



①9



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

①1 Número de publicación: **2 283 841**

⑤1 Int. Cl.:  
**A61K 51/12** (2006.01)  
**A61K 49/00** (2006.01)

①2

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧6 Número de solicitud europea: **03776893 .4**  
⑧6 Fecha de presentación : **10.11.2003**  
⑧7 Número de publicación de la solicitud: **1560603**  
⑧7 Fecha de publicación de la solicitud: **10.08.2005**

⑤4 Título: **Procedimiento para medir el metabolismo del páncreas.**

③0 Prioridad: **12.11.2002 DE 102 52 390**

④5 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.11.2007**

④5 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.11.2007**

⑦3 Titular/es: **Infai Institut für Biomedizinische  
Analytik und NMR-Imaging GmbH  
Universitätsstrasse 142  
44799 Bochum, DE**

⑦2 Inventor/es: **Aygen, Sitke**

⑦4 Agente: **Carpintero López, Francisco**

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**

Procedimiento para medir el metabolismo del páncreas.

5 Es objeto de la presente invención un procedimiento para medir el metabolismo del páncreas en la insuficiencia pancreática exocrina (IPE) de grado leve, moderado o grave.

La insuficiencia pancreática exocrina se caracteriza por una disminución de la secreción de las enzimas del páncreas, en particular de amilasa, lipasa y quimotripsina, así como la disminución de la liberación de bicarbonato.

10 El hasta ahora denominado “patrón de oro” de la determinación de la IPE consiste en la infusión intravenosa de secretina durante un espacio de tiempo de dos horas y en la segunda hora adicionalmente de ceruleína, con la simultánea absorción de la secreción duodenal a través de una sonda duodenal y el análisis de la misma. Este procedimiento de determinación es complicado, costoso y muy desagradable para el paciente y además propenso al fallo. Además, muchos pacientes reaccionan de forma alérgica a la ceruleína. Adicionalmente, el ensayo es propenso al fallo y, por tanto, está afectado con una cuota de error considerable. Si no se dispone de una realización normalizada del ensayo, la evaluación depende de los valores de referencia obtenidos en el laboratorio correspondiente (véase J.-Matthias Löhr: Exokrine Pankreaseinsuffizienz, 1ª edición, Bremen: Uni-Med, 2001).

20 Un ensayo más sencillo, pero tampoco muy exacto, consiste en la determinación de la elastasa en las heces.

En el documento DE-C-4426204 se describe un ensayo de la función pancreática en el que se determina fundamentalmente la amilasa. En éste se administra almidón de maíz natural que, después de su metabolización, se expulsa con el aliento como dióxido de carbono enriquecido en  $^{13}\text{C}$  y se analiza. El ensayo se basa en que el almidón de maíz está enriquecido por naturaleza con átomos de  $^{13}\text{C}$ .

30 Una desventaja del ensayo consiste en que con el mismo sólo puede determinarse la insuficiencia pancreática grave. Esto es debido, entre otras razones, a que el páncreas no es la única fuente de amilasa y, por tanto, se producen interferencias en el ensayo por la amilasa en las secreciones salivales y gástricas (véase Löser y col., Z. Gastroenterol. 1997; 35:187-194).

35 Se han desarrollado otros ensayos para determinar la capacidad funcional del páncreas con sustancias enriquecidas en  $^{14}\text{C}$  y  $^{13}\text{C}$ , prefiriéndose las sustancias que contienen  $^{13}\text{C}$ , ya que no exponen a los pacientes al isótopo radiactivo  $^{14}\text{C}$ . Como sustancias de ensayo enriquecidas en  $^{13}\text{C}$  se han examinado fundamentalmente ésteres de colestera y triglicéridos, habiéndose examinado en particular el triglicérido mixto gliceril-1,3-diocetadecanoato-2-octanoato-1- $^{13}\text{C}$  de (denominado también 1,3-diestearil-2(carboxil- $^{13}\text{C}$ )octanoilglicerina), ya que la lipasa pancreática hidroliza primeramente los dos grupos estearilo y sólo después pasa a metabolizarse el grupo  $^{13}\text{C}$ -octanoilo, de cadena más corta.

