

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 516 866**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/574** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.06.2010 E 10724454 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.07.2014 EP 2438445**

54 Título: **Medios y métodos para el diagnóstico de carcinomas de próstata**

30 Prioridad:

**04.06.2009 EP 09161956**

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

**31.10.2014**

73 Titular/es:

**METANOMICS HEALTH GMBH (50.0%)  
Tegeler Weg 33  
10589 Berlin, DE y  
CHARITÉ UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN  
(50.0%)**

72 Inventor/es:

**KAMLAGE, BEATE;  
BETHAN, BIANCA;  
RESZKA, REGINA;  
LEIBOLD, EDGAR;  
JUNG, KLAUS;  
LEIN, MICHAEL y  
KRISTIANSEN, GLEN**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**ES 2 516 866 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

Medios y métodos para el diagnóstico de carcinomas de próstata

La presente invención se refiere a un método, preferiblemente un método ex vivo, para el diagnóstico de carcinomas de próstata o de la predisposición a los mismos que comprende la determinación de por lo menos un metabolito en una muestra de ensayo de un sujeto que se sospecha que sufre de carcinomas de próstata o que tiene una predisposición a los mismos, y la comparación de al menos dicho metabolito con una referencia, por medio de la cual se diagnostican los carcinomas de próstata o una predisposición a los mismos. Además, la presente invención abarca el uso de al menos dicho metabolito para el diagnóstico de carcinomas de próstata.

El cáncer de próstata (PCA) es un crecimiento descontrolado (maligno) de células en la glándula prostática y la neoplasia más frecuente en el mundo occidental. La causa del cáncer de próstata no se entiende completamente en la actualidad. Más de 180.000 nuevos casos de pacientes de PCA fueron diagnosticados en 2008 en los EE.UU. La prevalencia esperada para los EE.UU. será de 2.175.699 pacientes con cáncer de próstata en 2010. Existen varias pruebas usadas para diagnosticar el cáncer de próstata, que incluyen el examen rectal digital (DRE), ecografía transrectal (TRUS), antígeno prostático específico (PSA) libre y total, derivados de PSA como porcentaje de PSA libre (% fPSA), valores de PSA específicos de la edad, densidad del PSA, velocidad del PSA, prueba de la fosfatasa ácida prostática (PAP), biopsia de próstata, la tomografía computarizada (exploración por TC), gammagrafía ósea y/o imágenes de resonancia magnética (MRI).

El análisis en plasma del antígeno específico prostático -PSA- ha sido un factor importante en el aumento de la toma de conciencia y un mejor manejo de los pacientes con PCA, pero su falta de especificidad limita su uso en el diagnóstico y hace que sea adecuado para la detección precoz del PCA. El PSA es específico del órgano pero no de cáncer. Esto conduce a un alto número de resultados que son falsos positivos. El diagnóstico de PCA se puede confirmar solo mediante una biopsia. Se llevaron a cabo más de 800.000 de estos procedimientos invasivos y costosos cada año en los EE.UU. A pesar de las controversias sobre el PCA persiste el cribado (Wilson SS, Crawford ED 2004, Clin. Prostate Cancer 3: 21 - 25, Crawford ED 2005, Lancet 365: 1447 - 1449). La detección temprana de la PCA es probable (Schroder FH et al, 2009, N Engl J Med. 26 de marzo; 360 (13): 1320 - 1328; Andriole GL et al. 2009 N Engl J Med 26 de marzo; 360 (13): 1310 - 1319 que resulte en una intervención en una etapa temprana de la enfermedad y, por tanto, un aumento del éxito del tratamiento. Pero la detección temprana de PCA y el progreso de la enfermedad carecen de marcadores definitivos para la enfermedad.

El uso de la metabolómica para generar biomarcadores para el diagnóstico o pronóstico del cáncer y la evaluación terapéutica son actualmente el foco de atención (Spratlin 2009, Clin Cancer Res 15 (2): 431 - 440). Serkova et al 2008; (The prostate 68: 620 - 628) ha publicado concentraciones absolutas de citrato de metabolitos, mio-inositol y espermina en secreciones prostáticas humanas expresadas (EPS) como marcadores independientes de la edad de PCA. Recientemente, se analizaron los perfiles metabolómicos de plasma de tejido y muestras de orina después de examen rectal digital de pacientes de PCA con biopsia positiva e individuos de control con biopsia negativa (Sreekumar 2009, Nature 457 (12): 910 - 914). Se sugirió la sarcosina como un biomarcador potencial para el progreso del cáncer de próstata.

Osi et al 2008, Bioinformatics 24(24): 2908 - 2914, US 2009/0075284 A1 y la publicación internacional No. WO 2007/109881 A1 divulgan marcadores metabólicos adicionales para cáncer de próstata. Porcelli et al, 1997, Rapid Commun Mass Spectrom 11: 398 - 404 divulgan el uso del metabolito 7-metilguanina como biomarcador para el diagnóstico de carcinoma colorrectal.

Sin embargo, en vista del alto número de diagnósticos falsos positivos o falsos negativos del carcinoma de próstata, todavía hay una gran necesidad por biomarcadores que permitan un diagnóstico o pronóstico confiable y eficiente de carcinoma de próstata.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un método para el diagnóstico de un carcinoma de próstata o una predisposición al mismo, que comprende:

(a) determinar el metabolito 7-Metilguanina y opcionalmente al menos un metabolito opcional en una muestra de ensayo de un sujeto que se sospecha que sufren de un carcinoma de próstata o que tiene una predisposición de padecerlo, siendo al menos dicho metabolito seleccionado de entre el grupo que consiste de: ácido 2-hidroxibehénico (C22:0), ácido cerebrónico (2-OH-C24:0), isopentenilo pirofosfato (IPP), ácido 14-metilhexadecanoico, ácido 2-aminoadipínico, ceramida (d18:1, C24:1), ácido eicosenoico (C20:cis[11]1), ácido tricosanoico (C23:0), Glicerofosfoetanolamina, ácido, eicosadienoico (C20:2) No 02 como se define en la Tabla 5, arginina, ácido behénico (C22:0), beta-caroteno, colesteno No 02 como se define en la Tabla 5, citosina, DAG (C18:1, C18:2), dihidrocolesterol, eritro-dihidroesfingosina, ácido docosahexaenoico (C22:cis[4,7,10,13,16]19]6), dodecanol, ácido eicosanoico (C20:0), ácido eicosapentaenoico (C20:cis[5,8,11,14,17]5), ácido dihomo-gammalinolénico (C20:cis[8,11,14]3), eritro-C16-esfingosina, flavina adenina dinucleótido (FAD), gamma-tocoferol, ácido

5 glucónico, ácido glucurónico, glicerol-2-fosfato, ácido lignocérico (C24:0), lisofosfatidilcolina (C18:2),  
 10 lisofosfatidilcolina (C20:4), maltotriosa, mio-Inositol, mio-Inositol-2-fosfato, ácido nervónico (C24:cis[15]1),  
 15 nicotinamida, pentadecanol, fosfatidilcolina (C18:0, C22:6), fitoesfingosina, pseudouridina, piruvato, 3-O-  
 metilesfingosina, treo-esfingosina, 5-O-metilesfingosina, eritro-esfingosina, esfingosina-1-fosfato, ácido treónico,  
 20 esfingosina isómero No 01 como se define en la Tabla 5, plasmalógeno de colina (C18, C20:4), ácido 2-  
 oxoisocaproico, Identificación del metabolito (68300015) como se define en la Tabla 5, Identificación del metabolito  
 (68300047) como se define en la Tabla 5, ácido eritrónico, mio-Inositolfosfolípidos, Identificación del metabolito  
 (38300600) como se define en la Tabla 5, 1,5-anhidrosorbitol, 3-hidroxibutirato, 3-metoxitirosina, 4-hidroxi-3-  
 10 metoxifenilglicol (HMPG), ácido 5-hidroxi-3-indolacético (5-HIAA), beta-sitosterol, cantaxantina, ceramida (d18:1,  
 C24:0), Identificación del metabolito (68300017) como se define en la Tabla 5, coenzima Q10, ácido linoleico  
 conjugado (C18:trans[9,11]2), criptoxantina, dihidrotestosterona, ácido gamma-linolénico - (C18:cis [6,9,12]3),  
 glicerato, lactato, licopeno, lisofosfatidilcolina (16:0), lisofosfatidilcolina (C17:0), fosfatidilcolina (C16:0, C20:4) ,  
 15 fosfatidilcolina (C18:0, C18:2), fosfatidilcolina (C18:2, C20:4), Identificación del metabolito (68300048) como se  
 define en la Tabla 5, fosfatidilcolina, Identificación del metabolito (68300020) como se define en la Tabla 5, escilo-  
 inositol, esfingomielina (d18:1, C16:0), Identificación del metabolito (68300045) como se define en la Tabla 5,  
 testosterona y sulfato de deshidroepiandrosterona; y

(b) comparar los resultados de la determinación en la etapa (a) con una referencia, por medio de lo cual se  
 diagnostica dicho carcinoma de próstata o una predisposición al mismo.

20 La 7-metilguanina es un biomarcador adecuado por si mismo para las enfermedades mencionadas en el presente  
 documento. Sin embargo, lo más preferiblemente, se determina un grupo de biomarcadores por el método de la  
 presente invención. Un grupo de biomarcadores comprende o consiste, preferiblemente, de al menos dos, al menos  
 tres, al menos cuatro y, preferiblemente, todos los biomarcadores antes mencionados.

25 Más preferiblemente, el dicho al menos un metabolito adicional se selecciona del grupo que consiste de: ácido 2-  
 hidroxibehénico (C22:0), ácido cerebrónico (2-OH-C24:0), isopentenil pirofosfato (IPP), ácido 14-  
 metilhexadecanoico, ácido 2-aminoadipínico, ceramida (d18:1, C24:1), ceramida (d18:2, C24:0), ácido eicosenoico  
 (C20:cis[11]1), ácido tricosanoico (C23:0) , glicerofosfoetanolamina, ácido eicosadienoico (C20:2) No 02 como se  
 define en la Tabla 5.

30 La expresión "método para diagnóstico" a que se hace referencia de acuerdo con la presente invención significa que  
 el método puede consistir esencialmente de las etapas anteriormente mencionadas o puede incluir etapas  
 35 adicionales. Sin embargo, se debe entender que el método, es un método llevado a cabo in vitro, es decir no  
 practicado en el cuerpo humano o de un animal. Diagnóstico tal como se utiliza aquí se refiere a evaluar la  
 probabilidad de acuerdo con la cual un sujeto está sufriendo de una enfermedad. Como se entenderá por parte de  
 aquellos capacitados en el arte, tal evaluación, aunque preferiblemente es correcta, usualmente no es correcta para  
 40 el 100% de los sujetos que son diagnosticados. El término, sin embargo, requiere que una parte estadísticamente  
 significativa de los sujetos pueda ser identificada como que sufren de la enfermedad o que tienen una predisposición  
 hacia la misma. Si una porción es estadísticamente significativa, puede ser determinada sin más trámite por la  
 persona capacitada en el arte utilizando diferentes herramientas de evaluación estadística bien conocidas, por  
 ejemplo, la determinación de intervalos de confianza, la determinación de valor p, la prueba t de Student, la prueba  
 45 de Mann Whitney, etc. Los detalles se encuentran en Dowdy y Wearden, Statistics for research, John Wiley & Sons,  
 Nueva York 1983. Los intervalos de confianza preferidos son al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al  
 menos 80%, al menos 90%, al menos 95%. Los valores p son, preferiblemente, 0,2; 0,1; 0,05. Se entenderá,  
 además, que los métodos de la presente invención proporcionan esencialmente una ayuda para el diagnóstico y se  
 pueden incluir en o ser complementados por otras medidas de diagnóstico.

45 El diagnóstico de acuerdo con la presente invención incluye el control, confirmación, y clasificación de la enfermedad  
 en cuestión o de sus síntomas. Control se refiere a hacer el seguimiento de una enfermedad ya diagnosticada, o una  
 complicación, por ejemplo para analizar el progreso o la regresión de la enfermedad, la influencia de un tratamiento  
 particular sobre el progreso de la enfermedad o las complicaciones que surgen durante el periodo de la enfermedad  
 o después del tratamiento exitoso de la enfermedad. La confirmación se relaciona con el fortalecimiento o la  
 50 comprobación de un diagnóstico ya realizado utilizando otros indicadores o marcadores. Clasificación se refiere a la  
 asignación del diagnóstico de acuerdo con la fuerza o el tipo de síntomas en diferentes clases, por ejemplo, las  
 etapas para los carcinomas de próstata como se establece en otra parte en la descripción.

55 El término "carcinoma de próstata" tal como se utiliza aquí se refiere a un tumor maligno desarrollado a partir de  
 células de la glándula de la próstata. Dichas células pueden hacer metástasis desde la próstata a otros tejidos u  
 órganos, especialmente a los huesos y los ganglios linfáticos. Los carcinomas tempranos de próstata por lo general  
 no causan síntomas. Los carcinomas de próstata en estadios avanzados pueden causar dolor, dificultad para orinar,  
 problemas durante las relaciones sexuales y disfunción eréctil. Otros síntomas de los carcinomas de próstata son  
 bien conocidos en la técnica, incluyendo la micción frecuente, aumento de la orina por la noche, dificultad para iniciar  
 y mantener un flujo constante de orina, sangre en la orina, y dolor al orinar y se describen en los libros de texto

estándar de medicina, tales como Stedman o Pschyrembl. Los carcinomas de próstata se clasifican. El sistema de puntuación de Gleason se utiliza para los tumores de próstata de grado 2 a 10, en el que una puntuación de Gleason de 10 indica la mayoría de las anomalías. Una representación y la clasificación adecuada del tumor es importante con el fin de permitir intervenciones terapéuticas eficaces y adecuadas.

5 El término "predisposición" como se usa aquí significa que un sujeto aún no ha desarrollado la enfermedad o cualquiera de los síntomas antes mencionados de la enfermedad u otros criterios de diagnóstico, pero, sin embargo, va a desarrollar la enfermedad en el futuro con una cierta probabilidad. Dicha posibilidad difiere significativamente de la probabilidad de aparición estadística de los carcinomas de próstata. Preferiblemente, se diagnostica la probabilidad de desarrollar un carcinoma de próstata es al menos del 30%, al menos del 40%, al menos del 50%, al menos del 60%, al menos del 70%, al menos del 80%, al menos del 90% o 100% de una predisposición. El diagnóstico de una predisposición a veces puede ser denominado como predicción de la probabilidad de que un sujeto desarrolle la enfermedad.

15 El término "al menos un metabolito" como se utiliza aquí, se refiere a un solo metabolito o a una pluralidad de metabolitos, es decir, preferiblemente al menos 2, 3, 4, 5, 10, 50, 100, 500, 1.000, 2.000, 3.000, 5.000 o 10.000 metabolitos. Se entiende que "metabolito" como se utiliza aquí puede ser al menos una molécula de dicho metabolito hasta una pluralidad de moléculas del metabolito y que una pluralidad de metabolitos significa una pluralidad de moléculas químicamente diferentes en donde por cada metabolito, pueden estar presentes desde al menos una molécula hasta una pluralidad de moléculas. Un metabolito de acuerdo con la presente invención abarca todas las clases de compuestos químicos orgánicos o inorgánicos que incluyen aquellos que están compuestos por material biológico tal como organismos. Preferiblemente, el metabolito de acuerdo con la presente invención es un compuesto de molécula pequeña. Más preferiblemente, en caso de que esté prevista una pluralidad de metabolitos, dicha pluralidad de metabolitos representa un metaboloma, es decir la colección de metabolitos que está comprendida en un organismo, un órgano, un tejido o una célula en un tiempo específico y bajo condiciones específicas.

25 Los metabolitos son compuestos de molécula pequeña, tales como sustratos para enzimas de rutas metabólicas, compuestos intermedios de tales rutas o los productos obtenidos mediante una ruta metabólica. Las rutas metabólicas son bien conocidas en la técnica y pueden variar entre especies. Preferiblemente, dichas rutas incluyen por lo menos el ciclo del ácido cítrico, la cadena respiratoria, la fotosíntesis, la fotorrespiración, la glicólisis, la gluconeogénesis, la ruta de la hexosa monofosfato, ruta oxidativa del fosfato de pentosa, la producción y  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos, el ciclo de la urea, las rutas de biosíntesis de aminoácidos, las rutas de degradación de proteína tales como degradación proteasomal, rutas de degradación de aminoácido, biosíntesis o degradación de: lípidos, policétidos (incluyendo por ejemplo flavonoides e isoflavonoides), isoprenoides (incluyendo, por ejemplo, terpenos, esteroides, carotenoides, xantófilos) carbohidratos, fenilpropanoides y derivados, alcaloides, bencenoides, indoles, compuestos azufrados de indol, porfirinas, antocianos, hormonas, vitaminas, cofactores tales como grupos prostéticos o portadores de electrones, lignina, glucosinolatos, purinas, pirimidinas, nucleósidos, nucleótidos y moléculas relacionadas tales como las ARNt, los microARN (miARN) o los ARNm. En consecuencia, los metabolitos de compuestos de moléculas pequeñas se componen preferiblemente de las siguientes clases de compuestos: alcoholes, alcanos, alquenos, alquinos, compuestos aromáticos, cetonas, aldehídos, ácidos carboxílicos, ésteres, aminas, iminas, amidas, cianuros, aminoácidos, péptidos, tioles, tioésteres, ésteres de fosfato, ésteres de sulfato, tioéteres, sulfóxidos, éteres, o combinaciones o derivados de los compuestos antes mencionados. Las moléculas pequeñas entre los metabolitos pueden ser metabolitos primarios que se requieren para la función celular normal, función de un órgano o crecimiento animal, desarrollo o salud. Por otra parte, los metabolitos de molécula pequeña comprenden además metabolitos secundarios que tienen una función ecológica esencial, por ejemplo metabolitos que le permiten a un organismo adaptarse a su entorno. Además, los metabolitos no se limitan a dichos metabolitos primarios y secundarios y abarcan además compuestos de pequeñas moléculas artificiales. Dichos compuestos artificiales de molécula pequeña se derivan de moléculas pequeñas proporcionadas de forma exógena que se administran o son absorbidas por un organismo pero no son metabolitos primarios o secundarios como se definió anteriormente. Por ejemplo, los compuestos de molécula artificiales pequeñas pueden ser productos metabólicos obtenidos de fármacos mediante rutas metabólicas del animal. Por otra parte, los metabolitos incluyen adicionalmente péptidos, oligopéptidos, polipéptidos, oligonucleótidos y polinucleótidos, tales como ARN o ADN. Más preferiblemente, un metabolito tiene un peso molecular de 50 Da (Dalton) a 30.000 Da, más preferiblemente menos de 30.000 Da, menos de 20.000 Da, menos de 15.000 Da, menos de 10.000 Da, menos de 8.000 Da, menos de 7.000 Da, menos de 6.000 Da, menos de 5.000 Da, menos de 4.000 Da, menos de 3.000 Da, menos de 2.000 Da, menos de 1.000 Da, menos de 500 Da, menos de 300 Da, menos de 200 Da, menos de 100 Da. Preferiblemente, un metabolito tiene, sin embargo, un peso molecular de al menos 50 Da. Más preferiblemente, un metabolito de acuerdo con la presente invención tiene un peso molecular de 50 Da hasta 1.500 Da.

