

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 101**

51 Int. Cl.:

A61K 38/20 (2006.01)
A61K 38/19 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 35/74 (2015.01)
A61N 5/10 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.03.2013 PCT/US2013/028891**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **06.09.2013 WO13131093**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2013 E 13755291 (5)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2019 EP 2819694**

54 Título: **Uso de un panel de citocinas urinarias para predecir la respuesta a la terapia con BCG para el cáncer de vejiga**

30 Prioridad:

02.03.2012 US 201261605947 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.07.2020

73 Titular/es:

**BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM (100.0%)
210 West 7th Street
Austin, TX 78701, US**

72 Inventor/es:

**KAMAT, ASHISH, M.;
BRIGGMAN, JOSEPH;
DINNEY, COLIN, P. y
URBAUER, DIANA**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 773 101 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

Uso de un panel de citocinas urinarias para predecir la respuesta a la terapia con BCG para el cáncer de vejiga

5 La presente invención se refiere generalmente al campo de la biología molecular, la inmunología y la oncología. Más particularmente, se refiere a métodos de diagnóstico para predecir una respuesta a una inmunoterapia.

10 Cada año se diagnostican más de 70 000 nuevos casos de cáncer de vejiga, presentándose la mayoría como cáncer de vejiga superficial, es decir, no músculo-invasivo (NMIBC) (Jemal *et al.*, 2010). El cáncer de vejiga no músculo-invasivo (NMIBC) representa alrededor del 75 % de los casos recién diagnosticados y comprenden un grupo heterogéneo cuyos pronósticos individuales son difíciles de predecir. Del 60 % al 70 % de los tumores no músculo-invasivos se repiten y del 10 % al 40 % progresan a la enfermedad músculo-invasiva (Heney *et al.*, 1983). El tratamiento estándar para NMIBC es la resección transuretral seguida de terapia intravesical adyuvante con BCG (bacilo de Calmette-Guérin), el tratamiento intravesical más eficaz, para pacientes de alto riesgo (Kamat y Lamm, 2001); sin embargo, a un número significativo de pacientes les falla el tratamiento (70 % de recidiva tumoral) y requieren una intervención más agresiva, como la cistectomía radical y/o quimioterapia. Actualmente, la vigilancia de resección postransuretral (TUR) se realiza mediante cistoscopia y citología urinaria a intervalos regulares. Como tales, las variables clinicopatológicas siguen siendo los únicos predictores de pronóstico y estos incluyen grado tumoral, estadio tumoral, tamaño de tumor, número de tumores y ubicación de los tumores. Estas variables se basan en la detección de recidiva tumoral real y son predictores pobres de fallo de terapia, lo que dificulta predecir la efectividad del tratamiento antes de la recidiva del tumor (Dalbagni *et al.*, 1999; Highshaw *et al.*, 2003). Si los pacientes no responden a BCG intravesical, se cree que realizar cistectomía radical en los primeros 24 meses posteriores al diagnóstico mejora la supervivencia en al menos un 20 % (Herr y Sogani, 2001). La capacidad de identificar preventivamente a los pacientes que están destinados a que se les reproduzca tendrá un tremendo impacto dado que permitiría a los facultativos dotar a los pacientes de un enfoque personalizado a su enfermedad y proporcionar un conocimiento individualizado de si su tratamiento es eficaz. Por tanto, la identificación temprana de pacientes en los que la BCG fallará permitiría a los pacientes recibir cistectomía radical curativa antes y mejorar sus posibilidades de supervivencia. Claramente, se necesitan nuevas pruebas mínimamente invasivas para aumentar la precisión de la predicción de la recidiva, especialmente en pacientes tratados con BCG.

30 Se describe un método para predecir una respuesta a una inmunoterapia basada en micobacterias, tal como una terapia anticancerígena basada en bacilo Calmette-Guérin (BCG) en un paciente con cáncer. Por ejemplo, en algunos aspectos, se describe un método para predecir una respuesta en un paciente que padece de carcinoma de vejiga al tratamiento con BCG usando un panel de citocinas. Estos métodos y dispositivos asociados pueden utilizarse para la predicción de riesgo personalizada al paciente individual.

35 En una realización, la presente invención proporciona un método *in vitro* para predecir un pronóstico en un paciente con cáncer después de una terapia con BCG, que comprende: medir cambios en los niveles de IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, IL-1B, TRAIL, IL-10, IFN- γ , IL-12 (p70), IL-12 (p40) y TNF- α en al menos dos muestras obtenidas del paciente, las muestras obtenidas tanto antes como después de la terapia con BCG; e identificar si el paciente está en riesgo de recaída basándose en los cambios medidos en los niveles de citocina. Se describe un método para predecir un pronóstico en un paciente con cáncer después de una terapia con BCG, que comprende obtener al menos dos muestras del paciente, al menos una antes y otra después de la terapia con BCG; medir cambios en los niveles de al menos 3 citocinas en las muestras, dichas al menos 3 citocinas seleccionadas del grupo que consiste en IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, IL-1B, TRAIL, IL-10, IFN- γ , IL-12(p70), IL-12(p40) y TNF- α ; e identificar si el paciente está en riesgo de recaída basándose en los cambios medidos en los niveles de citocina. En un aspecto, el método comprende medir cambios en los niveles de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 citocinas seleccionadas del grupo que consiste en IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, IL-1B, TRAIL, IL-10, IFN- γ , IL-12(p70), IL-12(p40) y TNF- α en las muestras e identificar si el paciente está en riesgo de recaída basándose en los cambios medidos en los niveles de citocina. En otro aspecto, el método comprende medir cambios en los niveles de IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, IL-1B, TRAIL, IL-10, IFN- γ , IL-12 (p70), IL-12 (p40) y TNF- α en las muestras e identificar si el paciente está en riesgo de recaída basándose en los cambios medidos en los niveles de citocina. En otro aspecto más, el método comprende medir cambios en los niveles de IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, TRAIL, INF- γ , IL-12 (p70) y TNF- α en las muestras e identificar si el paciente está en riesgo de recaída basándose en los cambios medidos en los niveles de citocina.

55 En determinados aspectos, las muestras para uso según las realizaciones son muestras de orina. En otros aspectos, las muestras pueden ser muestras de sangre o tejido. En determinados aspectos, el paciente con cáncer tiene un cáncer epitelial, como un melanoma o un cáncer de vejiga. Por ejemplo, en algunos aspectos, el paciente tiene un cáncer de vejiga tal como un cáncer de vejiga no músculo-invasivo.

60 Tal como se usa en el presente documento, el término inmunoterapéutico basado en micobacterias se refiere a la administración de una cepa de micobacteria que no es normalmente patógena en un ser humano con un sistema inmunitario intacto. Para algunas aplicaciones, las micobacterias atenuadas comprenden bacterias vivas que son capaces de una proliferación activa. Por tanto, la dosis de tales micobacterias puede cuantificarse mediante el número de colonias de bacterias vivas que pueden formarse cuando se permite que las bacterias proliferen. Según

5 las realizaciones, puede usarse una variedad de especies y cepas de micobacterias atenuadas. Por ejemplo, en determinados aspectos, las micobacterias que se atenúan son *Mycobacterium bovis*. En determinados casos particulares, la *Mycobacterium bovis* atenuada es *Mycobacterium bovis* de bacilo Calmette-Guérin (BCG). En algunos otros aspectos, las micobacterias atenuadas pueden ser la cepa Tice™, Pasteur o Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene (RIVM) de bacterias.

10 Las composiciones micobacterianas atenuadas pueden administrarse en una variedad de maneras. Por ejemplo, en algunos casos las micobacterias atenuadas se administran intratumoralmente, subcutáneamente, cutáneamente o intradérmicamente. En algunos aspectos, una terapia con micobacterias (por ejemplo, BCG) es una terapia con BCG intravesical (por ejemplo, como terapia contra cáncer de vejiga).

15 Determinados aspectos de las realizaciones se refieren a la medición del nivel de citocinas en una muestra. Los niveles de citocina pueden, por ejemplo, medirse directamente evaluando los niveles de proteína de citocina en una muestra. Por ejemplo, los niveles de citocina pueden medirse, por inmunoelectrotransferencia o ELISA. En otros aspectos, pueden medirse los niveles de expresión de ARNm de varias citocinas. Por ejemplo, los niveles de expresión de ARNm pueden medirse mediante RT-PCR, transferencia Northern o hibridación de matrices.

20 En algunos aspectos, identificar si el paciente está en riesgo de recaída comprende determinar un valor puntual para cada uno de los cambios en los niveles de citocina y correlacionar el valor total de puntos con un valor en la escala predictora. En determinados aspectos, la correlación y/o determinación se realiza mediante un ordenador.

25 En algunos aspectos, un método comprende además informar si el paciente está en riesgo de recaída o informar de los niveles de citocina (o cambio en los niveles de citocina del paciente). La presentación de informes puede comprender la preparación de un informe escrito, oral o electrónico. El informe puede proporcionarse, por ejemplo, al paciente, un médico, un hospital o una compañía de seguros.

