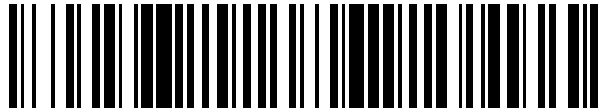


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 431 358**

51 Int. Cl.:

G01N 33/74 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.11.2009 E 09764179 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2013 EP 2347266**

54 Título: **Pronóstico y evaluación del riesgo en pacientes que padecen insuficiencia cardíaca mediante la determinación de la concentración de ADM**

30 Prioridad:

11.11.2008 EP 08168816
12.11.2008 US 113649 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.11.2013

73 Titular/es:

B.R.A.H.M.S GMBH (100.0%)
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, DE

72 Inventor/es:

BERGMANN, ANDREAS y
HARTMANN, OLIVER

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 431 358 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

Pronóstico y evaluación del riesgo en pacientes que padecen insuficiencia cardíaca mediante la determinación de la concentración de ADM.

5

Campo de la invención

La presente invención pertenece al sector del diagnóstico clínico. En particular, la presente invención se refiere al pronóstico de un resultado a corto plazo en pacientes que padecen insuficiencia cardíaca mediante la determinación de la concentración de péptido marcador ADM.

10

Antecedentes de la invención

La insuficiencia cardíaca es una afección cardíaca que se produce cuando un problema en la estructura o el funcionamiento del corazón dificulta su capacidad de suministrar un flujo sanguíneo suficiente para satisfacer las necesidades del organismo. Puede causar una gran variedad de síntomas, especialmente disnea e hinchazón de los tobillos, aunque algunos pacientes pueden no presentar ningún síntoma. A menudo la insuficiencia cardíaca no se diagnostica debido a la falta de una definición universalmente aceptada y a las dificultades de alcanzar un diagnóstico definitivo, particularmente en la etapa temprana. Con la terapia adecuada, la insuficiencia cardíaca se puede controlar en la mayoría de los pacientes, pero es una afección potencialmente mortal, y la enfermedad progresiva se asocia con una mortalidad anual del 10%. Es la principal causa de hospitalización en personas mayores de 65 años.

15

20

En este sentido, Von Haehling y otros han dado a conocer el MR-proADM y el NT-proBNP como marcadores pronósticos independientes para la insuficiencia cardíaca congestiva en cuanto al pronóstico a largo plazo ("Mid-regional pro-adrenomedullin as a novel and prognostic marker in chronic heart failure (CHF), European Heart Journal, vol. 27, supl. 1, agosto de 2006, p. 16, XP002569337; véase también el Congreso Mundial de Cardiología, Barcelona, España, del 2 de septiembre de 2006, ISSN: 0195-668X).

25

Sin embargo, los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que la determinación de la concentración de adrenomedulina (ADM) o fragmentos de la misma o sus precursores o fragmentos de los mismos se puede correlacionar de forma fiable con el pronóstico a corto plazo de hasta 90 días de un resultado para pacientes que padecen insuficiencia cardíaca y/o disnea, y además se puede correlacionar de forma fiable con la estratificación en grupos de riesgo de los respectivos pacientes.

30

35

Descripción de la invención

Un objetivo de la presente invención consiste en dar a conocer un procedimiento para el pronóstico de un resultado tras un período de hasta 90 días en un paciente que padece insuficiencia cardíaca y/o disnea, que comprende las siguientes etapas:

40

- a) proporcionar una muestra obtenida de dicho paciente,
- b) determinar la concentración de adrenomedulina (ADM) o fragmentos de la misma o su precursor o fragmentos del mismo en dicha muestra, presentando dichos fragmentos, por lo menos, seis aminoácidos de longitud,
- c) correlacionar dicha concentración con dicho pronóstico.

45

En otra forma de realización, la presente invención da a conocer un procedimiento para el pronóstico de un resultado tras un período de hasta 90 días en un paciente que padece insuficiencia cardíaca y/o disnea, en el que se determina la concentración de troponina además de la de adrenomedulina (ADM) o fragmentos de la misma o su precursor o fragmentos del mismo, tal como se ha especificado anteriormente en las etapas a) a c).

50

En otra forma de realización de la presente invención, dicho resultado se refiere a la supervivencia y/o a un resultado funcional.

55

En otra forma de realización, la presente invención da a conocer un procedimiento para el pronóstico de un resultado tras un período de hasta 90 días en un paciente que padece insuficiencia cardíaca y/o disnea según las etapas a) a c), en el que se predice el resultado tras 3 días, 5 días, 10 días, 14 días, 20 días, 3 semanas, 4 semanas, 30 días, preferentemente 30 días.

60

En otra forma de realización, la presente invención da a conocer un procedimiento para la estratificación de un paciente en grupos de riesgo, en el que dicho paciente padece insuficiencia cardíaca y/o disnea, y en el que dicho procedimiento comprende las etapas a) a c) descritas anteriormente.

65

En otra forma de realización, la presente invención da a conocer un procedimiento para el pronóstico de un resultado tras un período de hasta 90 días en un paciente que padece insuficiencia cardíaca y/o disnea según las etapas a) a c), en el que se la adrenomedulina (ADM) o fragmentos de la misma o su precursor o fragmentos del mismo es MR-proADM.

5 En otra forma de realización de la presente invención, dicho resultado se refiere a la supervivencia.

En otra forma de realización de la presente invención, dicho resultado funcional se determina como clasificación o grado de gravedad del resultado.

10 En otra forma de realización, la presente invención da a conocer un procedimiento para el pronóstico de un resultado tras un período de hasta 90 días en un paciente que padece insuficiencia cardíaca y/o disnea según las etapas a) a c), en el que además se determina, por lo menos, un parámetro clínico seleccionado de entre el grupo que comprende: edad, sexo, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, tratamiento antihipertensivo, índice de masa corporal, frecuencia cardíaca, temperatura, presencia de diabetes mellitus, hábitos de tabaquismo actuales.

15 También se da a conocer un procedimiento para el pronóstico de un resultado tras un período de hasta 90 días en un paciente que padece insuficiencia cardíaca y/o disnea, según las etapas a) a c), en el que además se determina, por lo menos, otro parámetro analítico seleccionado de entre el grupo que comprende troponina, mieloperoxidasa, CRP, neopterinina, GDF-15, ST2, cistatina C, así como los siguientes péptidos en forma de sus péptidos maduros, precursores, prohormonas y fragmentos de prohormona asociados: péptido natriurético auricular, endotelinas, vasopresina.

20 En otra forma de realización, la presente invención da a conocer la utilización de los procedimientos descritos anteriormente para el seguimiento de la terapia en un paciente que padece insuficiencia cardíaca y/o disnea.

25 En el presente documento, insuficiencia cardíaca se refiere preferentemente a la insuficiencia cardíaca congestiva (ICC). Dicha insuficiencia cardíaca puede ser preferentemente una insuficiencia cardíaca aguda (ICA).

30 En esta forma de realización particular, resulta preferente predecir el resultado a corto plazo, es decir, el resultado dentro de un período o después de un período de 45 días, 40 días, 35 días, 30 días, 25 días, 20 días, 15 días, 10 días o 5 días, preferentemente después de 30 días. En otra forma de realización preferente de la presente invención, el resultado después de un periodo de hasta 90 días se predice mediante el pronóstico a corto plazo según la presente invención.

35 La presente invención también se refiere a la utilización de los procedimientos descritos para el pronóstico a corto plazo de un resultado después de hasta 90 días en un paciente que padece insuficiencia cardíaca y/o disnea. Además, la presente invención se refiere a la utilización de los procedimientos para el seguimiento de la terapia en un paciente que padece insuficiencia cardíaca y/o disnea.

40 Las concentraciones de los marcadores, tal como se obtienen mediante los procedimientos o la utilización de los mismos según la presente invención, se pueden analizar de diversas maneras bien conocidas por el experto en la materia. Por ejemplo, cada resultado de ensayo obtenido se puede comparar con un valor "normal", o con un valor que indica una determinada enfermedad o un determinado resultado. El pronóstico particular puede depender de la comparación de cada resultado de ensayo con un valor de este tipo, que se puede denominar "umbral" de pronóstico. En determinadas formas de realización, los ensayos para uno o más indicadores de pronóstico se correlacionan con una afección o enfermedad simplemente por la presencia o ausencia del indicador o indicadores en el ensayo. Por ejemplo, se puede diseñar un ensayo de tal modo que se produzca una señal positiva únicamente por encima de una determinada concentración umbral de interés, y por debajo de la cual el ensayo no proporciona ninguna señal por encima del fondo.

45 La sensibilidad y la especificidad de un ensayo de pronóstico dependen no sólo de la "calidad" analítica del ensayo, sino también de la definición de qué constituye un resultado anormal. En la práctica, habitualmente se calculan curvas "Receiver Operating Characteristic" (curvas ROC) representando el valor de una variable en función de su frecuencia relativa en poblaciones "normales" (es decir, aparentemente sanas) y "enfermas". Para un determinado marcador, es probable que la distribución de las concentraciones de marcador para los individuos que presentan una enfermedad y los individuos que no la presentan se superpongan. En estas condiciones, un ensayo no distingue de forma absoluta el estado normal de la enfermedad con un 100% de precisión, y el área de superposición indica en qué zona dicho ensayo es incapaz de distinguir el estado normal de la enfermedad. Se selecciona un umbral por encima del cual (o por debajo del cual, dependiendo de cómo cambia un determinado marcador con la enfermedad) se considera que el ensayo es anormal y por debajo del cual se considera normal. El área por debajo de la curva ROC es una medida de la probabilidad de que la medición percibida permitirá la correcta identificación de una afección. Las curvas ROC se pueden utilizar incluso si los resultados de los ensayos no proporcionan necesariamente un número preciso. Mientras se puedan clasificar los resultados, se puede crear una curva ROC.

50 Por ejemplo, los resultados de un ensayo en muestras "enfermas" obtenidas de un paciente se pueden clasificar según el grado (por ejemplo, 1 = bajo, 2 = normal, y 3 = alto). Esta clasificación se puede correlacionar con los

5 resultados de la población "normal" y obtenerse una curva ROC. Estos procedimientos son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Hanley y otros, 1982, Radiology 143: 29-36. Preferentemente, se selecciona un umbral con el fin de obtener un área de la curva ROC mayor de aproximadamente 0,5, más preferentemente mayor de aproximadamente 0,7, aún más preferentemente mayor de aproximadamente 0,8, todavía más preferentemente mayor de aproximadamente 0,85, y de la forma más preferente mayor de aproximadamente 0,9. En este contexto, el término "aproximadamente" se refiere a +/- 5% de una determinada medición.

