

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 805**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09795836 .7**

96 Fecha de presentación: **20.11.2009**

97 Número de publicación de la solicitud: **2347261**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.07.2011**

54

Título: **Selección de pacientes con cáncer colorrectal para el tratamiento con fármacos dirigidos a la vía del EGFR**

30

Prioridad:

20.01.2009 US 321394

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:

14.12.2012

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:

14.12.2012

73

Titular/es:

**BIODESIX INC. (100.0%)
2790 Wilderness Place, Suite 100
Boulder, CO 80301, US**

72

Inventor/es:

**RÖDER, HEINRICH;
TSYPIN, MAXIM y
GRIGORIEVA, JULIA**

74

Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 392 805 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

Selección de pacientes con cáncer colorrectal para el tratamiento con fármacos dirigidos a la vía del EGFR

Antecedentes

5 La presente invención se refiere al campo de identificación de pacientes de cáncer que probablemente se beneficien del tratamiento con fármacos dirigidos a la vía del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). La identificación para la selección inicial para el tratamiento implica análisis por espectros de masas de muestras de sangre del paciente junto con un algoritmo de clasificación usando un equipo de formación de espectros marcados de clase de otros pacientes con la enfermedad.

10 El cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) es una causa principal de muerte por cáncer en varones y en mujeres en Estados Unidos. Al menos hay (4) cuatro tipos distintos de CPNM, incluidos adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas, macrocítico y broncoalveolar. El carcinoma de pulmón de células escamosas (epidermoide) es un tipo microscópico de cáncer que con más frecuencia se relaciona con el tabaquismo. El adenocarcinoma de pulmón representa más del 50 % de todos los casos de cáncer de pulmón en EE.UU. Este cáncer es más frecuente en mujeres y sigue siendo el tipo más frecuente observado en no fumadores. El carcinoma macrocítico, especialmente aquéllos con características neuroendocrinas, normalmente se asocia con la diseminación de tumores al cerebro. Cuando el NSCLC entra en la circulación sanguínea, se puede diseminar a sitios distantes tales como el hígado, los huesos, el cerebro y otras partes del pulmón.

15 El tratamiento del NSCLC ha sido relativamente malo durante los años. La quimioterapia, la piedra angular del tratamiento de los cánceres avanzados, es solo ligeramente eficaz, con la excepción de los cánceres localizados. Aunque la cirugía es la opción terapéutica más potencialmente curativa para el NSCLC, no siempre es posible, depende de la etapa en la que se encuentre el cáncer.

20 Los recientes enfoques para el desarrollo de fármacos anticancerosos para tratar a los pacientes con NSCLC se centran en reducir o eliminar la capacidad de las células cancerosas para crecer y dividirse. Estos fármacos anticancerosos se usan para alterar las señales hacia las células que les indican si crecen o mueren. Normalmente, el crecimiento celular está estrechamente controlado por las señales que reciben las células. Sin embargo, en el cáncer, esta señalización es incorrecta y las células siguen creciendo y dividiéndose de un modo incontrolado, formando de este modo un tumor. Una de estas vías de señalización comienza cuando una sustancia química del cuerpo, denominado factor de crecimiento epidérmico, se une a un receptor que se encuentra en la superficie de muchas células del cuerpo. El receptor, conocido como receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), envía señales a las células a través de la activación de una enzima denominada tirosina cinasa (TK) que se encuentra en el interior de las células. Las señales se usan para comunicar a las células que crezcan y se dividan.

25 El uso de tratamientos dirigidos en oncología ha abierto nuevas oportunidades para mejorar las opciones de tratamiento en tumores sólidos en estado avanzado en los que anteriormente la quimioterapia era la única opción viable. Por ejemplo, se han aprobado fármacos dirigidos a la vía del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (incluidos, sin limitaciones, Tarceva (erlotinib), Erbitux (cetuximab), Iressa (gefitinib)), o están en evaluación para el tratamiento de los tumores sólidos en estado avanzado, en concreto el cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC). Metro G y col., Rev Recent Clin Trials, enero 2006; 1(1):1-13.