30 Se describe un método para tratar a un paciente que comprende seleccionar un paciente en riesgo de recaída de cáncer después de un BCG mediante la medición de cambios en los niveles de citocina tal como se describió anteriormente, y administrar una terapia anticancerígena al paciente. En determinados aspectos, la terapia anticancerígena es una terapia con BCG adicional. La terapia anticancerígena también puede ser quimioterapia, radioterapia o una terapia quirúrgica.

35 También se describe un nomograma útil para predecir la probabilidad de desarrollar carcinoma de vejiga en un paciente. El nomograma se construye usando un panel de citocinas urinarias. En determinados aspectos, el nomograma es predictivo de la respuesta del paciente a la inmunoterapia intravesical con bacilo de Calmette-Guérin (BCG). En determinados aspectos, el nomograma está generándose usando un panel de citocinas urinarias que comprende los niveles de al menos 3 citocinas seleccionadas del grupo que consiste en IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, IL-1B, TRAIL, IL-10, IFN- γ , IL-12(p70), IL-12(p40) y TNF- α . En otros aspectos, el panel de citocinas urinarias puede comprender los niveles de al menos 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 de dichas citocinas. En algunos aspectos, el nomograma es un nomograma proporcionado como en la figura 3 o la figura 6.

45 La presente divulgación proporciona un método para la predicción de una respuesta de tratamiento en un paciente que padece carcinoma de vejiga, que comprende tratar al paciente con inmunoterapia intravesical con bacilo de Calmette-Guérin (BCG), tomando una muestra del paciente después del tratamiento y sometiendo a prueba la muestra con un nomograma de citocinas para predecir la recidiva de carcinoma de vejiga.

50 En aspectos adicionales, se proporciona un método para predecir una probabilidad cuantitativa de recidiva del cáncer de vejiga en un paciente después de la terapia con BCG que comprende las etapas de: (a) correlacionar un conjunto seleccionado de factores determinados para cada una de una pluralidad de personas previamente diagnosticadas con cáncer de vejiga y que han sido tratadas mediante dicha terapia identificada con la incidencia de recidiva del cáncer de vejiga para que cada persona de dicha pluralidad de personas genere una representación funcional de la correlación, en el que dicho conjunto seleccionado de factores comprende al menos tres factores seleccionados del grupo que consiste en el nivel (o cambio en el nivel) de IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, IL-1B, TRAIL, IL-10, IFN- γ , IL-12(p70), IL-12(p40) y TNF- α en una muestra de la persona, en el que dicha representación funcional de la correlación comprende un sistema de evaluación factorial diferente para cada uno de dichos factores, y en el que cada uno de dichos sistemas de evaluación factorial proporciona un valor correspondiente con un estado de dicho factor correspondiente, cuyo valor puede sumarse con valores correspondientes al estado de los otros factores en el conjunto seleccionado para obtener una probabilidad cuantitativa de recidiva del cáncer de vejiga después de dicha terapia identificada; (b) determinar (por ejemplo, medir) el estado de un conjunto idéntico de factores para el paciente; (c) aplicar el estado de cada uno del conjunto de factores del paciente a dicho sistema de evaluación factorial correspondiente para determinar el valor del paciente para cada uno de dichos factores; y (d) sumar los valores del paciente para obtener la probabilidad cuantitativa de recidiva del cáncer de vejiga en el paciente después de dicha terapia con BCG.

65 Se proporciona un nomograma útil para predecir la probabilidad de desarrollar carcinoma de vejiga en un paciente (o de recidiva de un carcinoma de vejiga en un paciente). Por ejemplo, el nomograma puede construirse usando un

panel de citocinas, tales como citocinas urinarias. En determinados aspectos, el nomograma es predictivo de la respuesta del paciente a la inmunoterapia intravesical con BCG. Por ejemplo, el nomograma puede ser el nomograma proporcionado como en la figura 3.

5 Por tanto, en determinados aspectos, se proporciona un nomograma para la representación gráfica o virtual de una probabilidad cuantitativa de que un paciente con cáncer de vejiga permanecerá libre de enfermedad después de un tratamiento con BCG. Por ejemplo, el nomograma puede comprender una pluralidad de escalas correspondientes a escalas de nivel de citocina IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, IL- 1B, TRAIL, IL-10, IFN- γ , IL-12(p70), IL-12(p40) y/o TNF- α (o cambio en escalas de nivel de citocina), una escala de puntos, una escala total de puntos y una escala predictora. En algunos aspectos, cada una de las escalas de nivel de orina IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, IL-1B, TRAIL, IL-10, IFN- γ , IL-12(p70), IL-12(p40) y/o TNF- α (o cambio en escalas de nivel) tienen valores puntuales en dichas escalas. En aspectos adicionales, un nomograma comprende una escala de puntos totales que tiene valores que corresponden a una escala predictora de modo que dichos valores en dicha escala de puntos totales pueden estar correlacionados con valores de la escala predictora. Por tanto, el valor total de puntos puede correlacionarse con la escala predictora para predecir la probabilidad cuantitativa de recidiva. En determinados aspectos, dicho nomograma es una representación gráfica, tal como una representación comprendida en un soporte sólido (por ejemplo, una tarjeta laminada). En otros aspectos adicionales, se genera un nomograma con un modelo de regresión logística. En otros aspectos adicionales, se almacena un nomograma en una memoria (por ejemplo, una memoria de acceso aleatorio, una memoria de solo lectura, un disco, una memoria virtual, un procesador o una base de datos).

También se proporciona un aparato para predecir una probabilidad cuantitativa de recidiva o progresión de la enfermedad en un paciente con cáncer de vejiga (por ejemplo, un cáncer de vejiga no músculo-invasivo) después de una terapia con BCG, en el que el aparato comprende: (a) una correlación de factores determinados para cada una de una pluralidad de personas previamente diagnosticadas con cáncer de vejiga y que han sido tratadas con una terapia con BCG con la incidencia de recidiva de cáncer de vejiga para cada persona de dicha pluralidad de personas, en la que dichos factores comprenden tres o más factores seleccionados del grupo que consiste en el nivel (o cambio en nivel) de IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, IL-1B, TRAIL, IL-10, IFN- γ , IL-12(p70), IL-12(p40) y TNF- α en una muestra de la orina de la persona; y (b) un procesador, en el que dicho procesador compara un conjunto idéntico de factores determinados a partir del paciente diagnosticado con cáncer de vejiga con la correlación para predecir la probabilidad cuantitativa de recidiva o progresión del cáncer de vejiga en el paciente después de dicha terapia identificada.

En algunos aspectos, un paciente con cáncer de las realizaciones es un paciente que tiene o que ha sido tratado por un cáncer de vejiga, como un cáncer de vejiga no músculo-invasivo. En otros aspectos adicionales, un paciente es un paciente con cáncer de vejiga que ha sido sometido a resección transuretral, después de tratamiento con BCG intravesical.

Tal como se usa en la presente memoria descriptiva, “un” o “una” puede significar uno/a o más. Tal como se usa en el presente documento en la(s) reivindicación/reivindicaciones, cuando se usan conjuntamente con la palabra “que comprende”, las palabras “un” o “una” pueden significar uno/a o más de uno/a.

El uso del término “o” en las reivindicaciones se usa con significado “y/o” a menos que se indique explícitamente que se refiera únicamente a alternativas o que las alternativas sean excluyentes entre sí, aunque la divulgación apoya una definición que se refiere únicamente a alternativas e “y/o”. Tal como se usa en el presente documento, “otro” puede significar al menos un segundo o más.

A lo largo de esta solicitud, el término “aproximadamente” se utiliza para indicar que un valor incluye la variación inherente de error para el dispositivo, empleándose el método para determinar el valor, o la variación que existe entre los sujetos de estudio.

Los siguientes dibujos forman parte de la presente memoria descriptiva y se incluyen para demostrar adicionalmente determinados aspectos de la presente invención. La invención puede entenderse mejor mediante referencia a uno o más de estos dibujos en combinación con la descripción detallada de realizaciones específicas presentadas en el presente documento.

Figura 1: Aumento de uIL-6 con 6° BCG. P = 0,0063

Figura 2: Aumento de uIL-8 con 6° BCG. P = 0,0041

Figura 3: Ejemplo de nomograma utilizando citocinas en el 6° BCG.

Figura 4: AUC para nomograma de citocina en la figura 3. AUC = 0,82.

Figura 5: Aplicaciones potenciales de la presente invención. Figura adaptada de Johnson (2003).

Figura 6: Ejemplo de nomograma utilizando citocinas en el 6° BCG.

Figura 7: AUC para nomograma de citocina en la figura 6. AUC = 0,855.