10 El eje horizontal de la curva ROC representa el valor (1 - especificidad), que aumenta con la proporción de falsos positivos. El eje vertical de la curva representa la sensibilidad, que aumenta con la tasa de verdaderos positivos. Por consiguiente, se puede determinar el valor de (1 - especificidad) para un corte particular seleccionado y se puede obtener la sensibilidad correspondiente. El área por debajo de la curva ROC es una medida de la probabilidad de que la concentración de marcador medida permita la correcta identificación de una enfermedad o afección. Por consiguiente, el área por debajo de la curva ROC se puede utilizar para determinar la eficacia del ensayo.

15 En determinadas formas de realización, los umbrales particulares para uno o más marcadores en un panel no se utilizan para determinar si el perfil obtenido de concentraciones de marcador en un individuo son indicativos de un determinado pronóstico. Más bien, la presente invención puede utilizar la evaluación de un "perfil" de panel de marcadores como un todo unitario. En efecto, un patrón particular de "huella digital" de cambios en dicho panel de marcadores puede actuar como indicador de pronóstico específico. Tal como se describe en el presente documento, dicho patrón de cambios se puede obtener a partir de una sola muestra o de cambios temporales en uno o más miembros del panel (o un valor de respuesta del panel). En este contexto, el término "panel" se refiere a un conjunto de marcadores.

25 Tal como se describe a continuación, un valor de respuesta del panel se determina preferentemente representando curvas ROC para la sensibilidad (es decir, los verdaderos positivos) de un determinado panel de marcadores en función de 1 - (especificidad) (es decir, los falsos positivos) para el panel en diversos cortes. En estos procedimientos, un perfil de mediciones de marcadores en un individuo se considera en su conjunto a fin de obtener una probabilidad global (expresada como una puntuación numérica o como un porcentaje de riesgo) de pronóstico. En dichas formas de realización, un aumento en un determinado subconjunto de los marcadores puede ser suficiente para indicar un determinado pronóstico en una muestra obtenida de un paciente, mientras que un aumento en un subconjunto diferente de los marcadores puede ser suficiente para indicar el mismo u otro pronóstico en una muestra obtenida de otro paciente. También pueden aplicarse factores de ponderación a uno o más marcadores de un panel; por ejemplo, cuando un marcador tiene una utilidad particularmente alta en la identificación de un determinado pronóstico, se puede ponderar de tal modo que una determinada concentración resulta suficiente por sí sola para indicar un resultado positivo. Análogamente, un factor de ponderación puede disponer que no hay ninguna concentración de ningún marcador determinado que sea suficiente para indicar un resultado positivo, sino que únicamente indica un resultado cuando otro marcador contribuye también al análisis.

40 En determinadas formas de realización, los marcadores y/o paneles de marcadores se seleccionan de modo que exhiban, por lo menos, una sensibilidad de aproximadamente el 70%, más preferentemente, por lo menos, una sensibilidad de aproximadamente el 80%, aún más preferentemente, por lo menos, una sensibilidad de aproximadamente el 85%, todavía más preferentemente, por lo menos, una sensibilidad de aproximadamente el 90%, y de la forma más preferente, por lo menos, una sensibilidad de aproximadamente el 95% en combinación con por lo menos una especificidad de aproximadamente por lo menos el 70%, más preferentemente de aproximadamente por lo menos una especificidad del 80%, incluso más preferentemente de aproximadamente por lo menos una especificidad del 85%, aún más preferentemente de aproximadamente por lo menos una especificidad del 90%, y más preferentemente de aproximadamente por lo menos una especificidad del 95%. En unas formas de realización particularmente preferentes, la sensibilidad y la especificidad son, por lo menos, de aproximadamente el 75%, más preferentemente, por lo menos, de aproximadamente el 80%, aún más preferentemente, por lo menos, de aproximadamente el 85%, todavía más preferentemente, por lo menos, de aproximadamente el 90%, y de la forma más preferente, por lo menos, de aproximadamente el 95%. En este contexto, el término "aproximadamente" se refiere a +/- 5% de una determinada medición.

55 En otras formas de realización, se utiliza un cociente de probabilidad positiva, un cociente de probabilidad negativa, un cociente de probabilidades o un cociente de riesgos como medida de la capacidad de un ensayo para predecir el riesgo o diagnosticar una enfermedad. En caso de utilizar un cociente de probabilidad positivo, un valor de 1 indica que es igualmente probable un resultado positivo entre los individuos del grupo de "enfermos" y del grupo de "control"; un valor mayor de 1 indica que es más probable un resultado positivo en el grupo de enfermos; y un valor menor de 1 indica que es más probable un resultado positivo en el grupo de control. En caso de utilizar un cociente de probabilidad negativo, un valor de 1 indica que es igualmente probable un resultado negativo entre los individuos del grupo de "enfermos" y del grupo de "control"; un valor mayor de 1 indica que es más probable un resultado negativo en el grupo de ensayo; y un valor menor de 1 indica que es más probable un resultado negativo en el grupo de control. En algunas formas de realización preferentes, se seleccionan preferentemente marcadores y/o paneles de marcadores que exhiban un cociente de probabilidad positiva o negativa de, por lo menos, aproximadamente 1,5 o mayor, o de aproximadamente 0,67 o menor, más preferentemente de, por lo menos, aproximadamente 2 o mayor, o de aproximadamente 0,5 o menor, aún más preferentemente de, por lo menos, aproximadamente 5 o mayor, o de

aproximadamente 0,2 o menor, todavía más preferentemente de, por lo menos, aproximadamente 10 o mayor, o de aproximadamente 0,1 o menor, y de la forma más preferente de, por lo menos, aproximadamente 20 o mayor, o de aproximadamente 0,05 o menor. En este contexto, el término "aproximadamente" se refiere a +/- 5% de una determinada medición.

5 En caso de utilizar un cociente de posibilidades, un valor de 1 indica que es igualmente probable un resultado positivo entre los individuos del grupo de "enfermos" y del grupo de "control"; un valor mayor de 1 indica que es más probable un resultado positivo en el grupo de enfermos; y un valor menor de 1 indica que es más probable un resultado positivo en el grupo de control. En algunas formas de realización preferentes, se seleccionan preferentemente marcadores y/o paneles de marcadores que exhiban un cociente de posibilidades de, por lo menos, aproximadamente 2 o mayor, o de aproximadamente 0,5 o menor, más preferentemente de, por lo menos, aproximadamente 3 o mayor, o de aproximadamente 0,33 o menor, aún más preferentemente de, por lo menos, aproximadamente 4 o mayor, o de aproximadamente 0,25 o menor, todavía más preferentemente de, por lo menos, aproximadamente 5 o mayor, o de aproximadamente 0,2 o menor, y de la forma más preferente de, por lo menos, aproximadamente 10 o mayor, o de aproximadamente 0,1 o menor. En este contexto, el término "aproximadamente" se refiere a +/- 5% de una determinada medición.

20 En caso de utilizar un cociente de riesgos, un valor de 1 indica que el riesgo relativo de un punto final (por ejemplo, la muerte) es igual en el grupo de "enfermos" y el grupo de "control"; un valor mayor de 1 indica que el riesgo es mayor en el grupo de enfermos; y un valor menor de 1 indica que el riesgo es mayor en el grupo de control. En algunas formas de realización preferentes, se seleccionan preferentemente marcadores y/o paneles de marcadores que exhiban un cociente de riesgos de, por lo menos, aproximadamente 1,1 o mayor, o de aproximadamente 0,91 o menor, más preferentemente de, por lo menos, aproximadamente 1,25 o mayor, o de aproximadamente 0,8 o menor, aún más preferentemente de, por lo menos, aproximadamente 1,5 o mayor, o de aproximadamente 0,67 o menor, todavía más preferentemente de, por lo menos, aproximadamente 2 o mayor, o de aproximadamente 0,5 o menor, y de la forma más preferente de, por lo menos, aproximadamente 2,5 o mayor, o de aproximadamente 0,4 o menor. En este contexto, el término "aproximadamente" se refiere a +/- 5% de una determinada medición.

30 El experto en la materia entenderá que la asociación de un indicador de pronóstico con un riesgo pronóstico de un resultado clínico futuro es un análisis estadístico. Por ejemplo, una concentración de marcador mayor de X puede indicar que es más probable que un paciente sufra un resultado adverso que los pacientes con una concentración menor o igual a X, según lo determinado por un nivel de significación estadística. Además, un cambio en la concentración de marcador con respecto a las concentraciones basales puede reflejar un pronóstico del paciente, y el grado de cambio en la concentración de marcador puede estar relacionado con la gravedad de los acontecimientos adversos. La significación estadística se determina con frecuencia comparando dos o más poblaciones y determinando un intervalo de confianza y/o un valor de p. Véase, por ejemplo, Dowdy y Warden, Statistics for Research, John Wiley & Sons, Nueva York, 1983. Los intervalos de confianza preferentes en la presente invención son del 90%, 95%, 97,5%, 98%, 99%, 99,5%, 99,9% y 99,99%, mientras que los valores p preferentes son 0,1, 0,05, 0,025, 0,02, 0,01, 0,005, 0,001 y 0,0001.

40 En otras formas de realización, se pueden llevar a cabo múltiples determinaciones de marcadores de pronóstico y se puede utilizar un cambio temporal en el marcador para determinar un pronóstico. Por ejemplo, una concentración de marcador en una muestra obtenida de un individuo se puede determinar en un instante inicial, y de nuevo en un segundo instante a partir de una segunda muestra obtenida de un individuo. En dichas formas de realización, un aumento del marcador entre el instante inicial y el segundo instante puede ser indicativo de un determinado pronóstico. Análogamente, una disminución del marcador entre el instante inicial y el segundo instante puede ser indicativa de un determinado pronóstico.

