

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 420 841**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4439 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

G01N 33/84 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.06.2008 E 08873041 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2013 EP 2250500**

54 Título: **Procedimientos para la detección precoz del síndrome coronario agudo y predicción de acontecimientos cardíacos adversos**

30 Prioridad:

05.03.2008 IN MU04552008
21.05.2008 US 121241

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

27.08.2013

73 Titular/es:

RAJAPURKAR, MOHAN (33.3%)
Muljibhai Patel Urological Hospital, Dr V V Desai
Road
Nadiad 387001, IN;
LELE, SUHAS (33.3%) y
SHAH, SUDHIR (33.3%)

72 Inventor/es:

RAJAPURKAR, MOHAN;
LELE, SUHAS y
SHAH, SUDHIR

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 420 841 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

Procedimientos para la detección precoz del síndrome coronario agudo y predicción de acontecimientos cardíacos adversos

Campo de la invención

- 5 La invención se refiere a procedimientos para la detección precoz de cardiopatías. Más particularmente, la invención se refiere a procedimientos para la detección precoz del síndrome coronario agudo y a la predicción de desenlaces cardíacos adversos, detectando y analizando la cantidad de hierro catalítico en muestras de sangre, suero o plasma de un sujeto humano.

Antecedentes

- 10 Los pacientes que presentan dolor torácico plantean desafíos importantes de diagnóstico y terapéuticos. Uno de los desafíos es determinar si la causa del dolor torácico es por algún dolor muscular de tipo benigno o está producida por una oclusión arterial que conduce a la obstrucción del aporte sanguíneo y por tanto a la muerte del músculo cardíaco. El ensayo del electrocardiograma (EGC) es útil en determinados casos si no hay pruebas claras de ataque cardíaco. Sin embargo, el ensayo EGC puede no ser muy útil en una inmensa mayoría de casos separando el dolor muscular del dolor cardíaco más peligroso. En dichos casos el diagnóstico y el tratamiento llegan a ser difíciles en pacientes con sospecha de cardiopatía que, por ejemplo, tienen electrocardiogramas sin diagnóstico.

- Para la mayoría de los médicos de urgencias es deseable tener un ensayo específico que sea muy sensible y muy específico para la detección del síndrome coronario agudo para realizar diagnósticos y tomar decisiones terapéuticas en el momento adecuado, particularmente en un período de tiempo relativamente corto después de la aparición del dolor torácico. Para el diagnóstico de infarto de miocardio agudo se utilizaron muchos marcadores séricos, tales como la creatina quinasa (CK) y sus isoenzimas cardíacas más específicas (CK-MB). La CK-MB ha sido un marcador preferido durante muchos años debido a la alta especificidad por tejidos cardíacos de fracción MB de la CK. Sin embargo, pueden producirse resultados positivos falsos debidos, por ejemplo, a la presencia de CK-MB liberada del músculo esquelético, miopatías, hipotiroidismo etc. Una desventaja descrita de la CK-MB es el diagnóstico tardío y un mal índice de pronóstico. Un modelo de aumento y disminución puede llevar aproximadamente 10-30 horas, requiriendo determinaciones en serie durante un período de 24 horas. Marcadores tales como la troponina T e I cardíaca son muy específicos para problemas cardíacos, por ejemplo, lesión miocárdica. Estas proteínas no están presentes en el músculo liso ni en la sangre de sujetos humanos normales sanos. Con fines de diagnóstico, el problema de positivos falsos se ha descrito con la troponina. Las troponinas pueden ser útiles para pacientes en los que el nivel de CK-MB es elevado debido a su liberación del músculo esquelético. En la bibliografía también se describe que un nivel elevado de troponinas plasmáticas séricas proporciona información de pronóstico útil. Niveles elevados de cTnT o cTnI pueden indicar probabilidades mucho más altas de desenlaces cardíacos adversos. A través del espectro del síndrome coronario agudo, es más fácil identificar a pacientes con infarto de miocardio con elevación del ST y por tanto las estrategias de tratamiento precoz están bien definidas. Los pacientes con infarto de miocardio sin elevación del ST también se benefician de estrategias invasivas precoces pero la intervención se retrasa normalmente hasta 24 horas debido mayormente en parte a la ausencia un biomarcador precoz predecible en un escenario de electrocardiograma sin diagnóstico. Algunos de los estudios sugieren que las troponinas son útiles para la evaluación de pacientes con dolor torácico en el servicio de urgencias (SU), sin embargo no pueden utilizarse como criterio único, por ejemplo, en casos con valores de troponina negativos especialmente cuando un paciente se presenta poco tiempo después de la aparición del dolor torácico.

- Durante años, se han evaluado biomarcadores cardíacos para fines clínicos múltiples tales como en la exploración para enfermedades preclínicas, el diagnóstico de enfermedades en pacientes con síntomas inespecíficos y electrocardiogramas sin diagnóstico, estratificación de riesgo en pacientes con enfermedades clínicas y como una orientación en la selección de opciones terapéuticas apropiadas. Los dos biomarcadores normalmente usados, denominados Troponina I o Troponina T, detectan la muerte del músculo cardíaco o mionecrosis. Sin embargo, incluso si hay necrosis muscular, el ensayo llega a ser positivo después de seis a doce horas de la aparición del dolor. Por tanto, desde el momento en que aparece el dolor torácico durante hasta seis horas no existe ningún modo fiable para separar el dolor torácico cardíaco del dolor torácico no cardíaco. En dichas situaciones se hospitaliza a los pacientes y se les somete a observación como si tuviesen un ataque cardíaco hasta poder realizar una valoración más precisa, por ejemplo, transcurridas doce horas. Por tanto, no sólo se retrasa el diagnóstico, añadiendo costes hospitalarios, sino que también se retrasan tratamientos importantes como terapia antiplaquetaria dual y angioplastia hasta que pueda establecerse un diagnóstico correcto. Los ensayos de diagnóstico se han desarrollado para determinar si la fuente del dolor torácico es cardíaca o no o si el sujeto humano ha padecido algún problema cardíaco, por ejemplo, un infarto de miocardio o angina inestable. Sin embargo, estos ensayos no proporcionan información suficiente para una detección precoz de SCA ni información útil para pronósticos. En el presente documento el término "pronóstico" se refiere a procedimientos para predecir el desenlace de patologías o para predecir la probabilidad o posibilidad de observar un desenlace adverso en un paciente.

Es deseable identificar un marcador cardíaco, sensible, específico y precoz, que pueda detectarse, que tenga una

relación estrecha con el grado de un problema/lesión cardíaco(a) y que proporcione información de pronóstico. Por lo tanto, se requieren procedimientos, aparatos y biomarcadores fiables para el diagnóstico precoz o la detección de síndrome coronario agudo y procedimientos fiables para predecir acontecimientos cardíacos adversos en un escenario de síndrome coronario agudo.

5 **Sumario de la invención**

La invención proporciona un procedimiento para detectar síndrome coronario agudo en un sujeto humano obteniendo una muestra de ensayo procedente de un fluido biológico de un sujeto humano, analizar la muestra de ensayo con respecto a una cantidad de hierro catalítico y detectar síndrome coronario agudo en el sujeto humano. El fluido biológico se selecciona del grupo que comprende, sangre, suero y plasma. En una realización, la etapa correspondiente al análisis comprende comparar la cantidad de hierro catalítico con una cantidad predeterminada. En una realización, la muestra de ensayo se obtiene aproximadamente a las tres primeras horas después de la aparición de un dolor torácico en el sujeto humano o siempre que el sujeto humano (paciente), que se sospecha que padece cardiopatía, esté disponible para realizar el ensayo.

En una realización, la invención proporciona un procedimiento para detectar síndrome coronario agudo en un sujeto humano analizando una muestra de ensayo obtenida del fluido biológico del sujeto humano con respecto a una cantidad de hierro detectable por Bleomicina. El síndrome coronario agudo puede detectarse basándose en resultados de la comparación de la cantidad de hierro detectable por Bleomicina con una cantidad predefinida. El fluido biológico se selecciona del grupo que comprende sangre, suero y plasma. La invención proporciona un procedimiento para predecir desenlaces cardíacos adversos en un sujeto humano que padece síndrome coronario agudo analizando un aumento en los niveles de hierro detectable por Bleomicina en la muestra de ensayo obtenida en un momento predeterminado.