5 El cáncer de vejiga afecta a aproximadamente 70.000 personas cada año y es el tumor más caro en los Estados Unidos en términos de dólares de atención médica gastados al año. La mayoría de los pacientes se tratan con BCG (una vacuna) colocada en la vejiga a través de un catéter. Actualmente no existe una manera para monitorizar o evaluar la respuesta individual de un paciente a esta inmunoterapia más allá de esperar a ver si el tumor recidiva.

10 La presente invención se basa en el estudio de citocinas liberadas en la orina por los pacientes después de la exposición a BCG. El ensayo se realiza usando muestras de orina obtenidas del paciente en el último tratamiento de un curso de inducción de BCG, que es normalmente en la semana seis al iniciar el tratamiento.

15 Los inventores estudiaron orina recogida de pacientes que estaban recibiendo terapia con BCG y evaluaron la orina para detectar citocinas inducibles en diversos momentos. A partir del análisis de las citocinas inducibles después de la sexta instilación de BCG, se construyeron nomogramas usando los niveles de determinadas citocinas que fueron capaces de predecir con un 82 % - 85,5 % de precisión la probabilidad de que un paciente desarrolle una recidiva. Las citocinas incluidas en los nomogramas comprenden al menos 9 citocinas seleccionadas de IL-2, IL-6, IL- 8, IL-18, IL-1B, IL-10, IL-1ra, TRAIL, IFN- γ , IL-12 (p40), IL-12 (p70) y TNF-alfa. Esto proporciona un ensayo y un dispositivo que sirve como marcador indirecto para respuesta a inmunoterapia intravesical. Un dispositivo de este tipo habilita a los facultativos para que ofrezcan terapia personalizada a pacientes con cáncer de vejiga, optimizando, por tanto, el momento adecuado de los tratamientos curativos para este tumor maligno común.

25 Al usar la combinación de citocinas descrita en el presente documento y al aplicar la fórmula mostrada en el cálculo del nomograma, los pacientes que están respondiendo a la terapia pueden identificarse con un alto grado de precisión. La estrategia de usar un panel de citocinas urinarias para predecir la respuesta a BCG es completamente novedosa. Si bien se ha informado de citocinas individuales como marcadores potencialmente relevantes en la bibliografía, esta es la primera evidencia de que un panel de marcadores es útil. En particular, el AUC para ensayos usando los paneles fue 0,82-0,855, lo que indica un ensayo altamente preciso.

30 Se describen métodos para predecir pacientes con cáncer de vejiga que probablemente responderán al tratamiento con BCG y confirmar su respuesta basándose en el perfil de citocina dado a conocer en el presente documento (figura 5). También se proporciona un método para identificar sujetos con una respuesta subóptima de citocina, lo que permitirá ajustes con respecto a la dosis, la duración y la pauta del tratamiento para optimizar la respuesta. En casos en los que no pueda lograrse la optimización, el método permitirá la identificación de sujetos que necesiten tratamiento o cistectomía temprana usando un fármaco diferente. Además, la prueba es mínimamente invasiva dado que se realiza en una muestra de orina producida por el paciente.

35 I. Nomogramas

40 Una manera en la que los médicos utilizan parámetros clínicos únicos, pero más a menudo múltiples, es con la ayuda de nomogramas. En el ámbito clínico, los nomogramas son representaciones (a menudo visuales) de una correlación entre uno o más parámetros y uno o más caracteres de paciente o de enfermedad. Un ejemplo de nomograma clínico prevalente utilizado para determinar la probabilidad de recidiva de un paciente con cáncer de próstata se describe en Kattan *et al.*, J. CLIN. ONCOL. (1999) 17:1499 -1507, y actualizado en Stephenson *et al.*, J. CLIN. ONCOL. (2005) 23:7005-7012 ("Kattan-Stephenson nomogram"). Este nomograma evalúa a un paciente asignando un valor puntual a cada uno de varios parámetros clínicos (año de RP, márgenes quirúrgicos, extensión extracapsular, invasión de vesícula seminal, afectación de ganglios linfáticos, puntuación primaria de Gleason, puntuación secundaria de Gleason y nivel preoperatorio de PSA), sumando el total de los puntos para un paciente

50 en una puntuación de nomograma, y luego prediciendo la probabilidad del paciente de estar libre de recidiva en intervalos de tiempo variables (hasta 10 años) basándose en esta puntuación de nomograma. Un ejemplo de un nomograma clínico prevalente utilizado para determinar el pronóstico de supervivencia de un paciente con cáncer de mama es el índice de pronóstico de Nottingham (NPI). Véase, por ejemplo, Galea *et al.*, BREAST CANCER RES. & TREAT. (1992) 22:207-19.

55 En este caso particular, se utiliza un nomograma para predecir la recidiva del carcinoma de vejiga usando cambios en citocinas (CC) después del tratamiento con BCG. Por tanto, realizaciones de la invención comprenden las citocinas específicas y el nomograma usado para calcular los valores que a su vez entonces predicen el riesgo de recidiva. El modelo se creando usando las siguientes etapas.

60 Se determinó la forma funcional de CC con respecto al riesgo de recidiva. Esto se logró dividiendo CC en quintiles y creando una serie de variables indicadoras correspondientes a cada quintilo, en el que la variable indicadora se estableció en 1 si los CC estaban en ese quintilo particular y 0 si no lo estaban. El grupo de referencia, los que están en el quintilo más bajo, se señaló por todas las variables indicadoras en la serie que se establece en cero. Por ejemplo, el mínimo, el percentil 20, el percentil 40, el percentil 60, el percentil 80 y el valor máximo para el cambio en IL-2 (Δ IL-2) fue -0,2178292, 23,1156, 61,7421, 142,052, 261,463 y 2654,33. Las variables indicadoras se hicieron

65

para representar $\Delta IL-2$ entre (a) los percentiles 20 y 40 (23,1156 - 61,7421), (b) los percentiles 40 y 60 (61,7421 - 142,052), (c) los percentiles 60 y 80 (142,052 - 261,463), y (d) el percentil 80 y el valor máximo (261,463 - 2654,33). Si todas de las cuatro variables indicadoras fueran cero, el valor de $\Delta IL-2$ estaba entre el valor mínimo y el percentil 20. Por lo tanto, si $\Delta IL-2$ fuera 36,52, la serie de variables indicadoras tendría valores $I_{20-40} = 1$, $I_{40-60} = 0$, $I_{60-80} = 0$, e $I_{80-m\acute{a}x} = 0$. Si $\Delta IL-2$ fuera 150,375, la serie de variables indicadoras tendría valores $I_{20-40} = 0$, $I_{40-60} = 0$, $I_{60-80} = 1$, e $I_{80-m\acute{a}x} = 0$. Si $\Delta IL-2$ fuera 0,0, la serie de variables indicadoras tendría valores $I_{20-40} = 0$, $I_{40-60} = 0$, $I_{60-80} = 0$, e $I_{80-m\acute{a}x} = 0$. La regresión logística se ajustó con cada citocina representada en su forma indicadora y la logaritmo de razón de probabilidades para estas variables indicadoras se representó gráficamente frente al punto medio de cada intervalo de quintilo. Si el gráfico de logaritmo de razón de probabilidades formó una línea recta, esto era evidencia de un riesgo lineal y, por lo tanto, se mantuvo los CC en el modelo en su forma continua inicial. Si el gráfico de la logaritmo de razón de probabilidades indicó un efecto de umbral, los CC se dicotomizaron de tal manera que maximiza el logaritmo -2 de valor de probabilidad de la ecuación de regresión logística.

Después de que se determinase una forma funcional adecuada, todos los CC en su forma funcional adecuada se juntaron en una ecuación de regresión logística. Aunque inicialmente se utilizaron técnicas de retroselección para elegir un modelo parsimonioso para predecir la recidiva, también se examinaron otros modelos con diferentes combinaciones de citocinas. Además de medir el índice de concordancia, se examinaron los modelos con respecto a su sensibilidad y especificidad. Se representaron gráficamente las curvas de ROC (característica de funcionamiento de receptor) para examinar la capacidad predictiva de los modelos. Las curvas de ROC son simplemente un gráfico de la sensibilidad de un modelo frente a la tasa de falsos positivos. Cuanto mayor sea el área bajo la curva de ROC (AUC), mejor será el índice de concordancia del modelo y mejor será la capacidad del modelo para predecir la recidiva con alta sensibilidad y especificidad. El AUC es simplemente el área que se encuentra bajo la curva de ROC; un AUC de 1 indica una capacidad de predicción perfecta (100 % de sensibilidad con 0 % de falsos positivos). Un AUC de 0,5 indica que la probabilidad aleatoria es tan precisa para predecir un resultado como el modelo. Cuanto más cerca esté el AUC de 1, mejor será la capacidad predictiva del modelo. El índice de concordancia es una medida de la capacidad del modelo para distinguir el riesgo, dicho de otro modo, que se predice que las observaciones de bajo riesgo son de baja probabilidad y se predice que las observaciones de alto riesgo para el caso se produzcan con alta probabilidad. La sensibilidad es la proporción de pacientes que dieron positivo al someterse a prueba para recidiva quienes realmente recidivaron más tarde. La especificidad es la proporción de pacientes que dieron negativo al someterse a prueba para recidiva que realmente no recidivaron. La tasa de falsos positivos es 1 menos la especificidad, dicho de otro modo, es la proporción de pacientes que dieron positivo al someterse a prueba para recidiva pero que realmente no recidivaron.

