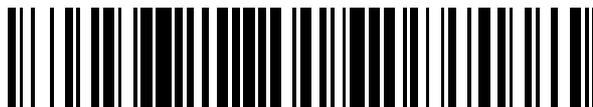


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 352 289**

21 Número de solicitud: 200900942

51 Int. Cl.:  
**G01N 33/574** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación: **07.04.2009**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **17.02.2011**

Fecha de la concesión: **23.11.2011**

45 Fecha de anuncio de la concesión: **05.12.2011**

45 Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**05.12.2011**

73 Titular/es:  
**UNIVERSIDAD DE VIGO  
CAMPUS UNIVERSITARIO LAGOAS -  
MARCOSENDE  
36310 VIGO, PONTEVEDRA, ES**

72 Inventor/es:  
**RODRIGUEZ BERROCAL, FRANCISCO JAVIER;  
RODRIGUEZ PIÑEIRO, ANA MARIA;  
AYUDE VAZQUEZ, DANIEL;  
CHAIARA, LORETTA DE;  
CORDERO SANTAMARIA, OSCAR y  
PAEZ DE LA CADENA, MARIA**

74 Agente: **No consta**

54 Título: **PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR EL SEGUIMIENTO POSTOPERATORIO DE PACIENTES  
CON CÁNCER COLORRECTAL MEDIANTE LA VALORACIÓN EN SUERO O PLASMA  
HUMANO DE LA GLICOPROTEÍNA SOLUBLE CD26.**

57 Resumen:

La invención constituye un nuevo procedimiento para realizar el seguimiento postoperatorio de pacientes con cáncer colorrectal por medio de la valoración del sCD26 en muestras de sueros o plasma preoperatorio y postoperatorio. Los valores de sCD26 son comparados con un punto de corte preestablecido y con los niveles obtenidos en los anteriores controles. El perfil de sCD26 durante el seguimiento permite determinar el estatus del tumor y detectar con antelación la presencia de una recidiva tumoral, una metástasis a distancia, o si el paciente se encuentra libre de enfermedad. Este procedimiento consiste en una técnica rápida y económica que con facilidad se puede incorporar a las revisiones oncológicas.

ES 2 352 289 B1

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para realizar el seguimiento postoperatorio de pacientes con cáncer colorrectal mediante la valoración en suero o plasma humano de la glicoproteína soluble CD26.

5 La presente invención se refiere al desarrollo de un procedimiento para realizar el seguimiento postoperatorio de pacientes diagnosticados de cáncer colorrectal. El método consiste en la valoración en suero o plasma humano de la concentración del CD26 soluble (sCD26) mediante una técnica sencilla, rápida y fiable.

10 La aplicación de este procedimiento en el ámbito clínico-sanitario supone una herramienta de gran utilidad para el seguimiento postoperatorio de estos pacientes, con la finalidad de detectar precozmente aquellos individuos que presenten recidiva tumoral o metástasis después de la intervención quirúrgica con intención curativa. Asimismo, este método permite monitorizar la respuesta del paciente al tratamiento para orientar al clínico acerca de su efectividad.

15

### Sector de la técnica

20 El sector de la técnica al que se refiere la invención se incluye dentro del ámbito sanitario, específicamente al área de oncología clínica.

### Antecedentes de la invención

25 En el momento del diagnóstico del cáncer colorrectal, entre un 70-80% de los pacientes presentan el tumor confinado en el órgano o en ganglios linfáticos regionales, siendo posible la resección curativa. Pese a ello, a un 20-50% de estos pacientes le será diagnosticada una recidiva tumoral o una metástasis a distancia, presentándose en el 90% de los casos durante los primeros 5 años (Manfredi *et al.*, 2006; Zak *et al.*, 2008).

30 Las recidivas generalmente se presentan en pacientes que inicialmente mostraban un tumor en estadio B de Dukes o en pacientes con metástasis en nódulos linfáticos (Dukes C), debido a micrometástasis regionales o sistémicas no detectadas en el diagnóstico (Platell, 2007). Como consecuencia del retraso en el diagnóstico de la recurrencia tumoral, apenas un 30% de los pacientes son aptos para posteriores cirugías.