60 Se entenderá que, además de los metabolitos o grupos de metabolitos mencionados anteriormente, también se pueden determinar un biomarcador adicional o un grupo de biomarcadores adicionales por el método de la presente invención. Dichos biomarcadores adicionales incluyen ácidos nucleicos, péptidos, polipéptidos u otros parámetros clínicos que se sabe que están asociados con carcinomas de próstata o con la predisposición a la misma.

Preferentemente, dicho biomarcador adicional se selecciona del grupo que consiste en: un examen rectal digital (DRE), ecografía transrectal (TRUS), pruebas de PSA y PAP, antígeno prostático específico (PSA), PSA libre y total (también conocido como PSA II), PSA específico de la edad, prueba de fosfatasa ácida prostática (PAP), biopsia del tumor, tomografía computarizada (exploración por TC), gammagrafía ósea y la IRM.

5 Un metabolito preferido que se determine junto con el biomarcador, es decir, ya sea simultáneamente o consecutivamente, con los metabolitos o grupos de metabolitos mencionados anteriormente es al menos un metabolito seleccionado del grupo que consiste de: biotina, uridina, hipoxantina, inosina, glicina, cisteína, cistina, uracilo, aspartato, isoleucina, trans-4-hidroxi prolina, prolina, metionina, glicerol-3-fosfato, 5-oxoprolina, ácido fólico, glutamato, glutamina, leucina, ácido mirístico (C14:0), fenilalanina, ácido heptadecanoico (C17:0), citrulina, treonina, mio-inositol-1-fosfato, mio-inositolfosfolípidos, ribosa, fumarato, triptófano, glicerol, tirosina, homoserina, histidina, ácido linoleico (C18:cis[9,12]2), xantina, ornitina, arginina, citrulina, ácido pantoténico, ácido palmitoleico (C16:cis[9]1), succinato, fructosa, alfa-tocoferol, nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), maltosa, valina, adenina, lisina, malato, alanina, espermidina, ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:cis[9]1), glicerol fosfato, ácido N-acetilneuramínico, xilitol, serina, ácido N-acetilneuramínico, S-adenosilmetionina, fosfato, glucosa, colesterol, espermina, putrescina, cis-aconitato, citrato, ribulosa-5-fosfato, pirofosfato (PPi), ácido elaidico (C18: trans[9]1), adenina, 2-hidroxi butirato, sarcosina, isocitrato, creatina, disulfuro de glutationa (GSSG), 3-hidroxi butirato, y taurina.

20 Los metabolitos de apoyo mencionados anteriormente, preferiblemente, también se compararán con los resultados de referencia adecuados como se especifica en otra parte en este documento. El resultado de dicha comparación será un apoyo adicional para el hallazgo de si el sujeto sufrirá de carcinomas de próstata o no, o tendrá una predisposición a los mismos o no. Los resultados o valores de referencia preferidos, para los cambios de las cantidades relativas e indicaciones para la clase de regulación se encuentran en los Ejemplos acompañantes, a continuación.

25 El término "muestra de prueba" como se utiliza aquí se refiere a muestras que se utilizan para el diagnóstico de carcinomas de próstata o una predisposición a los mismos mediante el método de la presente invención. Dicha muestra de prueba es una muestra biológica. Las muestras de fuentes biológicas (es decir, muestras biológicas) generalmente comprenden una pluralidad de metabolitos. Las muestras biológicas preferidas que se utilizan en el método de la presente invención son muestras de fluidos corporales, preferiblemente, sangre, plasma, suero, linfa, o de orina, o muestras derivadas, por ejemplo, mediante biopsia, a partir de células, tejidos u órganos, preferiblemente 30 tejido de próstata que se sospecha que incluye o esencialmente consisten de células de carcinoma de próstata. Esto también abarca muestras que comprenden compartimentos subcelulares u organelos, tales como la mitocondria, la red de Golgi o los peroxisomas. Las muestras biológicas se pueden derivar de un sujeto tal como se especifica en este documento. Las técnicas para la obtención de los diferentes tipos de muestras biológicas son bien conocidas en el arte. Por ejemplo, se pueden obtener las muestras de sangre mediante la extracción de sangre, mientras que las 35 muestras de tejido o de órganos se obtienen, por ejemplo, por una biopsia.

Las muestras anteriormente mencionadas son, preferiblemente, pretratadas antes de ser utilizadas para el método de la presente invención. Como se describe en más detalle más adelante, dicho pretratamiento puede incluir 40 tratamientos requeridos para liberar o separar los compuestos o para remover material excesivo o residuos. Las técnicas adecuadas incluyen centrifugación, extracción, fraccionamiento, purificación y/o enriquecimiento de compuestos. Por otra parte, se llevan a cabo otros pretratamientos con el fin de proporcionar los compuestos en una forma o concentración adecuada para el análisis de los compuestos. Por ejemplo, si se utiliza cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en el método de la presente invención, se requerirá formar derivados de los compuestos antes de dicha cromatografía de gases. Los pretratamientos adecuados y necesarios dependen de los medios utilizados para llevar a cabo el método de la invención y son bien conocidos por la persona capacitada en 45 la técnica. Las muestras pretratadas como se describió antes también están comprendidas por el término "muestra" tal como se utiliza de acuerdo con la presente invención.

El término "sujeto" como se usa aquí se refiere a animales, preferiblemente a mamíferos tales como ratones, ratas, ovejas, perros, gatos, caballos, monos, o vacas y, también preferentemente, a seres humanos. Otros animales que se pueden diagnosticar aplicando el método de la presente invención son pájaros o reptiles. Un sujeto que se sospecha que sufre de carcinoma de próstata o de tener una predisposición al mismo, como se usa aquí, se refiere a un sujeto que muestra, de preferencia, los síntomas o signos clínicos o parámetros indicativos para carcinomas de 50 próstata. Sin embargo, el término también se refiere a un sujeto aparentemente saludable, es decir, un sujeto que no presenta ninguno de los síntomas, signos clínicos o parámetros antes mencionados. Los sujetos aparentemente sanos pueden ser investigados por el método de la presente invención como una medida de cuidado preventivo o 55 para propósitos de cribado de la población.

El término "determinación de dicho al menos un metabolito" como se utiliza aquí se refiere a la determinación de al menos un rasgo característico de al menos un metabolito comprendido por la muestra a que se hace referencia en la presente invención. Los rasgos característicos de acuerdo con la presente invención son rasgos que caracterizan las

propiedades físicas y/o químicas que incluyen las propiedades bioquímicas de un metabolito. Tales propiedades incluyen, por ejemplo, peso molecular, viscosidad, densidad, carga eléctrica, giro, actividad óptica, color, fluorescencia, quimioluminiscencia, composición elemental, estructura química, capacidad para reaccionar con otros compuestos, capacidad de provocar una respuesta en un sistema de lectura biológico (por ejemplo, la inducción de un gen reportero) y similares. Los valores para dichas propiedades pueden servir como rasgos característicos y se pueden determinar mediante técnicas bien conocidas en la técnica. Por otra parte, el rasgo característico puede ser cualquier rasgo que se deriva de los valores de las propiedades físicas y/o químicas de un metabolito mediante operaciones estándar, por ejemplo, cálculos matemáticos tales como multiplicación, división o cálculo logarítmico. Más preferiblemente, el al menos un rasgo característico permite la determinación y/o identificación química de dicho al menos un metabolito.

El al menos un metabolito compuesto por una muestra de prueba se puede determinar de acuerdo con la presente invención en forma cuantitativa o cualitativa. Para la determinación cualitativa, se determinará la presencia o ausencia del metabolito mediante una técnica adecuada. Además, la determinación cualitativa puede, preferiblemente, incluir la determinación de la estructura química o composición del metabolito. Para la determinación cuantitativa, se determinará, ya sea la cantidad precisa del al menos un metabolito presente en la muestra o la cantidad relativa del al menos un metabolito, preferiblemente, con base en el valor determinado para el (los) rasgo(s) característico(s) mencionados aquí anteriormente. La cantidad relativa puede ser determinada en un caso en el que la cantidad precisa de un metabolito puede o no ser determinada. En dicho caso, se puede determinar si la cantidad en la que está presente el metabolito aumenta o disminuye con respecto a una segunda muestra que comprende dicho metabolito en una segunda cantidad. Analizar cuantitativamente un metabolito, por lo tanto, también incluye lo que se conoce algunas veces como análisis semicuantitativo de un metabolito.

Por otra parte, la determinación tal como se utiliza en el método de acuerdo con la presente invención, preferiblemente, incluye el uso de una etapa de separación del compuesto antes de la etapa de análisis contemplado anteriormente. Preferiblemente, dicha etapa de separación del compuesto produce una separación en el tiempo de los metabolitos comprendidos por la muestra. Las técnicas adecuadas para separación que se utilizan preferiblemente de acuerdo con la presente invención, por lo tanto, incluyen todas las técnicas de separación cromatográficas tales como cromatografía líquida (LC), cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), cromatografía de gases (GC), cromatografía de capa fina, cromatografía de exclusión por tamaño o de afinidad. Estas técnicas son bien conocidas en el arte y pueden ser aplicadas por la persona capacitada en la técnica sin una actividad adicional. Más preferiblemente, LC y / o GC son técnicas cromatográficas previstas por el método de la presente invención. Los dispositivos adecuados para tal determinación de metabolitos son bien conocidos en la técnica. Preferiblemente, se usa espectrometría de masas, en particular cromatografía de gases - espectrometría de masas (GC-MS), cromatografía líquida - espectrometría de masa (LC-MS), espectrometría de masa por infusión directa o espectrometría de masas por resonancia del ion - ciclotrón por transformadas de Fourier (FT-ICR- MS), espectrometría de masas de electroforesis capilar (CE-MS), cromatografía líquida de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS), espectrometría de masas por cuadrupolo, cualquier espectrometría de masas acoplada secuencialmente, tal como MS-MS o MS-MS-MS, espectrometría de masas de plasma inductivamente acoplado (ICP-MS), espectrometría de masa por pirólisis (Py-MS), espectrometría de masas de movilidad de iones o espectrometría de masas de tiempo de vuelo (TOF). Más preferiblemente, se utilizan LC-MS y/o GC-MS como se describe en detalle más adelante. Dichas técnicas se describen, por ejemplo, en Niessen, Journal of Chromatography A, 703, 1995: 37 - 57, las patentes de los Estados Unidos Nos. 4.540.884 o 5.397.894. Como alternativa o además de las técnicas de espectrometría de masas, se pueden utilizar las siguientes técnicas para la determinación del compuesto: resonancia magnética nuclear (RMN), formación de imágenes por resonancia magnética (MRI), análisis infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR), espectroscopía ultravioleta (UV), índice de refracción (RI), detección de fluorescente, detección radioquímica, detección electroquímica, dispersión de luz (LS), espectroscopía Raman dispersiva o detección por ionización de llama (FID). Estas técnicas son bien conocidas para la persona capacitada en la técnica y se pueden aplicar sin actividad adicional. El método de la presente invención será asistido, de preferencia, por automatización. Por ejemplo, el procesamiento de la muestra o el pretratamiento se pueden automatizar mediante robótica. El procesamiento de datos y la comparación es, preferentemente, asistida por programas de computador adecuados y bases de datos. La automatización como se describió aquí antes permite utilizar el método de la presente invención en enfoques de alto rendimiento.

Además, el al menos un metabolito también se puede determinar mediante un ensayo químico o biológico específico. Dicho ensayo comprenderá medios que permiten detectar específicamente al menos un metabolito en la muestra. Preferiblemente, dichos medios son capaces de reconocer específicamente la estructura química del metabolito o son capaces de identificar específicamente el metabolito con base en su capacidad para reaccionar con otros compuestos o su capacidad para provocar una respuesta en un sistema de lectura biológico (por ejemplo, la inducción de un gen reportero). Los medios que son capaces de reconocer específicamente la estructura química de un metabolito son, preferiblemente, anticuerpos u otras proteínas que interactúan específicamente con estructuras químicas, tales como receptores o enzimas. Anticuerpos específicos, por ejemplo, se pueden obtener utilizando el metabolito como antígeno mediante métodos bien conocidos en la técnica. Anticuerpos como los mencionados en el presente documento incluyen anticuerpos tanto policlonales como monoclonales, así como fragmentos de los mismos, tales como fragmentos Fv, Fab y F(ab)<sub>2</sub> que son capaces de enlazarse al antígeno o al hapteno. También

incluyen anticuerpos híbridos humanizados en donde las secuencias de aminoácidos de un anticuerpo donante no humano que exhiben una especificidad por el antígeno deseada se combinan con secuencias de un anticuerpo aceptor humano. Además, también se incluyen anticuerpos de cadena única. Las secuencias donadoras incluirán normalmente al menos residuos de aminoácidos que se enlazan al antígeno del donante pero pueden comprender también otros residuos de aminoácidos estructuralmente y / o funcionalmente relevantes del anticuerpo donador. Tales híbridos se pueden preparar por varios métodos bien conocidos en la técnica. Las proteínas adecuadas que son capaces de reconocer específicamente el metabolito son, preferiblemente, las enzimas que están involucradas en la conversión metabólica de dicho metabolito. Dichas enzimas pueden ya sea utilizar el metabolito como sustrato o pueden convertir un sustrato en el metabolito. Además, dichos anticuerpos se pueden utilizar como base para generar oligopéptidos que reconocen específicamente el metabolito. Estos oligopéptidos, por ejemplo, comprenden los dominios o bolsillos de enlazamiento de la enzima para dicho metabolito. Los ensayos adecuados basados en anticuerpos y/o enzimas pueden ser RIA (radioinmunoensayo), ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas), pruebas inmunológicas con base en enzimas tipo sándwich, inmunoensayos tipo sándwich de electroquimioluminiscencia (ECLIA), inmunoensayo con fluoro lantánidos mejorado por disociación (DELFI) o inmunoensayos en fase sólida. Además, también se puede identificar el metabolito con base en su capacidad para reaccionar con otros compuestos, es decir, mediante una reacción química específica. Se conocen en el arte reacciones adecuadas y, preferiblemente abarcan reacciones enzimáticas (por ejemplo para manosa: Pitkanen E, Pitkanen O, Uotila L.; Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1997 Oct; 35 (10): 761 - 6; o ácido ascórbico: Winnie Lee, Susan M. Roberts y Robert F. Labbe; Clinical Chemistry 43: 154 - 157, 1997), métodos espectrofotométricos enzimáticos (BN La Du, RR Howell, PJ Michel y EK Sober; Pediatrics, enero 1963, 39 - 46, Vol 31, No. 1), métodos espectrofluorimétricos (Sumi T, Umeda Y, Kishi Y, Takahashi K, Kaki-moto F.; Clin Chim Acta. 1976 Dic. 1; 73 (2): 233 - 9) y fluorescencia; quimioluminiscencia (JJ Thiele, HJ Freisleben, J. Fuchs y FR Ochsendorf.; Human Reproduction, Vol. 10, No. 1, páginas 110 - 115, 1995). Se pueden utilizar métodos de detección adicionales tales como electroforesis capilar (Hubert A. Carchon y Jaak Jaeken; Clinical Chemistry 47: 1319 - 1321, 2001) y métodos colorimétricos (Kyaw A; Clin Chim Acta. 1978 Jun; 86 (2): 153 - 7). Además, se puede determinar el metabolito en una muestra debido a su capacidad para provocar una respuesta en un sistema de lectura biológico. La respuesta biológica se detectará como lectura que indica la presencia y/o la cantidad del metabolito contenida en la muestra. La respuesta biológica puede ser, por ejemplo, la inducción de la expresión génica o una respuesta fenotípica de una célula o un organismo. Además, se entiende que dependiendo de la técnica utilizada para la determinación de dicho al menos un metabolito, el analito que será detectado puede ser un derivado del metabolito que se produce fisiológicamente, es decir, el metabolito presente en un sujeto. Tales analitos pueden ser generados como resultado de la preparación de la muestra o del medio de detección. Los compuestos mencionados en este documento se consideran analitos. Sin embargo, como se ha expuesto anteriormente, estos analitos representarán los metabolitos en una forma cualitativa y cuantitativa. Además, se debe entender que para una pluralidad de metabolitos, el metabolito será idéntico al analito.

Un metabolito o analito como el mencionado de acuerdo con la presente invención se refiere a una especie molecular que sirve como indicador de una enfermedad o efecto a que se hace referencia en esta especificación. Dicha especie molecular puede ser en sí misma un metabolito que se encuentra en una muestra de un sujeto. Además, el biomarcador puede ser también una especie molecular que se deriva de dicho metabolito. En tal caso, el metabolito real se modifica químicamente en la muestra o durante el proceso de determinación y, como resultado de dicha modificación, una especie molecular químicamente diferentes, es decir, el analito, será la especie molecular determinada. Se entiende que en tal caso, el analito representa el metabolito real y tiene el mismo potencial que un indicador para la condición médica respectiva. Por otra parte, un biomarcador de acuerdo con la presente invención no corresponde necesariamente a una especie molecular. En vez de eso, el biomarcador puede comprender estereoisómeros o enantiómeros de un compuesto. Además, un biomarcador también puede representar la suma de isómeros de una clase biológica de moléculas isómeras. Dichos isómeros exhiben características analíticas idénticas en algunos casos y, por lo tanto, no se pueden distinguir por diversos métodos analíticos, incluidos aquellos aplicados en los ejemplos adjuntos que se describen más adelante. Sin embargo, los isómeros compartirán al menos una suma idéntica de parámetros de fórmula y, por tanto, en el caso, por ejemplo, de los lípidos, una longitud de cadena idéntica y números idénticos de dobles enlaces en el ácido graso y / o fracciones con base esfingo.