50 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "muestra" se refiere a una muestra de fluido corporal obtenida de un individuo o paciente con el propósito de llevar a cabo un pronóstico o la evaluación del individuo de interés, tal como un paciente. Entre las muestras de ensayo preferentes obtenidas del individuo/paciente se incluyen la sangre, el suero, el plasma, el líquido cefalorraquídeo, la orina, la saliva, el esputo y los derrames pleurales. Además, el experto en la materia será consciente de que algunas muestras de ensayo obtenidas del individuo/paciente serían más fáciles de analizar por un procedimiento de fraccionamiento o purificación, por ejemplo, la separación de sangre completa en sus componentes de suero o plasma.

60 Por consiguiente, en una realización preferente de la presente invención, la muestra obtenida del individuo/paciente se selecciona entre el grupo que comprende una muestra de sangre, una muestra de suero, una muestra de plasma, una muestra de líquido cefalorraquídeo, una muestra de saliva y una muestra de orina, o un extracto de cualquiera de las muestras mencionadas anteriormente. Preferentemente, la muestra obtenida del individuo/paciente es una muestra de sangre, y de la forma más preferente una muestra de suero o de plasma.

65 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "paciente" se refiere a un organismo vivo humano o no humano que recibe atención médica, o debería recibirla, debido a una enfermedad. Esto incluye a las personas que no tienen una enfermedad definida pero que se están examinando en busca de signos patológicos. Por

consiguiente, los procedimientos y ensayos descritos se pueden aplicar in vitro a una enfermedad humana o veterinaria.

5 Tal como se utiliza en la presente memoria en referencia a la utilización de marcadores de pronóstico, el término "correlacionar" se refiere a comparar la presencia o cantidad del marcador o marcadores en las muestras obtenidas de un paciente con su presencia o cantidad en personas de las que se sabe que padecen una determinada afección o presentan riesgo de padecerla; o en personas de las que se sabe que no padecen una determinada afección. Tal como se ha descrito anteriormente, la concentración de marcador en una muestra obtenida de un paciente se puede comparar con una concentración de la que se sabe que está asociada con un determinado diagnóstico. En las formas de realización preferentes, un panel de concentraciones de marcadores se correlaciona con una probabilidad global o con un resultado en particular.

15 En el contexto de la presente invención, la abreviatura ADM se refiere a adrenomedulina o fragmentos de la misma o sus precursores o fragmentos de los mismos. Un fragmento preferente de un precursor de ADM es la proADM de región media (MR-proADM). El MR-proADM24-71 (o MR-preproADM45-92) es un péptido marcador particularmente preferente en el contexto de la presente invención.

20 El término "fragmentos" de los péptidos marcadores se refiere a fragmentos de, por lo menos, 12 aminoácidos de longitud, preferentemente de, por lo menos, seis residuos de aminoácidos de longitud.

En el contexto de la presente invención, el término "concentración" se refiere a la concentración (preferentemente expresada como peso/volumen; p/v) de péptidos marcadores en una muestra obtenida de un paciente.

25 En el presente documento, el término "resultado" se refiere, por ejemplo, a la supervivencia del paciente tras un determinado período, por ejemplo, después de 3 días, 5 días, 10 días, 14 días, 20 días, 3 semanas, 4 semanas, 30 días, 45 días, 60 días, 90 días, preferentemente 30 días.

30 En el contexto de la presente invención, el término "resultado funcional" se refiere al grado de gravedad de la enfermedad, es decir, al estado de salud del paciente tras un determinado período, por ejemplo de 3 días, 5 días, 10 días, 14 días, 20 días, 3 semanas, 4 semanas, 30 días, 45 días, 60 días, 90 días, preferentemente 30 días.

35 En el presente documento, la determinación (o medición o detección) de la concentración de un péptido marcador se lleva a cabo mediante un procedimiento de detección y/o un ensayo diagnóstico, tal como se describe a continuación.

40 Tal como se ha mencionado en el presente documento, un "ensayo" o "ensayo diagnóstico" puede ser cualquier tipo de ensayo aplicado en el campo del diagnóstico. Dicho ensayo se puede basar en la unión del analito que se pretende detectar a una o más sondas de captura con una determinada afinidad. En cuanto a la interacción entre las moléculas de captura y las moléculas diana o moléculas de interés, la constante de afinidad es preferentemente mayor de $10^8 M^{-1}$.

45 En el contexto de la presente invención, las "moléculas de captura" son moléculas que se pueden utilizar para unir moléculas diana o moléculas de interés, es decir, analitos (es decir, en el contexto de la presente invención, el péptido o péptidos cardiovasculares), a partir de una muestra. De este modo, las moléculas de captura deben estar adecuadamente conformadas, tanto espacialmente como en sus características de superficie, tales como su carga de superficie, su hidrofobia, su hidrofilia o la presencia o ausencia de donantes y/o aceptores de Lewis, a fin de que se unan específicamente a las moléculas diana o moléculas de interés. La unión puede darse, por ejemplo, a través de interacciones iónicas, de Van der Waals, pi-pi, sigma-pi, hidrófobas o por puente de hidrógeno, o mediante una combinación de dichas interacciones, entre las moléculas de captura y las moléculas diana o moléculas de interés.

50 En el contexto de la presente invención, las moléculas de captura se pueden seleccionar, por ejemplo, entre el grupo que comprende una molécula de ácido nucleico, una molécula de carbohidrato, una molécula de ARN, una proteína, un anticuerpo, un péptido o una glicoproteína. Preferentemente, las moléculas de captura son anticuerpos, incluidos los fragmentos de los mismos con suficiente afinidad por una molécula diana o molécula de interés, e incluyéndose anticuerpos recombinantes o fragmentos de anticuerpos recombinantes, así como derivados químicamente y/o bioquímicamente modificados de dichos anticuerpos o fragmentos, derivados de la cadena variante con una longitud, por lo menos, de 12 aminoácidos de la misma, preferentemente, por lo menos, de seis aminoácidos de la misma.

60 Entre los procedimientos de detección preferentes se incluyen inmunoensayos en diversos formatos, tales como, por ejemplo, radioinmunoensayo (RIA), inmunoensayos de quimioluminiscencia y fluorescencia, ensayos de inmunoabsorción enzimática (ELISA), matrices de microesferas basadas en Luminex, ensayos de micromatrices de proteínas y formatos de pruebas rápidas, tales como, por ejemplo, ensayos de tira inmunocromatográfica.

65 Los ensayos pueden ser ensayos homogéneos o heterogéneos, ensayos de sándwich competitivos y no competitivos. En una realización particularmente preferente, el ensayo es un ensayo de tipo sándwich, que es un inmunoensayo no competitivo, en el que la molécula que se debe detectar y/o cuantificar está unida a un primer

anticuerpo y a un segundo anticuerpo. El primer anticuerpo puede estar unido a una fase sólida, por ejemplo, una microesfera, una superficie de un pocillo u otro recipiente, un chip o una tira, y el segundo anticuerpo es un anticuerpo que está marcado, por ejemplo con un colorante, con un radioisótopo, o un resto reactivo o catalíticamente activo. A continuación, se mide la cantidad de anticuerpo marcado que se une al analito por un procedimiento apropiado. La composición general y los procedimientos implicados en "ensayos de tipo sándwich" están bien establecidos y son conocidos por el experto en la materia. (The Immunoassay Handbook, Ed. David Wild, Elsevier LTD, Oxford; 3ª ed. (mayo de 2005), ISBN-13: 978-0080445267; Hultschig C y otros, Curr Opin Chem Biol., febrero de 2006;10(1):4-10. PMID: 16376134).

En una forma de realización particularmente preferente, el ensayo comprende dos moléculas de captura, preferentemente anticuerpos presentes en forma de dispersiones en una mezcla de reacción líquida, en el que un primer componente de marcación está unido a la primera molécula de captura, en el que dicho primer componente de marcación forma parte de un sistema de marcación basado en la extinción o amplificación de fluorescencia o quimioluminiscencia, y un segundo componente de marcación de dicho sistema de marcación se une a la segunda molécula de captura, de tal modo que, tras la unión de las dos moléculas de captura con el analito, se genera una señal medible que permite la detección de los complejos de tipo sándwich formados en la solución que comprende la muestra.

Aún más preferentemente, dicho sistema de marcación comprende criptatos de tierras raras o quelatos de tierras raras combinados con un colorante de fluorescencia o de quimioluminiscencia, particularmente un colorante de tipo cianina.

En el contexto de la presente invención, los ensayos basados en fluorescencia comprenden la utilización de colorantes, que se pueden seleccionar, por ejemplo, de entre el grupo que comprende FAM (5-carboxifluoresceína o 6-carboxifluoresceína), VIC, NED, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína (FITC), IRD-700/800, colorantes de cianina, tales como CY3, CY5, CY3.5, CY5.5, Cy7, xanteno, 6-carboxi-2',4',7',4,7-hexaclorofluoresceína (HEX), TET, 6-carboxi-4',5'-dicloro-2',7'-dimetodifluoresceína (JOE), N,N,N',N'-tetrametil-6-carboxirrodamina (TAMRA), 6-carboxi-X-rodamina (ROX), 5-carboxirrodamina-6G (R6G5), 6-carboxirrodamina-6G (RG6), rodamina, verde de rodamina, rojo de rodamina, rodamina 110, colorantes BODIPY, tal como BODIPY TMR, verde de Oregón, cumarinas, tal como umbeliferona, benzoimidaz, tal como Hoechst 33258; fenantridinas, tal como rojo de Texas, amarillo de Yakima, colorantes Alexa Fluor, PET, bromuro de etidio, colorantes de acridinio, colorantes de carbazol, colorantes de fenoxazina, colorantes de porfirina, colorantes de polimetina, y similares.

En el contexto de la presente invención, los ensayos basados en quimioluminiscencia comprenden la utilización de colorantes en base a los principios físicos descritos para los materiales quimioluminiscentes en Kirk-Othmer, Encyclopedia of chemical technology, 4ª ed., editor ejecutivo, J. I. Kroschwitz; editor, M. Howe-Grant, John Wiley & Sons, 1993, vol. 15, p. 518-562, incluidas las citaciones de las páginas 551-562. Los colorantes quimioluminiscentes preferentes son los ésteres de acridinio.

