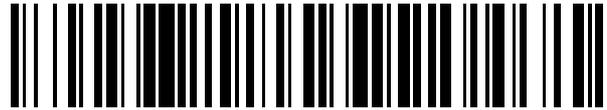


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 437 570**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.06.2005 E 05748183 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2013 EP 1751684**

54 Título: **Método para la utilización de mapas de densidad basados en valores de marcadores, en el diagnóstico de pacientes con enfermedades, particularmente tumores**

30 Prioridad:

04.06.2004 DE 102004027429

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

13.01.2014

73 Titular/es:

**SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS GMBH
(100.0%)**

**LUDWIG-ERHARD-STRASSE 12
65760 ESCHBORN, DE**

72 Inventor/es:

**BUTZ, HERMANN y
KELLER, THOMAS**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 437 570 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

Método para la utilización de mapas de densidad basados en valores de marcadores, en el diagnóstico de pacientes con enfermedades, particularmente tumores.

5 La presente invención hace referencia a un método para la utilización de mapas de densidad basados en valores de marcadores tumorales, otras sustancias indicadoras y valores indicadores en el diagnóstico de pacientes con una enfermedad tumoral, particularmente el carcinoma de próstata. La presente invención hace referencia en particular a la aplicación de un método matemático, con cuya ayuda mediante pares de valores de marcadores tumorales, se puede asociar a un paciente un riesgo de presentar un tumor.

10 El objeto de la presente invención consiste en asociar al paciente el riesgo de un tumor, particularmente un carcinoma de próstata, expresado mediante el valor positivo previsto para una situación de aplicación clínica específica, en base a valores de marcadores tumorales medidos para el paciente, o bien en base a otras sustancias o valores indicadores, mediante un mapa de densidad.

15 Hasta el momento, el estado del arte de acuerdo con el diagnóstico de tumores, particularmente el carcinoma de próstata, se realiza mediante marcadores tumorales y otras sustancias indicadoras y valores indicadores, de la siguiente manera:

a) se mide una sustancia indicadora, en donde el nivel de la sustancia indicadora se correlaciona con la existencia de una enfermedad tumoral. Con la ayuda de un valor de corte determinado en una población de estudio, se asocia al paciente el grupo maligno o benigno, según la posición del valor de medición, ya sea superior o inferior a dicho valor de corte.

20 b) se miden una pluralidad de sustancias indicadoras, o bien de valores indicadores, y mediante un árbol de decisión se obtienen una pluralidad de decisiones en correspondencia con a), o se combinan mediante métodos matemáticos (por ejemplo, lógica difusa, EP 0922266 B1), y con la ayuda de un valor de corte artificial (por ejemplo, entre 0 y 1) se asocia malignidad e histología.

25 c) se miden dos sustancias indicadoras, o bien valores de marcadores tumorales, y a partir de dichas sustancias o valores se conforma un ratio. El ratio se correlaciona en gran medida como un marcador tumoral, sólo ante la existencia de una enfermedad tumoral. Con la ayuda de un valor de corte para dicho ratio, determinado en una población de estudio, se obtiene nuevamente una decisión en el sentido de a).

30 d) además de las sustancias indicadoras, o bien de los marcadores tumorales, se incluyen parámetros (como por ejemplo, la edad) que influyen ya sea en el cuadro clínico o en las propiedades de medición de las sustancias indicadoras,

e) se utilizan métodos de cálculo complejos (por ejemplo, redes neuronales), en los cuales se incluyen valores de marcadores tumorales, sustancias indicadoras, así como valores indicadores, para mejorar la sensibilidad y/o la especificidad de los diagnósticos.

35 Las patentes US2003/0233197-A1 y WO02/095650-A2 revelan métodos para el análisis de datos de expresión de genes, mediante un análisis estadístico bayesiano para la extracción de información clínica relevante.

Las invenciones hasta el momento en relación con el carcinoma de próstata, describen generalmente la medición de valores de marcadores tumorales, y simultáneamente la aplicación de valores, así como sus ratios (razón) para el diagnóstico:

40 En este caso se menciona como ejemplo la patente US PS 5,501,983 para los ratios de PSA libre (fPSA) y PSA complejo (cPSA).