Se eligió un modelo final usando un subconjunto de citocinas de manera que se minimizó el número de citocinas requerido para el modelo al tiempo también que se maximizó la capacidad predictiva del modelo. Por tanto, si tres modelos fueron candidatos para el modelo predictivo final, uno que se creó con 12 mediciones de citocina (IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, IL-1B, TRAIL, IL-10, IFN- γ , IL-12(p70), IL-12(p40) y TNF- α), otro que se creó con 10 mediciones de citocina, y uno con solo 9, pero los tres dieron como resultado una sensibilidad similar, el modelo que utilizó solo 9 mediciones de citocina se eligió para el modelo predictivo final. De hecho, el presente modelo tuvo 9 mediciones de citocina, seis que contribuyeron con mediciones de cambio, así como mediciones de referencia ($\Delta IL-6$, $\leq 425 = 0$, si no = 1; $\Delta IL-18$, $\leq 40 = 0$, si no = 1; $\Delta IL-1B$, $\leq 300 = 0$, si no = 1; $\Delta IL-12$ (p70); IFN- γ , y $\Delta TRAIL$) y tres que contribuyeron solo con mediciones de cambio ($\Delta IL-2$, $\leq 200 = 0$, si no = 1; $\Delta IL-8$, $\leq 1.500 = 0$, si no = 1; y $\Delta TNF-\alpha$).

La forma gráfica de la ecuación de regresión logística, es decir, los nomogramas mostrados en las figuras 3 y 6, se creó entonces para mostrar visualmente el modelo. Este modelo también se validó internamente usando métodos de remuestreo. Específicamente, se llevaron a cabo una serie de 500 simulaciones en las que un subconjunto de pacientes de la muestra original se sometió a prueba usando el modelo y se examinaron con respecto a la precisión de la predicción. Este modelo final que se eligió tuvo una alta sensibilidad (94 %) y una especificidad moderadamente alta (79 %). Adicionalmente, se validó internamente y se encontró que tenía un error de predicción bajo según lo medido por MSE (error cuadrático medio) y el tamaño del error absoluto que se clasificó en el percentil 90. El MSE es la raíz cuadrada del promedio de probabilidad predicha de recidiva menos la probabilidad observada de la cantidad de recidiva al cuadrado, y el error absoluto es la magnitud de la probabilidad predicha de recidiva menos la probabilidad observada de recidiva, siendo el valor en el percentil 90 mayor que los errores absolutos asociados con el 90 % de las observaciones.

II. Ejemplos

Ejemplo 1 - Materiales y métodos

Pacientes. A todos los pacientes que fueron citados para someterse a inmunoterapia con BCG intravesical en el centro del inventor desde julio de 2005 se les ha ofrecido participar en este ensayo clínico prospectivo, aprobado por la Junta de Revisión Institucional (ensayo clínico nacional n.º 01007058). Los pacientes eran elegibles si habían confirmado patológicamente NMIBC primario o recurrente documentado dentro de las 6 semanas de la inscripción y una imagen normal del tracto urinario superior. Los criterios de inclusión patológica fueron similares a los de las categorías de riesgo intermedio/alto de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer

(Sylvester *et al.*, 2006). Se excluyeron pacientes si tenían antecedentes de radiación pélvica previa, si tenían subtipos histológicos variantes (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, micropapilar o células pequeñas), o si estaban inmunodeprimidos. Todos los pacientes con tumores de alto grado se sometieron a una nueva resección entre las semanas 4 y 6 después del diagnóstico inicial para evaluar la invasión muscular oculta. Se administró una instilación intravesical inmediata postoperatoria de mitomicina C cuando fue apropiado.

Inmunoterapia intravesical. Se administró BCG intravesical según el protocolo utilizado en el ensayo 8507 del Southwest Oncology Group (Lamm *et al.*, 2000). Todos los pacientes recibieron un curso de inducción de BCG consistente en 6 tratamientos semanales, luego un mantenimiento consistente en 3 tratamientos semanales a los 3 y 6 meses y luego cada 6 meses durante un total de 36 meses. Las reducciones de dosis se permitieron a discreción del médico tratante. Como reflejaba la práctica del inventor en el momento del inicio del estudio, el aumento de BCG con interferón- α -2b se permitió a discreción del médico tratante, con un cronograma de terapia similar al descrito anteriormente (O'Donnell *et al.*, 2004).

Ensayos ELISA. Se recogieron muestras de orina para el análisis de citocina al inicio (después de la TUR y justo antes del inicio de la BCG intravesical), a las 6 semanas (justo antes y cuatro horas después de la sexta instilación de BCG) y a la tercera instilación de mantenimiento de BCG (justo antes y cuatro horas después). La orina se recogió en los puntos de tiempo apropiados antes y después de la instilación de la inmunoterapia para un análisis posterior tal como se indicó anteriormente. Se estabilizaron las alícuotas de diez mililitros con un tampón concentrado y una tableta de mezcla inhibidora de proteasa. Las muestras se centrifugaron a 1.200 rpm durante ocho minutos, se descartó el sedimento y se almacenó el sobrenadante a -80°C antes del análisis. El análisis se realizó usando un ensayo de citocina múltiple y los inventores fueron capaces de identificar el panel de citocinas urinarias con una compleja interacción de cambio desde antes hasta justo después de la 6^a instilación de BCG.

Monitorización del paciente. Se monitorizaron los pacientes durante el tratamiento con BCG según las prácticas normales en la institución del inventor usando cistoscopia y citología a intervalos de 3 meses durante 2 años e intervalos de 3 a 6 meses a partir de entonces. La repetición de TUR y otros tratamientos se realizaron según fue necesario. No se exigió el manejo por parte del paciente basándose en los resultados del ensayo citocina, pero se proporcionaron los resultados al médico tratante para poder actuar si así lo deseara.

Análisis estadístico. Se analizaron los datos de los pacientes en base a la intención de tratar. Se utilizaron estadísticas descriptivas para resumir las características de la población de estudio. La recidiva se definió como cualquier tumor encontrado después del inicio de la BCG intravesical, independientemente del grado o estadio. La progresión se definió como un aumento en el estadio a enfermedad músculo-invasiva. Se usó regresión logística para evaluar las relaciones entre paciente y características tumorales y recidiva o progresión tumoral. Los datos de los pacientes se censuraron desde el momento de recidiva, progresión o fecha de la última cistoscopia documentada si no se observó recidiva/progresión. Para modelar la asociación entre los resultados de FISH y el riesgo de recidiva o progresión se usó regresión proporcional univariada de los riesgos de Cox. Se usó un análisis multivariado para modelar la asociación de variables adicionales con riesgo de recidiva o progresión. Se usó el método de límite de producto de Kaplan-Meier para estimar la supervivencia sin recidiva y sin progresión. Se realizaron análisis estadísticos usando software estadístico STATA/SE versión 10.1 (Stata Corp. LP, College Station, TX).

Ejemplo 2 - La identificación de un panel de citocinas urinarias útiles para predecir la respuesta a la terapia con BCG para el cáncer de vejiga

Los inventores utilizaron el mismo protocolo de muestreo detallado anteriormente en el ejemplo 1 y evaluaron niveles inducibles de citocinas en respuesta a BCG en semanas. Se encontró que varias citocinas, es decir, IL-6 e IL-8, estaban correlacionadas de manera individual (figuras 1 y 2), lo que concordaba con el trabajo anterior. Sin embargo, los inventores encontraron que nomogramas generados usando el cambio en niveles en un panel de citocinas fueron altamente predictivos de respuesta a BCG (figuras 3 y 6) y fueron capaces de predecir la recidiva del tumor con AUC del 82 % y el 85,5 % (IC 95 % de 77,9 % - 93,1 %), respectivamente. Los nomogramas presentados en las figuras 3 y 6 tienen AUC grandes (AUC = 0,82 y 0,855, respectivamente) (figuras 4 y 7). Ningún otro modelo que use parámetros clínicos o genes ha tenido un AUC tan grande.

Un nomograma es un modelo usado para predecir la probabilidad de que ocurra un caso. En este caso particular, los inventores están prediciendo la recidiva de carcinoma de vejiga usando cambios en citocinas (CC) después del tratamiento con BCG. La invención comprende las citocinas específicas y el nomograma utilizado para calcular los valores que a su vez predicen el riesgo de recidiva. El modelo se creó usando las siguientes etapas.