30 Una limitación de casi todos los tratamientos sistémicos contra el cáncer es que un único agente será activo únicamente en una minoría de pacientes. A medida que evoluciona el campo de los tratamientos dirigidos, cada vez es más evidente que los biomarcadores predictivos son parte integral para el éxito de cualquier tratamiento dado. De hecho, muchos de los agentes que recientemente han aprobado las autoridades reguladoras han sido en enfermedades que albergan una alteración molecular universal y, por tanto, un marcador predictivo *de facto* (p. ej., imatinib en la leucemia mielógena crónica) o junto con un ensayo para seleccionar pacientes (p. ej., trastuzumab en el cáncer de mama positivo para HER2). De igual modo, la administración de un agente dirigido a una población de pacientes no seleccionados se suele acompañar de una tasa de respuesta de modesta a inexistente (p. ej., gefitinib, 250 mg en HNSCC). Ostensiblemente, el desarrollo satisfactorio de cualquier fármaco debería estar unido a predictores de su eficacia, ya que estos marcadores incrementarían considerablemente la probabilidad de que un paciente individual se beneficie. Dada la morbilidad y la carga de tratar a pacientes de cáncer con agentes ineficaces, es imperativo que se realicen estos esfuerzos.

35 Aunque en algunos ensayos se ha demostrado que los inhibidores del EGFR (EGFR-I) generan suficiente beneficio para la supervivencia incluso en poblaciones no seleccionadas, en otras no se ha producido un beneficio sustancial. Esto condujo a AstraZeneca a retirar su inhibidor de la tirosina cinasa (TKI) del EGFR (gefitinib, Iressa) del mercado de Estados Unidos. Incluso en el caso de los EGFR-I aprobados, cada vez está más claro que son necesarias pruebas eficientes y fiables para identificar a los pacientes que podrían beneficiarse del tratamiento con EGFR-I frente a aquellos que no es probable que se beneficien. Ladanyi M, y col., Mod Pathol. Mayo 2008; 21 Supl. 2:S 16-22.

55 En la solicitud de patente de EE.UU. anterior de los autores nº 11/396.328, publicada como publicación de patente de EE.UU. nº 2007/0231921, los autores han demostrado que una simple prueba de pretratamiento en suero usando espectrometría de masas y sofisticadas técnicas de análisis de datos usando un clasificador y un equipo de

5 formación de espectros marcados de clase de otros pacientes con la enfermedad ha sido prometedora para la selección de pacientes para el tratamiento con fármacos dirigidos a la vía del EGFR en pacientes de cáncer de pulmón no microcítico. Véase también, Taguchi F. y col., JNCI 2007 v99 (11), 838-846. La prueba, denominada VeriStrat en su versión comercial, asigna la marca "Buena según VeriStrat" o "Mala según VeriStrat" a las muestras de plasma o suero de pretratamiento. En el artículo del JNCI se ha demostrado que es más probable que los pacientes "buenos según VeriStrat" se beneficien del tratamiento con EGFR-I que los pacientes malos según VeriStrat, con un cociente de riesgos instantáneos entre pacientes "Buenos según VeriStrat" y "Malos según VeriStrat" de aproximadamente 0,5.

10 El cáncer colorrectal ("CRC") es el cáncer del colon o del recto. El colon es la porción más baja del intestino grueso y es la última parte del sistema digestivo a través de la cual pasa el alimento. El recto es la última sección del colon, a través de la cual se eliminan del cuerpo los residuos sólidos. El cáncer colorrectal es una de las formas más frecuentes de cáncer. Es el tercero en frecuencia, por detrás del cáncer de pulmón y de próstata en varones en EE.UU. También es tercero en frecuencia por detrás del cáncer de pulmón y de mama en mujeres. El cáncer colorrectal representa aproximadamente el 10 por ciento de todos los casos nuevos de cáncer cada año en EE.UU. También es responsable de aproximadamente el 10 % de todas las muertes por cáncer.