Las soluciones utilizadas de acuerdo con el estado del arte, se caracterizan porque en general existe un área de superposición de pacientes enfermos con un tumor y pacientes sanos, en relación con los marcadores tumorales anteriormente mencionados, las sustancias indicadoras y valores indicadores, o bien las magnitudes calculadas. Una solución resulta mejor, en tanto que el área de superposición se divida de una manera más ventajosa.

45 Todos los métodos conocidos hasta el momento, que utilizan una pluralidad de marcadores tumorales, no dividen de una manera óptima el área de superposición. Además, el área de superposición se representa, generalmente, de una manera insuficiente (por ejemplo, en forma de diagramas de dispersión), o no se describen en absoluto. En el presente caso, por ejemplo, una modelización matemática, se puede representar una relación con el diagnóstico clínico sólo en el sentido de una aserción de probabilidad que se puede aplicar directamente a la situación del paciente.

50

La aplicación de métodos complejos (por ejemplo, redes neuronales) logra resultados mejorados, sin embargo, se encuentran demasiado sujetos a los datos individuales.

De esta manera, todas las soluciones que se basan en una pluralidad de marcadores, sustancias indicadoras y valores indicadores, presentan la desventaja de que describen de una manera inadecuada el riesgo de presentar un tumor. Las soluciones presentan como resultado ya sea un valor de medición o un valor derivado que se asocian con el riesgo de presentar un tumor (correlación) que, sin embargo, no describen el riesgo directamente en el sentido del valor positivo previsto.

Conforme a la presente invención, el objeto se resuelve mediante el hecho de que para las siguientes etapas del método, se utilizan sustancias indicadoras producidas según su clase por células tumorales, generadas en otras células corporales mediante el tumor, y transformadas mediante el tumor en sustancias no específicas del tumor en su concentración, que se han determinado a partir de un análisis directo de la sustancia, y porque

(2) los valores de medición de las sustancias indicadoras se registran, de acuerdo con su número, en un diagrama de dispersión de 2 o más dimensiones, y

(3) mediante bloques de datos almacenados y significativos en relación con el diagnóstico, y procesados con la ayuda del método matemático Kernel para la estimación de densidades, que en el diagrama de dispersión mencionado logran un mapa de densidad, y se asocian a una densidad que

(4) corresponde a un riesgo de presentar un tumor, representado mediante el valor positivo previsto, en una situación específica de aplicación clínica (por ejemplo, situación de prueba, diagnóstico clínico inicial, fase posterior al tratamiento).

Resulta ventajoso cuando en el caso de las sustancias indicadoras para el diagnóstico del carcinoma de próstata, se trata de marcadores tumorales que son formas libres o combinadas, o fracciones moleculares del antígeno específico de la próstata (PSA). De esta manera, se realizan los mapas de densidad de dos dimensiones para la formación de pares cPSA - tPSA, fPSA - tPSA o cPSA - fPSA, explícitamente para el diagnóstico del carcinoma de próstata. Por otra parte, se pueden utilizar también como valores indicadores, magnitudes calculadas a partir de sustancias indicadoras. De esta manera, las magnitudes fPSA/tPSA (cociente), cPSA/ tPSA (cociente) o tPSA-fPSA (diferencia), se pueden utilizar como valores indicadores que se registran en un eje, en este caso junto con uno de los parámetros anteriormente mencionados, o en ambos ejes de un mapa de densidad de dos dimensiones.

La presente invención se explica en detalle de acuerdo con tres ejemplos de ejecución. Para cada ejemplo se utilizan macromoléculas de la sangre o de otros fluidos corporales, como sustancias indicadoras producidas según su clase por células tumorales, generadas en otras células corporales mediante el tumor, y transformadas mediante el tumor en sustancias no específicas del tumor en su concentración. Los valores de medición de las sustancias indicadoras se determinan a partir de un análisis directo de la sustancia. Además, se incluyen valores indicadores relacionados con el cuadro clínico (por ejemplo, modificaciones anatómicas) o las propiedades de medición de los marcadores tumorales o bien, de las sustancias indicadoras (por ejemplo, la edad). A continuación, en los ejemplos de ejecución se describen las etapas restantes del método para la determinación del pronóstico positivo.