En una realización la invención proporciona un procedimiento para detectar síndrome coronario agudo en un sujeto humano en el momento de la presentación del dolor torácico, que incluye obtener una muestra de ensayo procedente del fluido biológico del sujeto humano y analizar la muestra de ensayo con respecto a una cantidad de hierro catalítico en el que el sujeto humano se presenta después de la aparición del dolor torácico. El síndrome coronario agudo puede detectarse basado en resultados de la comparación de la cantidad de hierro catalítico con una cantidad predefinida. El fluido biológico se selecciona del grupo que comprende sangre, suero y plasma. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo, el sujeto humano se presenta aproximadamente a las tres primeras horas después de la aparición del dolor torácico. En una realización la invención proporciona un procedimiento para la detección precoz de síndrome coronario agudo que incluye obtener una muestra de ensayo procedente de un fluido biológico del sujeto humano y analizar la muestra de ensayo con respecto a una cantidad de hierro catalítico en el que el sujeto humano se presenta poco tiempo después de la aparición del dolor torácico.

En otra realización la invención proporciona un procedimiento para predecir desenlaces cardíacos adversos en un sujeto humano que padece síndrome coronario agudo que comprende obtener una primera muestra de ensayo procedente de un fluido biológico de un sujeto humano en un primer momento en el momento de la presentación después del dolor torácico, analizar la primera muestra de ensayo con respecto a la cantidad de hierro catalítico; detectar el síndrome coronario agudo en el sujeto humano; obtener una segunda muestra de ensayo procedente del fluido biológico de un sujeto humano después de un intervalo de tiempo predefinido desde el primer momento, adecuado para observar una variación o un aumento consecuente en los niveles de hierro detectable por Bleomicina. En el presente documento, un "aumento 'consecuente'" se refiere a una elevación en los niveles de hierro catalítico (por ejemplo, hierro detectable por Bleomicina), suficiente para proporcionar información de pronóstico útil para predecir los desenlaces adversos. El procedimiento comprende adicionalmente analizar la segunda muestra de ensayo con respecto a una cantidad de hierro catalítico y medir el aumento en la cantidad de hierro catalítico en una segunda muestra comparado con la primera muestra. Basándose en el análisis de la segunda muestra de ensayo pueden predecirse uno o más desenlaces cardíacos adversos. El fluido biológico se selecciona de un grupo que comprende sangre, suero y plasma. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo, la muestra de ensayo se obtiene después de un intervalo de tiempo predefinido desde la detección del síndrome coronario agudo, siendo el intervalo de tiempo predefinido adecuado para observar una variación o un aumento consecuente en los niveles de hierro catalítico. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo la muestra de ensayo se obtiene después de aproximadamente 24 horas desde la detección del síndrome coronario agudo en el sujeto humano.

En otra realización adicional, la invención proporciona un procedimiento para predecir desenlaces cardíacos adversos en un sujeto humano que padece síndrome coronario agudo que comprende obtener una muestra de ensayo procedente del fluido biológico de un sujeto humano y analizar la muestra de ensayo con respecto a una cantidad de hierro catalítico para predecir uno o más desenlaces cardíacos adversos basándose en el análisis de la muestra de ensayo. La muestra de ensayo se obtiene después de un intervalo de tiempo predefinido adecuado para observar una variación o un aumento consecuente en los niveles de hierro catalítico. El fluido biológico se selecciona de un grupo que comprende sangre, suero y plasma. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo, la muestra de ensayo se obtiene después de un intervalo de tiempo predefinido desde la detección de síndrome coronario agudo, siendo el intervalo de tiempo predefinido adecuado para observar una variación o un aumento consecuente en los niveles de hierro catalítico. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo la

muestra de ensayo se obtiene después de aproximadamente 24 horas de la detección del síndrome coronario agudo en el sujeto humano.

5 De acuerdo con otra realización adicional las etapas de obtener la muestra de ensayo y analizarla con respecto a la cantidad de hierro catalítico se repiten para obtener un conjunto de datos correspondiente a un aumento en los niveles de hierro catalítico y basado en el análisis del conjunto de datos, se predicen uno o más desenlaces cardíacos adversos. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo los desenlaces cardíacos adversos previstos se seleccionan de uno o más de insuficiencia cardíaca, empeoramiento de la insuficiencia cardíaca, reinfarto, trombosis de endoprótesis vascular (stent) y muerte.

10 En una realización, la invención proporciona un procedimiento para tratar a un sujeto humano que padece síndrome coronario agudo analizando una muestra de ensayo obtenida del fluido biológico del sujeto humano con respecto a la cantidad de hierro catalítico, el fluido biológico se selecciona de un grupo que comprende sangre, suero y plasma, detectando síndrome coronario agudo basado en los resultados de la comparación de la cantidad de hierro catalítico con una cantidad predefinida y administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente quelante de hierro. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo, después de predecir los desenlaces cardíacos adversos basado en el análisis del aumento en los niveles de hierro catalítico se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente quelante de hierro. El procedimiento también puede incluir administrar uno o más agentes quelantes de hierro adecuados en una cantidad terapéuticamente eficaz.

20 De acuerdo con una realización, la invención proporciona un procedimiento para diferenciar, en un sujeto humano, un dolor torácico correspondiente a un síndrome coronario agudo, de un dolor torácico no cardíaco. El procedimiento incluye analizar una muestra de ensayo con respecto a una cantidad de hierro catalítico; comparar la cantidad de hierro catalítico con una cantidad predeterminada; y diferenciar el dolor torácico correspondiente al síndrome coronario agudo del dolor torácico no cardíaco en respuesta a la comparación. La muestra de ensayo se obtiene de sangre, suero o plasma del sujeto humano. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo el sujeto humano se presenta, aproximadamente a las 0-6 horas de la aparición del dolor torácico.

25 En una realización, la invención proporciona un kit para la detección del síndrome coronario agudo en un sujeto humano. El kit incluye medios de receptáculo para recibir una muestra de ensayo de fluido biológico del sujeto humano, medios para analizar la muestra de ensayo con respecto a la cantidad de hierro catalítico y medios para detectar síndrome coronario agudo en el sujeto humano. El fluido biológico se selecciona de un grupo que comprende sangre, suero y plasma. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo el kit permite detectar SCA
30 en un sujeto humano aproximadamente a las 0-6 horas de la aparición del dolor torácico.

35 En una realización, la invención proporciona un procedimiento para el uso de un ensayo de hierro catalítico para detectar síndrome coronario agudo en un sujeto humano analizando cantidades de hierro catalítico en una muestra de sangre, suero o plasma del sujeto humano. En una realización, la invención proporciona un procedimiento para el uso de un ensayo de hierro detectable por Bleomicina para detectar síndrome coronario agudo en un sujeto humano. El procedimiento incluye analizar cantidades de hierro detectable por Bleomicina en una muestra de ensayo obtenida del fluido biológico del sujeto humano. El fluido biológico se selecciona de un grupo que comprende sangre, suero y plasma.

40 En otra realización adicional, la invención proporciona un procedimiento para el uso de un ensayo de hierro catalítico para predecir uno o más desenlaces cardíacos adversos en un sujeto humano que padece síndrome coronario agudo. El procedimiento incluye analizar cantidades de hierro catalítico en una muestra de ensayo obtenida del fluido biológico del sujeto humano que padece síndrome coronario agudo. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo, la muestra de ensayo se obtiene después de un intervalo de tiempo predefinido desde la detección del síndrome coronario agudo, siendo el intervalo de tiempo predefinido adecuado para observar una variación o un aumento consecuente en los niveles de hierro catalítico. El fluido biológico se selecciona de un grupo que comprende sangre, suero y plasma.
45

Breve descripción de los dibujos.

La Figura 1 ilustra diagramas de cajas que muestran niveles medios de hierro catalítico en suero medidos inicialmente en el servicio de urgencias en tres grupos de pacientes de acuerdo con la invención, las cajas muestran intervalos intercuartiles y las barras representan los valores más altos y más bajos;

50 La Figura 2 ilustra el Hierro Catalítico en Suero y la Troponina I medidos al inicio y en el momento de la presentación en tres grupos dividido entre el tiempo de la aparición de los síntomas con respecto a la presentación en el servicio de urgencias;

La Figura 3 ilustra la curva Característica Operativa del Receptor de diversos niveles límite de Hierro Catalítico en Suero en la diferenciación entre dolor torácico, debido a un síndrome coronario agudo, de dolor torácico no cardíaco de acuerdo con la invención; y
55

La Figura 4 ilustra la asociación entre las estimaciones de Hierro Catalítico en Serie y las estimaciones de Troponina I en Serie y acontecimientos cardíacos adversos de acuerdo con la invención (por ejemplo, nueva

insuficiencia cardiaca o empeoramiento de la insuficiencia cardiaca, choque cardiogénico, reinfarto, trombosis de endoprotésis vascular (stent) y mortalidad.