Se determinó la forma funcional de CC con respecto al riesgo de recidiva. Esto se logró dividiendo CC en quintiles y creando una serie de variables indicadoras correspondientes a cada quintil, en las que la variable indicadora se estableció en 1 si el CC estaba en ese quintil particular y 0 si no lo estaba. El grupo de referencia, los del quintil más bajo, se indicó mediante todas las variables indicadoras de la serie que se establecieron a cero. Por ejemplo, el mínimo, el percentil 20, el percentil 40, el percentil 60, el percentil 80 y el valor máximo para el cambio en IL-2 ($\Delta\text{IL-2}$) fue -0,2178292, 23,1156, 61,7421, 142,052, 261,463 y 2654,33. Las variables indicadoras se hicieron para representar $\Delta\text{IL-2}$ entre (a) los percentiles 20 y 40 (23,1156 - 61,7421), (b) los percentiles 40 y 60 (61,7421 -

142,052), (c) los percentiles 60 y 80 (142,052 - 261,463), y (d) el percentil 80 y el valor máximo (261,463 - 2654,33). Si todas de las cuatro variables indicadoras eran cero, el valor de $\Delta IL-2$ estaba entre el valor mínimo y el percentil 20. Por lo tanto, si $\Delta IL-2$ fuera 36,52, la serie de variables indicadoras tendría valores $I_{20-40} = 1$, $I_{40-60} = 0$, $I_{60-80} = 0$, e $I_{80-máx} = 0$. Si $\Delta IL-2$ fuera 150,375, la serie de variables indicadoras tendría valores $I_{20-40} = 0$, $I_{40-60} = 0$, $I_{60-80} = 1$, e $I_{80-máx} = 0$. Si $\Delta IL-2$ fuera 0,0, la serie de variables indicadoras tendría valores $I_{20-40} = 0$, $I_{40-60} = 0$, $I_{60-80} = 0$, e $I_{80-máx} = 0$. La regresión logística se ajustó con cada citocina representada en su forma indicadora y la logaritmo de razón de probabilidades para estas variables indicadoras se representó gráficamente frente al punto medio de cada intervalo de quintilo. Si el gráfico de logaritmo de razón de probabilidades formaba una línea recta, esto era evidencia de un riesgo lineal y, por lo tanto, el CC se mantuvo en el modelo en su forma continua inicial. Si el gráfico de la logaritmo de razón de probabilidades indicaba un efecto de umbral, el CC se dicotomizaron de tal manera que se maximiza el logaritmo -2 de valor de probabilidad de la ecuación de regresión logística.

Después de determinar una forma funcional adecuada, todos los CC en su forma funcional adecuada se juntaron en una ecuación de regresión logística. Aunque inicialmente se utilizaron técnicas de retroselección para elegir un modelo parsimonioso para predecir recidiva, también se examinaron otros modelos con diferentes combinaciones de citocinas. Además de medir el índice de concordancia, se examinaron los modelos para determinar su sensibilidad y especificidad. Se representaron gráficamente las curvas de ROC (característica de funcionamiento de receptor) para examinar la capacidad predictiva de los modelos. Las curvas de ROC son simplemente un gráfico de la sensibilidad de un modelo frente a la tasa de falsos positivos. Cuanto mayor sea el área bajo la curva de ROC (AUC), mejor será el índice de concordancia del modelo y mejor será la capacidad del modelo para predecir recidiva con alta sensibilidad y especificidad. El AUC es simplemente el área que se encuentra bajo de la curva de ROC; un AUC de 1 indica una capacidad de predicción perfecta (100 % de sensibilidad con 0 % de falsos positivos). Un AUC de 0,5 indica que la probabilidad aleatoria es tan precisa para predecir el resultado como el modelo. Cuanto más cerca esté el AUC de 1, mejor será la capacidad predictiva del modelo. El índice de concordancia es una medida de la capacidad del modelo para distinguir el riesgo, dicho de otro modo, que se predice que las observaciones de bajo riesgo son de baja probabilidad y que las observaciones de alto riesgo para el caso se predice que se produzcan con alta probabilidad. La sensibilidad es la proporción de pacientes que dieron positivo para recidiva quienes en realidad recidivaron más tarde. Especificidad es la proporción de pacientes que dieron negativo para recidiva que realmente no recidivaron. La tasa de falsos positivos es 1 menos la especificidad, dicho de otro modo, es la proporción de pacientes que dieron positivo para recidiva pero que realmente no recidivaron.

Se eligió un modelo final usando un subconjunto de citocinas de manera que se minimizó el número de citocinas requerido para el modelo y se maximizó la capacidad predictiva del modelo. Por tanto, si tres modelos fueron candidatos para el modelo predictivo final, uno que se creó con 12 mediciones de citocina, otro que se creó con 10 mediciones de citocina, y uno con solo 8, pero los tres dieron como resultado sensibilidad similar, se eligió el modelo que utilizó solo 9 mediciones de citocina para el modelo predictivo final. De hecho, el presente modelo tuvo 9 mediciones de citocina, seis que contribuyeron con mediciones de cambio, así como mediciones de referencia ($\Delta IL-6$, $\leq 425 = 0$, si no = 1; $\Delta IL-18$, $\leq 40 = 0$, si no = 1; $\Delta IL-1ra$; $\Delta IL-12$ (p70); IFN- γ ; y $\Delta TRAIL$) y tres que contribuyeron solo con mediciones de cambio ($\Delta IL-2$, $\leq 200 = 0$, si no = 1; $\Delta IL-8$, $\leq 1.500 = 0$, si no = 1; y $\Delta TNF-\alpha$).

La forma gráfica de la ecuación de regresión logística [$\eta = 0,2267 - 2,8594 * I(\Delta IL-2 \geq 200) - 4,6366 * I(\Delta IL-6 \geq 425) - 1,0933 * I(\Delta IL-8 \geq 1500) - 5,4155 * I(\Delta IL-18 \geq 40) + 0,00428 * \Delta IL-1ra + 0,00459 * \Delta TRAIL - 0,00235 * \Delta INF-\gamma + 0,4328 * \Delta IL-12(p70) + 0,0123 * \Delta TNF-\alpha$], es decir, el nomograma mostrado en la figura 6, entonces se creó para mostrar visualmente el modelo. Este modelo también se validó internamente usando métodos de remuestreo. Específicamente, se realizaron una serie de 500 simulaciones en las que un subconjunto de pacientes de la muestra original se sometió a prueba usando el modelo y se examinaron para la precisión de la predicción. Este modelo final elegido tuvo alta sensibilidad (94 %) y especificidad moderadamente alta (79 %). Adicionalmente, se validó internamente y se encontró que tenía un error de predicción bajo medido por MSE (error cuadrático medio) y el tamaño del error absoluto que se clasificó en el percentil 90. El MSE es la raíz cuadrada del promedio de probabilidad predicha de recidiva menos la probabilidad observada de la cantidad de recidiva al cuadrado, y el error absoluto es la magnitud de la probabilidad predicha de recidiva menos la probabilidad observada de recidiva, siendo el valor en el percentil 90 mayor que los errores absolutos asociados con el 90 % de las observaciones.

Todos los métodos dados a conocer y reivindicados en el presente documento pueden realizarse y ejecutarse sin experimentación indebida a la luz de la presente divulgación.

