



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2016 00984**

(22) Data de depozit: **08/12/2016**

(41) Data publicării cererii:
29/06/2018 BOPI nr. **6/2018**

(71) Solicitant:
• **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU" DIN
CLUJ-NAPOCA, STR. VICTOR BABEȘ
NR. 8, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(72) Inventatori:
• **FLOARES ALEXANDRU,
STR. ALEXANDRU VLAHUȚĂ, BL. LAMA C,
AP. 45, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**

• **FERSIGAN MARIUS,
STR. ALEXANDRU VLAHUȚĂ, BL. LAMĂ F,
SC.A, AP. 24, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **NEAGOE IOANA,
BD.NICOLAE TITULESCU NR.2, BL. IIA,
AP.57, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **BRAICU CORNELIA,
STR. FABRICII DE ZAHĂR NR. 10, SC. 2,
AP. 15, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **PETRIC ROXANA-MARIA,
STR. MORA ȘTEFAN NR. 3, AP. 31,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(54) **TEST DE DIAGNOSTIC MOLECULAR NEINVAZIV
AL CANCERULUI DE VEZICĂ (SUPERFICIAL)**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un test molecular de diagnostic neinvaziv al cancerului de vezică. Testul conform invenției constă în determinarea a două molecule de microRNA hsa-miR-1-3p și hsa-miR-6785-5p, pe baza probelor de sânge și utilizarea inteligenței artificiale, sub

forma arborilor decizionali, fiind aplicabil în cazul unui pacient suspectat de cancer de vezică urinară atât la prima prezentare, cât și la controalele ulterioare.

Revendicări: 1



RP

Test de Diagnostic Molecular Neinvaziv al Cancerului de Vezică (Superficial)

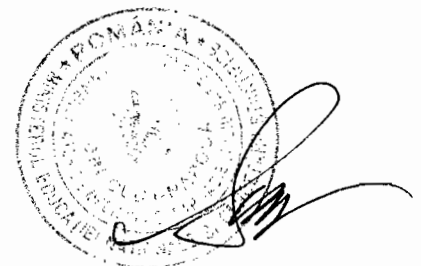
Prezenta invenție propune o noua metoda de diagnostic molecular neinvaziv al cancerului de vezică urinară superficial, cu înaltăacuratețe (96.33 %).

În momentul de față, majoritatea testelor de diagnostic al cancerului sunt invazive, fiind foarte neplăcute pentru pacient (de exemplu, biopsia de prostată sau cistoscopia pentru cancerul de vezică urinară) și grevate de riscuri. Metodele neinvazive nu creeazăneplăceri pentru pacient și nu au riscuri, dacă sunt corect executate, dar sunt mult mai dificil de realizat, mai ales dacă se dorește și înaltăacuratețe. Dat fiind că e vorba despre cancer, este de dorit o acuratețe cât mai înaltă. În opinia noastră, aceasta nu poate fi obținută prin metode statistice convenționale, dar e posibilă prin utilizarea inteligenței artificiale (IA). Totuși, majoritatea grupurilor de pe mapamond, ce activează în domeniu, nu sunt familiarizate cu IA. Aceasta face ca majoritatea testelor propuse, inclusiv pentru cancerul de vezică urinară, să aibăacuratețe slabă. În cele ce urmează, ne vom referi la testele neinvazive pentru cancerul de vezică urinară, bazate pe microRNA circulant. Aceastăcategorie de molecule este de preferat, având cel puțin trei avantaje față de alte posibile alegeri:

1. Sunt mai informative pentru diagnosticul cancerului. Aceste molecule au rol reglator și sunt considerate cauzal implicate în cancer.
2. În prezent, sunt cunoscute aproximativ 2500 de molecule de microRNA diferite. Aceasta face ca numărul variabilelor de considerat în analizele statistico-informatică să fie mult mai mic, față de alternativele posibile, ceea ce crește șansele de a obțineacuratețeînaltă.
3. microRNA-urile găsite ca relevante pot fi ușor interpretate biologic, funcțional.