35 Por lo tanto, para mejorar los índices de supervivencia sería necesario realizar un seguimiento del paciente durante el tratamiento para determinar la aparición de recidiva tumoral o de metástasis.

40 Actualmente, las pruebas de seguimiento para pacientes operados de cáncer colorrectal pueden dividirse en pruebas de laboratorio y pruebas diagnósticas invasivas, e incluyen visitas periódicas al especialista, pruebas de marcadores tumorales, enzimas del hígado, prueba de sangre oculta en heces, estudios diagnósticos de imagen (radiografía del tórax, tomografía, resonancia magnética), y procedimientos endoscópicos (sigmoidoscopia y colonoscopia). En lo que respecta a los marcadores tumorales, estos son valorados rutinariamente en clínica y comúnmente son empleados como herramienta de monitorización del curso de la enfermedad y de la efectividad del tratamiento.

45 El marcador tumoral más usado para el seguimiento del cáncer colorrectal es el antígeno carcinoembrionario (CEA), que ha sido propuesto como coste-efectivo (Goldstein & Mitchell, 2005) a pesar de que apenas un tercio de los pacientes con recurrencia presentan niveles séricos elevados, con una tasa de falsos positivos entre 16-33%, aunque también es cierto que su sensibilidad aumenta en presencia de metástasis a distancia, especialmente en el hígado (McArdle & Hole, 2000). Pese a su baja sensibilidad y especificidad, actualmente el CEA es el único marcador tumoral recomendado por las principales sociedades oncológicas para el seguimiento postoperatorio de los pacientes con cáncer colorrectal.

50 Otros marcadores tumorales también utilizados en clínica, aunque no son recomendados, son el antígeno carbohidrato 19.9 (CA 19.9) y el antígeno carbohidrato 72.4 (CA 72.4). El primero de ellos resulta menos útil que el CEA ya que presenta una sensibilidad menor, aunque su especificidad es ligeramente mayor. En cuanto al CA 72.4, su utilidad también es cuestionable y siempre debe estar acompañada su valoración con la del CEA.

55 Anteriormente algunos de los inventores del procedimiento demostraron la utilidad del sCD26 como herramienta para la detección precoz del cáncer colorrectal en vista del 90% de sensibilidad y especificidad para separar enfermos de sanos (Cordero *et al.*, 2000; Patente P200102631). Sin embargo, estudios de investigación posteriores han demostrado que el sCD26 también resulta una herramienta de utilidad para la vigilancia postoperatoria de los pacientes ya diagnosticados de cáncer colorrectal.

60 El sCD26 es una glicoproteína de membrana que también se presenta en forma soluble en el suero. Tiene actividad DPPIV y sus funciones están relacionadas con la regulación de respuestas inflamatorias e inmunológicas, la transducción de señales y la apoptosis.

65

Hemos demostrado que los niveles séricos de sCD26, medidos durante el seguimiento postoperatorio de pacientes diagnosticados y tratados de cáncer colorrectal, reflejan el cambio en el estatus del tumor. Las variaciones en los niveles de sCD26 relacionadas con el estado del tumor y detectadas por los inventores del procedimiento, convierten a esta molécula como un potencial marcador de seguimiento de la evolución de la enfermedad.

El objeto de la presente invención es por lo tanto definir el procedimiento que permite realizar un seguimiento postoperatorio y determinar la evolución de pacientes diagnosticados de cáncer colorrectal mediante la valoración sérica del sCD26.

### Explicación de la invención

La presente invención corresponde al desarrollo de un procedimiento para realizar el seguimiento postoperatorio de pacientes de cáncer colorrectal y determinar su evolución, que ayudará y orientará al clínico acerca de la respuesta al tratamiento, la presencia de recidiva o enfermedad metastásica, y la presencia de nuevos tumores primarios.

El procedimiento consiste en la determinación de los niveles de la glicoproteína sCD26 en suero o plasma humano antes de la resección quirúrgica y durante el seguimiento postoperatorio. La determinación de los niveles séricos de sCD26 se lleva a cabo mediante un inmunoensayo específico para CD26 soluble humano. Por lo tanto, la realización de esta prueba tan solo implica la extracción de una muestra de sangre durante cada revisión.