40 Las comparaciones entre los ensayos con el “patrón de oro” y otros procedimientos han dado como resultado que este procedimiento asimismo es sólo adecuado para diagnosticar la insuficiencia pancreática grave y en cierta medida la de grado moderado. Este procedimiento no funciona en el caso de la insuficiencia pancreática exocrina de grado leve (véase Löser y col., Scand. J. Gastroenterol. 1998; 33:327-334).

45 Por tanto todavía sigue existiendo la necesidad de un procedimiento más sencillo y también más agradable para el paciente para la determinación de la capacidad funcional del páncreas, en particular en el caso de las insuficiencias pancreáticas exocrinas de grados leve y moderado, mediante la medida del metabolismo del páncreas. La clasificación se lleva a cabo de la manera siguiente:

50 Insuficiencia pancreática leve:

Disminución del bicarbonato en menos del 50% o

55 disminución de una enzima en menos del 50% o

disminución de dos enzimas en menos del 25% o

60 disminución de una enzima y del bicarbonato en menos del 25%

Insuficiencia pancreática moderada:

Disminución de más de dos enzimas y/o del bicarbonato en el 25 - 75%

65

Insuficiencia pancreática grave:

Reducción de todas las enzimas y/o de la secreción de bicarbonato en más del 75%

5 (Lankisch y col., Dig. Dis. Sci. 1983, 28: 490-493)

Todos los cálculos se refieren al valor límite inferior (valor medio -2v) de una población normal.

10 Se ha encontrado ahora que la medida es posible determinando el aumento de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento espirado antes y después de la administración por vía intravenosa de secretina y antes y después de la administración por vía oral de un triglicérido mixto que contiene  $^{13}\text{C}$ .

15 Para la determinación del aumento de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento espirado se mide preferentemente la relación entre  $^{13}\text{CO}_2$  y  $^{12}\text{CO}_2$ . Preferentemente, en la medida se emplea la técnica IRMS.

Entretanto, la técnica IRMS (Isotopic Ratio Mass Spectrometry, espectrometría de masas de relación isotópica) es el procedimiento de mayor sensibilidad y mejor para la determinación de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento espirado.

20 Una posibilidad alternativa es la medida por medio de la técnica NDIR (Non-Dispersive Infrared Spectroscopy, espectroscopía infrarroja no dispersiva).

25 Mientras que según un procedimiento del estado de la técnica como se describe, por ejemplo, en la publicación mencionada anteriormente de Löser y col. (1998), sólo se administra el triglicérido mixto enriquecido en  $^{13}\text{C}$  y se mide a continuación la proporción de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento, el procedimiento según la invención se caracteriza porque la medida tiene lugar bajo la influencia de una administración previa de secretina.

30 A este respecto, una metabolización reducida muestra, a través de una liberación retrasada o reducida de  $^{13}\text{CO}_2$  en comparación con las personas objeto de ensayo sanas, una deficiencia en enzimas pancreáticas y por tanto permite un diagnóstico fiable.

35 En el procedimiento según la invención se toma una muestra de aliento antes del comienzo del ensayo y después se toman otras muestras a intervalos de tiempo de, por ejemplo, 15, 20 ó 30 minutos. Habitualmente, la medida tiene lugar en un espacio de tiempo de dos a cinco horas, típicamente de cuatro horas.

Preferentemente, en principio se comienza con la administración de secretina, durante la administración de ésta o directamente después de finalizar dicha administración se administra entonces el triglicérido mixto enriquecido en  $^{13}\text{C}$ .

40 El aliento espirado puede almacenarse en contenedores de muestras y medirse después de la finalización del ensayo. A este respecto también es posible el transporte de los recipientes con el aliento.

