

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 877 332**

51 Int. Cl.:

G01N 21/359 (2014.01)

G01N 21/3577 (2014.01)

G01N 33/487 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

A61B 5/00 (2006.01)

G01N 21/35 (2014.01)

G01N 21/3563 (2014.01)

G01N 33/483 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.11.2013 E 18214760 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.03.2021 EP 3489659**

54 Título: **Un método para indicar la presencia de tumores benignos mediante el uso de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC)**

30 Prioridad:

28.05.2013 US 201361827933 P

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

16.11.2021

73 Titular/es:

**TODOS MEDICAL LTD. (100.0%)
12 Kineret Street, POB 293
70100 Airport City, IL**

72 Inventor/es:

**KAPELUSHNIK, JOSEPH;
MORDECHAI, SHAUL;
NATHAN, ILANA;
ZIGDON, RAMI y
ZELIG, UDI**

74 Agente/Representante:

VIDAL GONZÁLEZ, Maria Ester

ES 2 877 332 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

Un método para indicar la presencia de tumores benignos mediante el uso de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC)

5

Referencias cruzadas a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica la prioridad de Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos No. 61/827,933, titulado "Differential diagnosis of benign tumors," presentado el 28 de mayo de 2013.

10

Campo de las modalidades

Las modalidades se refieren generalmente al diagnóstico de tumores y, en particular, a métodos para el diagnóstico diferencial de tumores sólidos benignos y malignos.

15

Antecedentes

La espectroscopía infrarroja es una técnica basada en la absorción o reflexión de la radiación infrarroja por sustancias químicas, cada sustancia química que tiene espectros de absorción únicos. La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) se usa para identificar compuestos bioquímicos y examinar la composición bioquímica de una muestra biológica. Típicamente, los espectros de FTIR se componen de varias bandas de absorción, cada una de las cuales corresponde a grupos funcionales específicos relacionados con componentes celulares tales como lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos. Procesos tales como la carcinogénesis pueden desencadenar cambios globales en la bioquímica de las células cancerosas, lo que da como resultado diferencias en los espectros de absorción cuando se analizan mediante técnicas de espectroscopía FTIR. Por lo tanto, la espectroscopía FTIR se usa comúnmente para distinguir entre tejido normal y anormal al analizar los cambios en las bandas de absorción de macromoléculas tales como lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos. Además, la espectroscopía FTIR puede utilizarse para la evaluación del modo de muerte celular, la progresión del ciclo celular y el grado de maduración de las células hematopoyéticas.

20

25

30

El análisis de ciertos marcadores (por ejemplo, ciertas proteínas, péptidos, moléculas de ARN) en la circulación de un paciente puede ser útil en la detección y/o monitoreo del cáncer. Por ejemplo, los estudios han demostrado que el análisis del plasma sanguíneo de un paciente en busca de ciertos antígenos oncofetales, enzimas y/o moléculas de miARN puede ayudar en el diagnóstico y pronóstico de ciertos tipos de cáncer. La espectroscopía FTIR se usa para el análisis de diversos compuestos en el plasma sanguíneo, tal como proteínas totales, creatinina, aminoácidos, ácidos grasos, albúmina, glucosa, fibrinógeno, lactato, triglicéridos, glicerol, urea, colesterol, apolipoproteína e inmunoglobina.

35

40

El documento 5,261,410 divulga un método para determinar si un tejido es un tejido tumoral maligno, un tejido tumoral benigno o un tejido normal o benigno mediante el uso de espectroscopía Raman, por lo que los tumores no cancerosos se denominan comúnmente tumores benignos. El tejido normal o benigno produce espectros Raman infrarrojos distinguibles cuando se irradia con un haz de luz infrarroja monocromática. Los tejidos investigados incluyen los de regiones del cuerpo como el recto, el colon, el estómago y la boca, que son elementos del tracto gastrointestinal (GI).

45

Resumen de las modalidades de la invención

En algunas solicitudes, se proporciona un método para el diagnóstico diferencial de tumores premalignos, malignos y benignos. Por consiguiente, algunas solicitudes de la presente invención permiten distinguir entre sujetos que padecen una afección premaligna o maligna y sujetos con un tumor benigno, no maligno.

50

Algunas solicitudes de la presente invención proporcionan un método que comprende obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un sujeto al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja; y en base al espectro infrarrojo, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno del sujeto.

55

Adicional o alternativamente, algunas solicitudes proporcionan un método que comprende obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de plasma de un sujeto al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja; y en base al espectro infrarrojo, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno del sujeto.

60

Típicamente, el análisis mediante espectroscopía infrarroja (IR), por ejemplo, espectroscopía FTIR y microespectroscopía (FTIR MSP), de las propiedades bioquímicas globales de las células mononucleares o del plasma derivados de la sangre puede indicar la presencia de una afección maligna y premaligna o un tumor benigno. De acuerdo con algunas solicitudes, se llevaron a cabo experimentos en los que muestras de PBMC o plasma de una pluralidad de sujetos que tenían tumores sólidos benignos o tumores sólidos malignos y premalignos (por ejemplo, pero no se limita a, tumores en tejido mamario, tejidos ginecológicos o tejido del tracto gastrointestinal) se

65

5 analizaron mediante técnicas de microespectroscopía FTIR. Posteriormente, se compararon los espectros de FTIR (absorción y/o reflexión) de las muestras de PBMC o plasma de los sujetos con tumores benignos con los espectros de FTIR de muestras de PBMC o plasma obtenidos de los pacientes con cáncer y con los espectros de FTIR de muestras de PBMC o plasma obtenidos de un grupo control. El grupo control estaba compuesto por sujetos sanos que no tenían identificados tumores premalignos, malignos o benignos.

10 Los inventores han identificado que las muestras de PBMC o plasma obtenidas de pacientes que padecen un tumor sólido premaligno o maligno producen espectros de FTIR que se diferencian de los del grupo control que no padecen un tumor sólido maligno, lo que permite distinguir entre los pacientes con cáncer y controles. Además, los inventores han identificado que las muestras de PBMC o plasma obtenidas de sujetos con un tumor benigno producen espectros de FTIR que difieren de los pacientes con cáncer y de los del grupo control, lo que permite distinguir entre sujetos con tumores benignos, pacientes con cáncer e individuos sanos. Por tanto, algunas solicitudes pueden usarse para diagnosticar pacientes con cáncer que padecen tumores sólidos y para distinguir un sujeto con un tumor benigno de un paciente con cáncer y un sujeto sano. La distinción por espectroscopía FTIR entre controles y sujetos que padecen tumores benignos o premalignos y malignos se realiza típicamente en base al análisis de muestras de PBMC y plasma sanguíneo y no de las células tumorales reales, lo que permite una amplia detección de la población si es apropiado, y reduce la necesidad en muchos casos de realizar una biopsia de tejido.

20 Para algunas solicitudes, un procesador de datos analiza el espectro IR, por ejemplo, el espectro FTIR, de la muestra de PBMC o plasma del sujeto. La información del procesador de datos se alimenta típicamente a una unidad de salida que genera una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno y/o una afección pre-maligna o maligna, en base al espectro infrarrojo (IR). Además, el procesador de datos se configura típicamente para calcular una segunda derivada del espectro infrarrojo (IR) de la muestra de PBMC y, en base a la segunda derivada del espectro infrarrojo (IR), para generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno, premaligno o maligno.

30 Para algunas solicitudes, el análisis por espectroscopía IR, por ejemplo, espectroscopía FTIR, de la bioquímica de PBMC, plasma o cualesquiera otras células derivadas de la sangre se usa para la detección de grandes poblaciones, lo que ayuda en la detección temprana de tumores sólidos. Adicional o alternativamente, las solicitudes se usan para diagnosticar tumores premalignos o malignos que pueden requerir tratamiento urgente, en contraste con un tumor benigno que típicamente no requiere intervención médica urgente (o ninguna). La espectroscopía FTIR (y microespectroscopía) es típicamente un método simple, sin reactivos y rápido adecuado para usar como prueba de detección para grandes poblaciones. La detección temprana del cáncer generalmente permite intervención y tratamiento tempranos, lo que contribuye a reducir la tasa de mortalidad.

40 Para algunas solicitudes, los datos obtenidos tanto de las muestras de PBMC como de las muestras de plasma sanguíneo se analizan además mediante métodos adecuados conocidos en la técnica, por ejemplo, redes neuronales artificiales y/o análisis de grupos, y/o análisis de componentes principales, y/o análisis discriminante lineal (LDA) y/o análisis discriminante no lineal y/u otros modelos de clasificación apropiados. Típicamente, la combinación de análisis de datos de PBMC y plasma proporciona resultados de análisis que presentan una alta sensibilidad y especificidad de aproximadamente 71 % y 95 %, respectivamente.

45 Por lo tanto, se proporciona de acuerdo con algunos métodos de solicitud que incluyen: obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un sujeto al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja; y en base al espectro infrarrojo, lo que genera una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno del sujeto.

50 Para algunas solicitudes, el método incluye además obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de plasma del sujeto al analizar la muestra de plasma mediante espectroscopía infrarroja, generar la salida incluye generar la salida indicativa de la presencia del tumor benigno del sujeto en respuesta al análisis espectroscópico infrarrojo de la muestra de PBMC y la muestra de plasma.

Para algunas solicitudes, generar la salida incluye indicar a través de la salida que el tumor no es un tumor maligno.

55 Para algunas solicitudes, generar la salida incluye indicar a través de la salida que el tumor no es una afección premaligna.

60 Para algunas solicitudes, generar la salida incluye indicar a través de la salida que el tumor no es una afección premaligna y no es un tumor maligno.

Para algunas solicitudes, generar la salida incluye indicar que la salida es indicativa diferencialmente de la presencia del tumor benigno en lugar de la ausencia de un tumor.

65 Para algunas solicitudes, el tumor benigno incluye un tumor benigno en tejido seleccionado del grupo que consiste de: tejido mamario y tejido del tracto gastrointestinal, y generar la salida incluye generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno en el tejido seleccionado.

ES 2 877 332 T3

- 5 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar una característica de la muestra a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de: $837,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1027,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1182,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1213,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1278,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1544,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1011,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1071,7$, $1141,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1158,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1181,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1502,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, el tejido seleccionado incluye el tejido mamario, y generar incluye generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno en el tejido mamario.
- 10 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar la característica a, al menos, dos números de onda seleccionados del grupo.
- 15 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar una característica de la muestra a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de: $837,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1027,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1182,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1213,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1278,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1544,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, y generar la salida incluye indicar que la salida es indicativa diferencialmente de la presencia del tumor benigno en lugar de la ausencia de un tumor.
- 20 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar una característica de la muestra a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de: $1011,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1071,7$, $1141,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1158,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1181,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1502,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, y generar la salida incluye indicar que la salida es indicativa diferencialmente de la presencia del tumor benigno en lugar de un tumor maligno.
- 25 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar una característica de la muestra a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de: $785,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $811,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $879,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1253,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1485,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1526,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $760,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $870,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1371,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1485,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1526,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1627,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, el tejido seleccionado incluye el tejido del tracto gastrointestinal, y generar incluye generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno en el tejido del tracto gastrointestinal.
- 30 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar la característica a, al menos, dos números de onda seleccionados del grupo.
- 35 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar la característica a, al menos, tres números de onda seleccionados del grupo.
- 40 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar una característica de la muestra a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de: $760,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $870,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1371,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1485,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1526,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1627,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, y generar la salida incluye indicar que la salida es indicativa diferencialmente de la presencia del tumor benigno en lugar de un tumor maligno.
- 45 Para algunas solicitudes, analizar la muestra incluye obtener una segunda derivada del espectro infrarrojo (IR) de la muestra.
- 50 Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona un método que incluye: obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de sangre de plasma de un sujeto al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja; y en base al espectro infrarrojo, lo que genera una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno del sujeto.
- 55 Para algunas solicitudes, generar la salida incluye indicar a través de la salida que el tumor no es un tumor maligno.
- 60 Para algunas solicitudes, generar la salida incluye indicar a través de la salida que el tumor no es una afección premaligna y no es un tumor maligno.
- 65 Para algunas solicitudes, generar la salida incluye indicar que la salida es indicativa diferencialmente de la presencia del tumor benigno en lugar de la ausencia de un tumor.
- Para algunas solicitudes, el tumor benigno incluye un tumor benigno en tejido seleccionado del grupo que consiste de: tejido mamario y tejido del tracto gastrointestinal, y generar la salida incluye generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno en el tejido seleccionado.

- 5 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar una característica de la muestra a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de: $761,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1117,5 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1152,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1310,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1388,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1453,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $761,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1020,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1249,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1560,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1647,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1736,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, el tejido seleccionado incluye el tejido mamario, y generar incluye generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno en el tejido mamario.
- 10 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar la característica a, al menos, dos números de onda seleccionados del grupo.
- 15 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar una característica de la muestra a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de: $761,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1117,5 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1152,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1310,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1388,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1453,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, y generar la salida incluye indicar que la salida es indicativa diferencialmente de la presencia del tumor benigno en lugar de la ausencia de un tumor.
- 20 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar una característica de la muestra a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de: $761,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1020,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1249,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1560,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1647,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1736,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, y generar la salida incluye indicar que la salida es indicativa diferencialmente de la presencia del tumor benigno en lugar de un tumor maligno.
- 25 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar una característica de la muestra a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de: $780,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $872,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1142,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1378,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1399,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1622,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $948,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1034,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1110,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1153,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1340,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1378,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, el tejido seleccionado incluye el tejido del tracto gastrointestinal, y generar incluye generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno en el tejido del tracto gastrointestinal.
- 30 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar la característica a, al menos, dos números de onda seleccionados del grupo.
- 35 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar la característica a, al menos, tres números de onda seleccionados del grupo.
- 40 Para algunas solicitudes, analizar incluye evaluar una característica de la muestra a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de: $780,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $872,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1142,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1378,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1399,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1622,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, y generar la salida incluye indicar que la salida es indicativa diferencialmente de la presencia del tumor benigno en lugar de la ausencia de un tumor.
- 45 Para algunas solicitudes, analizar la muestra incluye obtener una segunda derivada del espectro infrarrojo (IR) de la muestra.
- 50 Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona un método que incluye:
obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja; y
en base al espectro infrarrojo, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor sólido en el tejido ginecológico de un sujeto.
- 55 Para algunas solicitudes, el tumor sólido en tejido ginecológico incluye un tumor sólido en tejido seleccionado del grupo que consiste de: tejido ovárico, tejido endometrial y tejido cervical, y generar la salida incluye generar una salida indicativa de la presencia de un tumor sólido en tejido seleccionado del grupo.
- 60 Para algunas solicitudes, el tumor sólido es un sarcoma.
- 60 Todavía se proporciona de acuerdo con algunas solicitudes un método que incluye:
obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de plasma sanguíneo al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja; y
- 65 en base al espectro infrarrojo, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor sólido en el tejido ginecológico de un sujeto.

Para algunas solicitudes, el tumor sólido en tejido ginecológico incluye un tumor sólido en tejido seleccionado del grupo que consiste de: tejido ovárico, tejido endometrial y tejido cervical, y generar la salida incluye generar una salida indicativa de la presencia de un tumor sólido en tejido seleccionado del grupo.

5 Para algunas solicitudes, el tumor sólido es un sarcoma.

Además se proporciona, de acuerdo con algunas solicitudes, un método que incluye:

10 obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un sujeto y un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de plasma del sujeto al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja; y

en base al espectro infrarrojo, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor maligno sólido del sujeto,

15 generar la salida incluye generar la salida indicativa de la presencia del tumor del sujeto en respuesta al análisis espectroscópico infrarrojo de la muestra de PBMC y la muestra de plasma.

Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona un método que incluye:

20 obtener un espectro infrarrojo (IR) de una población de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un sujeto que presenta un parámetro clínico que puede desencadenar un diagnóstico falso positivo de una afección maligna, al analizar las células mediante espectroscopía infrarroja; y

25 en base al espectro infrarrojo (IR), generar una salida que es indicativa diferencialmente de la presencia de una afección maligna frente a la presencia de un parámetro clínico que puede desencadenar un diagnóstico falso positivo.

30 Para algunas solicitudes, el sujeto que exhibe un parámetro clínico que puede desencadenar un diagnóstico falso positivo de una afección maligna incluye a una mujer embarazada, y generar una salida incluye generar una salida que es indicativa diferencialmente de la presencia de una afección maligna frente a la presencia de un embarazo.

Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona un método que incluye:

35 obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de plasma sanguíneo de un sujeto que presenta un parámetro clínico que puede desencadenar un diagnóstico falso positivo de una afección maligna, al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja; y

40 en base al espectro infrarrojo (IR), generar una salida que es indicativa diferencialmente de la presencia de una afección maligna frente a la presencia de un parámetro clínico que puede desencadenar un diagnóstico falso positivo.

45 Para algunas solicitudes, el sujeto que exhibe un parámetro clínico que puede desencadenar un diagnóstico falso positivo de una afección maligna incluye a una mujer embarazada, y generar una salida incluye generar una salida que es indicativa diferencialmente de la presencia de una afección maligna frente a la presencia de un embarazo.

Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona un método que incluye:

50 obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un sujeto al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja;

analizar el espectro infrarrojo mediante el uso de un procesador; y

55 en base al análisis mediante el uso del procesador, mediante el uso de un dispositivo de salida, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno del sujeto.

Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona un método que incluye:

60 obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de sangre de plasma de un sujeto al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja;

analizar el espectro infrarrojo mediante el uso de un procesador; y

65 en base al análisis mediante el uso del procesador, mediante el uso de un dispositivo de salida, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno del sujeto.

Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona un método que incluye:

- obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un sujeto, al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja;
- 5 analizar el espectro infrarrojo, mediante el uso de un procesador; y
- en base al análisis mediante el uso del procesador, mediante el uso de un dispositivo de salida, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor sólido en el tejido ginecológico del sujeto.
- Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona un método que incluye:
- 10 obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de plasma sanguíneo de un sujeto al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja;
- analizar el espectro infrarrojo mediante el uso de un procesador; y
- 15 en base al análisis mediante el uso del procesador, mediante el uso de un dispositivo de salida, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor sólido en el tejido ginecológico del sujeto.
- Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona un método que incluye:
- 20 obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un sujeto y un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de plasma del sujeto al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja;
- 25 analizar el espectro infrarrojo mediante el uso de un procesador; y
- en base al análisis mediante el uso del procesador, mediante el uso de un dispositivo de salida, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor maligno sólido del sujeto,
- 30 en donde generar la salida comprende generar la salida indicativa de la presencia del tumor del sujeto en respuesta al análisis espectroscópico infrarrojo de la muestra de PBMC y la muestra de plasma.
- Además, se proporciona un método para el diagnóstico de un tumor sólido, el método que incluye:
- 35 obtener un espectro infrarrojo (IR) de una población de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un sujeto que presenta un parámetro clínico que puede desencadenar un diagnóstico falso positivo de una afección maligna, al analizar las células mediante espectroscopía infrarroja;
- analizar el espectro infrarrojo mediante el uso de un procesador; y
- 40 en base al análisis mediante el uso del procesador, mediante el uso de un dispositivo de salida, generar una salida que es indicativa diferencialmente de la presencia de una afección maligna frente a la presencia de un parámetro clínico que puede desencadenar un diagnóstico falso positivo.
- 45 Además, se proporciona un método para el diagnóstico de un tumor sólido, el método que incluye:
- obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de plasma sanguíneo de un sujeto que presenta un parámetro clínico que puede desencadenar un diagnóstico falso positivo de una afección maligna, al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja;
- 50 analizar el espectro infrarrojo mediante el uso de un procesador; y
- en base al análisis mediante el uso del procesador, mediante el uso de un dispositivo de salida, generar una salida que es indicativa diferencialmente de la presencia de una afección maligna frente a la presencia de un parámetro clínico que puede desencadenar un diagnóstico falso positivo.
- 55 Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona un producto de programa informático para administrar el procesamiento de un cuerpo de datos, el producto incluye un medio legible por computadora que tiene instrucciones de programa incorporadas en el mismo, cuyas instrucciones, cuando las lee una computadora, hacen a la computadora:
- 60 obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de plasma sanguíneo al analizar la muestra de plasma sanguíneo mediante espectroscopía infrarroja; y
- 65 en base al espectro infrarrojo, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno.

Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona un producto de programa informático para administrar el procesamiento de un cuerpo de datos, el producto incluye un medio legible por computadora que tiene instrucciones de programa incorporadas en el mismo, cuyas instrucciones, cuando las lee una computadora, hacen a la computadora:

5 obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) al analizar la muestra de sangre mediante espectroscopía infrarroja; y

en base al espectro infrarrojo, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno.

10 Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona sistema para diagnosticar un tumor benigno, que incluye:

15 un procesador, configurado para analizar un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de plasma sanguíneo de un sujeto; y

un dispositivo de salida, configurado para generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno, en base al espectro infrarrojo (IR).

20 Además, de acuerdo con algunas solicitudes, se proporciona un sistema para diagnosticar un tumor benigno, que incluye:

25 un procesador, configurado para analizar un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un sujeto; y

un dispositivo de salida, configurado para generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno, en base al espectro infrarrojo (IR).

30 La presente invención se entenderá mejor a partir de la siguiente descripción detallada de sus modalidades, tomada junto con los dibujos, en los que:

Breve descripción de los dibujos

35 Las Figuras 1A-D son gráficos que representan los espectros de absorción de FTIR, la segunda derivada de los espectros de absorción, y su análisis, en base a muestras de PBMC de pacientes con cáncer de mama, sujetos con tumores de mama benignos y controles, derivados de acuerdo con algunas solicitudes.

40 Las Figuras 2A-D son gráficos que representan los espectros de absorción de FTIR, la segunda derivada de los espectros de absorción, y su análisis, en base a muestras de plasma de pacientes con cáncer de mama, sujetos con tumores de mama benignos y controles, derivados de acuerdo con algunas solicitudes.

45 Las Figuras 3A-H son gráficos que representan el análisis estadístico y el análisis de grupos de estos, incluido el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC) del análisis de espectros de absorción de FTIR, en base a muestras de PBMC y plasma de pacientes con cáncer de mama, sujetos con tumores de mama benignos y controles, derivados de acuerdo con algunas solicitudes;

50 Las Figuras 4A-D son gráficos que representan el análisis de información clínica de pacientes con cáncer de mama, para muestras de PBMC y muestras de plasma obtenidas de pacientes con cáncer de mama de acuerdo con algunas solicitudes;

Las Figuras 5A-D son gráficos que representan los espectros de absorción de FTIR, la segunda derivada de los espectros de absorción, y su análisis, en base a muestras de PBMC de pacientes con cáncer colorrectal, sujetos con tumores colorrectales benignos y controles, derivados de acuerdo con algunas solicitudes de la presente invención;

55 Las Figuras 6A-E son gráficos que representan los espectros de absorción de FTIR, la segunda derivada de los espectros de absorción, y su análisis, en base a muestras de plasma de pacientes con cáncer colorrectal, sujetos con tumores colorrectales benignos y controles, derivados de acuerdo con algunas solicitudes.

60 Las Figuras 7A-H son gráficos que representan el análisis estadístico, incluido el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC) del análisis de espectros de absorción de FTIR, en base a muestras de PBMC y plasma de pacientes con cáncer colorrectal, sujetos con tumores colorrectales benignos y controles, derivados de acuerdo con algunas solicitudes

65 Las Figuras 8A-D son gráficos que representan el análisis de la información clínica de pacientes con cáncer colorrectal, para muestras de PBMC y muestras de plasma obtenidas de pacientes con cáncer colorrectal de acuerdo con algunas solicitudes.

Las Figuras 9A-D son gráficos que representan el análisis estadístico de muestras de PBMC y muestras de plasma de pacientes con cáncer colorrectal, sujetos con tumores colorrectales premalignos, sujetos con tumores colorrectales benignos y controles, derivados de acuerdo con algunas solicitudes.

5 Las Figuras 10A-E son gráficos que representan los espectros de absorción de FTIR, la segunda derivada de los espectros de absorción, y su análisis, en base a muestras de PBMC de: pacientes con cáncer ginecológico, sujetos con tumores ginecológicos benignos, sujetos embarazadas y controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes

10 Las Figuras 11A-E son gráficos que representan los espectros de absorción de FTIR, la segunda derivada de los espectros de absorción y análisis de estos, en base a muestras de plasma de: pacientes con cáncer ginecológico, sujetos con tumores ginecológicos benignos, sujetos embarazadas y controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes.

15 Las Figuras 12A-B son gráficos que representan el análisis estadístico de los espectros de FTIR de muestras de PBMC y plasma de pacientes con cáncer ginecológico, pacientes con cáncer colorrectal y pacientes con cáncer de mama derivados de acuerdo con algunas solicitudes;

20 Las Figuras 13A-D son gráficos que representan la segunda derivada de los espectros de absorción de FTIR y su análisis, en base a muestras de PBMC y plasma de pacientes con cáncer y controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes.

25 Las Figuras 14A-C son gráficos que representan el análisis estadístico, que incluyen el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC) del análisis de espectros de absorción de FTIR, en base a el análisis de muestras de PBMC y plasma de pacientes con cáncer y controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes

30 Las Figuras 15A-D son ilustraciones esquemáticas de portaobjetos que contienen una muestra biológica que se secó al aire durante 0,5 h bajo flujo laminar a una temperatura de 30 ± 4 C para eliminar el agua de acuerdo con algunas solicitudes en comparación con los portaobjetos que contienen una muestra biológica que se secó al aire durante 0,5 h bajo flujo laminar a una temperatura de 21 C para eliminar el agua; y

35 La Figura 16 es un diagrama de bloques de un sistema para el diagnóstico diferencial de tumores sólidos benignos y malignos, de acuerdo con algunas solicitudes

Descripción detallada de las modalidades

40 Algunas solicitudes comprenden métodos para realizar el diagnóstico diferencial de tumores sólidos benignos y malignos mediante técnicas de microspectroscopía (MSP) FTIR. De acuerdo con algunas solicitudes, la microspectroscopía FTIR se usa para diagnosticar diferencialmente un tumor sólido y un tumor benigno en base a las propiedades bioquímicas de una muestra de sangre y/o plasma de un sujeto. Algunas solicitudes comprenden obtener una muestra de sangre de un sujeto y analizar PBMC y/o plasma de la muestra por técnicas FTIR-MSP para la detección de un tumor sólido maligno o benigno. Típicamente, el plasma sanguíneo y/o una muestra de PBMC de un paciente que tiene un tumor sólido benigno se identifica por presentar espectros de FTIR que son diferentes de los espectros de FTIR producidos por plasma sanguíneo/PBMC de un sujeto que tiene un tumor sólido maligno. Además, se identifica que el plasma sanguíneo y/o una muestra de PBMC de un paciente que padece un tumor sólido benigno exhiben espectros de FTIR que son diferentes de los espectros de FTIR producidos por plasma sanguíneo/PBMC de un sujeto que no padece un tumor sólido maligno o benigno (para algunas solicitudes, el grupo control puede incluir sujetos que padecen una patología que no es un tumor sólido). Por consiguiente, algunas solicitudes proporcionan un método útil para diagnosticar a un paciente con cáncer y distinguir entre un paciente con cáncer y un sujeto con un tumor benigno.

MÉTODOS USADOS EN ALGUNAS MODALIDADES DE LA PRESENTE INVENCION

55 Más abajo en la presente descripción, se describen una serie de protocolos que pueden usarse por separado o en combinación, según sea apropiado, de acuerdo con las solicitudes de la presente invención. Debe apreciarse que los valores numéricos se proporcionan a modo de ilustración y no de limitación. Típicamente, pero no necesariamente, cada valor mostrado es un ejemplo seleccionado de un intervalo de valores que está dentro del 20 % del valor mostrado. De manera similar, aunque determinadas etapas se describen con un alto nivel de especificidad, un experto en la técnica apreciará que pueden realizarse otras etapas, que cambian lo que se deba cambiar.

De acuerdo con algunas solicitudes, se aplicaron los siguientes métodos:

65

Obtención de poblaciones de pacientes y control

Todos los estudios se aprobaron por el Comité de Ética local del Centro Médico Edith Wolfson, Holon, Israel, y el Hospital Beilinson, Israel. Los estudios se realizaron de acuerdo con la Declaración de Helsinki. El personal calificado obtuvo el consentimiento informado de cada individuo que participó en este estudio.

- 5 Una primera población de pacientes incluyó sujetos diagnosticados con tumores sólidos en tejido mamario y gastrointestinal como se establece en la siguiente tabla A:

Tabla A:

		Tejido mamario			Tejido gastrointestinal (colorrectal)			
		Control	Benigno	Cáncer	Control	Benigno	Cáncer	
10	Número de sujetos.	15	15	29	15	14	35	
15	Edad media ± SD	42±14	46±21	60±13	55±16	71±10	67±14	
	Género	Masculino	-	-	-	8	7	19
		Femenino	15	15	29	7	7	16
20	Estadio de la enfermedad	Premaligno	-	-	0	-	-	6
		I	-	-	11	-	-	6
		II	-	-	13	-	-	13
25		III	-	-	2	-	-	8
		IV	-	-	0	-	-	2

- 30 El diagnóstico de cáncer se determinó mediante diagnóstico clínico, quirúrgico, histológico y patológico. El estadio patológico del tumor se determinó de acuerdo con la clasificación de tumor-ganglio-metástasis (TNM), como se describe en "TNM Classification of Malignant Tumours", por Sobin LH. y otros, 7ma Edición, Nueva York: John Wiley, 2009. Los detalles clínicos para pacientes con cáncer de mama y colorrectal se presentan en la Figura 4A.

- 35 Un grupo control (n=15) incluyó voluntarios sanos.

Una segunda población de pacientes incluyó sujetos diagnosticados con tumores sólidos en tejido ginecológico como se establece en la siguiente tabla B:

Tabla B:

		Control	Mama	Gastrointestinal	Pulmón	Otro	
40	Edad media ± SD	52±14	59±12	66±13	59±8	47±15	
45	Género	Masculino	18	0	27	9	3
		Femenino	37	42	24	2	2
50	Estadio de la enfermedad	Pre	0	0	6	0	0
		I	0	11	3	0	1
		II	0	17	13	1	0
		III	0	4	11	3	1
		55	IV	0	1	8	7

- 60 El diagnóstico de cáncer se determinó mediante diagnóstico clínico, quirúrgico, histológico y patológico. El estadio patológico del tumor se determinó de acuerdo con la clasificación de tumor-ganglio-metástasis (TNM), como se describe en "TNM Classification of Malignant Tumours", por Sobin LH. y otros, 7ma Edición, Nueva York: John Wiley, 2009.

Un grupo control (n=28) incluyó voluntarios sanos.

- 65 Un grupo control adicional consistió en mujeres embarazadas (n=11).

Recolección de muestras de sangre

5 Se recogieron 1-2 mL de sangre periférica en tubos de recolección de sangre con EDTA de 5 mL (BD Vacutainer® Tubes, BD Vacutainer, Toronto) de pacientes y controles mediante el uso de procedimientos de flebotomía estandarizados. Las muestras se procesaron dentro de las dos horas posteriores a la recolección.

Extracción de células mononucleares de sangre periférica (PBMC)

10 Se aplicaron leucocitos residuales depletados de plaquetas obtenidos de pacientes con cáncer y controles sanos a gradientes Histopaque 1077 (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EE.UU.) al seguir el protocolo del fabricante para obtener PBMC.

15 Las células se aspiraron de la interfase, se lavaron dos veces con solución salina isotónica (solución de NaCl al 0,9 %) a 500 g durante 7 minutos y se resuspendieron en 10 uL de solución salina isotónica reciente. Las células se diluyeron con solución salina a diferentes concentraciones (respectivamente, por 1x, 2x, 3x, 5x y 6x), y se depositaron 0,4 uL de cada concentración en portaobjetos de seleniuro de zinc (ZnSe) para formar una capa uniforme de células secas. Cabe señalar que puede usarse cualquier otro portaobjetos adecuado, por ejemplo, las mediciones de reflexión pueden llevarse a cabo mediante el uso de un portaobjetos de oro. A continuación, los portaobjetos se secaron al aire durante 0,5 h bajo flujo laminar a una temperatura de 30 ± 4 C para eliminar el agua.
20 Las células secas se evaluaron luego mediante microscopía FTIR.

Aislamiento de plasma de muestras de sangre periférica

25 La sangre de pacientes con cáncer y controles sanos se diluyó 1:1 en solución salina isotónica (solución de NaCl al 0,9 %). La sangre diluida se aplicó cuidadosamente a gradientes Histopaque 1077 (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EE.UU.) en tubos de recolección de 15 mL y se centrifugó a 400 g durante 30 min.

30 Para descartar plaquetas y restos celulares, el plasma se transfirió a tubos eppendorf de 1,5 mL y se centrifugó a 6000 g durante 10 min. Luego, se transfirieron 500 uL de la sección media del plasma a un nuevo tubo eppendorf y se depositaron 0,8 uL de plasma en un portaobjetos de seleniuro de zinc (ZnSe). Cabe señalar que puede usarse cualquier otro portaobjetos adecuado, por ejemplo, las mediciones de reflexión pueden llevarse a cabo mediante el uso de un portaobjetos de oro. El portaobjetos se secó al aire durante 0,5 h bajo flujo laminar a una temperatura de 30 ± 4 C para eliminar el agua. A continuación, el plasma seco se sometió a microscopía FTIR.

Microspectroscopía FTIR

35 La microspectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR-MSP) y las mediciones de adquisición de datos se realizaron mediante el uso del microscopio FTIR Nicolet Centaurus con un detector de telurio de mercurio-cadmio (MCT) enfriado con nitrógeno líquido, acoplado al espectrómetro FTIR Nicolet iS10, mediante el uso del software OMNIC (Nicolet, Madison, WI). Para lograr una alta relación señal a ruido (SNR), se recopilieron 128 exploraciones codificadas en cada medición en la región del número de onda de 700 a 4000 cm^{-1} . El sitio de medición era circular, con un diámetro de 100 μm y una resolución espectral de 4 cm^{-1} (espaciado de datos de 0,482 cm^{-1}). Para reducir la variación del espesor de la muestra de plasma y lograr una comparación adecuada entre diferentes muestras, se adoptaron los siguientes procedimientos:

- 45 1. Cada muestra se midió al menos cinco veces en diferentes lugares.
2. Las velocidades del convertidor analógico a digital (ADC) se eligieron empíricamente entre 2000 y 3000 recuentos/s (lo que proporciona áreas de medición con densidad de material similar).
- 50 3. Los espectros obtenidos se corrigieron en la línea base mediante el uso del método de la banda elástica, con 64 puntos consecutivos, y se normalizaron mediante el uso de la normalización vectorial en el software OPUS como se describe en un artículo titulado "Early spectral changes of cellular malignant transformation using Fourier transformation infrared microspectroscopy", por Bogomolny y otros, 2007. J Biomed Opt. 12:024003.

55 Con el fin de obtener valores de absorción precisos en un número de onda dado con una mínima interferencia de fondo, se usaron los espectros de la segunda derivada para determinar las concentraciones de biomoléculas de interés. Este método es susceptible a cambios en FWHM (ancho completo a la mitad del máximo) de las bandas IR. Sin embargo, en el caso de muestras biológicas, todas las muestras (plasma) del mismo tipo están compuestas por
60 componentes básicos similares, que dan bandas relativamente anchas. Por lo tanto, es posible ignorar en general los cambios en la banda FWHM, como se describe en un artículo titulado "Selenium alters the lipid content and protein profile of rat heart: An FTIR microspectroscopy study", por Toyran y otros, Arch.Biochem.Biophys. 2007 458:184-193.

Procesamiento de espectros y análisis estadístico

El espectro IR refleja los datos bioquímicos de la muestra medida. Para distinguir entre grupos de cáncer y control, se seleccionaron secciones específicas del intervalo seleccionado de los espectros según lo determinado por la prueba T. Las diferencias se consideraron significativas a $P < 0,05$. La reducción de datos se implementó por el análisis de componentes principales (PCA). Si cada uno de los números de onda se considera una dirección, entonces la técnica de PCA buscó nuevas direcciones en los datos que tienen la varianza más grande y posteriormente proyectó los datos en un nuevo espacio multidimensional. Después del PCA, se realizó el análisis discriminante lineal de Fisher (FLDA) para clasificar entre grupos de cáncer y control. Se usó la validación cruzada dejando uno fuera (LOOCV), que es un método común en el análisis espectral FTIR, para evaluar el rendimiento del clasificador. Los datos se verificaron mediante métodos analíticos adicionales no supervisados, tal como el análisis de grupos, mediante el uso del método de Ward y distancias euclidianas para verificar aún más el análisis (STATISTICA, StatSoft, Tulsa, OK).

DATOS EXPERIMENTALES

Los experimentos descritos más abajo en la presente descripción se realizaron por los inventores de acuerdo con algunas solicitudes y mediante el uso de las técnicas descritas anteriormente en la presente descripción.

Los experimentos presentados más abajo en la presente descripción con referencia a los ejemplos 1-4 demuestran que, de acuerdo con algunas solicitudes, el análisis de muestras de PBMC y/o muestras de plasma por técnicas FTIR-MSP puede usarse para el diagnóstico diferencial de tumores sólidos benignos y malignos en base al patrón espectral de FTIR-MSP en los números de onda seleccionados.

Ejemplo 1

En un conjunto de experimentos, se realizó el diagnóstico diferencial de tumores de mama benignos y tumores de mama malignos en base a un patrón espectral de FTIR-MSP en números de onda seleccionados de muestras de PBMC.

De acuerdo con las solicitudes, se analizaron muestras de PBMC de 15 controles sanos por FTIR-MSP, y se estableció un patrón espectral de FTIR-MSP típico para las PBMC control. Además, las muestras de PBMC de 29 pacientes con cáncer de mama se sometieron a análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP control. Además, análisis de MSP y comparación con el patrón espectral de FTIR-MSP de control y con el patrón espectral de FTIR-MSP de cáncer de mama. Las muestras de PBMC se obtuvieron mediante procesamiento preliminar de la sangre periférica, de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente en la presente descripción con referencia a la extracción de células mononucleares de sangre periférica (PBMC). A continuación, las muestras de PBMC se analizaron por FTIR-MSP, de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente en la presente descripción con referencia a FTIR-MSP.

Se hace referencia a las Figuras 1A-D, que son gráficos que representan los espectros de absorción de FTIR y la segunda derivada de los espectros de absorción y análisis de estos, para muestras de PBMC de 29 pacientes con cáncer de mama, 15 sujetos con tumores benignos en tejido mamario y 15 controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes

La Figura 1A muestra los espectros de absorción de FTIR-MSP promedio de muestras de PBMC de controles sanos, sujetos con tumores de mama benignos y pacientes con cáncer de mama en las regiones de 700-1800 cm^{-1} , después de la corrección de la línea base y la normalización del vector. Cada espectro representa el promedio de cinco mediciones en diferentes sitios para cada muestra. Los espectros están compuestos por varias bandas de absorción, cada una de las cuales corresponde a grupos funcionales específicos de macromoléculas específicas como lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos. Generalmente, el espectro FTIR se analiza típicamente al seguir los cambios frente al control en la absorción (intensidad y/o cambio) de estas macromoléculas.

La tabla C representa algunas de las principales bandas de absorción IR para células PBMC y sus correspondientes grupos funcionales moleculares:

Tabla C:

Número de onda (cm-1 ± 4)	Asignación
2958	ν_{as} CH ₃ , principalmente proteínas, lípidos
2922	ν_{as} CH ₂ , principalmente lípidos, proteínas
2873	ν_s CH ₃ , principalmente proteínas, lípidos
2854	ν_s CH ₂ , principalmente lípidos, proteínas
~1,656	Amida I ν C=O (80 %), ν C-N (10 %), δ N-H
~1,546	Amida II δ N-H (60 %), ν C-N (40 %)
1400	ν COO ⁻ , δ s CH ₃ lípidos, proteínas
1313	Componentes de la banda amida III de las proteínas
1240	ν_{as} PO ₂ ⁻ , grupos fosfodiéster de ácidos nucleicos
1170	Bandas de C-O de glucomateriales y proteínas
1155	ν C-O de proteínas y carbohidratos
1085	ν_s PO ₂ de ácidos nucleicos, fosfolípidos, proteínas
1053	ν C-O y δ C-O de carbohidratos
996	C-C y C-O de ribosa de ARN
967	C-C y C-O de movimientos esqueléticos de desoxirribosa de ADN
780	conformación Z de azúcar-fosfato de ADN
740	ν N=H de timina

Se hace referencia a la Figura 1B. Con el fin de lograr una comparación eficaz entre las muestras de PBMC de los pacientes con cáncer de mama, sujetos con tumores de mama benignos y los controles, se usó la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP normalizados por vector y corregidos por la línea base. Los resultados se presentan en la Figura 1B. Como se muestra en el análisis de espectros de la segunda derivada, los espectros de las muestras de PBMC de los pacientes con cáncer de mama difieren significativamente de los espectros de las muestras de PBMC tanto de los sujetos con tumores de mama benignos como de los controles, en la región espectral de 1140 cm-1.

La media \pm error estándar de la media SEM para cada uno de los conjuntos de datos (sano, benigno, cáncer de mama) está representado por el grosor de las líneas del gráfico que representan los grupos sano, benigno y de cáncer de mama, de acuerdo con la leyenda de la Figura, como se muestra en la Figura 1B.

Se hace referencia a las Figuras 1C-D, que son gráficos que representan valores de la segunda derivada de los espectros de absorción de muestras de PBMC de sujetos con tumores de mama benignos en comparación con muestras de PBMC de pacientes con cáncer y/o a muestras de PBMC de controles sanos (indicados como sanos en las figuras), derivado de acuerdo con algunas solicitudes se realizó un análisis estadístico y se proporcionan los valores p. Como se muestra:

a) La segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de muestras de PBMC de los pacientes con cáncer de mama difirió significativamente de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de las PBMC de controles sanos;

b) La segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de muestras de PBMC de los pacientes con cáncer de mama difirió significativamente de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de las PBMC de sujetos con un tumor de mama benigno; y

c) La segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de muestras de PBMC de los sujetos con un tumor de mama benigno difirió significativamente de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de PBMC de controles sanos.

La tabla D enumera los números de onda que se identificaron en este conjunto de experimentos como se presenta en las Figuras 1A-D. Típicamente, las muestras de PBMC se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de

estos números de onda para distinguir entre: a) pacientes de control sanos y con cáncer de mama; b) control sano y sujetos con tumores benignos de mama; y c) pacientes con cáncer de mama y sujetos con tumores de mama benignos. Para algunas solicitudes, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla D. Alternativamente, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla D.