Las concentraciones de péptido o péptidos marcadores (o fragmentos de los mismos o precursores o fragmentos de los mismos) en la muestra obtenida del paciente se atribuyen al pronóstico a corto plazo de un resultado para el paciente. Por ejemplo, las concentraciones de péptido marcador por encima de un determinado valor umbral son indicativas de un resultado adverso o de un riesgo elevado para el paciente. Dichos valores umbral están comprendidos preferentemente entre aproximadamente 0,5 y 5,0 pmol/l, más preferentemente entre 1,0 y 2,5 pmol/l, siendo de la forma más preferente de 1,985 nmol/l para la MR-proADM.

En otra forma de realización de la presente invención, el riesgo y/o el resultado para un paciente se determina relacionando la concentración individual de péptido marcador del paciente con determinados percentiles (por ejemplo, percentil 97,5) de una población sana.

Se pueden utilizar estimadores de Kaplan-Meier para la evaluación o la predicción del resultado o el riesgo (por ejemplo, la morbilidad) de un paciente.

La tesis de la presente invención se deriva de un estudio comparativo entre la adrenomedulina (ADM) o fragmentos de la misma o su precursor o fragmentos del mismo, y la troponina, y el péptido natriurético cerebral (BNP) o fragmentos del mismo o su precursor o fragmentos del mismo, con respecto a sus valores de pronóstico en pacientes con disnea (SoB por sus siglas en inglés) o insuficiencia cardíaca aguda (ICA).

Secuencias

La secuencia de aminoácidos del péptido precursor de la adrenomedulina (pre-pro-adrenomedulina) se indica en la SEC ID N°: 1. El término pro-adrenomedulina se refiere a los residuos de aminoácidos 22 a 185 de la secuencia de la pre-pro-adrenomedulina. La secuencia de aminoácidos de la pro-adrenomedulina (pro-ADM) se indica en la SEC ID N°: 2. Los 20 péptidos aminoterminales de pro-ADM (PAMP) se refieren a los residuos de aminoácidos 22-41 de la pre-pro-ADM. La secuencia de aminoácidos de PAMP se indica en la SEC ID N°: 3. El término MR-pro-adrenomedulina (MR-proADM) se refiere a los residuos de aminoácidos 45-92 de la pre-pro-ADM. La secuencia de

aminoácidos de la MR-proADM se indica en la SEC ID N°: 4. La secuencia de aminoácidos de la adrenomedulina (ADM) madura se indica en la SEC ID N°: 5.

5 La secuencia del péptido precursor de 134 aminoácidos del péptido natriurético cerebral (pre-pro-BNP) se indica en la SEC ID N°: 6. Pro-BNP se refiere a los residuos de aminoácidos 27 a 134 del pro-pro-BNP. La secuencia de pro-BNP se indica en la SEC ID N°: 7. El pro-BNP se escinde en pro-BNP aminoterminal (NT-proBNP) y BNP maduro. El NT-proBNP comprende los residuos de aminoácidos 27 a 102 y su secuencia se indica en la SEC ID N°: 8. La SEC ID N°: 9 muestra la secuencia de BNP que comprende los residuos de aminoácidos 103 a 134 del péptido pre-pro-BNP.

10 SEC ID N°: 1 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-ADM):

```

1      MKLVSVALMY LGSLAFLGAD TARLDVASEF RKKWNKWALS RGKRELRMSS
51     SYPTGLADV KAGPAQTLIRP QDMKGASRSP EDSSPDAARI RVKRYRQSMN
101    NFQGLRSFGC RFGTCTVQKL AHQIYQFTDK DKDNVAPRSK ISPQGYGRRR
151    RRLPEAGPG RTLVS SKPQA HGAPAPPSGS APHFL
    
```

15 SEC ID N°: 2 (secuencia de aminoácidos de pro-ADM):

```

1      YRQSMNNFQG LRSFGCRFGT CTVQKLAHQI YQFTDKDKDN VAPRSKISPQ
51     GY

1      ARLDVASEFR KKWKNWALS R GKRELRMSSS YPTGLADVKA GPAQTLIRPQ
51     DMKGASRSPE DSSPDAARIR VKRYRQSMNN FQGLRSFGCR FGTCTVQKLA
101    HQIYQFTDKD KDNVAPRSKI SPQGYGRRRR RSLPEAGPGR TLVSSKPOAH
151    GAPAPPSGSA PHFL
    
```

20 SEC ID N°: 3 (secuencia de aminoácidos de pro-ADM N20):

1 ARLDVASEFR KKWKNWALS R

SEC ID N°: 4 (secuencia de aminoácidos de MR-proADM):

25 1 ELRMSSSYPT GLADV KAGPA QTLIRPQDMK GASRSPEDSS PDAARIRV

SEC ID N°: 5 (secuencia de aminoácidos de ADM):

30 SEC ID N°: 6 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-BNP) :

```

1      MDPQTAPSRA LLLLLFLHLA FLGGRSHPLG SPGSASDLET SGLQEQRNHL
51     QGKLSELQVE QTSLEPLQES PRPTGVWKS R EVATEGIRGH RKMVLYTLRA
101    PRSPKMVQGS GCFGRKMDRI SSSSGLGCKV LRRH
    
```

35 SEC ID N°: 7 (secuencia de aminoácidos de pro-BNP) :

```

1      HPLGSPGSAS DLETSGLQEQ RNHLQGLSE LQVEQTSLEP LQESPRPTGV
51     WKSREVATEG IRGHRKMVLY TLRAPRSPKM VQSGGCFGRK MDRISSSSGL
101    GCKVLRH
    
```

SEC ID N°: 8 (secuencia de aminoácidos de NT-proBNP):

40 1 HPLGSPGSAS DLETSGLQEQ RNHLQGLSE LQVEQTSLEP LQESPRPTGV
51 WKSREVATEG IRGHRKMVLY TLRAPR

SEC ID N°: 9 (secuencia de aminoácidos de BNP):

45 1 SPKMVQSGC FGRKMDRISS SSSGLGCKVLR RH

Descripción de los dibujos

Figura 1: Tasas de supervivencia representadas para los cuatro cuartiles de concentraciones de MR-proADM en pacientes con ICA.

50

Figura 2: Tasas de supervivencia representadas para los cuatro cuartiles de concentraciones de MR-proADM en pacientes con ICA; se han combinado los cuartiles 1 a 3.

5 Figura 3: Tasas de supervivencia representadas para los cuatro cuartiles de concentraciones de BNP en pacientes con ICA.

Figura 4: Tasas de supervivencia representadas para los cuatro cuartiles de concentraciones de BNP en pacientes con ICA; se han combinado los cuartiles 1 a 3.

10 Figura 5: Tasas de supervivencia representadas para los cuatro cuartiles de concentraciones de NT-proBNP en pacientes con ICA.

Figura 6: Tasas de supervivencia representadas para los cuatro cuartiles de concentraciones de NT-proBNP en pacientes con ICA; se han combinado los cuartiles 1 a 3.

15 Figura 7: Área bajo la curva (AUC) de las curvas ROC para los marcadores BNP, NT-proBNP y MR-proADM en diferentes días.

Figura 8: curva ROC para los marcadores BNP, NT-proBNP y MR-proADM.

20 Figura 9: Supervivencia (supervivencia acumulada dependiendo del día) en pacientes con y sin ICA representada para la MR-proADM por encima y por debajo del umbral de 1, 985 pmol/l.

Figura 10: Resumen de los pacientes.

25 Figura 11: SEC ID Nº: 1 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-ADM)

Figura 12: SEC ID Nº: 2 (secuencia de aminoácidos de pro-ADM)

30 Figura 13: SEC ID Nº: 3 (secuencia de aminoácidos de pro-ADM)

Figura 14: SEC ID Nº: 4 (secuencia de aminoácidos de MR-proADM)

35 Figura 15: SEC ID Nº: 5 (secuencia de aminoácidos de ADM)

Figura 16: SEC ID Nº: 6 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-BNP)

Figura 17: SEC ID Nº: 7 (secuencia de aminoácidos de pro-BNP)

40 Figura 18: SEC ID Nº: 8 (secuencia de aminoácidos de NT-proBNP)

Figura 19: SEC ID Nº: 9 (secuencia de aminoácidos de BNP)

Ejemplos

45 Ejemplo 1: Estudio clínico: 15 centros de incorporación - seleccionaron a 1.641 pacientes con disnea (SoB) e insuficiencia cardíaca aguda (ICA)

Tabla 1: Resumen de los pacientes

Características	Dificultad para respirar	BACH
INSCRIPCIÓN TOTAL	1.586	1.641
Edad	64 +/- 17	64 +/- 17
Sexo masculino (%)	56	52
Sexo femenino (%)	44	48
Antecedentes (%)		
ICC	33	36
IAM	27	19
EPOC	41	30
Diabetes	25	29

50

Tabla 2: Datos básicos adicionales de los pacientes

Variable	No ICA		ICA		p
	Media	SD	Media	SD	
Frecuencia cardíaca (ppm)	93	22	89	25	0,005
Temperatura (°C)	36,8	0,7	36,7	0,7	0,039
Pa sistólica (mmHg)	140	27	143	32	0,027
Pa diastólica (mmHg)	80	16	83	19	< 0,001
IMC (kg/m ²)	30	9	29	8	0,035

Véase también la figura 10 para un resumen de los pacientes.

5 Datos del estudio:

- Se incluyeron pacientes que se presentaron en el servicio de urgencias (SU) con SoB no derivada de trauma o con infarto de miocardio (IM) evidente y que no se encontraban en tratamiento con diálisis.
- 10 - Tras su consentimiento, evaluación por parte del médico de la probabilidad de padecer insuficiencia cardíaca y/o neumonía.
- Dos cardiólogos independientes coincidían en el diagnóstico definitivo tras el alta hospitalaria.
- 15 - Seguimiento de la supervivencia durante hasta 90 días; resultado "Mortalidad por cualquier causa dentro de los 90 días".

Supervivencia en ICA - Resultados de la regresión de Cox con variables predictivas continuas:

- 20 Precisión del diagnóstico: MR-proADM 73,5% frente a BNP 60,8% (p < 0,001)
frente a NT-proBNP 63,6% (p < 0,001)

Tabla 3: MR-proADM es mejor que BNP y NT-proBNP para predecir la mortalidad a los 90 días (regresión de Cox).