În opinia noastră, doar o categorie de tehnici de inteligență artificială poate conduce la teste ce îndeplinesc cele mai stringente criterii precum:

1. Acuratețe cât mai înaltă. De preferat peste 95%.
2. Robustețe, în sensul că testul este dezvoltat astfel încât, dacă a dat o anumităacuratețe pe lotul de pacienți investigat, va da o acuratețe cât mai apropiată la pacienții noi.
3. Transparență, în sensul înțelegerii și utilizăriiușoare de către medici.



Aceste condiții sunt îndeplinite de arborii decizionali, combinați prin așa numitele metode de grup (ensemble methods), în sensul că testul are la baza nu doar un arbore ci un grup de arbori.

De remarcat că acuratețea, cea mai importantă, este crescută prin utilizarea acestor metode, cu prețul unei scăderi a transparenței, ce este mai puțin importantă.

Așadar, vom evalua cele câteva propuneri de teste microRNA neinvazive pentru diagnosticul cancerului de vezică, prin prisma celor menționate mai sus. Mai multe informații se pot găsi într-un review recent, scris de către colectivul nostru, ce poate fi consultat gratuit (<https://doi.org/10.2147/IJN.S72904>)

Se poate observa utilizarea unor metode statistice oarecum naive, ce conduc la teste cu o acuratețe foarte slabă, de 0.711. De asemenea, se constată raportarea unor performanțe înșelătoare, lipsite de robustețe (nu vor generaliza bine la noi pacienți) și dificil de aplicat în practică. Adesea se utilizează o metodă statistică convențională denumită regresie logistică. Metoda pleacă de la o serie de presupuneri statistice, cunoscute a nu fi îndeplinite de astfel de date și nu poate lua în considerare interacțiunile între molecule, cunoscute a fi foarte importante în sistemele vii. Conduce la o formula matematică, medicii fiind mai puțin familiari cu abordările matematice. Acuratețea este semnificativ inferioară celei obținute de noi 0.899 (sub 90%).

După cunoștința noastră, nu există un test pentru diagnosticul neinvaziv al cancerului de vezică urinară, brevetat și utilizat în clinică, care să satisfacă criteriile stringente formulate mai sus, cu excepția celui propus de noi.

Scopul invenției este de a crește semnificativ acuratețea diagnosticului cancerului de vezică urinară, oferind un test de diagnostic molecular ce înlătură dezavantajele metodelor existente, atât invazive cât și neinvazive, ușor de utilizat de către medici.

Diagnosticarea neinvazivă și cu mare acuratețe a cancerului este o problemă deosebită importantă, dar dificilă. Invenția noastră oferă o soluție elegantă acestei probleme, plecând de la o categorie de molecule înalt informative și utilizând, în mod original, inteligența artificială. Ea poate fi utilizată atât în situația când pacientul se prezintă la medic cu o serie de acuze ce pledează pentru un posibil cancer de vezică urinară, cât și pentru diagnosticarea eventualelor recidive ce pot apărea după tratamentul chirurgical și medical. Este bine cunoscută reticenta pacienților față de metoda invazivă, ce implică cistoscopie - realizarea



unei biopsii vezicale prin introducerea unei sonde în vezică și cu atât mai mult repetarea ei, adesea frecventă, când există suspiciunea de recidivă. Invenția noastră înlătură această problemă majoră pentru pacient. De asemenea, prin utilizarea inteligenței artificiale, se rezolvă problema acurateței scăzute, ce grevează abordările statistice convenționale, a degradării acurateței la cazurile noi, precum și cea a inteligibilității testului.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

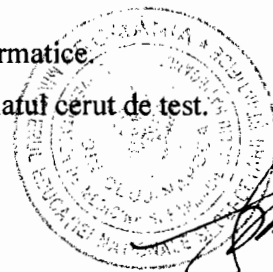
1. Acuratețea diagnosticului este cea mai înaltă existentă în plan internațional, în momentul scrierii acestor documente. Se datorează utilizării unor molecule înalt informative și, în special, utilizării inteligenței artificiale.
2. Acuratețea nu se degradează când testul este aplicat unor cazuri noi, datorită metodelor folosite în dezvoltarea acestuia (cross-validation).
3. Baza științifică a testului este ușor de înțeles de către medici iar testul este ușor de utilizat.
4. Este neinvazivă, deci fără a crea neplăceri pacientului și nu prezintă riscuri.
5. Fiind bazată pe determinarea unui număr mic de molecule (...), este mai puțin costisitoare decât alte teste propuse.

