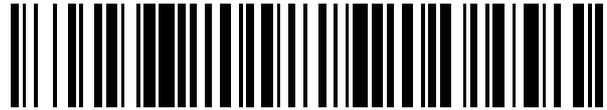


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 524 082**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.06.2011 E 11725455 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.08.2014 EP 2583104**

54 Título: **Predicción y reconocimiento de la lesión renal aguda después de la cirugía**

30 Prioridad:

15.06.2010 EP 10165964

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

04.12.2014

73 Titular/es:

**F.HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**HESS, GEORG;
HORSCH, ANDREA y
ZDUNEK, DIETMAR**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 524 082 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

Predicción y reconocimiento de la lesión renal aguda después de la cirugía

5 La presente invención se refiere a procedimientos y medios de diagnóstico. Específicamente, se refiere a un procedimiento para predecir el riesgo de lesión renal aguda (LRA) en individuos a los que se va a someter a una intervención quirúrgica, preferentemente una intervención cardíaca, en particular, a cirugía de derivación coronaria. La presente invención, asimismo, se refiere a un procedimiento para predecir el riesgo de lesión renal aguda en individuos que hayan sufrido una intervención quirúrgica, preferentemente intervención cardíaca, en particular, una
10 cirugía de derivación coronaria y a un procedimiento de diagnóstico de la lesión renal aguda en pacientes que han sufrido una intervención quirúrgica, preferentemente intervención cardíaca, en particular, una cirugía de derivación coronaria. Además, la presente invención se refiere a dispositivos, kits para llevar a cabo dicho procedimiento y a un procedimiento de decisión sobre una terapia adecuada en pacientes que sufren de LRA después de una intervención quirúrgica.

15 El experto en la técnica sabe que la lesión renal aguda representa un problema importante en la medicina clínica. El 5 por ciento de los pacientes hospitalizados y hasta un 30% de los pacientes en unidades de cuidados intensivos desarrollarán lesión renal aguda. En la LRA, los niveles de creatinina sérica se elevan lentamente y pueden pasar 2 - 3 días antes de la lesión renal se ponga de manifiesto, en general indicada por un aumento de la creatinina de al menos 0,3 mg/dl o un incremento de más del 50% del valor basal (Devarajan, Expert Opinion Med, Diagn 2008, 2: 387 - 398). Los autores de este artículo destacan la necesidad urgente de indicadores tempranos de la lesión renal aguda.

25 En varias publicaciones se informa sobre varios marcadores peptídicos en relación con la LRA, por ejemplo Liangos et al (2009 Biomarkers 14: 423-431) han demostrado que los niveles de los péptidos KIM-1 y NGAL aumentan ya a las 2 horas de la cirugía cardiopulmonar, lo que indica LRA. Los autores informaron del aumento de KIM-1 preferentemente en el grupo de LRA, mientras que NGAL no podía diferenciar entre pacientes con LRA y los que no tienen LRA. Han et al, (Clin J. Am Soc Nephrol 2009, 4 873-882) obtuvieron resultados similares con los mismos biomarcadores. Portilla et al. pudieron observar, en una población pediátrica y 4 horas después de la cirugía
30 cardíaca, un aumento de la L-FABP en pacientes que desarrollan LRA, pero no en los que no tienen LRA, véase Kidney International (2008) 73, 465 - 72.

35 La patogénesis de la LRA postoperatoria parece multifactorial y su asociación con el aumento de la morbilidad y la mortalidad a largo plazo está bien establecida (Brown et al, Ann Surg Thorac 2008, 86: en 4 a 1).

40 La cirugía de derivación coronaria se lleva a cabo preferentemente en pacientes en los que no es posible realizar una intervención coronaria percutánea debido a la localización o la extensión de la aterosclerosis coronaria. Esta intervención se asocia con un riesgo significativo de LRA, se ha descrito que este riesgo varía entre 10 y 20 % y en el que 1 a 5% por ciento de estos individuos requieren diálisis (Mehta, Circulation 2006: 1 14 2208-16).

45 En la solicitud de patente no publicada previamente "Means and methods for diagnosing a heart failure associated associated kidney damage in individuals in need of a suitable therapy" de los solicitantes de la presente invención, presentada el 30 de abril de 2009, con número de solicitud EP 09 159 234.5, se demostró que los pacientes con insuficiencia cardíaca tienen niveles incrementados de de L-FABP y KIM 1 en la orina y que las concentraciones de estos marcadores de daño/reparación tubular estaban claramente asociadas con el nivel de NT-pro BNP (un péptido natriurético que está claramente asociado con la insuficiencia cardíaca).