Sumario de la invención

20 Los autores han descubierto que el análisis con espectros de masas de las muestras de pacientes y la clasificación usando un equipo de formación descrito en nuestra solicitud de patente previa no solo proporcionan una herramienta de selección para identificar inicialmente pacientes de NSCLC que probablemente se beneficien de los fármacos dirigidos a la vía del EGFR sino que también los procedimientos proporcionan una herramienta de selección para la selección de pacientes de CRC para el tratamiento mediante dichos fármacos y, en particular, mediante inhibidores del EGFR (EGFR-I) que son anticuerpos monoclonales, tales como cetuximab (Erbix) y panitumumab.

Adicionalmente, como los procedimientos de la presente divulgación solo requieren muestras de sangre simples, los procedimientos permiten un modo rápido y no intrusivo de selección de estos pacientes.

25 La invención se refiere a un procedimiento de determinación de si es probable que un paciente con CRC se beneficie del tratamiento con un fármaco dirigido a la vía del EFGR (p. ej., un EGFR-I tal como Erbitux (cetuximab) o equivalente), que comprende las etapas de:

a) obtener un espectro de masas de una muestra del paciente basada en sangre;

b) realizar una o más etapas pre-procesamiento predefinidas en el espectro de masas obtenido en la etapa a);

30 c) obtener valores de intensidad integrados de características seleccionadas en dicho espectro en uno o más intervalos de m/z predefinidos después de que se hayan realizado las etapas de pre-procesamiento en el espectro de masas de la etapa b); y

35 d) usar los valores obtenidos en la etapa c) en un algoritmo de clasificación usando un equipo de formación que comprende espectros marcados de clase producidos de muestras basadas en sangre de otros pacientes para identificar al paciente que es probable que se beneficie o que es probable que no se beneficie del tratamiento con dicho fármaco;

en el que el uno o más intervalos m/z comprende uno o más intervalos m/z seleccionados del grupo de intervalos m/z que consisten en:

40 5732 a 5795
5811 a 5875
6398 a 6469
11376 a 11515
11459 a 11599
11614 a 11756
45 11687 a 11831
11830 a 11976
12375 a 12529
23183 a 23525
23279 a 23622 y
50 65902 a 67502

y en el que el fármaco comprende un anticuerpo monoclonal inhibidor del factor de crecimiento epidérmico.

El uno o más intervalos m/z predefinidos en el espectro de masas para su uso en el procedimiento se explican más adelante.

En realizaciones preferidas, las etapas pre-procesamiento predefinidas comprenden una etapa de resta del fondo que produce un espectro con fondo restado y una etapa de normalización que realiza una normalización del espectro de fondo restado.

5 En realizaciones preferidas, el equipo de formación comprende espectros marcados de clase producidos a partir de muestras basadas en sangre obtenidas de pacientes de cáncer de pulmón no microcítico.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es un diagrama de flujo que muestra un procedimiento para la selección de pacientes de CRC para el tratamiento con EGFR-I de acuerdo con una realización preferida de la presente invención.

10 La Figura 2 es un gráfico de Kaplan-Meier para un conjunto de pacientes de cáncer colorrectal tratados con cetuximab y la marca de clase asignada a las muestras de suero usando el procedimiento de la Figura 1. El gráfico indica que los pacientes marcados como "buenos" tenían mejor pronóstico tras el tratamiento con cetuximab que los pacientes marcados como "malos", con un cociente de riesgos instantáneos de 0,57 (IC del 95 %: 0,31-0,83) de bueno frente a malo.

Descripción detallada

15 Los autores han estudiado los perfiles de EM de muestras de suero o plasma de pacientes con NSCLC y CRC recurrente y/o metastásico que recibieron tratamiento con EGFR-I, así como de muestras de pacientes no tratados con EGFR-1. Se obtuvieron los espectros de masas MALDI de cada muestra y cada paciente se clasificó en grupos de desenlace "bueno" o "malo" para comparación de la supervivencia. Los autores han descubierto que el perfil de EM era predictivo de los desenlaces de supervivencia en todas las cohortes tratadas con EGFR-I.

20 Los procedimientos para la selección de pacientes de NSCLC y CRC para el tratamiento con fármacos dirigidos a EGFR se ilustran en el diagrama de flujo de la Figura 1 como proceso 100.

