



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 187 383**

⑫ Número de solicitud: 200102631

⑬ Int. Cl.⁷: G01N 33/574

C12Q 1/34

C12Q 1/37

⑭

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑮ Fecha de presentación: **27.11.2001**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **01.06.2003**

⑰ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
01.06.2003

⑱ Solicitante/s: **UNIVERSIDAD DE VIGO**
C/ Oporto, 1
36201 Vigo, Pontevedra, ES

⑲ Inventor/es:
Rodríguez Berrocal, Francisco Javier;
Páez de la Cadena Tortosa, María;
Ayude Vázquez, Daniel;
Cordero Santamaría, Oscar y
Camacho García, Angel Tomás

⑳ Agente: **No consta**

㉑ Título: **Procedimiento para la detección precoz de cáncer colorrectal mediante la valoración en suero o plasma humano de las glicoproteínas CD26 soluble y alfa-L-fucosidasa.**

㉒ Resumen:

Procedimiento para la detección precoz de cáncer colorrectal mediante la valoración en suero o plasma humano de las glicoproteínas CD26 soluble y alfa-L-fucosidasa.

Un nuevo procedimiento para detectar precozmente el cáncer colorrectal, consistente en la determinación, en suero o plasma humano, de los valores de concentración de la glicoproteína CD26 soluble y de la actividad biológica de la enzima alfa-L-fucosidasa. Los valores obtenidos para ambas glicoproteínas en el suero o plasma de un individuo determinado son comparados con unos puntos de corte preestablecidos, que determinan la probabilidad de padecer cáncer colorrectal.

Este procedimiento permite disponer de una técnica rápida, fiable y económica para detectar el cáncer de colon y recto cuando se encuentra en una fase temprana y asintomática.

ES 2 187 383 A1

DESCRIPCION

Procedimiento para la detección precoz de cáncer colorrectal mediante la valoración en suero o plasma humano de las glicoproteínas CD26 soluble y alfa-L-fucosidasa.

La presente invención se refiere al desarrollo de un procedimiento para detectar precozmente el cáncer colorrectal, utilizando para ello la determinación, en suero o plasma humano, de los valores de concentración de la glicoproteína CD26 soluble y de la actividad biológica de la enzima alfa-L-fucosidasa. Este procedimiento permite disponer de una técnica rápida, fiable y económica para detectar el cáncer de colon y recto cuando se encuentra en una fase temprana y asintomática.

La invención descrita aquí se ha realizado en el curso del trabajo de investigación financiado por el proyecto PGIDTOOPXI30115PR, concedido por la Xunta de Galicia.

Sector de la técnica

El sector de la técnica al que se refiere la invención se incluye dentro del ámbito sanitario. La utilización de esa prueba en la detección de cáncer colorrectal supone una considerable ventaja, dada la ausencia actualmente de marcadores tumorales para detectar este carcinoma.

Antecedentes de la invención

El cáncer colorrectal es una de las neoplasias más frecuentes en hombres y mujeres, y representa la segunda causa de muerte por cáncer en los países industrializados. El cáncer colorrectal, al igual que otros carcinomas, debe ser detectado en los estadios más tempranos de la enfermedad para incrementar la probabilidad de supervivencia de los pacientes.

Lamentablemente, en la actualidad no existen pruebas que se puedan realizar en suero o plasma y que sean útiles para llevar a cabo la detección de cáncer colorrectal. Por ello, en la práctica clínica el diagnóstico de la enfermedad se establece en función del cuadro de signos y de síntomas que presenta el paciente, con el apoyo de determinadas pruebas clínicas poco específicas, como la detección de sangre oculta en heces. La determinación definitiva de la existencia o no del cáncer sólo puede ser llevada a cabo mediante una prueba clínica denominada colonoscopia, que es una técnica cara, engorrosa y traumática para el paciente. Otros métodos que ocasionalmente ayudan en el diagnóstico de este carcinoma son el enema opaco, la tomografía axial y la ecografía hidrocolónica, todos ellos costosos y difíciles de asimilar por la mayor parte de la sociedad.