Variable predictiva (univariante)	Estadístico chi ²	p	Índice c
log MR-proADM	31,0	< 0,001	0,669
log BNP	7,1	0,008	0,596
log NT-proBNP	17,1	< 0,001	0,654

- 25 Tabla 4: MR-proADM se añade considerablemente a BNP o NT-proBNP, sin embargo, ni BNP ni NT-proBNP se añaden a MR-proADM

	Estadístico chi ²	p
adición de MR-proADM a BNP	23,9	< 0,0001
adición de MR-proADM a NT-proBNP	15,3	< 0,0001
adición de BNP a MR-proADM	0,0	0,906
adición de NT-proBNP a MR-proADM	1,1	0,291

- 30 Supervivencia en ICA - Resultados de regresión de Cox multivariable:

Tabla 5: MR-proADM es más importante que BNP en modelos de supervivencia utilizando la regresión de Cox.

Variable predictiva (multivariable)	HR (cociente de riesgos)	IC del 95%	p
log MR-proADM	14,0	5,0-39,4	< 0,001
log BNP	1,0	0,5-2,0	0,906

- 35 Tabla 6: MR-proADM es más importante que NT-proBNP en modelos de supervivencia utilizando la regresión de Cox.

Variable predictiva (multivariable)	HR	IC del 95%	p
log MR-proADM	10,4	3,3-32,7	< 0,001
log NT-proBNP	1,4	0,7-2,6	0,295

Supervivencia en modelos de ICA - Cox con elevación de la troponina

Los valores de troponina estaban disponibles en 511 de los 568 pacientes con insuficiencia cardíaca, y en 107 (20,9%) de los pacientes eran elevados.

5 Tabla 7: En modelos con 3 marcadores, la troponina y la MR-proADM proporcionan utilidad pronóstica, pero BNP no.

Variable predictiva (multivariable)	HR	IC del 95%	p
log MR-proADM	8,5	2,7-26,5	< 0,001
log BNP	0,9	0,5-1,9	0,812
Tn elevada	2,6	1,5-4,5	< 0,001

10 Tabla 8: En modelos con 3 marcadores, la troponina y la MR-proADM proporcionan utilidad pronóstica, pero NT-proBNP no.

Variable predictiva (multivariable)	HR	IC del 95%	p
log MR-proADM	7,5	2,1-26,4	< 0,001
log NT-proBNP	1,1	0,6-2,2	0,295
Tn elevada	2,6	1,5-4,4	< 0,001

Los valores de troponina de laboratorio clínico (TnI o TnT) se consideraron elevados si se encontraban por encima del rango normal local.

15 Supervivencia en cuartiles ICA - MR-proADM

El riesgo es grande en el cuartil más elevado de MR-proADM, véase las figuras 1 y 2 y las tablas 9 y 10.

20 Tabla 9.

Cuartil	HR	IC del 95%	p
1º	1	Referencia	
2º	0,8	0,3-2,0	0,640
3º	1,1	0,5-2,5	0,822
4º	3,2	1,6-6,4	0,001

Tabla 10.

Cuartil	HR	IC del 95%	p
1º-3º	1	referencia	
4º	3,3	2,0-5,4	< 0,001

25 Supervivencia en cuartiles ICA - BNP

El riesgo es grande en el cuartil más elevado de BNP, véase las figuras 3 y 4 y las tablas 11 y 12.

Tabla 11.

Cuartil	HR	IC del 95%	p
1º	1	Referencia	
2º	1,9	0,9-4,3	0,116
3º	1,2	0,5-2,9	0,668
4º	3,2	1,5-6,7	0,003

30 Tabla 12.

Cuartil	HR	IC del 95%	p
1º-3º	1	referencia	
4º	2,3	1,4-3,8	< 0,001

Supervivencia en cuartiles ICA - NT-proBNP

El riesgo es grande en el cuartil más elevado de NT-proBNP, véase las figuras 5 y 6 y las tablas 13 y 14.

35

Tabla 13.

Cuartil	HR	IC del 95%	p
1º	1	referencia	
2º	1,7	0,7-4,4	0,247
3º	2,5	1,0-6,0	0,043
4º	4,3	1,9-9,9	< 0,001

Tabla 14.

Cuartil	HR	IC del 95%	p
1º-3º	1	referencia	
4º	2,5	1,5-4,1	< 0,001

5 Comparación de supervivencia en ICA - área bajo la curva ROC

La MR-proADM predice la supervivencia a corto plazo (30 días) excepcionalmente bien, véase la figura 7 y la tabla 15.

10 Tabla 15.

AUC	30 días	90 días
MR-proADM	0,739	0,674
NT-proBNP	0,641	0,664
BNP	0,555	0,606

Supervivencia en todos los pacientes con SoB - Utilidad de la MR-proADM

Tabla 16: Análisis de regresión de Cox; la MR-proADM funciona bien en todos los pacientes con SoB.

15

Variable predictiva (univariante)	Estadístico χ^2	p	Índice c
log MR-proADM	129,5	< 0,0001	0,755
log BNP	60,1	< 0,0001	0,691
log NT-proBNP	83,7	< 0,0001	0,721

Tabla 17: Análisis de regresión de Cox; la MR-proADM es mejor que el BNP y el NT-proBNP.

	Estadístico χ^2	p
adición de MR-proADM a BNP	69,4	< 0,0001
adición de MR-proADM a NT-proBNP	46,6	< 0,0001
adición de BNP a MR-proADM	0,1	0,731
adición de NT-proBNP a MR-proADM	1,5	0,229

20 En la figura 8 se muestra una curva ROC correspondiente.

Supervivencia en pacientes sin ICA - Utilidad de la MR-proADM

Una MR-proADM elevada es fuertemente pronóstica en pacientes con y sin ICA - más aún en los que no presentan ICA que en los que sí (interacción $p = 0,005$). Véase la figura 9 adjunta y las tablas 18 y 19.

25

Tabla 18.

Pacientes con ICA		
	AUC (90 días)	punto de corte óptimo de la curva ROC
MR-proADM	0,674	1,985 pmol/l

Tabla 19.

Diagnóstico	MR-proADM	HR	IC del 95%	p
No ICA	bajo < 1,985	1	referencia	
	alto $\geq 1,985$	8,6	5,1-14,4	< 0,001
ICA	bajo < 1,985	1,7	1,1-2,7	0,027
	alto $\geq 1,985$	5,7	3,6-8,9	< 0,001

30

Resumen del estudio:

- La MR-proADM es un fuerte factor pronóstico en pacientes con ICA y en pacientes que presentan SoB.
- 5 - La MR-proADM es mejor que el BNP o el NT-proBNP para predecir la mortalidad a 90 días, tanto en ICA como en todos los pacientes de urgencias con SoB.
- La MR-proADM es particularmente fuerte en el pronóstico a corto plazo dentro de las 4 semanas posteriores a la evaluación.
- 10 - Ninguno de estos resultados se ve afectado por el ajuste de troponina.
- La MR-proADM puede mejorar significativamente la estratificación del riesgo con respecto a BNP o NT-proBNP.
- 15 - La evaluación de la MR-proADM puede ayudar a identificar a los pacientes que deben “pasar al principio de la cola” de la atención médica.

Listado de secuencias

- 20 <110> B.R.A.H.M.S AG
- <120> Pronóstico y evaluación del riesgo en pacientes que padecen insuficiencia cardíaca mediante la determinación de la concentración de ADM y BNP
- 25 <130> B60408PCT
- <150> 08168816.0
- <151> 2008-11-11
- 30 <160> 9
- <170> Patente en versión 3.3
- <210> 1
- 35 <211> 185
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 1

ES 2 431 358 T3

Met Lys Leu Val Ser Val Ala Leu Met Tyr Leu Gly Ser Leu Ala Phe
 1 5 10 15
 Leu Gly Ala Asp Thr Ala Arg Leu Asp Val Ala Ser Glu Phe Arg Lys
 20 25 30
 Lys Trp Asn Lys Trp Ala Leu Ser Arg Gly Lys Arg Glu Leu Arg Met
 35 40 45
 Ser Ser Ser Tyr Pro Thr Gly Leu Ala Asp Val Lys Ala Gly Pro Ala
 50 55 60
 Gln Thr Leu Ile Arg Pro Gln Asp Met Lys Gly Ala Ser Arg Ser Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Ser Ser Pro Asp Ala Ala Arg Ile Arg Val Lys Arg Tyr Arg
 85 90 95
 Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys Arg Phe
 100 105 110
 Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln Phe Thr
 115 120 125
 Asp Lys Asp Lys Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser Pro Gln
 130 135 140
 Gly Tyr Gly Arg Arg Arg Arg Arg Ser Leu Pro Glu Ala Gly Pro Gly
 145 150 155 160
 Arg Thr Leu Val Ser Ser Lys Pro Gln Ala His Gly Ala Pro Ala Pro
 165 170 175
 Pro Ser Gly Ser Ala Pro His Phe Leu

180 185

5

<210> 2
 <211> 164
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 2

ES 2 431 358 T3

Ala Arg Leu Asp Val Ala Ser Glu Phe Arg Lys Lys Trp Asn Lys Trp
 1 5 10 15
 Ala Leu Ser Arg Gly Lys Arg Glu Leu Arg Met Ser Ser Ser Tyr Pro
 20 25 30
 Thr Gly Leu Ala Asp Val Lys Ala Gly Pro Ala Gln Thr Leu Ile Arg
 35 40 45
 Pro Gln Asp Met Lys Gly Ala Ser Arg Ser Pro Glu Asp Ser Ser Pro
 50 55 60
 Asp Ala Ala Arg Ile Arg Val Lys Arg Tyr Arg Gln Ser Met Asn Asn
 65 70 75 80
 Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys Arg Phe Gly Thr Cys Thr Val
 85 90 95
 Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln Phe Thr Asp Lys Asp Lys Asp
 100 105 110
 Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser Pro Gln Gly Tyr Gly Arg Arg
 115 120 125
 Arg Arg Arg Ser Leu Pro Glu Ala Gly Pro Gly Arg Thr Leu Val Ser
 130 135 140
 Ser Lys Pro Gln Ala His Gly Ala Pro Ala Pro Pro Ser Gly Ser Ala
 145 150 155 160
 Pro His Phe Leu