La presente invención se puede aplicar también para el diagnóstico y el diagnóstico diferencial de otros tumores. Por ejemplo, en el caso del diagnóstico del carcinoma bronquial, se utilizan los pares de marcadores tumorales CYFRA 21-1 y Pro-GRP, CYFRA 21-1 y NSE o Tripel, en donde se registra además CEA. Para el diagnóstico diferencial entre el carcinoma bronquial que presenta células pequeñas vs. el que no presenta células pequeñas, se puede utilizar un mapa de densidad que se basa también en los pares de marcadores tumorales CYFRA 21-1 y ProGRP, o CYFRA 21-1 y NSE. Para el diagnóstico diferencial dentro de los tumores que no presentan células pequeñas (adenocarcinoma vs. carcinoma de células escamosas) se puede utilizar un mapa de densidad que se basa en los pares de marcadores CYFRA 21-1 y CEA, o SCC y CEA.

Además, la aplicación de la presente invención no se encuentra limitada para los tumores. Por ejemplo, los mapas de densidad se pueden utilizar para el diagnóstico o la evaluación predictiva de procesos inflamatorios graves. En este caso se utilizan, por ejemplo, parámetros de laboratorio de inflamación, como por ejemplo, CRP, IL-6 (u otros marcadores de citocina). Como valor indicador adicional se puede utilizar un valor de puntuación (por ejemplo, la puntuación APACHE), que resume el estado del paciente.

La aplicación de los mapas de densidad se puede realizar tanto de forma manual (similar al nomograma) así como de manera asistida por ordenador.

Ejemplo de ejecución 1

(1) Los valores de medición de las sustancias indicadoras en el plasma sanguíneo de una persona, se reúnen de acuerdo con la primera etapa del método. Como resultado se obtiene la siguiente lista de datos:

Tabla 1

| Sustancia indicadora | Valor de medición |
|----------------------|-------------------|
| cPSA | 3 µg/L |
| tPSA | 4,2 µg/L |

5 (2) En la segunda etapa del método se registran los valores de medición en un diagrama de dispersión. El registro se muestra en la figura 1.

(3) En dicha etapa del método, la posición en el diagrama de dispersión se asocia a una densidad (observar la figura 2), con los bloques de datos almacenados y significativos en relación con el diagnóstico, y procesados con la ayuda del método matemático Kernel para la estimación de densidades, que en el diagrama de dispersión mencionado logran un mapa de densidad. Dicha asociación se puede realizar mediante una técnica de cálculo o en forma de un nomograma.

En este caso, el procesamiento matemático de los bloques de datos almacenados y significativos en relación con el diagnóstico, se realiza de la siguiente manera:

15 a) Selección de la base de datos, y asociación a una situación de aplicación clínica: datos de tPSA y cPSA de la situación de aplicación "diagnóstico clínico inicial ante la sospecha de la existencia de un carcinoma de próstata".

b) Subdivisión del rango de medición en una trama (en este caso 20x20 intervalos).

20 c) Cálculo de las densidades de Kernel D_{dis} de los casos (PCA) con carcinoma de próstata, y D_{nondis} de los casos (nPCA) que no presentan carcinoma de próstata, para cada punto de trama, por ejemplo, según Härdle 2003, en donde se utiliza un Kernel Gaussiano, y se calcula el ancho de la línea de acuerdo con la "regla general" indicada en la bibliografía citada. (Cita: Härdle W, Simar L: Análisis estadístico multivariable aplicado. Editorial Springer-Verlag, Berlín Heidelberg 2003, pág. 25 y pág. siguientes).

d) Determinación de los cocientes $D_{dis}/(D_{dis}+D_{nondis})$ para cada punto de trama.

e) Creación del gráfico con un programa de ordenador apropiado.

A los valores de medición se asocia el rango de densidad de 0.5 - 0.6. (Figura 2)

25 (4) A dicho rango de densidad le corresponde un valor positivo previsto del 50-60% para el paciente de probabilidad de presentar un carcinoma de próstata.

Ejemplo de ejecución 2

(1) Los valores de medición de las sustancias indicadoras en el plasma sanguíneo de una persona, se reúnen de acuerdo con la primera etapa del método. Como resultado se obtiene la siguiente lista de datos:

30 Tabla 2

| Sustancia indicadora | Valor de medición |
|----------------------|-------------------|
| tPSA | 6.2 µg/l |
| fPSA/tPSA % | 16% |

(2) En la segunda etapa del método se registran los valores de medición en un diagrama de dispersión. El registro se muestra en la figura 3.