El término "referencia" se refiere a resultados, es decir, los datos de los rasgos característicos de la al menos un metabolito, que pueden ser correlacionados con carcinoma de próstata o una predisposición al mismo. Tales resultados de referencia son, preferiblemente, obtenidos a partir de una muestra de un sujeto que se sabe que sufre de carcinomas de próstata o un sujeto que se sabe que tiene predisposición al mismo. La referencia puede ser también el promedio o la mediana obtenidos a partir de un grupo de tales muestras. Si se obtiene la referencia a partir de una muestra de tejido de una biopsia, dicha muestra comprende o consiste esencialmente de tejido de carcinoma de próstata. Los resultados de referencia se pueden obtener mediante la aplicación del método de la presente invención. Alternativamente, pero sin embargo también preferidos, los resultados de referencia pueden ser obtenidos a partir de una muestra de un sujeto que se sabe que no sufre de carcinomas de próstata o un sujeto que se sabe que no tiene predisposición a los mismos, es decir, un sujeto sano con respecto a los carcinomas de próstata y, más preferiblemente, otras enfermedades, en particular también enfermedades cancerosas. Del mismo modo, si la referencia se obtiene a partir de una muestra de tejido de biopsia, dicha muestra consiste esencialmente de tejido de próstata aparentemente sano. La referencia puede ser también el promedio o la mediana obtenidos a

partir de un grupo de tales muestras. Preferiblemente, si se prevén las muestras de tejidos de biopsia, la muestra subyacente a la de referencia y la muestra de ensayo se pueden obtener del mismo sujeto, es decir, de las zonas que están aparentemente afectadas por carcinoma de próstata y de las zonas que se sospecha que están afectadas por carcinoma de próstata. Por otra parte, la referencia, también preferiblemente, podría ser una referencia calculada, más preferiblemente el promedio o la mediana, para la cantidad relativa o absoluta de un metabolito de una población representativa de individuos que están aparentemente sanos o sufren de carcinoma de próstata, en donde los sujetos que sufren de carcinoma de próstata se encuentran dentro de la prevalencia de la enfermedad en una población determinada, de preferencia, la población estadounidense, la asiática o la europea. Las cantidades absolutas o relativas de los metabolitos de dichos individuos de la población se pueden determinar como se especifica en otra parte de este documento. Cómo calcular un valor de referencia adecuado, preferiblemente, el promedio o la mediana, es bien conocido en la técnica. La población de sujetos a que se hace referencia más arriba comprende una pluralidad de sujetos, preferiblemente, al menos 5, 10, 50, 100, 1.000 o 10.000 sujetos. Se entiende que el sujeto que va a ser diagnosticado por el método de la presente invención y los sujetos de dicha pluralidad de sujetos son de la misma especie.

Más preferiblemente, una "referencia" se obtendrá mediante la determinación de los valores para al menos un rasgo característico, para un grupo de sujetos de referencia, es decir, un grupo de sujetos que se sabe que sufren de carcinoma de próstata, un grupo de sujetos que se sabe que no sufren de carcinoma de próstata, una población que comprende el sujeto que va a ser investigado o un grupo de muestras de biopsia de tejido, de tejido de carcinoma de próstata o de tejido aparentemente sano y calcular la referencia a través de medidas estadísticas apropiadas, incluidas aquellas mencionadas en otra parte en este documento, tales como la media, el promedio, cuantiles, PLS-DA, métodos de regresión logística, clasificación de árboles al azar u otros que proporcionen un valor de umbral. El valor umbral debe tener los ajustes clínicos deseados de sensibilidad y especificidad de la prueba de diagnóstico y pronóstico en consideración.

Más preferiblemente, los resultados de referencia, es decir, los valores para al menos uno de los rasgos característicos de al menos un metabolito, se almacenarán en un medio de almacenamiento de datos adecuado tal como una base de datos y están, por lo tanto, también disponibles para diagnósticos futuros. Esto también permite diagnosticar eficientemente la predisposición a una enfermedad porque los resultados de referencia adecuados se pueden identificar en la base de datos una vez que se ha confirmado (en el futuro) que el sujeto del que se obtuvo la muestra de referencia correspondiente (de hecho) desarrolló carcinoma de próstata. Los resultados de referencia preferidos que están asociados con carcinoma de próstata o predisposición al mismo en seres humanos, son los que se muestran en las tablas de los ejemplos adjuntos.

El término "comparación" se refiere a la evaluación de si los resultados de la determinación descritos anteriormente en detalle, es decir, los resultados de la determinación cualitativa o cuantitativa de al menos un metabolito, son idénticos o similares a los resultados de referencia o difieren de los mismos.

En caso de que los resultados de referencia se obtengan de un sujeto o un grupo que se sabe que sufre de carcinomas de próstata o se sabe que tiene una predisposición por los carcinomas de próstata o de una muestra de tejido que comprende o que consiste esencialmente de carcinoma de próstata, dicha enfermedad o predisposición puede ser diagnosticada con base en el grado de identidad o de similitud entre los resultados de la prueba obtenidos a partir de la muestra de ensayo y los resultados de referencia mencionados anteriormente, es decir, con base en una composición cualitativa o cuantitativa idéntica o similar con respecto a al menos un metabolito. Los resultados de la muestra de prueba y los resultados de referencia son idénticos, si los valores para los rasgos característicos y, en el caso de una determinación cuantitativa, los valores de intensidad son idénticos. Dichos resultados son similares, si los valores de los rasgos característicos son idénticos pero los valores de intensidad son diferentes. Tal diferencia es, preferiblemente, no significativa y se caracterizará porque los valores de intensidad están dentro de por lo menos el intervalo entre primero y nonagésimo noveno percentil, quinto y nonagésimo quinto percentil, décimo y nonagésimo percentil, vigésimo y octogésimo percentil, trigésimo y septuagésimo percentil, cuadragésimo y sexagésimo percentil del valor de referencia o el quincuagésimo, sexagésimo, septuagésimo, octogésimo, nonagésimo o nonagésimo quinto percentil del valor de referencia.

En caso de que los resultados de referencia se obtengan de un sujeto o un grupo que se sabe que no sufre de carcinomas de próstata o que se sabe que no tiene una predisposición a los carcinomas de próstata o de una muestra de tejido que consta esencialmente de tejido prostático aparentemente sano, dicha enfermedad o predisposición puede ser diagnosticada con base en las diferencias entre los resultados del ensayo obtenidos de la muestra de ensayo y los resultados de referencia mencionados anteriormente, es decir, diferencias en la composición cualitativa o cuantitativa con respecto a al menos un metabolito. Lo mismo ocurre si se utiliza una referencia calculada como se especificó anteriormente. La diferencia puede ser un aumento en la cantidad absoluta o relativa de un metabolito (algunas veces referida como sobrerregulación del metabolito; véase también los Ejemplos), o una disminución en cualquiera de dichas cantidades o la ausencia de una cantidad detectable del metabolito ( a veces referida como subregulación del metabolito; véase también los Ejemplos). Preferiblemente, la diferencia en la cantidad relativa o absoluta es significativa, es decir, fuera del intervalo entre cuadragésimo quinto y

quincuagésimo quinto percentil, cuadragésimo y quincuagésimo percentil, trigésimo y septuagésimo percentil, y octogésimo percentil, décimo y nonagésimo percentil, quinto y nonagésimo quinto percentil, primero y nonagésimo noveno percentil del valor de referencia.

5 Para los metabolitos específicos contemplados en estas especificaciones en otra parte, los valores preferidos para los cambios en las cantidades relativas (es decir, cambios en la mediana) o el tipo de regulación (es decir, "sobre-regulación" o "subregulación" que resulta en una mayor o menor cantidad relativa y/o absoluta) se indican en las tablas más adelante. Si se indica en dichas tablas que un metabolito dado es "sobre-regulado" en un sujeto o una muestra de tejido, la cantidad relativa y/o absoluta se incrementarán, si es "sobre-regulado", la cantidad relativa y/o absoluta del metabolito se reducirá. Por otra parte, la mediana indica el grado de aumento o disminución, por ejemplo, una mediana de 2,0 significa que la cantidad es dos veces la cantidad del metabolito en comparación con la referencia.

15 Por lo tanto, el método de la presente invención en una realización preferida incluye una referencia que se deriva de un sujeto o un grupo que se sabe que sufre de carcinomas de próstata o un sujeto o un grupo que se sabe que tiene predisposición a los mismos, o una muestra de tejido de biopsia que comprende o que consiste esencialmente de tejido de carcinoma de próstata. Más preferiblemente, resultados idénticos o similares para la muestra de prueba y dicha referencia (es decir, cantidades relativas o absolutas similares de al menos un metabolito) son indicativos para los carcinomas de próstata o una predisposición a los mismos en ese caso. En otra realización preferida del método de la presente invención, la referencia se deriva de un sujeto que se sabe que no sufre de carcinomas de próstata o un sujeto que se sabe que no tiene predisposición a los mismos, o una muestra de tejido de biopsia que consiste esencialmente de tejido prostático aparentemente sano. Además, preferiblemente, puede ser una referencia calculada. Lo más preferiblemente, la ausencia de al menos un metabolito o una cantidad que, preferiblemente significativamente, difiere en la muestra de prueba en comparación con la muestra de referencia (es decir, una diferencia significativa en la cantidad absoluta o relativa que se observa) es indicativa para carcinomas de próstata o predisposición a los mismos en tal caso.

25 La comparación, preferentemente, es asistida por automatización. Por ejemplo, se puede utilizar un programa adecuado de ordenador que comprende un algoritmo para la comparación de dos conjuntos diferentes de datos (por ejemplo, conjuntos de datos que comprenden los valores del(de los) rasgo(s) característico(s)). Tales programas de ordenador y algoritmos son bien conocidos en la técnica. No obstante lo anterior, se puede llevar a cabo también una comparación manual.

30 Los métodos antes mencionados para la determinación de al menos un metabolito pueden ser implementados en un dispositivo. Un dispositivo como se usa en este documento comprende al menos los medios mencionados anteriormente. Además, el dispositivo, preferiblemente, comprende además medios para la comparación y evaluación del(de los) rasgo(s) característico(s) detectado(s) de al menos un metabolito y, también preferiblemente, la intensidad de señal determinada. Los medios del dispositivo están, preferiblemente, enlazados operativamente entre sí. Cómo enlazar los medios en una forma operativa, dependerá del tipo de medios incluidos en el dispositivo. Por ejemplo, donde se aplican los medios para determinar cualitativa o cuantitativamente de forma automática el metabolito o metabolitos, los datos obtenidos por dichos medios que operan automáticamente se pueden procesar, por ejemplo, mediante un programa de ordenador con el fin de facilitar el diagnóstico. Preferiblemente, los medios están compuestos por un único dispositivo en tal caso. Dicho dispositivo puede incluir por lo tanto una unidad de análisis para los metabolitos y una unidad de cálculo para procesar los datos resultantes para el diagnóstico. Alternativamente, cuando se utilizan medios como tiras de prueba para la determinación de los metabolitos, los medios para el diagnóstico pueden comprender tiras de control o tablas para la asignación de los datos a los datos resultantes que se sabe que están acompañados con carcinoma de próstata o una predisposición al mismo o los que son indicativos de un sujeto sano como se discutió anteriormente. Los dispositivos preferidos son aquellos que se pueden aplicar sin el conocimiento particular de un médico clínico especializado, por ejemplo, tiras de prueba o dispositivos electrónicos que requieren simplemente la carga con una muestra.

50 Alternativamente, los métodos para la determinación de al menos un metabolito pueden ser implementados en un sistema que comprende varios dispositivos que están, preferiblemente, enlazados operativamente entre sí. Específicamente, los medios deben estar enlazados en una forma que permita llevar a cabo el método de la presente invención como se describe en detalle más arriba. Por lo tanto, operativamente enlazado, como se utiliza aquí, preferiblemente, significa enlazado funcionalmente. Dependiendo de los medios que se utilizan para el sistema, dichos medios pueden ser funcionalmente enlazados mediante la conexión de cada medio con el otro con lo cual se permite el transporte de datos entre dichos medios, por ejemplo, cables de fibra de vidrio, y otros cables para el transporte de datos de alto rendimiento. Sin embargo, también se contempla la transferencia inalámbrica de datos entre los medios, por ejemplo, a través de LAN (LAN inalámbrica, W-LAN). Un sistema preferido comprende medios para determinar metabolitos. Los medios para determinar metabolitos, como se usa en este documento, abarcan los medios para la separación de metabolitos, tales como dispositivos cromatográficos, y un medio para determinación del metabolito, tal como dispositivos de espectrometría de masas. Los dispositivos adecuados han sido descritos en detalle más arriba. Los medios preferidos para la separación de un compuesto que se utiliza en el

5 sistema incluyen dispositivos cromatográficos, más preferiblemente dispositivos para cromatografía líquida, HPLC, y/o cromatografía de gases. Los dispositivos preferidos para la determinación del compuesto comprenden dispositivos de espectrometría de masas, más preferiblemente, GC-MS, LC-MS, espectrometría de masas de infusión directa, FT-ICR-MS, CE-MS, HPLC-MS, espectrometría de masas por cuadrupolo, espectrometría de masas acoplada secuencialmente (incluyendo MS-MS o MS-MS-MS), ICP-MS, Py-MS o TOF. Los medios de separación y de determinación están, preferiblemente, acoplados entre sí. Más preferiblemente, se utiliza LC-MS y/o GC-MS en el sistema como se describe en detalle en otra parte en la especificación. También se incluyen medios para comparar y/o analizar los resultados obtenidos a partir de los medios para la determinación de metabolitos. Los medios para comparar y/o analizar los resultados pueden comprender por lo menos una base de datos y un programa de ordenador implementado para la comparación de los resultados.

15 Ventajosamente, se ha encontrado, de acuerdo con la presente invención que al menos uno o un grupo de los metabolitos anteriormente mencionados serán biomarcadores adecuados para carcinomas de próstata o una predisposición a los mismos. La aplicación de estos metabolitos como biomarcadores permite un diagnóstico rápido, confiable y rentable de carcinomas de próstata. Además, una ventaja adicional sobre las técnicas disponibles en la técnica anterior es que el método de la presente invención permite incluso el diagnóstico de una predisposición para el desarrollo de carcinomas de próstata. Además, el método puede ser asistido por automatización como se describe en otra parte de esta descripción y, por lo tanto, permite un cribado de alto rendimiento para sujetos que están en riesgo de sufrir de carcinomas de próstata. De este modo, el método de la presente invención puede ayudar a los programas de salud para la prevención del cáncer de próstata y puede ser utilizado para controlar el éxito de las terapias o las mediciones para la prevención de carcinomas de próstata incluyendo terapias y dietas nutricionales. Por otra parte, los metabolitos o las combinaciones de los metabolitos mencionados en el presente documento se pueden determinar simultáneamente en una forma rápida y rentable mediante las técnicas de perfiles metabólicos descritas en esta especificación.

25 Las explicaciones e interpretaciones de los términos hechas anteriormente se aplican en consecuencia a las otras realizaciones especificadas aquí a continuación, excepto que se indique lo contrario.

En una realización preferida del método anterior de la presente invención, dicho al menos un metabolito adicional en una muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste de los metabolitos mencionados en la Tabla 1, más adelante. Más preferiblemente, dicha muestra de ensayo es una muestra de biopsia de tejido. También se indican cambio o tipos particulares preferidos de regulación en la Tabla.

30 En otra realización preferida del método de la presente invención, dicho al menos un metabolito en una muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste de los metabolitos mencionados en la Tabla 3, más adelante. Más preferiblemente, dicha muestra de ensayo es sangre entera, suero o plasma o una fracción de cualquiera de éstos. Cambios o tipos particulares preferidos de regulación también están indicados en la Tabla.

35 La presente especificación se refiere además a un método para el diagnóstico del progreso del carcinoma de próstata, que comprende:

40 (a) la determinación de al menos un metabolito en una muestra de ensayo de un sujeto que se sospecha que sufre de carcinoma de próstata progresivo, dicho al menos un metabolito se selecciona del grupo que consiste en: Identificación del metabolito (58300131) como se define en la Tabla 5, fosfatidilcolina (C18:0, C18:2), fosfatidilcolina (C16:0, C20:4), fosfatidilcolina (C18:2, C18:2), ácido 2-oxoisocaproico, ácido eritrónico, plasmalógeno de colina (C18,C20:4), plasmalógeno de colina, Lisofosfatidilcolina (18:0), fosfatidilcolina (C16:0, C16:0), fosfatidilcolina, piruvato, fosfoenolpiruvato, beta-sitosterol, y coenzima Q10; y

(b) la comparación de los resultados del ensayo de la determinación en la etapa (a) con una referencia, por medio de lo cual se diagnostica dicho carcinoma de próstata en progreso.

45 Los términos "progresión del carcinoma de próstata" y "carcinomas de próstata en progreso" se refieren a la conversión de los carcinomas de próstata de una etapa a otra, preferiblemente, una etapa más avanzada. Preferiblemente, la progresión de los carcinomas de próstata previstos por el método de la presente invención es la progresión de acuerdo con el sistema de puntuación de Gleason como ya se mencionó. Tal como ya se expuso aquí en otra parte, la clasificación y la determinación de la progresión es importante con el fin de permitir intervenciones terapéuticas eficaces y apropiadas. En particular, es deseable iniciar las intervenciones terapéuticas antes de la progresión de los carcinomas de próstata hasta etapas donde se produce la metástasis.