Tabla D:

	Control sano frente a Benigno Número de onda (cm-1 ± 4)			Control sano frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)			Benigno frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)		
10	712,1	928,6	1537,5	711,6	1459,4	1608,3	729,0	1173,0	1542,3
	725,6	945,9	1544,2	838,9	1465,2	1616,1	753,1	1181,7	1548,1
15	745,8	963,3	1612,7	946,9	1473,3	1618,9	758,9	1197,6	1559,2
	758,9	1027,9	1632,9	1010,5	1498,4	1626,2	847,1	1253,5	1576,5
	773,8	1077,5	1644,0	1082,4	1501,8	1635,3	870,2	1341,7	1602,1
20	784,9	1116,1	1702,4	1100,7	1507,1	1641,1	882,8	1372,1	1612,7
	793,6	1129,6	1712,0	1115,1	1512,4	1645,5	1003,8	1423,2	1627,1
	798,4	1182,6	1778,5	1140,7	1524,9	1647,9	1011,0	1437,2	1637,3
25	803,7	1196,6		1176,8	1528,3	1653,2	1023,5	1449,2	1642,1
	837,4	1213,0		1213,0	1532,2	1658,5	1034,1	1466,1	1654,1
	845,2	1238,6		1254,0	1535,5	1674,4	1047,2	1475,3	1659,9
	862,5	1271,8		1278,6	1542,8	1684,5	1071,7	1498,9	1667,6
30	871,2	1278,1		1366,3	1548,1	1693,2	1080,9	1502,3	1678,7
	882,3	1292,6		1437,2	1551,9	1698,5	1128,2	1509,0	1709,6
				1443,0	1559,6	1701,4			
35	897,7	1320,0		1453,1	1568,8	1762,1	1141,7	1524,9	1730,8
	903,5	1332,6					1158,0	1536,0	

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla D se usan para diferenciar entre la ausencia de un tumor y un tumor de mama maligno: 1140,7 ± 4 cm-1, 1254,0 ± 4 cm-1, 1473,3 ± 4 cm-1, 1551,9 ± 4 cm-1, 1635,3 ± 4 cm-1 y 1658,5 ± 4 cm-1.

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla D se usan para diferenciar entre la ausencia de un tumor y un tumor de mama benigno: 837,4 ± 4 cm-1, 1027,9 ± 4 cm-1, 1182,6 ± 4 cm-1, 1213,0 ± 4 cm-1, 1278,1 ± 4 cm-1, 1544,2 ± 4 cm-1.

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla D se usan para diferenciar entre un tumor de mama maligno y un tumor de mama benigno: 1011,0 ± 4 cm-1, 1071,7, 1141,7 ± 4 cm-1, 1158,0 ± 4 cm-1, 1181,7 ± 4 cm-1, 1502,3 ± 4 cm-1.

Ejemplo 2

En un conjunto de experimentos, el diagnóstico diferencial de tumores de mama benignos y tumores de mama malignos se realizó en base a un patrón espectral de FTIR-MSP de muestras de plasma a números de onda seleccionados.

De acuerdo con las solicitudes, se analizaron muestras de plasma de 15 controles sanos por FTIR-MSP y se estableció un patrón espectral típico de FTIR-MSP para el plasma control. Además, las muestras de plasma de 29 pacientes con cáncer de mama se sometieron a análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP de control. Además, las muestras de plasma de 15 sujetos con un tumor benigno en tejido mamario se sometieron a análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP de control y con el patrón espectral de FTIR-MSP de cáncer de mama. Las muestras de plasma se obtuvieron mediante el procesamiento preliminar de la sangre periférica de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente en la presente descripción con referencia al aislamiento de plasma a partir de muestras de sangre periférica. A continuación, las muestras de plasma sanguíneo se analizaron por FTIR-MSP, de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente en la presente descripción con referencia a FTIR-MSP.

Se hace referencia a las Figuras 2A-D, que son gráficos que representan los espectros de absorción de FTIR y la segunda derivada de los espectros de absorción y análisis de estos, para muestras de plasma de 29 pacientes con cáncer de mama, 15 sujetos con tumores benignos en tejido mamario y 15 controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes

5 La Figura 2A muestra los espectros de absorción de FTIR-MSP promedio de muestras de plasma de controles sanos, sujetos con tumores de mama benignos y pacientes con cáncer de mama en las regiones de 700 - 1800 cm^{-1} , después de la corrección de la línea base y la normalización del vector. Cada espectro representa el promedio de cinco mediciones en diferentes sitios para cada muestra. Los espectros se componen de varias bandas de absorción, cada una correspondiente a grupos funcionales específicos de macromoléculas específicas tales como lípidos, proteínas y carbohidratos/ácidos nucleicos. Generalmente, el espectro FTIR se analiza típicamente al seguir los cambios en la absorción (intensidad y/o desplazamiento) de estas macromoléculas.

15 Se hace referencia a la Figura 2B. Con el fin de lograr una comparación eficaz entre las muestras de plasma de los pacientes con cáncer de mama, sujetos con tumores de mama benignos y los controles, se usó la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP normalizados por vector y corregidos por la línea base. Los resultados se presentan en la Figura 2B. Como se muestra en el análisis de espectros de la segunda derivada, los espectros de las muestras de plasma de los pacientes con cáncer de mama difieren significativamente de los espectros de las muestras de plasma tanto de los sujetos con tumores de mama benignos como de los controles, en la región espectral de 1659 cm^{-1} y 1653 cm^{-1} .

20 La media \pm SEM para cada uno de los conjuntos de datos (sano, benigno, cáncer de mama) se representa mediante el grosor de las líneas del gráfico que representan los grupos sano, benigno y de cáncer de mama, de acuerdo con la leyenda de la Figura, como se muestra en la Figura 2B.

25 Se hace referencia a las Figuras 2C-D, que son gráficos que representan valores de la segunda derivada de los espectros de absorción de muestras de plasma de sujetos con tumores de mama benignos en comparación con muestras de plasma de pacientes con cáncer y/o muestras de plasma de controles sanos, derivado de acuerdo con algunas solicitudes se realizó un análisis estadístico y se proporcionan los valores p. Como se muestra:

30 a) La segunda derivada de las muestras de plasma de los pacientes con cáncer de mama difirió significativamente del análisis de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP del plasma de controles sanos;

35 b) La segunda derivada de las muestras de plasma de los pacientes con cáncer de mama difirió significativamente del análisis de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP del plasma de sujetos con un tumor de mama benigno; y

40 c) La segunda derivada de las muestras de plasma de los sujetos con un tumor de mama benigno difirió significativamente del análisis de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP del plasma de controles sanos.

45 La tabla E1 enumera los números de onda que se identificaron en este conjunto de experimentos como se presenta en las Figuras 2A-D. Típicamente, las muestras de plasma se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para distinguir entre: a) pacientes de control y de cáncer de mama; b) control y sujetos con tumores de mama benignos; y c) pacientes con cáncer de mama y sujetos con tumores de mama benignos. Para algunas solicitudes, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla E1. Alternativamente, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla E1.

Tabla E1:

	Control sano frente a Benigno Número de onda (cm-1 ± 4)		Control sano frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)			Benigno frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)		
5	724,1	1286,3	723,7	1153,2	1528,3	713,5	1512,4	1674,9
	761,3	1300,3	728,0	1180,7	1532,2	726,5	1525,4	1698,5
	768,5	1310,9	746,8	1200,5	1534,6	740,5	1528,8	1736,1
10	897,7	1325,3	752,6	1232,8	1542,3	756,0	1532,2	1748,6
	924,7	1343,7	769,9	1250,6	1547,1	761,7	1535,1	1754,4
	943,5	1349,0	840,8	1279,1	1551,9	772,8	1542,3	1758,8
15	959,9	1388,0	883,2	1288,2	1559,6	867,8	1547,1	1765,5
	980,6	1396,2	916,5	1305,1	1584,2	1020,2	1552,9	1770,8
	989,3	1402,5	925,7	1312,8	1612,2	1200,5	1560,1	1776,1
20	1013,4	1411,2	943,0	1326,8	1619,4	1249,2	1565,9	1780,5
	1032,7	1425,6	958,9	1342,2	1626,7	1267,0	1569,8	1785,8
	1049,1	1453,6	965,2	1350,9	1635,8	1330,6	1612,2	1790,6
						1355,2	1616,1	
25	1054,9	1466,6	980,6	1386,6	1637,3	1378,9	1619,4	
	1089,6	1581,3	990,7	1406,8	1645,9	1427,1	1626,7	
	1117,5	1587,1	1021,6	1424,2	1652,7	1437,7	1634,9	
30	1134,4	1731,3	1033,7	1429,5	1659,9	1443,9	1641,1	
	1146,0	1741,9	1081,4	1453,6	1667,6	1467,6	1645,9	
	1152,3	1752,0	1088,6	1480,1	1673,9	1474,3	1647,9	
	1169,6	1757,3	1094,9	1498,4	1699,0	1479,6	1653,2	
35	1255,4	1768,9	1101,6	1502,3	1741,9	1494,6	1659,4	
	1266,5	1779,5	1118,0	1512,4	1756,8	1502,3	1667,6	
	1279,1		1146,5	1524,9	1767,9			

40 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla E1 se usan para diferenciar entre la ausencia de un tumor y un tumor de mama benigno: 761,3 ± 4 cm-1, 1117,5 ± 4 cm-1, 1152,3 ± 4 cm-1, 1310,9 ± 4 cm-1, 1388,0 ± 4 cm-1 y 1453,6 ± 4 cm-1.

45 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla E1 se usan para diferenciar entre la ausencia de un tumor y un tumor de mama maligno: 925,7 ± 4 cm-1, 1153,2 ± 4 cm-1, 1200,5 ± 4 cm-1, 1350,9 ± 4 cm-1, 1453,6 ± 4 cm-1, 1637,3 ± 4 cm-1.

50 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla E1 se usan para diferenciar entre un tumor de mama maligno y un tumor de mama benigno: 761,7 ± 4 cm-1, 1020,2 ± 4 cm-1, 1249,2 ± 4 cm-1, 1560,1 ± 4 cm-1, 1647,9 ± 4 cm-1, 1736,1 ± 4 cm-1.

55 Ahora se hace referencia a las Figuras 1A-D, Figuras 2A-D y las Figuras 3A-G. Las Figuras 3A-G son gráficos que representan el análisis estadístico, incluido el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC) de espectros de absorción de FTIR, en base a muestras de PBMC y plasma de pacientes con cáncer de mama, sujetos con tumores de mama benignos y controles, como se muestra en las Figuras 1A-D y las Figuras 2A-D.

60 Las Figuras 3A-C muestran el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC), incluido el área bajo la curva (AUC), de PBMC (Figura 3A) y plasma (Figura 3B) de controles sanos en comparación con los sujetos con tumores de mama benignos. Como se muestra, el uso combinado de las muestras de plasma y PBMC (Figura 3C) aumentó la sensibilidad y la especificidad para el diagnóstico de un tumor de mama benigno.

65 Las Figuras 3D-F muestra el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC), incluido el área bajo la curva (AUC), de PBMC (Figura 3D) y plasma (Figura 3E) de pacientes con cáncer de mama en comparación con los sujetos con tumores de mama benignos. Como se muestra, el uso combinado de las muestras de plasma y PBMC

(Figura 3F) aumentó la sensibilidad y la especificidad para distinguir entre un tumor de mama benigno y un tumor de mama maligno.

5 La Figura 3G muestra el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC), incluido el área bajo la curva (AUC), del uso combinado de muestras de plasma y PBMC de pacientes con cáncer de mama, en comparación con los sujetos con tumores de mama benignos y controles sanos. Los valores de sensibilidad y especificidad se presentan en la Figura 3G.

10 La Figura 3H representa el análisis de grupos de acuerdo con el método de Ward de pacientes con cáncer de mama, los sujetos con tumores de mama benignos y los controles sanos, de acuerdo con algunas solicitudes. El análisis de datos de la segunda derivada que se muestra en las Figuras 2B-D se usó como entrada para el análisis de grupos. La Figura 3H muestra una distinción entre (a) pacientes con cáncer y (b) sujetos con tumores de mama benignos y controles sanos (el grupo benigno y los controles sanos muestran una mayor similitud).

15 La tabla E2 representa los datos correspondientes a los números en la Figura 3H.

Tabla E2

1	CÁNCER23	30	HGDISP
2	CÁNCER22	31	H4
3	CÁNCER21	32	H14
4	CÁNCER13	33	BEN8
5	BEN6	34	H13
6	CÁNCER17	35	BEN12
7	CÁNCER14	36	BEN 14
8	CÁNCER24	37	H12
9	H6	38	H10
10	CÁNCER 11	39	H9
11	CÁNCER20	40	CÁNCER28
12	H5	41	H11
13	CÁNCER27	42	H8
14	CÁNCER19	43	BEN13
15	CÁNCER25	44	BEN11
16	CÁNCER18	45	BEN1
17	CÁNCER15	46	CÁNCER2
18	CÁNCER6	47	BEN9
19	BEN7	48	BEN3
20	BEN5	49	BEN15
21	CÁNCER9	50	BEN2
22	CÁNCER 16	51	BEN10
23	CÁNCER5	52	CÁNCER8
24	CÁNCER7	53	H3
25	CÁNCER1	54	CÁNCER26
26	CÁNCER3	55	BEN4
27	H7	56	H2
28	CÁNCER12	57	CÁNCER4
29	CÁNCER 10	58	H1

Ahora se hace referencia a las Figuras 4A-D y tabla E3 que incluyen información clínica para 23 pacientes con cáncer de mama y análisis de muestras de PBMC (Figuras 4A-B) y muestras de plasma (Figuras 4C-D) obtenidas de pacientes con cáncer de mama de acuerdo con algunas solicitudes.

5 La tabla E3 es una tabla que representa los datos clínicos de 23 pacientes femeninas con cáncer de mama que participaron en los estudios descritos en la presente descripción. En la tabla E3:

Columna "Ubicación en el órgano principal": "R" representa la mama derecha y "L" representa la mama izquierda

10 Columna de patología: "M" representa maligno y "U" representa indeterminado

Columna de tipo de malignidad: "IDC" representa el carcinoma ductal infiltrante y "ILC" representa el carcinoma lobular infiltrante.

15 "LN" significa ganglio linfático

"MS" significa "tamaño de masa" (en mm)

"#m" significa "número de masas"

20

Tabla E3

Edad	Ubicación en el órgano principal	MS	# m	# LN	# LN positivos	Margen	Invasión vascular	Patología	Estadio					Tipo de malignidad
									T	N	M	S	No	
39	L	20	8	14	2	R1	Sí	M	1	1	0	2	a	IDC
51	L	75	1	3	0	R0	No	M	3	0	0	2	b	ILC
62	L	21	2	4	0	R0	No	M	2	0	0	2	a	IDC
55	R	15	1	9	2	R0	No	M	1	1	0	2	a	IDC
71	R	8	1	3	0	R0	NA	M	1	0	0	1	a	IDC
77	R	25	1	2	0	R0	NA	M	2	0	0	2	a	ILC
68	L	20	2	4	0	R0	NA	M	1	0	0	1	a	Carcinoma mucinoso (coloide)
69	L	18	1	3	0	R0	Sí	M	1	0	0	1	a	IDC
62	R	10	1	6	0	R0	NA	M	1	0	0	1	a	IDC
42	L	25	NA	21	13	R0	No	M	2	3	0	3	c	IDC + ILC
69	R	NA	1	8	0	R0	No	U						Carcinoma ductal in situ (DCIS)
29	R	10	1	3	0	R0	No	M	1	0	0	1	a	IDC
51	L	28	1	34	6	R0	Sí	M	2	2	0	3	a	IDC
70	L	7	2	5	0	R0	NA	M	1	0	0	1	a	ILC + Mucinoso
57	L	NR	NR	11	0	NR	NR	M	2	0	0	2	a	IDC
47	R	33	1	10	0	R0	Sí	M	2	0	0	2	a	IDC
51	L	9	1	4	0	R0	NA	M	1	0	0	1	a	IDC
60	L	45	1	NA	NA	R0	NA	M	2	0	0	2	a	IDC
67	R	13	1	3	0	R0	No	M	1	0	0	1	a	IDC
71	R	10	1	9	0	R0	No	M	1	0	0	1	a	ILC
58	R	5	1	1	0	R0	NA	M	1	0	0	1	a	ILC
63	L	20	1	9	1	R0	NA	M	1	1	0	2	a	IDC
66	R	18	2	2	0	R0	Sí	M	1	0	0	1	a	IDC

5 Las Figuras 4A-B son gráficos que representan el análisis de diversos parámetros clínicos de los pacientes con cáncer de mama según se deriva de la tabla E3. Se realizó un análisis estadístico y se proporcionan los valores p. Se evaluó el efecto de los siguientes parámetros sobre las PBMC de pacientes con cáncer de mama: tamaño de la masa, número de masas, ganglios linfáticos positivos (NL), tipo de malignidad, invasión vascular y distinción entre el estadio 1 y el estadio 2 de la enfermedad. Como se muestra, de acuerdo con algunas solicitudes es posible identificar un patrón específico para cada parámetro clínico en los espectros de FTIR obtenidos de muestras de PBMC.

10 La tabla F enumera los números de onda que se identificaron en el conjunto de experimentos como se presentan en las Figuras 4A-B. Típicamente, las muestras de PBMC se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para identificar el efecto de los siguientes parámetros clínicos en las muestras de PBMC de pacientes con cáncer de mama: tamaño de la masa, número de masas, ganglios linfáticos positivos (NL), tipo de malignidad, invasión vascular y distinción entre el estadio 1 y el estadio 2 de la enfermedad. Para algunas solicitudes, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla F. Alternativamente, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla F:

Tabla F

Tipo de malignidad		Estadio	Invasión vascular	Núm. de LN positivos	Núm. de masas	Tamaño de la masa (mm)
729,9	1353,8	717,4	712,6	717,4	734,3	746,3
737,2	1393,8	794,0	810,9	761,3	752,6	753,5
750,7	1398,6	801,3	892,9	777,7	769,0	803,2
774,8	1441,5	817,7	1261,2	825,9	807,5	818,2
785,4	1451,7	823,9	1306,1	832,1	884,7	824,9
848,0	1458,4	830,7	1317,1	885,2	899,1	831,7
855,8	1484,4	920,8	1324,9	1097,3	911,7	864,0
865,4	1494,6	925,7	1377,9	1136,3	929,0	881,3
870,7	1529,3	931,4	1410,2	1168,7	1001,8	919,9
892,9	1548,6	940,6	1449,7	1277,1	1022,1	958,4
902,0	1597,3	996,1	1461,3	1286,8	1106,9	1058,7
908,3	1604,0	1033,7	1489,7	1293,0	1172,5	1136,3
912,2	1614,6	1064,5	1499,4	1319,6	1250,1	1231,3
928,1	1649,3	1122,9	1503,7	1324,9	1259,3	1246,3
957,5	1663,3	1139,7	1510,0	1360,5	1292,6	1281,0
963,8	1709,6	1161,9	1549,5	1368,7	1344,6	1394,8
1012, 9	1725,5	1185,0	1648,4	1382,2	1353,3	
1020, 2	1729,8	1218,8	1753,0	1397,7	1376,9	
1058, 7	1745,7	1288,2	1762,6	1417,9	1392,4	
1080, 4	1751,5	1323,9	1769,4	1422,7	1409,2	
1098, 3	1762,6	1363,4	1780,5	1430,4	1450,2	
1148, 9	1775,2	1405,4	1785,3	1484,4	1456,0	
1152, 3	1780,5	1502,3	1791,1	1520,6	1461,8	
1168, 7	1785,8	1508,5		1725,5	1473,8	
1192, 3		1593,4		1745,7	1534,6	
1241, 9					1539,9	
1247, 7					1560,1	

(Continuación)

	Tipo de malignidad	Estadio	Invasión vascular	Núm. de LN positivos	Núm. de masas	Tamaño de la masa (mm)
5	1270, 4				1565,9	
	1307, 0				1596,3	
	1318, 6				1632,0	
10	1326, 3				1654,6	
	1337, 9				1660,9	
	1343, 2				1763,1	

15 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla F se usan para identificar en muestras de PBMC un patrón espectral distinto causado por el tipo de malignidad del tumor de mama: $785,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $848,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1012,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1080,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1148,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1451,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

20 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla F se usan para distinguir entre el estadio 1 y estadio 2 de los tumores de mama malignos: $717,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $801,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $823,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $920,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1405,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

25 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla F se usan para identificar en muestras de PBMC un patrón espectral distinto causado por la invasión vascular de un tumor de mama: $1306,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1489,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1503,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1648,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1762,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

30 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla F se usan para identificar en muestras de PBMC un patrón espectral distinto causado por el número de ganglios linfáticos positivos de un paciente con cáncer de mama: $717,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $825,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1097,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1293,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1417,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1520,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

35 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla F se usan para identificar en muestras de PBMC un patrón espectral distinto causado por el número de masas de un paciente con cáncer de mama: $752,6 \text{ cm}^{-1}$, $769,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $899,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $911,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1353,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1450,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

40 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla F se usan para identificar en muestras de PBMC un patrón espectral distinto causado por el tamaño de la masa (mm) del tumor de mama: $746,3 \text{ cm}^{-1}$, $818,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $919,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1136,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1394,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

45 Las Figuras 4C-D son gráficos que representan el análisis de diversos parámetros clínicos de los pacientes con cáncer de mama según se deriva de la tabla E3. Se realizó un análisis estadístico y se proporcionan los valores p. Como se muestra, de acuerdo con algunas solicitudes es posible identificar un patrón espectral distinto en el análisis FTIR de muestras de plasma que se produce en respuesta a, al menos, uno de los siguientes parámetros: tamaño de la masa, número de masas, ganglios linfáticos positivos (NL), tipo de malignidad, invasión vascular y distinción entre el estadio 1 y el estadio 2 de la enfermedad.

50 La tabla G enumera los números de onda que se identificaron en este conjunto de experimentos como se presenta en las Figuras 4C-D. Típicamente, las muestras de plasma se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para identificar los siguientes parámetros en base a muestras de plasma de pacientes con cáncer de mama: tamaño de la masa, número de masas, ganglios linfáticos positivos (NL), tipo de malignidad, invasión vascular y distinción entre el estadio 1 y el estadio 2 de la enfermedad. Para algunas solicitudes, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla G.

55 Alternativamente, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla G:

Tabla G:

Tipo de malignidad	Estadio	Invasión vascular	Núm. de LN positivos	Núm. de masas	Tamaño de la masa (mm)
775,7	729,4	712,6	726,5	766,1	753,1
790,7	757,9	813,3	746,3	792,1	757,9
830,2	763,7	836,5	892,4	837,0	781,5
866,8	780,5	843,2	927,1	856,7	799,3
897,7	797,9	850,9	1023,5	893,4	814,3
922,8	803,2	876,5	1174,9	915,1	890,5
951,2	809,0	902,0	1202,4	931,0	914,1
1070,8	815,7	913,6	1212,5	949,3	922,8
1116,6	825,4	932,4		991,7	946,9
1166,7	831,7	945,4		1021,1	1055,8
1211,6	852,9	1014,9		1043,3	1072,7
1266,5	883,2	1089,1		1073,7	1117,5
1317,6	889,5	1105,0		1102,1	1147,9
1447,3	890,0	1120,4		1116,6	1180,7
1466,6	907,8	1129,1		1156,1	1206,3
1561,6	954,6	1138,3		1173,0	1226,0
1569,3	961,8	1145,5		1179,7	1397,2
1692,7	968,6	1150,8		1206,3	1608,8
1699,5	979,2	1173,0		1235,7	1626,2
1712,0	985,0	1211,1		1266,5	
1717,8	997,0	1237,6		1292,1	
1736,6	1012,9	1244,8		1317,1	
1740,9	1024,0	1266,5		1328,2	
1761,2	1040,4	1280,5		1387,5	
	1057,8	1291,1		1414,0	
	1077,5	1316,2		1430,9	
	1095,4	1328,2		1453,1	
	1110,8	1332,6		1459,4	
	1134,9	1380,3		1491,7	
	1147,0	1412,1		1497,0	
	1190,8	1424,2		1499,9	
	1201,0	1430,9		1504,7	
	1224,1	1445,9		1527,3	
	1255,0	1529,8		1567,4	
	1264,6	1578,9		1579,4	
	1271,8	1611,2		1589,1	
	1282,9	1621,4		1608,3	
	1344,1	1642,6		1613,6	

(Continuación)

Tipo de malignidad	Estadio	Invasión vascular	Núm. de LN positivos	Núm. de masas	Tamaño de la masa (mm)
5 10 15 20	1366,3	1678,2			
	1373,6	1737,1			
	1427,1				
	1438,6				
	1512,9				
	1546,6				
	1553,9				
	1560,6				
	1572,7				
25	1609,3				
	1616,5				
	1662,3				

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla G se usan para identificar en muestras de plasma un patrón espectral distinto causado por un tipo de malignidad del tumor de mama: $775,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $897,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $922,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1070,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1447,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1569,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla G se usan para distinguir entre el estadio 1 y estadio 2 de los tumores de mama malignos: $763,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $809,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $889,5 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $961,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1255,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1190,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla G se usan para identificar en muestras de plasma un patrón espectral distinto causado por la invasión vascular de un tumor de mama: $843,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $876,5 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1145,5 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1316,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1328,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1412,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1578,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla G se usan para identificar en muestras de plasma un patrón espectral distinto causado por el número de ganglios linfáticos positivos de un paciente con cáncer de mama: $746,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $892,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $927,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1023,5 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1174,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla G se usan para identificar en muestras de plasma un patrón espectral distinto causado por el número de masas de un paciente con cáncer de mama: $856,7 \text{ cm}^{-1}$, $1043,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1116,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1235,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1387,5 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1504,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1608,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla G se usan para identificar en muestras de plasma un patrón espectral distinto causado por el tamaño de la masa (mm) del tumor de mama: $781,5 \text{ cm}^{-1}$, $922,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $946,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1072,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1147,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1206,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

Ejemplo 3

En un conjunto de experimentos, se realizó el diagnóstico diferencial de tumores gastrointestinales benignos (específicamente colorrectales) y tumores gastrointestinales malignos y premalignos en base a un patrón espectral de FTIR-MSP en un intervalo de números de onda de muestras de PBMC.

De acuerdo con las solicitudes, se analizaron muestras de PBMC de 15 controles sanos por FTIR-MSP y se estableció un patrón espectral de FTIR-MSP típico para las PBMC de control. Además, las muestras de PBMC de 36 pacientes con cáncer colorrectal se sometieron a análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP control. Además, las muestras de PBMC de 14 sujetos con un tumor benigno en tejido colorrectal se sometieron a análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP de control y con el patrón espectral de FTIR-MSP de cáncer colorrectal. Las muestras de PBMC se obtuvieron mediante procesamiento preliminar de la sangre periférica, de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente en la presente descripción

con referencia a la extracción de células mononucleares de sangre periférica (PBMC). A continuación, las muestras de PBMC se analizaron por FTIR-MSP, de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente en la presente descripción con referencia a FTIR-MSP.

5 Para el propósito del conjunto de experimentos gastrointestinales, los 36 pacientes con cáncer colorrectal incluyeron pacientes con condiciones pre-malignas, típicamente displasia de alto grado. Como se muestra más abajo en la presente descripción, algunas solicitudes permiten distinguir entre pacientes con una afección gastrointestinal premaligna (por ejemplo, un tumor que presenta alta displasia) y pacientes con un tumor maligno en el tejido gastrointestinal.

10 Se hace referencia a las Figuras 5A-D, que son gráficos que representan los espectros de absorción de FTIR y la segunda derivada de los espectros de absorción y análisis de estos, para muestras de PBMC de 36 pacientes con cáncer colorrectal, 14 sujetos con tumores colorrectales benignos y 15 controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes de la presente invención.

15 La Figura 5A muestra los espectros de absorción de FTIR-MSP promedio de muestras de PBMC de controles sanos, sujetos con tumores colorrectales benignos y pacientes con cáncer gastrointestinal en las regiones de 700 - 1800 cm^{-1} , después de la corrección de la línea base y la normalización del vector. Cada espectro representa el promedio de cinco mediciones en diferentes sitios para cada muestra. Los espectros se componen de varias bandas de absorción, cada una correspondiente a grupos funcionales específicos de macromoléculas específicas tales como lípidos, proteínas y carbohidratos/ácidos nucleicos. Generalmente, el espectro FTIR se analiza típicamente al seguir los cambios en la absorción (intensidad y/o desplazamiento) de estas macromoléculas.

25 Se hace referencia a la Figura 5B. Para lograr una comparación eficaz entre las muestras de PBMC de los pacientes con cáncer colorrectal, los sujetos con tumores colorrectales benignos y los controles, se usó la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP normalizados por vector y corregidos por la línea base. Los resultados se presentan en la Figura 5B. Como se muestra en el análisis de espectros de la segunda derivada, las muestras de PBMC de los sujetos con un tumor benigno diferían significativamente de los espectros de las muestras de PBMC tanto de los sujetos con tumores malignos como de los controles, en la región espectral de 1485 cm^{-1} y 1490 cm^{-1} .

30 La media \pm SEM para cada uno de los conjuntos de datos (sano, benigno, cáncer colorrectal) se representa mediante el grosor de las líneas del gráfico que representan los grupos sano, benigno y cáncer colorrectal, de acuerdo con la leyenda de la Figura, como se muestra en la Figura 5B.

35 Se hace referencia a las Figuras 5C-D, que son gráficos que representan valores de la segunda derivada de los espectros de absorción de muestras de PBMC de sujetos con tumores colorrectales benignos en comparación con muestras de PBMC de pacientes con cáncer y/o muestras de PBMC de controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes. Se realizó un análisis estadístico y se proporcionan los valores p. Como se muestra:

40 a) La segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de muestras de PBMC de los pacientes con cáncer colorrectal difirió significativamente de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de PBMC de controles sanos;

45 b) La segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de muestras de PBMC de los pacientes con cáncer colorrectal difirió significativamente de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de PBMC de sujetos con un tumor colorrectal benigno; y

50 c) La segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de muestras de PBMC de los sujetos con un tumor colorrectal benigno difirió significativamente de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de PBMC de controles sanos.

55 La tabla H enumera los números de onda que se usaron en este conjunto de experimentos como se presenta en las Figuras 5A-D. Típicamente, las muestras de PBMC se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para distinguir entre: a) pacientes de control y de cáncer colorrectal; b) control y sujetos con tumores colorrectales benignos; y c) pacientes con cáncer colorrectal y sujetos con tumores colorrectales benignos. Para algunas solicitudes, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla H. Alternativamente, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla H.

Tabla H:

	Control sano frente a Benigno Número de onda (cm-1 ± 4)	Control sano frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)	Benigno frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)				
5	707,3	707,3	1428,0	712,6	1175,4	1509,5	1680,7
	785,4	724,1	1460,8	724,1	1265,1	1526,9	1699,0
10	811,9	741,0	1475,3	760,8	1365,8	1543,7	1751,5
	879,9	811,9	1526,9	785,9	1371,1	1569,3	1795,9
	1253,0	1033,7	1565,0	831,7	1378,4	1608,8	
15	1485,4	1060,2	1613,6	870,7	1430,9	1619,9	
	1509,0	1141,7	1627,6	920,8	1460,3	1627,1	
	1526,9	1253,0	1638,7	999,9	1485,9	1638,7	
20	1662,8	1285,3	1695,6	1020,2	1491,2	1649,8	
		1378,4	1796,8	1104,0	1499,9	1662,8	

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla H se usan para diferenciar entre la ausencia de un tumor y un tumor colorrectal benigno: 785,4 ± 4 cm-1, 811,9 ± 4 cm-1, 879,9 ± 4 cm-1, 1253,0 ± 4 cm-1, 1485,4 ± 4 cm-1 y 1526,9 ± 4 cm-1.

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla H se usan para diferenciar entre la ausencia de un tumor y un tumor colorrectal maligno: 724,1 ± 4 cm-1, 741,0 ± 4 cm-1, 1141,7 ± 4 cm-1, 1475,3 ± 4 cm-1, 1627,6 ± 4 cm-1, 1695,6 ± 4 cm-1.

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla H se usan para diferenciar entre un tumor colorrectal maligno y un tumor colorrectal benigno: 760,8 ± 4 cm-1, 870,7 ± 4 cm-1, 1371,1 ± 4 cm-1, 1485,9 ± 4 cm-1, 1526,9 ± 4 cm-1, 1627,1 ± 4 cm-1.

Ejemplo 4

En un conjunto de experimentos, se realizó el diagnóstico diferencial de tumores gastrointestinales benignos (específicamente colorrectales) y tumores gastrointestinales malignos y premalignos en base a un patrón espectral de FTIR-MSP en números de onda seleccionados de muestras de plasma.

De acuerdo con las solicitudes, se analizaron muestras de plasma de 15 controles sanos por FTIR-MSP y se estableció un patrón espectral típico de FTIR-MSP para el plasma control. Además, las muestras de plasma de 36 pacientes con cáncer colorrectal se sometieron a análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP de control. Además, las muestras de plasma de 14 sujetos con un tumor benigno en tejido colorrectal se sometieron a análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP de control y con el patrón espectral de FTIR-MSP de cáncer colorrectal. Las muestras de plasma se obtuvieron mediante el procesamiento preliminar de la sangre periférica de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente en la presente descripción con referencia al aislamiento de plasma a partir de muestras de sangre periférica. A continuación, las muestras de plasma se analizaron por FTIR-MSP, de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente en la presente descripción con referencia a FTIR-MSP.

Se hace referencia a las Figuras 6A-E, que son gráficos que representan los espectros de absorción de FTIR y la segunda derivada de los espectros de absorción y análisis de estos, para muestras de plasma de 36 pacientes con cáncer colorrectal, 14 sujetos con tumores colorrectales benignos y 15 controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes

La Figura 6A muestra los espectros de absorción promedio de FTIR-MSP de muestras de plasma de controles sanos, sujetos con tumores colorrectales benignos y pacientes con cáncer colorrectal en las regiones de 700-1800 cm-1, después de la corrección de la línea base y la normalización del vector. Cada espectro representa el promedio de cinco mediciones en diferentes sitios para cada muestra. Los espectros se componen de varias bandas de absorción, cada una correspondiente a grupos funcionales específicos de macromoléculas específicas tales como lípidos, proteínas y carbohidratos/ácidos nucleicos. Generalmente, el espectro FTIR se analiza típicamente al seguir los cambios en la absorción (intensidad y/o desplazamiento) de estas macromoléculas.

Se hace referencia a las Figuras 6B-C. Con el fin de lograr una comparación eficaz entre las muestras de plasma de los pacientes con cáncer colorrectal, sujetos con tumores colorrectales benignos y los controles, se usó la segunda

derivada de los espectros de FTIR-MSP normalizados por vector y corregidos por la línea base. Los resultados se presentan en las Figuras 6B-C. Como se muestra en el análisis de espectros de la segunda derivada, las muestras de plasma de los pacientes con cáncer colorrectal diferían significativamente de los espectros de las muestras de plasma tanto de los sujetos con tumores colorrectales benignos como de los controles, en la región espectral de 1152 cm⁻¹, 1172 cm⁻¹ y 1035 cm⁻¹.

La media \pm SEM para cada uno de los conjuntos de datos (sano, benigno, cáncer colorrectal) se representa mediante el grosor de las líneas del gráfico que representan los grupos sano, benigno y cáncer colorrectal, de acuerdo con la leyenda de la figura, como se muestra en la Figura 6B.

Se hace referencia a las Figuras 6D-E, que son gráficos que representan valores de la segunda derivada de los espectros de absorción de muestras de plasma de sujetos con tumores colorrectales benignos en comparación con muestras de plasma de pacientes con cáncer colorrectal y/o muestras de plasma de controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes

Se realizó un análisis estadístico y se proporcionan los valores p. Como se muestra:

a) La segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de muestras de plasma de los pacientes con cáncer gastrointestinal difirió significativamente de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP del plasma de controles sanos;

b) La segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de muestras de plasma de los pacientes con cáncer colorrectal difirió significativamente de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP del plasma de sujetos con un tumor colorrectal benigno; y

c) La segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de muestras de plasma de los sujetos con un tumor colorrectal benigno difirió significativamente de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP del plasma de controles sanos.

La tabla I enumera los números de onda que se usaron en este conjunto de experimentos como se presenta en las Figuras 6A-E. Típicamente, las muestras de plasma se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para distinguir entre: a) pacientes de control y de cáncer colorrectal; b) control y sujetos con tumores colorrectales benignos; y c) pacientes con cáncer colorrectal y sujetos con tumores colorrectales benignos. Para algunas solicitudes, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla I. Alternativamente, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla 1.

Tabla I:

	Control sano frente a Benigno Número de onda (cm-1 ± 4)	Control sano frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)			Benigno frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)		
5	780,1	713,5	1074,6	1342,2	713,1	1053,4	1404,9
	841,3	720,8	1088,6	1352,8	718,8	1075,6	1420,8
10	872,6	780,1	1104,5	1378,9	735,2	1080,9	1430,0
	1043,8	816,2	1109,8	1399,1	774,3	1089,1	1460,8
	1061,1	822,0	1126,2	1419,8	790,2	1104,0	1480,1
15	1142,1	829,2	1135,9	1430,4	817,2	1110,3	1510,5
	1378,9	840,8	1144,5	1447,3	830,2	1127,2	1612,7
	1383,2	846,6	1154,7	1464,2	839,8	1133,9	1627,1
20	1399,6	859,1	1175,4	1481,1	846,1	1153,2	1662,3
	1622,8	904,5	1199,0	1584,2	872,1	1174,0	1729,8
		922,8	1228,0	1609,3	877,5	1187,5	1744,3
25		947,4	1278,6	1613,2	904,9	1200,0	1757,8
		1007,6	1289,2	1620,4	921,8	1277,1	1768,9
		1035,6	1313,3	1626,7	948,3	1321,0	1775,6
30		1052,0	1322,9	1662,3	964,2	1332,1	1780,9
		1061,6	1331,1	1697,1	992,7	1340,3	1789,6
35					1034,6	1355,2	
					1049,1	1378,4	

40 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla I se usan para diferenciar entre la ausencia de un tumor y un tumor colorrectal benigno: 780,1 ± 4 cm-1, 872,6 ± 4 cm-1, 1142,1 ± 4 cm-1, 1378,9 ± 4 cm-1, 1399,6 ± 4 cm-1 y 1622,8 ± 4 cm-1.

45 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla I se usan para diferenciar entre la ausencia de un tumor y un tumor colorrectal maligno: 840,8 ± 4 cm-1, 922,8 ± 4 cm-1, 1035,6 ± 4 cm-1, 1154,7 ± 4 cm-1, 1352,8 ± 4 cm-1, 1378,9 ± 4 cm-1.

50 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla I se usan para diferenciar entre un tumor colorrectal maligno y un tumor colorrectal benigno: 948,3 ± 4 cm-1, 1034,6 ± 4 cm-1, 1110,3 ± 4 cm-1, 1153,2 ± 4 cm-1, 1340,3 ± 4 cm-1, 1378,4 ± 4 cm-1.

55 Ahora se hace referencia a las Figuras 5A-D, las Figuras 6A-E y las Figuras 7A-F. Las Figuras 7A-F son gráficos que representan el análisis estadístico, incluido el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC) de espectros de absorción de FTIR, en base a muestras de PBMC y plasma de pacientes con cáncer colorrectal, sujetos con tumores colorrectales benignos y controles, como se muestra en las Figuras 5A-D y las Figuras 6A-E.

60 Las Figuras 7A-C muestran el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC), incluido el área bajo la curva (AUC), de PBMC (Figura 7A) y plasma (Figura 7B) de pacientes con cáncer colorrectal en comparación con los sujetos con tumor colorrectal benigno. Como se muestra, el uso combinado de las muestras de plasma y PBMC (Figura 7C) aumentó la sensibilidad y la especificidad para distinguir entre un tumor colorrectal benigno y un tumor colorrectal maligno.

65 Las Figuras 7D-F muestran el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC), incluido el área bajo la curva (AUC), de PBMC (Figura 7D) y plasma (Figura 7E) de controles sanos en comparación con sujetos con un tumor colorrectal benigno. Como se muestra, el uso combinado de las muestras de plasma y PBMC (Figura 7F) aumentó la sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de un tumor colorrectal benigno.

La Figura 7G muestra el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC), incluido el área bajo la curva (AUC), de muestras de plasma de pacientes con cáncer colorrectal en comparación con los sujetos con

tumores de mama benignos y controles sanos. Los valores de sensibilidad y especificidad se presentan en la Figura 7G.

5 La Figura 7H muestra el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC), incluido el área bajo la curva (AUC), del uso combinado de muestras de plasma y PBMC de pacientes con cáncer colorrectal en comparación con los sujetos con tumores de mama benignos y controles sanos. Los valores de sensibilidad y especificidad se presentan en la Figura 7H.

10 Ahora se hace referencia a las Figuras 8A-D y tabla J1. La tabla J1 incluye información clínica para 23 pacientes con cáncer colorrectal. Las Figuras 8A-D muestran el análisis de muestras de PBMC (Figuras 8A-B) y muestras de plasma (Figuras 8C-D) obtenidas de pacientes con cáncer colorrectal de acuerdo con algunas solicitudes.

