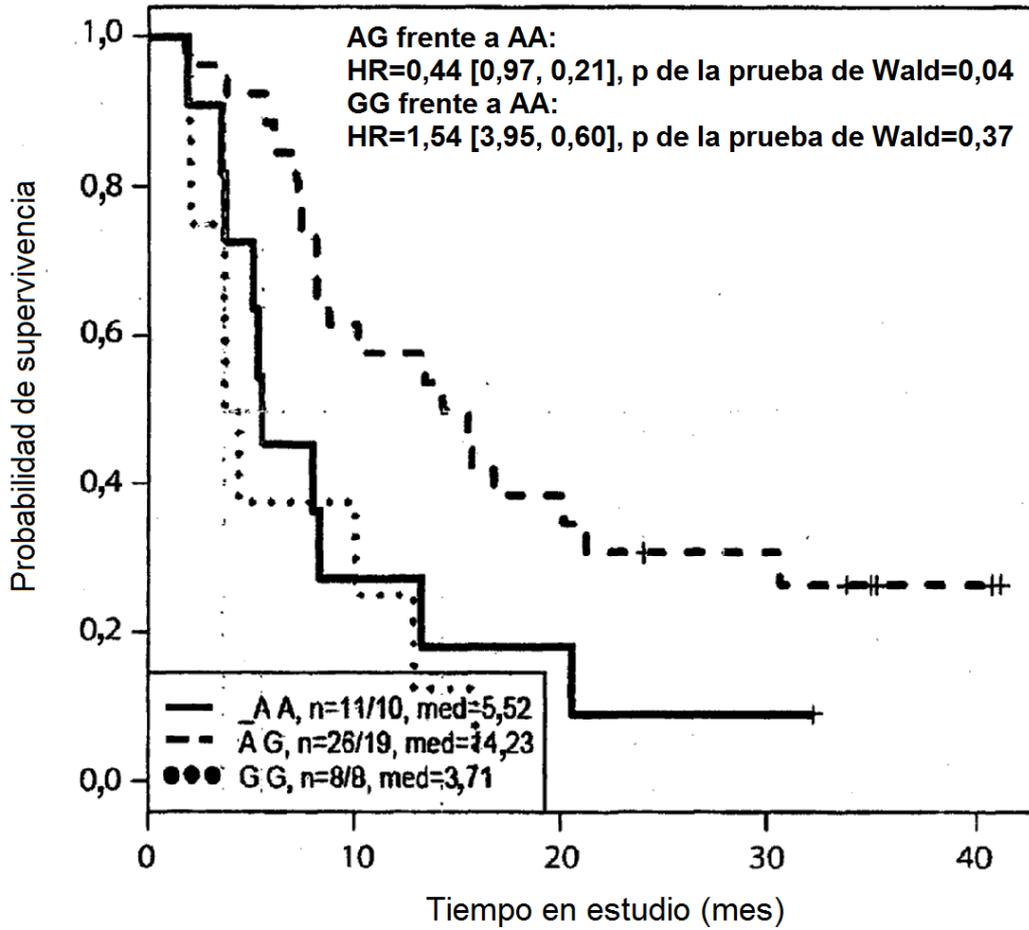
Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia libre de progresión rs9513070 (SEC ID N° 3) en el grupo tratado con bevacizumab (Avastin®) (solo caucásicos)



— AA (n=19/17, med=18,53)  
 - - AG (n=28/28, med=12,78)  
 ●●● GG (n=9/9, med=13,6)