5 (3) En dicha etapa del método, la posición en el diagrama de dispersión se asocia a una densidad (observar la figura 4), con los bloques de datos almacenados y significativos en relación con el diagnóstico, y procesados con la ayuda del método matemático Kernel para la estimación de densidades, que en el diagrama de dispersión mencionado logran un mapa de densidad. Dicha asociación se puede realizar mediante una técnica de cálculo o en forma de un nomograma.

En este caso, el procesamiento matemático de los bloques de datos almacenados y significativos en relación con el diagnóstico, se realiza de la siguiente manera:

- a) Selección de la base de datos, y asociación a una situación de aplicación clínica: datos de tPSA y fPSA/tPSA de la situación de aplicación "diagnóstico inicial de carcinoma de próstata".
- 10 b) Subdivisión del rango de medición en una trama (en este caso 20x20 intervalos).
- c) Cálculo de las densidades de Kernel D_{dis} de los casos PCA, y D_{nondis} de los casos nPCA, para cada punto de trama, por ejemplo, según Härdle 2003, en donde se utiliza un Kernel Gaussiano, y se calcula el ancho de la línea de acuerdo con la "regla general" indicada en la bibliografía citada. (Cita: Härdle W, Simar L: Análisis estadístico multivariable aplicado. Editorial Springer-Verlag, Berlín Heidelberg 2003, pág. 25 y pág. siguientes).
- 15 d) Determinación de los cocientes $D_{dis}/(D_{dis}+D_{nondis})$ para cada punto de trama.
- e) Creación del gráfico con un programa de ordenador apropiado.

A los valores de medición se asocia el rango de densidad de 0.07-0.14.

(4) A dicho rango de densidad le corresponde un valor positivo previsto del 7% - 14 % para el paciente, de probabilidad de presentar un carcinoma de próstata.

20 **Ejemplo de ejecución 3**

(1) Los valores de medición de las sustancias indicadoras en el plasma sanguíneo de una persona, se reúnen de acuerdo con la primera etapa del método. Como resultado se obtiene la siguiente lista de datos:

Tabla 3

| Sustancia indicadora, valor indicador | Valor de medición |
|---------------------------------------|--------------------|
| tPSA | 3 µg/l |
| cPSA | 4,2 µg/l |
| Volumen de próstata | 62 cm ³ |

25 (2) En la segunda etapa del método se registran los valores de medición en un diagrama de dispersión de tres dimensiones. En el presente caso, el diagrama de dispersión de tres dimensiones se divide en una pluralidad de capas (secciones) que se representan en cada caso como diagramas de dispersión de dos dimensiones (figura 5).

30 (3) En dicha etapa del método, la posición en el diagrama de dispersión se asocia a una densidad (observar la figura 6), con los bloques de datos almacenados y significativos en relación con el diagnóstico, y procesados con la ayuda del método matemático Kernel para la estimación de densidades, que en el diagrama de dispersión mencionado logran un mapa de densidad. Dicha asociación se puede realizar mediante una técnica de cálculo o en forma de un nomograma.

En este caso, el procesamiento matemático de los bloques de datos almacenados y significativos en relación con el diagnóstico, se realiza de la siguiente manera:

- 35 a) Selección de la base de datos, y asociación a una situación de aplicación clínica: datos de tPSA y cPSA de la situación de aplicación "diagnóstico clínico inicial ante la sospecha de la existencia de un carcinoma de próstata".

b) Subdivisión del rango de medición en una trama (en este caso 20x20x3 intervalos).

5 c) Cálculo de las densidades de Kernel D_{dis} de los casos PCA, y D_{nondis} de los casos nPCA, para cada punto de trama, por ejemplo, según Härdle 2003, en donde se utiliza un Kernel Gaussiano, y se calcula el ancho de la línea de acuerdo con la "regla general" indicada en la bibliografía citada. (Cita: Härdle W, Simar L: Análisis estadístico multivariable aplicado. Editorial Springer-Verlag, Berlín Heidelberg 2003, pág. 25 y pág. siguientes).

d) Determinación de los cocientes $D_{dis}/(D_{dis}+D_{nondis})$ para cada punto de trama.

e) Creación del gráfico en tres dimensiones o de las capas del gráfico en dos dimensiones, con un programa de ordenador apropiado.