15 La tabla J1 es una tabla que representa los datos clínicos de 23 pacientes con cáncer colorrectal que participaron en los estudios descritos en la presente descripción. En la tabla J1:

Columna de género: "M" representa masculino y "F" representa femenino

Columna del órgano principal: "R" representa el recto y "C" representa el colon

20 Ubicación en la columna del órgano principal: "Re" representa el recto, "Rt" representa la derecha, "L" representa la izquierda, "C" representa el colon, "A" representa el ascendente,

Columna de patología: "M" representa maligno y "PM" representa pre-maligno

25 Columna de tipo de malignidad: AC representa Adenocarcinoma.

"#M" representa el número de masas

30 "MS" representa el tamaño de la masa (en mm)

"LN" representa el número de ganglios linfáticos

Tabla J1:

Género	Edad	Órgano principal	Ubicación en el órgano principal	MS	# M	LN	# LN positivos	Margen	Invasión vascular	Patología	Estadio					Tipo de malignidad
											T	N	M	S	S Sub	
M	80	R	Re	NA	NA	10	2	R0	NA	M	3	1	0	3	b	AC
M	66	R	Re	15	1	18	0	R0	No	P M						adenoma vellosos séstil HGD
M	72	C	A	90	1	11	0	R0	NA	M	3	0	0	2	a	AC mucinoso
M	61	C	Rt	18	1	16	0	R0	No	P M						TVA HGD
M	56	C	Rt	70	1	16	12	R0	NA	M	3	2	0	3	c	AC
F	74	C	L	NA	1	20	0	R0	NA	M	3	0	0	2	a	AC
F	37	C	C	NA	1	NA	NA	R0	No	M	1	0	0	1	--	AC
F	83	C	L	55	1	15	0	R0	No	M	3	0	0	2	a	AC
F	82	C	Rt	NA	1	20	0	R0	NA	M	3	0	0	2	a	AC mucinoso
M	69	C	Rt	6	1	14	0	R0	No	M	3	0	0	2	a	AC
M	59	C	Rt	9	1	10	1	R0	Sí	M	3	1	0	3	b	AC mucinoso
M	88	C	Rt	33	1	18	0	R0	No	M	3	0	0	2	a	AC
M	72	C	Rt	NA	1	20	0	R0	No	U						TVA HGD
F	69	C	L	NA	1	4	0	R0	No	M	2	0	0	1	-	AC
F	68	C	Rt	NA	1	11	4	R1	Sí	M	3	2	0	3	b	AC
F	88	C	L	46	1	27	0	R0	NA	M	3	0	0	2	a	AC
F	54	C	Rt	NA	1	19	0	R0	No	M	3	0	0	2	a	AC

(Continuación)

Género	Edad	Órgano principal	Ubicación en el órgano principal	M S	# M	LN	# LN positivos	Margen	Invasión vascular	Patología	Estadio				Tipo de malignidad	
											T	N	M	S		S
F	84	C	Rt	60	1	15	0	R0	Si	M	3	0	0	2	a	AC
M	81	C	Rt	22	1	23	0	R0	NA	M	3	0	0	2	a	AC
F	69	C	L	25	1	4	0	R0	No	M	2	0	0	1	-	AC
M	45	R	Re	50	1	11	3	R0	No	M	3	1	0	3	b	AC
M	93	C	C	NA	NA	4	0	NA	NA	U						TVA HGD
F	78	C	L	NA	1	16	13	R0	Si	M	3	2	0	3	c	AC

5 Las Figuras 8A-B son gráficos que representan el análisis del efecto de diversos parámetros clínicos (tabla J1) de los pacientes con cáncer colorrectal en los espectros de FTIR de muestras de PBMC. Se realizó un análisis estadístico y se proporcionan los valores p. Como se muestra, de acuerdo con algunas solicitudes, es posible identificar un patrón espectral distinto en el análisis FTIR de muestras de PBMC. El patrón espectral distintivo se produce en respuesta a, al menos, uno de los siguientes parámetros de los pacientes con cáncer colorrectal: tamaño de la masa, número de masas, ganglios linfáticos positivos (NL), tipo de malignidad y distinción entre los estadios 1 y 2 y el estadio 3 de la enfermedad.

10 La tabla J2 enumera los números de onda que se identificaron en este conjunto de experimentos como se presenta en las Figuras 8B-C. Típicamente, las muestras de PBMC se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para identificar patrones espectrales para los siguientes parámetros en base a muestras de PBMC de los pacientes con cáncer colorrectal: tamaño de la masa, número de masas, ganglios linfáticos positivos (LN), tipo de malignidad y distinción entre los estadios 1 y 2 y el estadio 3 de la enfermedad. Para algunas solicitudes, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla J2. Alternativamente, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla J:

Tabla J2:

Tipo de malignidad Número de onda (cm-1 ± 4)	Estadio Número de onda (cm-1 ± 4)	Número de masas Número de onda (cm-1 ± 4)	Núm. de LN positivos Número de onda (cm-1 ± 4)	Tamaño de masa (mm) Número de onda (cm-1 ± 4)
746,3	705,3	713,5	704,9	756,4
753,1	716,9	734,3	716,4	1019,2
809,5	767,0	759,8	755,0	1201,0
815,3	789,7	766,1	766,6	1516,3
829,2	804,7	769,9	770,9	1632,9
856,7	810,0	836,5	789,7	1645,0
868,8	815,7	860,1	796,0	
880,8	837,9	893,8	837,9	
892,9	846,6	909,3	846,6	
957,5	861,1	932,9	847,1	
1033,2	895,8	946,9	861,1	
1049,1	992,2	981,6	895,3	
1061,1	1007,6	992,2	945,9	
1104,0	1076,6	1006,2	991,2	
1118,5	1266,5	1031,2	1007,1	
1129,6	1274,7	1039,4	1076,6	
1145,0	1298,3	1050,1	1183,6	
1186,5	1329,2	1063,5	1232,3	
1201,9	1351,9	1075,6	1266,5	
1229,4	1371,1	1163,3	1292,6	
1235,7	1446,4	1183,1	1329,7	
1251,6	1497,9	1213,0	1351,9	
1293,0	1507,6	1224,1	1371,1	
1364,9	1574,6	1267,5	1438,2	
1418,4	1605,4	1274,7	1445,9	
1626,7	1657,5	1298,8	1488,3	
1665,7	1715,9	1310,4	1550,0	

(Continuación)

	Tipo de malignidad Número de onda (cm-1 ± 4)	Estadio Número de onda (cm-1 ± 4)	Número de masas Número de onda (cm-1 ± 4)	Núm. de LN positivos Número de onda (cm-1 ± 4)	Tamaño de masa (mm) Número de onda (cm-1 ± 4)
5	1690,3	1727,9	1329,2	1575,1	
		1739,0	1370,7	1605,9	
10		1761,2	1371,1	1657,5	
		1773,7	1425,6	1707,2	
			1535,5	1707,7	
15			1540,4	1717,3	
			1546,1	1727,9	
			1558,7	1738,0	
20			1590,5	1742,9	
			1673,9	1773,7	
			1718,3		
25			1727,9		
			1740,4		

30 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla J2 se usan para identificar en muestras de PBMC un patrón espectral distinto causado por un tipo de malignidad del tumor colorrectal: 868,8 ± 4 cm-1, 957,5 ± 4 cm-1, 1145,0 ± 4 cm-1, 1251,6 ± 4 cm-1 y 1364,9 ± 4 cm-1.

35 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla J2 se usan para distinguir entre el estadio 1 y 2 y el estadio 3 del tumor colorrectal: 815,7 ± 4 cm-1, 837,9 ± 4 cm-1, 895,8 ± 4 cm-1, 992,2 ± 4 cm-1, 1371,1 ± 4 cm-1, 1574,6 ± 4 cm-1 y 1657,5 ± 4 cm-1.

40 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla J2 se usan para identificar en muestras de PBMC un patrón espectral distinto causado por el número de masas de un tumor colorrectal: 734,3 ± 4 cm-1, 759,8 ± 4 cm-1, 893,8 ± 4 cm-1, 932,9 ± 4 cm-1, 1370,7 ± 4 cm-1, 1412,1 ± 4 cm-1 y 1578,9 ± 4 cm-1.

45 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla J2 se usan para identificar en muestras de PBMC un patrón espectral distinto causado por el número de ganglios linfáticos positivos de un paciente con cáncer colorrectal: 837,9 ± 4 cm-1, 895,3 ± 4 cm-1, 1292,6 ± 4 cm-1, 1371,1 ± 4 cm-1, 1550,0 ± 4 cm-1 y 1575,1 ± 4 cm-1.

50 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla J2 se usan para identificar en muestras de PBMC un patrón espectral distinto causado por el tamaño de la masa (mm) del tumor colorrectal: 756,4 cm-1, 1019,2 ± 4 cm-1, 1201,0 ± 4 cm-1 y 1516,3 ± 4 cm-1.

55 Las Figuras 8C-D son gráficos que representan el análisis de diversos parámetros clínicos de los pacientes con cáncer colorrectal como se deriva de la Tabla J1. Se realizó un análisis estadístico y se proporcionan los valores p. Como se muestra, de acuerdo con algunas solicitudes, es posible identificar un patrón espectral de FTIR distinto en muestras de plasma debido a los siguientes parámetros de pacientes con cáncer colorrectal: tamaño de la masa, ganglios linfáticos positivos (NL), invasión vascular y distinción entre los estadios 1 y 2 y el estadio 3 de la enfermedad.

60 La tabla K enumera los números de onda que se identificaron en este conjunto de experimentos como se presenta en las Figuras 8C-D. Típicamente, las muestras de plasma se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para identificar el efecto de los siguientes parámetros en el patrón espectral de FTIR de las muestras de plasma de los pacientes con cáncer colorrectal: tamaño de la masa, ganglios linfáticos positivos (NL), invasión vascular y distinción entre los estadios 1 y 2 y el estadio 3 de la enfermedad. Para algunas solicitudes, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla K. Alternativamente, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla K:

65

Tabla K:

	Invasión vascular Número de onda (cm-1 ± 4)		Estadio Número de onda (cm-1 ± 4)	Núm. de LN positivos Número de onda (cm-1 ± 4)	Tamaño de la masa (mm) Número de onda (cm-1 ± 4)
5	729,4	1157,1	709,7	710,2	740,5
	746,3	1168,2	756,4	756,4	832,1
10	751,1	1177,3	806,6	807,1	844,7
	775,7	1192,3	813,3	813,3	992,7
	793,1	1216,9	819,1	818,6	1051,0
15	808,0	1222,2	826,3	826,8	1155,2
	814,8	1229,9	861,1	833,6	1377,4
	833,6	1251,1	872,6	861,1	1426,1
20	857,7	1264,6	945,9	872,1	1578,0
	870,7	1269,9	952,2	910,2	1669,6
	905,4	1282,4	971,9	945,9	1712,5
25	912,6	1356,7	988,3	952,2	1718,3
	946,4	1531,7	1018,7	1013,4	1728,9
	958,0	1546,1	1043,8	1019,2	1740,4
30	976,3	1559,2	1165,3	1043,8	1751,0
	998,0	1568,8	1196,1	1052,9	1756,8
	1007,6	1572,2	1216,9	1164,8	1767,9
35	1019,2	1621,4	1245,8	1172,5	1773,2
	1028,4	1635,3	1267,5	1195,6	1778,0
	1040,4	1643,1	1279,1	1356,7	
40	1046,2	1663,8	1288,7	1664,3	
	1052,9	1692,7	1664,3	1725,5	
	1074,6	1738,0	1738,0	1746,2	
45	1143,6			1763,6	

50 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla K se usan para identificar en muestras de plasma un patrón espectral distinto causado por la invasión vascular de un tumor colorrectal: $976,3 \pm 4$ cm-1, $1052,9 \pm 4$ cm-1, $1143,6 \pm 4$ cm-1, $1177,3 \pm 4$ cm-1, $1229,9 \pm 4$ cm-1 y $1356,7 \pm 4$ cm-1.

55 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla K se usan para distinguir entre el estadio 1 y 2 y el estadio 3 del tumor colorrectal: $756,4 \pm 4$ cm-1, $806,6 \pm 4$ cm-1, $945,9 \pm 4$ cm-1, $1165,3 \pm 4$ cm-1, $1196,1 \pm 4$ cm-1, $1288,7 \pm 4$ cm-1 y $1657,5 \pm 4$ cm-1.

60 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla K se usan para identificar en muestras de plasma un patrón espectral distinto causado por el número de ganglios linfáticos positivos de un paciente con cáncer colorrectal: $756,4 \pm 4$ cm-1, $807,1 \pm 4$ cm-1, $861,1 \pm 4$ cm-1, $872,1 \pm 4$ cm-1, $945,9 \pm 4$ cm-1 y $1164,8 \pm 4$ cm-1.

65 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla K se usan para identificar en muestras de plasma un patrón espectral distinto causado por el tamaño de la masa (mm) del tumor colorrectal: $740,5 \pm 4$ cm-1, $844,7 \pm 4$ cm-1, $1051,0 \pm 4$ cm-1 y $1377,4 \pm 4$ cm-1, $1751,0 \pm 4$ cm-1, $1778,0 \pm 4$ cm-1.

Se hace referencia a las Figuras 9A-D que son gráficos que representan análisis estadístico y valores P de PBMC (Figuras 9A-B) y muestras de plasma (Figuras 9C-D) de pacientes con cáncer colorrectal (Cn), sujetos con tumores colorrectales premalignos (HGD), sujetos con tumores colorrectales benignos (Bn) y controles sanos (H1), derivados de acuerdo con algunas solicitudes

Como se muestra en las Figuras 9A-B, las muestras de PBMC que se analizaron por técnicas FTIR-MSP permiten distinguir entre: a) control sano y pacientes con cáncer colorrectal; b) controles sanos y sujetos con tumores colorrectales benignos frente a pacientes con cáncer colorrectal; c) sujetos con tumores colorrectales premalignos que presentan displasia de alto grado frente a pacientes con cáncer; d) controles sanos frente a pacientes con cáncer colorrectal y sujetos con tumores colorrectales premalignos que presentan displasia de alto grado; e) control sano y sujetos con tumores colorrectales benignos frente a pacientes con cáncer colorrectal y sujetos con tumores colorrectales premalignos que presentan displasia de alto grado; y f) controles sanos frente a sujetos con tumores colorrectales benignos, pacientes con cáncer colorrectal y sujetos con tumores colorrectales premalignos que presentan displasia de alto grado.

Como se muestra en las Figuras 9C-D, las muestras de plasma que se analizaron por técnicas FTIR-MSP permiten distinguir entre: a) control sano y pacientes con cáncer colorrectal; b) controles sanos y sujetos con tumores colorrectales benignos frente a pacientes con cáncer colorrectal; c) sujetos con tumores colorrectales premalignos que presentan displasia de alto grado frente a pacientes con cáncer; d) controles sanos frente a pacientes con cáncer colorrectal y sujetos con tumores colorrectales premalignos que presentan displasia de alto grado; e) control sano y sujetos con tumores colorrectales benignos frente a pacientes con cáncer colorrectal y sujetos con tumores colorrectales premalignos que presentan displasia de alto grado; y f) controles sanos frente a sujetos con tumores colorrectales benignos, pacientes con cáncer colorrectal y sujetos con tumores colorrectales premalignos que presentan displasia de alto grado.

Ejemplo 5

En un conjunto de experimentos, se realizó el diagnóstico diferencial de diversos tipos de tumores malignos en tejido ginecológico en base a un patrón espectral de FTIR-MSP en números de onda seleccionados de muestras de PBMC. Además, el diagnóstico diferencial de tumores de ovario malignos y tumores de ovario benignos se realizó en base a un patrón espectral de FTIR-MSP en números de onda seleccionados de muestras de PBMC. Los datos de los pacientes se presentan anteriormente en la presente descripción en la tabla B. Como se mencionó anteriormente en la presente descripción, un grupo control adicional para este conjunto de experimentos consistió en mujeres embarazadas (n=11). (El embarazo puede desencadenar un diagnóstico de cáncer falso positivo debido a cambios fisiológicos y la presencia de marcadores sanguíneos. Por lo tanto, el embarazo actúa como un control apropiado para los tumores ginecológicos y para la efectividad de algunas solicitudes para diferenciar entre el cáncer y otras afecciones no cancerosas, por ejemplo, embarazo).

De acuerdo con las solicitudes, las muestras de PBMC de 28 controles sanos se analizaron por FTIR-MSP y se estableció un patrón espectral de FTIR-MSP típico para las PBMC control. Además, las muestras de PBMC de 11 pacientes con cáncer de ovario, 15 pacientes con cáncer de endometrio, 6 pacientes con sarcoma ginecológico, 7 pacientes con cáncer de cuello uterino, 4 pacientes con cáncer de vulva y 3 pacientes diagnosticadas con un tumor limitrofe de ovario (BOT) se sometieron a análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP de control. Además, las muestras de PBMC de 8 sujetos con un tumor benigno en tejido ovárico se sometieron a análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP de control y con el patrón espectral de FTIR-MSP del cáncer. Además, las muestras de PBMC de 11 mujeres embarazadas se sometieron a análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP de control, con el patrón espectral de FTIR-MSP de cáncer y con el patrón espectral de FTIR-MSP benigno.

Las muestras de PBMC se obtuvieron mediante procesamiento preliminar de la sangre periférica, de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente en la presente descripción con referencia a la extracción de células mononucleares de sangre periférica (PBMC). A continuación, las muestras de PBMC se analizaron por FTIR-MSP, de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente en la presente descripción con referencia a FTIR-MSP.

Los resultados se presentan en las Figuras 10A-E, que son gráficos que representan los espectros de absorción de FTIR, la segunda derivada de los espectros de absorción, y su análisis, en base a muestras de PBMC de pacientes con cáncer ginecológico, sujetos con tumores ginecológicos benignos, sujetos embarazadas y controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes.

La Figura 10A muestra los espectros de absorción de FTIR-MSP promedio de muestras de PBMC de controles sanos, sujetos con tumores de ovario benignos y pacientes con cáncer ginecológico en las regiones de 700-1800 cm^{-1} , después de la corrección de la línea base y la normalización del vector. Cada espectro representa el promedio de cinco mediciones en diferentes sitios para cada muestra. Los espectros se componen de varias bandas de absorción, cada una correspondiente a grupos funcionales específicos de macromoléculas específicas tales como lípidos, proteínas y carbohidratos/ácidos nucleicos. Generalmente, el espectro FTIR se analiza típicamente al seguir los cambios en la absorción (intensidad y/o desplazamiento) de estas macromoléculas.

Se hace referencia a las Figuras 10B-C. Para lograr una comparación eficaz entre las muestras de PBMC de los diversos pacientes con cáncer ginecológico, sujetos con tumores de ovario benignos, mujeres embarazadas y los controles, se usó la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP normalizados por vector y corregidos por la línea base. Los resultados se presentan en las Figuras 10B-C. Como se muestra en el análisis de espectros de la segunda derivada, las muestras de PBMC de los diversos pacientes con cáncer difieren del grupo control y de mujeres embarazadas. Además, el análisis de PBMC por FTIR-MSP de los diversos pacientes con cáncer produjo espectros de FTIR distintos para cada tipo de tumor ginecológico. Por consiguiente, algunas solicitudes se usan para detectar un tipo de tumor sólido ginecológico. Típicamente, cada tipo de tumor sólido ginecológico maligno produce espectros de FTIR distintos de las PBMC, que son exclusivos del tipo de tumor sólido. Esto puede deberse a que cada tipo de tumor sólido induce cambios bioquímicos específicos en las PBMC.

Se hace referencia a las Figuras 10D-E, que son gráficos que representan valores de la segunda derivada de los espectros de absorción de las muestras de PBMC presentadas en las Figuras 10B-C. Se realizó un análisis estadístico y se proporcionan los valores p.

La Figura 10D muestra análisis estadístico y valores P para pacientes con cáncer ginecológico en comparación con mujeres embarazadas y controles sanos. Como se muestra,

a) La segunda derivada de las muestras de PBMC de los pacientes con cáncer ginecológico difirió significativamente del análisis de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de PBMC de controles sanos, y

b) La segunda derivada de las muestras de PBMC de las mujeres embarazadas difirió significativamente del análisis de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de los pacientes con cáncer.

La tabla L enumera los números de onda que se identificaron en el conjunto de experimentos como se presentan en la Figura 10D. Típicamente, las muestras de PBMC se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para distinguir a) pacientes de control y de cáncer ginecológico; y b) pacientes con cáncer ginecológico y mujeres embarazadas. Para algunas solicitudes, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla 1. Alternativamente, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla L.

Tabla L:

Control sano frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)			CS (embarazada) frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)		
706,3	1102,6	1458,4	750,2	1061,1	1538,9
752,6	1117,1	1464,2	755,5	1139,2	1544,7
767,5	1134,9	1496,5	789,2	1167,7	1558,2
776,7	1161,4	1523,0	795,0	1178,8	1564,0
784,9	1170,1	1535,1	806,6	1185,0	1595,3
798,4	1186,5	1558,7	811,9	1221,7	1605,4
804,2	1201,0	1564,0	820,6	1240,0	1610,8
877,5	1219,3	1574,6	828,8	1261,7	1615,1
883,2	1228,4	1605,4	843,2	1328,7	1629,1
920,4	1237,1	1618,0	848,5	1385,6	1634,4
927,6	1247,7	1624,3	891,0	1403,4	1645,0
955,6	1265,6	1632,4	900,1	1436,2	1653,2
985,4	1274,7	1638,7	919,4	1486,8	1684,5
998,5	1305,6	1647,9	935,8	1497,9	1690,8
1008,6	1348,5	1653,7	994,6	1501,3	1783,4
1030,3	1365,4	1669,6	1000,9	1506,6	1789,1
1036,6	1370,7	1678,2	1006,2	1512,4	
1058,2	1384,2	1684,5	1034,1	1527,3	
1067,9	1389,5	1728,9	1048,6	1533,1	
1081,9	1414,0	1783,4			
1095,9	1452,1				

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla L se usan para diferenciar entre los controles sanos y los pacientes con cáncer ginecológico: $1030,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1067,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1134,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1161,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1186,5 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1389,5 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

5 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla L se usan para diferenciar entre las mujeres embarazadas y las pacientes con cáncer ginecológico: $750,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $843,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1034,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1048,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1185,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1506,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

10 La Figura 10E muestra análisis estadístico y valores p para pacientes con cáncer de ovario, sujetos con tumores de ovario benignos y controles sanos. Como se muestra,

a) La segunda derivada de las muestras de PBMC de los pacientes con cáncer de ovario difirió significativamente del análisis de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de PBMC de controles sanos,

15 b) La segunda derivada de muestras de PBMC de controles sanos difirió significativamente del análisis de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de los sujetos con un tumor de ovario benigno, y

20 c) La segunda derivada de las muestras de PBMC de pacientes con cáncer de ovario difirió significativamente del análisis de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de los sujetos con un tumor de ovario benigno.

25 La tabla M enumera los números de onda que se identificaron en el conjunto de experimentos como se presentan en la Figura 10E. Típicamente, las muestras de PBMC se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para distinguir entre: a) pacientes de control sanos y con cáncer de ovario; y b) pacientes con cáncer de ovario y sujetos con un tumor de ovario benigno, y c) control sano y sujetos con un tumor de ovario benigno. Para algunas solicitudes, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla M. Alternativamente, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla M.

Tabla M:

Control sano frente a Cáncer Número de onda ($\text{cm}^{-1} \pm 4$)			Control sano frente a Benigno Número de onda ($\text{cm}^{-1} \pm 4$)			Benigno frente a Cáncer Número de onda ($\text{cm}^{-1} \pm 4$)	
745,4	1096,3	1536,0	702,9	1228,0	1558,2	733,3	1408,3
752,1	1133,0	1558,2	733,8	1303,6	1563,5	740,0	1445,9
776,2	1162,4	1564,0	740,5	1333,5	1575,6	747,3	1523,5
783,4	1171,5	1574,1	754,0	1338,8	1582,3	753,5	1540,4
788,7	1188,4	1604,5	840,8	1346,1	1588,6	840,8	1551,9
797,9	1200,5	1618,0	850,5	1376,9	1630,0	850,5	1574,1
804,2	1219,8	1653,2	868,3	1391,9	1635,8	887,1	1582,8
829,2	1238,6	1666,7	880,3	1407,8	1642,1	909,8	1588,6
919,9	1330,6	1728,9	909,8	1440,1	1651,7	918,9	1595,8
929,5	1348,5	1740,9	1002,8	1445,9	1666,7	1058,7	1618,0
946,9	1354,7	1751,0	1008,6	1456,0	1678,2	1073,7	1629,1
956,5	1384,6		1066,4	1489,3	1685,0	1127,7	1635,8
985,4	1389,5		1103,6	1514,3	1694,2	1146,5	1641,1
992,2	1418,4		1121,4	1524,0	1747,7	1187,9	1651,7
1007,1	1468,5		1128,2	1532,2	1753,5	1237,1	1657,5
1029,8	1476,2		1135,4	1535,5	1771,8	1252,1	1728,4
1057,8	1497,0		1146,0	1540,8	1778,5	1266,5	1761,7
1068,4	1522,0		1173,5	1546,6	1794,4	1329,7	1773,2
1080,4	1532,6		1199,5	1552,4		1347,5	1778,5

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla M se usan para diferenciar entre controles sanos y pacientes con cáncer de ovario: $752,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $956,5 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1029,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1057,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1162,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1389,5 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1476,2 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

5 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla M se usan para diferenciar entre los controles sanos y los sujetos con un tumor ovárico benigno: $754,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1103,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1121,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1346,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1376,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

10 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla M se usan para diferenciar entre los sujetos con un tumor de ovario benigno y los pacientes con cáncer de ovario: $753,50 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $850,5 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $918,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1058,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1187,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1651,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

Ejemplo 6

15 En un conjunto de experimentos, se realizó el diagnóstico diferencial de diversos tipos de tumores malignos en tejido ginecológico en base a un patrón espectral de FTIR-MSP en números de onda seleccionados de muestras de plasma. Además, el diagnóstico diferencial de tumores de ovario malignos y tumores de ovario benignos se realizó en base a un patrón espectral de FTIR-MSP en números de onda seleccionados de muestras de plasma. Los datos de los pacientes se presentan anteriormente en la presente descripción en la tabla B. Como se mencionó
20 anteriormente en la presente descripción, un grupo control adicional para este conjunto de experimentos consistió en mujeres embarazadas ($n=11$). El embarazo puede desencadenar un diagnóstico de cáncer falso positivo debido a cambios fisiológicos, lo que actúa, así como un adecuado control de los tumores ginecológicos.

25 De acuerdo con las solicitudes, las muestras de plasma de 28 controles sanos se analizaron por FTIR-MSP y se estableció un patrón espectral de FTIR-MSP típico para el plasma control. Además, las muestras de plasma de 11 pacientes con cáncer de ovario, 15 pacientes con cáncer de endometrio, 6 pacientes con sarcoma ginecológico, 7 pacientes con cáncer de cuello uterino, 4 pacientes con cáncer de vulva y 3 pacientes diagnosticadas con un tumor limitrofe de ovario (BOT) se sometieron a análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP de control. Además, las muestras de plasma de 8 sujetos con un tumor benigno en tejido ovárico se sometieron a
30 análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP de control y con el patrón espectral de FTIR-MSP del cáncer. Además, las muestras de plasma de 11 mujeres embarazadas se sometieron a análisis FTIR-MSP y se compararon con el patrón espectral de FTIR-MSP de control, con el patrón espectral de FTIR-MSP de cáncer y con el patrón espectral de FTIR-MSP benigno.

35 Las muestras de plasma se obtuvieron mediante el procesamiento preliminar de la sangre periférica de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente en la presente descripción con referencia a la extracción de plasma. A continuación, las muestras de plasma se analizaron por FTIR-MSP, de acuerdo con los protocolos descritos anteriormente en la presente descripción con referencia a FTIR-MSP.

40 Los resultados se presentan en las Figuras 11A-E, que son gráficos que representan los espectros de absorción de FTIR, la segunda derivada de los espectros de absorción, y su análisis, en base a muestras de plasma de pacientes con cáncer ginecológico, sujetos con tumores ginecológicos benignos, sujetos embarazadas y controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes.

45 La Figura 11A muestra los espectros de absorción de FTIR-MSP promedio de muestras de plasma de controles sanos, sujetos con tumores de ovario benignos y pacientes con cáncer ginecológico en las regiones de 700-1800 cm^{-1} , después de la corrección de la línea base y la normalización del vector. Cada espectro representa el promedio de cinco mediciones en diferentes sitios para cada muestra. Los espectros se componen de varias bandas de absorción, cada una correspondiente a grupos funcionales específicos de macromoléculas específicas tales como
50 lípidos, proteínas y carbohidratos/ácidos nucleicos. Generalmente, el espectro FTIR se analiza típicamente al seguir los cambios en la absorción (intensidad y/o desplazamiento) de estas macromoléculas.

Se hace referencia a las Figuras 11B-C. Con el fin de lograr una comparación eficaz entre las muestras de plasma de los diversos pacientes con cáncer ginecológico, sujetos con tumores de ovario benignos, mujeres embarazadas y
55 los controles, se usó la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP normalizados por vector y corregidos por la línea base. Los resultados se presentan en las Figuras 11B-C. Como se muestra en el análisis de espectros de la segunda derivada, las muestras de plasma de los diversos pacientes con cáncer diferían del grupo control y de mujeres embarazadas. Además, el análisis de plasma por FTIR-MSP de los diversos pacientes con cáncer produjo espectros de FTIR distintos para cada tipo de tumor ginecológico. Por consiguiente, algunas solicitudes se usan para
60 detectar un tipo de tumor sólido ginecológico. Típicamente, cada tipo de tumor sólido ginecológico maligno produce espectros de FTIR distintos del plasma, que son exclusivos del tipo de tumor sólido. Esto puede deberse a que cada tipo de tumor sólido induce cambios bioquímicos específicos en el plasma.

65 Se hace referencia a las Figuras 11D-E, que son gráficos que representan valores de la segunda derivada de los espectros de absorción de las muestras de plasma presentadas en las Figuras 11B-C. Se realizó un análisis estadístico y se proporcionan los valores p.

La Figura 11D muestra análisis estadístico y valores P para pacientes con cáncer ginecológico en comparación con mujeres embarazadas y controles sanos. Como se muestra,

5 a) La segunda derivada de las muestras de plasma de los pacientes con cáncer ginecológico difirió significativamente del análisis de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP del plasma de controles sanos, y

10 b) La segunda derivada de las muestras de plasma de las mujeres embarazadas difirió significativamente del análisis de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de los pacientes con cáncer.

15 La tabla N enumera los números de onda que se identificaron en el conjunto de experimentos como se presentan en la Figura 11D. Típicamente, las muestras de plasma se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para distinguir a) pacientes de control y de cáncer ginecológico; y b) pacientes con cáncer ginecológico y mujeres embarazadas. Para algunas solicitudes, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla N. Alternativamente, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla N.

Tabla N:

Control sano frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)			CS (embarazada) frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)		
745,4	1100,2	1413,6	729,4	1181,2	1147,4
752,6	1112,7	1421,8	740,0	1205,8	1160,0
781,5	1130,1	1435,7	749,2	1217,3	1168,2
821,5	1137,8	1449,2			
830,2	1145,5	1460,3	760,8	1237,1	1523,5
836,5	1156,1	1475,3			
846,6	1171,5	1519,2	800,8	1246,8	1530,2
856,7	1199,0	1529,3			
870,2	1233,7	1544,7	846,1	1281,5	1545,7
898,2	1266,0	1564,0			
906,4	1279,5	1578,5	859,1	1291,1	1557,2
919,4	1287,7	1585,2			
928,6	1294,5	1620,4	864,9	1329,7	1564,0
971,5	1304,1	1642,1			
980,1	1313,8	1647,4	926,6	1350,9	1610,3
989,8	1324,9	1653,7			
1007,6	1336,4	1669,6	938,2	1362,0	1621,4
1015,3	1349,9	1676,3			
1038,0	1378,9	1684,0	951,2	1378,4	1634,4
1055,4	1388,0	1691,7			
1066,4	1401,5	1699,9	971,0	1399,1	1644,5
			992,2	1427,5	1652,7
			1012,0	1436,2	1658,5
			1019,7	1453,6	1669,1
			1030,3	1466,1	1676,8
			1049,6	1475,3	1683,1
			1064,5	1496,5	1689,3
			1071,7	1501,3	1714,9
			1079,5	1506,6	1725,5
			1091,0	1512,4	1730,8
			1101,2	1519,6	1739,0
			1115,1	1131,5	1764,1

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla N se usan para diferenciar entre los controles sanos y los pacientes con cáncer ginecológico: 980,1 ± 4 cm-1, 1007,6 ± 4 cm-1, 1038,0 ± 4 cm-1, 1055,4 ± 4 cm-1, 1171,5 ± 4 cm-1 y 1279,5 ± 4 cm-1.

5 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla N se usan para diferenciar entre las mujeres embarazadas y las pacientes con cáncer ginecológico: 740,0 ± 4 cm-1, 971,0 ± 4 cm-1, 1019,7 ± 4 cm-1, 1064,5 ± 4 cm-1, 1291,1 ± 4 cm-1, 1378,4 ± 4 cm-1.

10 La Figura 11E muestra análisis estadístico y valores p para pacientes con cáncer de ovario, sujetos con tumores de ovario benignos y controles sanos. Como se muestra,

15 a) La segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de muestras de plasma de pacientes con cáncer de ovario difirió significativamente de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP del plasma de controles sanos,

b) La segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de muestras de plasma de controles sanos difirió significativamente de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de los sujetos con tumor de ovario benigno, y

20 c) La segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de muestras de plasma de pacientes con cáncer de ovario difirió significativamente de la segunda derivada de los espectros de FTIR-MSP de los sujetos con un tumor de ovario benigno.

25 La tabla O enumera los números de onda que se identificaron en el conjunto de experimentos como se presentan en la Figura 11E. Típicamente, las muestras de plasma se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para distinguir entre: a) pacientes de control sanos y con cáncer de ovario; y b) pacientes con cáncer de ovario y sujetos con un tumor de ovario benigno, y c) control sano y sujetos con un tumor de ovario benigno. Para algunas solicitudes, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla O. Alternativamente, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a, al menos, 30 dos o tres números de onda seleccionados de la tabla O.

Tabla O:

Control sano frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)			Control sano frente a Benigno Número de onda (cm-1 ± 4)		Benigno frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)	
717,9	1146,5	1642,1	732,3	1432,9	705,3	1339,3
724,1	1156,6	1653,2	763,7	1450,7	731,9	1357,6
746,3	1172,5	1675,4	771,9	1456,0	777,2	1369,2
751,6	1198,1	1692,2	777,2	1461,8	787,3	1391,4
764,2	1233,3	1700,4	830,7	1488,8	809,5	1456,5
786,3	1269,9	1724,5	838,4	1537,0	846,6	1490,2
792,6	1281,0	1761,2	849,0	1543,3	900,6	1522,5
809,0	1288,2		979,2	1557,2	967,1	1549,0
818,2	1312,8		1007,6	1576,0	975,8	1618,9
832,1	1323,9		1026,9	1633,9	984,5	1634,4
839,8	1348,0		1045,7	1651,7	1028,4	1658,5
846,6	1379,8		1134,4	1666,7	1039,4	1666,7
856,7	1386,1		1153,2	1671,0	1052,5	1673,4
873,1	1400,1		1174,4	1676,8	1114,2	1688,4
904,0	1448,8		1218,3	1716,3	1156,1	1696,6
919,4	1467,1		1259,8	1722,1	1197,1	1710,6
981,1	1522,0		1276,6	1730,8	1218,3	1731,3
1001,4	1529,8		1290,1	1748,6	1234,2	1743,3
1007,1	1544,7		1320,5	1754,9	1258,8	1755,4
1036,6	1550,5		1337,4	1765,5	1274,7	1767,4
1056,8	1563,5		1351,4	1771,8	1293,5	1771,8

(Continuación)

Control sano frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)		Control sano frente a Benigno Número de onda (cm-1 ± 4)		Benigno frente a Cáncer Número de onda (cm-1 ± 4)	
5	1072,2	1584,7	1391,4	1781,9	1318,6
	1113,7	1618,0	1398,6		1781,9
					1333,1
					1786,2

10 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla O se usan para diferenciar entre controles sanos y pacientes con cáncer de ovario: 846,6 ± 4 cm-1, 1056,8 ± 4 cm-1, 1146,5 ± 4 cm-1, 1156,6 ± 4 cm-1, 1172,5 ± 4 cm-1, 1198,1 ± 4 cm-1.

15 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla O se usan para diferenciar entre los controles sanos y los sujetos con un tumor de ovario benigno: 830,7 ± 4 cm-1, 1007,6 ± 4 cm-1, 1290,1 ± 4 cm-1, 1676,8 ± 4 cm-1, 1716,3 ± 4 cm-1 y 1754,9 ± 4 cm-1.

20 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla O se usan para diferenciar entre los sujetos con un tumor de ovario benigno y los pacientes con cáncer de ovario: 777,2 ± 4 cm-1, 1039,4 ± 4 cm-1, 1052,5 ± 4 cm-1, 1156,1 ± 4 cm-1, 1218,3 ± 4 cm-1 y 1369,2 ± 4 cm-1.

25 Se hace referencia a los ejemplos 1-6 y a las Figuras 12A-B. En algunas solicitudes, el análisis de muestras de PBMC y plasma por FTIR-MSP se usa para detectar un tipo de tumor sólido. Típicamente, cada tipo de tumor sólido maligno produce espectros de FTIR distintos de las PBMC y el plasma, que son exclusivos del tipo de tumor sólido.

30 La Figura 12A muestra el análisis estadístico y los valores p de los espectros de FTIR-MSP obtenidos de muestras de PBMC de pacientes con cáncer de mama, pacientes con cáncer ginecológico y pacientes con cáncer colorrectal (GI). Como se muestra, algunas solicitudes distinguen entre

- a) Pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer colorrectal;
- b) Pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer ginecológico; y
- c) Pacientes con cáncer colorrectal y pacientes con cáncer ginecológico.

35 La tabla P enumera los números de onda que se identificaron en el conjunto de experimentos como se presentan en la Figura 12A. Típicamente, las muestras de PBMC se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para distinguir entre: a) pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer colorrectal; b) pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer ginecológico, y c) pacientes con cáncer colorrectal y pacientes con cáncer ginecológico. Para algunas solicitudes, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, un número de onda seleccionado de la tabla P. Alternativamente, las muestras de PBMC se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla P.

Tabla P

	Mama frente a Colorrectal Número de onda (cm-1 ± 4)	Mama frente a Ginecológico Número de onda (cm-1 ± 4)	Número de onda (cm-1 ± 4)	Número de onda (cm-1 ± 4)	Colorrectal frente a Ginecológico Número de onda (cm-1 ± 4)	Número de onda (cm-1 ± 4)	Número de onda (cm-1 ± 4)	
5	704,9	731,4	1264,6	1546,6	707,7	954,1	1303,6	1528,3
	753,1	737,6	1309,4	1552,4	736,7	986,9	1313,8	1534,6
10	879,9	753,5	1365,4	1559,6	764,6	999,4	1365,8	1541,3
	939,2	767,5	1371,1	1568,3	776,7	1008,1	1371,6	1546,6
	956,0	784,9	1378,4	1574,6	783,9	1028,4	1377,4	1551,9
15	990,7	805,1	1384,6	1589,1	788,7	1037,0	1384,6	1568,3
	1008,1	928,1	1405,9	1605,4	806,1	1051,5	1403,9	1574,1
	1035,1	955,6	1414,0	1615,6	812,8	1067,9	1414,0	1578,5
20	1049,6	999,4	1427,1	1631,0	820,1	1083,3	1425,6	1590,0
	1066,0	1030,3	1437,2	1637,3	836,5	1128,2	1435,7	1605,0
	1072,7	1039,0	1452,6	1642,1	850,0	1153,2	1443,5	1611,7
25	1102,6	1067,4	1458,9	1645,5	864,0	1161,4	1453,1	1626,7
	1172,5	1126,2	1465,6	1648,4	870,2	1170,1	1459,8	1642,1
	1221,2	1162,9	1474,3	1654,6	880,3	1179,3	1467,1	1648,4
30	1401,5	1170,1	1501,8	1660,9	887,1	1186,5	1474,8	1660,4
	1568,8	1178,3	1506,1	1664,7	898,2	1202,9	1498,4	1673,9
		1186,0	1511,9	1694,6	920,4	1252,1	1501,8	1693,7
35		1202,9	1528,3	1698,5	927,6	1262,7	1507,1	1700,9
		1219,8	1532,2		939,6	1275,7	1512,4	1728,4
		1251,1	1540,8		946,4	1299,8	1516,7	1734,7

40 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla P se usan para diferenciar entre pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer colorrectal: 879,9 ± 4 cm-1, 939,2 ± 4 cm-1, 1035,1 ± 4 cm-1, 1066,0 ± 4 cm-1, 1172,5 ± 4 cm-1, 1568,8 ± 4 cm-1.

45 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla P se usan para diferenciar entre pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer ginecológico: 1162,9 ± 4 cm-1, 1186,0 ± 4 cm-1, 1251,1 ± 4 cm-1, 1365,4 ± 4 cm-1, 1465,6 ± 4 cm-1, 1528,3 ± 4 cm-1 y 1648,4 ± 4 cm-1.

50 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla P se usan para diferenciar entre pacientes con cáncer colorrectal y pacientes con cáncer ginecológico: 954,1 ± 4 cm-1, 1037,0 ± 4 cm-1, 1067,9 ± 4 cm-1, 1170,1 ± 4 cm-1, 1365,8 ± 4 cm-1 y 1384,6 ± 4 cm-1.

55 La Figura 12B muestra el análisis estadístico y los valores P de los espectros de FTIR-MSP obtenidos de muestras de plasma de pacientes con cáncer de mama, pacientes con cáncer ginecológico y pacientes con cáncer colorrectal (GI). Como se muestra, algunas solicitudes distinguen entre

- 60 a) Pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer colorrectal;
- b) Pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer ginecológico; y
- c) Pacientes con cáncer colorrectal y pacientes con cáncer ginecológico.

65 La tabla Q enumera los números de onda que se identificaron en el conjunto de experimentos como se presentan en la Figura 12B. Típicamente, las muestras de plasma se analizaron por técnicas FTIR-MSP mediante el uso de estos números de onda para distinguir entre: a) pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer colorrectal; b) pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer ginecológico, y c) pacientes con cáncer colorrectal y pacientes con cáncer ginecológico. Para algunas solicitudes, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a,

al menos, un número de onda seleccionado de la tabla Q. Alternativamente, las muestras de plasma se analizan por FTIR-MSP a, al menos, dos o tres números de onda seleccionados de la tabla Q.

Tabla Q

	Mama frente a Colorrectal Número de onda (cm-1 ± 4)		Mama frente a Ginecológico Número de onda (cm-1 ± 4)			Colorrectal frente a Ginecológico Número de onda (cm-1 ± 4)			
5	716,9	1115,1	715,0	1164, 8	1528, 3	739,1	1116, 1	1496, 5	1712, 0
10	728,5	1142,1	728,0	1171, 1	1534, 6	773,3	1138, 3	1501, 3	1719, 7
	742,0	1156,1	756,0	1177, 3	1552, 4	795,0	1175, 9	1511, 4	1734, 7
	796,5	1174,4	762,2	1193, 7	1565, 9	823,0	1193, 2	1519, 6	1740, 9
15	823,0	1199,5	821,5	1204, 8	1579, 4	833,6	1201, 9	1528, 3	1749, 1
	831,2	1249,6	829,2	1217, 3	1587, 6	847,1	1241, 9	1535, 5	1756, 4
	883,2	1271,3	836,5	1229, 9	1591, 5	856,7	1257, 8	1542, 3	1767, 4
20	904,5	1282,4	846,6	1238, 1	1610, 8	876,0	1271, 8	1552, 4	
	948,3	1370,7	856,7	1315, 2	1615, 1	940,6	1284, 8	1565, 9	
	955,6	1379,8	876,0	1335, 9	1630, 5	955,1	1295, 9	1578, 0	
25	975,3	1464,7	882,3	1388, 5	1641, 1	962,3	1304, 1	1587, 6	
	1003,8	1573,1	904,9	1412, 6	1647, 9	976,8	1322, 9	1615, 1	
	1010,5	1609,3	919,4	1421, 3	1653, 7	987,9	1336, 4	1626, 7	
30	1030,8	1634,4	927,1	1436, 7	1660, 9	998,5	1360, 1	1631, 0	
	1039,0	1661,9	937,7	1448, 8	1667, 6	1009, 6	1389, 5	1635, 3	
	1050,1	1666,2	948,3	1459, 4	1694, 2	1017, 3	1412, 1	1642, 1	
35	1070,8	1740,4	961,3	1467, 1	1701, 9	1028, 4	1426, 6	1647, 9	
	1080,4	1745,3	980,1	1473, 8	1735, 1	1047, 6	1437, 2	1654, 1	
	1090,5	1751,0	1005, 2	1479, 6	1748, 2	1056, 8	1448, 8	1659, 9	
40	1099,7	1790,1	1018, 7	1497, 0	1756, 8	1062, 1	1458, 9	1667, 2	
	1106,0		1039, 9	1501, 3	1778, 0	1071, 3	1466, 1	1678, 7	
			1055, 8	1506, 1	1783, 4	1082, 8	1473, 3	1685, 0	
45			1144, 1	1511, 9		1098, 7	1479, 6	1693, 7	
			1157, 1	1521, 1		1107, 4	1484, 9	1701, 9	

50 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla Q se usan para diferenciar entre pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer colorrectal: 823,0 ± 4 cm-1, 904,5 ± 4 cm-1, 955,6 ± 4 cm-1, 1003,8 ± 4 cm-1, 1039,0 ± 4 cm-1, 1099,7 ± 4 cm-1 y 1174,4 ± 4 cm-1.

