



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 311 366**

⑫ Número de solicitud: 200602243

⑬ Int. Cl.:
G01N 33/53 (2006.01)

⑭

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑮ Fecha de presentación: **23.08.2006**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **01.02.2009**

⑰ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
01.02.2009

⑱ Solicitante/s: **Universidad de Vigo
Campus Universitario (Rectorado)
36310 Vigo, Pontevedra, ES**

⑲ Inventor/es: **Páez de la Cadena Tortosa, María;
Lemos González, Yohanna;
Cordero Santamaría, Óscar Javier y
Rodríguez Berrocal, Francisco Javier**

⑳ Agente: **No consta**

㉑ Título: **Procedimiento para el diagnóstico de cáncer de pulmón no microcítico mediante la valoración en suero humano del receptor del factor de crecimiento epidérmico y de su ligando específico, el factor de crecimiento epidérmico.**

㉒ Resumen:

Procedimiento para el diagnóstico de cáncer de pulmón no microcítico mediante la valoración en suero humano del receptor del factor de crecimiento epidérmico y de su ligando específico, el factor de crecimiento epidérmico.

La invención consiste en un nuevo procedimiento que permite diagnosticar el cáncer de pulmón no microcítico. Consiste en determinar en suero humano los niveles del receptor del factor de crecimiento epidérmico en su forma soluble (sEGFR) y de su ligando específico, el factor de crecimiento epidérmico (EGF). Una vez obtenidos los valores de concentración de ambas moléculas en el suero de un individuo determinado se comparan con puntos de corte, establecidos previamente, que determinan la probabilidad de padecer cáncer de pulmón no microcítico.

Este procedimiento para detectar el cáncer de pulmón no microcítico se basa en una técnica rápida, sencilla, fiable y económica.

ES 2 311 366 A1

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para el diagnóstico de cáncer de pulmón no microcítico mediante la valoración en suero humano del receptor del factor de crecimiento epidérmico y de su ligando específico, el factor de crecimiento epidérmico.

La presente invención se refiere al desarrollo y puesta a punto de un procedimiento utilizable en el diagnóstico del cáncer de pulmón no microcítico o de células no pequeñas. Este procedimiento se basa en una técnica sencilla, rápida, fiable y económica que consiste en la determinación, en suero humano, de los valores de concentración del receptor del factor de crecimiento epidérmico en su forma soluble (sEGFR) y de uno de sus ligandos específicos, el factor de crecimiento epidérmico (EGF). La aplicación en el ámbito clínico-sanitario de este procedimiento constituye una interesante herramienta de cribado que permitirá preseleccionar a los pacientes evitando someterles directamente a pruebas diagnósticas más invasivas y mucho más costosas.

La invención descrita aquí se ha realizado en el curso del trabajo de investigación financiado por el proyecto PGIDIT05PXIB31002PR, concedido por la Xunta de Galicia.

Sector de la técnica

El sector de la técnica al que se refiere la invención se incluye, en general, dentro del ámbito biomédico, y más concretamente en el área de la oncología médica.

En la actualidad, se puede afirmar que la mejor arma para luchar contra el cáncer es el diagnóstico certero de la enfermedad. Según la Sociedad Americana contra el Cáncer, un tercio de las muertes debidas al cáncer podrían ser evitadas efectuando un diagnóstico preciso y temprano de la patología (American Cancer Society, 2004). En este sentido, la búsqueda de marcadores que permitan detectar la aparición de la enfermedad es una de las prioridades dentro del ámbito científico oncológico. Pese a ello, el cáncer de pulmón continúa siendo un problema sanitario de gran importancia y una de las principales causas de muerte, especialmente en los países occidentales.

La utilización de esta prueba para el diagnóstico del cáncer de pulmón no microcítico supone una importante mejora dado que hasta la fecha no se ha descrito ninguna molécula en cáncer de pulmón que actúe como marcador tumoral en suero, y que pueda usarse rutinariamente en clínica para preseleccionar a los pacientes de este tipo de cáncer, o que permita llevar a cabo un diagnóstico de certeza o de extensión de esta patología.