Los inventores del procedimiento objeto de esta patente han demostrado, a lo largo de sus trabajos de investigación, que en pacientes de cáncer colorrectal existe una relación directa entre la presencia del tumor y la alteración en la actividad biológica o en la concentración de diversas glicoproteínas y, en particular, en los niveles de CD26 y de la enzima alfa-L-fucosidasa.

La molécula CD26 es una glicoproteína de la superficie celular que también está presente en forma soluble en el suero o en el plasma. Presenta actividad enzimática dipeptidil peptidasa IV y se ha identificado su unión con el complejo proteico adenosina desaminasa. Hemos demostrado que

su concentración disminuye en más de un 50 % en pacientes con cáncer de colon, incluso en las fases más tempranas. Esta disminución se produce en el 90 % de los pacientes, con una especificidad del 90 %, siendo la eficiencia del análisis del 90 %.

Una segunda glicoproteína que también hemos demostrado que se halla alterada en pacientes de cáncer colorrectal es la enzima alfa-L-fucosidasa. En este caso se produce una disminución en su actividad hidrolítica, a un nivel superior al 50 %, en al menos el 70 % de los pacientes, con una especificidad del 85 %, y una eficiencia del 79 %.

La alteración de ambas glicoproteínas simultáneamente ofrece aún mejores resultados estadísticos, ya que la sensibilidad de la prueba asciende a un 97 %, mientras que la especificidad se mantiene en un 75 % y la eficiencia alcanza un 91 %.

Explicación de la invención

La presente invención corresponde al desarrollo de un procedimiento para detectar precozmente la existencia de cáncer colorrectal en personas que desconozcan que padecen esta patología, por carecer de síntomas. Este procedimiento consiste en la determinación de los niveles de la molécula CD26 soluble y de la actividad hidrolítica de la enzima alfa-L-fucosidasa en suero o plasma humano. De esta forma la realización de la prueba no causaría más molestias al individuo que las de una extracción de sangre habitual.

La determinación de los niveles de la glicoproteína CD26 soluble se lleva a cabo mediante un ensayo inmunológico específico para CD26 soluble humano, y la valoración de la actividad enzimática de la alfa-L-fucosidasa se realiza incubando la enzima con un sustrato sintético que permite determinar su capacidad de hidrólisis.

La determinación de los niveles de la glicoproteína CD26 soluble y de la actividad alfa-L-fucosidásica en suero o plasma puede ofrecer al médico datos objetivos sobre la probabilidad de que un individuo padezca cáncer colorrectal. Dichos resultados pueden ser complementados con los de otras pruebas utilizadas actualmente en clínica en el diagnóstico de cáncer colorrectal, mencionadas en el apartado antecedentes de la invención. El resultado positivo de la prueba descrita en la presente invención puede ser confirmada definitivamente mediante la realización de una colonoscopia.

Descripción de un modo de realización

El procedimiento que proponemos comienza con la obtención del suero o del plasma de individuos asintomáticos, que formen parte de una población de riesgo medio, por ejemplo personas con más de 50 años y sin antecedentes familiares de la enfermedad. La obtención de la muestra para la realización de esta prueba es sencilla y comúnmente aceptada por la sociedad, de modo que puede ser incluida en cualquier revisión médica rutinaria, bien dentro de las llevadas a cabo periódicamente por las empresas o bien realizada a título individual.

El suero o plasma debe ser conservado a temperaturas inferiores a -20°C hasta la determinación de los valores de las moléculas ya mencionadas.

La concentración micromolar de la glicoproteína CD26 soluble se determina mediante un

test inmunológico específico, que consiste en la cuantificación espectrofotométrica de los niveles de CD26 soluble mediante su unión a un anticuerpo monoclonal específico, y el acoplamiento a una reacción enzimática asociada utilizando un segundo anticuerpo específico.

La actividad hidrolítica de la enzima alfa-L-fucosidasa se determina incubando a 37°C el suero con un sustrato específico para la enzima. Una vez realizada la incubación la reacción se detiene mediante un incremento del pH y una disminución de la temperatura. El producto final de la reacción se cuantifica espectrofluorimétricamente y la actividad catalítica de la enzima se calcula en función del producto liberado.