10 A los valores de medición se asocia en la capa de densidad >45 ccm correspondiente al volumen de próstata, el rango de densidad de 0.18 - 0.27.

(4) A dicho rango de densidad le corresponde un valor positivo previsto del 18% - 27% para el paciente, de probabilidad de presentar un carcinoma de próstata (en el caso de valores iguales de marcadores tumorales, resulta notablemente menor que en el ejemplo de ejecución 1).

REIVINDICACIONES

1. Método para la asociación específica para el paciente, de un riesgo de presentar carcinoma de próstata, mediante n sustancias indicadoras de fluidos corporales, caracterizado porque

a) n es > 1,

5 b) los valores de medición $x_{i, \text{pat}}$ del paciente de n sustancias indicadoras ($i=1, \dots, n$), se registran en un sistema de coordenadas de n dimensiones, de manera que se obtiene el punto $(x_{1, \text{pat}}, x_{2, \text{pat}}, \dots, x_{n, \text{pat}})$,

10 c) en el sistema de coordenadas dentro del espacio fijado por los rangos de valores de las sustancias indicadoras individuales, se calculan curvas o áreas que representan funciones g para la sustancia indicadora k en relación con las n-1 sustancias indicadoras restantes (1, ..., k-1, k+1, ..., n), y se caracterizan por ser curvas o áreas que presentan los mismos valores funcionales y de una función $y = f(x_1, x_2, \dots, x_n)$, en donde la función y se obtiene a partir de los cocientes de las áreas de densidad calculadas mediante el método Kernel para la estimación de densidades para (i) pacientes enfermos, y a partir de (ii) la suma de pacientes enfermos y no enfermos de una población de estudio registrada en el sistema de coordenadas de n dimensiones,

d) a partir de la totalidad de curvas o áreas calculadas, se selecciona un subgrupo con p curvas o áreas,

15 e) al punto (x_1, x_2, \dots, x_n) se asigna un valor entre los valores funcionales representados mediante ambas curvas o áreas del subgrupo dispuestas a continuación, y dicho valor asignado corresponde a un riesgo determinado de presentar una enfermedad;

20 **caracterizado porque** se utilizan las sustancias indicadoras cPSA, tPSA o fPSA, u otras formas moleculares de PSA (por ejemplo, BPSA, proPSA, intact-PSA, PSA-API, PSA-ACT, PSA-alpha-2M) o magnitudes calculadas a partir de cualquier combinación de dichas formas moleculares de PSA del suero sanguíneo.

2. Método de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el valor asignado en la etapa e), es el valor medio entre los valores funcionales.

25 **3. Método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque** la población de estudio en la etapa c) se trata de una población que se utiliza convencionalmente para la determinación de valores de corte para los valores indicadores individuales para el diagnóstico de la enfermedad.

4. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque además se utilizan otros métodos de suavizado, de ponderación, así como métodos para el control de valores extremos durante el cálculo de acuerdo con el método de Kernel para la estimación de densidades en la etapa c).

30 **5. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque** en lugar de las sustancias indicadoras, en una evaluación similar se incluyen otros parámetros relacionados específicamente con las enfermedades tumorales, en donde, sin embargo, en el análisis se incluye, al menos, una sustancia indicadora.