Referencias

De Reijke, 1969

Saint, 2002

Esuvaranathan, 1995

Rabinowitz, 1997

- Thalmann, 1997
- 5 Thalmann, 2000
- Ludwig, 2004
- Eur Urol., 43:351-361, 2003.
- 10 Johnson, Trends in Genetics, 19:660-666, 2003.
- Bubendorf *et al.*, Multiprobe FISH for enhanced detection of bladder cancer in voided urine specimens and bladder washings. Am. J. Clin. Pathol., 116:79-86, 2001.
- 15 Bubendorf and Grilli, UroVysion multiprobe FISH in urinary cytology. Methods Mol. Med., 97:117-131, 2004.
- Caraway *et al.*, Fluorescence in situ hybridization for detecting urothelial carcinoma: a clinicopathologic study. Cancer Cytopathol., 118:259-268, 2010.
- 20 Dalbagni *et al.*, Is transurethral biopsy of the bladder necessary after 3 months to evaluate response to bacillus Calmette-Guerin therapy? J. Urol., 162:708-709, 1999.
- Hailing *et al.*, A comparison of cytology and fluorescence in situ hybridization for the detection of urothelial carcinoma. J. Urol., 164:1768-1775, 2000.
- 25 Heney *et al.*, Superficial bladder cancer: progression and recurrence. The Journal of Urology, 130:1083-1086, 1983.
- Herr and Sogani, Does early cystectomy improve the survival of patients with high risk superficial bladder tumors? The Journal of Urology, 166:1296-1299, 2001.
- 30 Highshaw *et al.*, Is bladder biopsy necessary at three or six months post BCG therapy? Urol. Oncol., 21:207-209, 2003.
- Jemal *et al.*, Cancer statistics, 2010. CA: a cancer journal for clinicians, 60:277, 2010.
- 35 Kamat and Lamm, Immunotherapy for bladder cancer. Curr. Urol. Rep., 2:62-69, 2001.
- Kipp *et al.*, Monitoring intravesical therapy for superficial bladder cancer using fluorescence in situ hybridization. J. Urol., 173:401-404, 2005.
- 40 Lamm *et al.*, Maintenance bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for recurrent TA, T1 and carcinoma in situ transitional cell carcinoma of the bladder: a randomized Southwest Oncology Group Study. J. Urol., 163:1124-1129, 2000.
- 45 Mengual *et al.*, Clinical utility of fluorescent in situ hybridization for the surveillance of bladder cancer patients treated with bacillus Calmette-Guerin therapy. Eur. Urol., 52:752-759, 2007.
- O'Donnell *et al.*, Interim results from a national multicenter phase II trial of combination bacillus Calmette- Guerin plus interferon alfa-2b for superficial bladder cancer. J. Urol., 172:888-893, 2004.
- 50 Sarosdy *et al.*, Clinical evaluation of a multi-target fluorescent in situ hybridization assay for detection of bladder cancer. The Journal of Urology, 168:1950-1954, 2002.
- Savic *et al.*, The prognostic value of cytology and fluorescence in situ hybridization in the follow-up of nonmuscle-invasive bladder cancer after intravesical Bacillus Calmette-Guerin therapy. Int. J. Cancer, 124:2899-2904, 2009.
- 55 Stein *et al.*, Radical cystectomy in the treatment of invasive bladder cancer: long-term results in 1,054 patients. J. Clin. Oncol., 19:666-675, 2001.
- 60 Sylvester *et al.*, Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. European Urology, 49:466-465; exposición 75-77, 2006.
- 65 Whitson *et al.*, A multicolour fluorescence in situ hybridization test predicts recurrence in patients with high-risk superficial bladder tumours undergoing intravesical therapy. BJU International, 104:336-339, 2009.

Zellweger *et al.*, Multi-target fluorescence in situ hybridization in bladder washings for prediction of recurrent bladder cancer. *Int. J. Cancer*, 119:1660-1665, 2006.

REIVINDICACIONES

1. Método *in vitro* para predecir un pronóstico en un paciente con cáncer después de una terapia con BCG, que comprende:
5 medir cambios en los niveles de IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, IL-1B, TRAIL, IL-10, IFN- γ , IL-12(p70), IL-12(p40) y TNF- α en al menos dos muestras obtenidas del paciente, las muestras obtenidas tanto antes como después de la terapia con BCG; e
10 identificar si el paciente está en riesgo de recaída basándose en los cambios medidos en niveles de citocina.
2. Método según la reivindicación 1, en el que las muestras son muestras de orina.
- 15 3. Método según la reivindicación 1 o 2, en el que el paciente con cáncer es un paciente con cáncer de vejiga, preferiblemente un paciente con cáncer de vejiga no músculo-invasivo.
4. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la terapia con BCG es una terapia con BCG intravesical.
- 20 5. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que medir cambios en los niveles de las citocinas comprende realizar un ELISA.
6. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que identificar si el paciente está en riesgo de recaída comprende determinar un valor puntual para cada uno de los cambios en niveles de citocina y correlacionar el valor total de puntos con un valor en la escala predictora.
- 25 7. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende, además, informar si el paciente está en riesgo de recaída, preferiblemente preparando un informe escrito o electrónico si el paciente está en riesgo de recaída.
- 30 8. Método según la reivindicación 7, que comprende además proporcionar el informe al paciente, un médico, un hospital o una compañía de seguros.
- 35 9. Método para la predicción de una respuesta de tratamiento en un paciente que padece carcinoma de vejiga que comprende la etapa de:
40 someter a prueba una muestra tomada del paciente después del tratamiento con inmunoterapia intravesical con bacilo Calmette-Guérin (BCG) con un nomograma de citocinas para predecir la recidiva de carcinoma de vejiga, en el que dicho nomograma se construye usando un panel de citocinas urinarias que consiste en IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, IL-1B, TRAIL, IL-10, IFN- γ , IL-12(p70), IL-12(p40) y TNF- α .