5 <210> 3
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 3

Ala Arg Leu Asp Val Ala Ser Glu Phe Arg Lys Lys Trp Asn Lys Trp
 1 5 10 15
 Ala Leu Ser Arg
 20

15 <210> 4
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Glu Leu Arg Met Ser Ser Ser Tyr Pro Thr Gly Leu Ala Asp Val Lys
 1 5 10 15
 Ala Gly Pro Ala Gln Thr Leu Ile Arg Pro Gln Asp Met Lys Gly Ala
 20 25 30
 Ser Arg Ser Pro Glu Asp Ser Ser Pro Asp Ala Ala Arg Ile Arg Val
 35 40 45

20

ES 2 431 358 T3

<210> 5
 <211> 52
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5 <400> 5

Tyr Arg Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys
 1 5 10 15
 Arg Phe Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln
 20 25 30
 Phe Thr Asp Lys Asp Lys Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser
 35 40 45
 Pro Gln Gly Tyr
 50

10 <210> 6
 <211> 134
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 6

Met Asp Pro Gln Thr Ala Pro Ser Arg Ala Leu Leu Leu Leu Leu Phe
 1 5 10 15
 Leu His Leu Ala Phe Leu Gly Gly Arg Ser His Pro Leu Gly Ser Pro
 20 25 30
 Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser Gly Leu Gln Glu Gln Arg Asn
 35 40 45
 His Leu Gln Gly Lys Leu Ser Glu Leu Gln Val Glu Gln Thr Ser Leu
 50 55 60
 Glu Pro Leu Gln Glu Ser Pro Arg Pro Thr Gly Val Trp Lys Ser Arg
 65 70 75 80
 Glu Val Ala Thr Glu Gly Ile Arg Gly His Arg Lys Met Val Leu Tyr
 85 90 95
 Thr Leu Arg Ala Pro Arg Ser Pro Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys
 100 105 110
 Phe Gly Arg Lys Met Asp Arg Ile Ser Ser Ser Ser Gly Leu Gly Cys
 115 120 125
 Lys Val Leu Arg Arg His
 130

20 <210> 7
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25 <400> 7

ES 2 431 358 T3

His Pro Leu Gly Ser Pro Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser Gly
 1 5 10 15
 Leu Gln Glu Gln Arg Asn His Leu Gln Gly Lys Leu Ser Glu Leu Gln
 20 25 30
 Val Glu Gln Thr Ser Leu Glu Pro Leu Gln Glu Ser Pro Arg Pro Thr
 35 40 45
 Gly Val Trp Lys Ser Arg Glu Val Ala Thr Glu Gly Ile Arg Gly His
 50 55 60
 Arg Lys Met Val Leu Tyr Thr Leu Arg Ala Pro Arg Ser Pro Lys Met
 65 70 75 80
 Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp Arg Ile Ser Ser
 85 90 95
 Ser Ser Gly Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His
 100 105

5 <210> 8
 <211> 76
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 8

His Pro Leu Gly Ser Pro Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser Gly
 1 5 10 15
 Leu Gln Glu Gln Arg Asn His Leu Gln Gly Lys Leu Ser Glu Leu Gln
 20 25 30
 Val Glu Gln Thr Ser Leu Glu Pro Leu Gln Glu Ser Pro Arg Pro Thr
 35 40 45
 Gly Val Trp Lys Ser Arg Glu Val Ala Thr Glu Gly Ile Arg Gly His
 50 55 60
 Arg Lys Met Val Leu Tyr Thr Leu Arg Ala Pro Arg
 65 70 75

15 <210> 9
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 9

Ser Pro Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp
 1 5 10 15
 Arg Ile Ser Ser Ser Gly Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His
 20 25 30

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento para el pronóstico de un resultado tras un período de hasta 90 días en un paciente que padece insuficiencia cardíaca y/o disnea, que comprende las siguientes etapas:
- 10 a) proporcionar una muestra obtenida de dicho paciente,
- b) determinar la concentración de adrenomedulina (ADM) o fragmentos de la misma o su precursor o fragmentos del mismo en dicha muestra, presentando dichos fragmentos por lo menos seis aminoácidos de longitud,
- c) correlacionar dicha concentración con dicho pronóstico.
- 15 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que se determina la concentración de troponina además de la de ADM o fragmentos de la misma o su precursor o fragmentos del mismo.
3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en el que dicho resultado se refiere a la supervivencia y/o a un resultado funcional.
- 20 4. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 3, en el que se predice el resultado después de 3 días, 5 días, 10 días, 14 días, 20 días, 3 semanas, 4 semanas, 30 días, preferentemente 30 días.
- 25 5. Procedimiento para la estratificación de un paciente en grupos de riesgo, en el que dicho paciente padece insuficiencia cardíaca y/o disnea, y comprendiendo dicho procedimiento las etapas según la reivindicación 1.
6. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 5, en el que la adrenomedulina (ADM) o fragmentos de la misma o su precursor o fragmentos del mismo es MR-proADM.
- 30 7. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicho resultado se refiere a la supervivencia.
8. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6, en el que el resultado funcional se determina en forma de clasificación o grado de gravedad del resultado.
- 35 9. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 8, en el que, además, se determina, por lo menos, un parámetro clínico seleccionado de entre el grupo que comprende: edad, sexo, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, tratamiento antihipertensivo, índice de masa corporal, frecuencia cardíaca, temperatura, presencia de diabetes mellitus, hábitos de por lo menos tabaquismo actuales.
- 40 10. Utilización del procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para el seguimiento de la terapia en un paciente que padece insuficiencia cardíaca y/o disnea.