50 Kamijo et al. (Urinary liver-type fatty acid binding protein as a useful biomarker in chronic kidney disease Mol Cell Biochem 2006; 284) informaron de que la excreción urinaria de L-FABP puede reflejar diversos tipos de estrés que causan daño túbulo-intersticial y puede ser un marcador clínico útil de la progresión de la enfermedad renal crónica.

55 La LRA puede evitarse en pacientes que se sabe que tienen un mayor riesgo mediante el mantenimiento del equilibrio hidroelectrolítico durante la cirugía y evitando otros factores precipitantes de LRA, tales como la interrupción de la administración de inhibidores de la ECA, AINE y otros medicamentos que se sabe que causan daño renal antes de la cirugía y el cuidadoso uso de diuréticos, específicamente los diuréticos de asa. Los detalles se resumen en Brit J. of Hospital Medicine, 2008, 69, 450-454 (para más detalles véanse las Tablas 2 y 3).

60 Es importante reconocer los signos tempranos de la lesión renal aguda en particular en la población de riesgo bajo que es con frecuencia objeto de alta temprana. Aunque muchos casos son reversibles si se diagnostican y tratan a tiempo, la tasa de supervivencia global sigue siendo de aproximadamente un 50% debido a que muchos pacientes con LRA tienen trastornos subyacentes importantes, por ejemplo, septicemia, insuficiencia respiratoria. Con frecuencia, la muerte se debe a estos trastornos, en lugar de al fracaso renal en sí mismo. En aproximadamente el 10% de los casos se requiere diálisis o trasplante, ya sea como tratamiento inmediato o a medida que la función renal se deteriora lentamente. La LRA puede ser completamente reversible si se trata de manera adecuada y a tiempo. Como se ha mencionado en lo que antecede, la función renal también se puede deteriorar y convertirse en
65 insuficiencia renal crónica. El tratamiento puede incluir el tratamiento inmediato del edema pulmonar y la

hipertensión, diálisis, ajuste del régimen de medicamentos, restricción de ingesta de agua, Na,y K, quelantes de fósforo y poliestireno sulfonato Na.

5 Por lo tanto, existe una necesidad urgente de procedimientos y medios para predecir el riesgo de un individuo de sufrir de LRA después de una intervención quirúrgica, preferentemente de una intervención cardíaca, más preferentemente de una intervención cardiovascular, en particular, de una cirugía de derivación coronaria. También hay una necesidad de proporcionar medios para predecir el riesgo de un individuo de sufrir LRA después de una intervención quirúrgica en base al análisis de una muestra obtenida antes de llevar a cabo la intervención quirúrgica.

10 El problema técnico subyacente a la presente invención puede verse como la provisión de medios y procedimientos para cumplir al menos una de las necesidades mencionadas en lo que antecede. La presente invención resuelve este problema técnico mediante las realizaciones caracterizadas en las reivindicaciones y en el presente documento a continuación.

15 De acuerdo con lo anterior, la presente invención se refiere a un procedimiento para predecir el riesgo de un sujeto de experimentar un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA después de una intervención quirúrgica en un sujeto, basándose en la comparación de las cantidades de la proteína de unión de ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o de una variante de la misma, determinada preferentemente en una muestra de orina del sujeto, también denominada proteína de unión de ácidos grasos de tipo hepático urinaria, determinada en una muestra de dicho sujeto, con al menos una cantidad de referencia.

20 El procedimiento de la presente invención comprende al menos una de las siguientes etapas y/o puede comprender las siguientes etapas: a) determinar las cantidades de la proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, preferentemente la proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático urinaria (L-FABP), en la muestra, preferentemente una muestra de orina de un sujeto; b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia; c) predecir el riesgo en base a la comparación efectuada en la etapa b).

30 Por consiguiente, en una realización, la presente invención proporciona un procedimiento para predecir el riesgo de un sujeto de experimentar acontecimientos adversos relacionados con la lesión renal aguda LRA después de una intervención quirúrgica en un sujeto, que comprende las etapas de:
a) determinar las cantidades de la proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, preferentemente la proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático urinaria (L-FABP) o una variante de la misma, en una muestra, preferentemente una muestra de orina de un sujeto;
35 b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia; y
c) predecir el riesgo en base a la comparación efectuada en la etapa b).