En la etapa 102 se obtiene una muestra de suero o plasma del paciente. En una realización, las muestras de suero se separan en tres alícuotas y se realizan la espectroscopia de masas y las posteriores etapas 104, 106 (incluidas las subetapas 108, 110 y 112), 114, 116 y 118, independientemente en cada una de las alícuotas.

25 En la etapa 104, la muestra se somete a espectroscopia de masas. Un procedimiento preferido de espectroscopia de masas es la espectroscopia de masas con ionización por desorción láser asistida por matriz (MALDI) con tiempo de vuelo (TOF), pero se pueden usar otros procedimientos. La espectroscopia de masas produce puntos de datos que representan valores de intensidad en una multitud de valores de masa/carga (m/z), como es convencional en la técnica. En una realización de ejemplo, las muestras se descongelan y centrifugan a 1.500 rpm durante cinco minutos a cuatro grados centígrados. Además, las muestras de suero se pueden diluir a 1:10 o a 1:5, en agua MilliQ. 30 Las muestras diluidas se pueden ver en posiciones asignadas al alza en una placa de MALDI por triplicado (es decir, en tres dianas MALDI diferentes). Después de colocar 0,75 ul de suero diluido en una placa MALDI, se pueden añadir 0,75 ul de ácido sinapínico 35 mg/ml (en 50 % de acetonitrilo y 0,1 % de ácido trifluoroacético(TFA), y mezclarse mediante pipeteo cinco veces. Las placas se pueden dejar secar a temperatura ambiente. Debe entenderse que se pueden usar otras técnicas y procedimientos para preparar y procesar el suero de acuerdo con los principios de la presente invención. 35

Los espectros de masas se pueden adquirir para los iones positivos en modo lineal usando un espectrómetro de masas Voyager DE-PRO o DE-STR MALDI TOF con recolección manual o automática de los espectros. Se recogen setenta y cinco o cien espectros de siete o cinco posiciones con cada punto MALDI con el fin de generar una media de 525 o 500 espectros para cada muestra de suero. Los espectros se calibran externamente usando una mezcla de patrones proteicos (Insulina (bovinos), tioredoxina (E. coli) y apomioglobina (equina)). 40

En la etapa 106, los espectros obtenidos en la etapa 104 se someten a una o más etapas de pre-procesamiento predefinidas. Las etapas de pre-procesamiento 106 se implementan en un ordenador de propósito general usando las instrucciones del software para operar con los datos de los espectros de masas obtenidos en la etapa 104. Las etapas de pre-procesamiento 106 incluyen la resta del fondo (etapa 108), la normalización (etapa 110) y la alineación (etapa 112). La etapa de la resta del fondo implica, preferentemente, generar una sólida estimación asimétrica del fondo en el espectro y resta el fondo del espectro. La etapa 108 usa técnicas de resta del fondo descritas en las solicitudes publicadas de EE.UU. 2007/0231921 y U.S. 2005/0267689. La etapa de normalización 110 implica una normalización del espectro con fondo restado. La normalización puede tomar la forma de una normalización parcial de la corriente de iones o una normalización total de la corriente de iones, como se describe en la solicitud de patente anterior de los autores U.S. 2007/0231921. La etapa 112 alinea los espectros con fondo restado con una escala de masas predefinida, como se describe en el documento U.S. 2007/0231921, que se puede obtener de la investigación del equipo de formación usado por el clasificador. 45 50

Una vez se realizan las etapas de pre-procesamiento 106, el proceso 100 procede hacia la etapa 114 de obtención de valores de características seleccionadas (picos) en el espectro sobre intervalos m/z predefinidos. Usando los parámetros de la anchura del pico de un algoritmo de búsqueda de picos, las amplitudes con fondo restado y 55

normalizadas se pueden integrar sobre estos intervalos de m/z y tener asignado este valor integrado (es decir, el área bajo la curva entre la anchura de la característica) a una característica. Para los espectros en los que no se ha detectado un pico en este intervalo m/z, el intervalo de integración se puede definir como el intervalo alrededor de la posición m/z media de esta característica con una anchura correspondiente a la anchura del pico en la posición m/z actual. Esta etapa también se divulga con mayor detalle en la solicitud de patente anterior de los autores U.S. 2007/0231921.