55 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla Q se usan para diferenciar entre pacientes con cáncer de mama y pacientes con cáncer ginecológico: 961,3 ± 4 cm-1, 1005,2 ± 4 cm-1, 1039,9 ± 4 cm-1, 1055,8 ± 4 cm-1, 1528,3 ± 4 cm-1 y 1647,9 ± 4 cm-1.

60 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla Q se usan para diferenciar entre pacientes con cáncer colorrectal y pacientes con cáncer ginecológico: 955,1 ± 4 cm-1, 1028,4 ± 4 cm-1, 1047,6 ± 4 cm-1, 1098,7 ± 4 cm-1, 1175,9 ± 4 cm-1, 1535,5 ± 4 cm-1 y 1647,9 ± 4 cm-1.

Se hace referencia a las Figuras 13A-D, que son gráficos que representan la segunda derivada de los espectros de absorción de FTIR, y análisis de estos, en base a muestras de PBMC (Figura 13A) y plasma (Figura 13B) de pacientes con cáncer y controles sanos, derivados de acuerdo con algunas solicitudes.

Como se muestra en las Figuras 13A-B, el análisis espectral de la segunda derivada demuestra que las muestras de PBMC y plasma de pacientes con cáncer difieren de los espectros del control sano. Las principales regiones espectrales están marcadas.

5 La tabla R enumera los números de onda que se identificaron para el diagnóstico de cáncer mediante el uso de muestras de PBMC con referencia al conjunto de experimentos como se presentan en la Figura 13A-D.

Tabla R Número de onda (cm-1 ± 4)

10	706,3	1117,1	1420,8	1562,5
	742,9	1134,9	1431,4	1566,9
	749,7	1146,5	1437,2	1569,3
15	841,8	1162,4	1453,6	1579,4
	900,1	1188,4	1470,9	1587,1
	910,7	1200,5	1476,7	1598,7
20	942,5	1220,7	1485,4	1613,6
	956,5	1228,1	1496,0	1623,3
	977,7	1276,6	1499,4	1628,1
25	993,6	1285,3	1504,2	1643,1
	1034,1	1292,1	1510,0	1649,8
	1048,1	1298,8	1514,3	1663,3
30	1059,7	1321,0	1523,0	1669,6
	1071,3	1369,2	1529,8	1675,8
	1079,0	1382,2	1538,0	1681,6
35	1094,9	1389,5	1544,2	1699,5
	1110,3	1403,9	1555,8	1709,6

40 Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla R se usan para diagnosticar el cáncer mediante el uso de muestras de PBMC: $749,70 \pm 4$ cm-1, $841,8 \pm 4$ cm-1, $993,6 \pm 4$ cm-1, $1034,1 \pm 4$ cm-1, $1117,1 \pm 4$ cm-1, $1146,5 \pm 4$ cm-1, $1228,1 \pm 4$ cm-1 y $1276,6 \pm 4$ cm-1.

45 La tabla S enumera los números de onda que se identificaron para el diagnóstico de cáncer mediante el uso de muestras de PBMC con referencia al conjunto de experimentos como se presentan en la Figura 13A-D.

Tabla S

	733,3	959,4	1174,0	1399,1	1562,5
5	748,2	963,8	1180,7	1414,5	1577,5
	753,5	971,9	1199,5	1421,3	1584,2
	771,4	979,7	1217,3	1429,5	1601,6
10	779,1	989,8	1227,5	1448,8	1627,1
	799,3	994,6	1233,7	1454,1	1643,1
	821,5	1008,1	1263,6	1460,8	1651,3
15	821,5	1014,4	1278,1	1484,9	1666,2
	827,8	1038,0	1289,7	1490,7	1675,8
	840,3	1054,9	1295,0	1499,4	1681,6
20	846,6	1066,9	1307,5	1504,2	1687,4
	858,6	1074,6	1321,5	1510,0	1694,2
	870,2	1088,6	1331,6	1515,3	1707,2
25	889,0	1111,3	1339,8	1519,2	1717,8
	897,2	1128,6	1352,3	1523,0	1733,2
	913,6	1136,8	1364,4	1529,8	1739,5
30	923,7	1146,0	1378,9	1537,5	1758,3
	938,7	1153,7	1384,6	1544,2	1769,4
35	948,3	1160,9	1392,4	1555,8	

Para algunas solicitudes, uno, dos, tres o más de los siguientes números de onda seleccionados de la tabla S se usan para diagnosticar el cáncer mediante el uso de muestras de plasma: $846,6 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1008,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1038,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1111,3 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1153,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1278,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1289,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

Las Figuras 14A-C muestran el análisis de la curva característica operativa del receptor (ROC), incluido el área bajo la curva (AUC), de PBMC (Figura 14A) y plasma (Figura 14B) de controles sanos, en comparación con los sujetos con tumores malignos (pacientes con cáncer). Como se muestra, el uso combinado de las muestras de plasma y PBMC (figura 14C) aumentó la sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de cáncer.

Las Figuras 15A-D son ilustraciones esquemáticas de portaobjetos que contienen una muestra de plasma biológico que se secó al aire durante 0,5 h bajo flujo laminar a una temperatura de $30 \pm 4 \text{ C}$ (Figuras 15A-B) para eliminar el agua de acuerdo con algunas solicitudes en comparación con los portaobjetos que contienen una muestra de plasma biológico que se secó al aire durante 0,5 h bajo flujo laminar a una temperatura de 21 C para eliminar el agua (Figura 15C-D). Los resultados muestran que el secado a una temperatura de $30 \pm 4 \text{ C}$ produce portaobjetos mejorados, para usar en solicitudes. Se observa que las Figuras 15B y 15D están al mismo nivel de ampliación microscópica y son una vista ampliada de las Figuras 15A y 15C, respectivamente.

Cabe señalar que la presente divulgación incluye el uso de sólo un biomarcador de número de onda para el diagnóstico diferencial de tumores sólidos benignos y malignos, así como el uso de dos, tres, cuatro o más números de onda.

Las modalidades descritas en la presente descripción pueden tomar la forma de una modalidad completamente de hardware, una modalidad completamente de software o una modalidad que incluye tanto elementos de hardware como de software. En una modalidad, la implementación está en el software, que incluye, entre otros, firmware, software residente, microcódigo, etc.

Además, las modalidades pueden tomar la forma de un producto de programa informático accesible desde un medio utilizable por computadora o legible por computadora que proporciona un código de programa para usar por o en conexión con una computadora o cualquier sistema de ejecución de instrucciones. Para los propósitos de esta descripción, un medio utilizable por computadora o legible por computadora puede ser cualquier aparato que pueda comprender, almacenar, comunicar, propagar o transportar el programa para usar por o en conexión con el sistema,

aparato o dispositivo de ejecución de instrucciones. El medio puede ser un sistema (o aparato o dispositivo) electrónico, magnético, óptico, electromagnético, infrarrojo o semiconductor o un medio de propagación.

5 Los ejemplos de un medio legible por computadora incluyen un semiconductor o memoria de estado sólido, cinta magnética, un disquete de computadora extraíble, una memoria de acceso aleatorio (RAM), una memoria de solo lectura (ROM), un disco magnético rígido y un disco óptico. Los ejemplos actuales de discos ópticos incluyen discos compactos de memoria de solo lectura (CD-ROM), discos compactos de lectura/escritura (CD-R/W) y DVD.

10 Se hace referencia a la Figura 16. Típicamente, las operaciones descritas en la presente descripción se realizan mediante un sistema 30 que transforma el estado físico de una memoria 26, que es un artículo físico real, para que tenga una polaridad magnética, carga eléctrica o similar diferente, en dependencia de la tecnología de la memoria que se usa. Un procesador 22 del sistema 30 realiza el análisis descrito en la presente descripción, en base a entradas de un sistema FTIR 20, y envía los resultados del análisis a un dispositivo de salida 24 (por ejemplo, una pantalla, una impresora o un medio de almacenamiento a largo plazo). Por tanto, el sistema 30 puede usarse para
15 realizar análisis que incluyen cualquiera de los números de onda descritos en la presente descripción.

Un sistema de procesamiento de datos adecuado para almacenar y/o ejecutar código de programa incluirá al menos un procesador acoplado directa o indirectamente a elementos de memoria a través de un bus del sistema. Los
20 elementos de memoria pueden incluir memoria local empleada durante la ejecución real del código del programa, almacenamiento masivo y memorias caché que proporcionan almacenamiento temporal de al menos parte del código del programa para reducir el número de veces que el código debe recuperarse del almacenamiento masivo durante la ejecución. El sistema puede leer las instrucciones en los dispositivos de almacenamiento de programas y seguir estas instrucciones para ejecutar la metodología de las modalidades.

25 Los dispositivos de entrada/salida (I/O) (que incluyen, pero no se limitan a, teclados, pantallas, dispositivos señaladores, etc.) pueden acoplarse al sistema directamente o mediante controladores de I/O intervinientes. Los adaptadores de red también pueden acoplarse al sistema para permitir que el sistema de procesamiento de datos se acople a otros sistemas de procesamiento de datos o impresoras remotas o dispositivos de almacenamiento a través de redes públicas o privadas intervinientes. Los módems, módem por cable y tarjetas Ethernet son solo algunos de
30 los tipos de adaptadores de red disponibles actualmente.

El código del programa informático para realizar operaciones puede escribirse en cualquier combinación de uno o más lenguajes de programación, que incluyen un lenguaje de programación orientado a objetos tales como Java, Smalltalk, C ++ o similares y lenguajes de programación procedimentales convencionales, tal como el lenguaje de
35 programación C o lenguajes de programación similares.

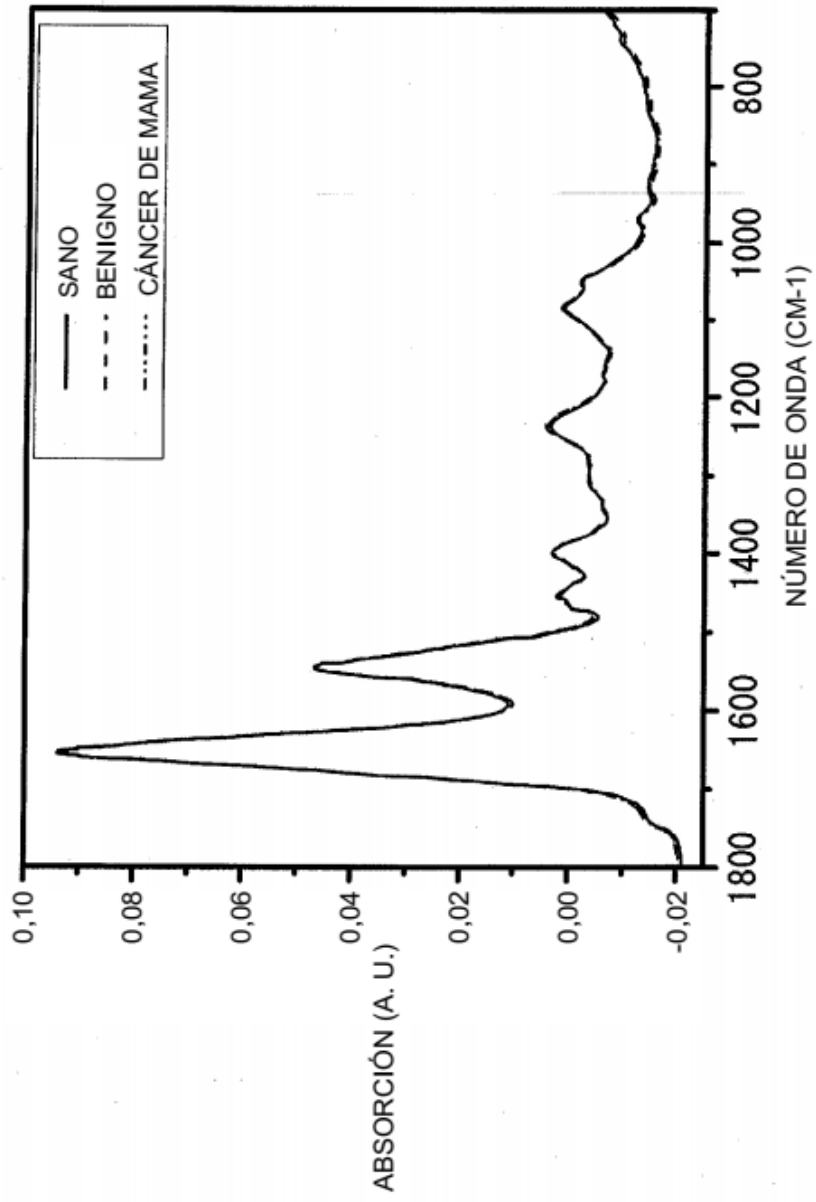
Se entenderá que las operaciones descritas en la presente descripción pueden implementarse mediante instrucciones de programa informático. Estas instrucciones del programa informático se pueden proporcionar a un procesador (por ejemplo, procesador 22) de una computadora de propósito general, computadora de propósito
40 especial u otro aparato de procesamiento de datos programable para producir una máquina, de modo que las instrucciones, que se ejecutan a través del procesador de la computadora u otro aparato de procesamiento de datos programable, crear medios para implementar las funciones/actos descritos en la presente descripción. Estas instrucciones del programa informático también pueden almacenarse en un medio legible por computadora que puede hacer que una computadora u otro aparato de procesamiento de datos programable funcione de una manera
45 particular, de modo que las instrucciones almacenadas en el medio legible por computadora produzcan un artículo de fabricación que incluya medios de instrucción que implementen las funciones/actos descritos en la presente descripción. Las instrucciones del programa informático también pueden cargarse en una computadora u otro aparato de procesamiento de datos programable para hacer que se realicen una serie de etapas operacionales en la computadora u otro aparato programable para producir un proceso implementado por computadora de manera que
50 las instrucciones que se ejecutan en la computadora otro aparato programable proporcionen procesos para implementar las funciones/actos descritos en la presente descripción.

Los expertos en la técnica apreciarán que la presente invención no se limita a lo que se ha mostrado y descrito en particular anteriormente en la presente descripción.
55

REIVINDICACIONES

1. Un método que comprende:
 5 obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un sujeto al analizar la muestra mediante espectroscopía infrarroja;
 analizar el espectro infrarrojo mediante el uso de un procesador y evaluar una característica de la muestra del sujeto a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de los números de onda: $785,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $811,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $879,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1253,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1485,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $760,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $870,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1371,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1485,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1526,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1627,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$;
 10 en base al análisis mediante el uso del procesador, mediante el uso de un dispositivo de salida, generar una salida indicativa de la presencia de un tumor benigno que no es una afección pre-maligna, en el tejido del tracto gastrointestinal del sujeto; y
 determinar si el sujeto tiene un tumor benigno en el tejido del tracto gastrointestinal en base a la generación de la salida.
 15
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además obtener un espectro infrarrojo (IR) de una muestra de plasma del sujeto al analizar la muestra de plasma mediante espectroscopía infrarroja, en donde generar la salida comprende generar la salida indicativa de la presencia del tumor benigno del sujeto en respuesta al análisis espectroscópico infrarrojo de la muestra de PBMC y la muestra de plasma.
 20
3. El método de acuerdo la reivindicación 1, en donde generar la salida comprende indicar a través de la salida que el tumor no es un tumor maligno.
4. El método de acuerdo la reivindicación 1, en donde generar la salida comprende indicar a través de la salida que el tumor no es una afección premaligna y no es un tumor maligno.
 25
5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde generar la salida comprende indicar que la salida es indicativa diferencialmente de la presencia del tumor benigno en lugar de la ausencia de un tumor.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde analizar comprende evaluar la característica a, al menos, dos números de onda seleccionados del grupo.
 30
7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde analizar comprende evaluar la característica a, al menos, tres números de onda seleccionados del grupo.
 35
8. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde analizar comprende evaluar una característica de la muestra a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de: $785,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $811,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $879,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1253,0 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1485,4 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1526,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, y en donde generar la salida comprende indicar que la salida es indicativa diferencialmente de la presencia del tumor benigno en lugar de la ausencia de un tumor.
 40
9. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde analizar comprende evaluar una característica de la muestra a, al menos, un número de onda seleccionado del grupo que consiste de: $760,8 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $870,7 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1371,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1485,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, $1526,9 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ y $1627,1 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, y en donde generar la salida comprende indicar que la salida es indicativa diferencialmente de la presencia del tumor benigno en lugar de un tumor maligno.
 45
10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde analizar la muestra comprende obtener una segunda derivada del espectro infrarrojo (IR) de la muestra.
 50

FIGURA 1A



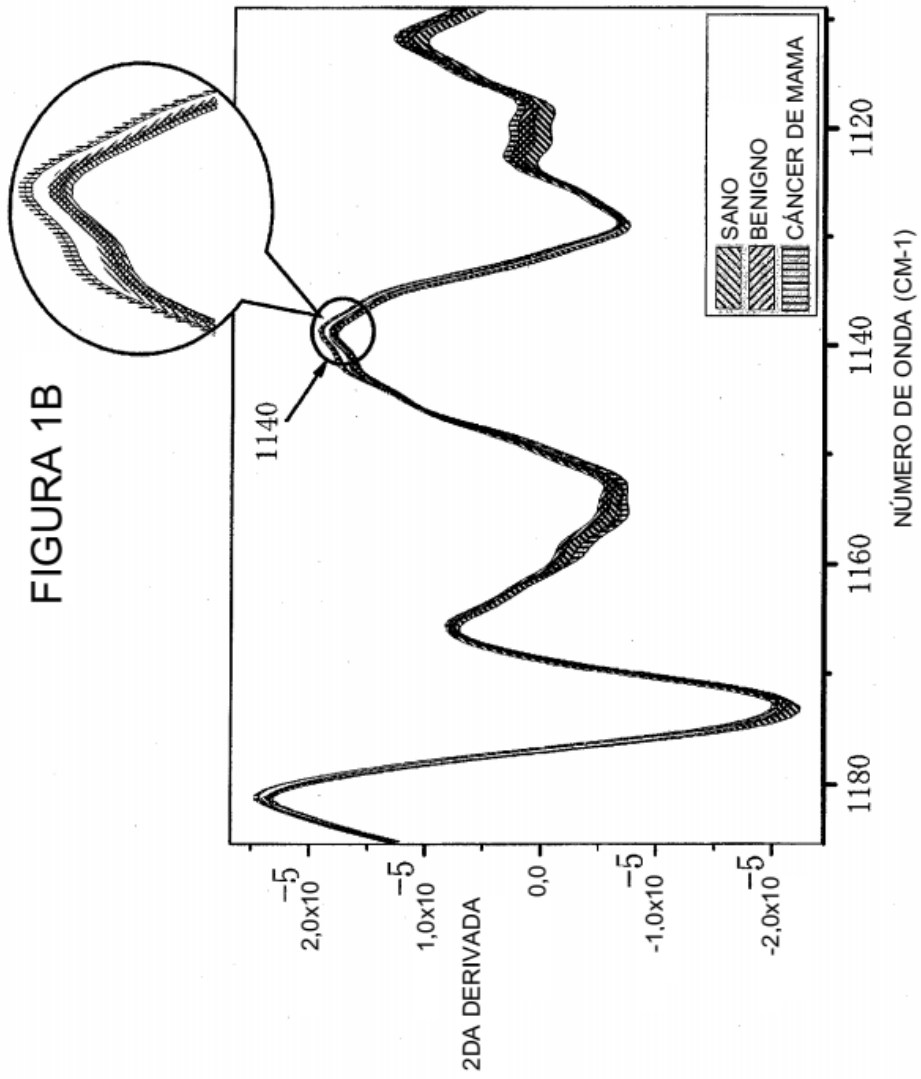


FIGURA 1C

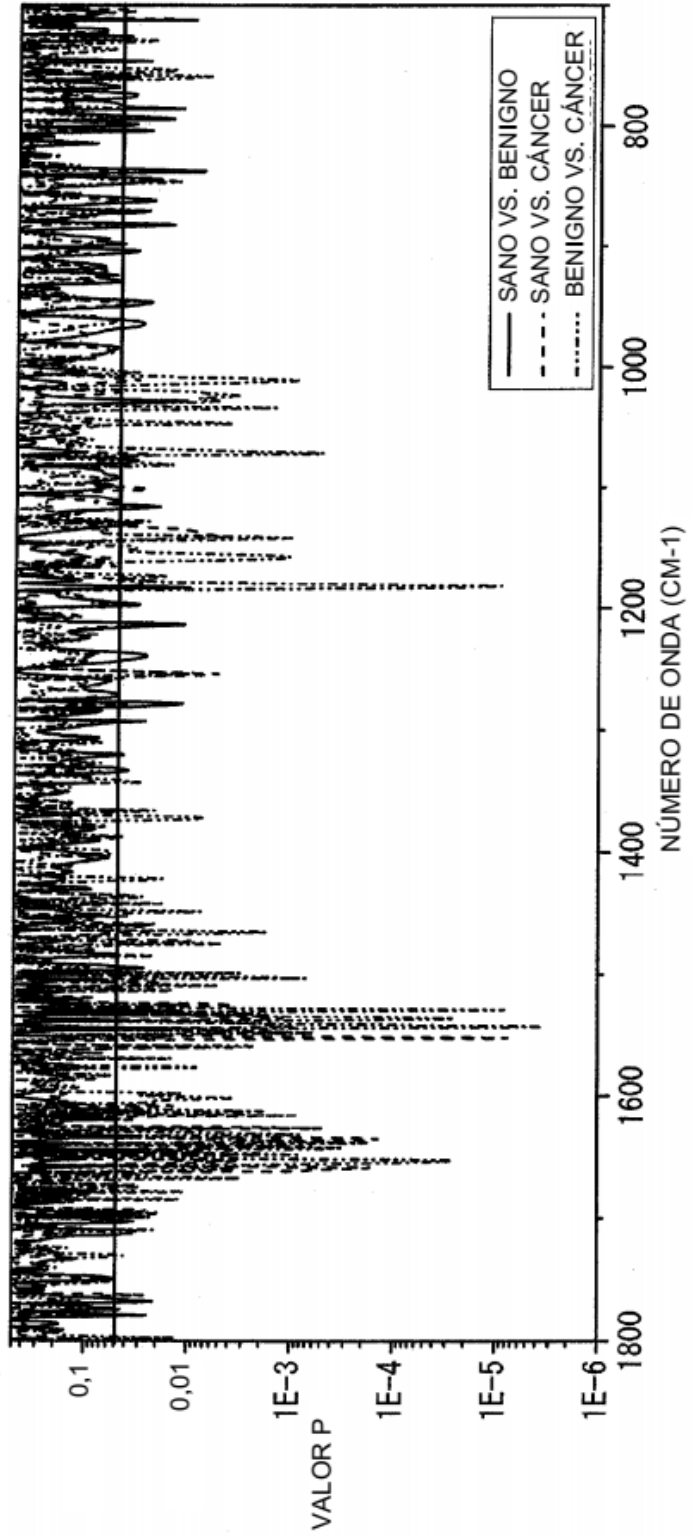


FIGURA 1D

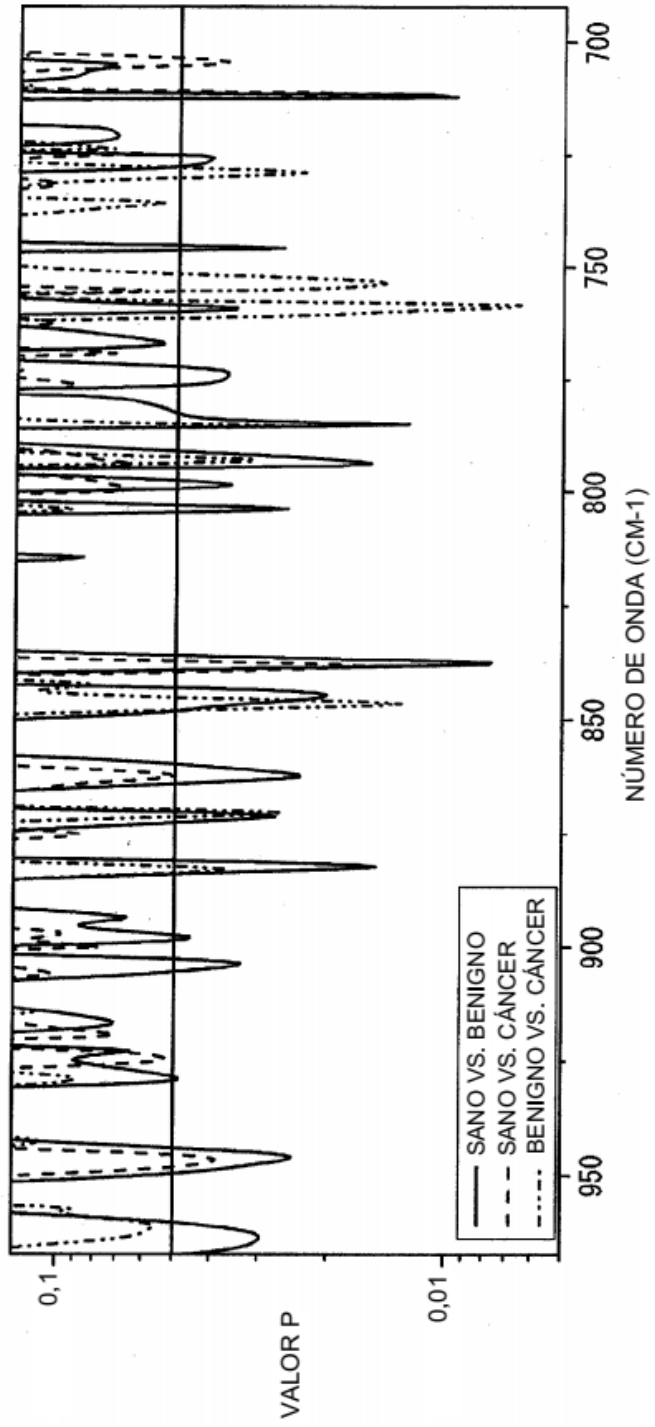


FIGURA 2A

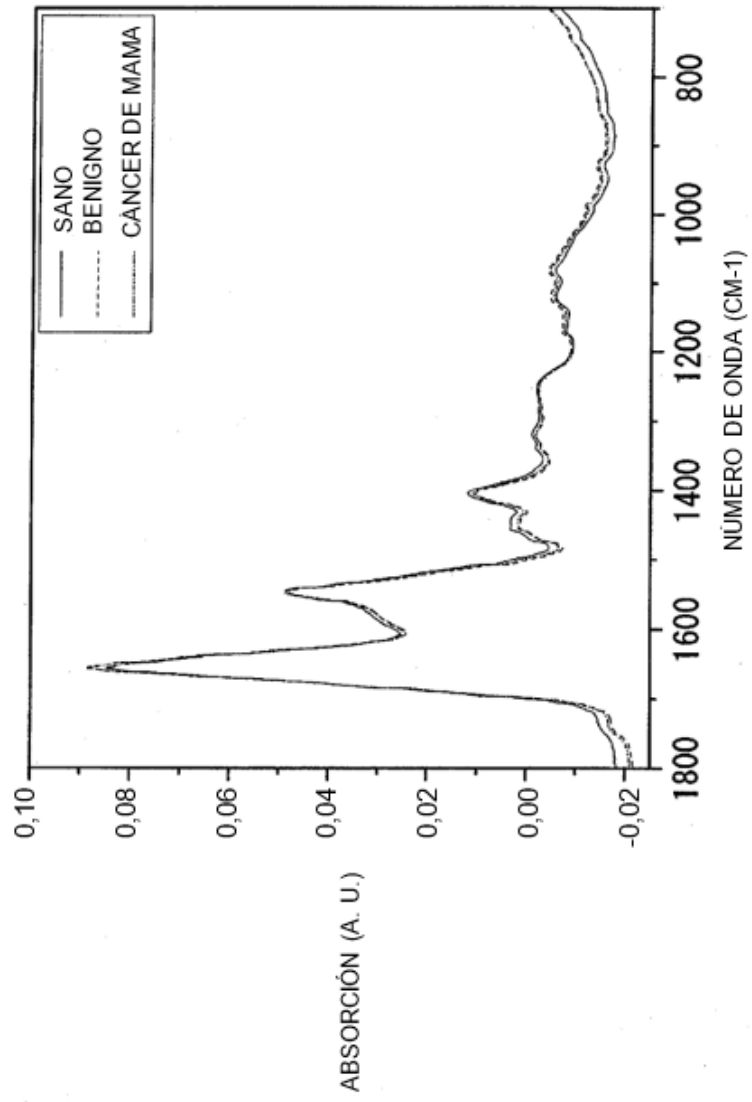


FIGURA 2B

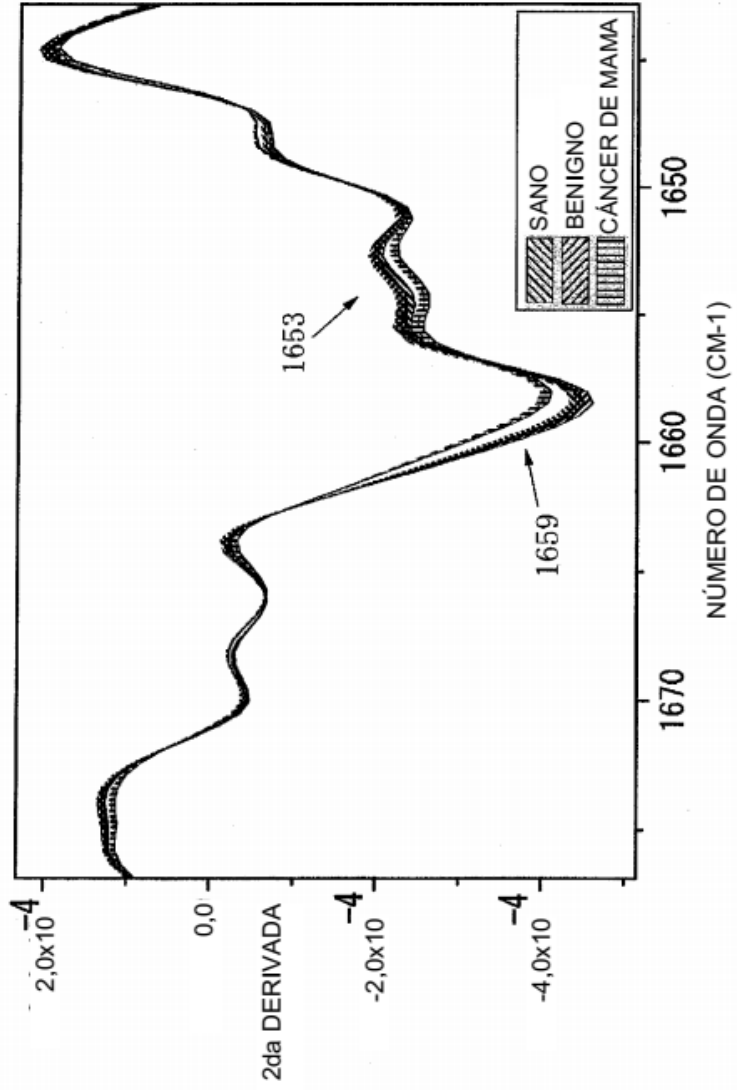


FIGURA 2C

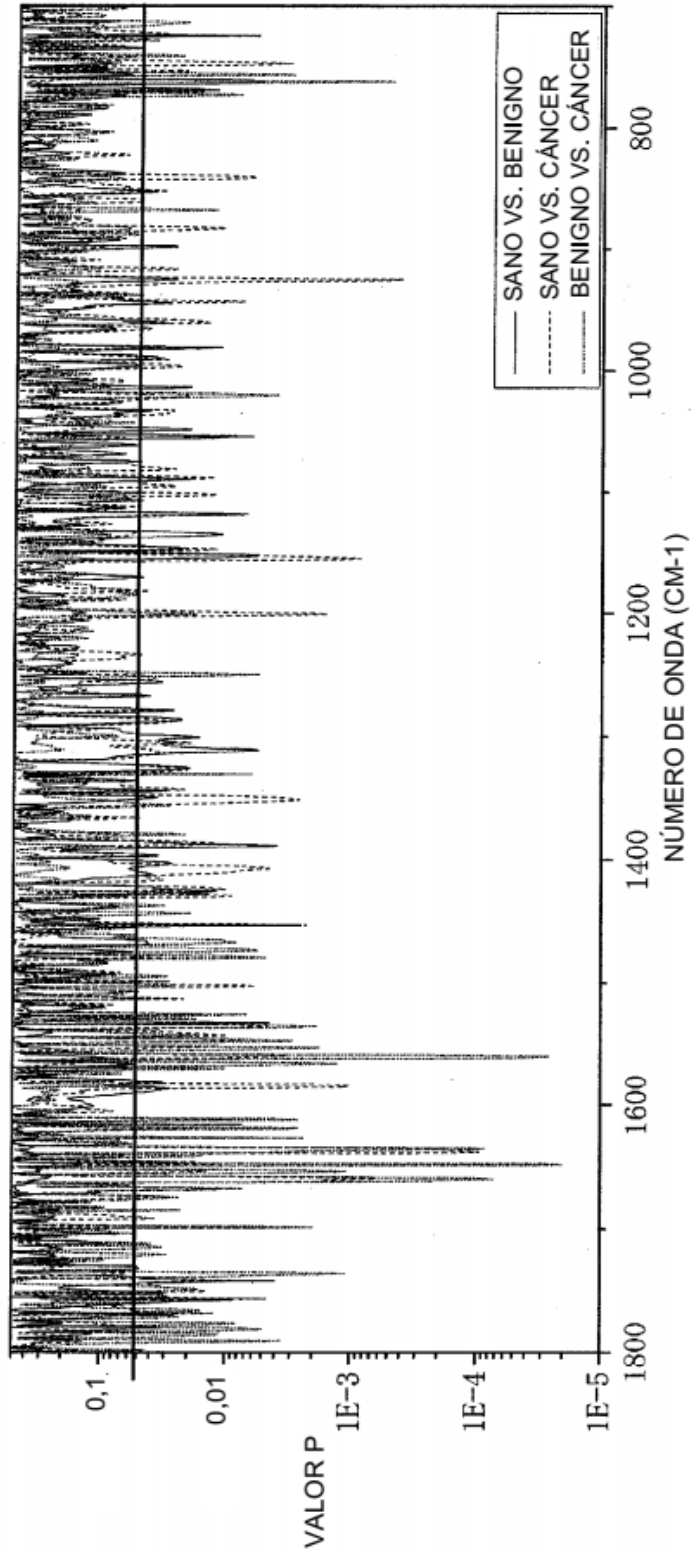


FIGURA 2D

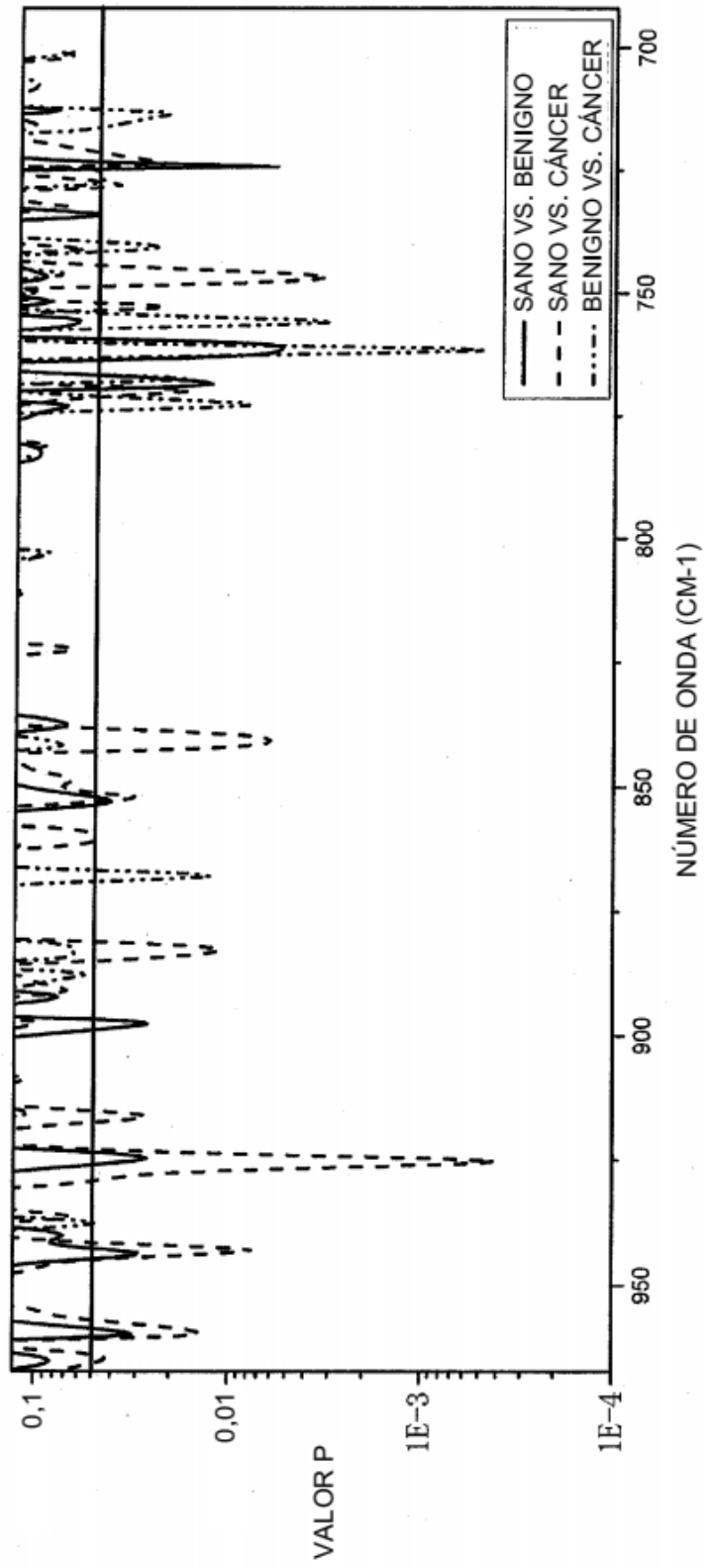


FIGURA 3A

PBMC: SANO (14) VS. BENIGNO (15)

SENSIBILIDAD: 73 %

ESPECIFICIDAD: 79 %

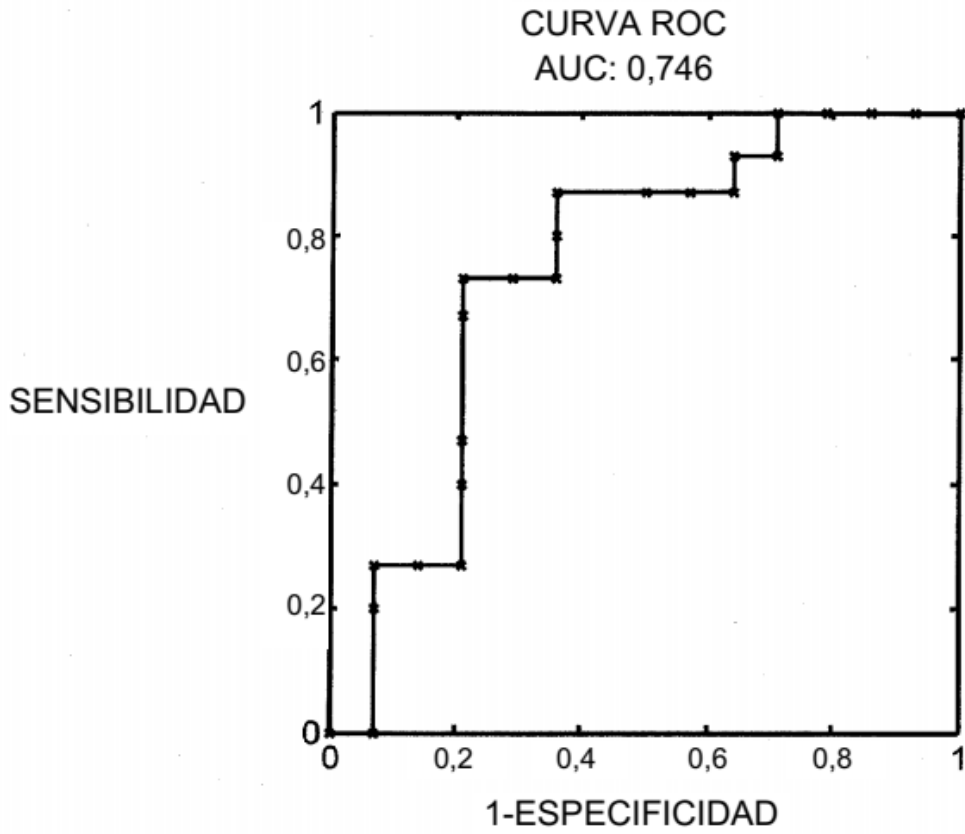


FIGURA 3B

PLASMA: SANO (13) VS. BENIGNO (15)