45 Como triglicéridos mixtos marcados con  $^{13}\text{C}$  se prefiere emplear aquellos en los que el ácido en la posición 2 porta las etiquetas de  $^{13}\text{C}$ . Típicamente, en los triglicéridos empleados según la invención las posiciones 1 y 3 portan ácidos grasos típicos de 12 a 20 átomos de carbono que también pueden contener dobles enlaces. En la posición 2 del triglicérido se encuentra un ácido de cadena más corta con 2 a 12 átomos de carbono. Un triglicérido mixto preferido especialmente es el gliceril-1,3-dioctadecanoato-2-octanoato-1- $^{13}\text{C}$ , un triglicérido mixto que puede obtenerse, por ejemplo, de la empresa Sigma-Aldrich con un alto grado de enriquecimiento.

50 A diferencia del "patrón de oro", en el que debe administrarse por infusión secretina y, a continuación simultáneamente ceruleína, durante dos horas, en el procedimiento según la invención se administra solamente secretina, y ello en un breve espacio de tiempo, preferentemente de 5 a 25 minutos, típicamente de 15 minutos. En el procedimiento según la invención, la administración por vía oral del triglicérido que contiene  $^{13}\text{C}$  tiene lugar también con ayuda de una comida de ensayo normalizada. En lugar de la comida de ensayo usada hasta ahora, compuesta de 250 g del triglicérido mixto homogeneizado con 10 g de crema de chocolate en un baño de agua caliente a 60°C y extendido después de enfriarse sobre una tostada con 15 g de mantequilla, este triglicérido mixto puede administrarse también preferentemente mezclando simplemente sólo 200 mg del triglicérido mixto, por ejemplo, con 15 g de almidón de maíz, 3 g de cacao en polvo y 15 g de mantequilla en 20 ml de leche caliente para obtener una mezcla homogénea y extendiendo ésta después sobre una tostada. Lo determinante no es la cantidad de grasa y aceite, sino que el triglicérido pueda mezclarse fácilmente y de forma homogénea con los demás componentes y que pueda extenderse sobre una tostada. En principio también existe la posibilidad de proporcionar el triglicérido mixto junto con otros componentes estables con el suficiente contenido de grasa en porciones envasadas y listas, que entonces sólo deben extenderse sobre la tostada.

65 En la comparación de los resultados de los ensayos del procedimiento según la invención con los resultados de los ensayos del "patrón de oro" se ha demostrado, en principio, que aunque la concordancia es suficiente, todavía no es completamente satisfactoria. Otros ensayos posteriores han dado como resultado que la reproducibilidad del procedimiento según la invención es muy alta y, por tanto, los resultados de los ensayos se hallan más próximos

entre sí que lo que la comparación con el “patrón de oro” permite esperar. En la comprobación de este sorprendente resultado se demostró que nunca se había examinado la reproducibilidad del “patrón de oro”, evidentemente debido a su coste y a su inaceptabilidad para el paciente y, por tanto, las desviaciones de los resultados del procedimiento según la invención no se deben a dicho procedimiento según la invención sino a fuentes de errores en el “patrón de oro” (véase Exokrine Pankreaseinsuffizienz 2001, Uni-Med Verlag AG, Bremen, Löhr J.-M. y Schneider H.T.).

Por tanto, el procedimiento según la invención es superior en muchos aspectos al “patrón de oro”: se prescinde de la colocación de la sonda duodenal, que es extraordinariamente desagradable para el paciente. Se prescinde de la infusión de dos horas de secretina y ceruleína. En su lugar tiene lugar sólo una administración por vía intravenosa en el transcurso de, por ejemplo, 15 minutos, y sólo de secretina. Dado que hay pacientes que toleran secretina, pero no ceruleína, se producen muchas menos interrupciones del ensayo a causa de intolerancia.

Los costes del ensayo son aproximadamente una décima parte de los costes del “patrón de oro”. Por primera vez es posible determinar también un grado leve de la insuficiencia pancreática exocrina y aplicar una terapia a los pacientes con este diagnóstico. La insuficiencia pancreática exocrina de grado moderado también puede curarse frecuentemente o al menos estabilizarse. En general, para la insuficiencia pancreática grave no sólo no puede aplicarse una terapia, sino que ésta sólo puede tratarse con respecto a los síntomas. Es de una importancia especial el reconocimiento a tiempo de la forma de insuficiencia pancreática de grados leve y moderado en niños, especialmente porque en éstos la posibilidad de terapia es mejor y más sencilla que en adultos.