En la etapa 114, como se describe en la solicitud de patente de los autores publicada como documento US 2007/0231921, los valores de intensidad integrada de las características en el espectro se obtienen en uno o más de los siguientes intervalos m/z,

10 5732 a 5795
5811 a 5875
6398 a 6469
11376 a 11515
11459 a 11599
15 11614 a 11756
11687 a 11831
11830 a 11976
12375 a 12529
23183 a 23525
20 23279 a 23622 y
65902 a 67502.

En una realización preferida, los valores se obtienen en al menos ocho de estos intervalos m/z y, más preferentemente, en los 12 intervalos. La significación y los procedimientos de descubrimiento de estos picos se explican en la publicación de solicitud de patente anterior U.S. 2007/0231921.

25 En la etapa 116, los valores obtenidos en la etapa 114 se suministran a un clasificador, que, en la realización ilustrada, es un clasificador vecino más cercano a K (KNN). El clasificador hace uso de un equipo de formación de espectros marcados de clase de una multitud de otros pacientes (pacientes de cáncer de NSCLC o CRC). En una realización específica, el equipo de formación comprende espectros marcados de clase de una multitud de pacientes de NSCLC. La aplicación del algoritmo de clasificación de KNN a los valores en 114 y el equipo de formación se explica en nuestra publicación de solicitud de patente U.S. 2007/0231921. Se pueden usar otros clasificadores, incluido un clasificador de KNN probabilístico u otro clasificador.

35 En la etapa 118, el clasificador produce una marca para el espectro, "bueno", "malo" o bien "indefinido". Como se ha mencionado anteriormente, las etapas 104-118 se realizan en paralelo en tres alícuotas separadas de una muestra de paciente dada. En la etapa 120, se realiza una comprobación para determinar si las tres alícuotas producen la misma marca de clase. En caso contrario, se devuelve un resultado indefinido como se indica en la etapa 122. Si todas las alícuotas producen la misma marca, la marca se notifica como indicada en la etapa 124.

40 Si la marca notificada en la etapa 124 es "buena", indica que es probable que el paciente se beneficie de la administración del fármaco dirigido a la vía del EGFR o la administración continuada en el caso de monitorización de un paciente durante el curso del tratamiento. Si la marca indicada en la etapa 124 es "mala" indica que no es probable que el paciente se beneficie de la administración del fármaco dirigido a la vía del EGFR.

45 Se entenderá que las etapas 106, 114, 116 y 118 normalmente se realizan en un ordenador de propósito general programado usando software que codifica la etapa de pre-procesamiento 106, la obtención de valores de espectros en la etapa 114, la aplicación del algoritmo de clasificación de KNN en la etapa 116 y la generación de la marca de clase en la etapa 118. El equipo de formación de los espectros marcados de clase usados en la etapa 116 se almacena en la memoria del ordenador o en una memoria accesible al ordenador.

50 Los procedimientos descritos anteriormente junto con la Figura 1 se han aplicado a un conjunto de 88 muestras de plasma de pacientes de CRC que se recogieron antes del tratamiento con cetuximab (marca Erbitux, IMCLONE). De estos, 49 dieron como marca "buenos", 36 dieron como marca "malos" y 3 tuvieron como resultado la marca "indefinido". El análisis se realizó de un modo completamente enmascarado, es decir no se disponía de datos clínicos durante la determinación de la marca. Una vez que se generaron las marcas, los datos clínicos se desenmascararon y se pudo realizar un análisis de Kaplan-Meier de la supervivencia sin progresión a partir de los datos clínicos para el criterio de valoración "supervivencia sin progresión". Las curvas de Kaplan-Meier se muestran en la Figura 2 para los pacientes marcados como "buenos" y "malos". Los pacientes marcados como "buenos" tenían un mejor pronóstico tras el tratamiento con cetuximab que los pacientes marcados como "malos", con un cociente de riesgos instantáneos de 0,57 (IC del 95 %: 0,31-0,83) de bueno frente a malo. Las curvas de buenos y malos son de forma estadísticamente significativa diferentes, con un valor p del orden logarítmico de 0,007. Este resultado indica que la prueba descrita en esta solicitud se puede usar para separar a los pacientes con CRC en grupos con pronósticos estadísticamente diferentes tras el tratamiento con cetuximab.