Antecedentes de la invención

El cáncer de pulmón es actualmente el cáncer más común en el mundo (Parkin *et al*, 2001), representando la primera causa de muerte por cáncer en hombres y mujeres en países desarrollados (American Cancer Society, 2004). La suma de los casos diagnosticados anualmente en los EE.UU. y en la UE asciende a cerca de 300.000 (Cancer Research Campaign, 1992). Además, el cáncer de pulmón es la causa de 1.000.000 de fallecimientos anuales en todo el mundo (Parkin y Sasco, 1993) y representa el 28% de todas las muertes a causa del cáncer (American Cancer Society, 2004). En España se ha estimado que, de cada 100.000 habitantes, 54 mueren anualmente a causa de un cáncer pulmonar (American Cancer Society, 2004).

Desde el punto de vista clínico, diagnóstico, de estadificación y terapéutico, se clasifica en dos tipos: carcinoma pulmonar microcítico o indiferenciado de células pequeñas (CPCP) y carcinoma pulmonar no microcítico o de células no pequeñas (CPCNP). En la actualidad el 80-85% de todos los cánceres de pulmón son CPCNP y, de éstos, aproximadamente el 30-35% son adenocarcinomas, otro 30% epidermoides y un 20% indiferenciados de células grandes. Se caracterizan por afectar fundamentalmente a los varones, a pesar de que en los últimos años la incidencia está aumentando de forma muy significativa entre las mujeres. El factor etiológico más importante es el consumo de tabaco y la inhalación de otros carcinógenos químicos.

Lamentablemente, en la actualidad no existen pruebas bioquímicas que se puedan realizar en suero o plasma y que sean útiles para llevar a cabo el diagnóstico de este tipo de cáncer. 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, como el examen físico, la radiografía y/o tomografía axial computarizada (TAC) de tórax, la citología del esputo, la fibrobroncoscopia y la punción aspiración de aguja fina. Por tanto, la determinación definitiva de la existencia o no del cáncer sólo puede ser establecida mediante biopsia y su posterior estudio histológico para confirmar la naturaleza de la misma. Todas estas técnicas diagnósticas citadas son caras, engorrosas, altamente invasivas y a menudo traumáticas para el paciente. Otros métodos que ayudan en el diagnóstico de extensión de este carcinoma son la ecografía abdominal, la gammagrafía ósea, la mediastinoscopia y las técnicas radiológicas de imagen como el TAC abdominal, la resonancia nuclear magnética (RNM) craneal y la tomografía por emisión de positrones (PET), todos ellos costosos y difíciles de asimilar por la mayor parte de la sociedad. Por ello, uno de los principales objetivos de la investigación oncológica actual es la búsqueda de moléculas, de sencilla valoración, que permitan identificar "a priori" a los pacientes de cáncer no microcítico de pulmón que serán sometidos a biopsia, y evitar así la aplicación generalizada de pruebas más invasivas y costosas. Sin embargo, hasta la fecha no se ha descrito ninguna molécula en cáncer de pulmón que se ajuste estrictamente a la definición de marcador tumoral, y que pueda usarse rutinariamente en clínica para llevar a cabo un diagnóstico de certeza o de extensión de esta patología.

Los inventores del procedimiento objeto de esta patente hemos demostrado, a lo largo de nuestros trabajos de investigación, que en pacientes de cáncer de pulmón no microcítico existe una relación directa entre la presencia del tumor y la alteración en la concentración sérica de diversas proteínas de la familia del EGFR y, en particular, en los niveles de sEGFR y de EGF.

El EGFR es una glicoproteína de membrana de 170 kDa con actividad tirosín quinasa y que presenta tres regiones bien definidas: una porción extracelular destinada a la unión del ligando y rica en residuos de cisteína, que puede ser liberada a la circulación sanguínea y que constituye la forma soluble del receptor o sEGFR, un dominio transmembrana de anclaje y una región intracelular con actividad tirosín quinasa. La unión de alguno de los ligandos del receptor al dominio extracelular del mismo promueve la activación de su ruta de señalización que está directamente implicada en el control del ciclo celular.

Una segunda molécula que también hemos demostrado que se halla alterada en pacientes de cáncer de pulmón no microcítico es el EGF, que es un pequeño polipéptido de 53 aminoácidos que se une específicamente al EGFR. La unión del EGF al receptor promueve su fosforilación, el aumento de la actividad tirosín quinasa y la activación de una cascada intracelular de señales bioquímicas que en último término llegan al núcleo induciendo procesos como la proliferación, la migración y la evasión de la apoptosis.