55 Se entenderá que una referencia que es preferiblemente utilizada para el método antes mencionado para el diagnóstico de la progresión de los carcinomas de próstata se deriva de un sujeto que se sabe que sufre de un carcinoma de próstata en progreso, preferiblemente de carcinoma de próstata de acuerdo con al menos las etapas 3a o 3b de Gleason. Más preferiblemente, los resultados idénticos o similares para la muestra de prueba y la de referencia son indicativos de un carcinoma de próstata progresando en tal caso. Alternativamente, la referencia,

preferiblemente, se puede derivar de un sujeto que se sabe que no sufre de un carcinoma de próstata progresando, preferiblemente de un sujeto que padece de carcinoma de próstata de acuerdo con las etapas 2a o 2b de Gleason. Más preferiblemente, la ausencia de dicho por lo menos un metabolito o una cantidad del mismo que difiere en la muestra de ensayo en comparación con la muestra de referencia, es indicativa de un carcinoma de próstata progresando en estos casos. Se entenderá que la referencia se puede obtener también de un grupo de tales sujetos a través de las mediciones discutidas antes, por ejemplo, se pueden determinar la mediana o el promedio de la cantidad del biomarcador.

Convenientemente, se encontró que los metabolitos anteriormente citados son adecuados como biomarcadores que indican la progresión de los carcinomas de próstata. Con base en el método, es posible por lo tanto decidir sobre las intervenciones terapéuticas adecuadas. Por ejemplo, se puede evitar la quimioterapia sistémica cuando un paciente ha sido diagnosticado por padecer de un carcinoma de próstata que no progresa que no tiene potencial todavía de hacer metástasis. Por otra parte, se aplicará quimioterapia sistémica si un paciente ha sido diagnosticado de sufrir un carcinoma de próstata que progresa.

Se entenderá que una regresión de carcinoma de próstata en un sujeto también puede ser diagnosticada por el método anteriormente mencionado. Específicamente, la presente especificación contempla además un método para diagnosticar la regresión de carcinoma de próstata que comprende:

(a) la determinación de al menos un metabolito en una muestra de ensayo de un sujeto que se sospecha que sufre de la regresión de carcinoma de próstata, dicho al menos un metabolito se selecciona del grupo que consiste de: Identificación del metabolito (58300131) como se define en la Tabla 5, fosfatidilcolina (C18:0, C18:2), fosfatidilcolina (C16:0, C20:4), fosfatidilcolina (C18:2, C18:2), ácido 2-oxoisocaproico, ácido eritrónico, plasmalógeno de colina (C18,C20:4), plasmalógeno de colina, lisofosfatidilcolina (18:0), fosfatidilcolina (C16:0, C16:0), fosfatidilcolina, piruvato, fosfoenolpiruvato, beta-sitosterol, y coenzima Q10; y

(b) la comparación de los resultados del ensayo de la determinación en la etapa (a) con una referencia, por medio de lo cual se diagnostica dicha regresión del carcinoma de próstata.

Los términos "regresión del carcinoma de próstata" y "carcinomas de próstata que hacen regresión" se refieren a la conversión de los carcinomas de próstata a partir de una etapa más avanzada hasta una etapa menos avanzada.

Se entenderá que una referencia que se utiliza, preferiblemente, para el método antes mencionado para el diagnóstico de la regresión de carcinomas de próstata se deriva de un sujeto que se sabe que padece de un carcinoma de próstata que hace regresión, preferiblemente de carcinoma de próstata de acuerdo con al menos las etapas 2a o 2b de Gleason. Más preferiblemente, los resultados idénticos o similares para la muestra de prueba y la referencia son indicativos de carcinoma de próstata que hace regresión en tal caso. Alternativamente, la referencia puede ser, preferiblemente, derivada de un sujeto que se sabe que no padece de un carcinoma de próstata que hace regresión, preferiblemente de un sujeto que padece de carcinoma de próstata que progresa de acuerdo con las etapas 3a o 3b de Gleason. Más preferiblemente, la ausencia de dicho al menos un metabolito o una cantidad del mismo que difiere en la muestra de ensayo en comparación con la muestra de referencia es indicativo de un carcinoma de próstata que hace regresión en estos casos. Se entenderá que la referencia puede obtenerse también a partir de un grupo de tales sujetos mediante las mediciones discutidas antes, por ejemplo, se pueden determinar la mediana o el promedio de la cantidad del biomarcador.

La presente invención, además, contempla un método para determinar si un carcinoma de próstata tiene una puntuación alta o baja o alta, intermedia o baja de Gleason que comprende

(a) la determinación de al menos una metabolito de la Tabla 6 u 8 en una muestra de ensayo de un sujeto que se sospecha que padece de cáncer de próstata con una puntuación de Gleason alto o bajo o alto, bajo o intermedio; y

(b) la comparación de los resultados de la prueba de la determinación en la etapa (a) con una referencia, mediante la cual se determina si el carcinoma de próstata tiene una puntuación de Gleason alta o baja o alta, intermedia o baja.

El término "determinar si un carcinoma de próstata tiene una puntuación de Gleason alta o baja o alta, intermedia o baja" significa que un carcinoma de próstata analizado en una muestra se asignará en una categoría de acuerdo con el sistema de puntuación de Gleason. De este modo, el método permite diferenciar entre las puntuaciones de Gleason de diferente fuerza. La agrupación de las puntuaciones de Gleason en las de alta y baja fuerza de bisección de la puntuación de Gleason y alta, intermedia y baja fuerza para tricotomía de la puntuación de Gleason, respectivamente, se puede encontrar en la Tabla 9, a continuación. En un ejemplo preferido del método antes mencionado se determina si un carcinoma de próstata tiene una puntuación de Gleason alta o baja con base al menos en un metabolito de la Tabla 6 u 8 como se indica en las columnas para la Bi (bisección) de la puntuación de Gleason. En otro ejemplo preferido del método antes mencionado, se determina si un carcinoma de próstata tiene

una puntuación de Gleason alta, intermedia o baja con base por lo menos en un metabolito de la Tabla 6 u 8 como se indica en las columnas para la Tri (tricotomía) de la puntuación de Gleason.

5 Se puede obtener una referencia en conexión con el método descrito antes a partir de una muestra de un sujeto (o a partir de muestras de sujetos) que se sabe que sufren de un carcinoma de próstata ya sea de puntuación alta o baja de Gleason, de preferencia, como se indica en la Tabla 9 para Bi de la puntuación de Gleason, más adelante. Se entenderá que si se aplica una referencia derivada de una muestra de carcinoma de próstata con puntuación alta de Gleason, un resultado que es esencialmente idéntico al de referencia es indicativo de una alta puntuación de Gleason del carcinoma de próstata presente en la muestra de ensayo. Un resultado que difiere significativamente del de referencia será indicativo de una baja puntuación de Gleason del carcinoma de próstata presente en la muestra de ensayo. Las diferencias relativas preferidas para los metabolitos (es decir, sobreexpresión o subexpresión con respecto a la referencia) se pueden derivar de la información suministrada en la Tabla 6 u 8 para Bi de la puntuación de Gleason. Por otra parte, las veces preferidas que cambia también se pueden derivar de la Tabla 6 u 8 (es decir, cambios en estimados para Bi de la puntuación de Gleason). Un resultado del ensayo que es esencialmente idéntico a la de referencia, es decir, que no difiere de forma significativa, es indicativo de una puntuación alta de Gleason del carcinoma de próstata en la muestra. Esto se aplica, haciendo los cambios necesarios, para los puntajes altos, intermedios y bajos para la puntuación Tri del puntaje de Gleason de acuerdo con la Tabla 6 u 8.

20 Preferiblemente, la muestra en el método antes mencionado es una muestra de tejido del tejido de carcinoma de próstata o de tejido que se sospecha que contiene células de carcinoma de próstata. En tal caso, preferiblemente se selecciona al menos un biomarcador de la Tabla 6. También preferiblemente, la muestra es una muestra de suero y en tal caso se selecciona preferiblemente al menos un biomarcador de la Tabla 8.

El método antes mencionado, por lo tanto, permite la clasificación del tumor, el seguimiento del progreso del tumor, así como la determinación de si una terapia aplicada es exitosa, o no.

La presente invención, además, contempla un método para determinar si un carcinoma de próstata tiene una puntuación pT alta o baja que comprende

- 25 (a) la determinación de al menos un metabolito de la Tabla 7 en una muestra de ensayo de un sujeto que se sospecha que padece de carcinoma de próstata con una puntuación pT alta o baja; y
- (b) la comparación de los resultados de la prueba de la determinación en la etapa (a) con una referencia, mediante la cual se determina si el carcinoma de próstata tiene una puntuación pT alta o baja.

30 El término "determinar si un carcinoma de próstata tiene una puntuación pT alta o baja" significa que un carcinoma de próstata analizado en una muestra se asignará en una categoría de acuerdo con el sistema de puntuación de tumores pT. Por lo tanto, el método permite diferenciar entre puntajes pT de diferente fuerza. La agrupación de puntajes pT en aquellos de alta y baja fuerza se puede encontrar en la Tabla 9, más adelante.

35 Una referencia en conexión con el método descrito anteriormente puede obtenerse a partir de una muestra de un sujeto (o a partir de muestras de sujetos) que se sabe que padecen de un carcinoma de próstata, ya sea de puntuación pT alta o baja, preferiblemente, como se indica en la Tabla 9 para puntuación pT, más adelante. Se entenderá que si se aplica una referencia derivada de una muestra de carcinoma de próstata de puntuación pT alta, un resultado de la prueba que sea esencialmente idéntico al de la referencia es indicativo de una alta puntuación pT del carcinoma de próstata presente en la muestra de ensayo. Un resultado del ensayo que difiera significativamente del de referencia será indicativo de un bajo puntaje de pT del carcinoma de próstata presente en la muestra de ensayo. Diferencias relativas preferidas para los metabolitos (es decir, sobreexpresión o subexpresión con respecto a la referencia) se pueden derivar de la información suministrada en la Tabla 7 para la puntuación pT. Por otra parte, las veces preferidas que cambia también se pueden derivar de la tabla 7 (es decir, cambios estimados para la puntuación pT). Un resultado del ensayo que sea esencialmente idéntico al de referencia, es decir, que no difiera de forma significativa, es indicativo de una puntuación pT alta del carcinoma de próstata en la muestra.

45 Preferiblemente, la muestra en el método antes mencionado es una muestra de tejido del tejido de carcinoma de próstata o del tejido que se sospecha que contiene células de carcinoma de próstata.

El método antes mencionado, por lo tanto, permitir la clasificación del tumor, el seguimiento de la progresión del tumor, así como la determinación de si una terapia aplicada es exitosa, o no.

50 Los métodos de la presente invención para el diagnóstico de carcinomas de próstata o una predisposición a los mismos, así como el método para el diagnóstico de un carcinoma de próstata que progresa o que hace regresión también se puede aplicar para decidir sobre una terapia adecuada para un paciente o para hacer seguimiento al

éxito de una terapia. De acuerdo con ello, al menos un metabolito de cualquiera de los grupos anteriores en una muestra de un sujeto puede, en principio, ser utilizado para decidir sobre una terapia adecuada para el sujeto o puede ser usado para hacer seguimiento el éxito de tal terapia.

5 Por lo tanto, la presente especificación contempla además un método para determinar si un sujeto se beneficiará de una terapia para el carcinoma de próstata que comprende las etapas del método de la presente invención y la etapa  
 10 adicional de identificación de un sujeto que se beneficiará de la terapia para el carcinoma de próstata con base en el resultado del diagnóstico, es decir, el resultado que indica que el sujeto sufre de carcinoma de próstata o una predisposición al mismo. Las terapias adecuadas para el carcinoma de próstata incluyen cirugía, irradiación con baja y alta dosis, terapia hormonal y quimioterapia sistémica, por ejemplo, citostáticos, solos o en combinación con otros  
 15 fármacos, tales como docetaxel en combinación con prednisolona como terapia de primera línea, docetaxel en combinación con terapia hormonal o con citostáticos como vinorelbina, epirrubicina, capecitabina, o calcitriol. Se entenderá que el método también se puede aplicar para determinar si un sujeto se beneficiará o requiere de una terapia contra un carcinoma de próstata que progresa. Tal método se puede aplicar en enfoques terapéuticos como "vigilancia activa". En este enfoque, un sujeto que padece de carcinoma de próstata menos avanzado se somete a un método para el diagnóstico de carcinoma de próstata que progresa como se expuso anteriormente en forma resumida con el fin de detectar la aparición temprana de la progresión. Sólo después de que la progresión se vuelve detectable, el sujeto será tratado mediante una terapia adecuada, tal como cirugía o radiación. Por lo tanto, la "vigilancia activa" evita los efectos secundarios nocivos de una terapia en sujetos que - a pesar de padecer carcinoma de próstata - no requieren de manera inmediata de una terapia. Al evitar la terapia en esta etapa, se  
 20 entiende que se evitarán también los efectos secundarios nocivos de la terapia. El enfoque de "vigilancia activa" se practica generalmente con sujetos más jóvenes. El enfoque de "espera vigilante" se basa en una terapia hormonal y el seguimiento mediante la aplicación de los métodos de la presente invención en forma regular prolongada. Si no hay signos evidentes de avance del carcinoma de próstata, se pueden evitar otras medidas terapéuticas tales como cirugía o radiación y se pueden evitar sus efectos secundarios (Dall'Era 2009, Curr Opin Urol 19: 000-000).

25 La presente especificación, además, contempla un método para hacer seguimiento el éxito de una terapia de carcinoma de próstata o una terapia contra el carcinoma de próstata en progreso. El método comprende de nuevo las etapas del método anteriormente mencionado de la presente invención para el diagnóstico de carcinomas de próstata o una predisposición a los mismos, así como el método para diagnosticar un carcinoma de próstata en progreso y la etapa adicional de identificar una terapia exitosa con base en el resultado del diagnóstico. Se  
 30 entenderá que una terapia exitosa dará como resultado un cambio en al menos un biomarcador desde un estadio de enfermedad o en etapa avanzada hasta un estadio de la enfermedad menos avanzada o de sanación.

Como se describió anteriormente, en una realización preferida del método de la presente invención, dicha determinación de al menos un metabolito comprende espectrometría de masas (MS).

35 La espectrometría de masas tal como se utiliza aquí abarca todas las técnicas que permiten la determinación del peso molecular (es decir la masa) o una variable de masa correspondiente a un compuesto, es decir un metabolito, que se determinará de acuerdo con la presente invención. Preferiblemente, la espectrometría de masas como se usa aquí se refiere a GC-MS, LC-MS, espectrometría de masas de infusión directa, FT-ICR-MS, CE-MS, HPLC-MS, espectrometría de masas de cuadrupolo, cualquier espectrometría de masas acoplada secuencialmente, tal como MS-MS o MS-MS-MS, ICP-MS, Py-MS, TOF o cualquier de los enfoques combinados que utilizan las técnicas antes  
 40 mencionadas. Cómo aplicar estas técnicas es bien conocido por la persona capacitada en la técnica. Por otra parte, los dispositivos adecuados se encuentran comercialmente disponibles. Más preferiblemente, la espectrometría de masa como se utiliza aquí se refiere a LC-MS y/o GC-MS, es decir, a espectrometría de masas que está enlazada operativamente a una etapa de separación cromatográfica previa. Más preferiblemente, la espectrometría de masas como se utiliza aquí abarca MS de cuadrupolo. Más preferiblemente, dicha MS de cuadrupolo se lleva a cabo de la siguiente manera: a) selección de un cociente de masa / carga ( $m/z$ ) de un ión creado por ionización en un primer cuadrupolo analítico del espectrómetro de masas, b) fragmentación del ión seleccionado en la etapa a) mediante la aplicación de un voltaje de aceleración en un cuadrupolo posterior adicional que está lleno con un gas de colisión y actúa como una cámara de colisiones, selección de un cociente de masa / carga de un ión creado por el proceso de fragmentación en la etapa b) en cuadrupolo posterior adicional, por lo que las etapas a) a c) del método se llevan a  
 45 cabo al menos una vez y el análisis del cociente de masa / carga de todos los iones presentes en la mezcla de sustancias como resultado del proceso de ionización, mediante el cual se llena el cuadrupolo con gas de colisión pero no se aplica voltaje de aceleración durante el análisis. Los detalles sobre dicha espectrometría de masas más preferida que se utiliza de acuerdo con la presente invención se puede encontrar en el documento WO 03/073464.

55 Más preferiblemente, dicha espectrometría de masas es cromatografía líquida (LC) MS y/o cromatografía de gases (GC) MS.

La cromatografía líquida como se usa aquí, se refiere a todas las técnicas que permiten la separación de compuestos (es decir, metabolitos) en fase líquida o supercrítica. La cromatografía líquida se caracteriza porque los compuestos en una fase móvil se pasan a través de la fase estacionaria. Cuando los compuestos pasan a través de

la fase estacionaria a diferentes velocidades se separan en el tiempo, ya que cada compuesto individual tiene su tiempo de retención específico (es decir el tiempo que es requerido por el compuesto para pasar a través del sistema). La cromatografía líquida tal como se utiliza en este documento también incluye HPLC. Dispositivos para cromatografía líquida están disponibles comercialmente, por ejemplo de Agilent Technologies, EE.UU. La cromatografía de gases tal como se aplica de acuerdo con la presente invención, en principio, opera en forma comparable con la cromatografía líquida. Sin embargo, en lugar de tener los compuestos (es decir los metabolitos) en una fase móvil líquida que se pasa a través de la fase estacionaria, los compuestos estarán presentes en un volumen gaseoso. Los compuestos pasan la columna que puede contener materiales de soporte sólido como fase estacionaria o cuyas paredes pueden servir como fase estacionaria o están recubiertas con fase estacionaria. De nuevo, cada compuesto tiene un tiempo específico que se requiere para pasar a través de la columna. Además, en el caso de la cromatografía de gases se prevé preferiblemente que los compuestos formen derivados antes de la cromatografía de gases. Las técnicas adecuadas para la formación de derivados son bien conocidas en la técnica. Preferiblemente, la formación de derivados de acuerdo con la presente invención se refiere a metoximación y trimetilsililación, preferentemente de compuestos polares y de transmetilación, metoximación y trimetilsililación, preferiblemente, de compuestos no polares (es decir lipofílicos).