Fig.1

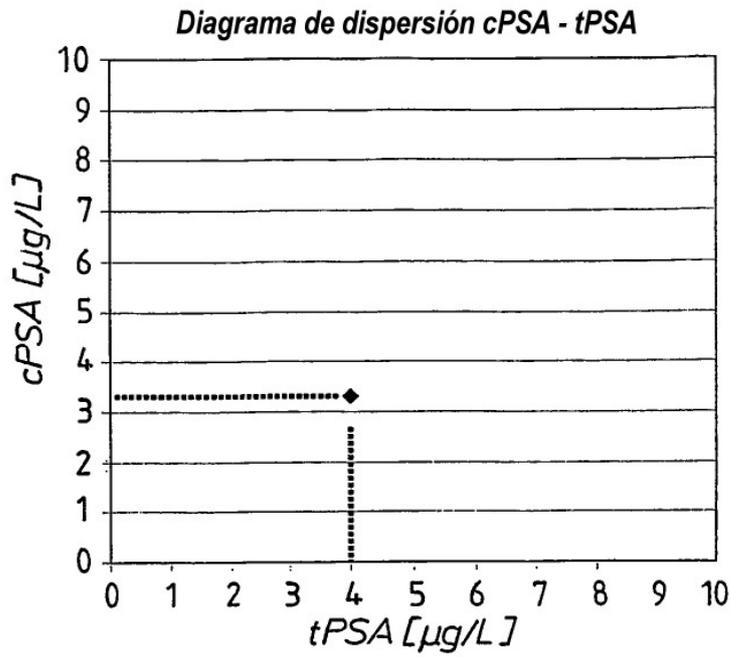


Fig.2

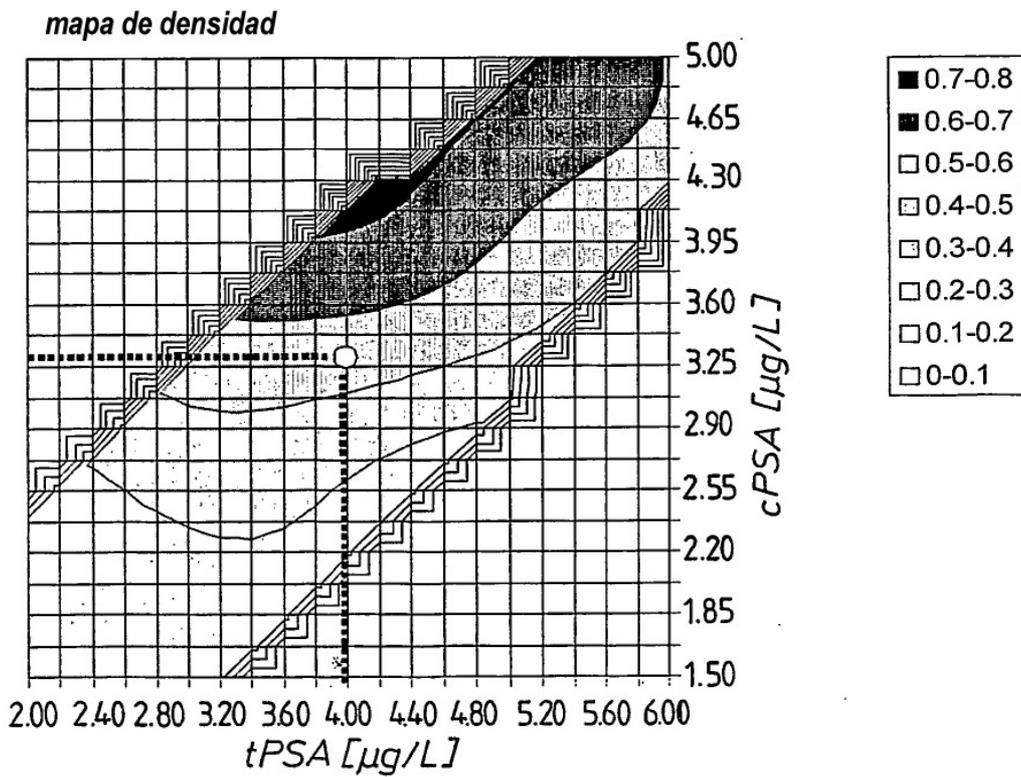


Fig. 3