Descripción detallada de la invención

5 En el presente documento se desvelan diversas realizaciones de la invención; sin embargo, debe entenderse que las realizaciones desveladas, meramente a modo de ejemplo de la invención, pueden realizarse de diversas formas. Por lo tanto, los detalles estructurales, funcionales, de formulación, procesos y procedimientos específicos desvelados en el presente documento no deben interpretarse como limitantes, sino tan solo como una base representativa para enseñar a un experto en la técnica los diversos empleos de la invención, prácticamente en cualquier procedimiento, estructura, aplicación, uso, proceso o formulación apropiadamente detallado. Además, los 10 términos y frases que se utilizan en el presente documento no pretenden ser limitantes sino proporcionar una descripción comprensible de la invención.

En el presente documento, los términos relacionales tales como primero y segundo, y similares, pueden usarse únicamente para diferenciar una entidad o acción de otra entidad o acción sin requerir necesariamente o implicar cualquiera de dichas relaciones existentes u orden entre dichas entidades o acciones. Los términos “comprende”, 15 “comprendiendo”, “tiene”, “teniendo”, “incluye”, “incluyendo”, “contiene”, “conteniendo” o cualquier otra variación de los mismos, pretenden abarcar una inclusión no exclusiva, de tal manera que un proceso, procedimiento o aparato que comprende, tiene, incluye, contiene una lista de elementos/etapas no incluye únicamente estos elementos/etapas sino que puede incluir otros elementos no expresamente indicados o intrínsecos a dicho proceso, procedimiento o aparato. Un elemento/etapa precedido por “comprende ... un, una”, “tiene ... un, una”, “incluye ... 20 un, una”, “contiene ... un, una” no excluye, sin más limitaciones, la existencia de elementos idénticos adicionales en el proceso, procedimiento, artículo o aparato que comprende, tiene, incluye, contiene, el elemento. Los términos “un”, “uno” y “una” se definen como uno o más a menos que se especifique explícitamente otra cosa en el presente documento. Los términos “sustancialmente”, “esencialmente”, “aproximadamente”, “alrededor” o cualquier otra versión de los mismos se definen como que están próximos como puede apreciar un experto en la técnica.

25 La invención proporciona un procedimiento para detectar síndrome coronario agudo en un sujeto humano obteniendo una muestra de ensayo procedente de un fluido biológico del sujeto humano, analizando la muestra de ensayo con respecto a la cantidad de hierro analítico y detectando síndrome coronario agudo en el sujeto humano. El fluido biológico se selecciona de un grupo que comprende sangre, suero y plasma. En una realización, la etapa de analizar comprende comparar la cantidad de hierro catalítico con una cantidad predeterminada. Esto se relaciona 30 con el descubrimiento de que el hierro catalítico en el fluido biológico, tal como sangre, suero o plasma de un ser humano, pueda ser un indicador de la presencia de síndrome coronario agudo. Adicionalmente la invención se refiere al descubrimiento de que un aumento en la cantidad de hierro catalítico puede proporcionar información de pronóstico útil para predecir desenlaces cardíacos adversos para el sujeto humano que padece síndrome coronario agudo. Particularmente un conjunto de datos correspondiente a una elevación en serie en la cantidad de hierro catalítico en suero permite la predicción de desenlaces cardíacos adversos. Se ha descubierto que es un marcador sensible, específico cardíaco y precozmente detectable que conlleva una relación estrecha con el nivel de problema cardíaco/lesión cardíaca y que proporciona información de pronóstico útil para los sujetos humanos que padecen síndrome coronario agudo (SCA). Puede determinarse una medida de estrés oxidativo elevado en el organismo detectando altos niveles de hierro catalítico en el suero para detectar SCA a una etapa precoz, por ejemplo, usando 40 un ensayo de hierro detectable por Bleomicina. El uso de este ensayo también permite una predicción más fiable y precoz de desenlaces cardíacos adversos del SCA. Para medir y analizar la variación en la cantidad de hierro catalítico en el fluido biológico, por ejemplo, en suero, pueden usarse procedimientos adecuados

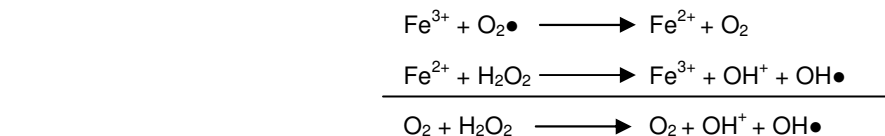
De acuerdo con una realización a modo de ejemplo la cantidad predeterminada es de al menos aproximadamente 0,3 μ mol/l. El SCA puede detectarse en casos en los que la cantidad de hierro detectable por Bleomicina supera este límite. Si la cantidad de hierro catalítico es menor de aproximadamente 0,3 μ mol/l entonces el dolor torácico 45 puede considerarse como un dolor torácico no cardíaco. En una realización, la muestra de ensayo se obtiene aproximadamente a las tres primeras horas después de la aparición de un dolor torácico en el sujeto humano. El procedimiento de la invención permite realizar un diagnóstico precoz del SCA, por ejemplo, la muestra de ensayo puede recogerse en cualquier momento después de la aparición de dolor torácico o siempre que el paciente que se sospecha que padece cardiopatía esté disponible para el ensayo. Esto hace que sea muy útil para tomar decisiones terapéuticas apropiadas en una fase temprana. 50

En una realización, la invención se refiere a un procedimiento para detectar síndrome coronario agudo en un sujeto humano analizando una muestra de ensayo obtenida del fluido biológico del sujeto humano con respecto a la cantidad de hierro detectable por Bleomicina. Esto está relacionado con el descubrimiento de que el hierro catalítico, por ejemplo, determinado usando un ensayo de hierro catalítico por Bleomicina, en el fluido biológico tal como sangre, suero o plasma de un humano, puede ser un indicador de la presencia de SCA. La rotura de placas y lesiones vasculares se producen como resultado de altos niveles de estrés oxidativo en el organismo. El estrés oxidativo es el resultado de altos niveles de lo que se denomina especies reactivas de oxígeno. Estas incluyen radicales hidroxilo, radicales libres de oxígeno y peróxido de hidrógeno. Un catalizador muy fuerte para la 55 producción de estas especies reactivas de oxígeno es el hierro libre o hierro catalítico. El hierro en el organismo está presente en los tejidos estrechamente unido a la ferritina mientras que en la sangre el hierro circula

estrechamente unido a la transferrina. Cuando los niveles de hierro catalítico aumentan, el estrés oxidativo aumenta lo que conduce a lesión vascular produciendo diversas afecciones médicas como ataque cardíaco, lesión renal e ictus.

5 La invención se relaciona adicionalmente con el descubrimiento de que un aumento en la cantidad de hierro detectable por Bleomicina puede proporcionar información de pronóstico útil para predecir desenlaces cardíacos adversos para el sujeto humano que padece síndrome coronario agudo. Particularmente un conjunto de datos correspondientes a una elevación en serie en la cantidad de hierro detectable por Bleomicina en suero permite la predicción de desenlaces cardíacos adversos. Se ha descubierto que es un marcador sensible, específico cardíaco y precozmente detectable que conlleva una relación estrecha con el nivel de problema cardíaco/lesión cardíaca y 10 que proporciona información de pronóstico útil para los sujetos humanos que padecen SCA. Puede determinarse una medida de estrés oxidativo elevado en el organismo detectando altos niveles de hierro catalítico en el suero para detectar SCA a una etapa precoz, por ejemplo, usando un ensayo de hierro detectable por Bleomicina. El uso de este ensayo también permite una predicción más fiable y precoz de desenlaces cardíacos adversos del SCA.

15 La "muestra de ensayo" se refiere a muestras basadas en sangre, tales como muestras de sangre completa, muestras de suero o plasma. El nivel de un marcador puede determinarse una vez o de manera repetida a un intervalo de tiempo predefinido. El término 'detectar'/diagnosticar o 'detección'/diagnóstico junto con SCA se refiere a confirmar la presencia de SCA o cardiopatía en respuesta al análisis de la muestra de ensayo con respecto a la cantidad de hierro catalítico. Estos términos también pueden referirse al establecimiento de un dolor torácico no cardíaco en casos en los que la cantidad de hierro catalítico medida es menor que una cantidad predeterminada. En 20 una realización preferida, la muestra de ensayo es una muestra de suero. Un síndrome coronario agudo (SCA) se refiere a un conjunto de signos y síntomas, normalmente una combinación de dolor torácico y otras características, interpretados como que son el resultado de un descenso brusco del flujo sanguíneo en el corazón (isquemia cardíaca). La causa más habitual de esto es la rotura de placas ateroscleróticas en una arteria coronaria epicárdica. Los subtipos del síndrome coronario agudo incluyen angina inestable (AI) y dos formas de infarto de miocardio (ataque cardíaco), en el que el músculo cardíaco resulta dañado. La expresión "sujeto humano" (o "paciente") se refiere a una persona que padece dolor torácico y/o que se sospecha que padece cardiopatía. "Hierro catalítico" se refiere a formas químicas de hierro que pueden participar en el ciclo redox. Esta propiedad hace que el hierro sea potencialmente peligroso ya que permite que este participe en la generación de especies oxidantes fuertes tales como radicales hidroxilo (véase la fórmula de reacción de Haber-Weiss catalizada por metales) y/o 25 complejos reactivos de hierro/oxígeno tales como ión ferrilo o perferrilo.