Figura 14

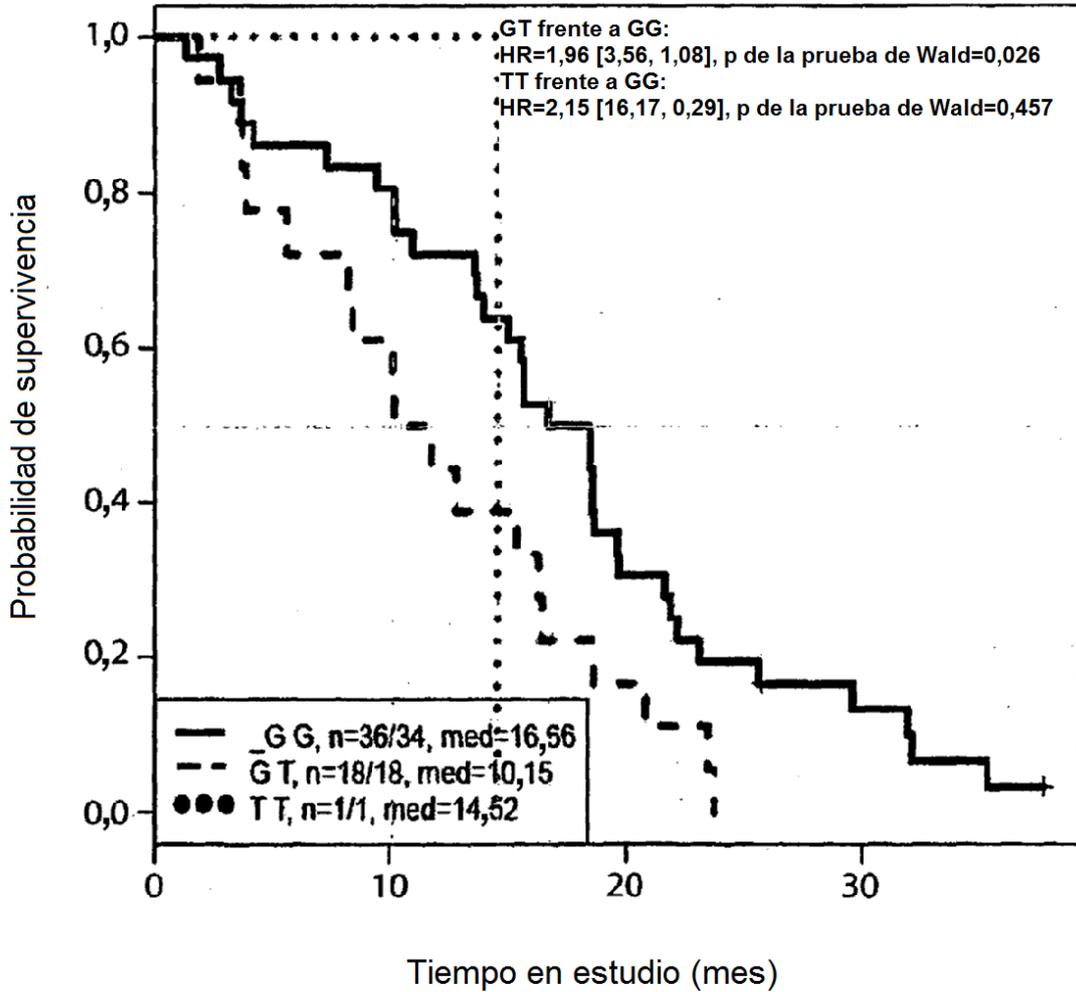
Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia libre de progresión rs9513070 (SEC ID N° 3) en el grupo tratado con placebo (solo caucásicos)



— AA (n=11/10, med=5,52)  
 - - AG (n=26/19, med=14,23)  
 ●●● GG (n=8/8, med=3,71)

Figura 15

Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia libre de progresión rs9554316 (SEC ID N°: 1) en el grupo tratado con bevacizumab (Avastin®) (solo caucásicos)



— GG (n=36/34, med=16,66)  
 - - GT (n=18/18, med=10,15)  
 ●●● TT (n=1/1, med=14,52)

Figura 16

Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia libre de progresión rs9554316 (SEC ID N°: 1) en el grupo tratado con placebo (solo caucásicos)