La alteración de los niveles de sEGFR y de EGF, detectada por los inventores del procedimiento, en suero de pacientes de cáncer de pulmón no microcítico convierten a estas moléculas en potenciales marcadores de la presencia de un cáncer no microcítico de pulmón.

Explicación de la invención

La presente invención corresponde al desarrollo de un procedimiento para diagnosticar y detectar la existencia de cáncer de pulmón no microcítico en personas sintomáticas que desconozcan que padecen esta patología.

Este procedimiento consiste en la determinación de los niveles de la forma soluble del EGFR y de su ligando EGF en suero humano. De esta forma, la realización de la prueba no causaría más molestias al individuo que las de una extracción de sangre habitual. Además, se evitaría la aplicación generalizada de pruebas clínicas altamente invasivas y muy caras, restringiéndose su empleo a los casos en los que el resultado de la valoración de sEGFR y EGF fuera positivo.

La determinación de los niveles de EGFR soluble y de EGF se lleva a cabo mediante ensayos inmunoenzimáticos específicos siguiendo la técnica del ELISA tipo sándwich. Los valores de concentración sérica obtenidos en cada individuo analizado se comparan con un punto de corte, establecido a partir de la valoración de estas moléculas en el suero de individuos sanos. La presencia de niveles de sEGFR y/o de EGF por debajo del punto de corte establecido para cada molécula indican que el individuo es un potencial paciente de cáncer de pulmón no microcítico y, por tanto, resulta aconsejable la realización de alguna prueba más invasiva, como la biopsia de tejido pulmonar, que confirme el diagnóstico.

Los inventores del procedimiento objeto de esta patente hemos demostrado que la concentración de sEGFR disminuye significativamente en el suero de pacientes con cáncer de pulmón no microcítico. Esta disminución se produce en 60 de cada 100 pacientes (sensibilidad 60%), con una especificidad del 98%, lo que indica que sólo un 2% de los individuos realmente sanos serían sometidos a pruebas diagnósticas adicionales al ser clasificados como falsos positivos.

Por otra parte, en el caso del EGF se ha comprobado que en 72 de cada 100 pacientes se produce una disminución significativa de los niveles séricos de esta molécula (sensibilidad 72%), con una especificidad del 98%.

Adicionalmente, cuando se consideran de forma conjunta los niveles séricos de estas dos moléculas y se emplean como un marcador combinado los resultados obtenidos son incluso mejores, ya que la sensibilidad de la prueba alcanza el 88%, mientras que la especificidad se mantiene en un 98%.

Dado que ambas pruebas ofrecen unos elevados niveles de sensibilidad y especificidad, especialmente cuando son utilizadas conjuntamente, la determinación de los niveles de sEGFR y de EGF en suero puede ofrecer al médico datos objetivos sobre la probabilidad de que un individuo presente un cáncer de pulmón no microcítico. Dichos resultados pueden ser complementados con los de otras pruebas utilizadas actualmente en clínica en el diagnóstico de cáncer de pulmón no microcítico, mencionadas en el apartado antecedentes de la invención. El resultado positivo de la prueba descrita en la presente invención puede ser confirmado definitivamente mediante la realización de una biopsia.

La importancia fundamental del diagnóstico mediante estas sencillas pruebas es evitar la pérdida de vidas humanas, ya que actualmente el único tratamiento que puede producir la curación de esta entidad es la cirugía, y ésta solo puede llevarse a cabo en estadios resecables cuando el paciente presenta enfermedad localizada. En este sentido cabe destacar que la supervivencia a cinco años en el total de enfermos de cáncer no microcítico de pulmón es menor del 15% (American Thoracic Society, 1998; Fernández Fau *et al*, 1998; Willcox *et al*, 1990; American Cancer Society, 2004). Este pequeño porcentaje se debe principalmente a la incapacidad para realizar un diagnóstico rápido que permita detectar la enfermedad cuando aún no está extendida y el tratamiento puede resultar efectivo.