35 Aunque el organismo humano contiene a lo sumo 3-5 g de hierro total, se calcula que el conjunto de hierro catalítico es < 70-90 mg. Ahora se reconoce que este conjunto de hierro catalítico aumenta en muchas patologías. Se han descrito diversos procedimientos para medir el hierro catalítico, denominado también hierro lábil o hierro tóxico (Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. Meth Enzymol 1990; 186: 1-85 y Kakhlon O, Cabantchik ZI. The labile iron pool: characterization, measurement, and participation in cellular processes. Free Rad Biol Med 2002; 33: 1037-1046.)

40 Las especies reactivas de oxígeno (ROS, *Reactive Oxygen Species*) se han investigado ampliamente y se piensa que son responsables de diversas formas de lesiones vasculares (vasos sanguíneos). Las ROS (por ejemplo, ión hidroxilo, superóxidos, etc.) son extremadamente difíciles de medir dado que son muy inestables y reactivas. La producción de estas ROS en el organismo se cataliza mediante hierro lábil o hierro catalítico. Por lo tanto, la medición de los niveles de hierro catalítico proporciona una medida indirecta del nivel de ROS presente en ese momento en el organismo. 45

La medición de hierro catalítico en suero se ha descrito en la bibliografía, por ejemplo, en un ensayo descrito por Gutteridge JMC y col titulado "Superoxide dependent formation of hydroxyl radicals and lipid peroxidation in the presence of iron salts. Detection of 'catalytic' iron and anti-oxidant activity in extracellular fluids" (Biochem J 1982; 206: 605-609). El ensayo detecta, con brevedad, hierro catalítico por su capacidad para degradar ADN en presencia de Bleomicina, que es un fármaco anticanceroso normalmente utilizado. Sin embargo, la naturaleza sensible del ensayo plantea algún desafío importante para medir los niveles correctos de hierro catalítico, por ejemplo, evitando situaciones y/o condiciones que dan lugar a niveles falsamente altos de hierro catalítico. En una realización preferida, se usa el ensayo de hierro detectable por Bleomicina con la finalidad de detectar SCA y predecir desenlaces cardíacos adversos. 50

55 En una realización, la invención proporciona un procedimiento para detectar síndrome coronario agudo en un sujeto humano analizando una muestra de ensayo obtenida procedente de fluido biológico del sujeto humano con respecto a la cantidad de hierro detectable por Bleomicina. El síndrome coronario agudo puede detectarse basado en los resultados de la comparación de la cantidad de hierro detectable por Bleomicina con una cantidad predefinida. El

5 fluido biológico se selecciona de un grupo que comprende sangre, suero y plasma. La invención proporciona un procedimiento para predecir desenlaces cardíacos adversos en un sujeto humano que padece síndrome coronario agudo analizando un aumento en los niveles de hierro detectable por Bleomicina en la muestra de ensayo obtenida en un momento predeterminado. De acuerdo con una realización de la invención, el hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero se mide siguiendo un procedimiento basado en la formación de un complejo Bleomicina-hierro que reacciona con ADN dando como resultado su degradación. De acuerdo con una realización de la invención, los productos de degradación del ADN, es decir, malondialdehído, se midieron por procedimientos conocidos, por ejemplo, los productos de degradación del ADN, *es decir*, malondialdehído se midieron por la reacción del ácido tiobarbitúrico, un ensayo descrito por Evans y Halliwell "Measurement of iron and copper in biological systems: bleomycin and copper-phenanthroline assays" por Evans PJ y Halliwell B, *Methods of Enzymology* (1994), volumen 223, páginas 82-92. En una realización de la invención, se usa un procedimiento descrito por Gutteridge JMC y col titulado "Superoxide dependent formation of hydroxyl radicals and lipid peroxidation in the presence of iron salts. Detection of 'catalytic' iron and anti-oxidant activity in extracellular fluids" (*Biochem J* 1982; 206: 605-609)

15 De acuerdo con una realización a modo de ejemplo de la invención, la cantidad predeterminada es de al menos aproximadamente 0,3 μ mol/l. Por tanto, el SCA puede detectarse en casos en los que la cantidad de hierro detectable por Bleomicina supera este límite. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo de la invención, la muestra de ensayo se obtiene aproximadamente a las tres primeras horas de la aparición del dolor torácico en el sujeto humano. El permitir una detección precoz del SCA, por ejemplo, a las tres primeras horas de la aparición del dolor torácico, hace que sea muy útil para tomar decisiones terapéuticas precoces apropiadas.

20 En una realización de la invención, el sujeto humano presenta un dolor torácico. En otra realización de la invención, el sujeto humano presenta un nivel de troponina cardíaca normal. En una realización, el sujeto humano presenta un nivel de troponina cardíaca normal y/o un nivel de CK normal. En otra realización de la invención, el sujeto humano presenta un nivel normal de Troponina I cardíaca o de Troponina T cardíaca. En una realización adicional, el sujeto humano presenta un nivel normal de Troponina T cardíaca o Troponina I cardíaca y es indicativo de que no hay elevación del segmento ST. Los procedimientos de la invención permiten diagnosticar SCA y predecir desenlaces adversos en todas las categorías de pacientes anteriores con precisión considerable.

30 Una realización de la invención proporciona un procedimiento para el diagnóstico o la detección precoz de SCA en un sujeto humano en el momento de la presentación del dolor torácico que comprende las etapas de obtener una muestra de ensayo del fluido biológico (tal como, sangre, suero o plasma) del sujeto humano; analizar la muestra de ensayo con respecto a una cantidad de hierro detectable por Bleomicina y detectar SCA en el sujeto humano.

35 Una realización de la invención proporciona un procedimiento para la detección precoz de síndrome coronario agudo en un ser humano en el momento de la presentación del dolor torácico que comprende las etapas de obtener una muestra de ensayo de un fluido biológico (tal como, sangre, suero o plasma) del sujeto; analizar la muestra de ensayo con respecto a la cantidad de hierro detectable por Bleomicina y detectar síndrome coronario agudo en el sujeto humano, en el que el sujeto humano se presenta, aproximadamente a las 3 primeras horas de la aparición del dolor torácico.

40 En una realización a modo de ejemplo de la invención, durante el proceso de implementación del procedimiento usando el ensayo de hierro detectable por Bleomicina, por ejemplo, para implementar el procedimiento sugerido por Gutteridge JMC y col titulado "Superoxide dependent formation of hydroxyl radicals and lipid peroxidation in the presence of iron salts. Detection of 'catalytic' iron and anti-oxidant activity in extracellular fluids" (*Biochem J* 1982; 206: 605-609), se mantiene un pH neutro riguroso. El mantenimiento riguroso del pH permite impedir o reducir la posibilidad de indicar niveles falsamente altos de hierro catalítico y por tanto la detección no fiable del SCA en un sujeto humano con dolor torácico. De acuerdo con una realización de la invención, todo el ensayo debe realizarse en medio rigurosamente libre de hierro. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo de la invención, todas las soluciones se preparan recientes y se tratan con reactivos adecuados tales como polvo chelex para extraer cualquier impureza de hierro presente en la solución.

50 Una realización de la invención proporciona un procedimiento para predecir desenlaces cardíacos adversos en un sujeto humano que comprende: obtener, en un primer momento, una primera muestra de ensayo procedente del fluido biológico (tal como sangre, suero o plasma) de un sujeto humano; analizar la primera muestra de ensayo con respecto a la cantidad de hierro catalítico; detectar síndrome coronario agudo en el sujeto humano; obtener una segunda muestra de ensayo procedente del fluido biológico de un sujeto humano después de un intervalo de tiempo predefinido desde el primer momento, siendo el intervalo de tiempo predefinido adecuado para observar una variación o un aumento consecuyente en los niveles de hierro catalítico; analizar la segunda muestra de ensayo con respecto a la cantidad de hierro catalítico; predecir uno o más acontecimientos /desenlaces cardiacos adversos basado en el análisis de la segunda muestra de ensayo. En una realización preferida, el procedimiento comprende medir la cantidad de hierro detectable por Bleomicina para detectar SCA y predecir desenlaces cardíacos adversos.