Por tanto, este sencillo procedimiento es también adecuado como control del desarrollo de una terapia de sustitución enzimática.

Según la invención, se proporciona un procedimiento para la determinación de la capacidad funcional del páncreas, concretamente, de las formas leve y moderada de la insuficiencia pancreática exocrina.

### Ejemplo

#### *Ensayo de aliento con $^{13}\text{C}$ con estimulación por secretina*

Antes de la aplicación del ensayo de aliento con un triglicérido mixto que contiene  $^{13}\text{C}$ , el paciente deberá haber ayunado durante 6 horas (preferentemente durante la noche). El ensayo deberá realizarse en posición descansada (sentado o tumbado).

El ensayo comienza con la toma de la primera muestra de aliento de valor cero (“valor cero”). Para ello, el paciente sopla por medio de una pajita en el recipiente para muestras marcado con “valor cero”. Después se administra al paciente 1 U de secretina/kg de peso corporal por vía intravenosa durante 15 minutos.

La secretina puede obtenerse, por ejemplo, como Secrelux® de la empresa Goldham Pharma GmbH, Alemania. Una UC (unidad clínica) corresponde a 1 U (unidad).

El paciente toma ahora en un espacio de tiempo de 10 minutos la comida de ensayo preparada.

Durante las cuatro horas que siguen a la finalización de la comida de ensayo se toman, en los intervalos de tiempo fijados en el protocolo, muestras de aliento de la forma descrita anteriormente en los correspondientes recipientes para muestras marcados inequívocamente.

#### *Toma de muestras*

|        |                        |                               |        |        |        |        |        |         |         |         |         |         |         |         |
|--------|------------------------|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 00 min | 15 min<br>secretina iv | 10 min<br>comida de<br>ensayo | 15 min | 30 min | 50 min | 70 min | 90 min | 110 min | 130 min | 150 min | 170 min | 190 min | 210 min | 230 min |
|--------|------------------------|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|

La figura 1 muestra los resultados de los valores de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento para una persona objeto de ensayo sana (x) y una persona objeto de ensayo con IPE de grado leve (♦), moderado (Δ) y grave (□).

La figura 2 muestra los valores acumulativos de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento para una persona objeto de ensayo sana (x) y una persona objeto de ensayo con IPE de grado leve (♦), moderado (Δ) y grave (□).

# REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para medir el metabolismo del páncreas, **caracterizado** porque se determina el aumento de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento espirado antes y después de la administración por vía intravenosa de secretina y antes y después de la administración por vía oral de un triglicérido que contiene  $^{13}\text{C}$ .

2. El procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el triglicérido que contiene  $^{13}\text{C}$  es el triglicérido mixto gliceril-1,3-diocetadecanoato-2-octanoato-1- $^{13}\text{C}$ .

3. Un procedimiento según las reivindicaciones 1 ó 2, **caracterizado** porque la determinación de  $^{13}\text{CO}_2$  tiene lugar por medio de IRMS o NDIR.

4. Un procedimiento según, al menos, una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado** porque se administra 1 U de secretina/kg de peso corporal por vía intravenosa en el transcurso de 15 - 30 minutos aproximadamente.

5. Un procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado** porque se administran 200 mg del triglicérido mixto con una comida de ensayo.

6. Un kit de ensayo que contiene

- una comida de ensayo compuesta de almidón de maíz y cacao en polvo
- un triglicérido mixto que contiene  $^{13}\text{C}$
- recipientes para muestras
- información de uso referente a un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 5.

7. El kit de ensayo según la reivindicación 6, **caracterizado** porque el triglicérido mixto que contiene  $^{13}\text{C}$  es gliceril-1,3-diocetadecanoato-2-octanoato-1- $^{13}\text{C}$ .