Durante el seguimiento postoperatorio de los pacientes tratados de cáncer colorrectal los inventores del procedimiento objeto de esta patente hemos demostrado que los perfiles de sCD26 son distintos en pacientes libres de enfermedad, con recidiva o con metástasis a distancia. Los pacientes libres de enfermedad presentan a lo largo del seguimiento niveles de sCD26 superiores a los detectados antes de la intervención quirúrgica (por encima de 460 ng/mL), mientras que en aquellos que sufren una recidiva los niveles de sCD26 aumentan hasta 750-950 ng/mL seguidos de al menos un súbito y pronunciado descenso. En caso de la aparición de metástasis pulmonar o hepática, los niveles de sCD26 aumentan con respecto al valor preoperatorio, alcanzando concentraciones cercanas o superiores a 1.000 ng/mL. Estos cambios en los niveles de sCD26 se detectan con anterioridad a cualquier síntoma que indique cambios en la evolución del paciente.

De acuerdo con lo anterior, la información obtenida con la valoración de los niveles de sCD26 permite determinar el estado de cada paciente y adelantar el diagnóstico de una enfermedad recurrente o metástasis, lo que conllevaría a una mayor tasa de curación tras una segunda cirugía o tratamiento, aumentando así la supervivencia del paciente. La mejora de la supervivencia contribuiría a reducir los gastos sanitarios, agilizando su recuperación. Además, el reducido coste económico de este procedimiento junto con su fácil realización avalan su viabilidad.

### Descripción de un modo de realización

El procedimiento que proponemos comienza con la obtención del suero o del plasma de pacientes diagnosticados de cáncer colorrectal. Después de la resección curativa del tumor y durante el seguimiento postoperatorio se realizan controles de la evolución del paciente trimestralmente durante los primeros 3 años, y semestral o anualmente durante los siguientes dos años, obteniéndose en cada visita al especialista una muestra de suero o plasma.

El suero o plasma debe conservarse a temperaturas inferiores a -20°C hasta la valoración de la concentración del sCD26. Dicha concentración se determina mediante un inmunoensayo específico que consiste en la cuantificación espectrofotométrica de los niveles de sCD26 mediante su unión a un anticuerpo monoclonal específico, y el acoplamiento a una reacción enzimática asociada empleando un anticuerpo secundario específico. La concentración de cada muestra se determina mediante una recta patrón con sCD26 de concentración conocida.

La concentración de sCD26 obtenida en cada revisión médica es comparada con el punto de corte preestablecido de 460 ng/mL y con las concentraciones obtenidas en los anteriores controles médicos. El perfil de las valoraciones sucesivas de sCD26 durante el seguimiento permite orientar al clínico acerca de la evolución del paciente.

Los niveles de sCD26 a lo largo del seguimiento se comportan de modo diferente según la evolución del paciente:

a) Antes de la resección del tumor la mayoría de los pacientes presentan niveles preoperatorios de sCD26 por debajo de 460 ng/mL.

b) En pacientes libres de enfermedad, los niveles séricos postoperatorios de sCD26 permanecen por encima de 460 ng/mL, nunca cercanos a 1.000 ng/mL.

c) En los pacientes en que aparece recidiva del tumor, los niveles de sCD26 aumentan a concentraciones cercanas a 750-950 ng/mL e inmediatamente después disminuyen bruscamente hasta alcanzar valores comprendidos entre 300-550 ng/mL, adelantándose al diagnóstico de la enfermedad recurrente.

d) En los pacientes en que aparece metástasis hepática o pulmonar, los niveles de sCD26 aumentan y se mantienen en concentraciones muy elevadas por encima de 800-1.000 ng/mL, nuevamente adelantándose al diagnóstico de la enfermedad metastásica.

5 La incorporación de este procedimiento analítico a las revisiones médicas rutinarias durante la vigilancia postoperatoria es viable dado su sencillez y su reducido coste económico.

10 Es independiente del objeto de invención el origen de los reactivos y materiales utilizados para la realización de las técnicas que permiten obtener los valores de concentración del sCD26 en suero o plasma humano.