Además, el incremento en la detección de casos de cáncer de pulmón no microcítico en estadios tempranos ayuda a reducir el gasto sanitario al permitir preseleccionar a los potenciales pacientes y evitar así la aplicación generalizada y masiva de pruebas muy costosas y traumáticas. Además, la mejora en el diagnóstico de la enfermedad se relaciona con una mejor supervivencia de los pacientes por lo que también contribuiría a reducir el costo sanitario gracias a la pronta recuperación del paciente, evitando el gasto diario de un paciente ingresado y de largos y costosos tratamientos oncológicos.

Por otro lado, el reducido coste económico de este procedimiento y la facilidad de obtención de las muestras permiten ahorrar dinero y sufrimientos innecesarios a la persona que desee someterse a este procedimiento de diagnóstico, de modo que la prueba de la biopsia pueda quedar reducida sólo a los casos en los que el análisis llevado a cabo en suero dé un resultado positivo.

Descripción de un modo de realización

El procedimiento que proponemos comienza con la extracción de sangre de individuos de los que se sospeche que pueden padecer cáncer de pulmón no microcítico. 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.

Para la obtención del suero se permite la coagulación de la sangre a 20°C y posteriormente se centrifuga a 2,000 g durante 15 minutos. El suero resultante debe ser conservado a -85°C hasta la determinación de los valores de concentración del sEGFR y del EGF, conservándose a partir de ese momento a -25°C.

La determinación de los niveles séricos de sEGFR, EGF, TGF- α y AR se realizó mediante la técnica inmunoenzimática del ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*). La reproducibilidad de cada uno de los kits comerciales empleados en este trabajo fue calculada y comparada con los valores proporcionados por el fabricante.

Para la valoración de los niveles séricos del receptor del factor de crecimiento epidérmico se empleó un pack comercial, que contiene los componentes básicos requeridos para el desarrollo de un ELISA tipo sándwich. El pack proporciona dos anticuerpos de cabra anti-sEGFR, uno de captura, (AcC) y otro conjugado con biotina, de detección (AcD), un vial de sEGFR humano recombinante (80 ng/mL) que se empleará como patrón, una mezcla de estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano (HRP) para la reacción de color, y un protocolo guía de ELISA con las indicaciones más básicas para el desarrollo de la técnica.

Tras la puesta a punto del método, se valoraron por duplicado los niveles de sEGFR en 50 donantes sanos y 25 pacientes de CPCNP.

Para las determinaciones se emplean placas de poliestireno de 96 pocillos de fondo plano y alta capacidad de unión que se recubren con 100 microlitros (μ L)/pocillo de anticuerpo de captura diluido en PBS (137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 8,1 mM Na₂HPO₄, 1,5 mM KH₂PO₄, pH 7,2-7,4 y filtrado a través de un filtro de nitrocelulosa de 0,20 μ m) a una concentración de 0,8 μ g/mL. Una vez que el anticuerpo está bien adherido a las paredes del pocillo, las placas se bloquean por adición de 300 μ L/pocillo de tampón de bloqueo (1% SAB, 5% sacarosa en PBS) para evitar uniones inespecíficas. A continuación se añaden por duplicado 100 μ L/pocillo de patrones (8 patrones; 0-2000 pg/mL) y muestras (dilución 1/200) en reactivo de dilución (1% SAB en PBS, pH 7,2-7,4 y filtrado 0,2 μ m). Este reactivo también se emplea en el ensayo para preparar un blanco, utilizando igual volumen que en las muestras. El AcC adherido a los pocillos reconoce algún epítipo del EGFR soluble, natural o recombinante, presente en las muestras y en los patrones, respectivamente, y se une a él. Con el objetivo de determinar la cantidad de sEGFR que ha sido retenida en la placa, se añaden sucesivamente: 100 μ L/pocillo del anticuerpo de detección biotinilado y diluido en reactivo de dilución, que va a reconocer y a unir otro epítipo del sEGFR ligado al primer Ac, formando una especie de sándwich, y 100 μ L/pocillo de estreptavidina conjugada con HRP. La estreptavidina-HRP tiene una gran afinidad por la biotina, de modo que se forma un complejo biotina-estreptavidina. La adición a cada pocillo de 100 μ L del sustrato de la HRP, una mezcla 1:1 de H₂O₂ y tetrametilbenzidina, va a dar lugar a una reacción colorimétrica proporcional a la cantidad de HRP y, por tanto, de sEGFR presente en los pocillos. La reacción se para a los 20 minutos con 50 μ L/pocillo de ácido sulfúrico (H₂SO₄, 2N). Excepto en esta última etapa, durante todo el proceso los volúmenes no son acumulativos, sino que entre paso y paso de la técnica, el contenido de la placa se vacía y los pocillos se lavan con tampón de lavado (0,05% Tween[®] 20 en PBS, pH 7,2-7,4), con el fin de eliminar todas aquellas moléculas que no se unen específicamente.