Además, la presente especificación se refiere a una colección de datos que comprende valores característicos de al menos un metabolito que es indicativo para los carcinomas de próstata o una predisposición a los mismos, o para un carcinoma de próstata que progresa, dicho metabolito siendo seleccionado del grupo respectivo mencionado anteriormente de acuerdo con los métodos de la presente invención. El término "recolección de datos" se refiere a una recolección de datos que puede ser agrupada en forma física y/o en forma lógica. Por consiguiente, la recolección de datos se puede implementar en un solo medio de almacenamiento de datos o en medios de almacenamiento de datos separados físicamente que están operativamente enlazados entre sí. Preferiblemente, la recolección de datos se implementa por medio de una base de datos. Por lo tanto, una base de datos tal como se usa en el presente documento comprende la recopilación de datos sobre un medio de almacenamiento adecuado. Por otra parte, la base de datos, preferiblemente, comprende además un sistema de gestión de la base de datos. El sistema de gestión de la base de datos es, preferentemente, un sistema de gestión de bases de datos orientado a objetos o jerárquica basada en una red. Además, la base de datos puede ser una base de datos federal o integrada. Más preferiblemente, la base de datos se implementará como un sistema distribuido (federal), por ejemplo, como un sistema cliente - servidor. Más preferiblemente, la base de datos está estructurada para permitir que un algoritmo de búsqueda compare un conjunto de datos de prueba con los conjuntos de datos que componen la recolección de datos. Específicamente, mediante el uso de tal algoritmo, se pueden buscar en la base de datos conjuntos de datos similares o idénticos lo cual es indicativo de carcinoma de próstata o una predisposición al mismo (por ejemplo, una consulta de búsqueda). Por lo tanto, si se puede identificar un conjunto de datos idéntico o similar en la colección de datos, el conjunto de datos de prueba estará asociado con carcinomas de próstata o una predisposición a los mismos o con la progresión del carcinoma de próstata. En consecuencia, la información obtenida a partir de la colección de datos se puede utilizar para diagnosticar carcinomas de próstata o una predisposición a los mismos con base en un conjunto de datos de prueba obtenido de un sujeto. Más preferiblemente, la colección de datos comprende valores característicos de todos los metabolitos comprendidos por cualquiera de los grupos indicados anteriormente.

A la luz de lo anterior, la presente especificación abarca un medio de almacenamiento de datos que comprende la recolección de datos anteriormente mencionada.

El término "medio de almacenamiento de datos" tal como se utiliza aquí abarca los medios de almacenamiento de datos que se basan en entidades físicas individuales tales como un CD, un CD-ROM, un disco duro, medios de almacenamiento óptico, o un disquete. Además, el término incluye adicionalmente, medios de almacenamiento de datos que consisten en entidades separadas físicamente que están operativamente enlazadas entre sí de una forma que permita la recolección de datos antes mencionada, preferiblemente, de un modo adecuado para una consulta de búsqueda.

La presente especificación también se refiere a un sistema que comprende:

- (a) medios para comparar los valores característicos de los metabolitos de una muestra operativamente enlazada a
- (b) un medio de almacenamiento de datos como se describió anteriormente.

El término "sistema" como se usa aquí se refiere a los diferentes medios que están operativamente enlazados entre sí. Dichos medios se pueden implementar en un solo dispositivo o pueden ser dispositivos que están físicamente separados operativamente enlazados entre sí. Los medios para comparación de los valores característicos de metabolitos operan, preferiblemente, con base en un algoritmo de comparación como se mencionó antes. El medio de almacenamiento de datos, preferiblemente, comprende la colección de datos antes mencionada o base de datos, en donde cada uno de los conjuntos de datos almacenados son indicativos para los carcinomas de próstata o una predisposición a los mismos. De este modo, el sistema permite identificar si un conjunto de datos de prueba está

compuesto por la colección de datos almacenada en el medio de almacenamiento de datos. En consecuencia, se puede aplicar el sistema como un medio de diagnóstico para el diagnóstico de carcinomas de próstata o una predisposición o la progresión de los mismos.

5 En un ejemplo preferido del sistema, este consta de medios para determinar los valores característicos de los metabolitos de una muestra.

El término "medios para determinar los valores característicos de los metabolitos" preferentemente se refiere a los dispositivos mencionados anteriormente para la determinación de metabolitos tales como los dispositivos de espectrometría de masas, dispositivos de RMN o dispositivos para llevar a cabo ensayos químicos o biológicos para los metabolitos.

10 Además, la presente especificación se refiere a un medio de diagnóstico que comprenden medios para la determinación de al menos un metabolito seleccionado de uno cualquiera de los grupos mencionados anteriormente.

El término "medio de diagnóstico", preferiblemente, se refiere a un dispositivo de diagnóstico, sistema o ensayo biológico o químico tal como se especifica en otra parte de la descripción en forma detallada.

15 La expresión "medios para la determinación de al menos un metabolito" se refiere a dispositivos o agentes que son capaces de reconocer específicamente el metabolito. Los dispositivos adecuados pueden ser dispositivos espectrométricos tales como espectrometría de masas, dispositivos de RMN o dispositivos para la realización de ensayos químicos o biológicos para los metabolitos. Los agentes adecuados pueden ser compuestos que detectan específicamente los metabolitos. La detección tal como se utiliza en la presente memoria puede ser un proceso de  
20 dos etapas, es decir, el compuesto puede unirse primero específicamente al metabolito que va a ser detectado y posteriormente generar una señal detectable, por ejemplo, señales fluorescentes, señales quimioluminiscentes, señales radiactivas y similares. Para la generación de la señal detectable, se pueden requerir otros compuestos que estén todos comprendidos por el término "medios para la determinación de al menos un metabolito". Los compuestos que se enlazan específicamente al metabolito se describen en otra parte de la especificación en forma detallada e incluyen, preferiblemente, enzimas, anticuerpos, ligandos, receptores u otras moléculas biológicas o  
25 compuestos químicos que se enlazan específicamente a los metabolitos. En un ejemplo preferido, la señal detectable también representan una señal cuantificable, es decir, la intensidad relativa de al menos un metabolito es proporcional a la intensidad relativa de la señal detectable.

Además, la presente especificación se refiere a una composición de diagnóstico que comprende por lo menos un metabolito seleccionado de uno cualquiera de los grupos mencionados anteriormente.

30 El al menos un metabolito seleccionado de cualquiera de los grupos mencionados anteriormente servirá como un biomarcador, es decir una molécula indicadora de una condición patológica o predisposición en el sujeto, es decir, carcinomas de próstata o una predisposición a los mismos. Por lo tanto, los metabolitos mismos pueden servir como composiciones de diagnóstico, preferiblemente, mediante visualización o detección por los medios mencionados en el presente documento. Por lo tanto, una composición de diagnóstico que indica la presencia de un metabolito  
35 también puede comprender dicho biomarcador físicamente, por ejemplo, un complejo de un anticuerpo y el metabolito que se va a detectar puede servir como la composición diagnóstica. Por consiguiente, la composición de diagnóstico puede comprender además medios para la detección de los metabolitos como se especifica en otra parte en esta descripción. Alternativamente, si se utilizan medios de detección tales como técnicas basadas en MS o RMN, las especies moleculares que sirven como un indicador para la condición patológica serán al menos un  
40 metabolito comprendido por la muestra de prueba que va a ser investigada. Por lo tanto, al menos un metabolito mencionado de acuerdo con la presente invención servirá por sí mismo como una composición de diagnóstico debido a su identificación como un biomarcador.

Finalmente, la presente invención se refiere al uso de al menos un metabolito o un compuesto que específicamente detecte dicho metabolito para el diagnóstico de carcinomas de próstata, una predisposición a los mismos o un  
45 carcinoma de próstata que progresa en una muestra de un sujeto, siendo dicho metabolito seleccionado del grupo respectivo mencionado anteriormente de acuerdo con los métodos de la presente invención.

Como ya se especificó anteriormente, cada uno de dichos metabolitos es un biomarcador adecuado por si mismo para las enfermedades mencionadas en el presente documento. Sin embargo, más preferiblemente, se determina un grupo de biomarcadores incluyendo los biomarcadores de uno cualquiera de los grupos mencionados anteriormente por el método de la presente invención. Un grupo de biomarcadores consiste, preferiblemente, de al menos dos, al  
50 menos tres, al menos cuatro y, preferiblemente, todos los biomarcadores antes mencionados.

La invención se ilustrará ahora mediante los siguientes Ejemplos que no pretenden restringir o limitar el alcance de esta invención.

**Ejemplo 1: Determinación de metabolitos**

Los biomarcadores fueron descubiertos mediante el análisis de muestras de tejido y parcialmente de suero del mismo grupo de sujetos humanos para determinar los niveles de metabolitos en las muestras y luego analizar estadísticamente los resultados para determinar los metabolitos que son iguales o diferentes en tejido o en suero.

- 5 El tejido canceroso y de control de 107 sujetos que sufren de cáncer de próstata, así como muestras de suero de un subgrupo de 64 sujetos se usaron para el análisis. Se incluyó Información clínica adicional para todos los sujetos (por ejemplo, edad, índice de masa corporal, medicación, fecha del muestreo, DRUS, TRUS, PSA total, PSA libre, relación PSA libre/total, pT del estado del tumor, Gleason [total], Gleason [punción] en el análisis.

- 10 Se prepararon las muestras y se sometieron a LC-MS / MS y GC-MS o para muestras de suero humano análisis XLC-MS / MS (hormonas) como se describe a continuación:

Las muestras se prepararon de la siguiente manera: se separaron las proteínas por precipitación a partir de suero sanguíneo o de los extractos obtenidos por extracción con solventes del material de tejido liofilizado. Después de la adición de agua y una mezcla de etanol y diclorometano, se fraccionó la muestra restante en una fase acuosa polar (fracción polar) y una fase lipofílica orgánica (fracción lipídica).

- 15 Para la transmetanólisis de extractos lipídicos se añade una mezcla de 140  $\mu$ l de cloroformo, 37  $\mu$ l de ácido clorhídrico (37% en peso de HCl en agua), 320  $\mu$ l de metanol y 20  $\mu$ l de tolueno al extracto evaporado. Se selló herméticamente el recipiente y se calentó durante 2 horas a 100 °C, con agitación. Se evaporó posteriormente la solución a sequedad. Se secó completamente el residuo.

- 20 La metoximación de los grupos carbonilo se llevó a cabo por reacción con clorhidrato de metoxiamina (20 mg / ml en piridina, 100  $\mu$ l durante 1,5 horas a 60 °C) en un recipiente cerrado herméticamente. Se añadieron 20  $\mu$ l de una solución de ácidos grasos de cadena lineal impares (una solución de 0,3 mg / mL de cada uno de los ácidos grasos de 7 a 25 átomos de carbono y de 0,6 mg / mL de cada uno de los ácidos grasos con 27, 29 y 31 átomos de carbono en 3/7 (v / v) de piridina / tolueno) como estándares de tiempo. Finalmente, se llevó a cabo la formación de derivados con 100  $\mu$ l de N-metil-N-(trimetilsilil)-2,2,2-trifluoroacetamida (MSTFA) durante 30 minutos a 60 °C, de nuevo en el recipiente cerrado herméticamente. El volumen final antes de la inyección en el GC fue de 220  $\mu$ l.

- 25 Para la fase polar, se llevó a cabo la formación de derivados de la siguiente forma: La metoximación de los grupos carbonilo se llevó a cabo por reacción con clorhidrato de metoxiamina (20 mg / ml en piridina, 50  $\mu$ l durante 1,5 horas a 60 °C) en un recipiente cerrado herméticamente. Se añadieron 10  $\mu$ l de una solución de ácidos grasos de cadena lineal impares (una solución de 0,3 mg / mL de cada uno de los ácidos grasos de 7 a 25 átomos de carbono y de 0,6 mg / mL de cada uno de los ácidos grasos con 27, 29 y 31 átomos de carbono en 3/7 (v / v) de piridina / tolueno) como estándares de tiempo. Finalmente, se llevó a cabo la formación de derivados con 50  $\mu$ l de N-metil-N-(trimetilsilil)-2,2,2-trifluoroacetamida (MSTFA) durante 30 minutos a 60 °C, de nuevo en el recipiente cerrado herméticamente. El volumen final antes de la inyección en el GC fue de 110  $\mu$ l.

- 30 Los sistemas GC-MS consisten de un GC Agilent 6890 acoplado a un MSD Agilent 5973. Los muestreadores automáticos son CompiPal o GCPal de CTC.

- 35 Para el análisis, se utilizaron columnas de separación capilares comerciales usuales (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m) con diferentes fases estacionarias de poli-metil-siloxano que contienen de 0% hasta 35% de fracciones aromáticas, dependiendo de los materiales de muestra analizados y de las fracciones de la etapa de separación de fases (por ejemplo: DB-1ms, HP-5ms, DB-XLB, DB-35ms, Agilent Technologies). Se inyectó hasta 1  $\mu$ L del volumen final sin divisor (*splitless*) y el programa de temperatura del horno inició a 70 °C y terminó a 340 °C con diferentes velocidades de calentamiento dependiendo del material de muestra y la fracción de la etapa de separación de fases a fin de lograr una separación cromatográfica suficiente y un número de barridos dentro de cada pico del analito. Además se utilizó RTL (congelación del tiempo de retención, Agilent Technologies) para el análisis y condiciones estándar habituales de GC-MS, por ejemplo un flujo constante con 1 a 1,7 ml / min nominales y helio como el gas de la fase móvil, se hizo la ionización por impacto de electrones con 70 eV, con un barrido dentro del rango de m / z de 15 a 600 con velocidades de barrido de 2,5 a 3 barridos / s y condiciones estándar de sintonización.

- 40 Los sistemas de HPLC-MS consistieron de un sistema LC Agilent 1100 (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania), acoplado con un espectrómetro de masas API 4000 (Applied Biosystems / MDS SCIEX, Toronto, Canadá). El análisis por HPLC se realizó en columnas de separación de fases en fase inversa que se encuentran comercialmente disponibles con fases estacionarias C18 (por ejemplo: GROM ODS 7 pH, Thermo Betasil C18). Se inyectaron hasta 10  $\mu$ L del volumen final de la muestra de la fase lipofílica y polar evaporada y reconstituida y se llevó a cabo la separación con elución por gradiente usando gradientes de metanol / agua / ácido fórmico o acetonitrilo / agua / ácido fórmico con una velocidad de flujo de 200  $\mu$ L / min.

La espectrometría de masas se llevó a cabo mediante ionización por electroaspersión en modo positivo para la fracción no polar (fracción lipídica) y en modo negativo para la fracción polar utilizando el modo de seguimiento de reacción múltiple (MRM) y barrido total 100-1000 amu.

5 Los esteroides y sus metabolitos se midieron por SPE-LC-MS en línea (LC-MS por extracción en fase sólida). Se midieron las catecolaminas y sus metabolitos mediante SPE-LC-MS en línea como lo describen Yamada et al [21].

### Ejemplo 2: Evaluación de datos

10 Se analizaron las muestras de suero en un diseño de secuencia analítica aleatoria con muestras combinadas (la así llamada "combinación") generadas a partir de alícuotas de cada muestra. Los datos sin procesar del pico se normalizaron a la mediana de la combinación por secuencia analítica para explicar la variabilidad del proceso (las denominadas "relaciones"). Las relaciones se transformaron mediante  $\log_{10}$  para aproximarse a una distribución normal de los datos. El análisis estadístico se realizó mediante un modelo lineal de corrección de datos del índice de masa corporal, la edad y el tiempo de almacenamiento y la predicción del PSA total, PSA libre, la relación PSA libre / PSA total, pT del estado del tumor, Gleason [global], Gleason [punción]. Los metabolitos de este análisis eran idénticos. Además, se realizó un análisis de la característica de funcionamiento del receptor (ROC) para calcular el área bajo la curva (AUC) para la progresión del estado del tumor de la fase 2 a la fase 3.

20 Se analizaron muestras de tejido de próstata en un diseño de secuencia analítica semialeatoria (muestras de cada sujeto analizadas en ranuras contiguas, sujetos y secuencia de tejido aleatorio) con muestras combinadas (= "combinación") generadas a partir de muestras adicionales provistas para este propósito. Los datos del pico sin procesar se normalizaron a la mediana de la combinación por secuencia analítica para explicar la variabilidad del proceso (las denominadas "relaciones versus combinación"). Las relaciones versus la combinación se centraron nuevamente con dos métodos diferentes: 1) Normalización a la mediana de todas las muestras de control para centrarse en los cambios inducidos por el cáncer mediante la retención de la variabilidad del grupo de control. 2) Normalización de las relaciones de la muestra de cáncer en cada individuo con la correspondiente muestra de control para explicar la variabilidad entre individuos.

25 Todas las relaciones se transformaron mediante  $\log_{10}$  para enfocarse en una distribución normal de los datos.

30 El análisis estadístico se realizó sobre relaciones transformadas mediante  $\log_{10}$  del método de normalización 1 mediante una prueba t bilateral emparejada y sobre las relaciones transformadas mediante  $\log_{10}$  del método de normalización 2 por análisis de regresión lineal con PSA total, PSA libre, relación PSA libre / total, pT del estado del tumor, Gleason [global] Gleason [punción]. Además, se realizó un análisis de la característica de funcionamiento del receptor (ROC) para calcular el área bajo la curva (AUC) para el tejido canceroso versus el control sano sobre relaciones del método de normalización 1.

35 Se hizo la integración de datos de muestras de suero y de tejido prostático con relaciones de suero y relaciones de tejido prostático a partir de la normalización entre individuos de la muestra de cáncer con el control correspondiente. El análisis estadístico se realizó por regresión lineal de todos los metabolitos del suero con todos los metabolitos del tejido prostático. A partir de la matriz de correlación obtenida, se identificaron los candidatos a biomarcadores con 3 métodos:

1) datos de metabolito en suero que muestra una correlación significativa con el mismo metabolito en los datos de tejido de próstata y por lo tanto un candidato a biomarcador en suero para el diagnóstico del cáncer de próstata.

40 2) metabolito en suero que muestra una correlación significativa (es decir, que está entre las 40 correlaciones más significativas con base en el valor p de la regresión lineal) con los datos de tejido de próstata y por lo tanto un candidato a biomarcador en suero para el diagnóstico de cáncer de próstata.

45 3) metabolito en suero que muestra una correlación significativa con uno de los 7 metabolitos de tejido de próstata más significativamente cambiados (7-metilguanina, biotina, glicina, hipoxantina, ácido tricosanoico, Identificación del metabolito (69800140), uridina) y por lo tanto un candidato a biomarcador en suero para el diagnóstico del cáncer de próstata.

Los resultados de la evaluación de los datos se muestran en las siguientes tablas.

ES 2 516 866 T3

Tabla 1: Biomarcadores de metabolitos en tejido de cáncer de próstata con un nivel de concentración muy diferente en comparación con el tejido sano basado en una prueba t bilateral por pares.