SENSIBILIDAD: 53 %

ESPECIFICIDAD: 92 %

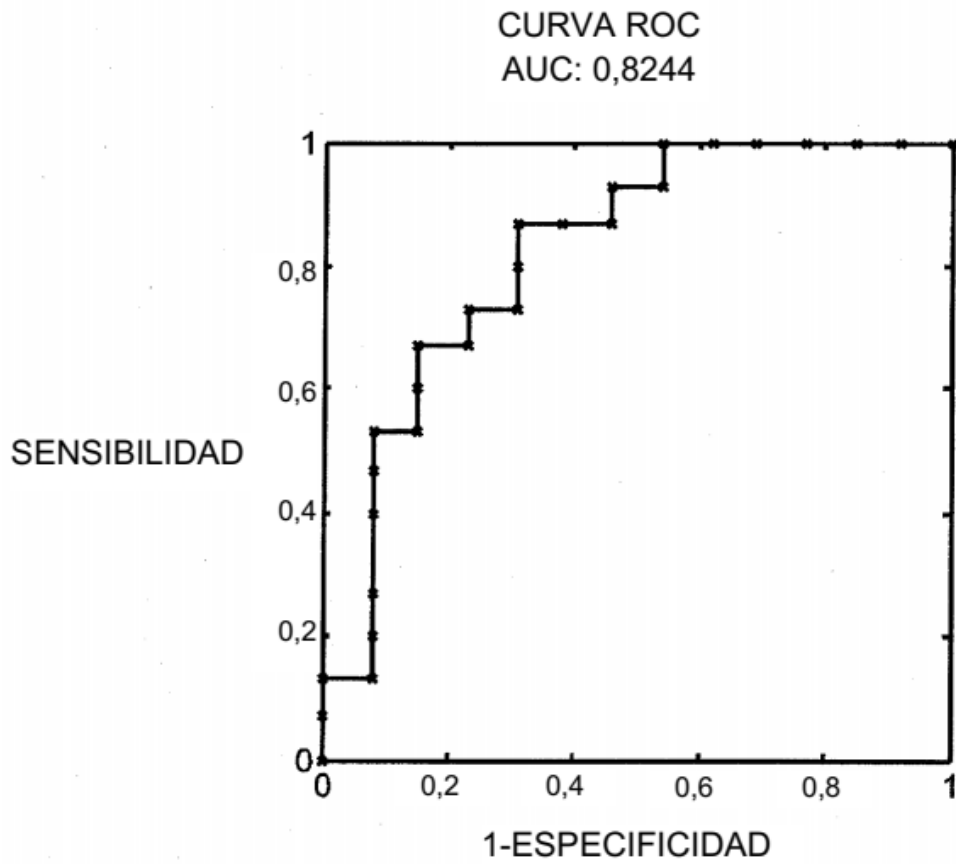


FIGURA 3C

MAMA - VALIDACIÓN CRUZADA DEJANDO UNO FUERA

I. SANO VS. BENIGNO

F1-PLASMA	768,0119	761,2623
F2-PLASMA	1054,871	1013,409
F1- PBMC	1026,426	961,8228
F2- PBMC	1171,061	1116,582

PBMC Y PLASMA COMBINADOS: SANO (12) VS. BENIGNO (15)

SENSIBILIDAD: 93 %

ESPECIFICIDAD: 100 %

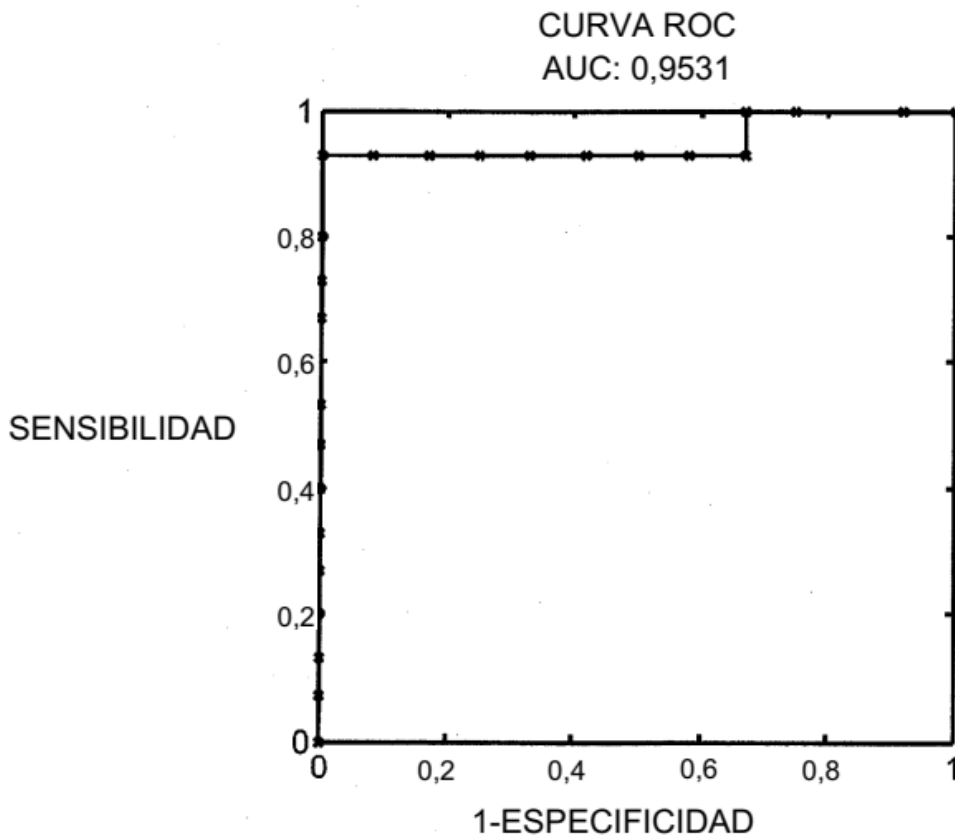


FIGURA 3D

PBMC: BENIGNO (15) VS. CÁNCER (29)

SENSIBILIDAD: 72 %

ESPECIFICIDAD: 80 %

O

SENSIBILIDAD: 90 %

ESPECIFICIDAD: 67 %

CURVA ROC

AUC: 0,7996

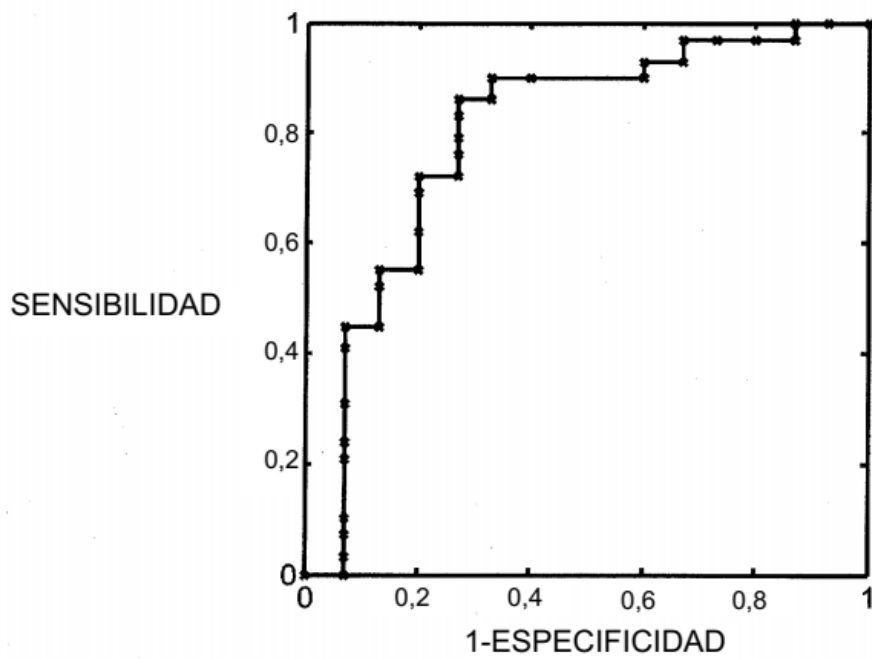


FIGURA 3E

PLASMA: BENIGNO (15) VS. CÁNCER (29)

SENSIBILIDAD: 60 %

ESPECIFICIDAD: 100 %

○

SENSIBILIDAD: 92 %

ESPECIFICIDAD: 73 %

CURVA ROC

AUC: 0,8344

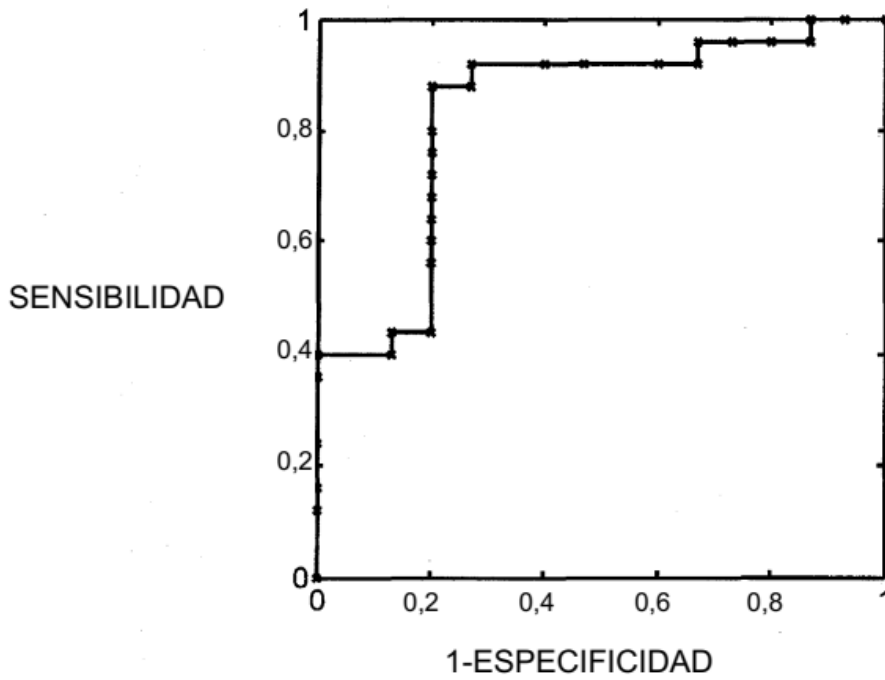


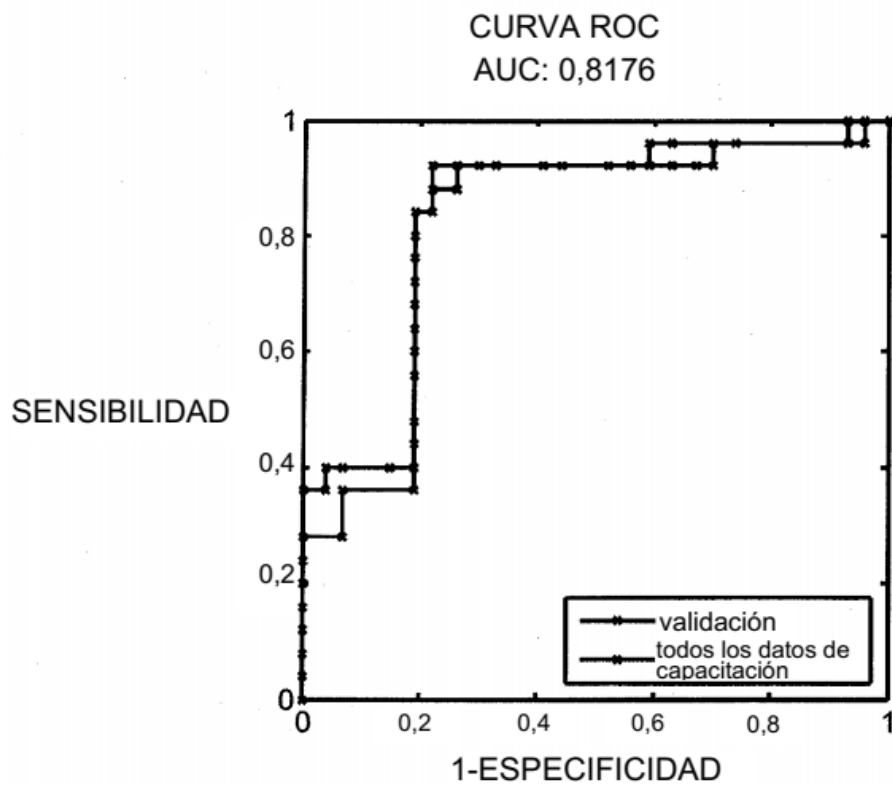
FIGURA 3G

CÁNCER DE MAMA

12 SANO; 15 BENIGNO; 25 CÁNCER;

VALIDACIÓN CRUZADA DEJANDO UNO FUERA CARACTERÍSTICAS DE PLASMA Y PBMC COMBINADOS CLASIFICADOR: QDA

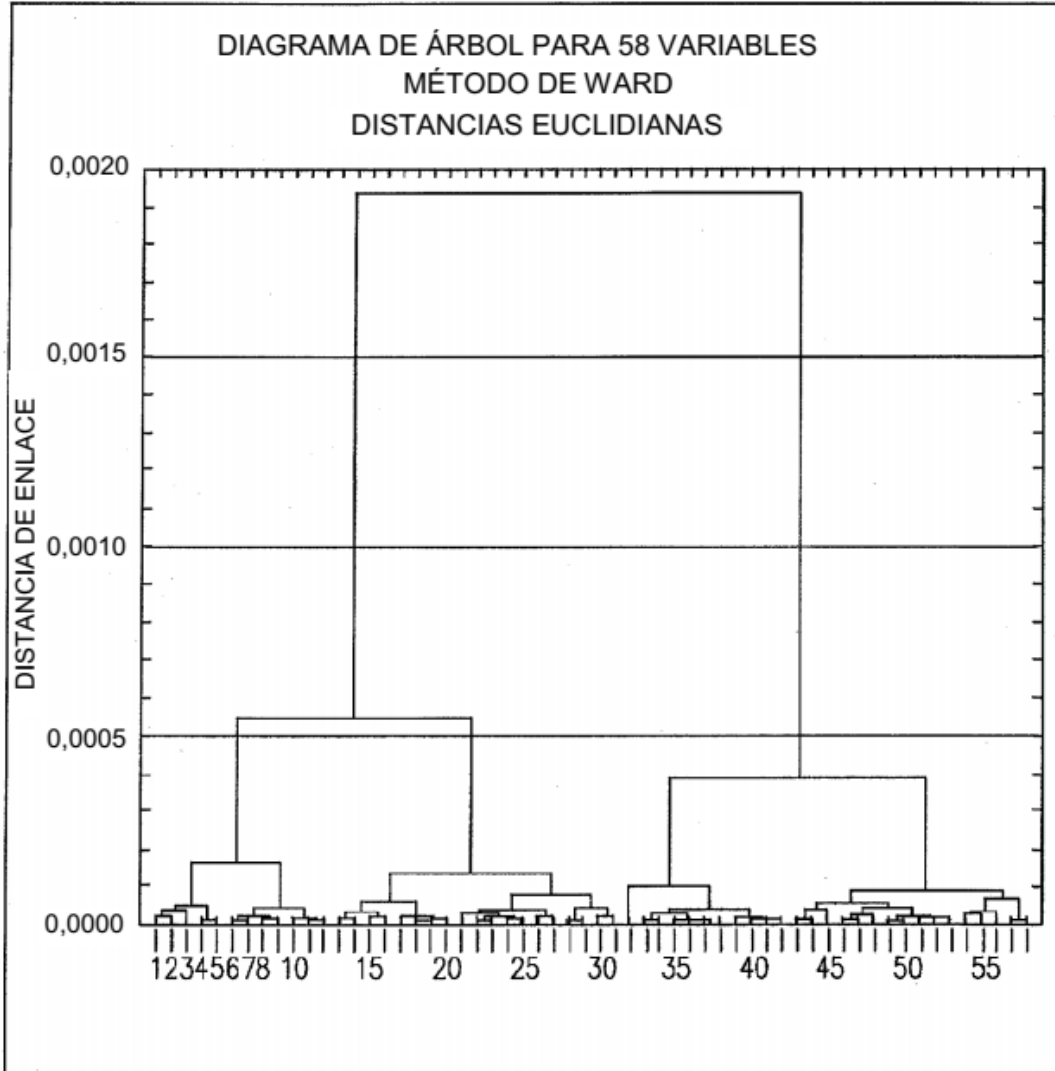
I. B1 SANO + BENIGNO (27) VS. CÁNCER (25) TOTAL 3 CARACTERÍSTICAS



ALTA SENSIBILIDAD

	#HLT; #CNC	SENSIBILIDAD [%]	ESPECIFICIDAD [%]
CAPACITACION	# 27; # 25	92	77,8
VALIDACION (LOOCV)	#27; #25	92	74,1

FIGURA 3H



		MAMOGRAFÍA/US/PATOLOGÍA			
		SANO	BEN	HGD	CÁNCER
TBIA	SANO	10	12	0	5
	CÁNCER	4	3	1	23
	SENSIBILIDAD/ESPECIFICIDAD	71%	80%	100%	82%