60 De acuerdo con una realización a modo de ejemplo, la segunda muestra de ensayo se toma en respuesta a la detección de síndrome coronario agudo en el sujeto humano. Elevaciones en serie de hierro catalítico predicen tasas de complicación más elevadas. De acuerdo con una realización a modo de ejemplo de la invención, el procedimiento para predecir desenlaces cardíacos adversos en un sujeto humano comprende basarse en la

presencia de uno o más acontecimientos cardíacos adversos seleccionados de una nueva insuficiencia cardíaca o empeoramiento de la insuficiencia cardíaca, choque cardiogénico, reinfarto, trombosis por endoprótesis vascular (stent) y muerte en respuesta a la determinación de aumentos significativos en los niveles de hierro catalítico en suero, por ejemplo, hierro detectable por Bleomicina en suero desde el inicio a aproximadamente 24 horas después de la presentación. Los desenlaces cardíacos adversos que incluyen nueva insuficiencia cardíaca o empeoramiento de la insuficiencia cardíaca, choque cardiogénico, reinfarto, trombosis por endoprótesis vascular (stent) y muerte se correlacionan fuertemente con aumentos significativos en los niveles de hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero desde el inicio a 24 horas después de la presentación. No se ha observado dicha correlación entre desenlaces cardíacos adversos y estimaciones en serie de biomarcadores tales como troponina I. En el apartado ejemplos del presente documento se proporcionan detalles de un estudio a modo de ejemplo.

En una realización, la invención proporciona un procedimiento para tratar a un sujeto humano que padece SCA que incluye obtener, en un primer momento, una primera muestra de ensayo procedente de un fluido biológico (tal como, sangre, suero o plasma) del sujeto humano; analizar la primera muestra de ensayo con respecto a la cantidad de hierro catalítico; detectar síndrome coronario agudo en el sujeto humano; obtener una segunda muestra de ensayo procedente del fluido biológico (tal como, sangre, suero o plasma) de un sujeto humano después de un intervalo de tiempo predefinido desde el primer momento; siendo el intervalo de tiempo predefinido adecuado para observar una variación o un aumento consecuente en los niveles de hierro catalítico; analizar la segunda muestra de ensayo con respecto a una cantidad de hierro catalítico; predecir uno o más desenlaces cardíacos adversos basado en el análisis de la segunda muestra de ensayo y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más agentes quelantes de hierro. De acuerdo con una realización de la invención, la primera muestra de ensayo se obtiene aproximadamente a las 3 - 6 primeras horas de la aparición del dolor torácico del sujeto humano y la segunda muestra de ensayo se obtiene después de aproximadamente 20 - 30 horas de la aparición del dolor torácico del sujeto humano. El ensayo puede realizarse en el momento de la presentación del dolor torácico. De acuerdo con una realización, pueden observarse elevaciones en serie a una frecuencia adecuada para predecir el acontecimiento(s)/desenlace(s) cardíaco(s) adverso(s). La frecuencia adecuada puede determinarse en base, por ejemplo, al examen y a los niveles detectables de hierro catalítico en suero. En una realización, el/los agente(s) quelante de hierro puede(n) administrarse después de detectar SCA en el sujeto humano. En una realización, el procedimiento de tratamiento del sujeto humano que padece SCA incluye predecir desenlaces cardíacos adversos de acuerdo con el procedimiento(o procedimientos) de la invención y administrar un agente (o agentes) quelante de hierro adecuado.

En una realización de la invención, el agente quelante de hierro se selecciona del grupo que comprende uno o más de deferipona, desferrioxamina, ácido rodotorúlico y ácido 2,3-dihidroxibenzóico o una sal fisiológicamente aceptable de los mismos. Para el tratamiento puede usarse cualquier agente quelante conocido o desarrollado adecuado o sus combinaciones adecuadas o después de la detección precoz de SCA.

De acuerdo con una realización de la invención, la primera muestra de ensayo se obtiene aproximadamente a las 3 horas de la aparición del dolor torácico del sujeto humano y la segunda muestra de ensayo se obtiene después de aproximadamente 24 horas de la aparición del dolor torácico del sujeto humano. De acuerdo con una realización de la invención, la muestra de ensayo puede extraerse del suero de cualquier sujeto humano que se sospecha que padece cardiopatía o SCA. La muestra de ensayo puede extraerse del suero de un sujeto humano aquejado de dolores torácicos. En una realización, la invención proporciona un procedimiento de uso de hierro detectable por Bleomicina en suero para un diagnóstico precoz o una detección precoz del síndrome coronario agudo en un sujeto humano.

En una realización la invención proporciona un procedimiento para usar en un ensayo de hierro catalítico para detectar síndrome coronario agudo en un sujeto humano analizando una cantidad de hierro catalítico en una muestra de sangre, suero o plasma del sujeto humano. En una realización la invención proporciona un procedimiento para usar en un ensayo de hierro detectable por Bleomicina para detectar síndrome coronario agudo en un sujeto humano analizando la cantidad de hierro analítico en una muestra de sangre, suero o plasma del sujeto humano.

En una realización la invención proporciona un procedimiento de uso de hierro detectable por Bleomicina para una predicción de acontecimientos/desenlaces cardíacos adversos en un sujeto humano. El uso de hierro detectable por Bleomicina en suero como un biomarcador permite una predicción más fiable de acontecimientos cardíacos adversos y por tanto facilita al médico tomar mejores decisiones para el tratamiento/terapia de la afección.

En una realización, la invención proporciona un procedimiento para el uso de un hierro catalítico (por ejemplo hierro detectable por Bleomicina) para diferenciar dolor torácico correspondiente a síndrome coronario agudo de dolor torácico no cardíaco en un sujeto humano analizando cantidades de hierro detectable por Bleomicina en una muestra de sangre, suero o plasma del sujeto humano.

En una realización la invención proporciona un procedimiento para el uso de un hierro catalítico (por ejemplo hierro detectable por Bleomicina) para predecir uno o más desenlaces cardíacos adversos en un sujeto humano que padece síndrome coronario agudo, analizando la cantidad de hierro catalítico en la muestra de sangre, suero o plasma del sujeto humano. En una realización la invención proporciona el uso de un ensayo de hierro catalítico en el

que dicha muestra de sangre, suero o plasma deriva de una muestra de sangre tomada del sujeto humano después de un intervalo de tiempo predefinido desde la detección de síndrome coronario agudo. El intervalo de tiempo predefinido es adecuado para observar una variación o un aumento consecuente en los niveles de hierro catalítico. Por ejemplo, el intervalo de tiempo es de 20 - 24 horas después de la detección de SCA.

5 Una realización la invención proporciona un kit para el diagnóstico o la detección precoz del síndrome coronario agudo (SCA) en un sujeto humano en el momento de la presentación del dolor torácico. El kit permite estimar el hierro catalítico como un biomarcador para detectar cualquier dolor cardíaco diferenciado correctamente de dolor torácico no cardíaco (por ejemplo dolor muscular) en el momento de la presentación del paciente. El otro uso del kit es identificar pacientes que posiblemente tengan complicaciones durante su hospitalización, incluyendo la muerte y
10 la recurrencia del dolor. En una realización, la invención proporciona un kit para el diagnóstico precoz (por ejemplo, en al menos aproximadamente 0-6 horas) o la detección del síndrome coronario agudo que comprende medios (por ejemplo medio de receptáculo) para obtener una muestra de ensayo del fluido biológico (tal como sangre, suero o plasma) del sujeto humano, medios para analizar la muestra de ensayo con respecto a la cantidad de hierro catalítico y medios para analizar y detectar el síndrome coronario agudo en el sujeto humano. En una realización a
15 modo de ejemplo, el kit permite la implementación de un ensayo de hierro detectable por Bleomicina para detectar el SCA y predecir desenlaces cardíacos adversos.

De acuerdo con una realización, el procedimiento descrito anteriormente para detectar el SCA y el procedimiento para predecir desenlaces cardíacos adversos en un sujeto humano que padece SCA a partir del nivel(es)/cantidad(es) medidos de hierro catalítico (por ejemplo hierro detectable por Bleomicina), se realizan
20 mediante un sistema implementado por ordenador. Usando el procedimiento(o los procedimientos) de acuerdo con la invención, el médico tratante toma decisiones terapéuticamente apropiadas con respecto a, por ejemplo, la hospitalización o al tratamiento.