Por último, y para poder cuantificar, tras parar la reacción se determina inmediatamente la densidad óptica de cada pocillo, usando un lector de placas programado a 450 nm y con corrección en la longitud de onda a 570 nm para evitar imperfecciones ópticas de la placa.

Las concentraciones en ng/mL se calculan a partir de la absorbancia media de las muestras, teniendo en cuenta el blanco y usando la ecuación de regresión obtenida al representar las concentraciones conocidas de los patrones frente a sus respectivas absorbancias.

En la población de individuos sanos, utilizada como grupo control, el nivel medio de sEGFR es de 35,9 ng/mL, mientras que en el grupo de pacientes de cáncer no microcítico de pulmón la media es de 25,5 ng/mL. Para verificar

que las diferencias detectadas son suficientes para distinguir “*a priori*” entre individuos sanos y pacientes de cáncer no microcítico de pulmón se calcula un punto de corte. Así, un descenso sérico anormal de estas moléculas se define como cualquier valor inferior al valor medio obtenido en el grupo de donantes sanos menos dos desviaciones estándar. Para cada una de las moléculas bajo estudio, los valores anormales observados son considerados positivos para ese

5 marcador.

En base a esto, el punto de corte calculado para el sEGFR es de 25,5 ng/mL. Así, se detectan niveles séricos anormales de sEGFR en 15 de 25 pacientes de cáncer no microcítico de pulmón (60% de sensibilidad) con un 98% de especificidad (1 donante con niveles bajos de sEGFR). El valor del punto de corte puede sufrir ligeras modificaciones

10 a medida que aumenta el número de muestras analizadas.

Para la valoración de los niveles de EGF en suero se utilizó un kit comercial que proporciona todos los reactivos necesarios, así como un protocolo adecuado para el desarrollo de un inmunoensayo enzimático cuantitativo, tipo

15 sándwich.

El fundamento del método es el mismo que para el sEGFR, con la diferencia de que en este caso las placas de 96 pocillos ya están recubiertas por un anticuerpo monoclonal específico contra el EGF, y que el anticuerpo policlonal que se emplea en la detección está directamente conjugado con la peroxidasa de rábano.

20 Con esta técnica se determinaron los niveles séricos de EGF en 45 donantes sanos y en 25 pacientes de CPCNP.

Las muestras de suero se diluyen veinte veces en el reactivo recomendado, y 200 μ L de 5 patrones distintos (entre 0 y 250 pg/mL) y las muestras son añadidas, por duplicado, a los pocillos. Todo el EGF presente se une al anticuerpo inmovilizado en la placa y, tras una serie de lavados para eliminar otras sustancias, se añaden a cada pocillo 200 μ L de un anticuerpo policlonal específico contra el EGF y ligado a la enzima HRP. Después de varios lavados para eliminar el exceso de anticuerpo, 200 μ L del sustrato de la enzima son añadidos a los pocillos, lo que propicia el desarrollo de color en proporción a la cantidad de EGF unido en el paso inicial. La reacción colorimétrica se detiene con la adición de 50 μ L/pocillo de H_2SO_4 , 2N y se determina la densidad óptica de las muestras mediante lectura dual a 450-570 nm.

30 Las concentraciones finales en pg/mL en las muestras se calculan a partir de los valores medios de absorbancia, teniendo en cuenta el blanco, mediante la ecuación de regresión obtenida al representar la concentración de los patrones frente a sus valores de densidad óptica.