FIGURA 4A

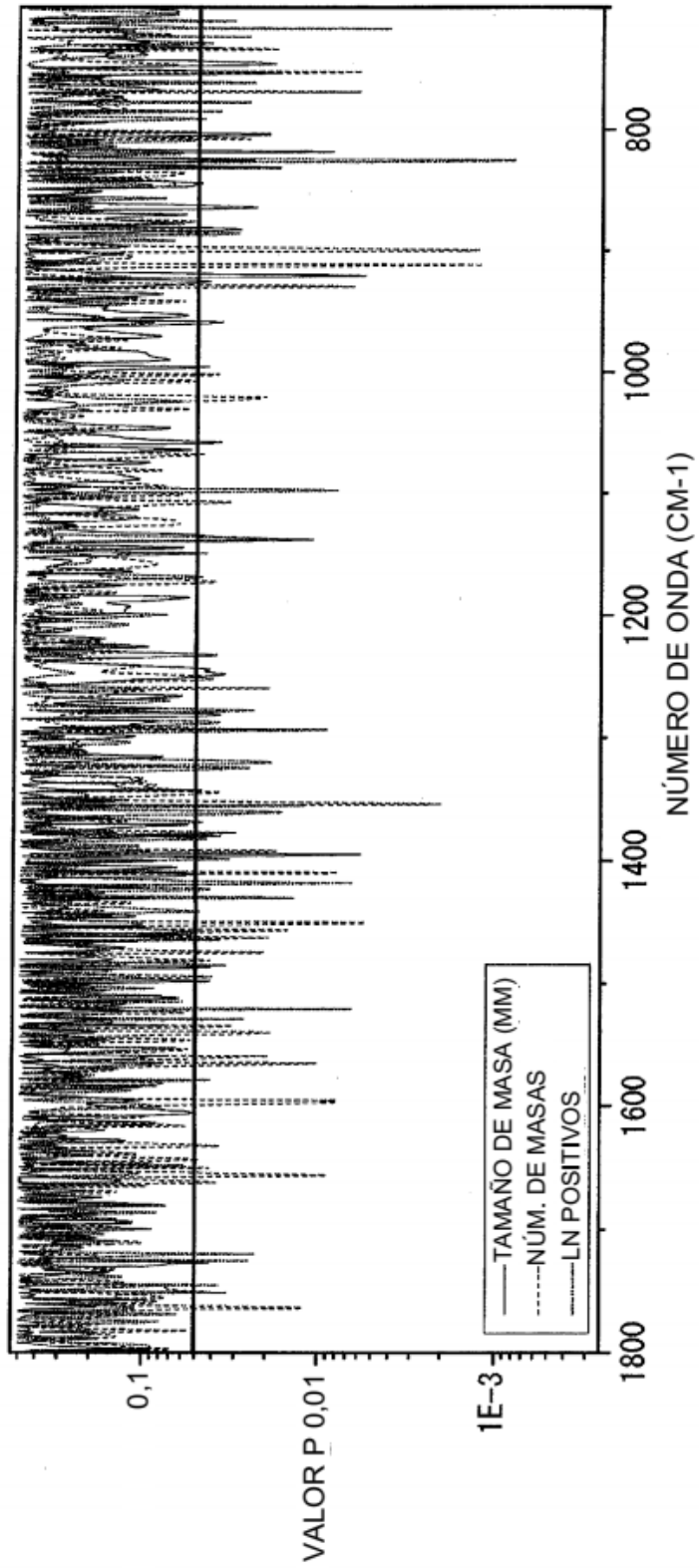


FIGURA 4B

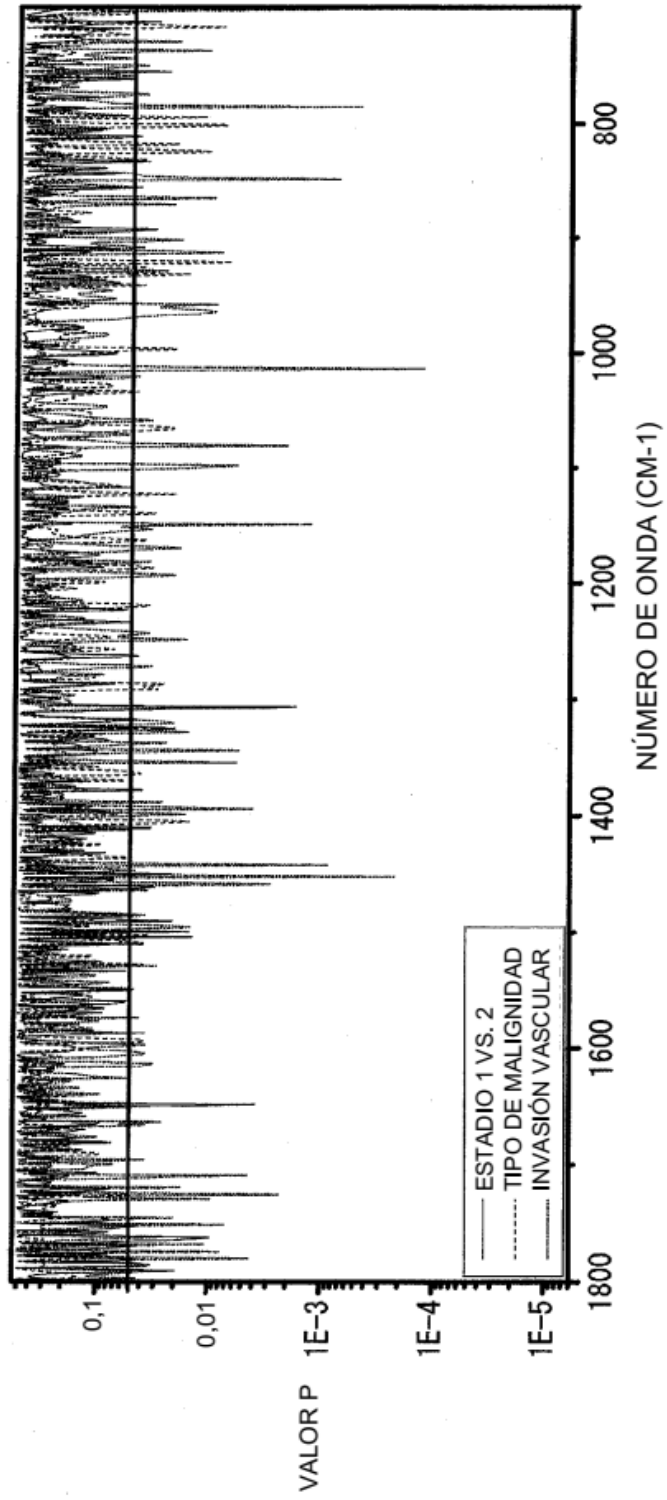


FIGURA 4C

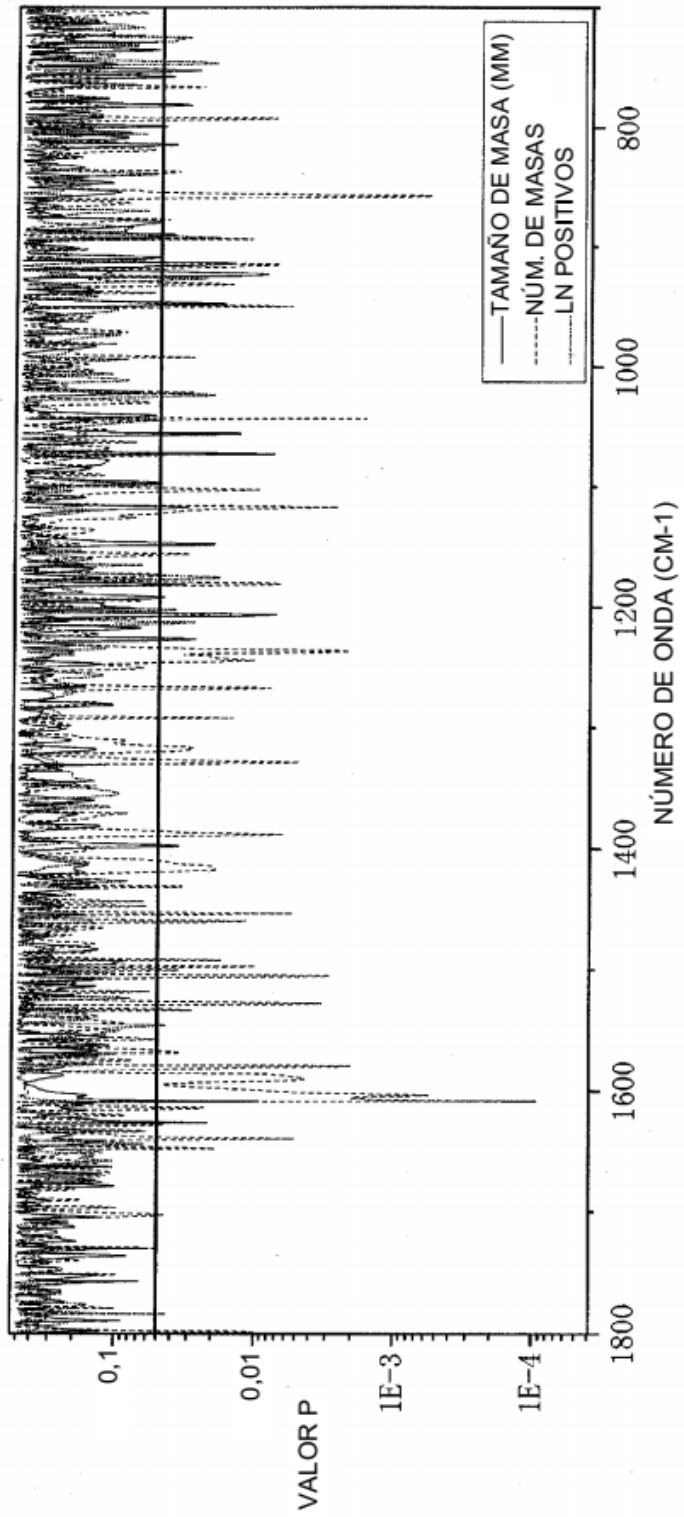


FIGURA 4D

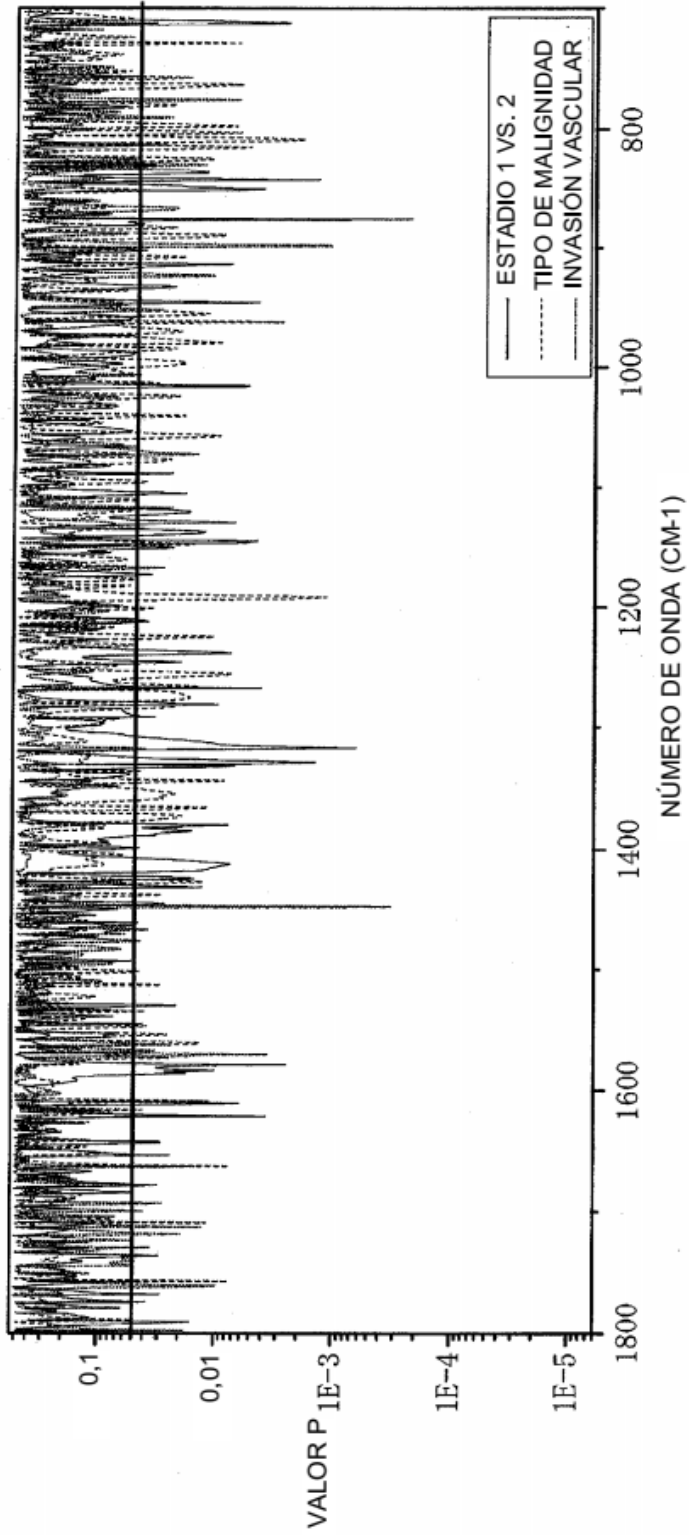


FIGURA 5A

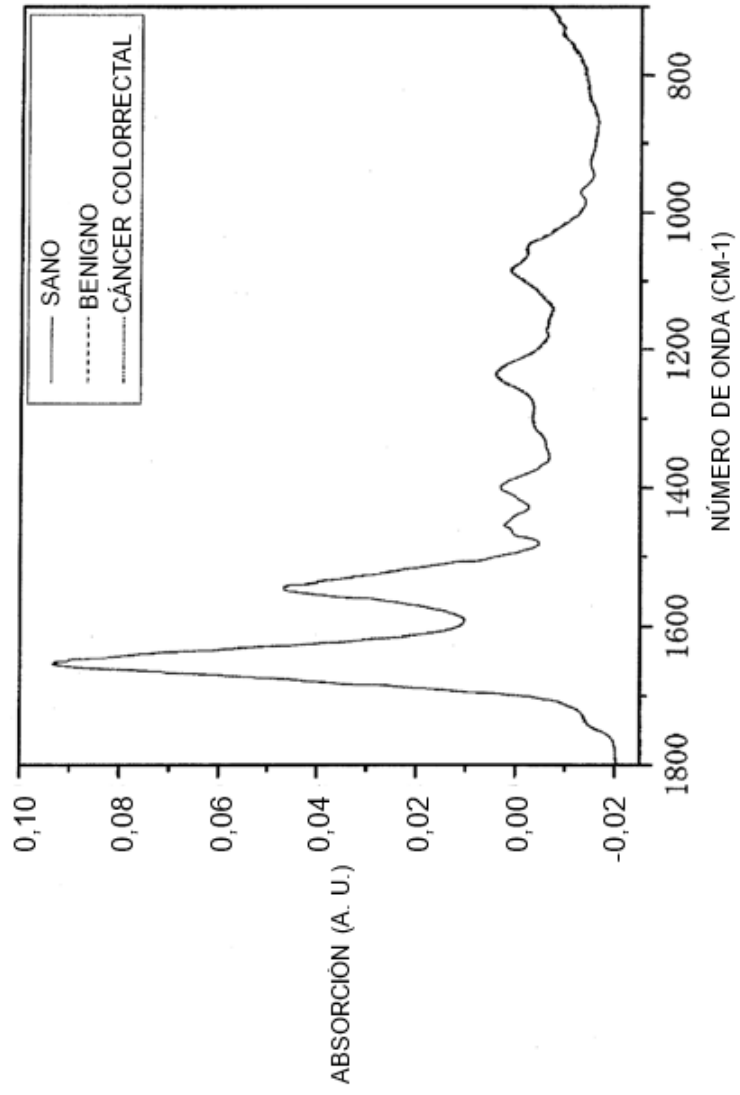


FIGURA 5B

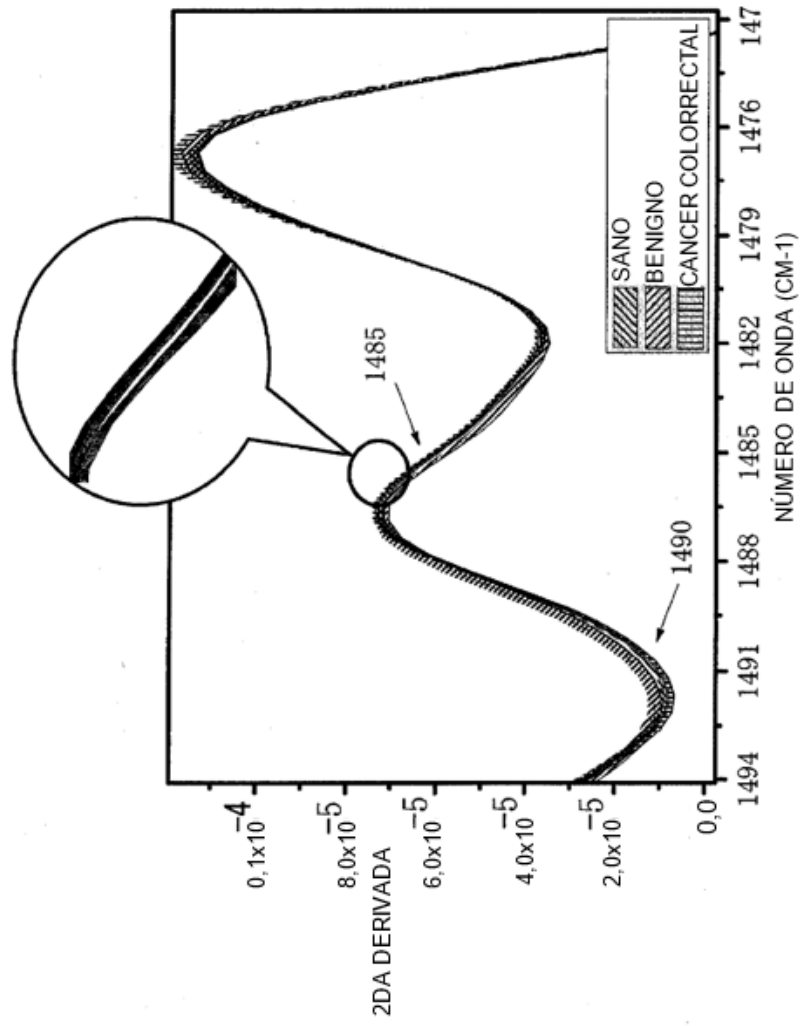


FIGURA 5C

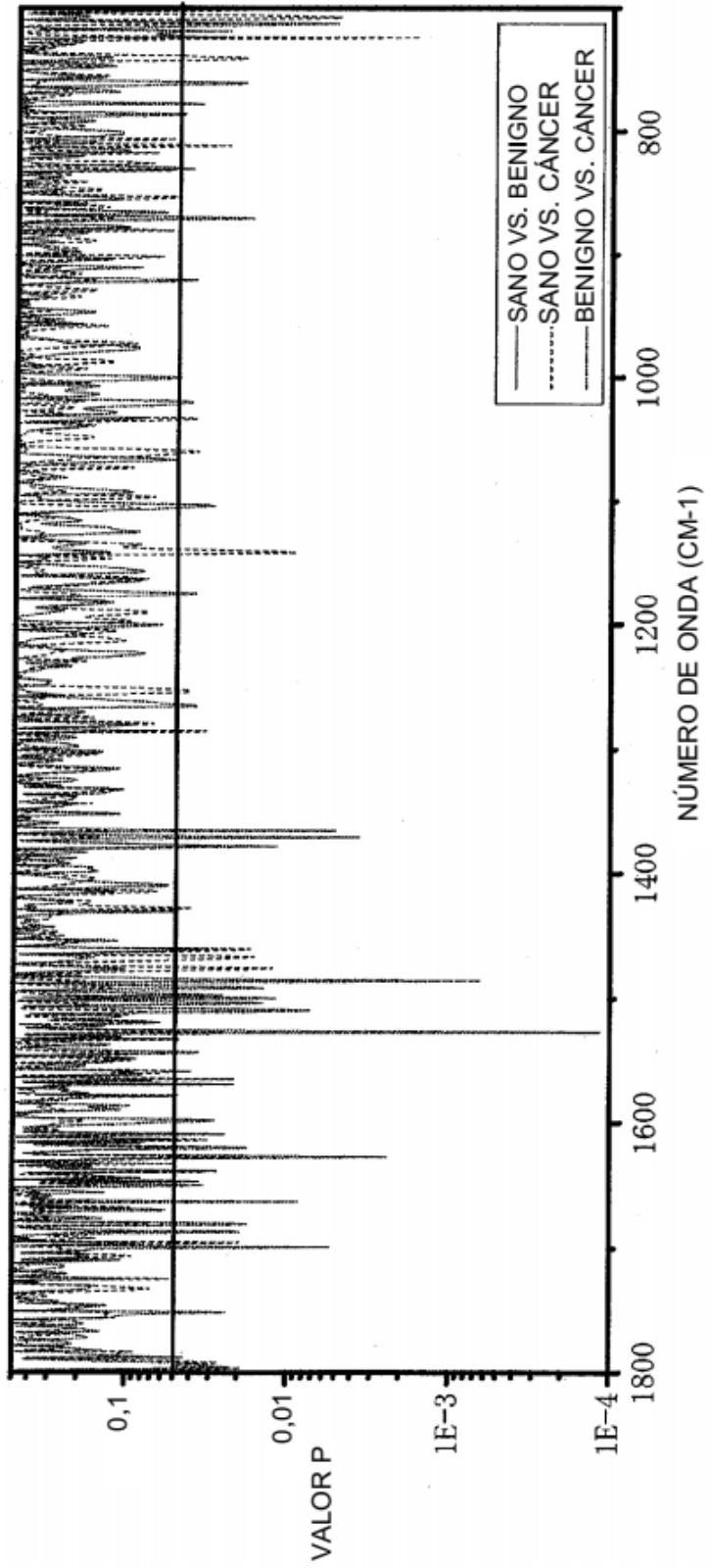


FIGURA 5D

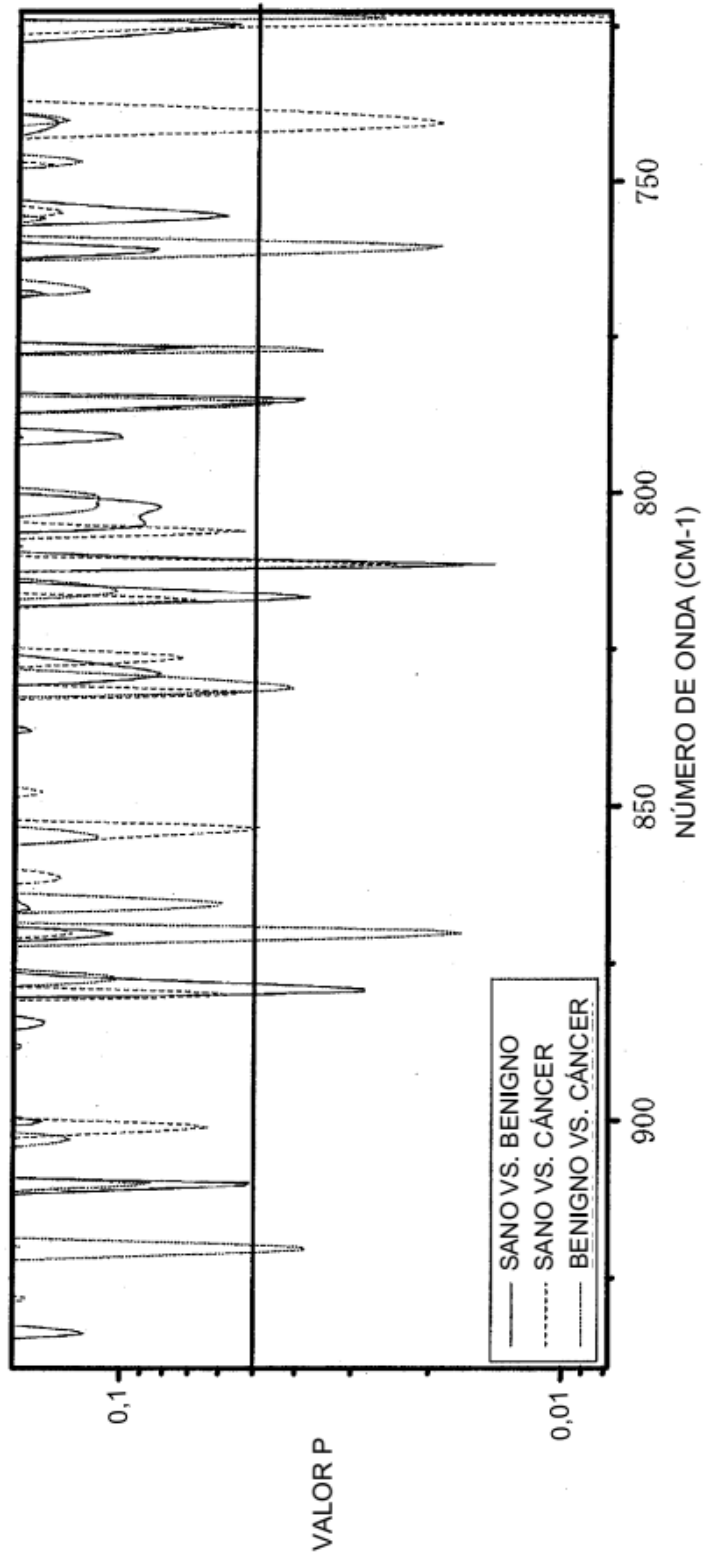


FIGURA 6A

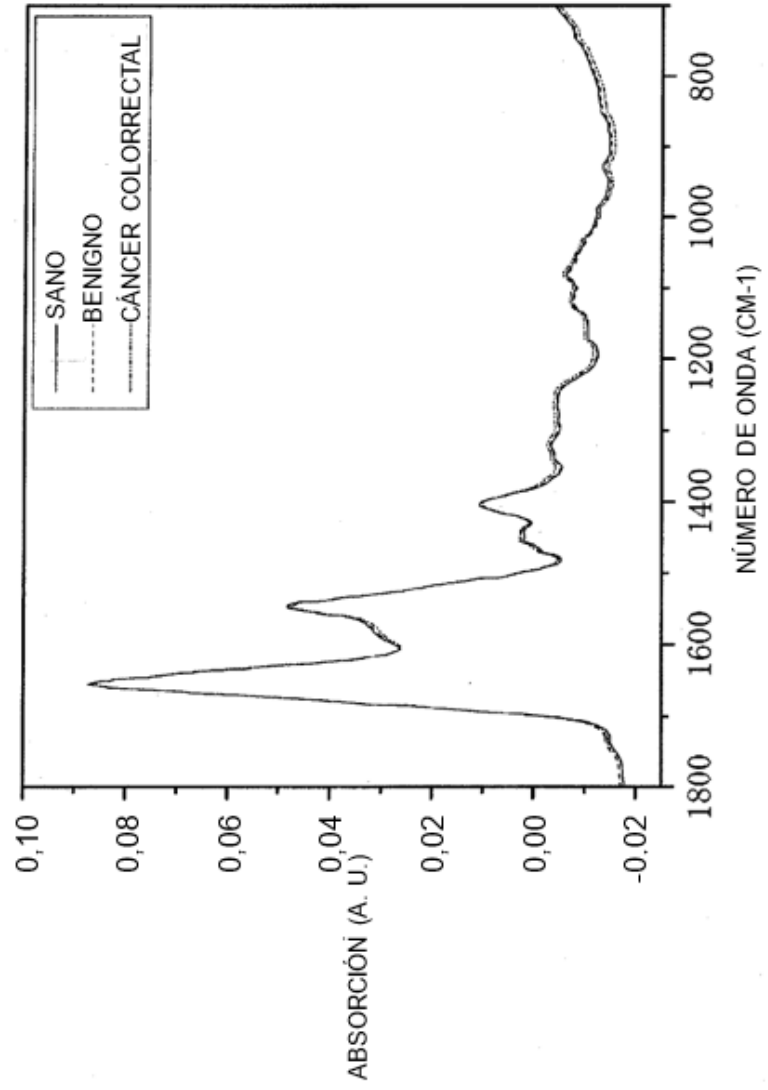


FIGURA 6B

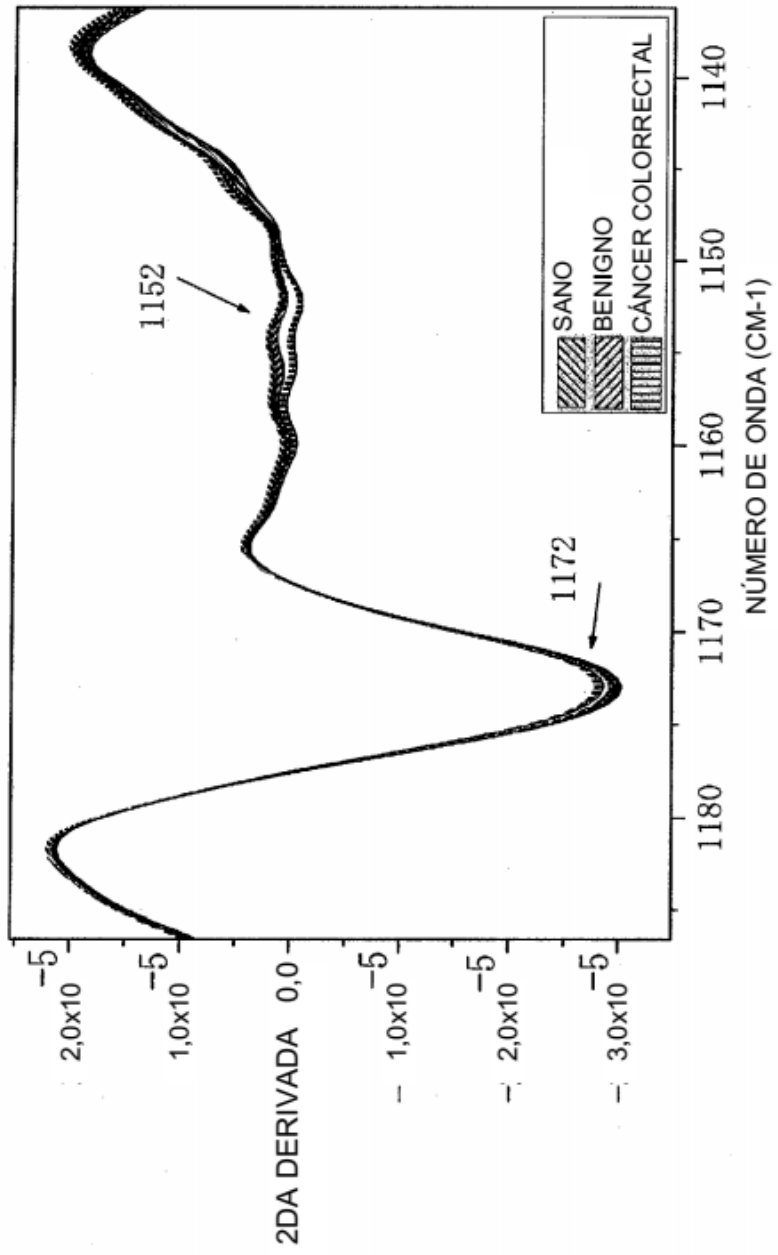


FIGURA 6C

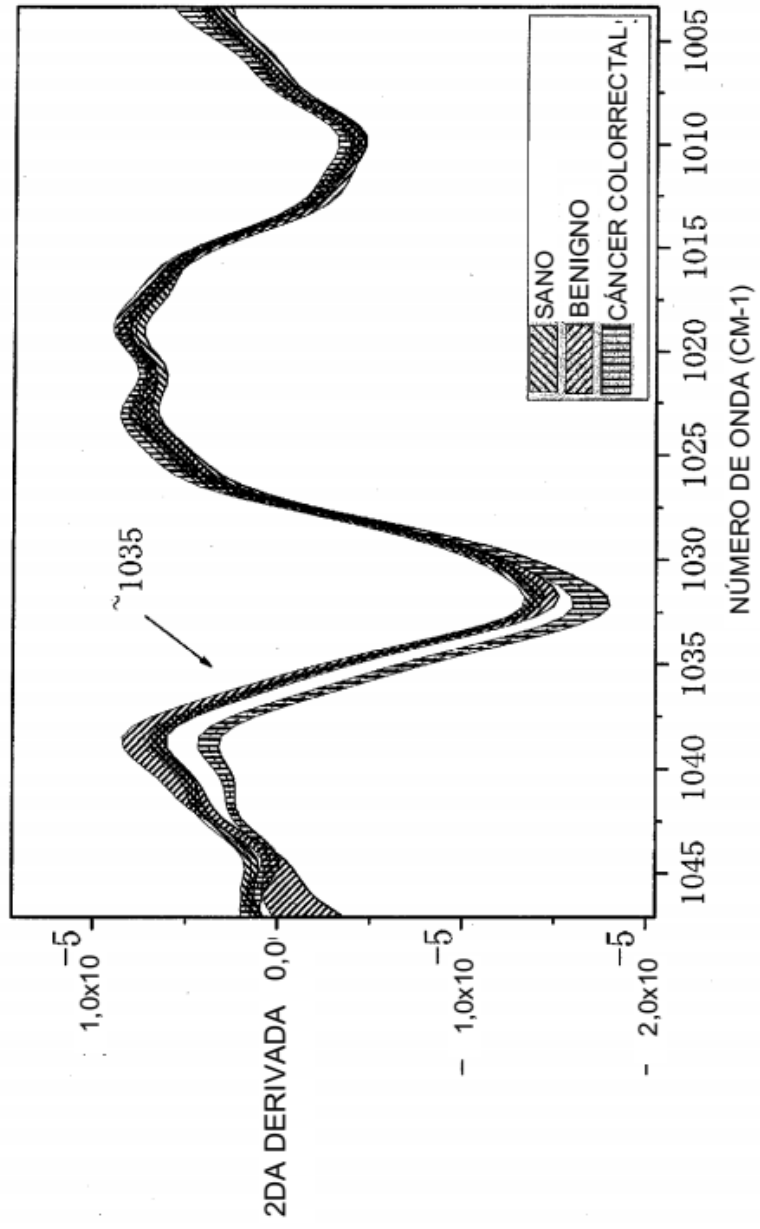


FIGURA 6D

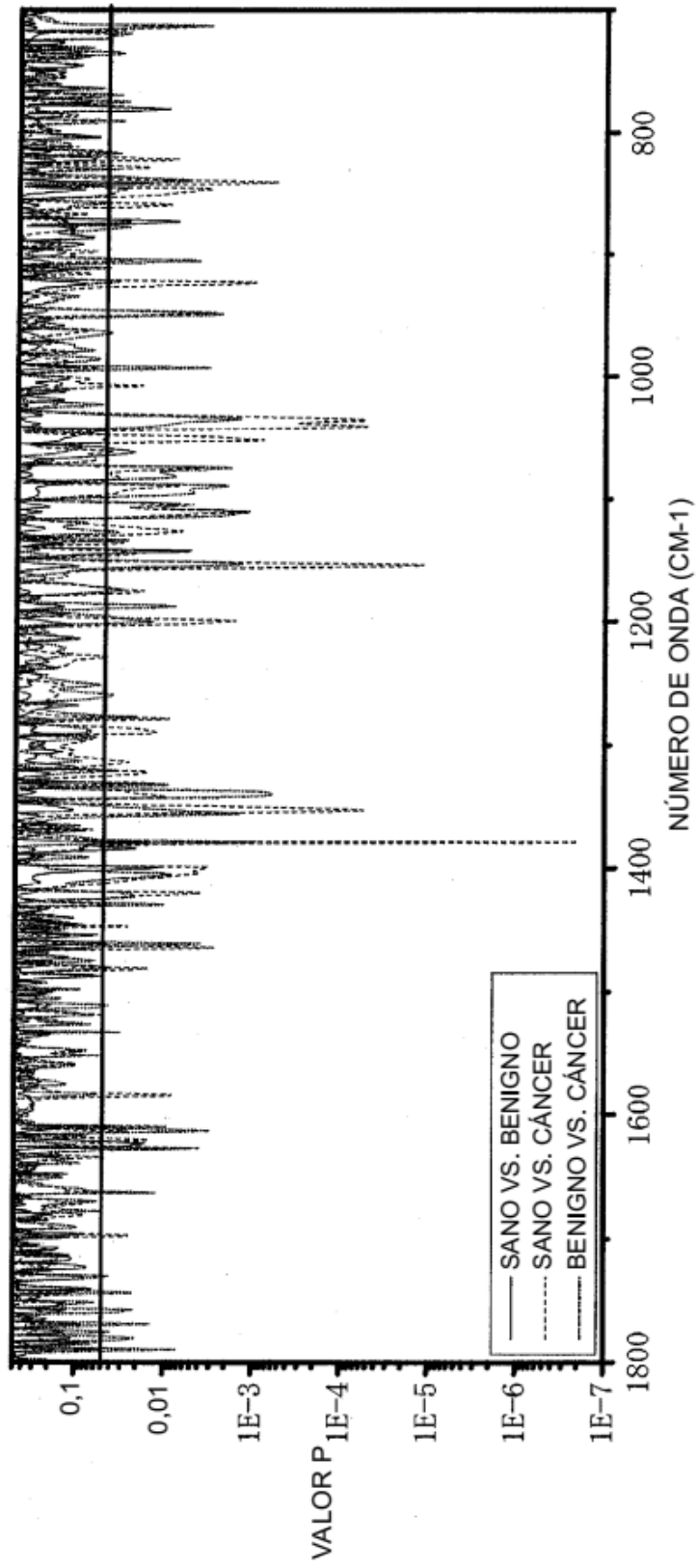


FIGURA 6E

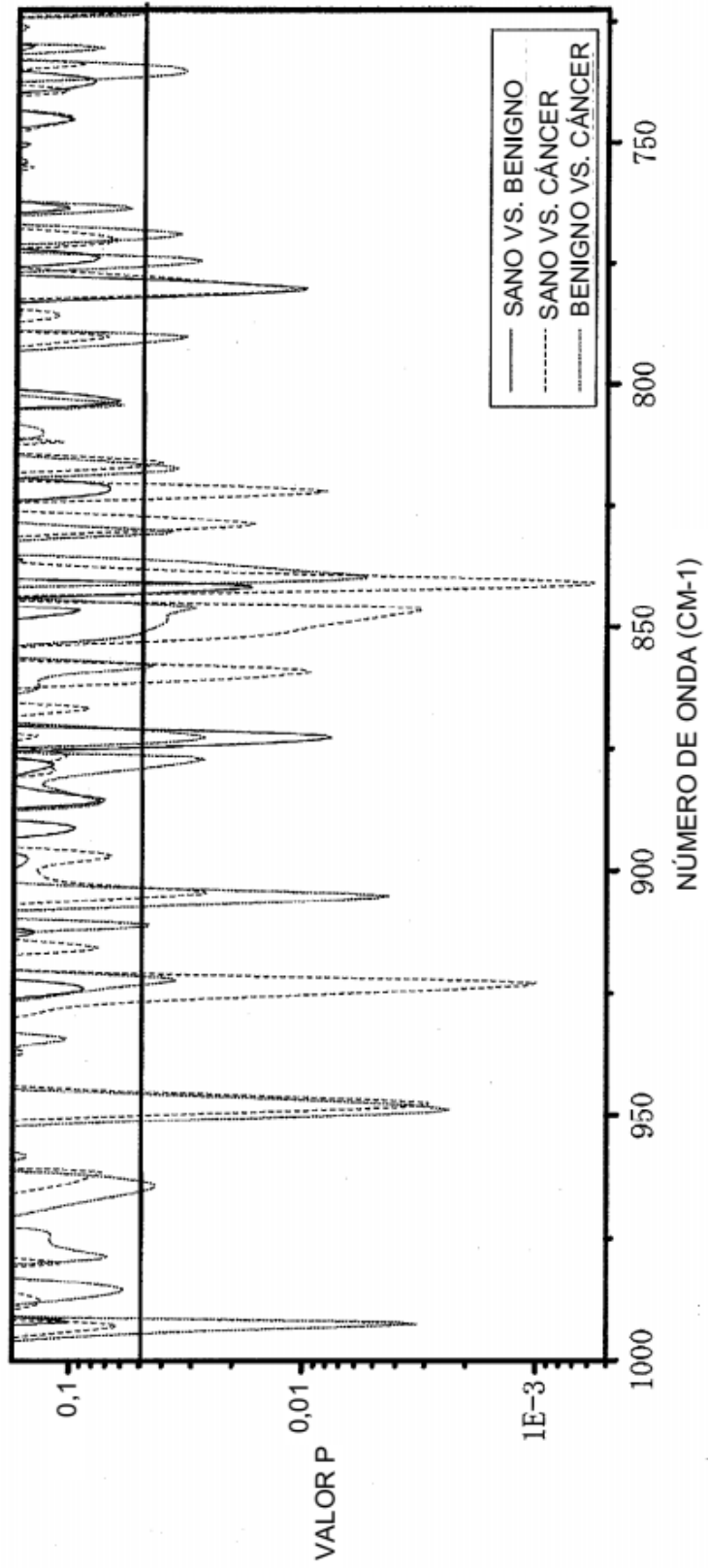


FIGURA 7A

PBMC: BENIGNO (13) VS. CÁNCER (32)
SENSIBILIDAD: 94 %
ESPECIFICIDAD: 54 %

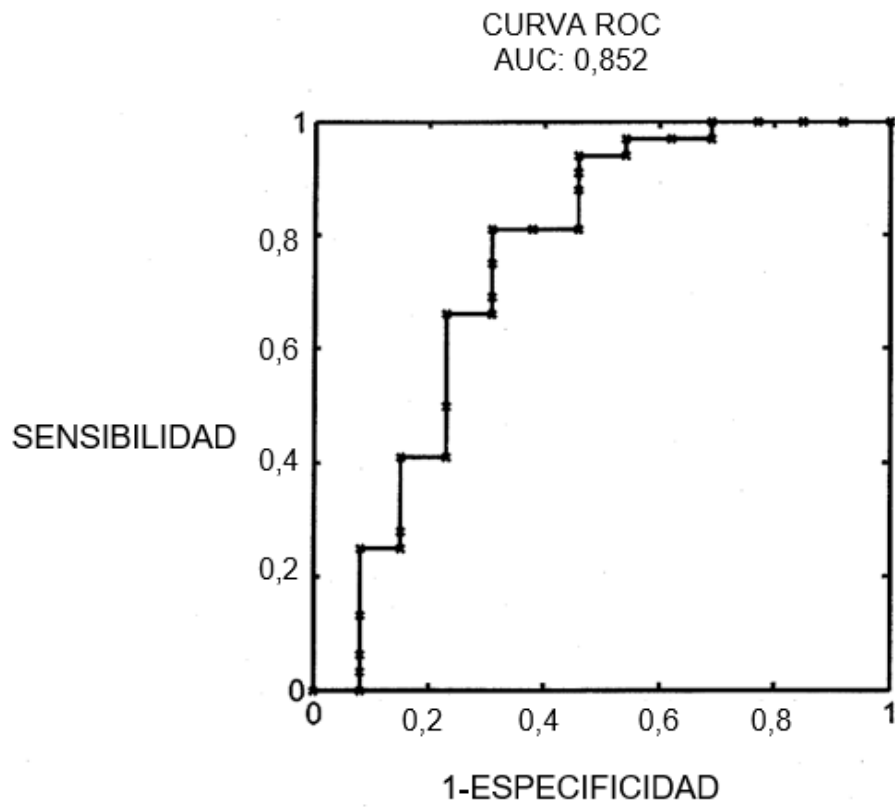


FIGURA 7B

PLASMA: BENIGNO (12) VS. CÁNCER (28)

SENSIBILIDAD: 93 %

ESPECIFICIDAD: 58 %

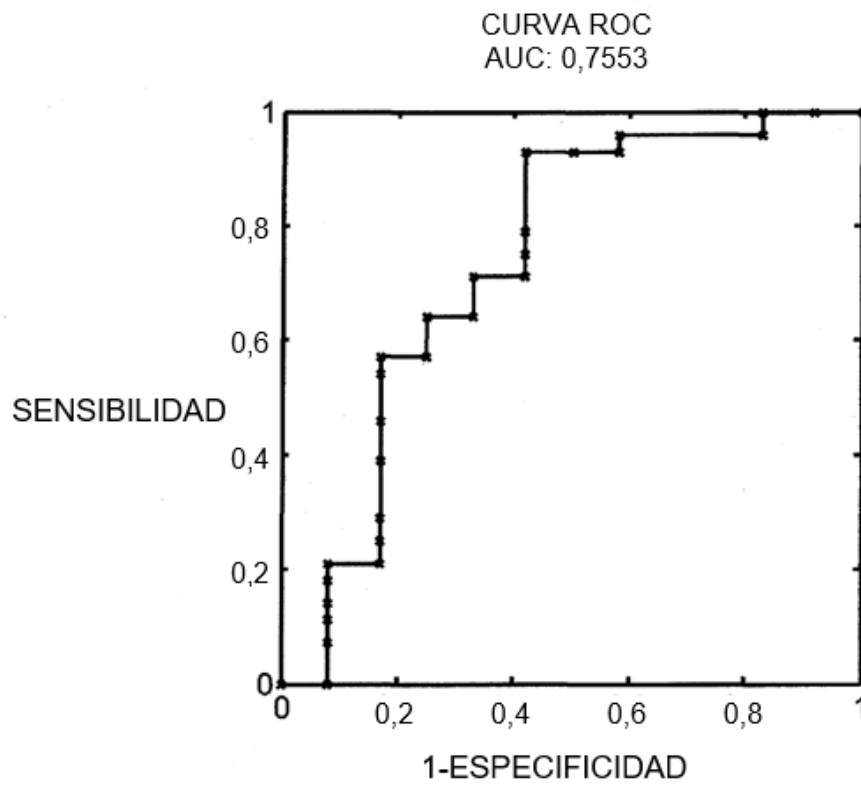


FIGURA 7C

**COLON - VALIDACIÓN CRUZADA DEJANDO UNO FUERA
BENIGNO VS. CÁNCER**

F1 - PLASMA	1114,172	1174,436
F2 - PLASMA	1034,14	1052,461
F1 - PBMC	713,5327	760,7802
F2 - PBMC	1484,919	1490,223

PBMC Y PLASMA COMBINADOS: BENIGNO (11) VS. CÁNCER (27)
 SENSIBILIDAD: 96 %
 ESPECIFICIDAD: 82 %

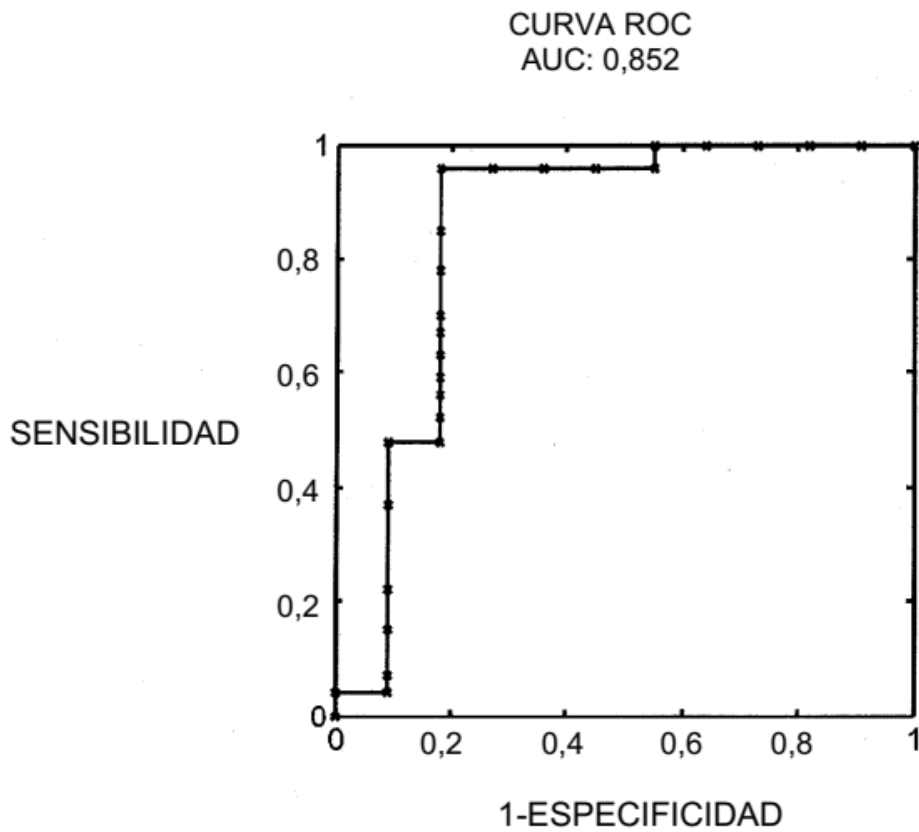


FIGURA 7D

PBMC: SANO (15) VS. BENIGNO (13)

SENSIBILIDAD: 92 %
ESPECIFICIDAD: 40 %

○

SENSIBILIDAD: 46 %
ESPECIFICIDAD: 87 %

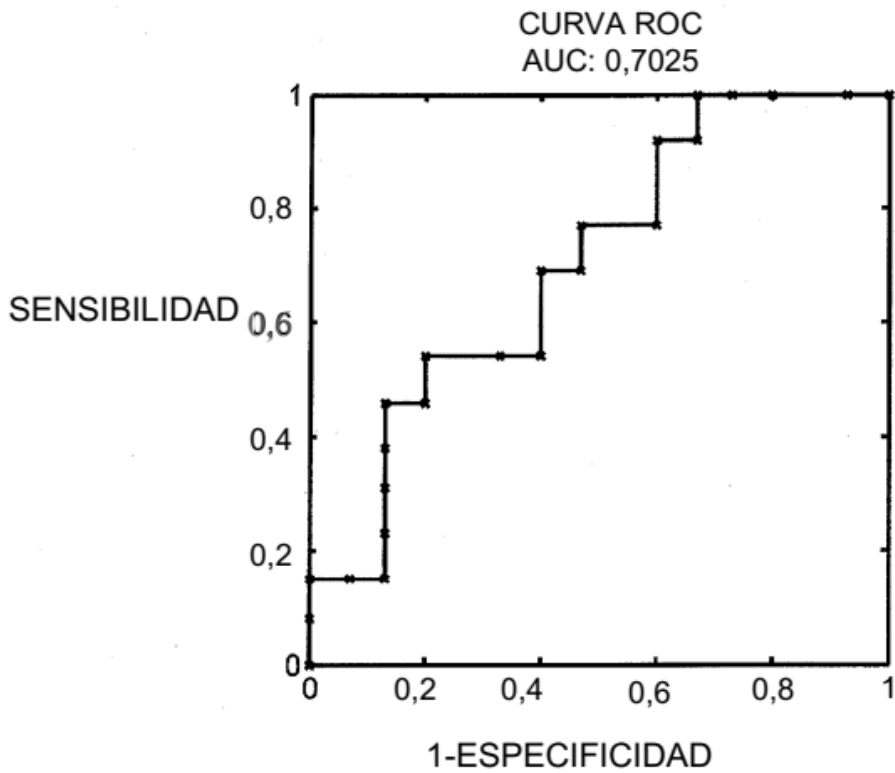


FIGURA 7E

PLASMA: SANO (14) VS. BENIGNO (12)

SENSIBILIDAD: 83 % ○
ESPECIFICIDAD: 79 %

SENSIBILIDAD: 67 %
ESPECIFICIDAD: 86 %

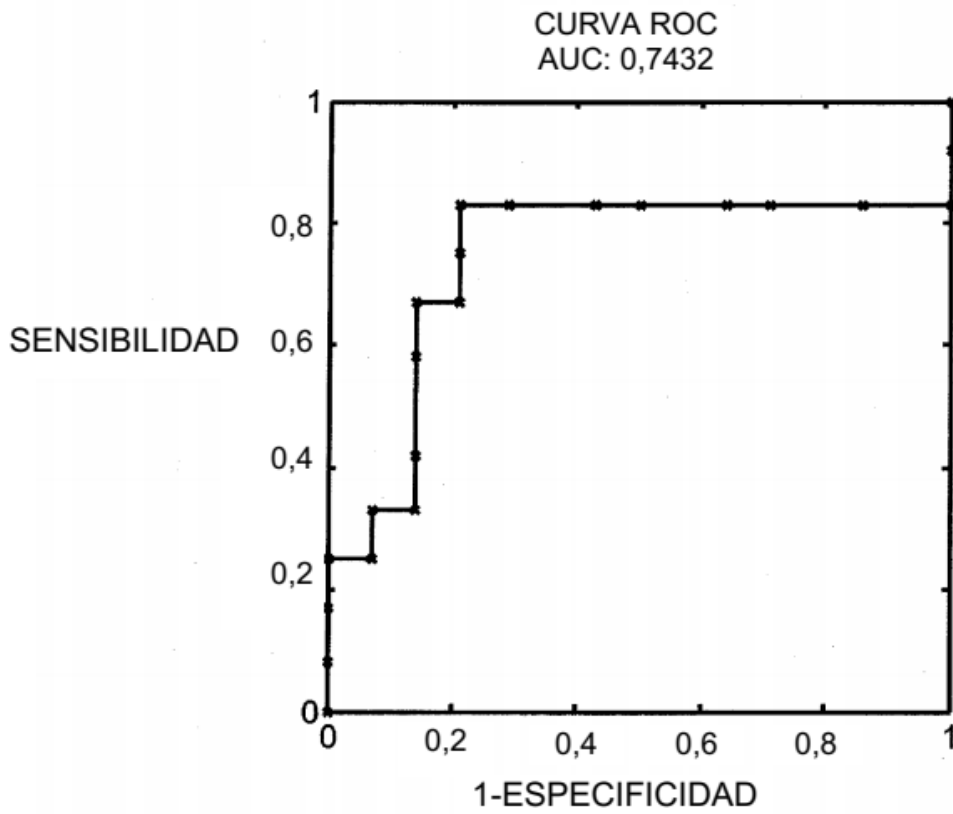


FIGURA 7F

II. SANO VS. BENIGNO

F1 - PLASMA	1379,336	1400,067
F1 - PBMC	706,7831	811,8845
F2 - PBMC	870,2206	879,863

PBMC Y PLASMA COMBINADOS: SANO (14) VS. BENIGNO (11)

SENSIBILIDAD: 91 % O

ESPECIFICIDAD: 79 %

SENSIBILIDAD: 73 %

ESPECIFICIDAD: 93 %

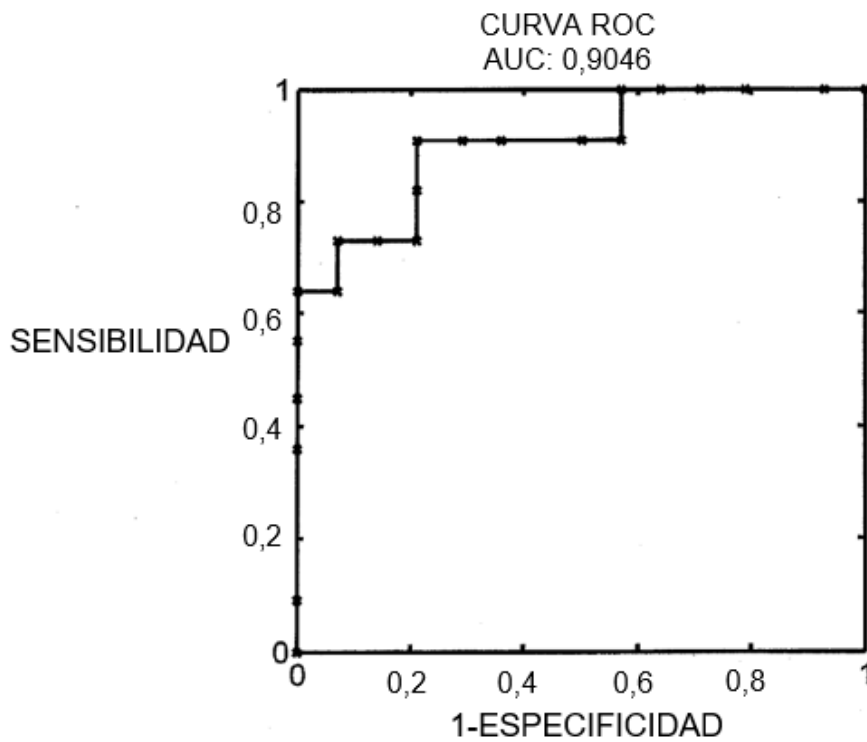


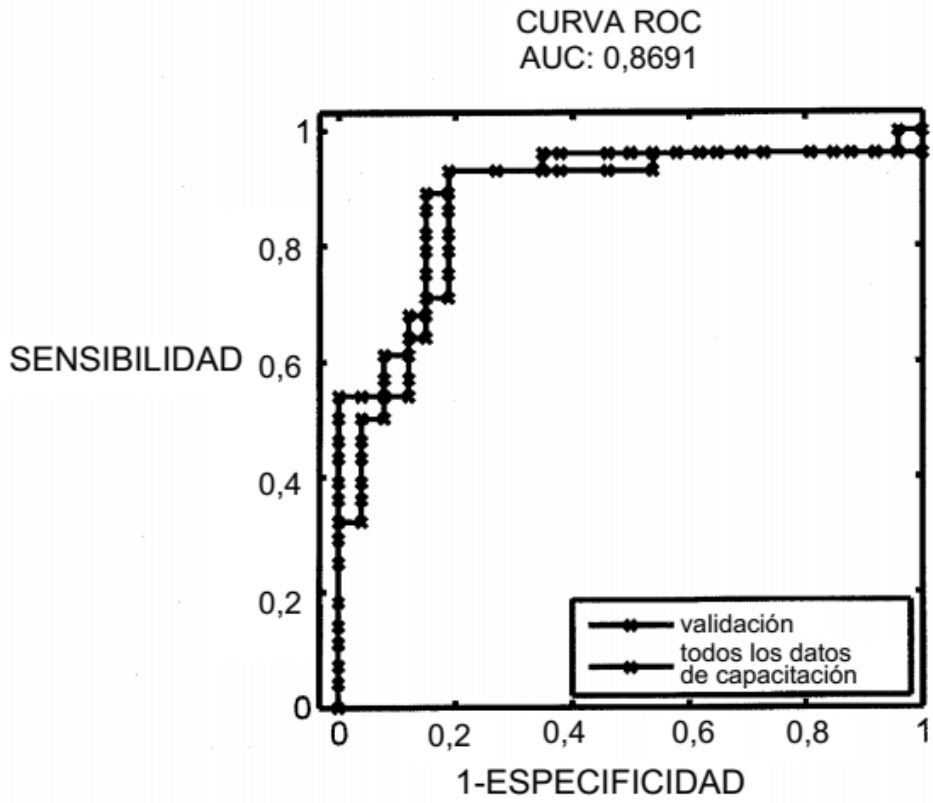
FIGURA 7G

CÁNCER DE COLON

14 SANOS + 11 BENIGNOS VS. 27 CÁNCER;

VALIDACIÓN CRUZADA DEJANDO UNO FUERA
 CARACTERÍSTICAS DE PLASMA ÚNICAMENTE
 CLASIFICADOR: QDA

C1- SANO (14) + BENIGNO (11) VS. CÁNCER (27)



	SENSIBILIDAD [%]	ESPECIFICIDAD [%]
VALIDACIÓN (LOOCV)	92,86	80,77

FIGURA 7H

CÁNCER DE COLON

14 SANO VS. 11 BENIGNO + 27 CÁNCER;

VALIDACIÓN CRUZADA DEJANDO UNO FUERA
CARACTERÍSTICAS DE PLASMA Y PBMG
COMBINADOS CLASIFICADOR: QDA

I. C1- SANO (14) VS. BENIGNO + CÁNCER (38)
TOTAL 2 CARACTERÍSTICAS

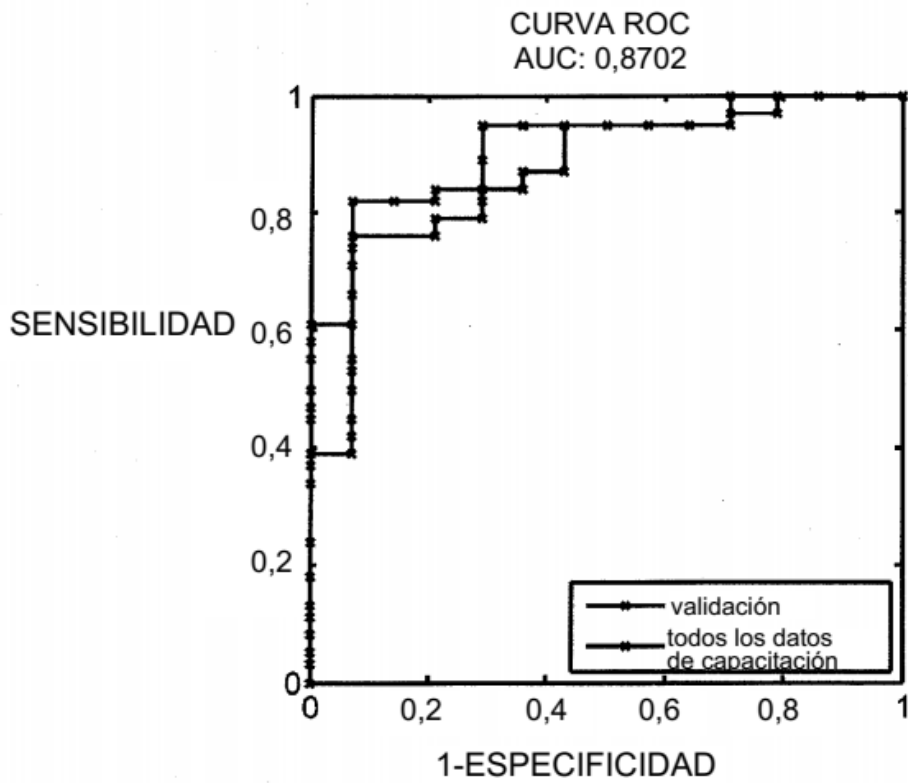


FIGURA 7H (CONT.)