Metabolito	Clase de regulación	Mediana del tejido de carcinoma con respecto al control	Valor p de la prueba t emparejada, bilateral	AUC del carcinoma versus el tejido sano
7-Metilguanina	Sobrerregulada	1,55	0,0000	0,75
Ácido 2-Hidroxibehénico (C22:0)	Sobrerregulada	6,62	0,0000	0,85
Ácido cerebrónico (2-OH-C24:0)	Sobrerregulada	3,73	0,0000	0,82
Isopentenil pirofosfato (IPP)	Sobrerregulada	1,45	0,0000	0,75
Ácido 14-metilhexadecanoico	Sobrerregulada	1,14	0,0000	0,62
Ácido 2-aminoadipínico	Sobrerregulada	1,45	0,0000	0,68
Ceramida (d18:1, C24:1)	Sobrerregulada	1,10	0,0011	0,60
Ácido eicosenoico (C20:cis[11]1)	Sobrerregulada	1,55	0,0000	0,70
Ácido tricosanoico (C23:0)	Sobrerregulada	2,99	0,0000	0,85
Glicerofosfoetanolamina, fracción polar	Sobrerregulada	2,50	0,0000	0,75
Ácido eicosadienoico (C20:2) No. 02	Sobrerregulada	1,53	0,0000	0,72
Arginina	Sobrerregulada	1,18	0,0000	0,62
Ácido behénico (C22:0)	Sobrerregulada	1,37	0,0000	0,69
beta-Caroteno	Sobrerregulada	1,25	0,0000	0,60
Colestenol No. 02	Sobrerregulada	1,33	0,0000	0,69
Citosina	Sobrerregulada	1,14	0,0000	0,66
DAG (C18:1, C18:2)	Sobrerregulada	1,04	0,0020	0,56
Dihidrocolesterol	Sobrerregulada	1,35	0,0000	0,66
Eritro-Dihidroesfingosina	Sobrerregulada	1,12	0,0056	0,58
Ácido docosahexaenoico (C22:cis[4,7,10,13,16,19]6)	Sobrerregulada	1,24	0,0000	0,65
Dodecanol	Sobrerregulada	1,08	0,0323	0,57
Ácido eicosanoico (C20:0)	Sobrerregulada	1,41	0,0000	0,68
Ácido eicosapentaenoico (C20:cis[5,8,11,14,17]5)	Sobrerregulada	1,20	0,0003	0,60
Ácido Dihomo-gamma-Linolénico (C20:cis[8,11,14]3)	Sobrerregulada	1,20	0,0000	0,64
eritro-C16-Esfingosina	Sobrerregulada	1,45	0,0000	0,69
Flavina adenina dinucleótido (FAD)	Sobrerregulada	1,35	0,0000	0,69
gamma-Tocoferol	Sobrerregulada	1,37	0,0000	0,67
Ácido glucónico	Subregulada	0,59	0,0002	0,62
Ácido glucurónico	Subregulada	0,67	0,0001	0,62
Glicerol-2-fosfato	Sobrerregulada	1,48	0,0000	0,74
Ácido lignocérico (C24:0)	Sobrerregulada	1,33	0,0000	0,68
Lisofosfatidilcolina (C18:2)	Sobrerregulada	1,16	0,0000	0,62
Lisofosfatidilcolina (C20:4)	Sobrerregulada	1,06	0,0007	0,57
Maltotriosa	Subregulada	0,54	0,0000	0,62
mio-Inositol, fracción lipídica	Sobrerregulada	1,13	0,0007	0,63
mio-Inositol-2-fosfato, fracción lipídica (mio-Inositolfosfolípidos)	Sobrerregulada	1,44	0,0000	0,70
Ácido nervónico (C24:cis[15]1)	Sobrerregulada	1,15	0,0002	0,62
Nicotinamida	Sobrerregulada	1,13	0,0004	0,61
Pentadecanol	Sobrerregulada	1,52	0,0000	0,75
Fosfatidilcolina (C18:0, C22:6)	Subregulada	0,88	0,0004	0,62
Fitoesfingosina	Sobrerregulada	1,24	0,0002	0,64
Pseudouridina	Sobrerregulada	1,10	0,0005	0,62
Piruvato	Sobrerregulada	1,07	0,0004	0,60
3-O-Metilesfingosina	Sobrerregulada	1,33	0,0001	0,67
treo-Esfingosina	Sobrerregulada	1,33	0,0001	0,68
5-O-Metilesfingosina	Sobrerregulada	1,30	0,0002	0,66
eritro-Esfingosina	Sobrerregulada	1,32	0,0012	0,64
Esfingosina-1-fosfato	Sobrerregulada	1,26	0,0005	0,65
Ácido treónico	Sobrerregulada	1,17	0,0011	0,60
Isómero de esfingosina No. 01	Sobrerregulada	1,38	0,0001	0,66

Tabla. 2: Metabolitos en el suero que muestran un nivel de concentración muy diferente cuando el cáncer progresa de la fase 2 a la fase 3 y proporcionar biomarcadores en el suero para el diagnóstico de la progresión del cáncer de próstata.

Metabolito	Clase de regulación	Estado del tumor 3a,3b versus 2 valor t	Estado del tumor 3a,3b versus 2 valor t	Estado del tumor 3a,3b versus 2 AUC	Valor p
Identificación del metabolito (58300131)	Subregulada	-2,427	0,0186	0,57	<0,05
Fosfatidilcolina (C18:0,C18:2)	Sobrerregulada	2,157	0,0356	0,64	<0,05
Fosfatidilcolina (C16:0, C20:4)	Subregulada	-2,280	0,0268	0,63	<0,05
Ácido 2-oxoisocaproico	Subregulada	-1,175	0,2454	0,52	<0,25
Ácido eritrónico	Subregulada	-1,445	0,1544	0,55	<0,25
Plasmalógeno de colina (C18,C20:4)	Subregulada	-1,191	0,2389	0,56	<0,25
Identificación del metabolito (68300015)	Subregulada	-1,177	0,2445	0,55	<0,25
Identificación del metabolito (68300047)	Subregulada	-2,054	0,0450	0,62	<0,05
Lisofosfatidilcolina (18:0)	Subregulada	-1,226	0,2257	0,59	<0,25
Fosfatidilcolina (C16:0, C16:0)	Sobrerregulada	1,169	0,2476	0,60	<0,25
Fosfatidilcolina (C18:0, C20:4)	Subregulada	-1,544	0,1287	0,53	<0,15
Identificación del metabolito (68300020)	Subregulada	-1,262	0,2124	0,58	<0,25
Piruvato	Subregulada	-1,204	0,2339	0,54	<0,25
beta-Sitosterol	Subregulada	-1,626	0,1100	0,62	<0,15
Coenzima Q10	Subregulada	-1,548	0,1277	0,59	<0,15

5

Tabla 3: Metabolitos identificados en suero en comparación con el tejido próstata

Metabolito	valor t	valor p	Enfoque del análisis de datos
Plasmalógeno de colina (C18, C20:4)	3,007	0,0042	Efecto de la relación fPSA_tPSA_log
Ácido 2-oxoisocaproico	aumenta	0,0253	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Identificación del metabolito (68300015)	disminuye	0,00014	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos
Identificación del metabolito (68300047)	-2,390	0,0205	Estado numérico del tumor
Ácido eritrónico	aumenta	0,0070	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Ácido behénico (C22:0)	disminuye	0,00052	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos
mio-Inositol-2-fosfato, fracción lipídica (mio-Inositolfosfolípidos)	disminuye	0,00054	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos
Identificación del metabolito (38300600)	3,314	0,0018	Efecto del log de tPSA
1,5-Anhidrosorbitol	-2,072	0,0432	Estado numérico del tumor
Ácido 14-metilhexadecanoico	2,427	0,0188	Suma de la puntuación de Gleason
3-Hidroxi-3-metoxibutirato	2,853	0,0064	Efecto del log de fPSA
3-Metoxitirosina	-1,728	0,0897	Suma de la punción de Gleason
4-Hidroxi-3-metoxifenilglicol (HMPG)	disminuye	0,00059	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos
Ácido 5-hidroxi-3-indoleacético (5-H IAA)	1,723	0,0907	Efecto del log de tPSA
beta-Caroteno	aumenta	0,0325	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente

(continuación)

Metabolito	valor t	valor p	Enfoque del análisis de datos
beta-Sitosterol	aumenta	0,00044	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos
Cantaxantina	2,032	0,0479	Efecto del log de fPSA
Ceramida (d18:1, C24:0)	aumenta	0,0468	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Colestenol No 02	aumenta	0,0309	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Identificación del metabolito (68300017)	1,965	0,0548	Suma de la puntuación de Gleason
Coenzima Q10	-2,013	0,0493	Estado numérico del tumor
Ácido linoleico conjugado (C18:trans[9,11] 2)	2,093	0,0414	Suma de la puntuación de Gleason
Criptoxantina	aumenta	0,00048	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos
Dihidrotestosterona	1,894	0,0642	Efecto de la relación fPSA_tPSA_log
Ácido docosahexaenoico (C22:cis[4,7,10,13,16,19]6)	aumenta	0,0300	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Dodecanol	-1,934	0,0592	Efecto de la relación fPSA_tPSA_log
Ácido eicosanoico (C20:0)	aumenta	0,0290	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Metabolito	valor t	valor p	Enfoque del análisis de datos
Ácido eicosapentaenoico (C20:cis[5,8,11,14,17]5)	aumenta	0,0041	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Ácido dihomo-gamma-Linolénico (C20:cis[8,11,14]3)	aumenta	0,00022	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos
eritro-C16-esfingosina	aumenta	0,0363	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Ácido gamma-Linolénico (C18: cis[6,9,12]3)	aumenta	0,0176	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Glicerato	-2,216	0,0316	Efecto de la relación fPSA_tPSA_log
Lactato	-2,644	0,0111	Efecto de la relación fPSA_tPSA_log
Ácido lignocérico (C24:0)	aumenta	0,0423	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Licopeno	aumenta	0,0412	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Lisofosfatidilcolina (16:0)	2,148	0,0365	Efecto del log de tPSA
Lisofosfatidilcolina (C18:2)	disminuye	0,00048	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos
Lisofosfatidilcolina (C17:0)	1,916	0,0610	Efecto del log de tPSA
Ácido nervónico (C24:cis[15]1)	aumenta	0,0410	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Fosfatidilcolina (C16:0, C20:4)		0,0409	Estado numérico del tumor
Fosfatidilcolina (C18:0, C18:2)	1,707	0,0938	Suma de la puntuación de Gleason
Fosfatidilcolina (C18:2, C20:4)	-1,756	0,0856	Efecto de la relación fPSA_tPSA_log
Identificación del metabolito (68300048)	aumenta	0,00044	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos

(continuación)

Metabolito	valor t	valor p	Enfoque del análisis de datos
Fosfatidilcolina No 02	aumenta	0,0087	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente
Fosfatidilcolina (C18:0, C20:4)	-2,375	0,0213	Estado numérico del tumor
Identificación del metabolito (68300020)	2,250	0,0292	Efecto del log de fPSA
Piruvato	-2,193	0,0327	Estado numérico del tumor
escilo-Inositol	-2,945	0,0050	Efecto de la relación fPSA_tPSA_log
3-O-Metilesfingosina	disminuye	0,00000	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos
5-O-Metilesfingosina	disminuye	0,00001	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos
eritro-esfingosina	disminuye	0,00001	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos
Esfingomielina (d18:1, C16:0)	disminuye	0,00031	Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos
Identificación del metabolito (68300045)	2,281	0,0268	Efecto del log de tPSA
Testosterona	1,694	0,0962	Efecto del log de tPSA
Sulfato de deshidroepiandrosterona	2,310	0,0248	Suma de la puntuación de Gleason
Ácido treónico	-2,468	0,0173	Efecto de la relación fPSA_tPSA_log
Ácido tricosanoico (C23:0)	aumenta	0,0389	Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 que cambiaron más significativamente

Tabla 4: Explicación detallada de los diferentes análisis de datos enfoques mencionados en el cuadro 3.

5

Enfoque del análisis de datos	Explicación
Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación significativa del mismo metabolito.	Metabolito en los datos del suero que muestra una correlación significativa con el mismo metabolito en los datos del tejido de próstata y por lo tanto un candidato a biomarcador en suero para el diagnóstico de cáncer de próstata. Los datos del metabolito del análisis del tejido de cáncer de próstata se normalizaron en cada individuo con los datos de tejido sano de próstata y los datos del suero se normalizaron con las muestras combinadas.
Análisis de correlación del tejido y el suero, correlación entre los 40 más significativos	Metabolito en suero que muestra una correlación significativa (es decir, que está entre las 40 correlaciones más significativas con base en el valor p de la regresión lineal) con los datos del tejido de próstata y por lo tanto un candidato a biomarcador en suero para diagnóstico del cáncer de próstata. Los datos del metabolito del análisis del tejido de cáncer de próstata se normalizaron entre individuos con los datos del tejido sano de próstata y se normalizaron los datos del suero con las muestras combinadas.
Análisis de correlación del tejido y el suero, biomarcador del cáncer de próstata entre los 7 más significativos	Metabolito en suero que muestra una correlación significativa con uno de los 7 metabolitos de tejido de próstata que cambiaron más significativamente (7-metilguanina, biotina, glicina, hipoxantina, ácido tricosanoico, Identificación del metabolito (69800140), uridina) y por lo tanto un candidato a biomarcador en suero para diagnóstico del cáncer de próstata. Los datos del metabolito del análisis del tejido de cáncer de próstata se normalizaron entre individuos con los datos del tejido sano de próstata y se normalizaron los datos del suero con las muestras combinadas.
Efecto de la relación fPSA_tPSA_log	Candidato a biomarcador del metabolito en suero para diagnóstico del cáncer de próstata. Resultado de un modelo lineal que correlaciona la relación transformada mediante el log <sub>10</sub> de fPSA con respecto a tPSA (relación de los datos del antígeno libre específico de la próstata con los datos del antígeno total específico de la próstata) con los datos del metabolito en suero transformados mediante el log <sub>10</sub> (relaciones versus muestras combinadas), corregidas por edad, índice de masa corporal y efectos de la duración del almacenamiento.

(continuación)

Enfoque del análisis de datos	Explicación
Suma de la punción de Gleason	Candidato a biomarcador del metabolito en suero para diagnóstico del cáncer de próstata. Resultado de un modelo lineal que correlaciona la puntuación de Gleason de la biopsia de cáncer de próstata con los datos del metabolito en suero transformados mediante el log10 (relaciones versus muestras combinadas), corregidas por edad, índice de masa corporal y efectos de la duración del almacenamiento.
Suma de la puntuación de Gleason	Candidato a biomarcador del metabolito en suero para diagnóstico del cáncer de próstata. Resultado de un modelo lineal que correlaciona la puntuación de Gleason de todo el cáncer de próstata después de cirugía con los datos del metabolito en suero transformados mediante el log10 (relaciones versus muestras combinadas), corregidas por edad, índice de masa corporal y efectos de la duración del almacenamiento.
Efecto del log de fPSA	Candidato a biomarcador del metabolito en suero para diagnóstico del cáncer de próstata. Resultado de un modelo lineal que correlaciona los datos del fPSA transformado mediante el log10 (antígeno prostático específico libre) con los datos del metabolito en suero transformados mediante el log10 (relaciones versus muestras combinadas), corregidas por edad, índice de masa corporal y efectos de la duración del almacenamiento.
Efecto del log de tPSA	Candidato a biomarcador del metabolito en suero para diagnóstico del cáncer de próstata. Resultado de un modelo lineal que correlaciona los datos del tPSA transformado mediante el log10 (antígeno prostático específico total) con los datos del metabolito en suero transformados mediante el log10 (relaciones versus muestras combinadas), corregidas por edad, índice de masa corporal y efectos de la duración del almacenamiento.
Estado numérico del tumor	Candidato a biomarcador del metabolito en suero para diagnóstico del cáncer de próstata. Resultado de un modelo lineal que correlaciona la puntuación del estado del tumor de todo el cáncer de próstata después de cirugía con los datos del metabolito en suero transformados mediante el log10 (relaciones versus muestras combinadas), corregidas por edad, índice de masa corporal y efectos de la duración del almacenamiento.

5 Tabla 5: Propiedades físicas / químicas de los Identificación del metabolito y los metabolitos seleccionados. Los biomarcadores definidos por un número de Identificación del metabolito en las tablas anteriores se caracterizan por las propiedades químicas y físicas.

Identificación del metabolito	Características
68300012	El metabolito 68300012 está presente en suero humano y si se detecta con LC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI), la relación masa a carga (m/z) de la especie iónica cargada positivamente es 808,4 (+/- 0,5).
68300015	El metabolito 68300015 pertenece a la clase de plasmalógenos de colina. Exhibe las siguientes especies iónicas características cuando se detecta con LC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): relación masa a carga (m/z) de la especie iónica cargada positivamente es 767 (+/- 0,5).
68300017	El metabolito 68300017 pertenece a la clase de plasmalógenos de colina. Exhibe las siguientes especies iónicas características cuando se detecta con LC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): relación masa a carga (m/z) de la especie iónica cargada positivamente es 772,6 (+/- 0,5).
68300020	El metabolito 68300020 pertenece a la clase de las glicerofosfatidilcolinas. Exhibe las siguientes especies iónicas características cuando se detecta con LC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): relación masa a carga (m/z) de la especie iónica cargada positivamente es 796,8 (+/- 0,5).
68300045	El metabolito 68300045 pertenece a la clase de diacilglicéridos. Exhibe las siguientes especies iónicas características cuando se detecta con LC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): relación masa a carga (m/z) de la especie iónica cargada positivamente es 695,6 (+/- 0,5).
68300047	El metabolito 68300047 pertenece a la clase de plasmalógenos de colina. Exhibe las siguientes especies iónicas características cuando se detecta con LC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): relación masa a carga (m/z) de la especie iónica cargada positivamente es 768,6 (+/- 0,5).