Los valores obtenidos para ambas glicoproteínas en el suero o plasma de un individuo determinado son comparados con unos puntos de corte preestablecidos, que determinan la probabilidad de padecer cáncer colorrectal.

Ambas pruebas ofrecen unos elevados niveles de sensibilidad y especificidad incluso en la detección de los estadios más tempranos del cáncer colorrectal, especialmente cuando son utilizadas conjuntamente, y suministran al médico datos objetivos acerca de la probabilidad que tiene un individuo asintomático de padecer la enfermedad.

La importancia fundamental de la detección precoz mediante estas pruebas es evitar la pérdida de vidas humanas, ya que un paciente detectado

en un estadio temprano tiene una probabilidad de sobrevivir superior al 90 %, mientras que si la enfermedad se detecta en estado avanzado el paciente tiene una probabilidad de supervivencia no superior al 5 %.

Además, su reducido coste económico y la facilidad de obtención de la muestra permiten ahorrar dinero y sufrimientos innecesarios a la persona que desee someterse a este procedimiento de detección precoz, de modo que la traumática y costosa prueba de la colonoscopia pueda quedar reducida sólo a los casos en los que el análisis llevado a cabo en suero o plasma de un resultado positivo.

El propio incremento en la detección de casos de cáncer colorrectal en estadios tempranos permitiría reducir el gasto sanitario gracias a la pronta recuperación del paciente, evitando el gasto diario de un paciente ingresado y de largos y costosos tratamientos oncológicos.

Finalmente, la incorporación de este procedimiento analítico a la revisiones médicas rutinarias llevadas a cabo por empresas permitiría reducir costes en las mismas, al evitar prolongadas bajas laborales.

Es independiente del objeto de la invención el origen de los reactivos y materiales utilizados para la realización de las técnicas que permiten obtener los valores de CD26 soluble y de la enzima alfa-L-fucosidasa en suero o plasma humano.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la detección precoz de cáncer colorrectal mediante la valoración en suero o plasma humano de las glicoproteínas CD26 soluble y alfa-L-fucosidasa.

2. Procedimiento para la detección precoz de cáncer colorrectal, según la reivindicación anterior, que consiste en la determinación de la concentración de la glicoproteína CD26 soluble en suero o plasma humano, mediante un análisis inmunológico específico, y la comparación del valor obtenido con un punto de corte preestablecido que determina la probabilidad de padecer cáncer colorrectal.

3. Procedimiento para la detección precoz de cáncer colorrectal, según la reivindicación 1, que consiste en la determinación de la actividad hi-

drolítica de la enzima alfa-L-fucosidasa en suero o plasma humano, mediante un método espectrofluorimétrico, y la comparación del valor obtenido con un punto de corte preestablecido que determina la probabilidad de padecer cáncer colorrectal.

4. Procedimiento para la detección precoz de cáncer colorrectal, según las reivindicaciones anteriores, que consiste en la utilización combinada de la determinación de la concentración de la glicoproteína CD26 soluble y de la actividad hidrolítica de la enzima alfa-L-fucosidasa, en suero o plasma humano, mediante un análisis inmunológico específico y un método espectrofluorimétrico, respectivamente, y la comparación de los valores obtenidos con unos puntos de corte preestablecidos que determinan la probabilidad de padecer cáncer colorrectal.



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA

- ⑪ ES 2 187 383
⑫ N.º solicitud: 200102631
⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 27.11.2001
⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑮ Int. Cl.⁷: G01N 33/574, C12Q 1/34, 1/37

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	MARIA R. LAGOA. Dos nuevos marcadores detectan el tumor colorectal en fase precoz. Diariomédico. 31.06.2001.	1-4
Y	AYUDE D. et al. Value of the serum alpha-L-fucosidase activity in the diagnosis of colorectal cancer. Oncology. Nov. 2000. Vol. 59 (4). Páginas 310-316.	1-4
Y	CORDERO O.J. et al. Preoperative serum CD26 levels: diagnostic efficiency and predictive value for colorectal cancer. Br. J. Cancer. Nov. 2000. Vol. 83 (9). Páginas 1139-1146.	1-4

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe 28.04.2003	Examinador J. Manso Tomico	Página 1/1
--	-------------------------------	---------------