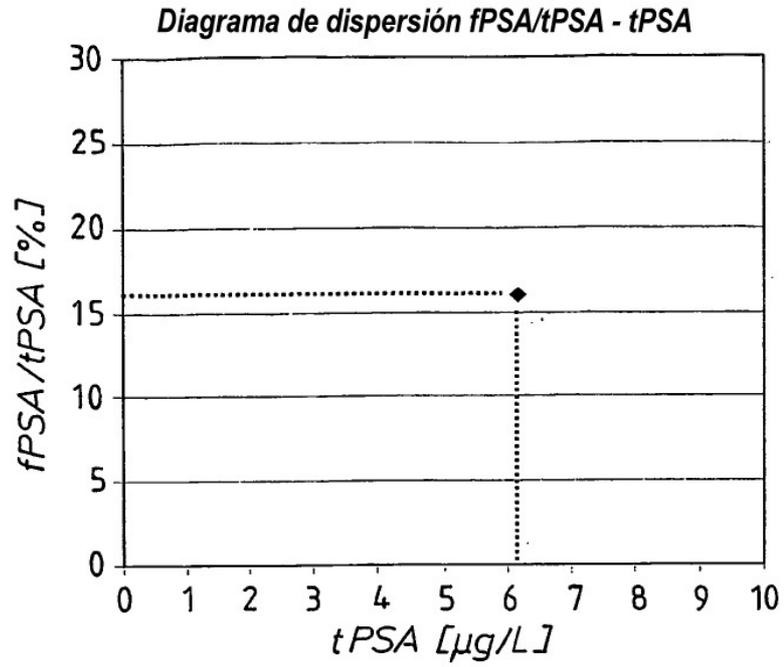


Fig. 4

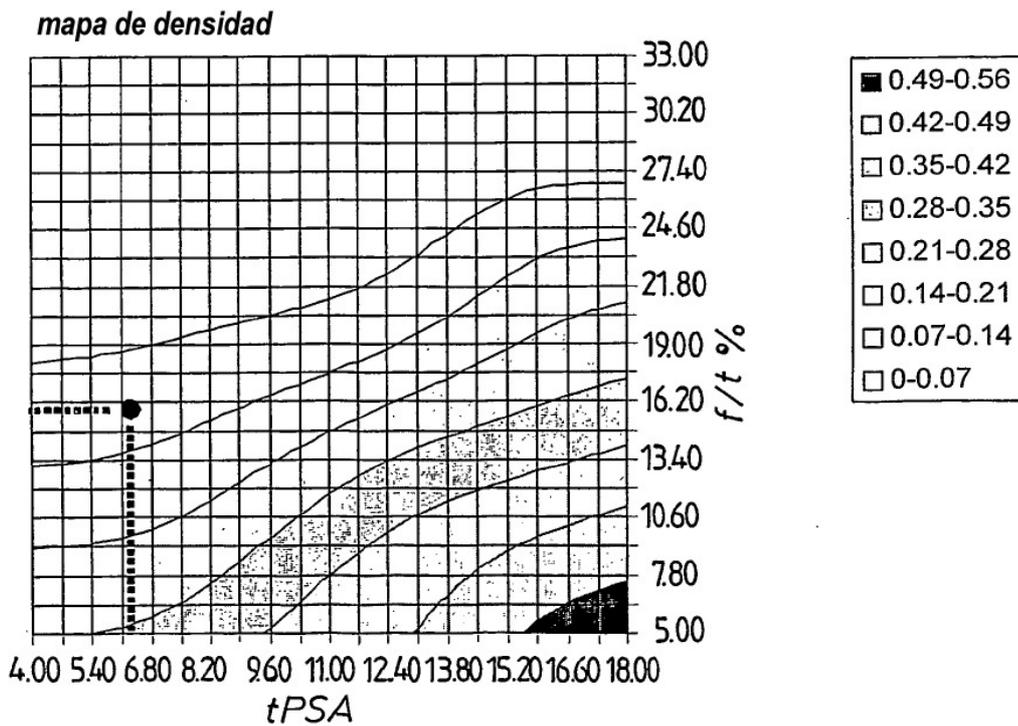


Fig.5a