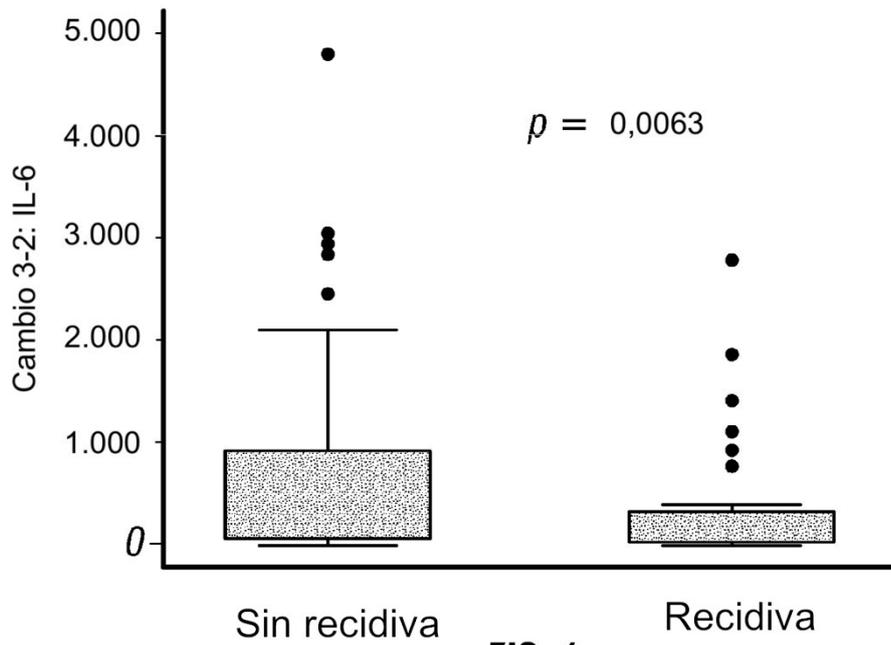


FIG. 1

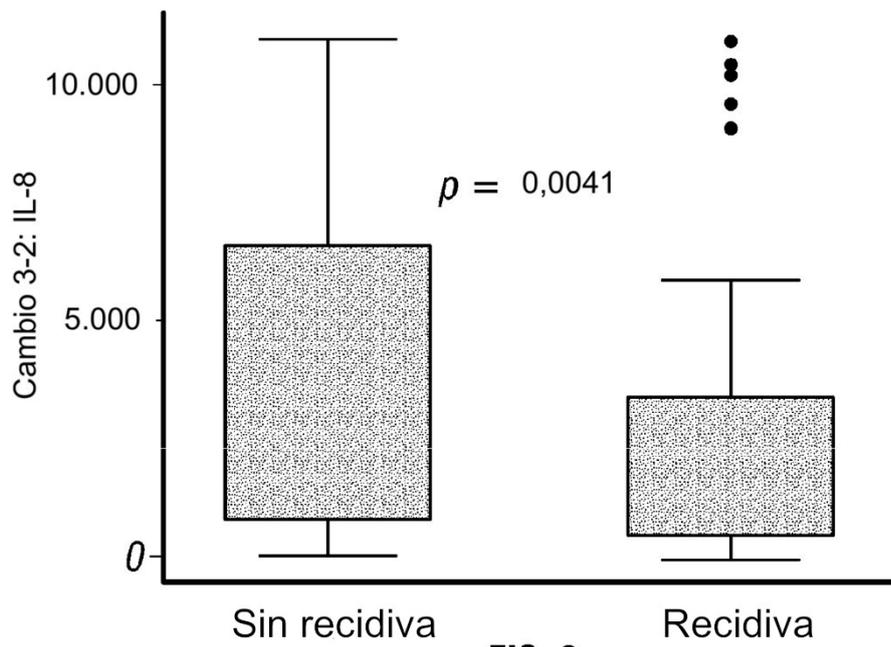


FIG. 2

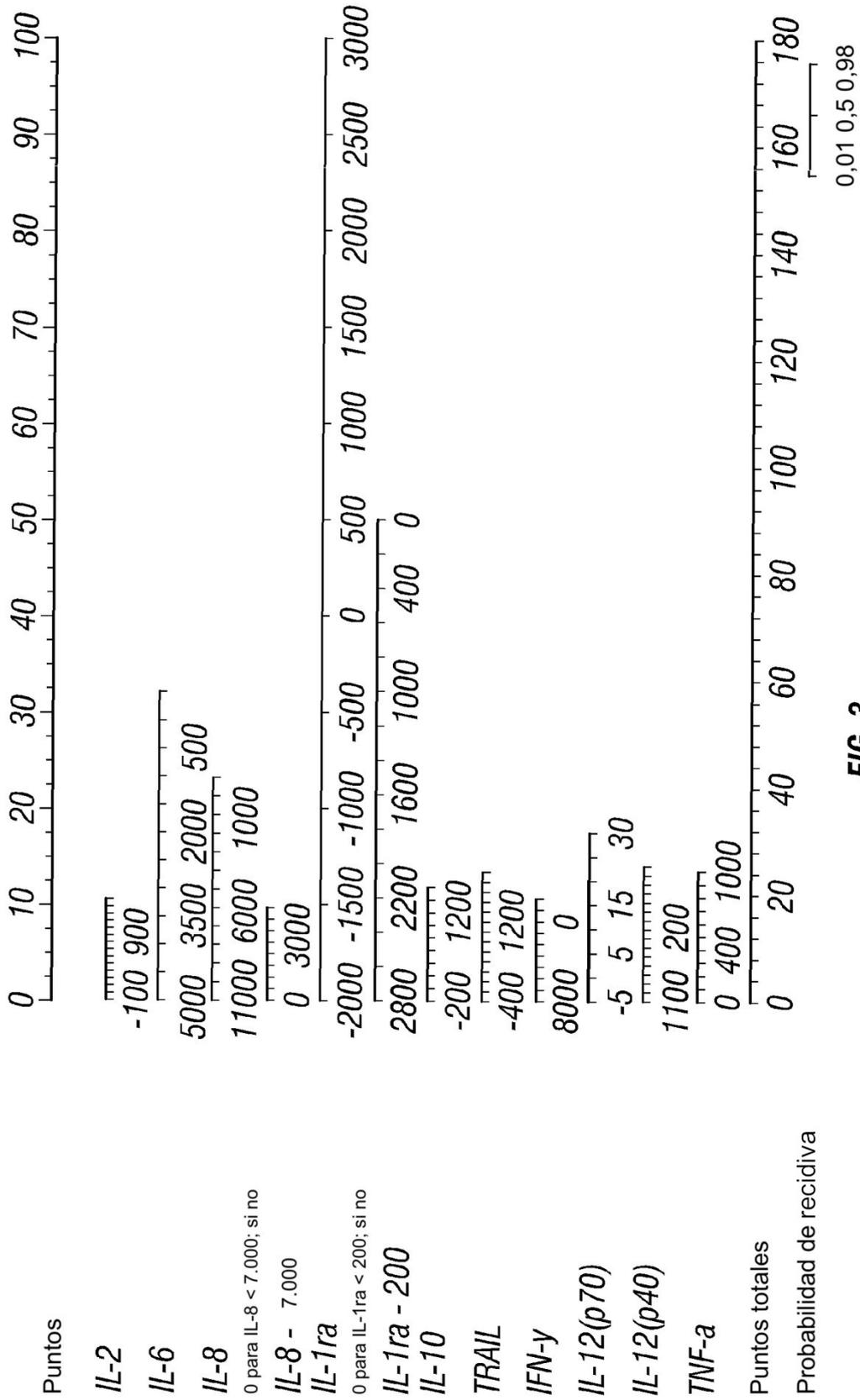


FIG. 3

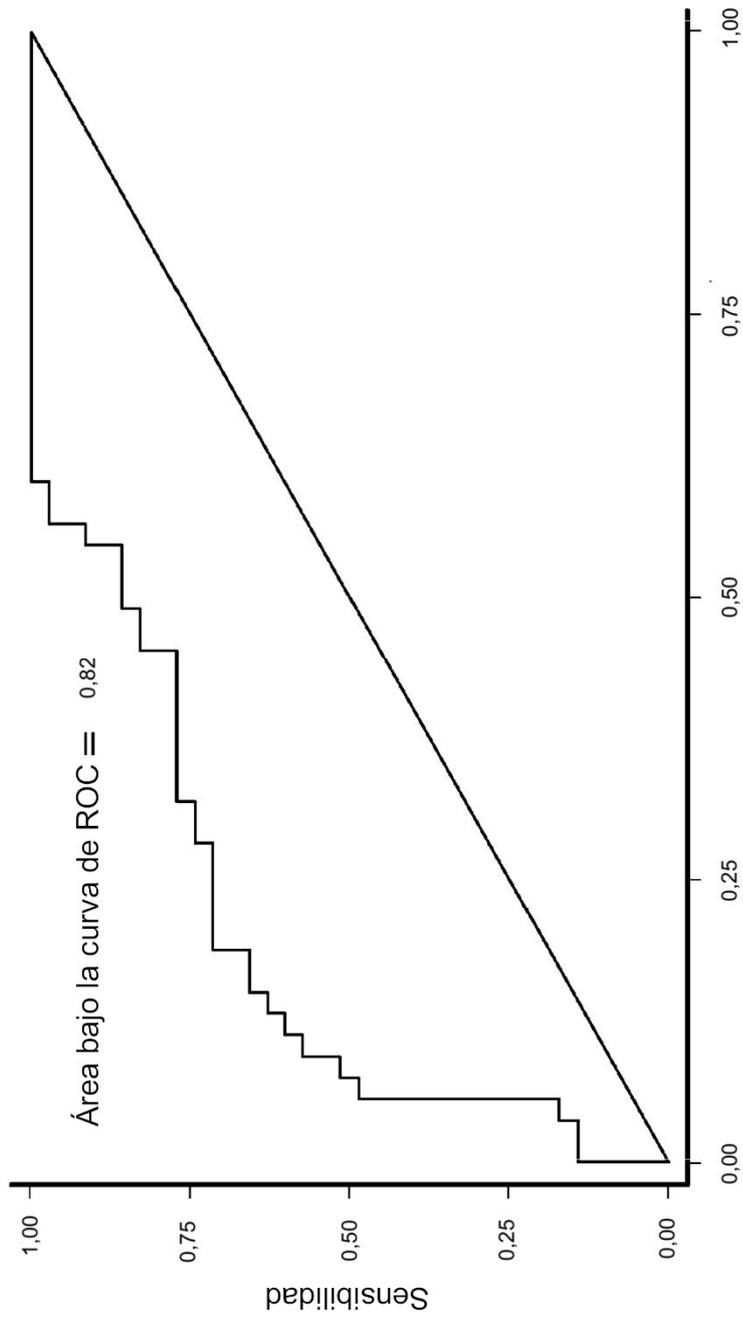
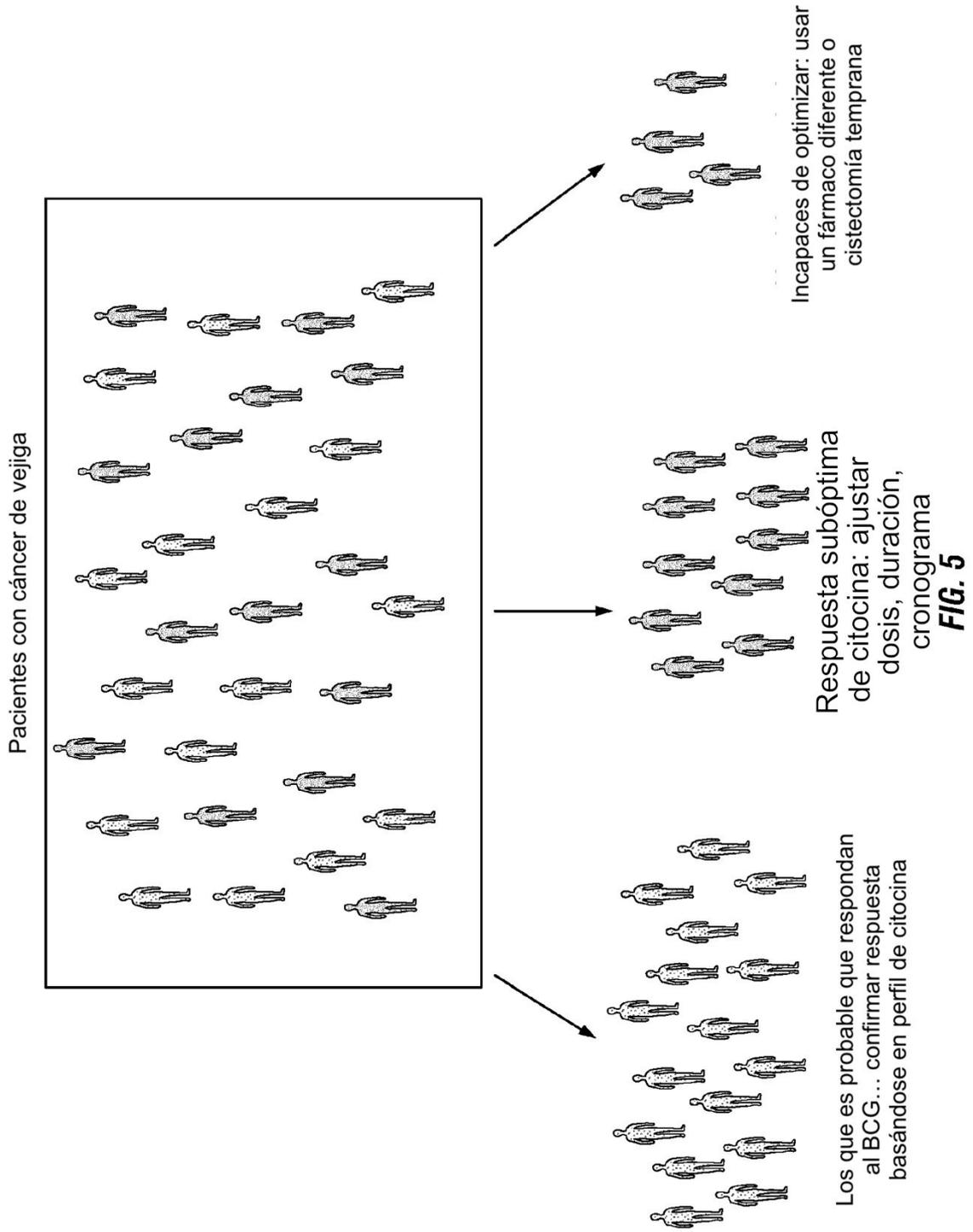