### Bibliografía

15 - **Cordero OJ, Ayude D, Nogueira M, Rodríguez-Berrocal FJ, Páez de la Cadena, M.** Preoperative serum CD26 levels: diagnostic efficiency and predictive value for colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000; 83:1139-46.

20 - **Goldstein MJ & Mitchell EP.** Carcinoembryonic antigen in the staging and follow-up of patients with colorectal cancer. *Cancer Invest* 2005; 23: 338-51.

- **Manfredi S, Bouvier AM, Lepage C, Hatem C, Dancourt V, Faivre J.** Incidence and patterns of recurrence after resection for cure of colonic cancer in a well defined population. *Br J Surg* 2006; 93: 1115-22.

25 - **McArdle CS & Hole DJ.** Outcome following surgery for colorectal cancer. *Brit Med Bull* 2002; 64: 119-25.

- Inventores de patente (p.o. de firma): **Rodríguez Berrocal, F.J; Páez de la Cadena, M; Ayude, D; Cordero, O; Camacho, T.** 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. N. de solicitud: P200102631. País de prioridad: España. Fecha de prioridad: Noviembre 2001.

30 - **Platell CFE.** Changing patterns of recurrence after treatment for colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 1223-31.

35 - **Zak Y, Moore HG, Ghosh BC.** Patterns of recurrence of colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2008; 97: 1-2.

40

45

50

55

60

65

**REIVINDICACIONES**

5 1. Procedimiento para realizar el seguimiento postoperatorio de pacientes con cáncer colorrectal mediante la valoración de la glicoproteína sCD26 en suero o plasma humano recogido antes y durante la vigilancia postoperatoria. El seguimiento a realizar comprende los siguientes aspectos:

10 a) Obtener muestras de 3 mL de suero o plasma del paciente en el momento antes de la intervención quirúrgica (suero preoperatorio) y cada 3 meses durante los primeros 3 años después de la resección del tumor y cada 6 meses durante los siguientes 2 años (sueros postoperatorios).

b) Determinar la concentración sérica de sCD26 mediante un inmunoensayo específico mediante la técnica Elisa tipo sándwich.

15 c) Comparar la concentración de sCD26 obtenida en cada revisión médica con las concentraciones obtenidas en los anteriores controles médicos.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 200900942

②② Fecha de presentación de la solicitud: 07.04.2009

③② Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N33/574** (01.01.2006)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	DE LA HABA-RODRIGUEZ J. et al. Soluble dipeptidyl peptidase IV (CD-26) in serum of patients with colorectal carcinoma. Neoplasma. 2002, Vol. 49, Nº 5, páginas 307-311, todo el documento.	1
X	CORDERO O. J. et al. How the measurements of a few serum markers can be combined to enhance their clinical values in the management of cancer. Anticancer Research. 2008, Vol. 28, páginas 2333-2342, todo el documento.	1
X	CORDERO O.J. et al. Preoperative serum CD26 levels: diagnostic efficiency and predictive value for colorectal cancer. British Journal of Cancer. 2000, Vol. 83, Nº 9, páginas 1139-1146, todo el documento.	1
A	PRO A. et al. CD26/dipeptidyl peptidase IV and its role in cancer. Histology and Histopathology. 2004, Vol. 19, páginas 1345-1351, todo el documento.	1
A	ES 2187383 A1 (UNIVERSIDAD DE VIGO) 01.06.2003, todo el documento.	1

#### 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  
31.01.2011

Examinador  
M. Cumbreño Galindo

Página  
1/5

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, MEDLINE, NPL, EMBASE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 31.01.2011

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	DE LA HABA-RODRIGUEZ J. et al. Neoplasma. Vol. 49, Nº 5, páginas 307-311.	2002
D02	CORDERO O. J. et al. Anticancer Research. Vol. 28, páginas 2333-2342.	2008
D03	CORDERO O.J. et al. British Journal of Cancer. Vol. 83, Nº 9, páginas 1139-1146.	2000
D04	PRO A. et al. Histology and Histopathology. Vol. 19, páginas 1345-1351.	2004
D05	ES 2187383 A1 (UNIVERSIDAD DE VIGO)	01.06.2003

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La presente invención tiene por objeto un procedimiento para realizar el seguimiento postoperatorio de pacientes con cáncer colorrectal mediante la valoración de la glicoproteína sCD26 en suero o plasma.