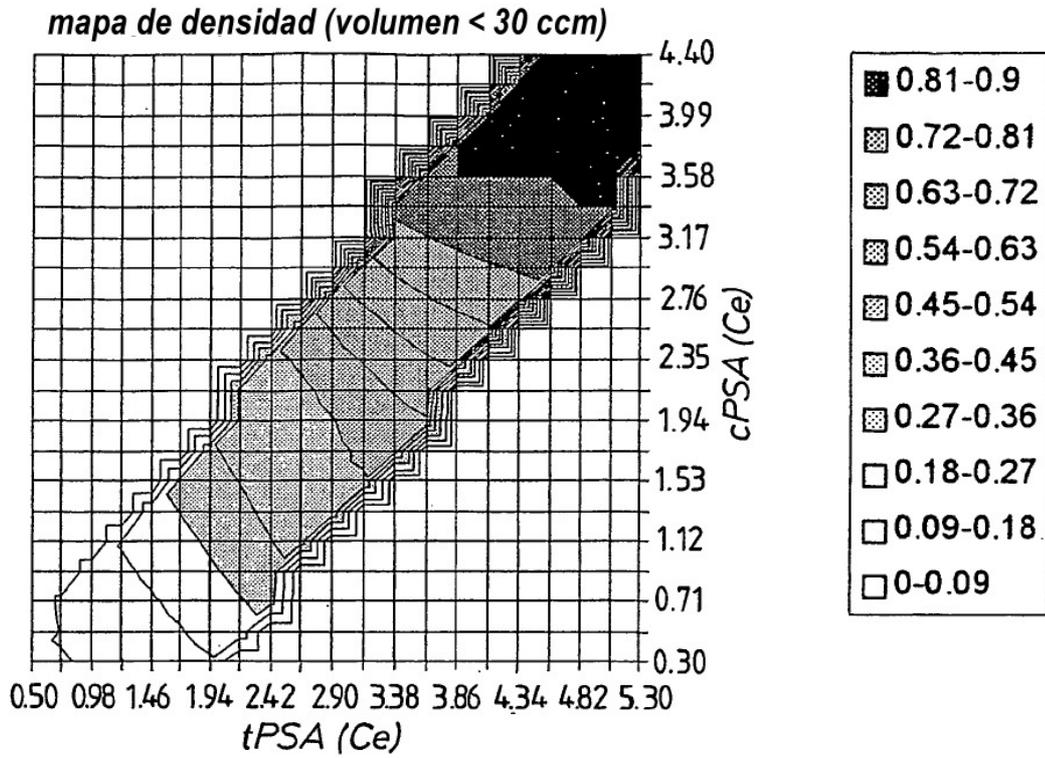


Fig.5b

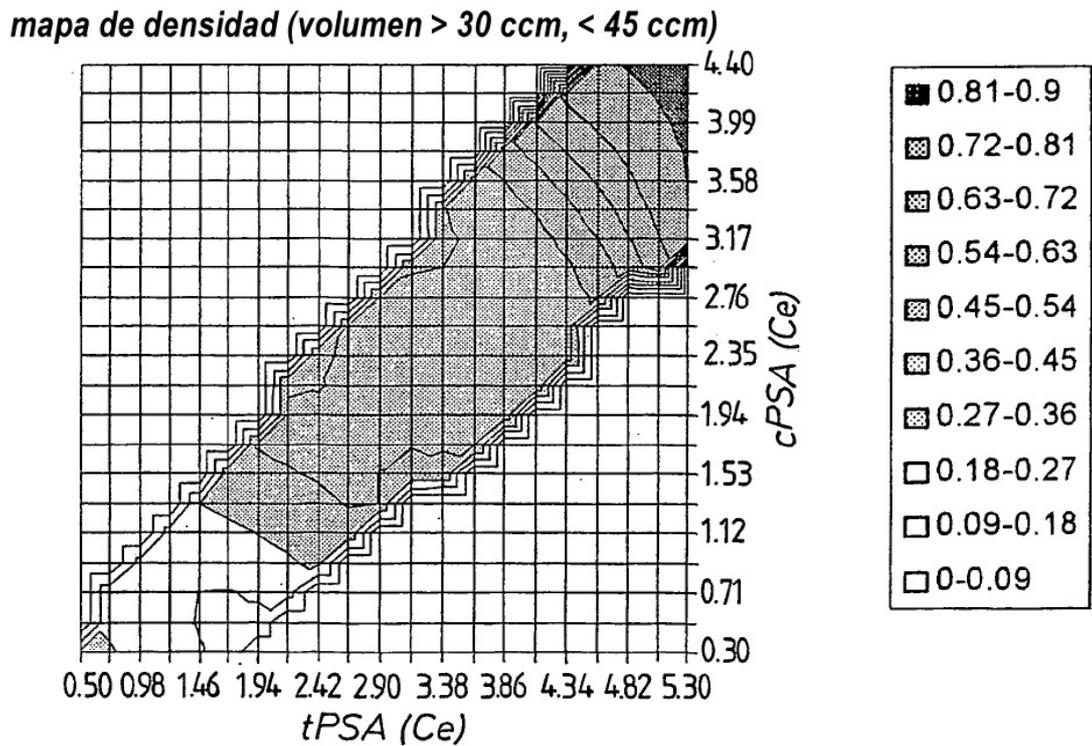


Fig. 5c