En la divulgación anterior, se han descrito realizaciones a modo de ejemplo de la invención. Sin embargo, un experto habitual en la técnica aprecia que pueden realizarse diversas modificaciones y variaciones sin alejarse del ámbito de
25 la invención. Por consiguiente, toda la memoria descriptiva debe considerarse en un sentido ilustrativo en lugar de limitativo, y todas estas modificaciones pretenden incluirse dentro del ámbito de la invención. Los beneficios, ventajas, soluciones a los problemas y cualquier elemento(s)/característica(s)/etapa(s)/uso/aplicación que pueda ocasionar que se produzca cualquier beneficio, ventaja o solución, o que sea más destacable, no debe interpretarse como una característica o elemento crítico, necesario o esencial con respecto a la divulgación.

30 **Ejemplo:**

Los ejemplos y experimentos que se presentan tienen exclusivamente la finalidad de ser ilustrativos y no deben interpretarse como que limitan la invención.

Población de estudio

35 En estos estudios participaron en total 178 pacientes humanos que presentaron dolor torácico agudo en el servicio de urgencias entre abril del 2006 a octubre del 2007. Se registró el historial clínico detallado del paciente y el reconocimiento físico. Se obtuvo un electrocardiograma en reposo y se analizaron los desplazamientos del segmento ST y los cambios isquémicos. Los ecocardiogramas se obtuvieron en el servicio de urgencias o durante el traslado a la unidad de cuidados de cardiología. La toma de muestras de sangre para biomarcadores cardíacos, incluyendo troponina I e hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero, se realizó en el momento de la
40 presentación y a las 12 y 24 horas después de la admisión en la unidad de cuidados de cardiología. Después, todos los pacientes se sometieron a cuidados cardíacos convencionales dependiendo de la afección clínica en el momento de la presentación. Se realizó un seguimiento de todos los pacientes durante al menos 30 días y se registraron los acontecimientos adversos de muerte, nueva insuficiencia cardíaca o empeoramiento de la insuficiencia cardíaca, choque cardiogénico, reinfarto y trombosis por endoprótesis vascular (stent).

45 Para comparar, se estudió, como control, a 250 voluntarios asintomáticos normales con historial médico insignificante que tenían la misma edad que la de los pacientes con dolor torácico.

Muestreo de sangre

50 En el momento de la incorporación, se extrajeron 10 ml de muestra de sangre en un tubo plano. El componente sérico se congeló y se transportó en hielo seco a un lugar de ensayo donde las muestras se conservaban a -70°C. Después, todas las muestras se descongelaron en el momento del análisis.

Análisis bioquímico

La troponina I se midió usando el ensayo inmunoenzimométrico utilizando el kit proporcionado por Calbiotech Inc USA (número de producto: TI015CM).

55 El hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero se midió siguiendo un procedimiento basado en la formación de un complejo Bleomicina-hierro que reacciona con ADN dando como resultado su degradación. Los productos de

degradación del ADN, es decir, malondialdehído, se midieron mediante la reacción del ácido tiobarbitúrico, un ensayo descrito por Evans y Halliwell. Las reacciones se llevaron a cabo en la mitad del volumen recomendado y se realizaron en un tubo de polipropileno desechable para impedir la contaminación del hierro de fuentes externas. Para eliminar cualquier exceso de hierro en los productos químicos, todas las soluciones de los reactivos, excepto la Bleomicina, se trataron durante una noche con chelex (solución de 300 mg por 10 ml).

La mezcla de ensayo se preparó de la siguiente manera: solución de 250 μ mol/l de ADN 1 mg/ml (ADN de timo de ternero-tipo I, Sigma D1501), 25 μ l de sulfato de Bleomicina 1,5 KIU/l (Sigma B5507), 50 μ l de $MgCl_2$ 50 μ mol/l (Sigma M2670), 25 μ l de muestra, patrón o blanco y 50 μ l de ácido ascórbico 8 μ mol/l (Sigma A1417). El pH de todos los patrones, muestras y sus blancos se ajustaron a 7,4 usando un volumen predeterminado de soluciones de HCl o NaOH 40 μ mol/l (Sigma S8045). Después, los tubos que contenían los componentes del ensayo se incubaron a 370 °C en un baño con agua con agitación lenta durante 2 horas. La reacción se detuvo mediante la adición de 50 μ l de 0,1 μ mol/l de EDTA (Sigma E9884) en todos los tubos. Se añadieron a ellos 500 μ l de ácido tiobarbitúrico (TBA) (Sigma T5500) (1 % p/v, en NaOH 50 μ mol/l) y 500 μ l de HCl al 25 % (J.T.Baker UN 1789). Después, los tubos se incubaron en un baño con agua a 1.000 °C durante 15 minutos. A continuación los tubos de reacción se enfriaron a temperatura ambiente. Después, los tubos que contenían los productos teñidos se centrifugaron a 1.500 g durante 10 minutos para aislar la proteína precipitada en el sobrenadante. La intensidad del color se midió después en un espectrofotómetro (Cyber UV-1, Mecasys Co. Ltd. Korea) a 532 nm frente al blanco (sin Bleomicina). Se preparó un gráfico patrón, reciente con cada lote de ensayo, usando $FeCl_3$ (Sigma F7134) con concentraciones de hierro patrón que variaban de 0,1-1.000 μ mol/l. En las muestras desconocidas se usó una representación logística logarítmica de 3 ciclos de la densidad óptica del color del patrón de hierro frente a las concentraciones correspondientes para la estimación del hierro detectable por Bleomicina en suero.

Análisis estadístico

Los pacientes se dividieron en dos grupos. Los del grupo A padecían síndrome coronario agudo y los del grupo B padecían dolor torácico no cardíaco. Los controles consistían en 250 voluntarios asintomáticos con historial médico no significativo. Las comparaciones de los valores de hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero y troponina I en diversos grupos se realizaron mediante ensayo de la t para muestras independientes y análisis de varianza. Para reducir los efectos del sesgo en la distribución, se usaron valores logarítmicos transformados para el hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero y la troponina I

Para evaluar el papel de las mediciones del hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero en el diagnóstico de síndrome coronario agudo, se comparó la sensibilidad, la especificidad y la precisión de las mediciones del hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero en los diferentes grupos. Finalmente, se construyeron las curvas características operativas del receptor para ilustrar diversos valores límite del hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero.

Resultados

En la Tabla 1 se muestran las características basales y los perfiles de los factores de riesgo de los grupos estudiados. De los 178 pacientes que acudieron al servicio de urgencias con dolor torácico agudo, a 127 de ellos se les diagnosticó SCA basado en el electrocardiograma y a estimaciones de troponina I cardíaca en serie. 51 pacientes mostraron cambios ECG no específicos con troponina I negativa y se sometieron posteriormente a ensayos no invasivos para confirmar que su dolor torácico no era de origen cardíaco. Estos dos grupos A y B se compararon con 250 voluntarios asintomáticos normales que tenían la misma edad.

Entre los pacientes con síndrome coronario agudo, 61 (48,0 %) se presentaron a las 3 horas de la aparición del dolor torácico, 43 (33,9 %) pacientes se presentaron después de 4 - 12 horas de la aparición de los síntomas y 23 (18,1 %) se presentaron después de más de 12 horas de la aparición de los síntomas. En el momento de la presentación, 63 (49,6 %) pacientes presentaron confirmación de ECG de infarto de miocardio con elevación del ST, 64 (50,4 %) pacientes tuvieron una depresión significativa del segmento ST. (> 1 mm) y fueron positivos a troponina I en las estimaciones en serie.

En la Figura 1 se muestran diagramas de cajas de las mediciones basales de hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero en los tres grupos. Hubo una gran diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con SCA y los controles ($p < 0,0001^*$). La diferencia entre el síndrome coronario agudo y el dolor torácico no cardíaco también fue significativa ($p < 0,0001^*$). Los controles tuvieron un nivel medio (\pm ETM) de hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero de 0,1 + 0,06 μ mol/l que son similares a los datos previamente publicados en voluntarios sanos normales. Los pacientes con dolor torácico no cardíaco tuvieron niveles de hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero de 0,26 + 0,16 μ mol/l. Los pacientes con síndrome coronario agudo tuvieron una media basal de hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero de 1,55 + 2,02 μ mol/l independientemente del tiempo desde la aparición de los síntomas con respecto a la presentación clínica en el servicio de urgencias.