ES 2 392 805 T3

De la discusión anterior se apreciará que la invención se refiere a un procedimiento de determinar si es probable que un paciente de cáncer colorrectal (CRC) se beneficie del tratamiento con un fármaco dirigido a la vía del EGFR, que comprende las etapas de:

- a) obtener un espectro de masas de una muestra del paciente basada en sangre;
- 5 b) realizar una o más etapas pre-procesamiento predefinidas en el espectro de masas obtenido en la etapa a);
- c) obtener valores de intensidad integrados de características seleccionadas en dicho espectro en uno o más intervalos de m/z predefinidos después de que se hayan realizado las etapas de pre-procesamiento en el espectro de masas de la etapa b); y
- 10 d) usar los valores obtenidos en la etapa c) en un algoritmo de clasificación usando un equipo de formación que comprende espectros marcados de clase producidos de muestras basadas en sangre de otros pacientes para identificar al paciente que es probable que se beneficie o que es probable que no se beneficie del tratamiento con dicho fármaco;

en el que el uno o más intervalos m/z comprende uno o más intervalos m/z seleccionados del grupo de intervalos m/z que consisten en:

- 15 5732 a 5795
5811 a 5875
6398 a 6469
11376 a 11515
11459 a 11599
- 20 11614 a 11756
11687 a 11831
11830 a 11976
12375 a 12529
23183 a 23525
- 25 23279 a 23622 y
65902 a 67502,

y en el que el fármaco comprende un anticuerpo monoclonal inhibidor del factor de crecimiento epidérmico.

Preferentemente, aunque no necesariamente, el espectro de masas se obtiene de un espectrómetro de masas MALDI.

- 30 Con el término "cáncer colorrectal" se pretende que se interprete en su sentido amplio y abarca cualquier cáncer de colon y de recto, tal como se entiende el término en la técnica.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de determinar si es probable que un paciente de cáncer colorrectal (CRC) se beneficie del tratamiento con un fármaco dirigido a la vía del EGFR, que comprende las etapas de:

a) obtener un espectro de masas de una muestra del paciente basada en sangre;

5 b) realizar una o más etapas pre-procesamiento predefinidas en el espectro de masas obtenido en la etapa a);

c) obtener valores de intensidad integrados de características seleccionadas en dicho espectro en uno o más intervalos m/z predefinidos después de que se hayan realizado las etapas de pre-procesamiento en el espectro de masas de la etapa b); y

10 d) usar los valores obtenidos en la etapa c) en un algoritmo de clasificación usando un equipo de formación que comprende espectros marcados de clase producidos de muestras basadas en sangre de otros pacientes para identificar al paciente que es probable que se beneficie o que es probable que no se beneficie del tratamiento con dicho fármaco;

en el que el uno o más intervalos m/z comprende uno o más intervalos m/z seleccionados del grupo de intervalos m/z que consisten en:

15 5732 a 5795

5811 a 5875

6398 a 6469

11376 a 11515

11459 a 11599

20 11614 a 11756

11687 a 11831

11830 a 11976

12375 a 12529

23183 a 23525

25 23279 a 23622 y

65902 a 67502;

y en el que el fármaco comprende un anticuerpo monoclonal inhibidor del factor de crecimiento epidérmico..

2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el espectro de masas se obtiene de un espectrómetro de masas MALDI.

30 3. El procedimiento de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que las etapas pre-procesamiento predefinidas comprenden una etapa de resta del fondo que produce un espectro con fondo restado y una etapa de normalización que realiza una normalización del espectro de fondo restado.

35 4. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el equipo de formación comprende espectros marcados de clase producidos a partir de muestras basadas en sangre obtenidas de pacientes de cáncer de pulmón no microcítico.