D01 expone que la dipeptidil peptidasa IV (DPPIV) o CD26 es expresada en el epitelio del colon únicamente cuando se transforma en maligno y estudia los niveles de CD26 en suero de pacientes con carcinoma colorrectal comparándolos con los niveles de individuos sanos.

D02 examina el valor diagnóstico y pronóstico de los niveles preoperatorios de CD26 analizándolo en el suero de pacientes con carcinoma colorrectal mediante ELISA.

D03 establece el uso de los valores preoperatorios de sCD26 como marcador diagnóstico y pronóstico en pacientes con carcinoma colorrectal.

D04 resume aspectos clave de la implicación de CD26/DPPIV en la biología del tumor y su papel en el desarrollo y comportamiento del cáncer. En cáncer colorrectal, los niveles séricos de CD26 sirven como valor diagnóstico y pronóstico. Los pacientes presentan niveles séricos inferiores que los individuos sanos y, cuando los valores preoperatorios son altos, se relacionan con un peor estado de la enfermedad.

D05 anticipa un 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. Los valores obtenidos para ambas glicoproteínas en suero o plasma de un individuo determinado son comparados con unos puntos de corte preestablecidos que determinan la probabilidad de padecer cáncer colorrectal.

**NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA**

La presente invención tiene por objeto un procedimiento para realizar el seguimiento postoperatorio de pacientes con cáncer colorrectal mediante la valoración de la glicoproteína sCD26 en suero o plasma del paciente con inmunoensayo específico y comparar la concentración de sCD26 obtenida en cada revisión médica con las concentraciones obtenidas en los anteriores controles médicos (reivindicación 1).

D01 expone que la dipeptidil peptidasa IV (DPPIV) o CD26 es expresada en el epitelio del colon únicamente cuando se transforma en maligno y estudia los niveles de CD26 en suero de pacientes con carcinoma colorrectal comparándolos con los niveles de individuos sanos. Los pacientes diagnosticados con cáncer colorrectal tienen niveles mayores de CD26 que los sujetos sanos. De dichos pacientes, aquellos con metástasis presentan niveles significativamente más altos. Para ello se analizó el suero de los individuos mediante ELISA. Los niveles de CD26/DPPIV en los pacientes fue de  $54.3 \pm 2.79$  U/ml frente a  $45.2 \pm 2.95$  U/ml en los controles. Los pacientes sin enfermedad objetiva (en fase B o C operados) tenían valores similares a los del grupo control, mientras que los pacientes con metástasis o recurrencia presentaban los niveles mayores. Por tanto, DPPIV está elevada en pacientes con carcinoma colorrectal avanzado lo que sugiere la importancia de los niveles séricos de esta proteína como marcador de la enfermedad y en el diagnóstico de metástasis.

D02 examina el valor diagnóstico y pronóstico de los niveles preoperatorios de CD26 analizándolo en el suero de pacientes con carcinoma colorrectal mediante ELISA. Encuentra evidente una alta diferencia significativa entre los niveles de CD26 en los sujetos sanos ( $559.7 \pm 125.5$  µg/l) y los pacientes con cáncer ( $261.7 \pm 138.1$  µg/l).

D03 establece el uso de los valores preoperativos de sCD26, como marcador diagnóstico y pronóstico, en pacientes con carcinoma colorrectal observando que existe diferencia significativa entre los sujetos sanos ( $559.7 \pm 125.5 \mu\text{g/l}$ ) y los pacientes con cáncer ( $261.7 \pm 138.1 \mu\text{g/l}$ ). El análisis se lleva a cabo en el suero de los individuos mediante inmunoensayo específico (ELISA).

En consecuencia, las características de la reivindicación 1 ya son conocidas por lo que esa reivindicación no se pueden considerar nueva a la vista del estado de la técnica ni, por tanto, presenta actividad inventiva.