Los pacientes con síndrome coronario agudo que se presentaron a las 3 horas (Figura 2) después de la aparición del dolor torácico tuvieron una media basal sBDI de 1,82 + 1,71 μ mol/l. Este valor fue significativamente más alto que el de ambos controles y que el de los que presentaban dolor torácico no cardíaco. El nivel basal de troponina I

entre este subconjunto de pacientes fue de $0,6 + 0,8$ pg/l que también estaba dentro de los niveles de normalidad y por tanto no detectó pacientes con síndrome coronario agudo. Las estimaciones de troponina I en serie en este subconjunto mostraron un aumento significativo cuando se midieron 24 horas después de la presentación confirmando que estos pacientes padecían síndrome coronario agudo.

5 El valor basal del hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero fue el único indicador más preciso de un síndrome coronario agudo de alto riesgo en pacientes que presentaban dolor torácico en el servicio de urgencias. La posibilidad de medir el hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero para diferenciar el dolor torácico cardíaco del no cardíaco se evaluó usando un análisis de la curva característica operativa del receptor, Figura 3. El área bajo la curva se usó para diferenciar el síndrome coronario agudo del dolor torácico no cardíaco con una precisión de
10 diagnóstico del 92 % a un nivel de sBDI límite de $0,3 \mu\text{mol/l}$. A este nivel el valor predictivo negativo del ensayo fue del 93 % y una especificidad del 95 %.

Los desenlaces cardíacos adversos, incluyendo nueva insuficiencia cardíaca o empeoramiento de la insuficiencia cardíaca, choque cardiogénico, reinfarto, trombosis por endoprótesis vascular (stent) y muerte, se correlacionaron fuertemente con aumentos significativos en los niveles de hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero desde el inicio a 24 horas después de la presentación. Dicha correlación no se observó entre los desenlaces cardíacos
15 adversos y las estimaciones en serie de la troponina I, Figura 4. Una elevación en serie del análisis multivarianza del hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero a las 24 horas desde el inicio fue el único indicador significativo de desenlaces cardíacos adversos en pacientes con síndrome coronario agudo ($p < 0,02$ y razón de probabilidades de 1,20) Tabla 2.

20 **Análisis**

El ejemplo demuestra que la medición del Hierro Catalítico Detectable por Bleomicina en Suero en el momento de la presentación del dolor torácico proporciona información precisa para identificar pacientes de alto riesgo con síndrome coronario agudo, tan pronto como a las 3 horas de la aparición del dolor torácico. A pesar de la heterogeneidad en la presentación clínica y en el perfil de los factores de riesgo, los altos niveles basales de hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero fueron un indicador uniforme en la identificación de pacientes con
25 síndrome coronario agudo de alto riesgo que podrían beneficiarse de terapias tales como terapia antiplaquetaria precoz, reperfusión y revascularización. Esto se diferenciaba de la medición de Troponina I que no pudo aislar los pacientes de alto riesgo que se presentaron en el servicio de urgencias a las 3 horas después de la aparición del dolor torácico. Las estimaciones basales, normales, del hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero, también
30 identificaron con precisión a pacientes con dolor torácico no cardíaco de bajo riesgo.

El aumento del hierro catalítico detectable por Bleomicina en suero a las 24 horas desde el valor basal fue predictivo de un riesgo aumentado de acontecimientos cardíacos adversos definidos como nueva insuficiencia cardíaca o empeoramiento de la insuficiencia cardíaca, choque cardiogénico, reinfarto, trombosis por endoprótesis vascular (stent) y mortalidad en pacientes con síndrome coronario agudo y esta relación fue independiente de los niveles de troponina I. Se han usado diversos marcadores para predecir desenlaces cardíacos adversos en pacientes que presentaban síndrome coronario agudo. El péptido natriurético tipo B medido en los primeros días después de un acontecimiento coronario agudo predice con precisión acontecimientos letales y no letales a lo largo de todo el espectro del síndrome coronario agudo. El estudio pudo identificar una fuerte correlación entre elevaciones en serie en mediciones de sBDI y acontecimientos cardíacos adversos a los 30 días.

40 **Tabla 1. Características clínicas basales de los tres grupos estudiados, rasgos clínicos y desenlaces cardíacos adversos en el grupo con síndrome coronario agudo.**

Características	Grupo A	Grupo B	Control
Nº de pacientes	127	51	250
Edad (años)	$59,1 \pm 10,8$	$51,7 \pm 12,9$	$51,1 \pm 10,4$
Sexo masculino (%)	78	51	82
Historial médico Nº (%)			
Hipertensión	79(62)	19(38)	25(10)
Diabetes	58(46)	12(24)	16(7)
Tabaquismo	23(18)	13(25)	21 (8)
Hiperlipidemia	65(51)	16(30)	85 (34)
Presión sanguínea sistólica	$119,8 \pm 22,5$	$139,1 \pm 28,3$	$130,4 \pm 15,6$

IM con elevación del ST	63(49)	NA	NA
IM sin elevación del ST	64(51)	NA	NA
FE %	43±18	56±5	NA
Tiempo de presentación			
Menos de 3 horas	61 (41)	NA	NA
De 4 a 12 horas	43 (34)	NA	NA
Más de 12 horas	23 (18)	NA	NA
Acontecimientos cardíacos adversos			
Mortalidad	8	NA	NA
Reinfarto	16	NA	NA
Trombosis por endoprótesis vascular (stent)	8	NA	NA
Insuficiencia cardíaca	17	NA	NA
Combinado	17	NA	NA
Observación: NA=no aplicable, los números indicados entre paréntesis son porcentajes Grupo A=síndrome coronario agudo; Grupo B=dolor torácico no cardíaco			

Tabla 2. Análisis de regresión logística múltiple para indicadores de desenlaces cardíacos adversos en pacientes con síndrome coronario agudo

Indicador	Valor de p	Razón de probabilidades (IC del 95 %)*
Edad	0,91	1,00 (0,94-1,06)
Diabetes	0,23	0,48 (0,15-1,60)
Insuficiencia cardíaca	0,44	0,49, (0,78-3,06)
Fracción de eyección	0,97	1,00 (0,92-1,09)
Elevación del ST en el ECG	0,44	0,62 (0,18-2,08)
SBP basal	0,54	1,00 (0,98-1,03)
Cambio en Troponina I	0,60	1,01 (0,96-1,07)
Cambio en sBDI	0,02	1,20 (1,03-1,40)
* La razón de probabilidades refleja las probabilidades de los pacientes con la característica en cuestión en comparación con aquellos sin la característica. La razón de probabilidades para la edad representa el exponente por cada año de edad en la ecuación logística. IC significa intervalo de confianza.		