40 En otra realización de la presente invención, la presente invención proporciona un procedimiento para predecir el riesgo de un sujeto de experimentar acontecimientos adversos relacionados con la lesión renal aguda LRA después de una intervención quirúrgica en un sujeto, que comprende las etapas de:
a) determinar las cantidades de la proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, preferentemente la proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático urinaria (L-FABP) o una variante de la misma, en una muestra, preferentemente una muestra de orina de un sujeto; y
45 b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia;
por lo que se predice riesgo de que el sujeto experimente un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA después de una intervención quirúrgica.

50 En una realización preferida de la presente invención, la cantidad de adiponectina o una variante de la misma o una variante de la misma se determina en la muestra, preferentemente la muestra de orina, además de la cantidad de L-FABP o una variante de la misma y el riesgo se predice en base a la comparación de las cantidades del marcador con las cantidades de referencia

55 En otra forma de realización preferida de la presente invención, la cantidad de al menos otro marcador seleccionado de albúmina o una variante de la misma y la lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos (NGAL) o una variante de la misma se mide en la muestra de orina y el riesgo se predice en base a la comparación de las cantidades del marcador con cantidades de referencia. En esta forma de realización, se medirá la cantidad de únicamente un marcador adicional de entre los del grupo anteriormente citado además de la L-FABP o una variante de la misma y preferentemente, adiponectina o una variante de la misma, o las cantidades de ambos marcadores adicionales además de L-FABP o una variante de la misma y preferentemente, adiponectina o una variante de la misma.
60

Preferentemente, el riesgo se predice antes de la intervención quirúrgica. La presente invención también incluye el caso de que el riesgo se prevea tras la intervención quirúrgica.

Además, la presente invención se refiere a un procedimiento para decidir sobre una terapia adecuada en un paciente sujeto como se ha definido anteriormente, un procedimiento de seguimiento de la terapia y un dispositivo y un kit para llevar a cabo los procedimientos de la presente invención.

5 El procedimiento de la presente invención es, preferentemente, un procedimiento **in vitro**. Además, puede comprender etapas adicionales a las mencionadas explícitamente anteriormente cuando sea adecuado. Por ejemplo, otras etapas pueden estar relacionadas con pretratamientos de la muestra o con la evaluación de los resultados obtenidos mediante el procedimiento.

10 Las cantidades de los marcadores determinadas en el contexto de la presente invención (es decir, L-FABP o una variante de la misma y opcionalmente, adiponectina o una variante de la misma y opcionalmente, albúmina o una variante de la misma y opcionalmente, NGAL o una variante de la misma, se determinan, preferentemente, en una muestra de orina del sujeto respectivo. Como puede ser el caso, el o los marcadores también se pueden determinar en una muestra de sangre, plasma o suero del sujeto respectivo.

15 La expresión "acontecimiento adverso relativo a la lesión renal aguda LRA" que se puede usar intercambiamente con el término "acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA" se refiere a los acontecimientos/complicaciones que el experto en la técnica sabe que se producen en individuos que sufren LRA. La expresión incluye, preferentemente, la propia LRA, la necesidad de diálisis y la muerte. En el contexto de los
 20 pacientes sometidos a cirugía, la lesión renal aguda se define como un aumento de la creatinina de al menos 0,3 mg/dl en un plazo de 3 días. Debido a la demora en el aumento de la creatinina, este diagnóstico final se suele realizar tarde. Los primeros signos de insuficiencia renal son la reducción del volumen de orina. La hipovolemia intravasal puede imitar a la lesión renal aguda, en este caso la aplicación de fluidos da lugar a una rápida restauración de la diuresis. En el caso de que la oliguria progrese a anuria (poca o ninguna excreción de orina) y
 25 dependiendo de la duración de la anuria, se produce sobrecarga de volumen intravascular que puede estar asociada con los signos clínicos de insuficiencia cardíaca, específicamente en individuos con disfunción cardíaca preexistente. En caso de que los diuréticos y la restricción de líquidos no sean efectivos, se requiere diálisis. No existen recomendaciones claras para el inicio de la diálisis, sin embargo las concentraciones de urea en sangre por encima de 100 mg/dl, la hiperpotasemia o la acidosis se usan para tomar la decisión de iniciar la diálisis. La toma de
 30 decisiones puede ayudarse del uso de radiografía de tórax, ecocardiografía, ecografía y posiblemente, TAC en caso necesario.