ALTA ESPECIFICIDAD

	#HLT; #CNC	SENSIBILIDAD[%]	ESPECIFICIDAD[%]
CAPACITACIÓN	# 14; # 38	73,7	92,9
VALIDACIÓN (LOOCV)	#14; #38	73,7	92,9

ALTA SENSIBILIDAD

	#HLT; #CNC	SENSIBILIDAD[%]	ESPECIFICIDAD[%]
CAPACITACIÓN	# 14; # 38	86,8	64,3
VALIDACIÓN (LOOCV)	#14; #38	89,5	71,4

FIGURA 8A

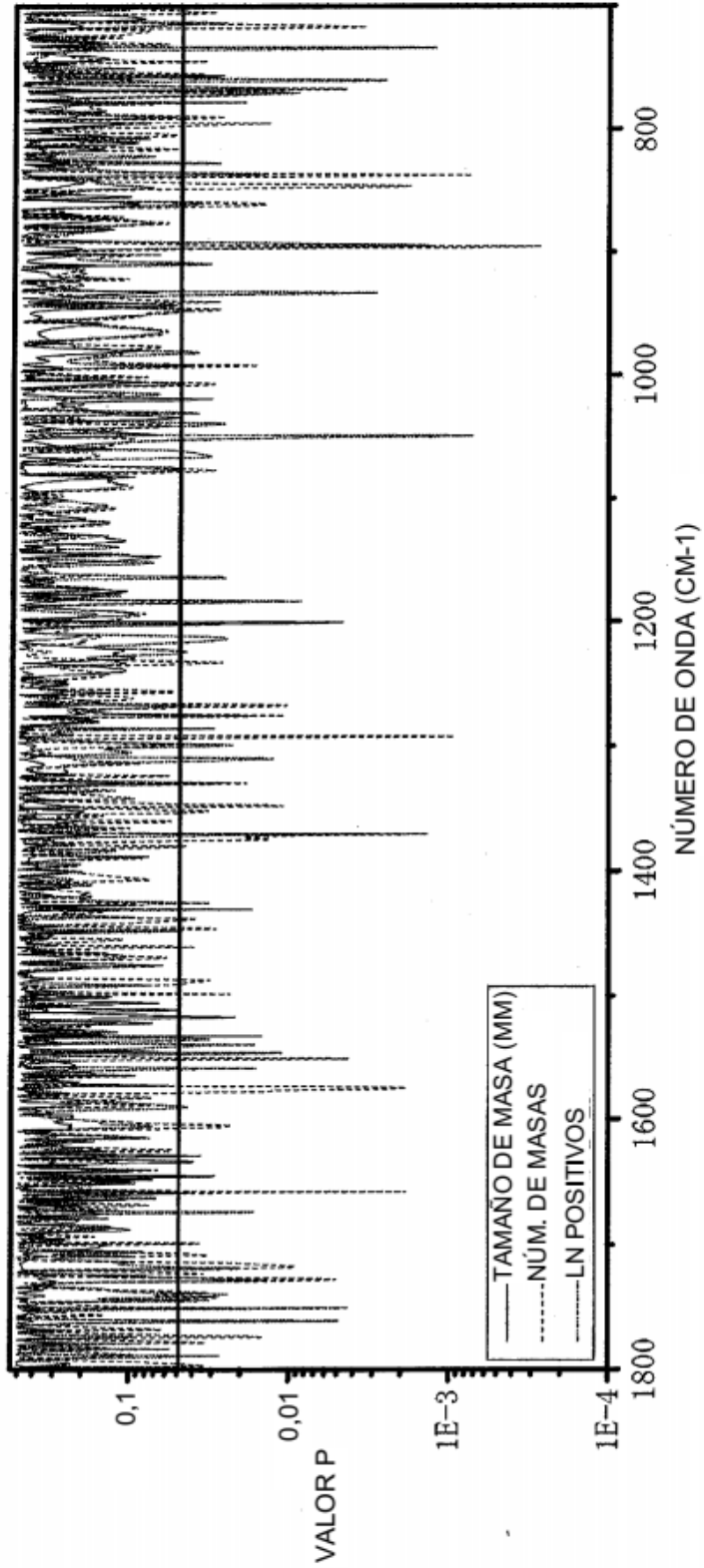


FIGURA 8B

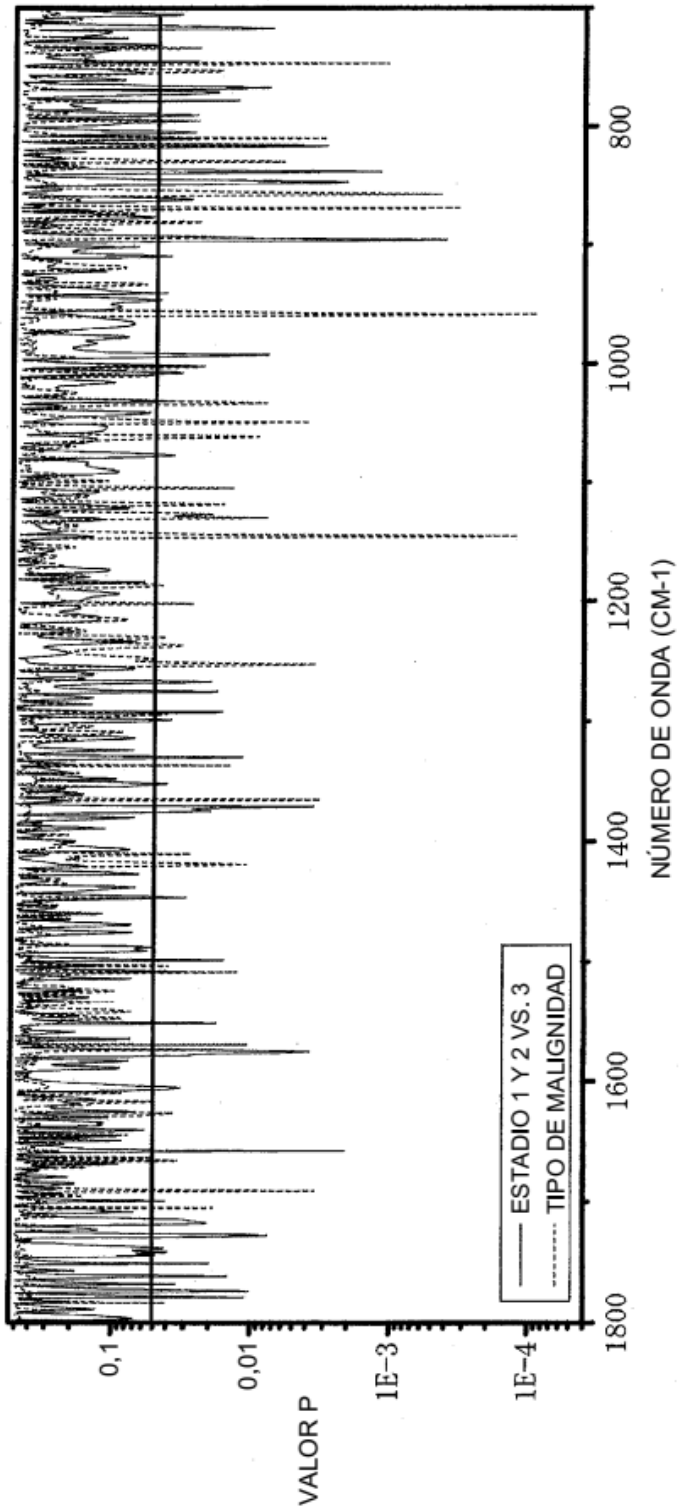


FIGURA 8C

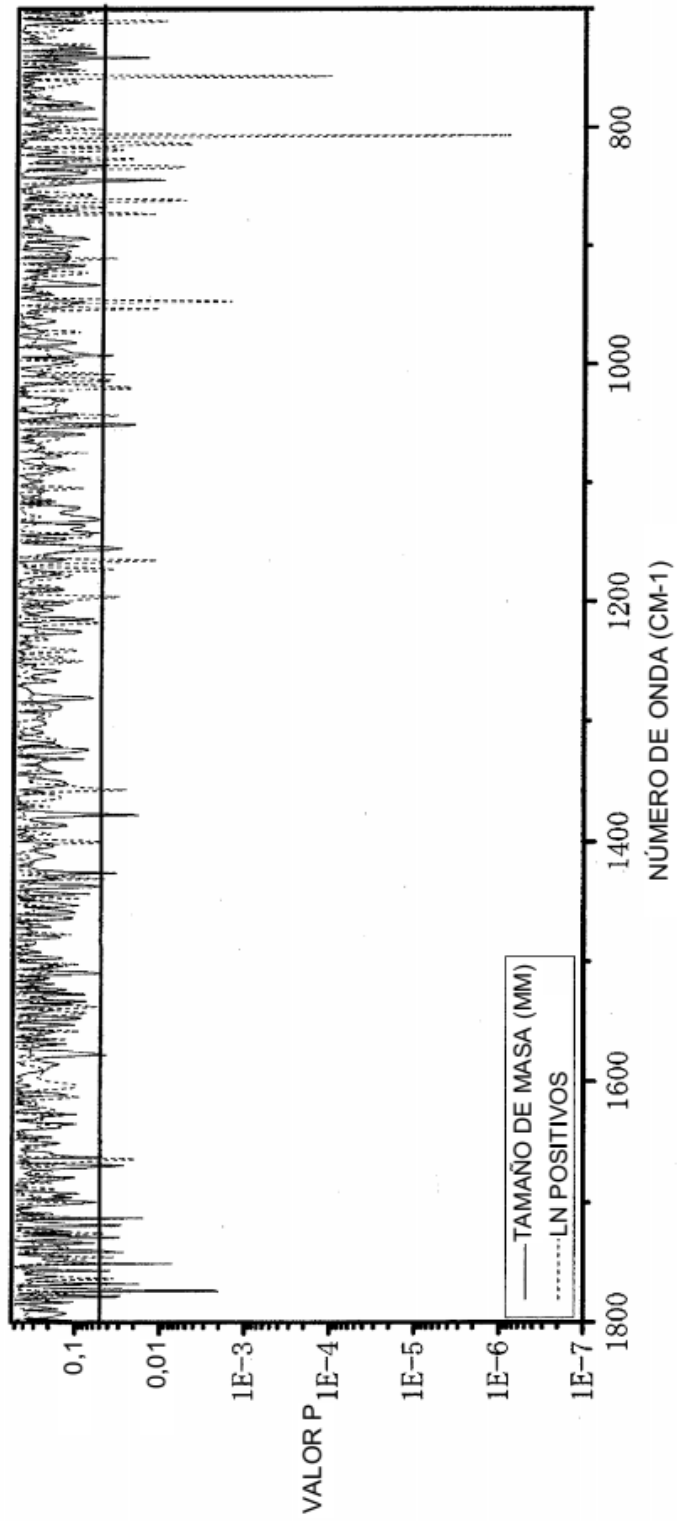


FIGURA 8D

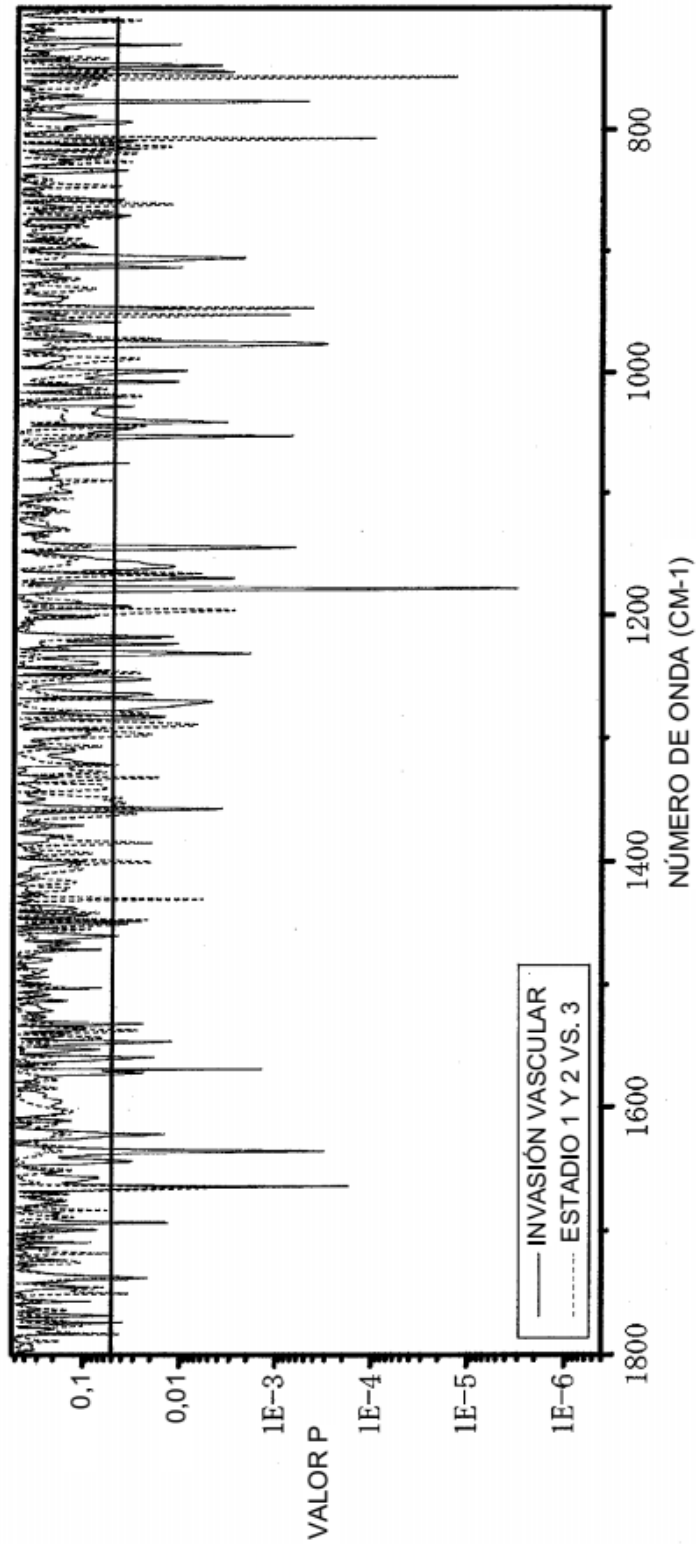


FIGURA 9A

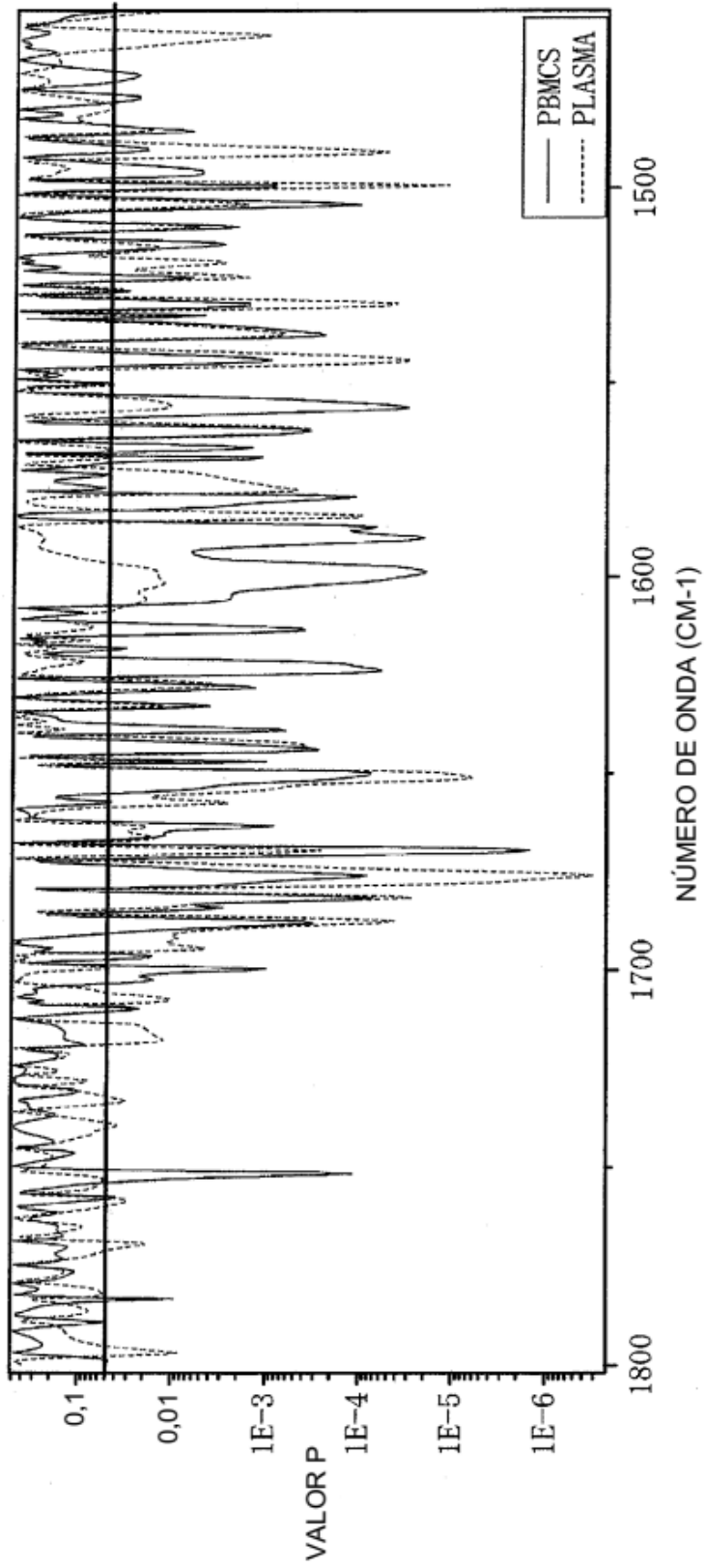


FIGURA 9B

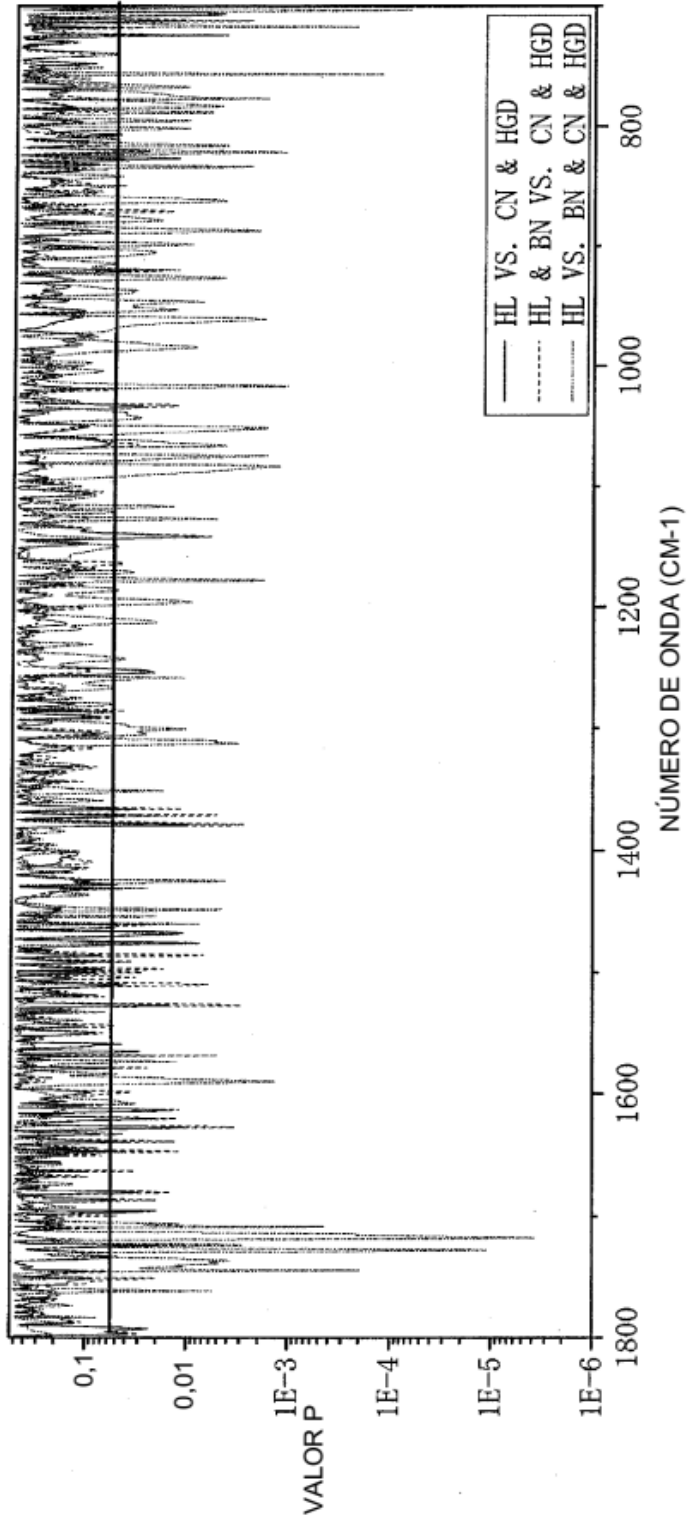


FIGURA 9C

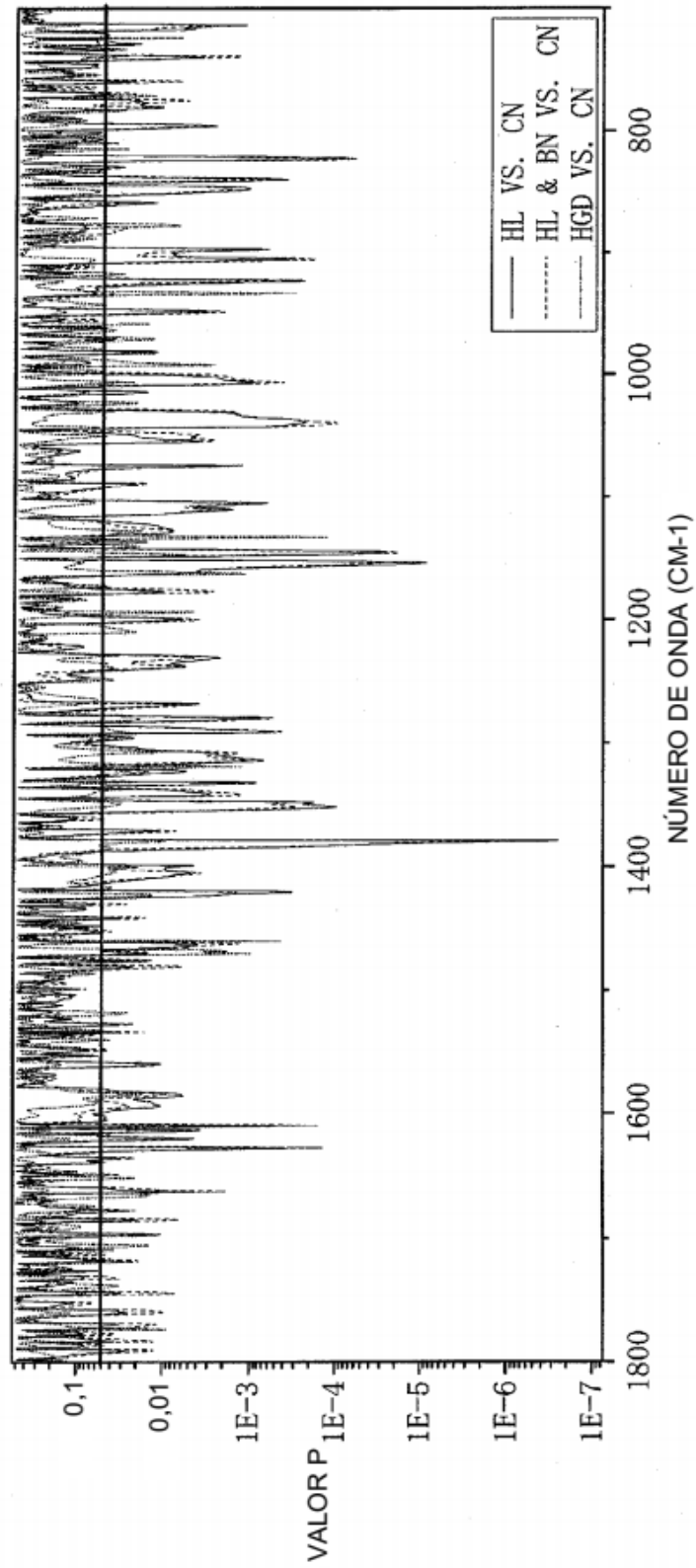


FIGURA 9D

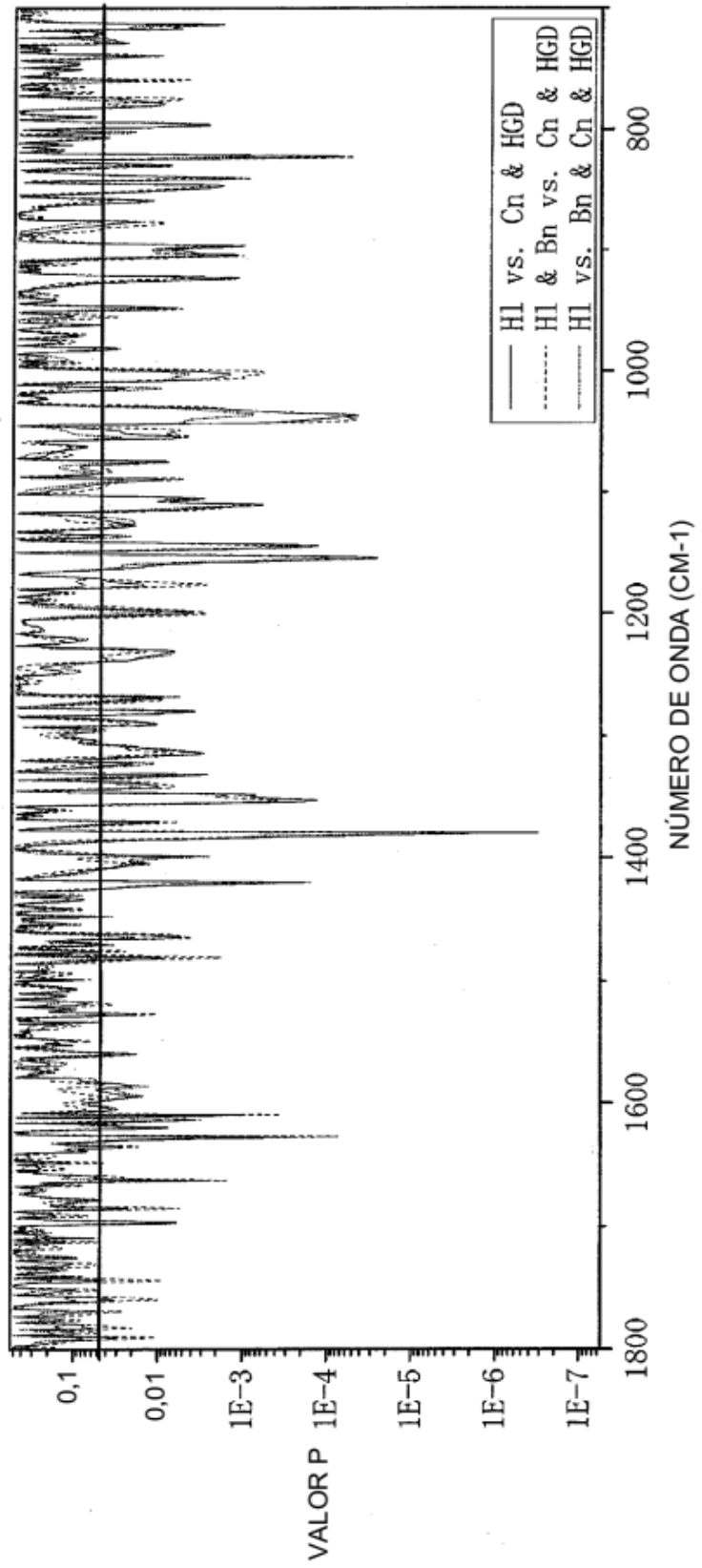


Figura 10A

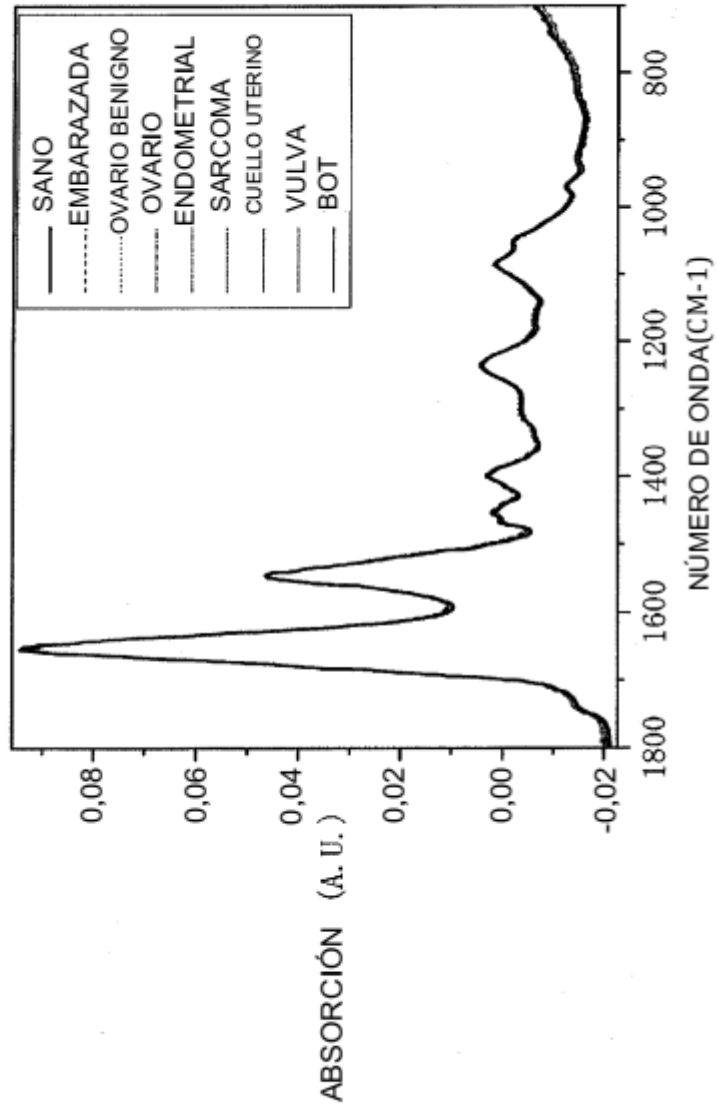


FIGURA 10B

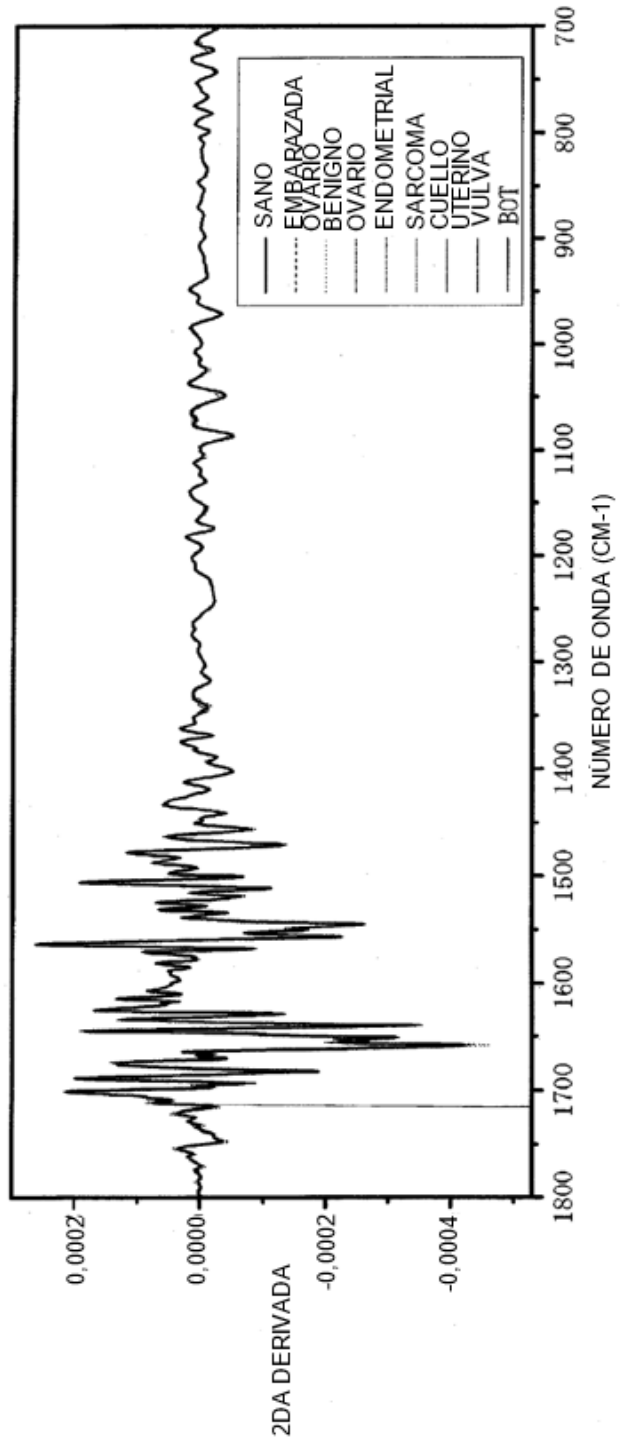


FIGURA 10C

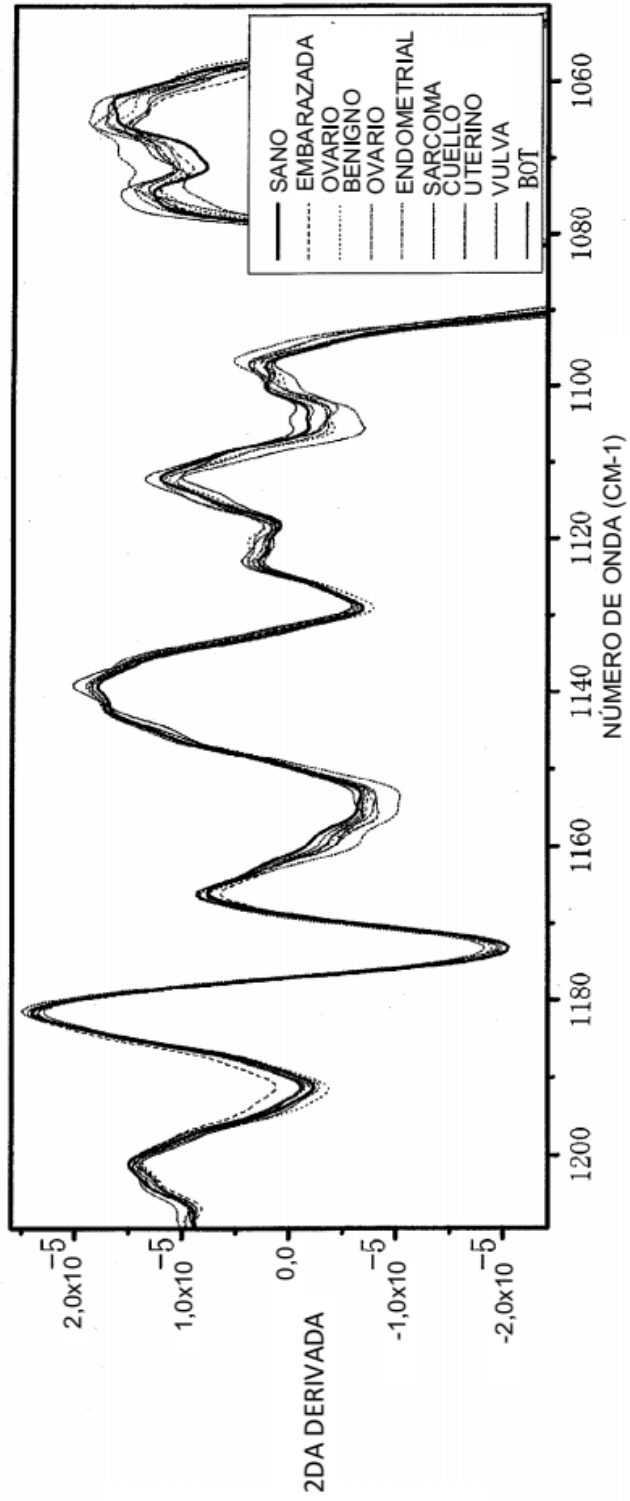


FIGURA 10D

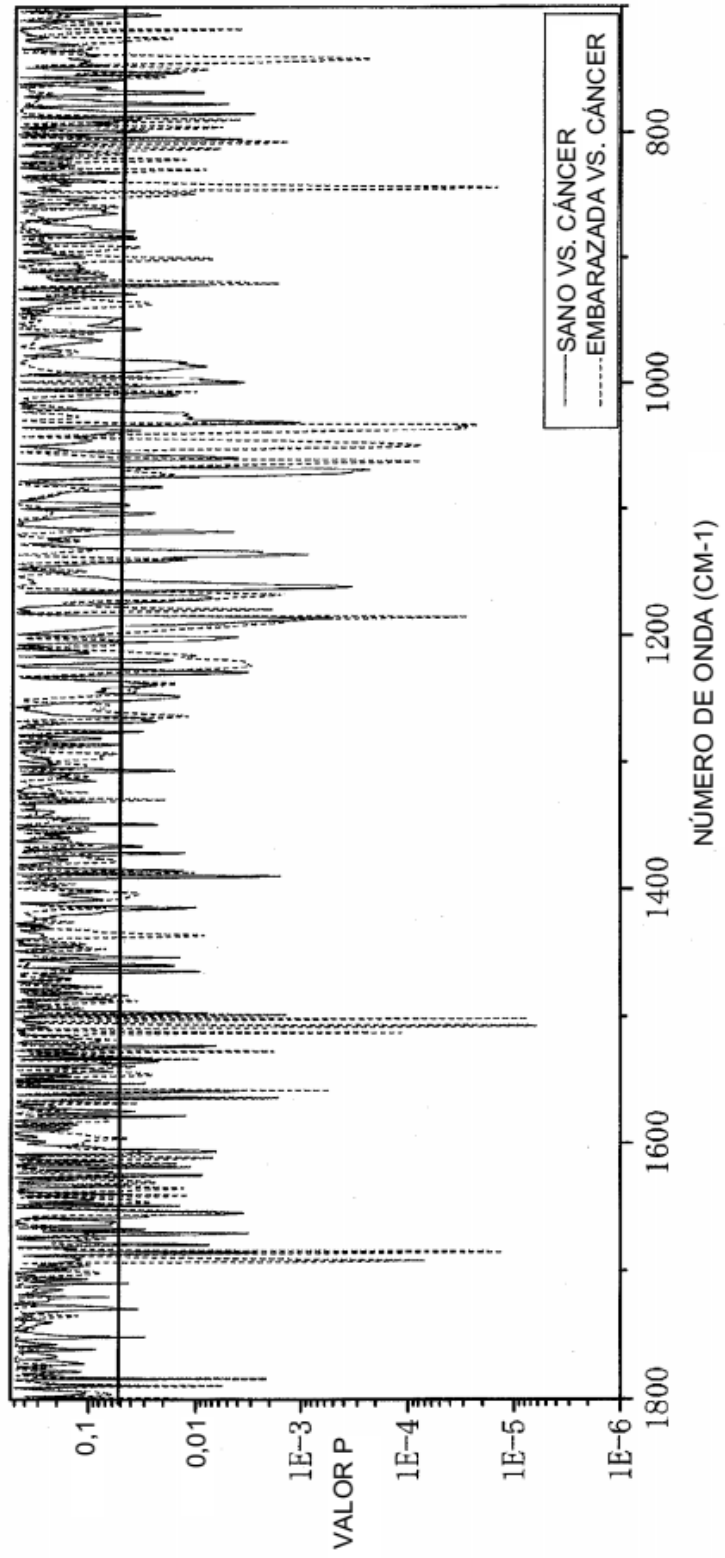


FIGURA 10E

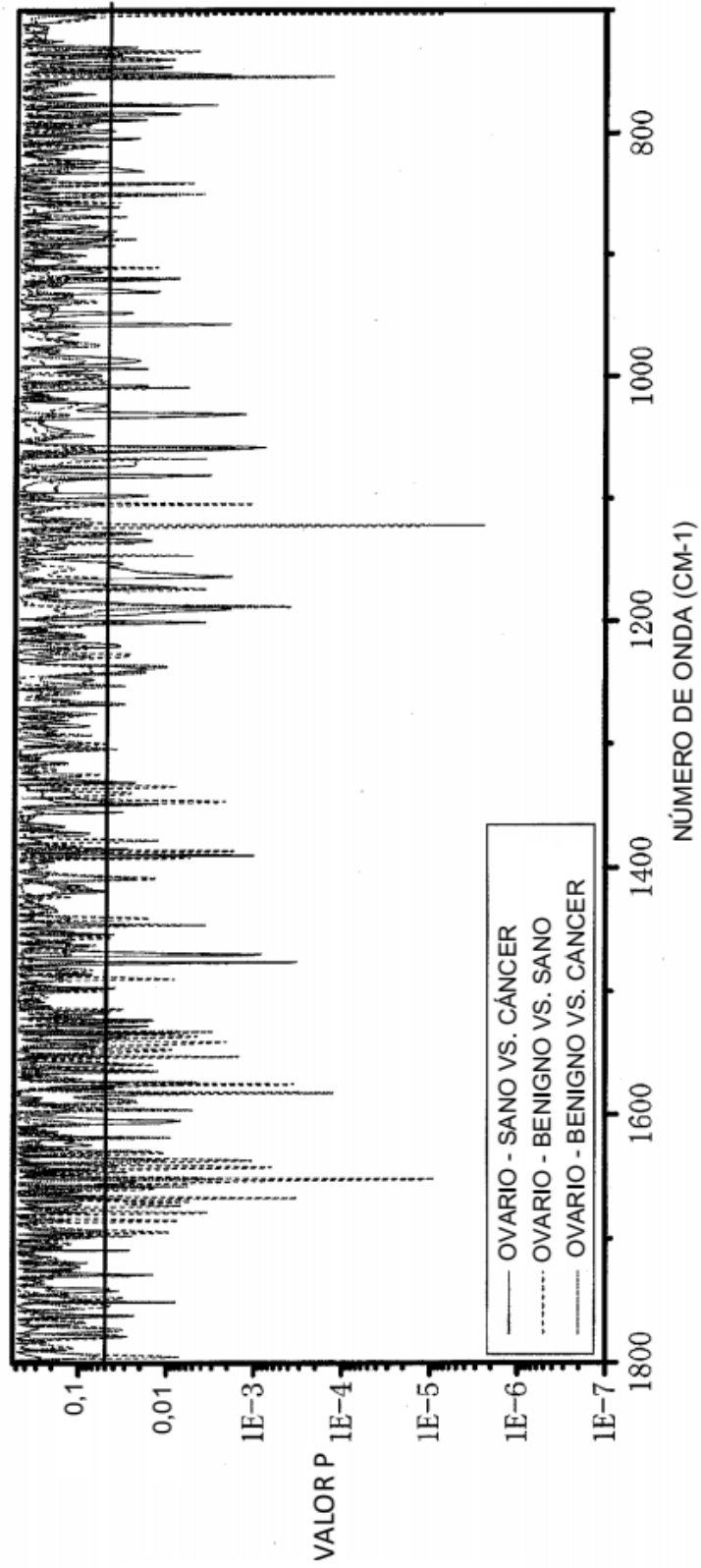


FIGURA 11A

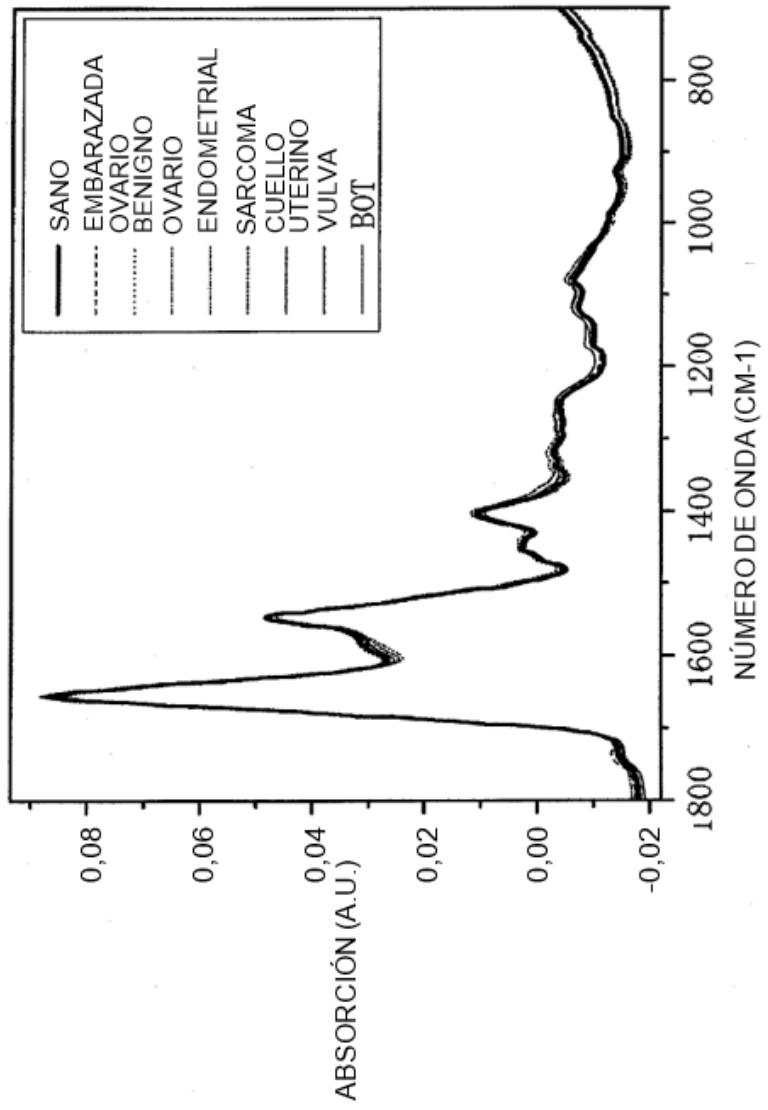


FIGURA 11B

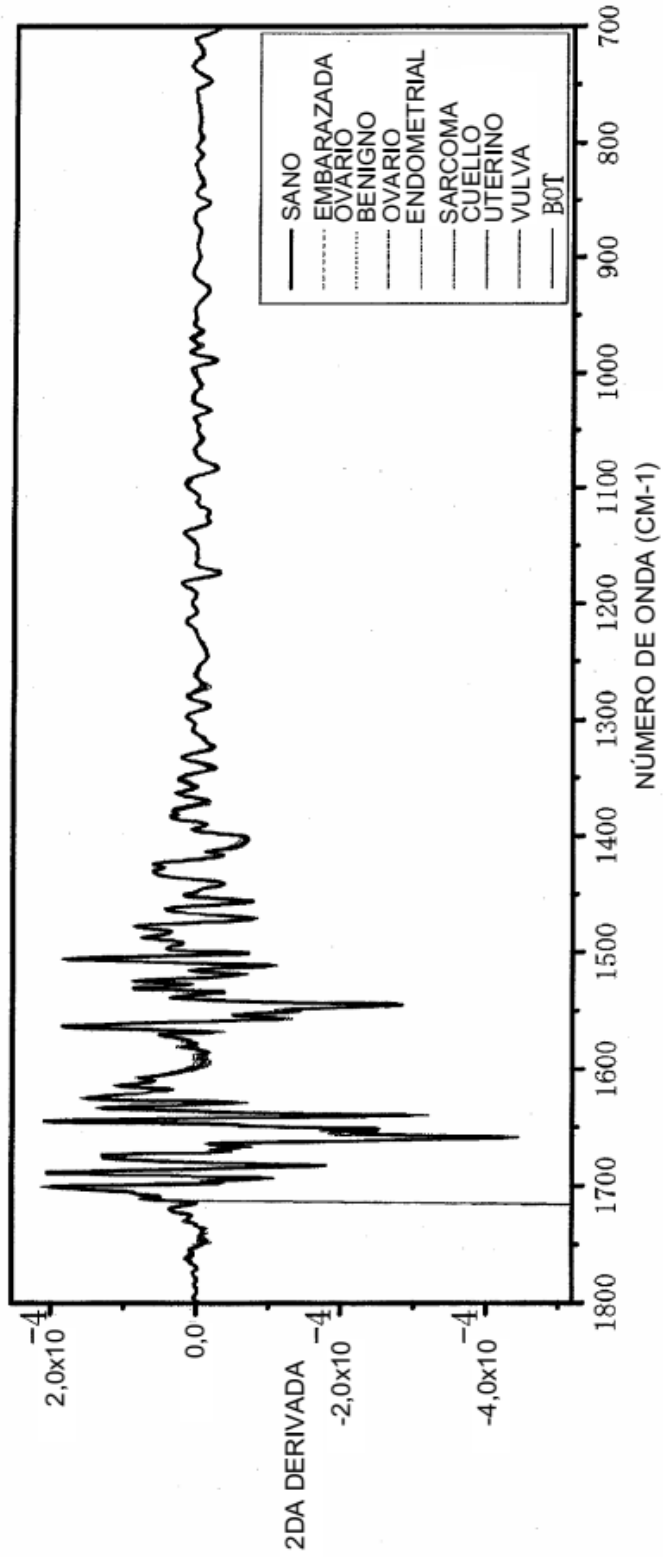


Figura 11C