Tras el análisis estadístico de los resultados se demuestra la existencia de un descenso significativo en los niveles de EGF en el suero de pacientes de cáncer no microcítico de pulmón (media=294,3 pg/mL) con respecto al suero de los controles sanos (media=917,4 pg/mL). La disminución media encontrada fue del 68%, superior incluso a la mencionada para el receptor. Se define como positivo para la prueba a cualquier individuo con niveles de EGF dos desviaciones estándar por debajo de la media del grupo control (95% intervalo de confianza). El punto de corte aplicado para el EGF es de 425.6 pg/mL y se comprueba que 18 de 25 pacientes de cáncer no microcítico de pulmón (72% de sensibilidad) y 1 de 45 individuos sanos (97,8% de especificidad) eran positivos para este marcador. Al igual que en el caso del sEGFR, el valor del punto de corte puede sufrir ligeras modificaciones a medida que aumenta el número de muestras analizadas.

45 A pesar de que estas moléculas, el sEGFR y el EGF, de forma individual ya proporcionan unos porcentajes de sensibilidad y especificidad considerables, dichos porcentajes pueden incrementarse con la combinación de ambas moléculas. De hecho, con este procedimiento se comprobó que tras la combinación de los niveles séricos de sEGFR y de EGF, se alcanza una sensibilidad del 88% con una especificidad del 98%.

Dada la ausencia de marcadores que ayuden en la detección del cáncer no microcítico de pulmón, el empleo de este procedimiento puede resultar de gran utilidad a la hora de preseleccionar a individuos candidatos a presentar una neoplasia pulmonar.

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Procedimiento para el diagnóstico de cáncer de pulmón no microcítico mediante la determinación, por la técnica del ELISA tipo sándwich, de los niveles en suero humano del EGFR soluble y del EGF, y la posterior comparación de dichos niveles con los valores de referencia obtenidos tras la valoración de estas moléculas en la población sana.

10 2. Procedimiento para el diagnóstico de cáncer de pulmón no microcítico, según la reivindicación anterior, que consiste en la valoración inmunoenzimática, mediante el empleo de anticuerpos específicos, de los niveles séricos de sEGFR y EGF, y la posterior comparación de los valores obtenidos con los puntos de corte preestablecidos, calculados a partir de los niveles encontrados en la población sana. La presencia de niveles de sEGFR y/o de EGF por debajo del punto de corte establecido para cada molécula indica que el individuo tiene una elevada probabilidad de presentar un cáncer de pulmón no microcítico.

15 3. Procedimiento para el diagnóstico de cáncer de pulmón no microcítico, según la reivindicación 1, que consiste en la determinación inmunoenzimática, mediante el empleo de anticuerpos específicos, de la concentración del EGFR soluble en suero humano, y la posterior comparación de los valores obtenidos con el punto de corte preestablecido y calculado a partir de los niveles encontrados en la población sana. La presencia de niveles de sEGFR por debajo del punto de corte indica que el individuo tiene una elevada probabilidad de presentar un cáncer de pulmón no microcítico.

20 4. Procedimiento para el diagnóstico de cáncer de pulmón no microcítico, según la reivindicación 1, que consiste en la determinación inmunoenzimática, mediante el empleo de anticuerpos específicos, de la concentración del EGF en suero humano, y la posterior comparación de los valores obtenidos con el punto de corte preestablecido y calculado a partir de los niveles encontrados en la población sana. La presencia de niveles de EGF por debajo del punto de corte indica que el individuo tiene una elevada probabilidad de presentar un cáncer de pulmón no microcítico.

30

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 311 366

⑫ Nº de solicitud: 200602243

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 23.08.2006

⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.: G01N 33/53 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	CARNEY W et al. "Normal levels of serum EGFR and decreases in several cancers". Proceedings AACR. 2002, Vol 43, abstract#240.	1-4
X	BARON AT et al. "Serum sErbB1 and epidermal growth factor levels as tumor biomarkers in women with stage III or IV epithelial ovarian cancer". Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. 1999, Vol 8(2), pp: 129-137, todo el documento.	1-4
X	BARON AT et al. "Soluble epidermal growth factor receptor (sEGFR/ sErbB1) as a potencial risk screening and diagnostic serum biomarker of epithelial ovarian cancer". Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. 2003, Vol 12(2), pp: 103-113, todo el documento.	1-4
A	SWINSON DEB et al. "Coexpression of epidermal growth factor receptor with related factors is associated with poor prognosis in non small cell lung cancer". British Journal of Cancer. Octubre 2004. Vol 91(7), pp: 1301-1307, todo el documento.	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 nº:

Fecha de realización del informe

19.01.2009

Examinador

Mª D. García Grávalos

Página

1/1