Fig. 1

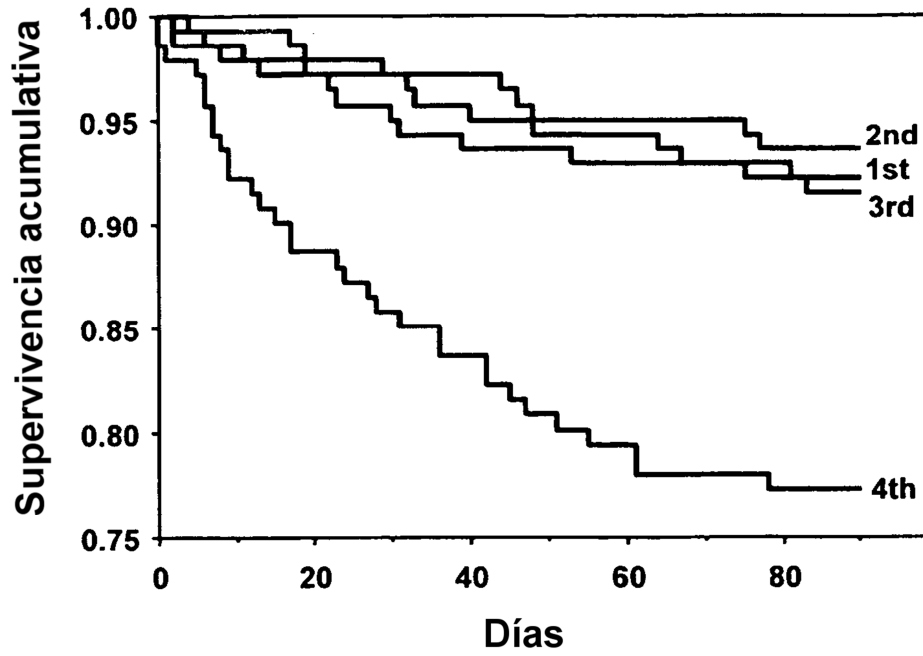


Fig. 2

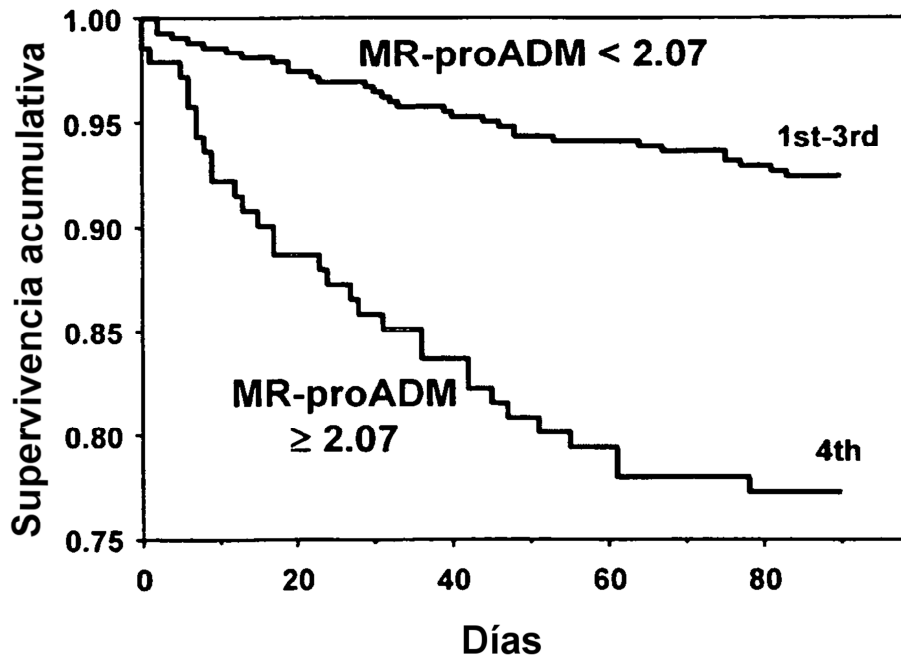


Fig. 3

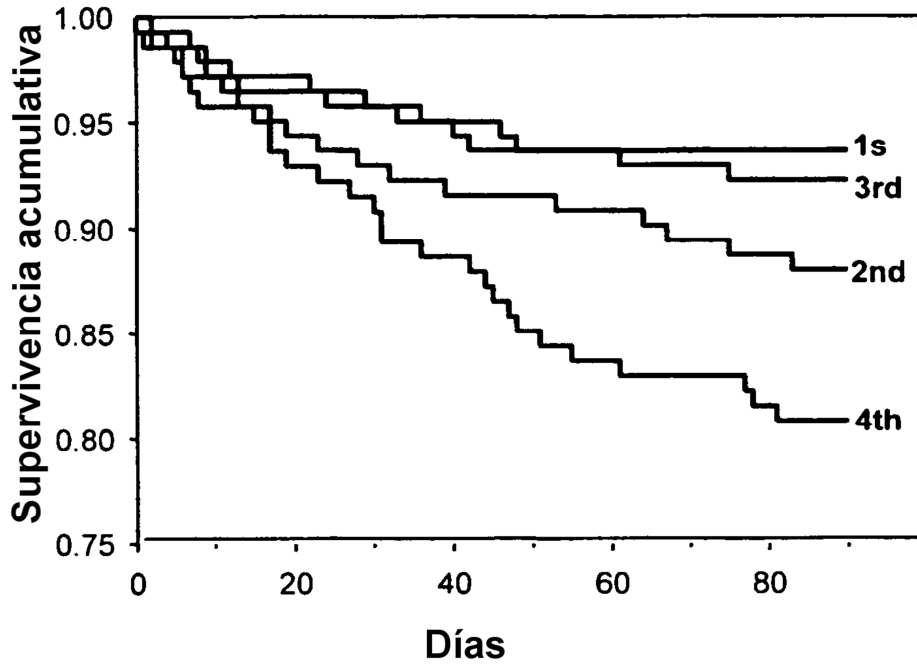


Fig. 4

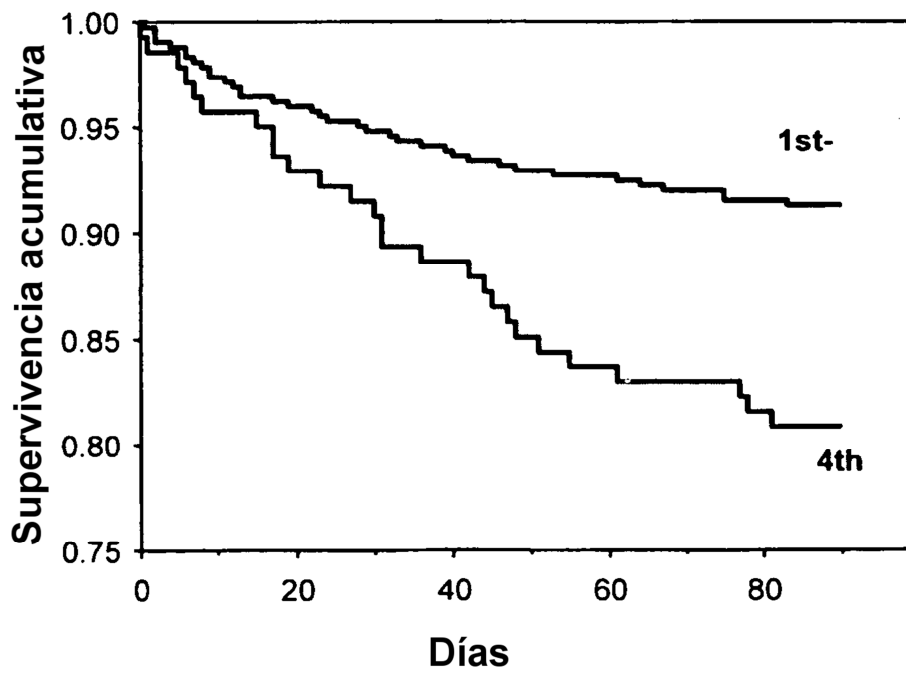


Fig. 5

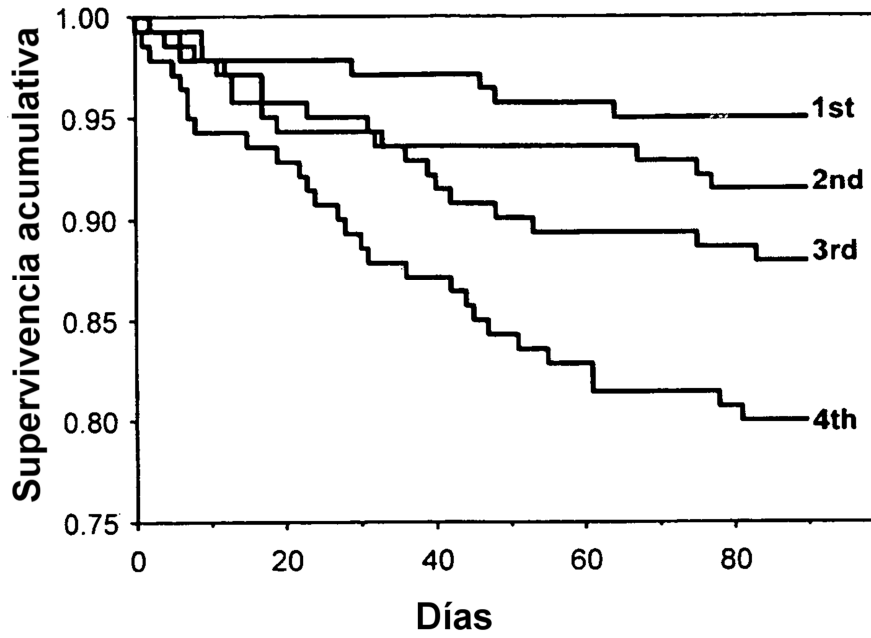


Fig. 6

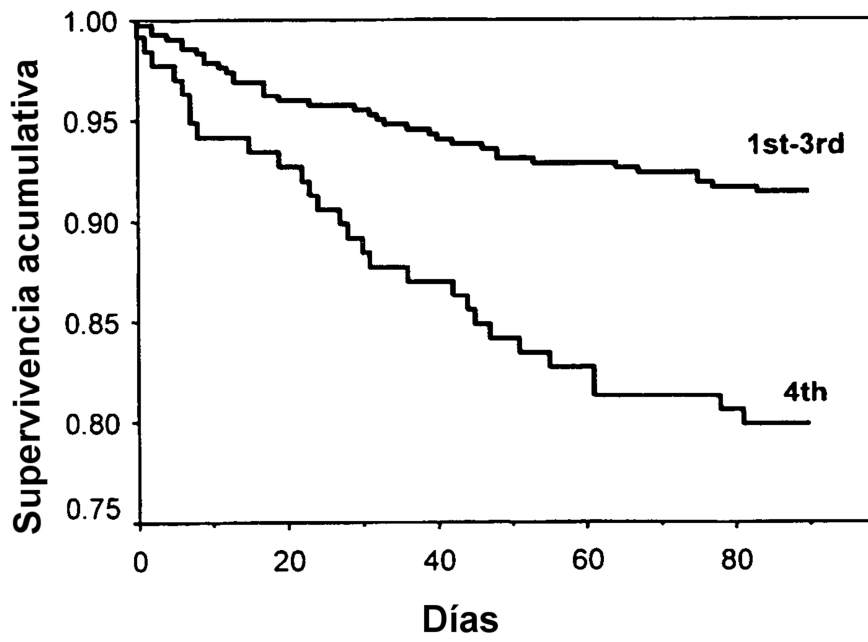


Fig. 7

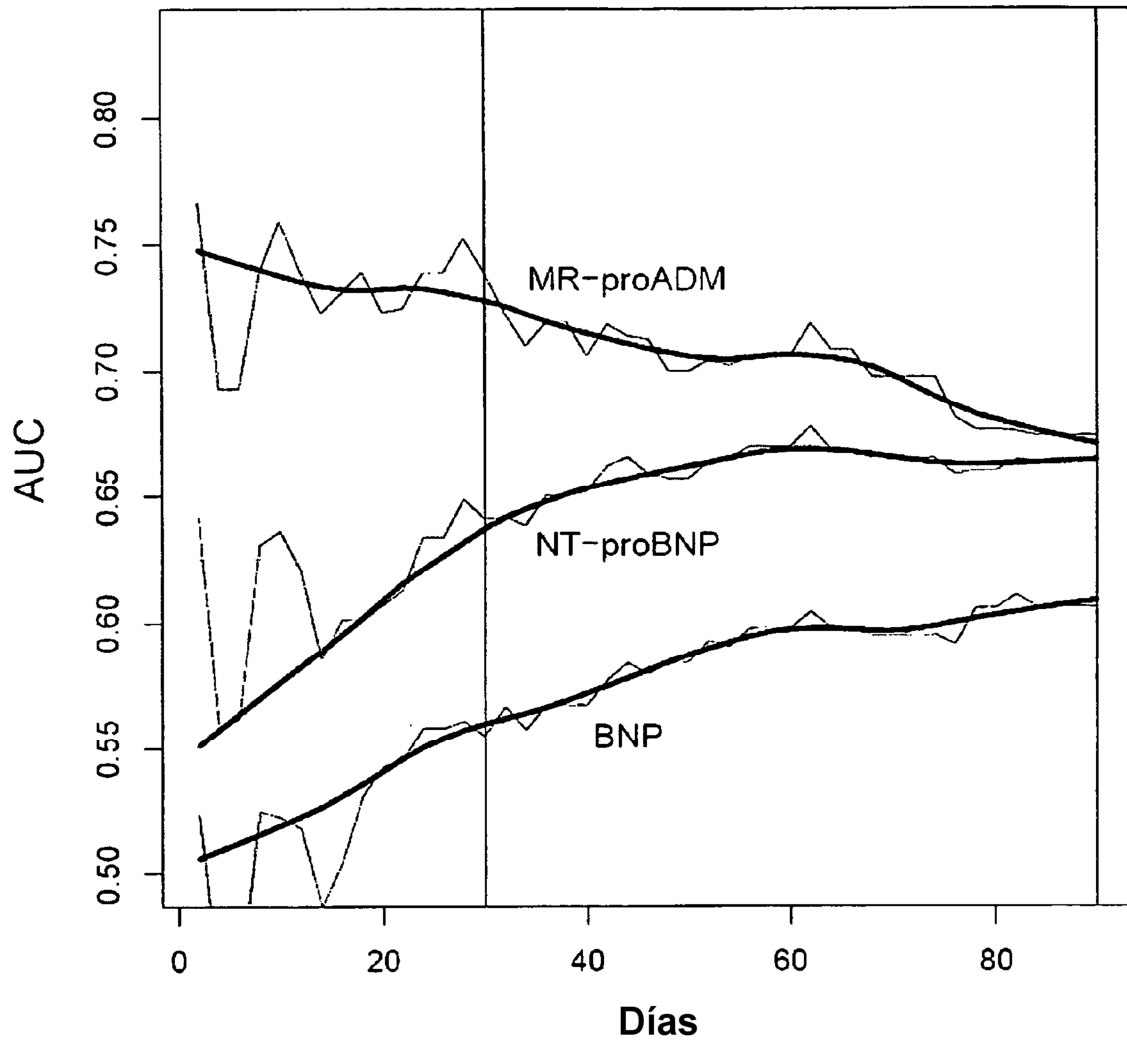


Fig. 8

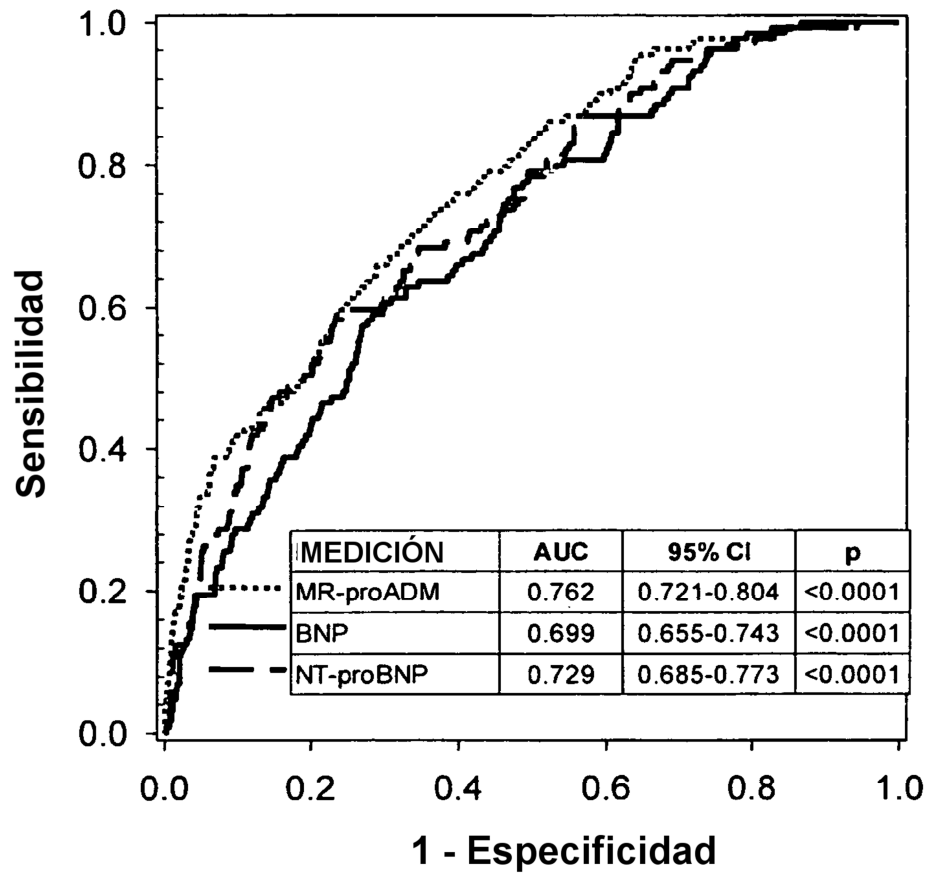


Fig. 9

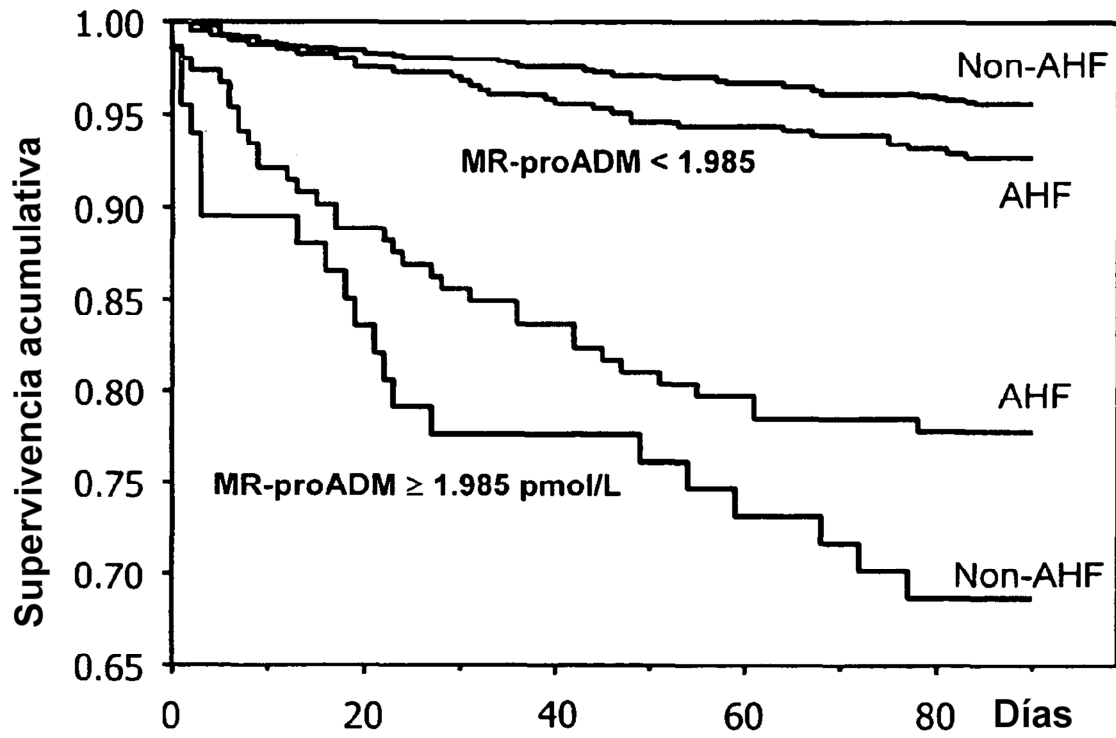
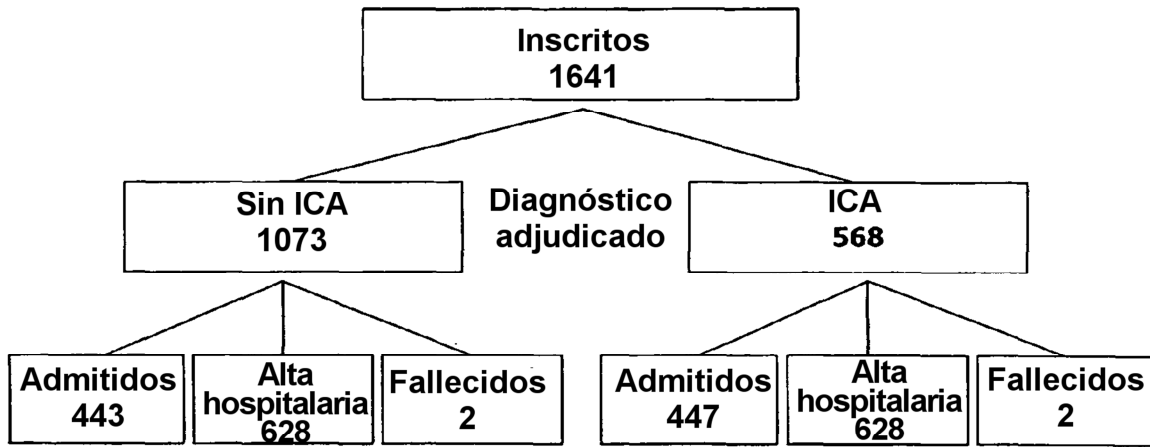


Fig. 10



Datos del servicio de urgencias

Fig. 11

1 MKLVSVALLY LGSLAFLGAD TARLDVASEF RKKWKNWALS RGKRELRMSS
 51 SYPTGLADVK AGPAQTLIRP QDMKGASRSP EDSSPDAARI RVKRYRQSMN
 101 NFQGLRSFGC RFGTCTVQKL AHQIQFTDK DKDNVAPRSK ISPQGYGRRR
 151 RRLPEAGPG RTLVSCKPQA HGAPAPPSGS APHFL

Fig. 12

1 ARLDVASEFR KKWNKWALSR GKRELRMSSS YPTGLADVKA GPAQTLIRPQ
 51 DMKGASRSPE DSSPDAARIR VKRYRQSMNN FQGLRSFGCR FGTCTVQKLA