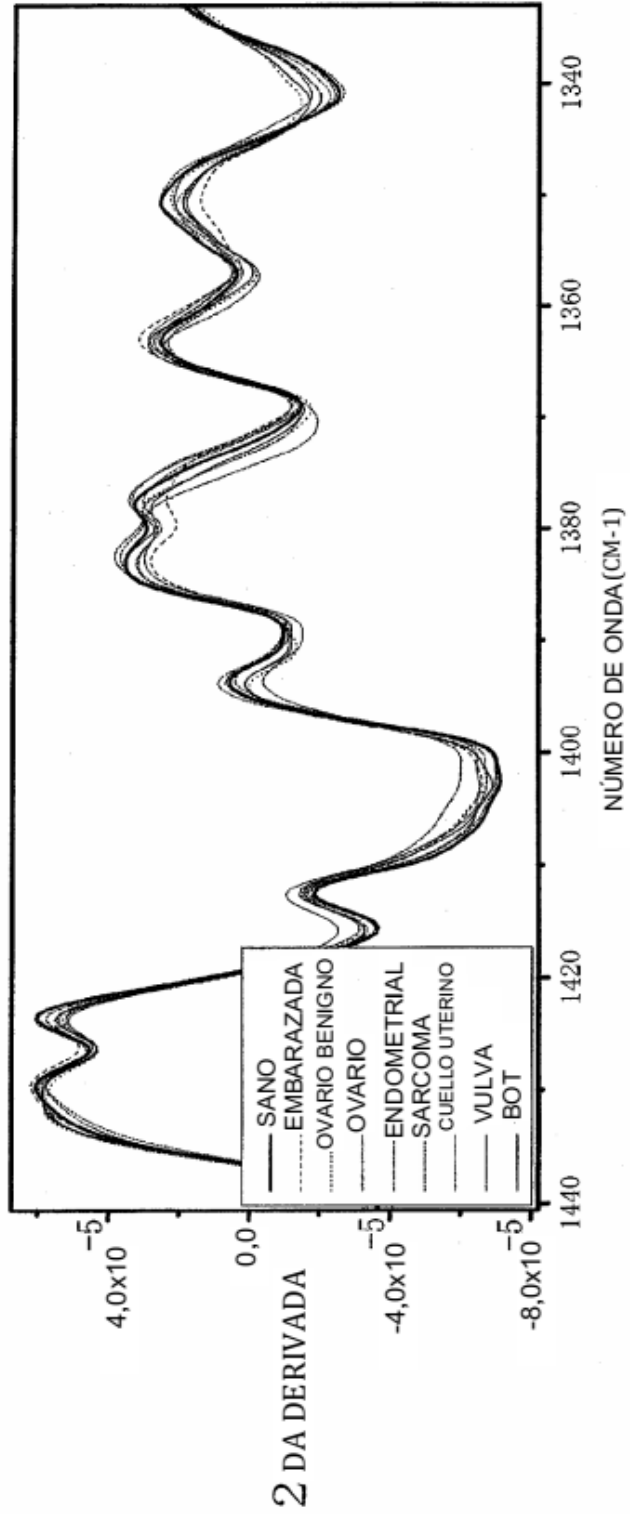


FIGURA 11D

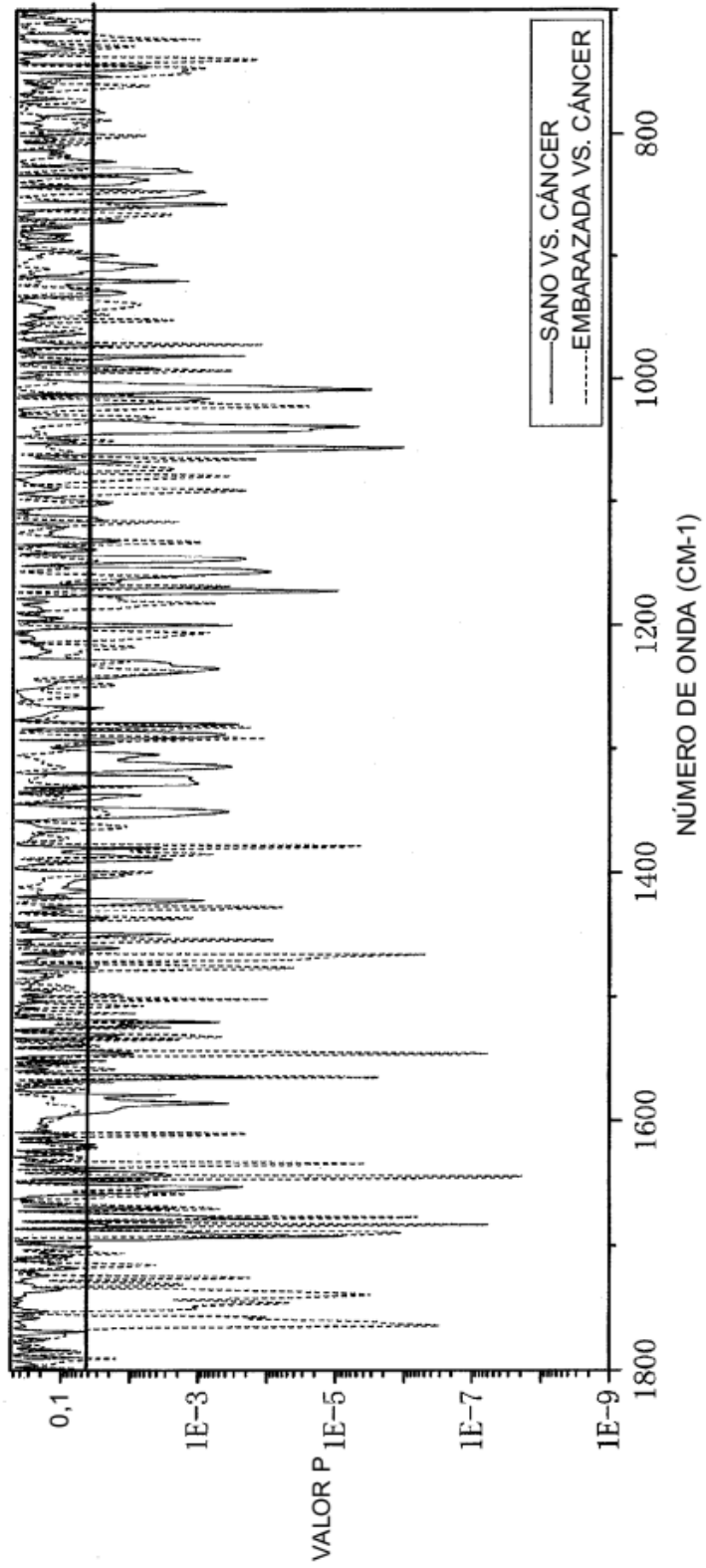


FIGURA 11E

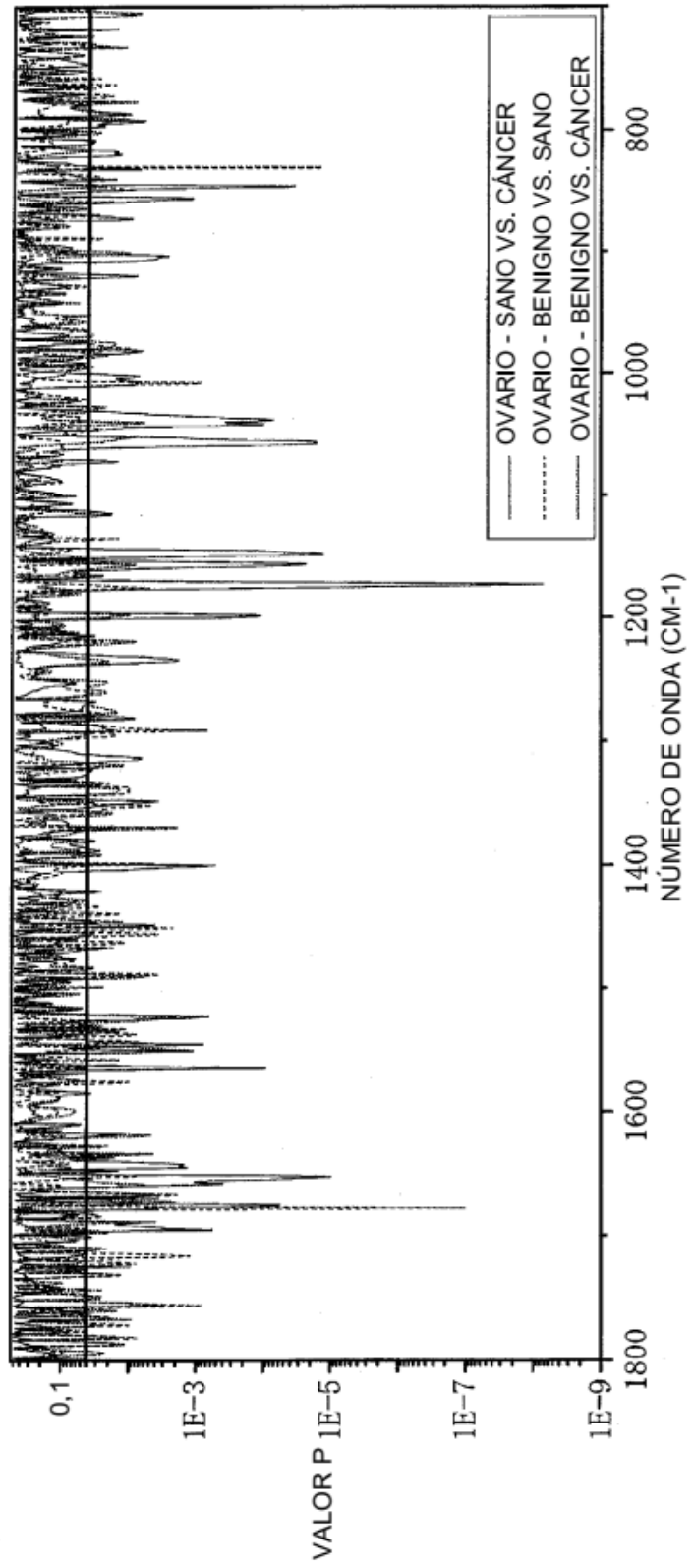


FIGURA 12A

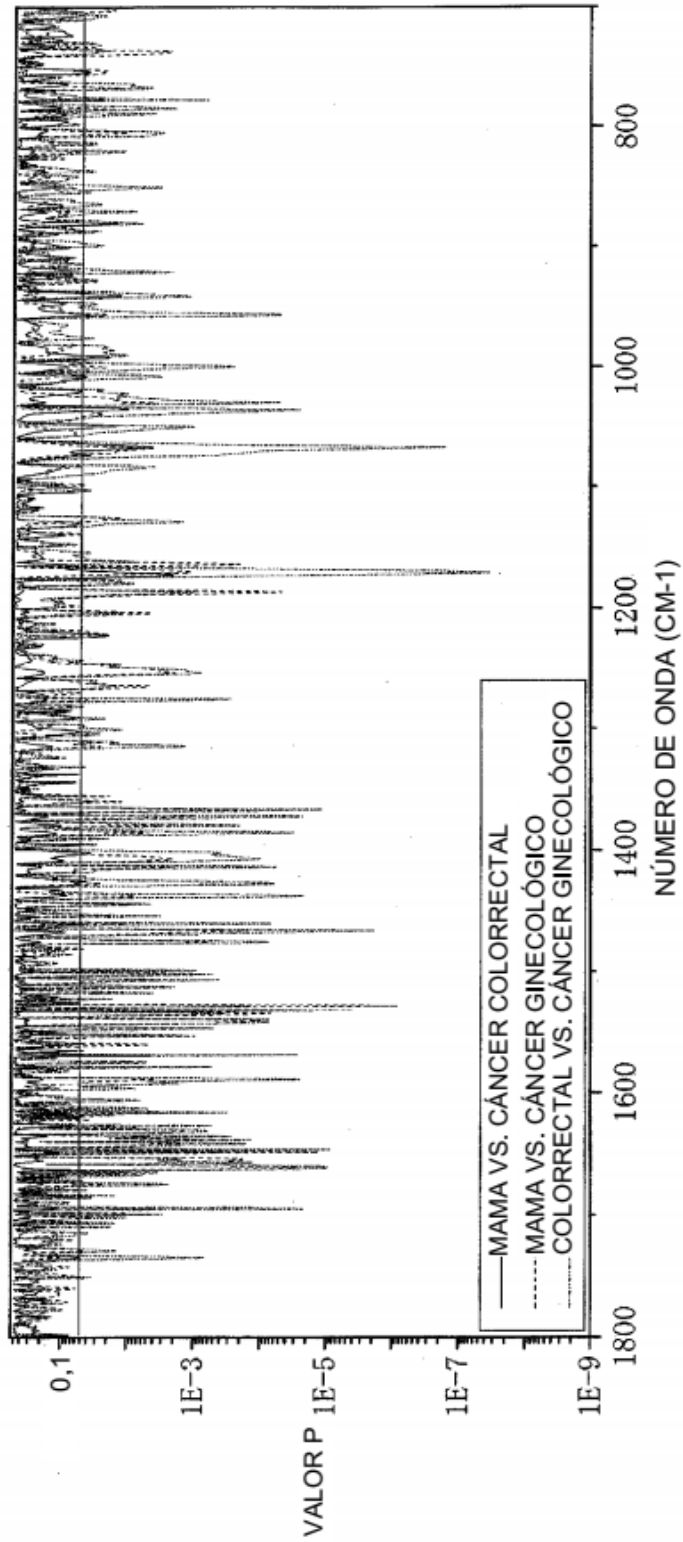


FIGURA 12B

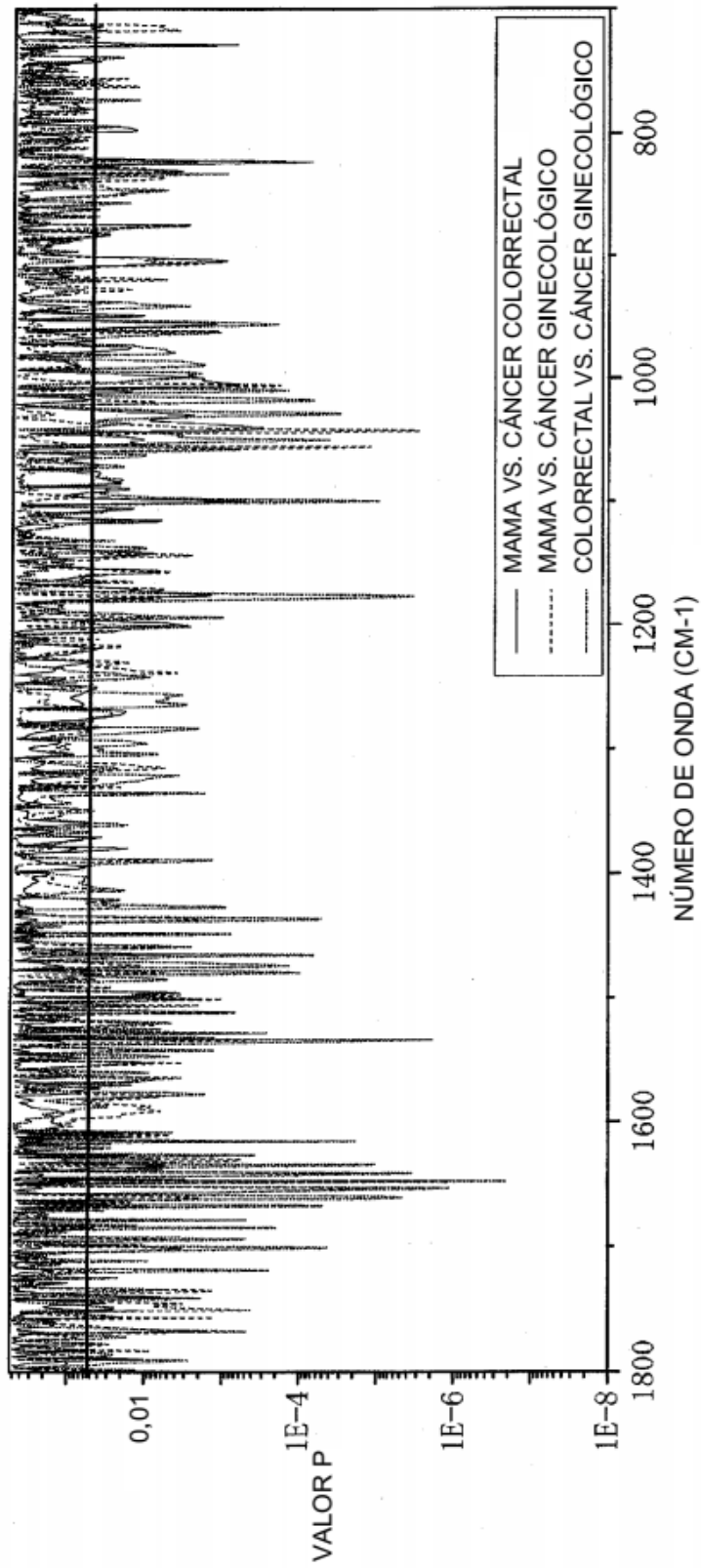


Figura 13A

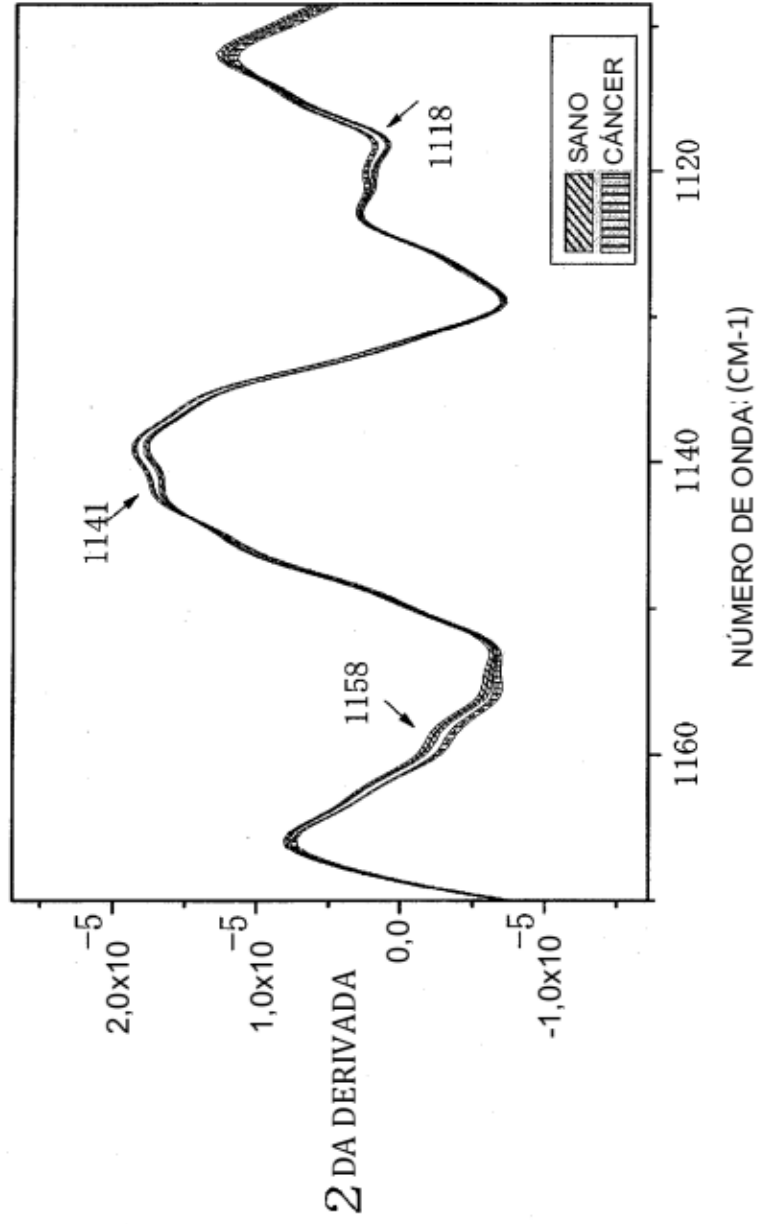


Figura 13B

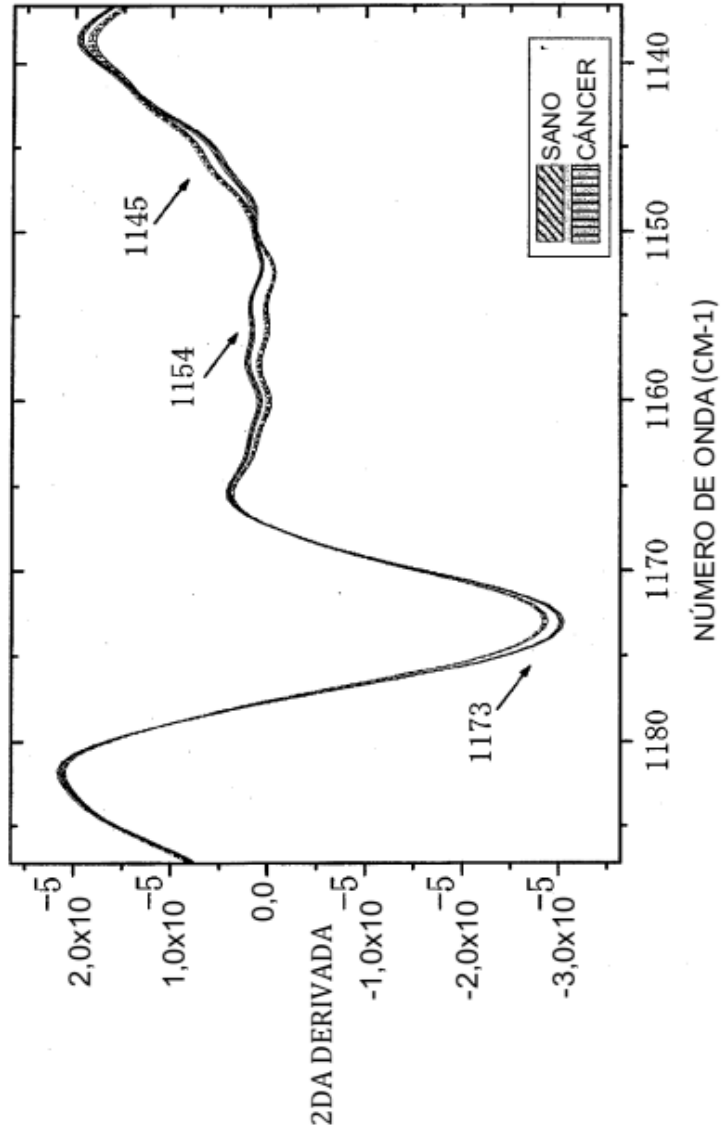


FIGURA 13C

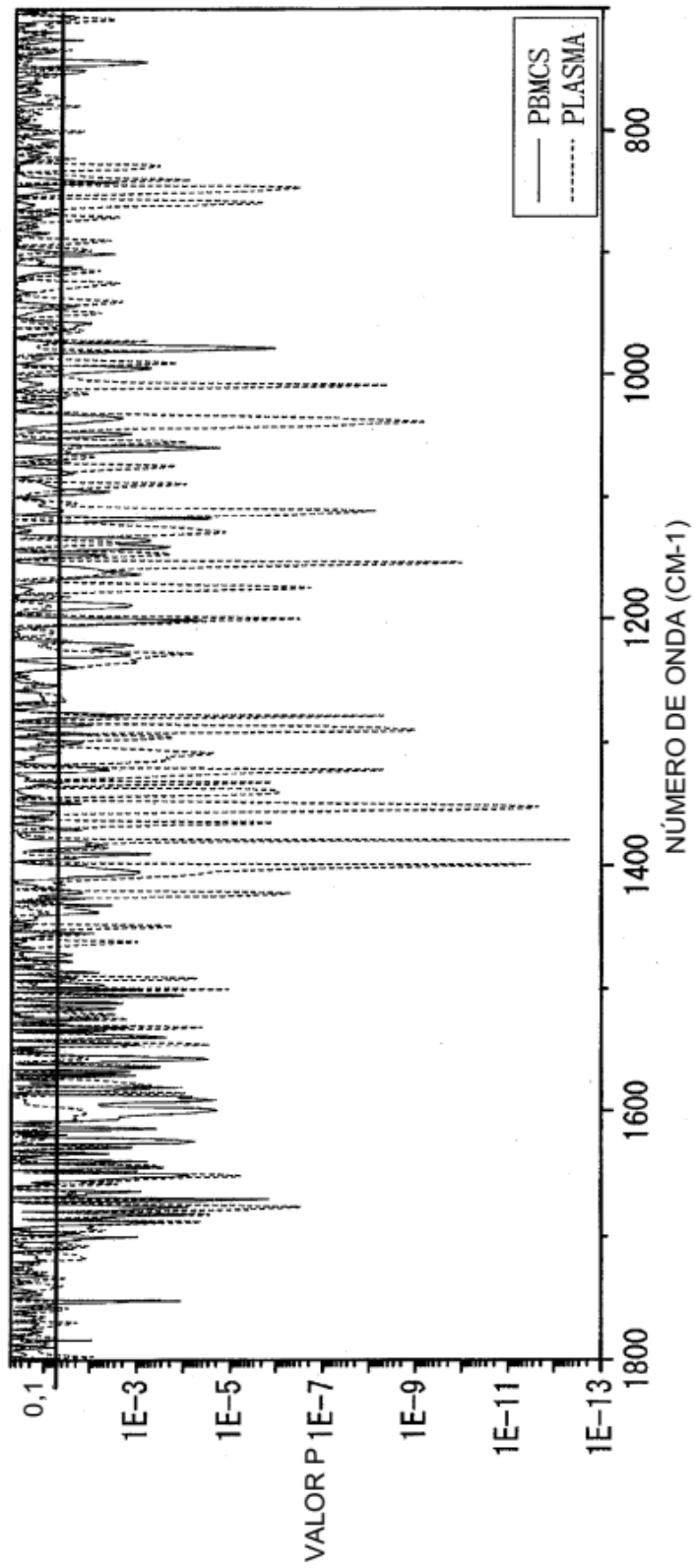


FIGURA 13D

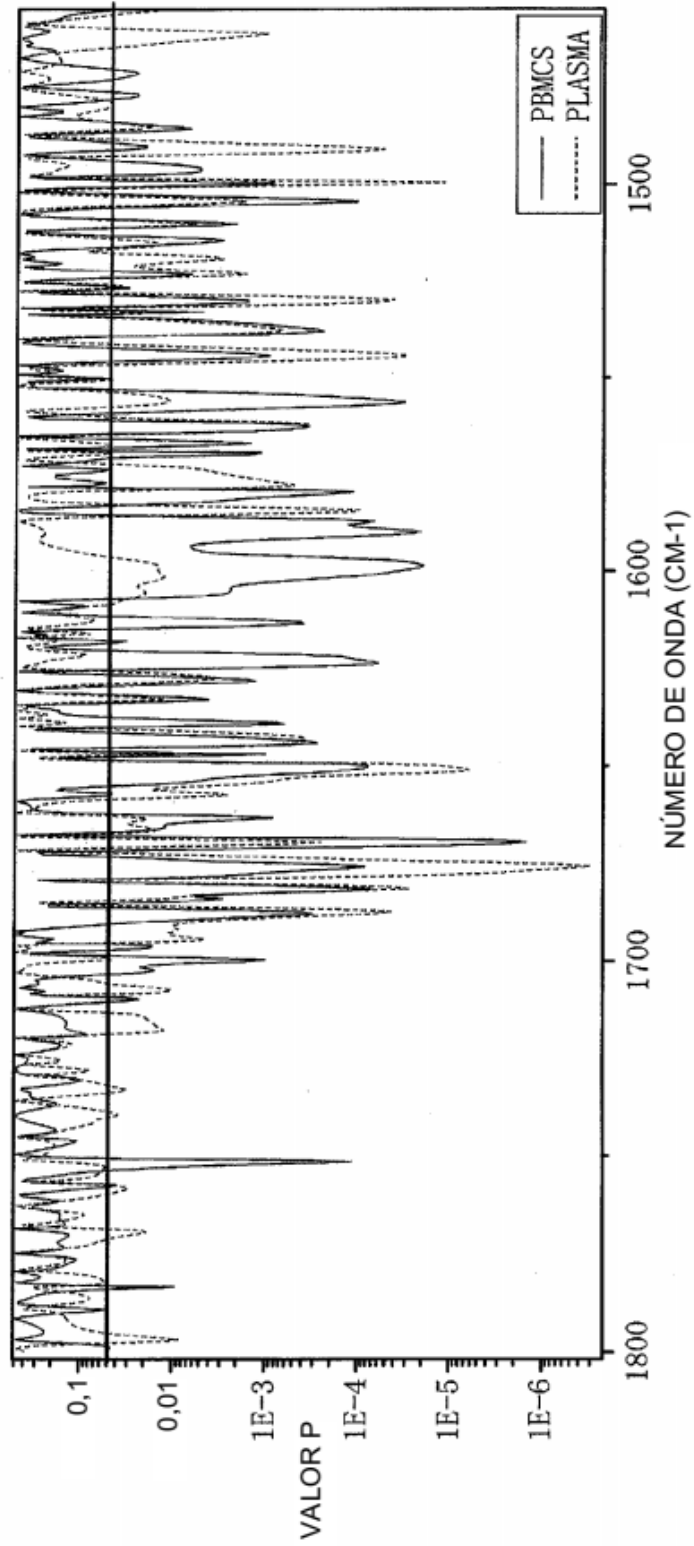


FIGURA 14A

PBMC: SANO (53) VS. CÁNCER (128)
SENSIBILIDAD: 43,5 %
ESPECIFICIDAD: 96,5 %

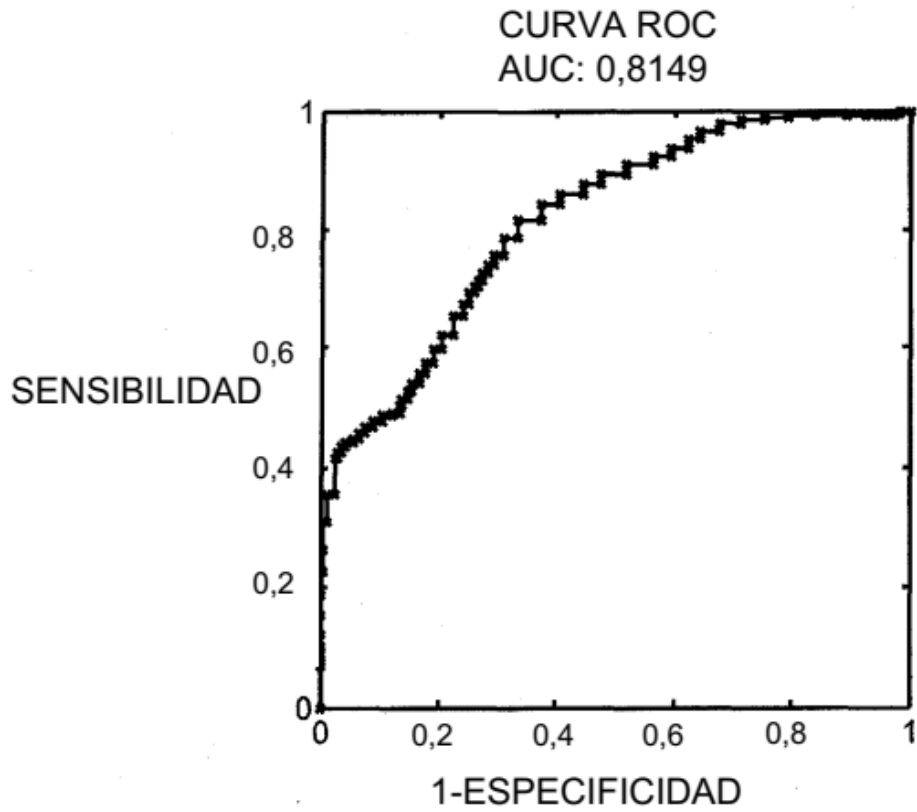


FIGURA 14B

PLASMA: SANO (53) VS. CÁNCER (103)

SENSIBILIDAD: 69 %

ESPECIFICIDAD: 95 %

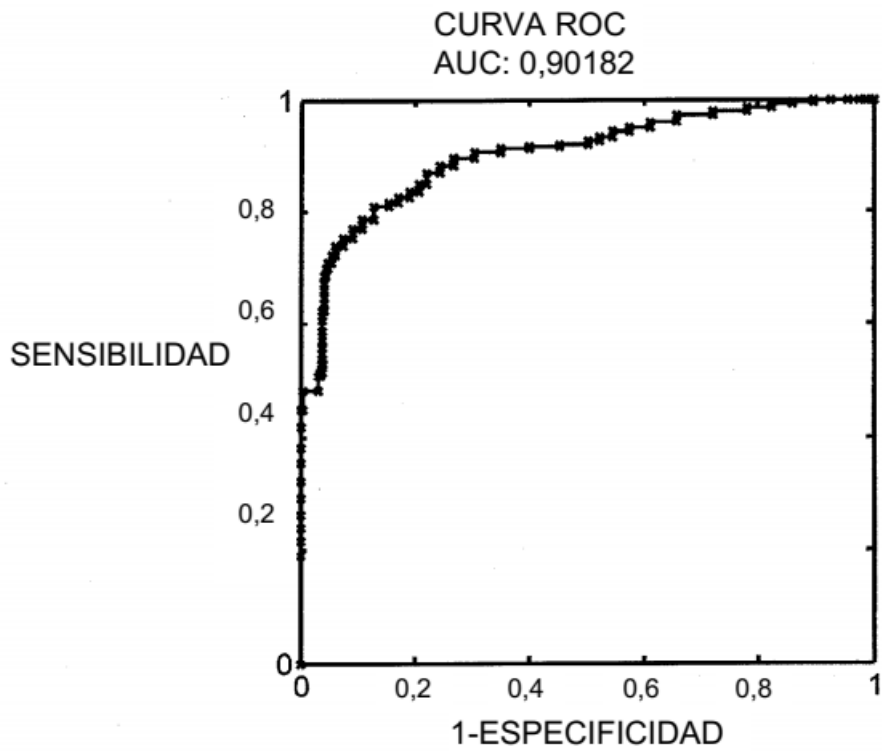


FIGURA 14C

COMBINADO: SANO (50) VS. CÁNCER (96)
SENSIBILIDAD: 71,4 %
ESPECIFICIDAD: 94,7 %

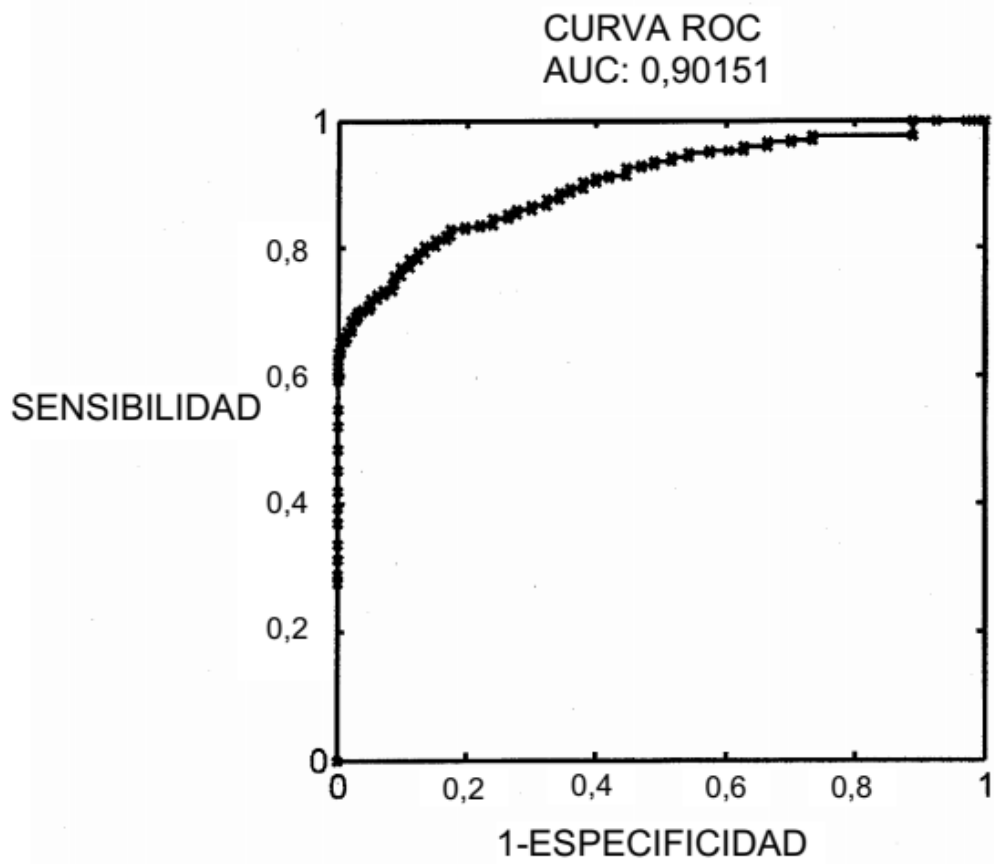


FIGURA 15A

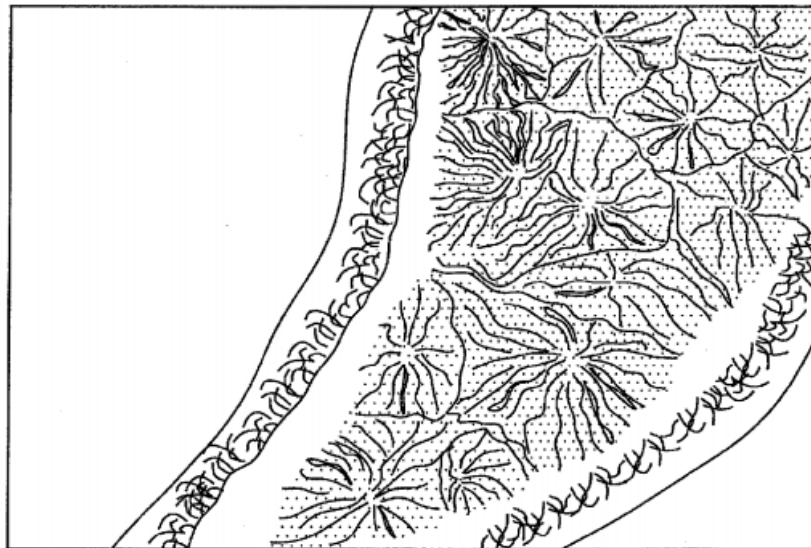
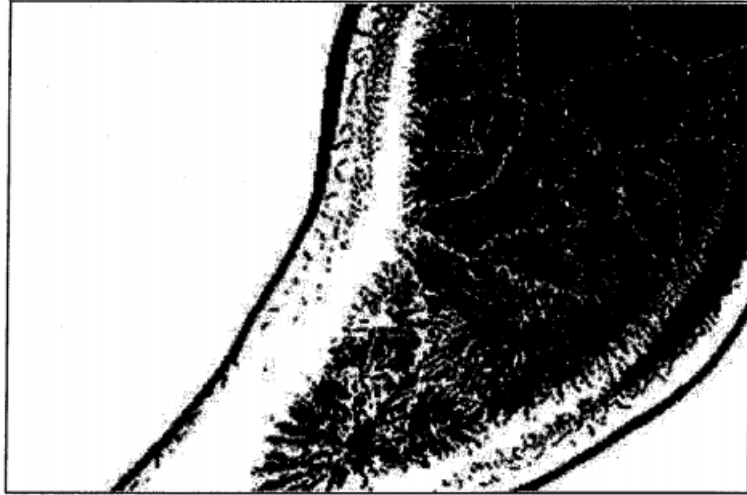


FIGURA 15B

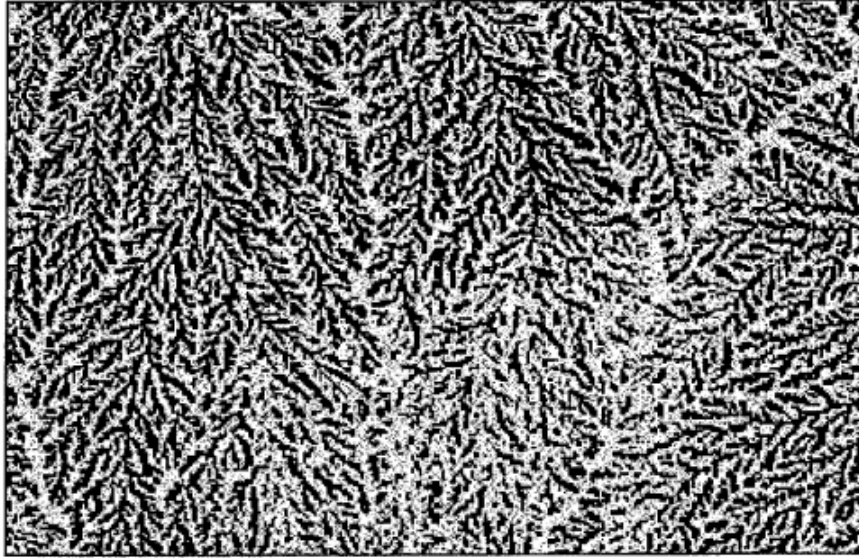


FIGURA 15C

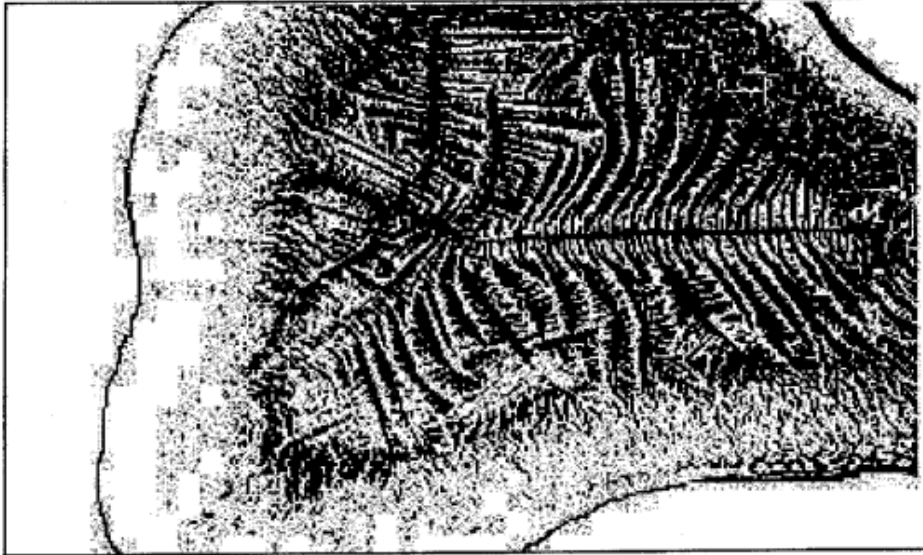


FIGURA 15D