FIG. 4



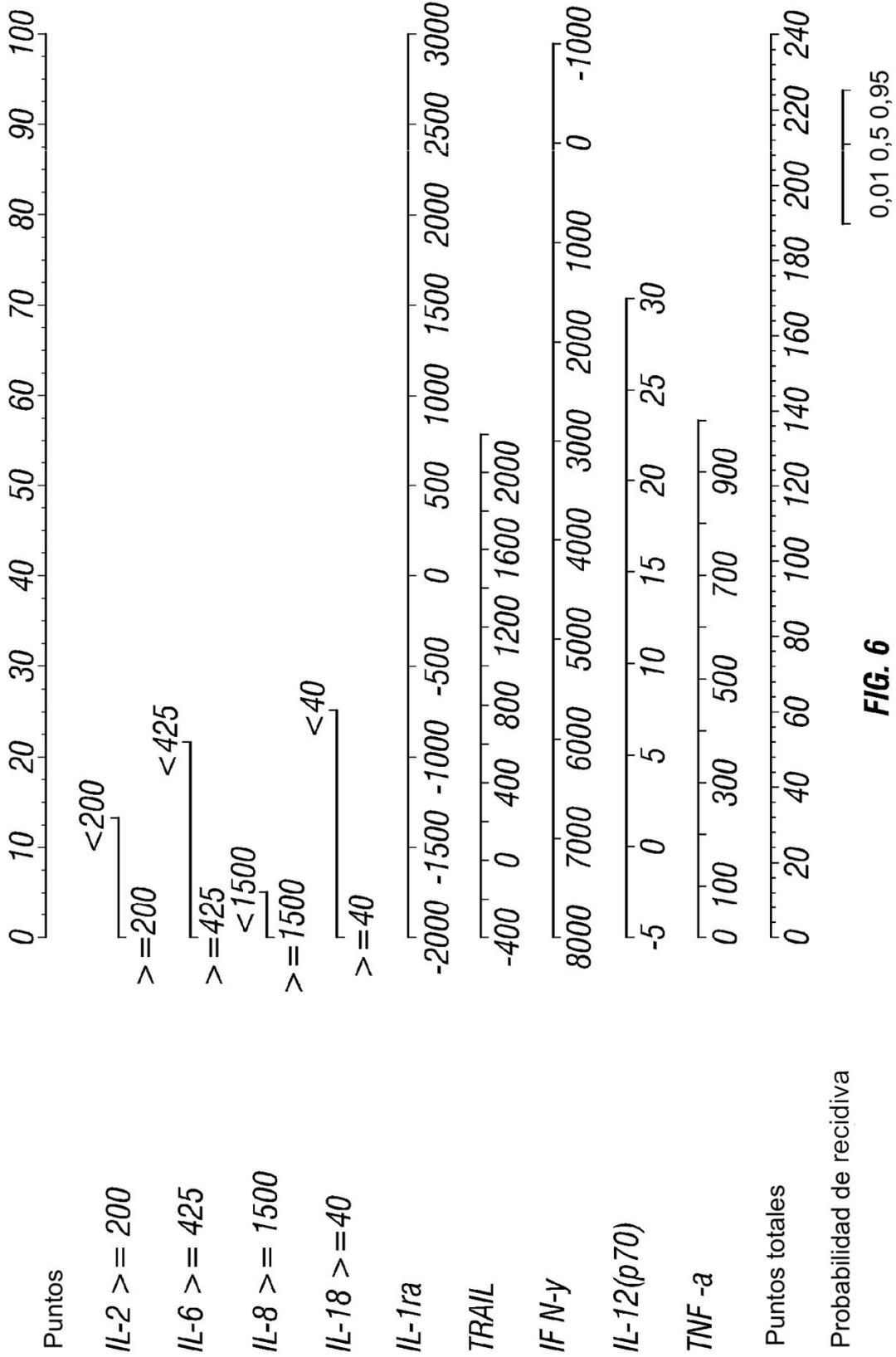
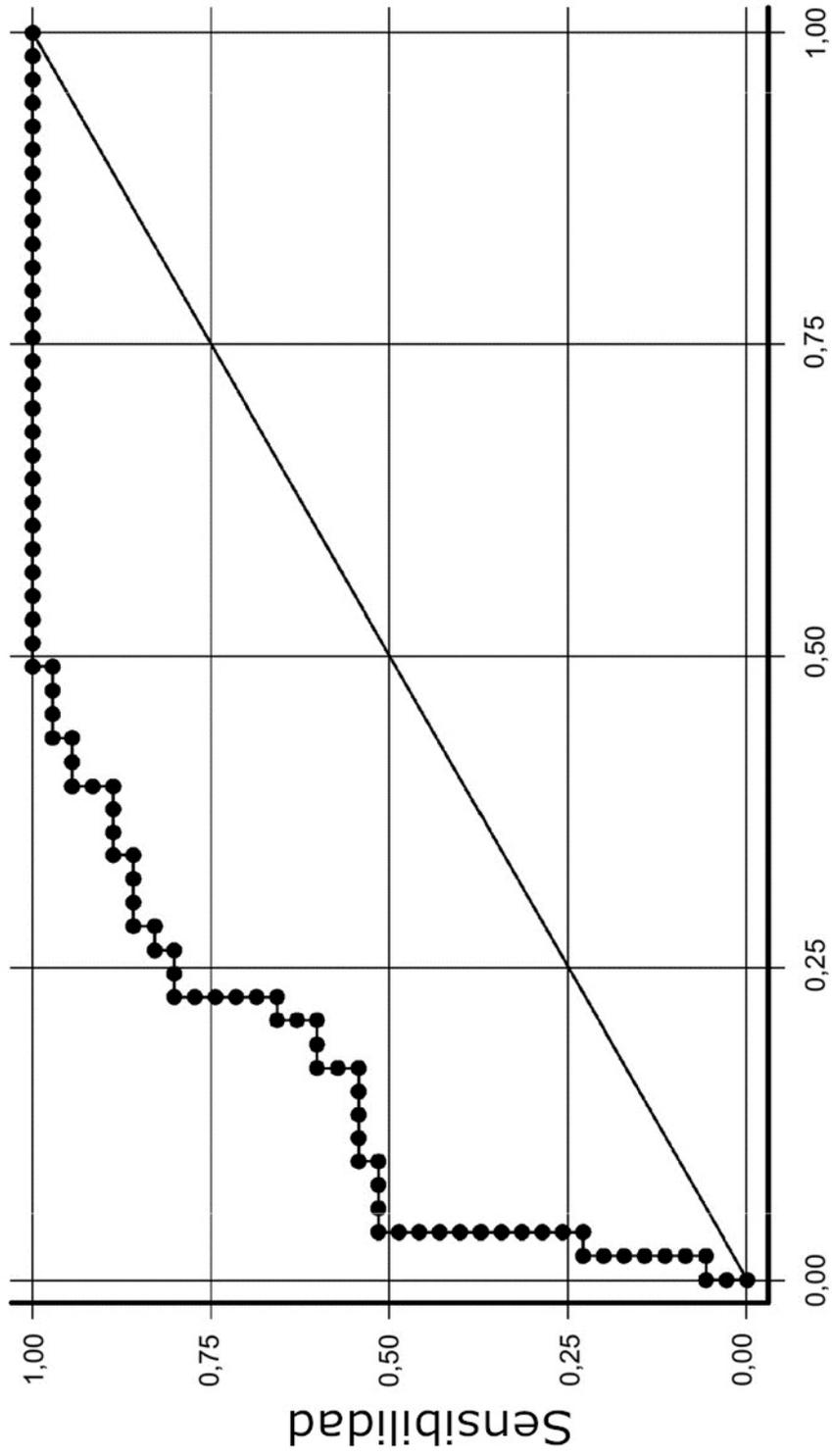


FIG. 6



Área bajo la curva de ROC = 0,8550 1 - Especificidad
FIG. 7