 101 HQIQFTDKD KDNVAPRSKI SPQGYGRRRR RSLPEAGPGR TLVSSKPQAH
 151 GAPAPPSGSA PHFL

Fig. 13

1 ARLDVASEFR KKWNKWALSR

Fig. 14

1 ELRMSSSYPT GLADVKGPA QTLIRPQDMK GASRSPEDSS PDAARIRV

Fig. 15

1 YRQSMNRFQG LRSFGCRFGT CTVQKLAHQI YQFTDKDKDN VAPRSKISFQ
 51 GY

Fig. 16

1 MDPQTAPSRA LLLLLFLHLA FLGGRSHPLG SPGSASDLET SGLQEQRNHL
 51 QGKLSELQVE QTSLEPLQES PRPTGVWKSER EVATEGIRGH RKMVLYTLRA
 101 PRSPKMOVQS GCFGRKMDRI SSSSGLGCKV LRRH

Fig. 17

1 HPLGSPGSAS DLETSGLQEQ RNHLQGLSE LQVEQTSLEP LQESPRPTGV
 51 WKSREVATEG IRGHRKMOVLY TLRAPRSPKM VQSGCFGRK MDRISSSSGL
 101 GCKVLRH

Fig. 17

1 HPLGSPGSAS DLETSGLQEQ RNHLQGLSE LQVEQTSLEP LQESPRPTGV
51 WKSREVATEG IRGHRKMVLY TLRAPRSPKM VQSGGCFGRK MDRISSSSGL
101 GCKVLRRH

Fig. 18

1 HPLGSPGSAS DLETSGLQEQ RNHLQGLSE LQVEQTSLEP LQESPRPTGV
51 WKSREVATEG IRGHRKMVLY TLRAPR

Fig. 19

1 SPKMVQSGC FGRKMDRISS SSGLGCKVLR RH