Se dau în continuare ca exemplu de utilizare a invenției, două scenarii posibile:

Scenariul A:

Să presupunem că un pacient, ce prezintă acuze ce pledează pentru un posibil cancer de vezică urinară, este îndrumat de către medicul de familie către un specialist oncolog. Acesta recomandă testul nostru, a cărui efectuare implică următorii pași:

1. Pacientului i se recoltează o picătură de sânge.
2. Proba este prelucrată și conservată după metode de laborator obișnuite, când se are în vedere determinarea moleculelor microRNA.
3. Un laborator ce dispune de echipamentul Agilent microarray, efectuează:
 - a. Testarea calității probei de sânge
 - b. Determinarea microRNA-urilor hsa-miR-1-3p și hsa-miR-6785-5p, pe care se bazează testul.
 - c. Testarea calității rezultatelor, pe care le trimite către cel ce aplică testul nostru
4. Rezultatele primite sunt analizate în următorii pași:
 - a. Se testează calitatea rezultatelor cu metode bioinformatică.
 - b. Acestea sunt preprocesate pentru a fi aduse în formatul cerut de test.



5. Se efectuează testul și se trimite medicului ce l-a solicitat, rezultatul acestuia.

Scenariu B:

Un pacient diagnosticat cu cancer de vezică urinară este tratat chirurgical și medical într-o unitate de specialitate. După un anumit interval, apare suspiciunea de progres sau recidivă a bolii. În mod normal, medicul oncolog solicită cistoscopia ce este o intervenție invazivă, foarte neplăcută pentru pacient și cu riscuri. În locul acesteia, se poate opta pentru testul neinvaziv și cu mai mare acuratețe, inventat de noi, urmând aceiași pași ca mai sus.

Studiile nivelelor sanguine ale microRNA (circulant), prin metoda microarray, au identificat relații consistente între paterne ale acestora și diverse tipuri de cancer. Aceasta a condus la ideea că microRNA circulant este un candidat important pentru descoperirea de biomarkeri pentru diagnosticul neinvaziv al cancerului. Totuși, dezvoltarea unor astfel de teste de diagnostic molecular este dificilă, în special din punct de vedere al analizelor statistico-informatică, fapt pentru care, deși sunt propuse multe în literatură, foarte puține au devenit aplicabile în practica medicală. Utilizarea inteligenței artificiale face posibilă dezvoltarea unor astfel de teste, la cele mai înalte standarde, inclusiv pentru cancerul de vezică urinară.



REVEDICĂRI

1. Test molecular de diagnostic neinvaziv al cancerului de vezică urinară superficial, cu acuratețe peste 95% (96.33%). Acesta este bazat pe determinarea microarray, pe platforma Agilent, a microRNA circulant și utilizarea inteligenței artificiale, sub forma arborilor decizionali. Utilizarea cu abilitate a inteligenței artificiale (arbori decizionali) este novatoare și conduce la cel mai performant test, existent în momentul de față, ce este în același timp și robust și transparent. Transparența se traduce prin exprimarea testului sub forma unui set de reguli, ușor de înțeles și de aplicat. De asemenea, testul implică determinarea a doar două molecule de microRNA circulant, ceea ce implică reducerea la minim a costurilor.

Regulile, la rândul lor, sunt un alt element novator pentru forma de prezentare a unui test și sunt următoarele:

1. dacă $\text{hsa-miR-6785-5p} < -0.761217$ atunci diagnostic: cancer
2. dacă $\text{hsa-miR-6785-5p} \geq -0.761217$ și $\text{hsa-miR-1-3p} \geq -0.803153$ atunci diagnostic: cancer
3. dacă $\text{hsa-miR-6785-5p} \geq -0.761217$ și $\text{hsa-miR-1-3p} < -0.803153$ atunci diagnostic: normal

În cadrul regulilor valorile microRNA sunt exprimate conform formatului cerut de test.