Fig. 1

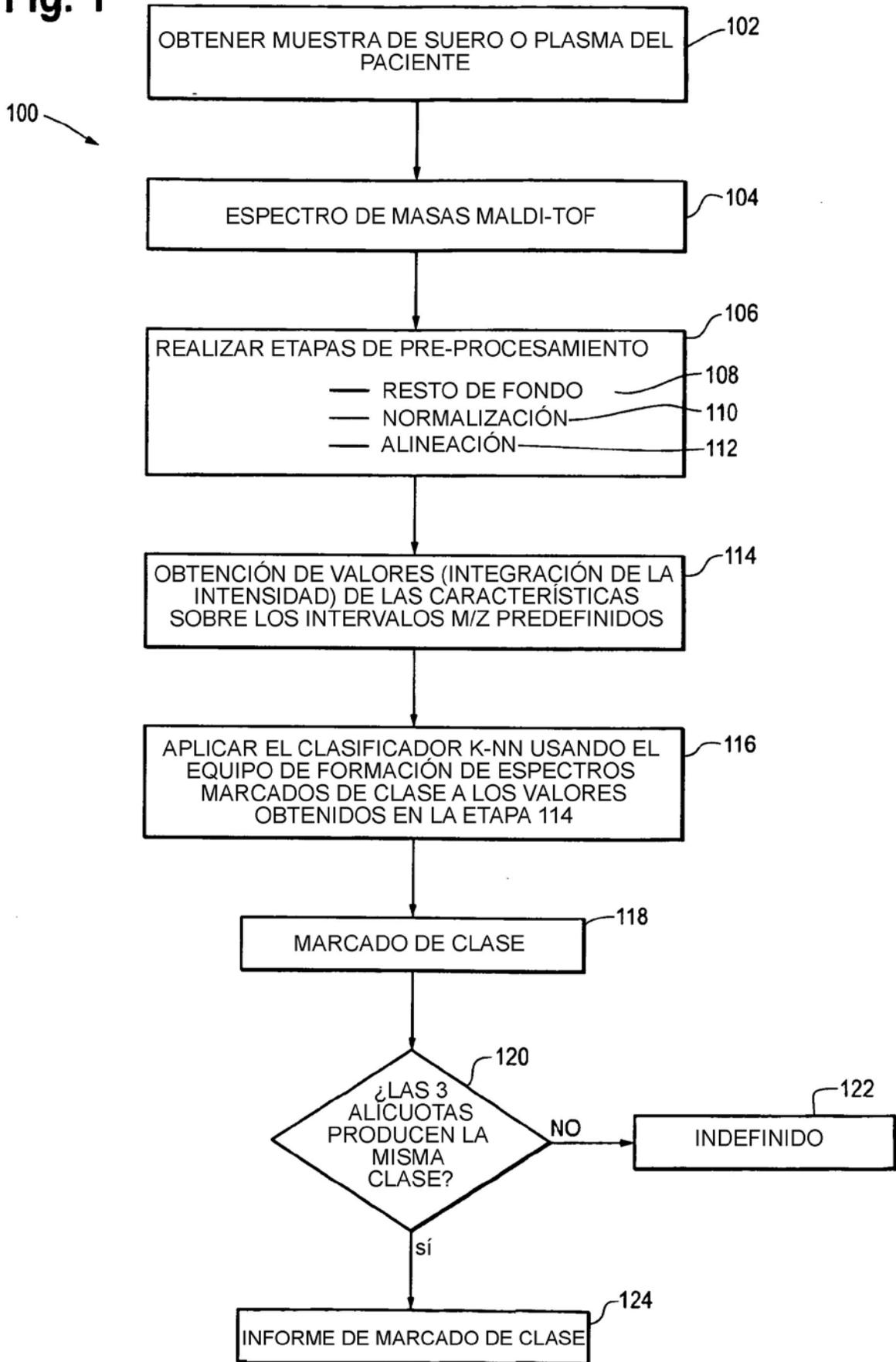


Fig. 2