(continuación)

Identificación del metabolito	Características
68300048	El metabolito 68300048 pertenece a la clase de las glicerosfosfatidilcolinas. Exhibe las siguientes especies iónicas características cuando se detecta con LC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): relación masa a carga (m/z) de la especie iónica cargada positivamente es 780,8 (+/- 0,5).
58300131	El metabolito 58300131 exhibe las siguientes especies iónicas características cuando se detecta con LC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): relación masa a carga (m/z) de la especie iónica cargada negativamente es 127 (+/- 0,5).
38300600	El metabolito 38300600 exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detecta con GC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de derivado con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m/z (%): 73 (100), 375 (38), 147 (27), 217 (19), 257 (14), 376 (14), 169 (14), 75 (10), 250 (7), 133 (7).
5-O-Metilesfingosina	La 5-O-Metilesfingosina exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detecta con GC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de derivado con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m/z (%): 250 (100), 73 (34), 251 (19), 354 (14), 355 (4), 442 (1).
Colestenol No 02	El colestanol No 02 representa un isómero del colestanol. Exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detecta con GC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de derivado con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m/z (%): 143 (100), 458 (91), 73 (68), 81 (62), 95 (36), 185 (23), 327 (23), 368 (20), 255 (15), 429 (15).
3-O-Metilesfingosina	La 3-O-metilesfingosina exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detecta con GC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de derivado con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m/z (%): 204 (100), 73 (18), 205 (16), 206 (7), 354 (4), 442 (1).
Ácido eicosadienoico (C20:2) No 02	El ácido eicosadienoico (C20:2) No 02 representa un isómero del ácido eicosadienoico. exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detecta con GC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de derivado con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m/z (%): 81 (100), 57 (98), 43 (92), 67 (85), 41 (80), 55 (74), 82 (66), 95 (64), 110 (39), 109 (39).
Fosfatidilcolina No 02	La fosfatidilcolina No 02 pertenece a la clase de glicerosfosfatidilcolinas. Exhibe las siguientes especies iónicas características cuando se detecta con LC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): relación masa a carga (m/z) de la especie iónica cargada positivamente es 808,4 (+/- 0,5).
Isómero de esfingosina No 01	El isómero de esfingosina No 01 representa un isómero de esfingosina. Exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detecta con GC/MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de derivado con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m/z (%): 73 (100), 250 (37), 412 (37), 147 (21), 322 (14), 413 (11), 128 (9), 251 (7), 500 (2).

- 5 Un enfoque adicional del análisis de datos orientado a la diferenciación metabólica de los sujetos con alta puntuación de Gleason de cáncer de próstata y la baja puntuación de Gleason de cáncer de próstata (bisección de la puntuación de Gleason, abreviado como Gleason Bi en la Tabla 6 y Tabla 8). Se llevó a cabo un enfoque similar con una tricotomía de Gleason (abreviado como Gleason Tri en la Tabla 6 y Tabla 8). Ambos análisis se aplicaron tanto con los datos del tejido de próstata como con los datos del suero. Se llevó a cabo un enfoque similar con el estado del tumor pT (Tabla 7) sobre los datos de tejido de próstata. Los detalles de la clasificación de los sujetos en la puntuación de Gleason Bi, Gleason Tri y pT baja / alta se presentan en la Tabla 9. Se identificaron los metabolitos diferenciadores con modelos lineales (ANOVA) y se presentan en las Tablas 6, 7, 8). Cambios estimados > 1 indican sobreexpresión, cambios estimados <1 indican subexpresión.
- 10

Tabla 6: Los metabolitos que diferencian entre los distintos niveles de puntuación de Gleason en el tejido de cáncer de próstata. Los cambios estimados y los valores de p se calcularon mediante un modelo lineal de efecto mixto (ANOVA con sujeto como factor aleatorio) en relaciones transformadas mediante log10. Los criterios de clasificación se presentan en la Tabla 9.

5

	Puntuación de Gleason Bi (alta versus baja)	Puntuación de Gleason Tri (alta versus intermedia)	Puntuación de Gleason Tri (alta versus baja)	Puntuación de Gleason Tri (intermedia versus baja)
Metabolito	Cambio estimado	Cambio estimado	Cambio estimado	Cambio estimado
Ácido 2-Hidroxibehénico (C22:0)	1,474	1,040	1,509	1,450
Ácido cerebrónico (2-OH-C24:0)	1,471	1,201	1,640	1,365
Pentadecanol	1,266	1,264	1,453	1,150
Pseudouridina	1,196	1,082	1,256	1,161
mio-Inositol, fracción lipídica	1,195	1,283	1,386	1,080
Ácido 14-metilhexadecanoico	1,173	1,514	1,501	0,992
Ácido eicosapentaenoico (C20:cis[5,8,11,14,17]5)	1,165	1,542	1,506	0,976
Arginina	1,153	1,292	1,337	1,035
Ácido eritrónico	1,142	0,996	1,139	1,144
Ácido tricosanoico (C23:0)	1,139	1,201	1,270	1,057
Mioinositol-2-fosfato, fracción lipídica	1,129	1,352	1,360	1,006
7-Metilguanina	1,120	1,262	1,286	1,019
Isopentenil pirofosfato (IPP)	1,114	1,247	1,269	1,017
eritro-C16-esfingosina	1,114	1,139	1,204	1,057
Glicerofosfoetanolamina, fracción polar	1,102	1,677	1,505	0,898
Dihidrocolesterol	1,091	2,044	1,661	0,813
Colestenol No 02	1,090	1,399	1,331	0,951
treo-Esfingosina	1,088	1,112	1,157	1,041
Glicerol-2-fosfato	1,081	1,547	1,411	0,912
Piruvato	1,063	1,086	1,119	1,030
Ácido treónico	1,053	1,302	1,237	0,951
Ácido docosahexaenoico (C22:cis[4, 7, 10, 13, 16, 19]6)	1,053	1,352	1,256	0,929
Isómero de esfingosina No 01	1,048	1,190	1,166	0,980
3-O-Metilesfingosina	1,046	1,124	1,122	0,998
eritro-Dihidroesfingosina	1,041	0,992	1,036	1,044
5-O-Metilesfingosina	1,037	1,127	1,114	0,989
Mioinositol-2-fosfato	1,033	0,968	1,012	1,046
eritro-Esfingosina	1,019	1,114	1,087	0,976
Nicotinamida	1,018	1,152	1,110	0,963
Citosina	1,013	1,006	1,016	1,010
Flavina adenina dinucleótido (FAD)	1,012	1,217	1,154	0,948
Ácido lignocérico (C24:0)	1,011	1,281	1,170	0,913
Ácido nervónico (C24:cis[15]1)	1,007	1,151	1,097	0,953
DAG (C18:1,C18:2)	1,006	1,036	1,028	0,992
Esfingosina-1-fosfato	1,002	1,153	1,090	0,946
Ácido behénico (C22:0)	0,998	1,181	1,102	0,933
Ácido nicotínico	0,995	1,073	1,036	0,965
Fitoesfingosina, total	0,992	1,153	1,079	0,936
Ácido eicosanoico (C20:0)	0,990	1,209	1,108	0,917
Ácido dihomo-gamma-linolénico (C20:cis[8, 11, 14]3)	0,984	1,308	1,156	0,884
Sedoheptulosa-7-fosfato	0,980	1,015	0,989	0,974
Fosfocreatina	0,969	1,235	1,099	0,890
Glicolato	0,965	0,912	0,913	1,002

(continuación)

	Puntuación de Gleason Bi (alta versus baja)	Puntuación de Gleason Tri (alta versus intermedia)	Puntuación de Gleason Tri (alta versus baja)	Puntuación de Gleason Tri (intermedia versus baja)
Metabolito	Cambio estimado	Cambio estimado	Cambio estimado	Cambio estimado
beta-Sitosterol	0,964	0,927	0,923	0,995
Esfingomielina (d18:1,C24:0)	0,964	0,937	0,927	0,990
Esfingomielina (d18:1,C16:0)	0,963	0,934	0,925	0,990
Fosfatidilcolina (C18:0,C18:1)	0,953	0,936	0,917	0,980
Ceramida (d18:1,C24:1)	0,953	1,071	0,992	0,926
Lisofosfatidilcolina (C20:4)	0,952	1,109	1,012	0,913
Fosfatidilcolina (C16:0,C20:4)	0,950	0,940	0,916	0,975
gamma-Tocoferol	0,950	1,267	1,097	0,866
Fosfatidilcolina (C18:2,C20:4)	0,949	0,988	0,943	0,954
Glioxilato	0,946	0,942	0,912	0,968
Ácido eicosenoico (C20:cis[11])	0,943	1,421	1,163	0,818
escilo-Inositol	0,934	1,179	1,032	0,875
beta-Caroteno	0,933	1,086	0,980	0,903
Lisofosfatidilcolina (C16:0)	0,932	0,976	0,919	0,941
Lisofosfatidiletanolamina (C18:0)	0,927	0,950	0,899	0,946
Coenzima Q9	0,925	0,967	0,907	0,937
O-Fosfotirosina	0,919	1,063	0,950	0,893
Lisofosfatidilcolina (C18:0)	0,918	1,014	0,926	0,913
Lisofosfatidilcolina (C18:2)	0,912	1,044	0,935	0,896
Fosfatidilcolina No 02	0,907	0,937	0,873	0,932
Coenzima Q10	0,897	0,896	0,842	0,939
Ácido eicosadienoico (C20:2) No 02	0,890	1,358	1,077	0,793
Lactato	0,884	1,090	0,929	0,852
Ácido 2-aminoadipínico	0,869	1,493	1,108	0,742
Fosfatidilcolina (C18:0,C20:4)	0,856	0,897	0,803	0,896
Fosfatidilcolina (C18:0,C22:6)	0,846	0,909	0,799	0,879
Dodecanol	0,834	1,058	0,862	0,814
Adenosina monofosfato (AMP)	0,825	0,919	0,783	0,852
Ácido glucurónico	0,718	0,788	0,626	0,794
Ácido glucónico	0,712	0,833	0,636	0,764
Maltotriosa	0,680	0,717	0,553	0,771

- 5 Tabla 7: Metabolitos que diferencian entre los distintos niveles de estado pT del tumor en tejido de cáncer de próstata. Los cambios estimados y los valores p se calcularon mediante un modelo lineal de efecto mixto (ANOVA con sujeto como factor aleatorio) en relaciones transformadas mediante log10. Los criterios de clasificación se presentan en la Tabla 9.

Metabolito	Puntuación de pT (alta versus baja) Cambio estimado
Ácido 2-Hidroxihehénico (C22:0)	1,323
Ácido cerebrónico (2-OH-C24:0)	1,512
Pentadecanol	1,218
Pseudouridina	1,047
mio-Inositol, fracción lipídica	1,043
Ácido 14-metilhexadecanoico	1,309
Ácido eicosapentaenoico (C20:cis[5,8,11,14,17])	1,244
Arginina	1,166
Ácido eritrónico	0,996
Ácido tricosanoico (C23:0)	1,237
Mioinositol-2-fosfato, fracción lipídica	1,046
7-Metilguanina	1,238

(continuación)

Metabolito	Puntuación de pT (alta versus baja) Cambio estimado
Isopentenil pirofosfato (IPP)	1,215
eritro-C16-esfingosina	0,991
Glicerofosfoetanolamina, fracción polar	1,192
Dihidrocolesterol	1,374
Colestenol No 02	1,180
treo-Esfingosina	0,969
Glicerol-2-fosfato	1,157
Piruvato	1,101
Ácido treónico	1,227
Ácido docosaheptaenoico (C22:cis[4, 7,10,13,16,19]6)	1,078
Isómero de esfingosina No 01	1,056
3-O-Metilesfingosina	1,044
eritro-Dihidroesfingosina	0,995
5-O-Metilesfingosina	1,021
Mioinositol-2-fosfato	1,035
eritro-Esfingosina	1,016
Nicotinamida	0,996
Citosina	1,010
Flavina adenina dinucleótido (FAD)	1,105
Ácido lignocérico (C24:0)	1,122
Ácido nervónico (C24:cis[15]1)	1,119
DAG (C18:1,C18:2)	1,077
Esfingosina-1-fosfato	1,074
Ácido behénico (C22:0)	1,041
Ácido nicotínico	0,901
Fitoesfingosina, total	0,969
Ácido eicosanoico (C20:0)	1,087
Ácido dihomo-gamma-linolénico (C20:cis[8,11,14]3)	1,103
Sedoheptulosa-7-fosfato	0,991
Fosfocreatina	1,080
Glicolato	0,952
beta-Sitosterol	0,922
Esfingomielina (d18:1,C24:0)	0,940
Esfingomielina (d18:1,C16:0)	0,943
Fosfatidilcolina (C18:0,C18:1)	0,941
Ceramida (d18:1,C24:1)	1,003
Lisofosfatidilcolina (C20:4)	1,043
Fosfatidilcolina (C16:0,C20:4)	0,940
gamma-Tocoferol	1,060
Fosfatidilcolina (C18:2,C20:4)	0,996
Glioxilato	1,064
Ácido eicosenoico (C20:cis[11]1)	1,103
escilo-Inositol	0,959
beta-Caroteno	1,190
Lisofosfatidilcolina (C16:0)	0,911
Lisofosfatidiletanolamina (C18:0)	0,925
Coenzima Q9	0,909
O-Fosfotirosina	1,131
Lisofosfatidilcolina (C18:0)	0,959
Lisofosfatidilcolina (C18:2)	1,031
Fosfatidilcolina No 02	0,938
Coenzima Q10	0,856
Ácido eicosadienoico (C20:2) No 02	1,133
Lactato	0,959
Ácido 2-aminoadipínico	1,183
Fosfatidilcolina (C18:0,C20:4)	0,929
Fosfatidilcolina (C18:0,C22:6)	0,936

(continuación)

Metabolito	Puntuación de pT (alta versus baja) Cambio estimado
Dodecanol	0,961
Adenosina monofosfato (AMP)	0,936
Ácido glucurónico	0,585
Ácido glucónico	0,649
Maltotriosa	0,686

5 Tabla 8: Metabolitos que diferencian entre los distintos niveles de puntuación de Gleason en el suero. Los cambios estimados y los valores p se calcularon mediante un modelo lineal con la edad, el índice de masa corporal y el tiempo de almacenamiento de la muestra como efectos fijos (ANOVA) en relaciones transformadas mediante log10. Los criterios de clasificación se presentan en la Tabla 9.

Metabolito	Puntuación de Gleason Bi (alta versus baja) Cambio estimado	Puntuación de Gleason Tri (alta versus intermedia) Cambio estimado	Puntuación de Gleason Tri (alta versus baja) Cambio estimado	Puntuación de Gleason Tri (alta versus baja) Cambio estimado
3,4-Dihidroxifenilalanina (DOPA)	0,978	0,970	0,961	0,990
Hexadecanol	1,024	0,946	0,989	1,046
Ácido indol-3-láctico	0,957	1,167	1,052	0,901
Potasio	0,970	0,951	0,940	0,988
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC)	1,059	1,066	1,101	1,032
Adrenalina (Epinefrina)	1,023	1,020	1,035	1,015
Androstenodiona	1,157	0,968	1,134	1,173
Corticosterona	1,264	0,845	1,143	1,352
Cortisol	1,248	0,870	1,148	1,320
3,4-Dihidroxifenilglicol (DOPEG)	0,984	0,998	0,983	0,985
Ácido 4-Hidroxi-3- metoxi-mandélico	1,185	0,884	1,101	1,245
Hentriacontano	1,007	1,009	1,013	1,003
Metanefrina	0,960	1,166	1,053	0,993
Galactitol	1,040	0,995	1,037	1,042
Mioinositol-2-fosfato	0,888	0,941	0,855	0,909
Normetanefrina	1,177	0,987	1,168	1,183
3-Indoxilsulfato	1,134	0,813	0,999	1,228
Ácido glicochenodesoxicólico	0,992	0,952	0,962	1,011
Ácido isopalmítico (C16:0)	1,210	1,131	1,306	1,155
Fosfatidilcolina (C16:0,C18:2)	0,990	1,001	0,991	0,990
Fosfatidilcolina (C18:1,C18:2)	0,997	0,997	0,995	0,998
Fosfatidilcolina (C16:1,C18:2)	1,078	0,957	1,050	1,097
Esfingomielina (d18:1,C24:0)	1,036	0,975	1,020	1,046
Fosfatidilcolina (C18:0,C18:1)	1,010	0,991	1,005	1,014
Lisofosfatidilcolina (C18:1)	1,073	1,007	1,077	1,070
beta-Sitosterol	0,980	1,005	0,984	0,978
beta-Caroteno	1,084	1,083	1,137	1,050
Arginina	1,037	0,957	1,009	1,055
Ácido treónico	1,014	0,942	0,977	1,037
Lactato	0,974	0,984	0,964	0,980
Piruvato	0,914	1,021	0,925	0,907
Cantaxantina	0,842	1,236	0,957	0,774
Criptoxantina	0,848	0,925	0,809	0,875
Licopeno	0,952	1,087	1,001	0,921
gamma-Tocoferol	0,972	1,035	0,993	0,959
Coenzima Q10	0,910	0,872	0,838	0,961
Ácido eicosapentaenoico (C20:cis[5,8,11,14,17]5)	1,049	0,889	0,975	1,097
Ácido docosahexaenoico (C22:cis[4,7,10,13,16,19]6)	0,899	0,987	0,892	0,903

ES 2 516 866 T3

(continuación)