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un procedimiento para detectar un síndrome coronario agudo en un sujeto humano, que comprende medir el hierro catalítico y/o el hierro detectable por Bleomicina en una muestra de ensayo procedente de un fluido biológico del sujeto humano, en el que el fluido biológico se selecciona del grupo que comprende sangre, suero y plasma, y en el que un aumento del hierro catalítico y/o del hierro detectable por Bleomicina en la muestra de ensayo comparado con una cantidad predeterminada de hierro catalítico y/o de hierro detectable por Bleomicina detecta un síndrome coronario agudo en el sujeto humano.
- 10 2. El procedimiento como se reivindica en la reivindicación 1, en el que la cantidad predeterminada de hierro catalítico o de hierro detectable por Bleomicina es de al menos aproximadamente 0,3 μ mol/l.
3. El procedimiento como se reivindica en la reivindicación 1, en el que la muestra de ensayo se obtiene aproximadamente en las tres primeras horas después de la aparición de un dolor torácico en el sujeto humano.
4. Un procedimiento que comprende las etapas de:
 - 15 a) medir el hierro catalítico o el hierro detectable por Bleomicina en una primera muestra de ensayo procedente de un fluido biológico de un sujeto humano, seleccionándose el fluido biológico del grupo que comprende sangre, suero y plasma;
 - 20 b) medir el hierro catalítico o el hierro detectable por Bleomicina en una segunda muestra de ensayo procedente del fluido biológico del sujeto humano, en el que la segunda muestra de ensayo se obtiene del sujeto humano en un momento posterior a la primera muestra de ensayo y en el que un aumento del hierro catalítico del hierro detectable por Bleomicina en la segunda muestra de ensayo comparada con la primera muestra de ensayo predice un desenlace cardíaco adverso para un sujeto humano o identifica un sujeto humano que padece un síndrome coronario agudo.
5. El procedimiento como se reivindica en la reivindicación 4, en el que el desenlace cardíaco adverso que se predice comprende uno o más de insuficiencia cardíaca, empeoramiento de la insuficiencia cardíaca, reinfarto, trombosis por endoprótesis vascular (stent) y muerte.
- 25 6. El procedimiento como se reivindica en la reivindicación 4, en el que la segunda muestra de ensayo se obtiene del sujeto humano aproximadamente 24 horas después de haber obtenido la primera muestra de ensayo del sujeto humano.
7. El procedimiento como se reivindica en la reivindicación 4, en el que el aumento del hierro catalítico o del hierro detectable por Bleomicina en la segunda muestra de ensayo comparada con la primera muestra de ensayo es un aumento de al menos 2,5 μ mol/l.
- 30 8. El procedimiento como se reivindica en la reivindicación 1 o 4, en el que la muestra de ensayo se obtiene de un sujeto humano del que se sospecha que padece una enfermedad coronaria aguda.
9. El procedimiento como se reivindica en la reivindicación 4, en el que la primera muestra de ensayo se obtiene del sujeto humano aproximadamente de 0 a 6 horas después de la aparición de dolor torácico en el sujeto humano; o la primera muestra de ensayo se obtiene del sujeto humano aproximadamente 24 horas después de la aparición de dolor torácico en el sujeto humano.
- 35 10. Un procedimiento para diferenciar dolor torácico correspondiente a síndrome coronario agudo de dolor torácico no cardíaco en un sujeto humano que comprende la etapa de medir el hierro catalítico y/o el hierro detectable por Bleomicina en una muestra de ensayo de suero del sujeto humano, en el que un aumento del hierro catalítico y/o del hierro detectable por Bleomicina en la muestra de ensayo comparado con una cantidad predeterminada de hierro catalítico y/o de hierro detectable por Bleomicina indica que el sujeto humano padece dolor torácico correspondiente a un síndrome coronario agudo en lugar de a dolor torácico no cardíaco.
- 40 11. El uso de un ensayo de hierro catalítico o ensayo de hierro detectable por Bleomicina para detectar síndrome coronario agudo en un sujeto humano analizando una cantidad de hierro catalítico y/o de hierro detectable por Bleomicina en una muestra de sangre, suero o plasma del sujeto humano, en el que un aumento del hierro catalítico o del hierro detectable por Bleomicina en la muestra comparado con un hierro catalítico o hierro detectable por Bleomicina predeterminados detecta un síndrome coronario agudo en el sujeto humano.
- 45 12. El uso como se reivindica en la reivindicación 11, en el que dicha muestra procede de una muestra de sangre tomada del sujeto humano al menos aproximadamente de 0 a 6 horas a partir de la aparición del dolor torácico.
- 50 13. Uso de un ensayo de hierro catalítico y/o de un ensayo de hierro detectable por Bleomicina para predecir uno o más desenlaces cardíacos adversos en un sujeto humano que padece un síndrome coronario agudo, midiendo el hierro catalítico y/o el hierro detectable por Bleomicina en la muestra de sangre, suero o plasma del sujeto humano, en el que un aumento del hierro catalítico y/o del hierro detectable por Bleomicina en la muestra comparado con una muestra predeterminada predice uno o más desenlaces cardíacos adversos en el sujeto humano.

14. El uso como se reivindica en la reivindicación 13, en el que dicha muestra de sangre, suero o plasma procede de una muestra de sangre tomada del sujeto humano después de la detección de un síndrome coronario agudo por criterios clínicos, tales como dolor torácico.

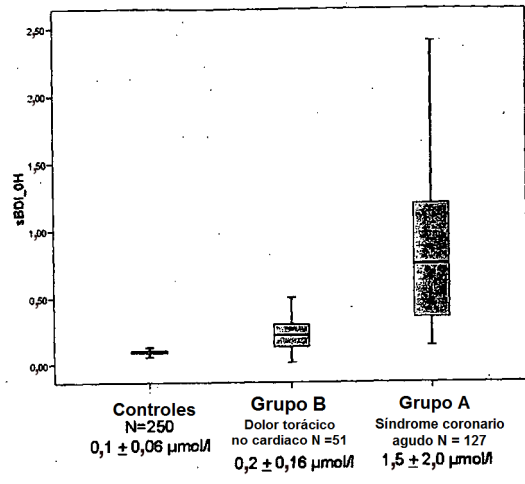


FIG. 1

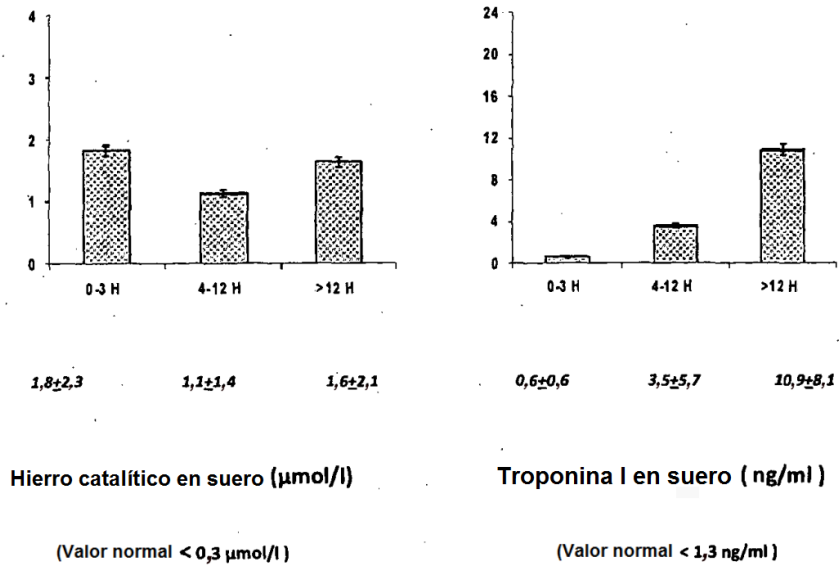
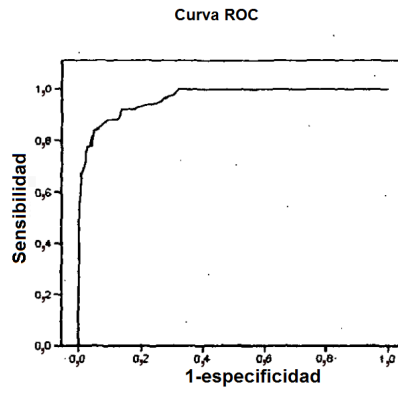


FIG. 2



sBDI (Unidades)	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo	Precisión
0,10	100 (100-100)	44 (39-48)	53 (48-58)	100 (100-100)	66 (61-70)
0,20	93 (90-95)	88 (85-91)	77 (73-81)	97 (95-98)	90 (87-93)
0,30	84 (81-88)	95 (93-97)	87 (84-90)	93 (91-96)	92 (89-94)
0,40	75 (71-79)	98 (96-99)	93 (91-96)	90 (87-93)	91 (88-94)
0,50	67 (62-71)	99 (98-100)	97 (95-98)	88 (85-91)	89 (87-92)
0,60	61 (57-66)	99 (99-100)	98 (96-99)	86 (83-89)	88 (85-91)

FIG. 3

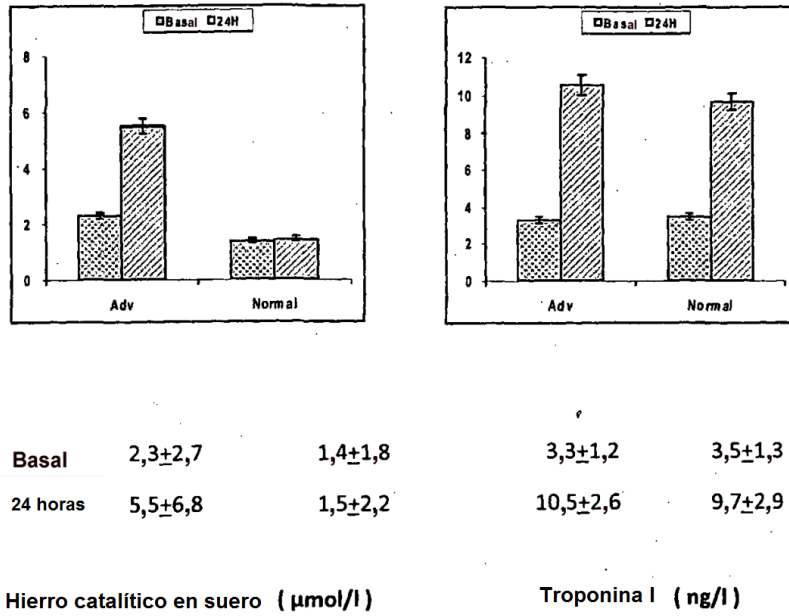


FIG. 4