# Pancreo-Lip

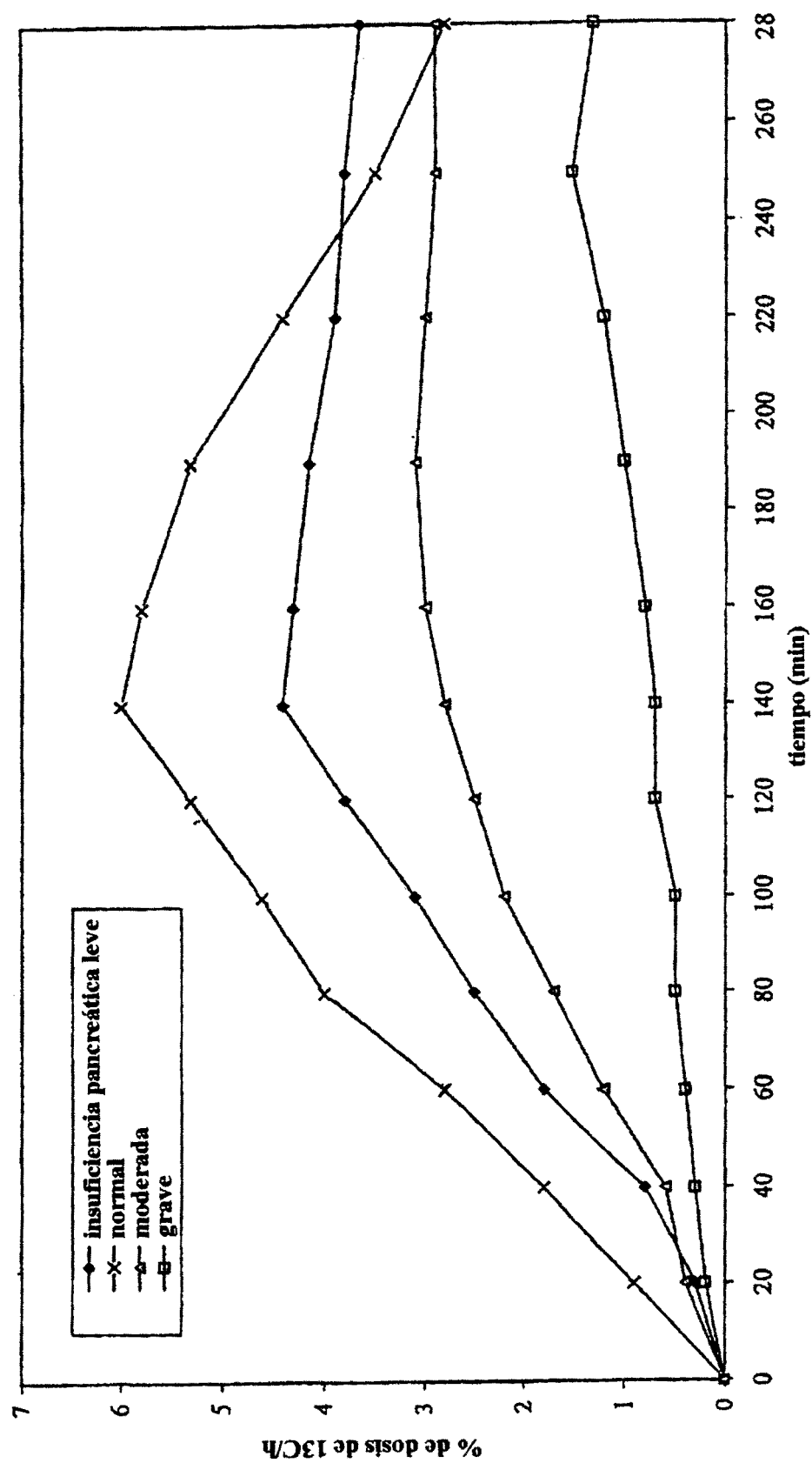


Figura 1

# Pancreo-Lip

Figura 2