	Puntuación de Gleason Bi (alta versus baja)	Puntuación de Gleason Tri (alta versus intermedia)	Puntuación de Gleason Tri (alta versus baja)	Puntuación de Gleason Tri (alta versus baja)
Metabolito	Cambio estimado	Cambio estimado	Cambio estimado	Cambio estimado
Ácido lignocérico (C24:0)	1,087	0,978	1,073	1,097
Ácido behénico (C22:0)	1,035	0,994	1,031	1,037
Ácido nervónico (C24:cis[15]1)	0,962	1,067	1,002	0,939
Ácido dihomo-gamma-Linolénico (C20:cis[8,11,14]3)	0,991	1,044	1,018	0,975
Pseudouridina	0,986	0,960	0,962	1,002
Dodecanol	1,025	0,998	1,024	1,026
Ácido eicosanoico (C20:0)	0,976	0,993	0,972	0,979
Pentadecanol	1,186	0,993	1,181	1,190
Ácido gamma-Linolénico (C18:cis[6,9,12]3)	1,021	0,872	0,939	1,076
Ácido tricosenoico (C23:0)	1,131	1,120	1,213	1,083
mio-Inositol-2-fosfato, fracción lipídica	0,793	1,143	0,861	0,754
eritro-C16-Esfingosina	1,023	1,079	1,072	0,994
eritro-Dihidroesfingosina	0,956	0,892	0,891	0,999
eritro-Esfingosina	1,009	1,034	1,030	0,997
Sulfato de deshidroepiandrosterona	1,384	1,264	1,597	1,264
escilo-Inositol	0,818	0,864	0,747	0,865
Ácido 14-metilhexadecanoico	1,253	1,053	1,293	1,228
Ketoleucina	0,910	0,940	0,876	0,932
Ácido glucurónico	0,953	1,081	0,999	0,924
Testosterona	0,948	0,796	0,827	1,040
Ácido linoleico conjugado (C18:trans[9,11]2)	1,141	1,081	1,197	1,107
Ácido eritrónico	1,052	0,907	0,991	1,092
1,5-Anhidrosorbitol	1,057	1,006	1,061	1,054
Dihidrotosterona	0,937	0,880	0,869	0,987
Ácido 5-hidroxi-3-indoleacético (5-HIAA)	1,072	0,954	1,042	1,092
4-Hidroxi-3- metoxifenilglicol (HMPG)	1,038	1,028	1,056	1,027
3-Metoxitirosina	1,001	0,886	0,931	1,051
Fitoesfingosina, total	1,019	1,083	1,071	0,988
DAG (C18:1,C18:2)	0,977	0,961	0,954	0,992
Identificación del metabolito (68300045)	1,079	0,887	1,004	1,132
Fosfatidilcolina (C16:0,C20:4)	0,994	0,990	0,988	0,998
Fosfatidilcolina (C18:0,C18:2)	1,004	1,003	1,006	1,003
Fosfatidilcolina (C18:0,C22:6)	0,971	0,969	0,953	0,983
Identificación del metabolito (68300048)	1,030	0,982	1,018	1,037
Lisofosfatidilcolina (C18:2)	1,163	0,896	1,089	1,215
Lisofosfatidilcolina (C20:4)	1,049	0,970	1,030	1,062
Fosfatidilcolina (C16:0,C16:0)	1,030	1,044	1,057	1,012
Fosfatidilcolina (C18:2,C20:4)	0,989	1,017	0,999	0,982
Identificación del metabolito (68300017)	1,137	0,985	1,126	1,144
Fosfatidilcolina No 02	1,004	1,002	1,005	1,004
Identificación del metabolito (68300015)	0,900	0,990	0,895	0,903
Fosfatidilcolina (C18:0,C20:4)	0,974	0,984	0,964	0,980
Identificación del metabolito (68300020)	1,012	0,969	0,993	1,025

(continuación)

	Puntuación de Gleason Bi (alta versus baja)	Puntuación de Gleason Tri (alta versus intermedia)	Puntuación de Gleason Tri (alta versus baja)	Puntuación de Gleason Tri (alta versus baja)
Metabolito	Cambio estimado	Cambio estimado	Cambio estimado	Cambio estimado
Identificación del metabolito (68300047)	0,966	0,937	0,929	0,991
Ceramida (d18:1,C24:0)	0,974	1,056	1,007	0,953
Ceramida (d18:1,C24:1)	0,956	1,107	1,016	0,918
Esfingomielina (d18:1,C16:0)	0,996	1,006	1,000	0,993
Esfingomielina (d18:1,C16:0)	0,992	0,997	0,991	0,994
Colestenol No 02	0,979	1,057	1,013	0,958
3-O-Metilesfingosina	1,005	1,065	1,045	0,981
5-O-Metilesfingosina	1,007	1,053	1,040	0,987
Lisofosfatidilcolina (C18:0)	1,043	0,967	1,022	1,057
Lisofosfatidilcolina (C16:0)	1,034	0,935	0,993	1,063
Lisofosfatidilcolina (C16:0)	1,001	0,990	0,995	1,005
Lisofosfatidilcolina (C17:0)	1,191	1,027	1,211	1,178
Plasmalógeno de colina (C18,C20:4)	0,967	0,974	0,952	0,978

Tabla 9: Criterios de clasificación de la puntuación de Gleason y la puntuación de pT en baja, media y alta

5

Puntuación de Gleason Bi	baja	Puntuación de Gleason 2-6
	alta	Puntuación de Gleason 7-10
Puntuación de Gleason Tri	baja	Puntuación de Gleason 2-6
	intermedia	Puntuación de Gleason 7
	alta	Puntuación de Gleason 8-10
Puntuación de pT	baja	pT2
	alta	pT3-4

## REIVINDICACIONES

1. Un método para el diagnóstico de un carcinoma de próstata o una predisposición al mismo, que comprende:

(a) la determinación del metabolito 7-metilguanina en una muestra de ensayo de un sujeto que se sospecha que padece dicho carcinoma de próstata o que tiene una predisposición al mismo, y

(b) la comparación de los resultados de la prueba de la determinación en la etapa (a) con una referencia, por lo que dicho carcinoma de próstata o una predisposición al mismo se diagnostica.

2. El método de la reivindicación 1, donde dicho al menos un metabolito adicional se determina seleccionado del grupo que consiste de: ácido 2-hidroxibehénico (C22:0), ácido cerebrónico (2-OH-C24:0), Isopentenil pirofosfato (IPP), ácido 14-metilhexadecanoico, ácido 2-aminoadipínico, Ceramida (d18:1, C24:1), ácido eicosenoico (C20:cis [11]1), ácido tricosanoico (C23:0), glicerofosfoetanolamina, arginina, ácido behénico (C22:0), beta-caroteno, citosina, DAG (C18:1, C18:2), dihidrocolesterol, eritro-dihidroesfingosina, ácido docosahexaenoico (C22:cis [4,7,10,13,16,19] 6), dodecanol, ácido eicosanoico (C20:0), ácido eicosapentaenoico (C20:cis[5,8,11,14,17]5), ácido dihomogammalinolénico (C20:cis[8,11,14]3), eritro-C16-esfingosina, flavina adenina dinucleótido (FAD), gamma-tocoferol, ácido glucónico, ácido glucurónico, glicerol-2-fosfato, ácido lignocérico (C24:0), lisofosfatidilcolina (C18:2), lisofosfatidilcolina (C20:4), maltotriosa; mio-inositol; mio-inositol-2-fosfato, ácido nervónico (C24:cis[15]1), nicotinamida, pentadecanol, fosfatidilcolina (C18:0, C22:6), fitoesfingosina, pseudouridina, piruvato, ácido 3-O-metilesfingosina, treo-esfingosina, 5-O-metilesfingosina, eritro-esfingosina, esfingosina-1-fosfato, ácido treónico, plasmalógeno de colina (C18,C20:4), ácido 2-oxoisocaproico, metabolito que pertenece a la clase de plasmalógenos de colina y que exhiben las siguientes especies iónicas características cuando se detectan con LC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): relación masa a carga (m / z) de las especie iónica cargada positivamente es 767 (+/- 0,5), metabolito que pertenece a la clase de plasmalógenos de colina y que exhibe las siguientes especies iónicas característica cuando se detectan con LC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): la relación de masa a carga (m / z) de las especies iónicas cargadas positivamente es 768,6 (+/- 0,5), ácido eritrónico, mio-Inositolfosfolípidos, metabolito que exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detectan con GC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de un derivado con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m / z (%): 73 (100), 375 (38), 147 (27), 217 (19), 257 (14), 376 (14), 169 (14), 75 (10), 250 (7), 133 (7), 1,5-anhidrosorbitol, 3-hidroxibutirato, 3-metoxitirosina, 4-hidroxi-3-metoxifenilglicol (HMPG), ácido 5-hidroxi-3-indolacético (5-HIAA), beta-sitosterol, cantaxantina, ceramida (d18:1, C24:0), metabolito que pertenece a la clase de plasmalógenos de colina y que exhiben las siguientes especies iónicas características cuando se detectan con LC / MS, aplicación de espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): la relación de masa a carga (m / z) de las especies iónicas cargadas positivamente es 772,6 (+/- 0,5), coenzima Q10, ácido linoleico conjugado (C18:trans [9,11] 2), criptoxantina, dihidrotestosterona, ácido gamma-linolénico (C18:cis [6,9,12]3), glicerato, lactato, licopeno, lisofosfatidilcolina (16:0), lisofosfatidilcolina (C17:0), fosfatidilcolina (C16:0, C20:4), fosfatidilcolina (C18:0, C18:2), fosfatidilcolina (C18:2, C20:4), metabolito que pertenece a la clase de glicerofosfatidilcolinas y que exhiben las siguientes especies iónicas características cuando se detectan con LC / MS, aplicación de espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): la relación de masa a carga (m / z) de las especies iónicas cargadas positivamente es 780,8 (+/- 0,5), fosfatidilcolina, metabolito que pertenece a la clase de las glicerofosfatidilcolinas y que exhiben las siguientes especies iónicas características cuando se detectan con LC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): la relación de masa a carga (m / z) de las especies iónicas cargadas positivamente es 796,8 (+/- 0,5), escilo-inositol, esfingomiolina (d18:1, C16:0), metabolito que pertenece a la clase de diacilglicéridos y que exhibe las siguientes especies iónicas características cuando se detectan con LC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): la relación de masa a carga (m / z) de la especie iónica cargada positivamente es 695,6 (+/- 0,5), testosterona, sulfato de deshidroepiandrosterona, isómero del ácido eicosadienoico (C20:2) No 02 que exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detectan con GC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de derivados con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m / z (%): 81 (100), 57 (98), 43 (92), 67 (85), 41 (80), 55 (74), 82 (66), 95 (64), 110 (39), 109 (39), isómero de colesteno No 02 que exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detectan con GC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de derivados con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m / z (%): 143 (100), 458 (91), 73 (68), 81 (62), 95 (36), 185 (23), 327 (23), 368 (20), 255 (15), 429 (15), y el isómero de esfingosina No 01 que exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detectan con GC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de derivados con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m / z (%): 73 (100), 250 (37), 412 (37), 147 (21), 322 (14), 413 (11), 128 (9), 251 (7), 500 (2).

3. El método de la reivindicación 1 o 2, en donde dicha referencia se deriva de un sujeto que se sabe que sufre de un carcinoma de próstata o un sujeto que se sabe que tiene una predisposición al mismo.
4. El método de la reivindicación 3, en donde resultados idénticos o similares para la muestra de prueba y la de referencia son indicativos para carcinoma de próstata o una predisposición al mismo.
5. El método de la reivindicación 1, en donde dicha referencia se deriva de un sujeto que se sabe que no sufre de un carcinoma de próstata o un sujeto que se sabe que no tiene predisposición al mismo.
6. El método de la reivindicación 1, en donde dicha referencia es una referencia calculada para el dicho al menos un metabolito en una población de sujetos.
7. El método de la reivindicación 5 o 6, en donde la ausencia de dicho al menos un metabolito o una cantidad del mismo que difiere en la muestra de ensayo en comparación con la muestra de referencia es indicativo de un carcinoma de próstata o una predisposición al mismo.
8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde al menos se determina un metabolito adicional seleccionado del grupo que consiste en: biotina, uridina, hipoxantina, inosina, glicina, cisteína, cistina, uracilo, aspartato, isoleucina, trans-4-hidroxiprolina, prolina, metionina, glicerol-3-fosfato, 5-oxoprolina, ácido fólico, glutamato, glutamina, leucina, ácido mirístico (C14:0), fenilalanina, ácido heptadecanoico (C17:0), citrulina, treonina, mio-inositol-1-fosfato, mio-inositolfosfolípidos, ribosa, fumarato, triptófano, glicerol, tirosina, homoserina, histidina, ácido linoleico (C18:cis[9,12]2), xantina, ornitina, arginina, citrulina, ácido pantoténico, ácido palmitoleico (C16:cis[9]1), succinato, fructosa, alfa-tocoferol, nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), maltosa, valina, adenina, lisina, malato, alanina, espermidina, ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:cis[9]1), glicerol fosfato, ácido N-acetilneuramínico, xilitol, serina, ácido N-acetilneuramínico, S-adenosilmetionina, fosfato, glucosa, colesterol, espermina, putrescina, cis-aconitato, citrato, ribulosa-5-fosfato, pirofosfato (PPi), ácido eláidico (C18: trans[9]1), adenina, 2-hidroxitbutirato, sarcosina, isocitrato, creatina, disulfuro de glutationa (GSSG), 3-hidroxitbutirato, y taurina.
9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicha determinación de dicho al menos un metabolito comprende espectrometría de masas (MS).
10. El método de la reivindicación 9, en donde dicha espectrometría de masas es cromatografía líquida (LC) MS y / o cromatografía de gases (GC) MS.
11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde dicha muestra es una muestra de un fluido corporal de dicho sujeto.
12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde dicho sujeto es un humano.
13. Uso del metabolito 7-metilguanina o un compuesto que detecta específicamente dicho metabolito para diagnosticar un carcinoma de próstata o una predisposición al mismo en una muestra de un sujeto.
14. Uso de la reivindicación 13, en donde el metabolito se utiliza en combinación con al menos un metabolito adicional o un compuesto que detecta específicamente dicho metabolito adicional, en donde dicho metabolito adicional se selecciona del grupo que consiste de: ácido 2-hidroxibehénico (C22:0), ácido cerebrónico (2-OH-C24:0), Isopentenil pirofosfato (IPP), ácido 14-metilhexadecanoico, ácido 2-aminoadipínico, Ceramida (d18:1, C24:1), ácido eicosenoico (C20:cis [11]1), ácido tricosanoico (C23:0), glicerofosfoetanolamina, arginina, ácido behénico (C22:0), beta-caroteno, citosina, DAG (C18:1, C18:2), dihidrocolesterol, eritro-dihidroesfingosina, ácido docosahexaenoico (C22:cis [4,7,10,13,16,19] 6), dodecanol, ácido eicosanoico (C20:0), ácido eicosapentaenoico (C20:cis[5,8,11,14,17]5), ácido dihomo-gamma-linolénico (C20:cis[8,11,14]3), eritro-C16-esfingosina, flavina adenina dinucleótido (FAD), gamma-tocoferol, ácido glucónico, ácido glucurónico, glicerol-2-fosfato, ácido lignocérico (C24:0), lisofosfatidilcolina (C18:2), lisofosfatidilcolina (C20:4), maltotriosa; mio-inositol; mio-inositol-2-fosfato, ácido nervónico (C24:cis[15]1), nicotinamida, pentadecanol, fosfatidilcolina (C18:0, C22:6), fitoesfingosina, pseudouridina, piruvato, ácido 3-O-metilesfingosina, treo-esfingosina, 5-O-metilesfingosina, eritro-esfingosina, esfingosina-1-fosfato, ácido treónico, plasmalógeno de colina (C18,C20:4), ácido 2-oxoisocaproico, metabolito que pertenece a la clase de plasmalógenos de colina y que exhiben las siguientes especies iónicas características cuando se detectan con LC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): relación masa a carga (m / z) de las especie iónica cargada positivamente es 767 (+/- 0,5), metabolito que pertenece a la clase de plasmalógenos de colina y que exhibe las siguientes especies iónicas característica cuando se detectan con LC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): la relación de masa a carga (m / z) de las especies iónicas cargadas positivamente es 768,6 (+/- 0,5), ácido eritrónico, mio-Inositolfosfolípidos, metabolito que exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detectan con GC / MS, aplicando espectrometría

de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de un derivado con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m / z (%): 73 (100), 375 (38), 147 (27), 217 (19), 257 (14), 376 (14), 169 (14), 75 (10), 250 (7), 133 (7), 1,5-anhidrosorbitol, 3-hidroxibutirato, 3-metoxitirosina, 4-hidroxi-3-metoxifenilglicol (HMPG), ácido 5-hidroxi-3-indolacético (5-HIAA), beta-sitosterol, cantaxantina, ceramida (d18:1, C24:0), metabolito que pertenece a la clase de plasmalógenos de colina y que exhiben las siguientes especies iónicas características cuando se detectan con LC / MS, aplicación de espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): la relación de masa a carga (m / z) de las especies iónicas cargadas positivamente es 772,6 (+/- 0,5), coenzima Q10, ácido linoleico conjugado (C18:trans [9,11] 2), criptoxantina, dihidrotestosterona, ácido gamma-linolénico (C18:cis [6,9,12]3), glicerato, lactato, licopeno, lisofosfatidilcolina (16:0), lisofosfatidilcolina (C17:0), fosfatidilcolina (C16:0, C20:4), fosfatidilcolina (C18:0, C18:2), fosfatidilcolina (C18:2, C20:4), metabolito que pertenece a la clase de glicerofosfatidilcolinas y que exhiben las siguientes especies iónicas características cuando se detectan con LC / MS, aplicación de espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): la relación de masa a carga (m / z) de las especies iónicas cargadas positivamente es 780,8 (+/- 0,5), fosfatidilcolina, metabolito que pertenece a la clase de las glicerofosfatidilcolinas y que exhiben las siguientes especies iónicas características cuando se detectan con LC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): la relación de masa a carga (m / z) de las especies iónicas cargadas positivamente es 796,8 (+/- 0,5), escilo-inositol, esfingomiélna (d18:1, C16:0), metabolito que pertenece a la clase de diacilglicéridos y que exhibe las siguientes especies iónicas características cuando se detectan con LC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI): la relación de masa a carga (m / z) de la especie iónica cargada positivamente es 695,6 (+/- 0,5), testosterona, sulfato de deshidroepiandrosterona, isómero del ácido eicosadienoico (C20:2) No 02 que exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detectan con GC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de derivados con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m / z (%): 81 (100), 57 (98), 43 (92), 67 (85), 41 (80), 55 (74), 82 (66), 95 (64), 110 (39), 109 (39), isómero de colesteno No 02 que exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detectan con GC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de derivados con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m / z (%): 143 (100), 458 (91), 73 (68), 81 (62), 95 (36), 185 (23), 327 (23), 368 (20), 255 (15), 429 (15), y el isómero de esfingosina No 01 que exhibe los siguientes fragmentos iónicos característicos cuando se detectan con GC / MS, aplicando espectrometría de masas de ionización por impacto de electrones (EI), después de metanólisis ácida y formación de derivados con clorhidrato de O-metilhidroxilamina al 2% en piridina y posteriormente con N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida: MS (EI, 70 eV): m / z (%): 73 (100), 250 (37), 412 (37), 147 (21), 322 (14), 413 (11), 128 (9), 251 (7), 500 (2).