Los términos "predecir" y "predecir el riesgo" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a evaluar la probabilidad de acuerdo con la que un sujeto sufrirá un acontecimiento adverso relacionado con la LRA en el futuro,
 35 preferentemente LRA, necesidad de diálisis y/o muerte. Preferentemente, la predicción se basa en el análisis de una muestra de un paciente antes de que se realice la intervención quirúrgica. Como entenderán los expertos en la técnica, por lo general, tal evaluación no pretende ser correcta para el 100% de los sujetos que se van a diagnosticar. El término, sin embargo, requiere que una parte estadísticamente significativa de los sujetos se pueda diagnosticar que padecen dicha enfermedad (por ejemplo, una cohorte de un estudio de cohortes). Si una porción es
 40 estadísticamente significativa o no lo puede determinar sin más el experto en la técnica utilizando diversas herramientas estadísticas de evaluación conocidas, por ejemplo, la determinación de los intervalos de confianza, la determinación del valor p, la prueba t de Student, la prueba de Mann-Whitney etc. Se encuentran detalles en Dowdy y Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, Nueva York 1983. Los intervalos de confianza preferidos son al menos 90%, al menos 95%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99%. Los valores p son, preferentemente,
 45 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 o 0,0001.

En general, un acontecimiento adverso como se especifica en otra parte de la solicitud se produce en un plazo de 3 días, por ejemplo, 1 día o 2 días o 3 días, preferentemente 3 días, según lo determinado por la creatinina o la TFG.

50 "Control" como se usa en el presente documento se refiere a un seguimiento del estado fisiopatológico del correspondiente individuo con respecto a los acontecimientos relacionados con la LRA, en particular, la propia LRA, la necesidad de diálisis, la aparición y/o progresión de la enfermedad o la influencia de un tratamiento particular en la progresión de la enfermedad. El diagnóstico, como se usa en el presente documento, se refiere a análisis y seguimiento de la enfermedad en cuestión. En particular, diagnosticar significa analizar la patología de partes
 55 específicas de un órgano (por ejemplo, glomérulos, túbulos y asas de Henle del riñón) y la estimación de la magnitud de los daños y la reparación (por ejemplo, en el caso de los túbulos).

El término "sujeto", como se utiliza en el presente documento, se refiere a animales, preferentemente mamíferos y más preferentemente, seres humanos. Sin embargo, mediante la presente invención se prevé que el sujeto,
 60 preferentemente, sea aparentemente sano, en particular con respecto a la función renal (basado en la tasa de filtración glomerular (TFG) y/o los niveles de creatinina sérica). Se considera que una TFG \geq aproximadamente 60 ml/min/1,73 m² (es decir, la tasa de filtración por 1,73 m² de peso corporal), dentro del contexto de la presente invención, indica un sujeto aparentemente saludable. Se considera que un valor de creatinina en suero de \leq 1,3, preferentemente \leq 1,2 mg/dl indica, en el contexto de la presente invención, un sujeto aparentemente saludable. El
 65 límite del valor de la creatinina sérica citado anteriormente de manera general corresponde al límite superior de la normalidad del procedimiento de ensayo.

En el contexto de la presente invención, la expresión "aparentemente sano" se conoce por el experto en la técnica y se refiere a un sujeto que no muestra signos obvios de una enfermedad subyacente. En el presente documento, la enfermedad está relacionada con una función renal deteriorada, en particular con respecto a la TFG, por ejemplo en base al aclaramiento de creatinina, en particular su límite superior como se ha especificado en lo que antecede. El sujeto, por lo tanto, puede sufrir una función renal deteriorada según se define a continuación, pero preferentemente no muestra signos obvios de tal manera que se pueda diagnosticar una función renal alterada o evaluar sin un examen diagnóstico detallado realizado por un médico. En particular, sería necesario un diagnóstico por un especialista (por ejemplo, un nefrólogo) para diagnosticar insuficiencia renal en el sujeto aparentemente saludable que no muestra síntomas evidentes de la enfermedad. El término "insuficiencia renal" también puede denominarse "trastorno renal", en el contexto de la presente invención. Un ejemplo de un trastorno renal es "insuficiencia renal".

El término "función renal", como se usa en el presente documento, se conoce bien por el experto en la técnica. Se puede usar de forma intercambiable con "función del riñón" y se refiere a la capacidad del riñón para la producción de orina, el control y la eliminación de líquidos corporales y agua corporal y la homeostasis y la filtración de los electrolitos y los desechos y con frecuencia, la síntesis de eritropoyetina.

Uno de los primeros indicios de deterioro de la función renal (insuficiencia renal), como se usa en la presente solicitud es la presencia de proteínas en la orina (micro o macroalbuminuria).

En la insuficiencia renal, la función renal no es adecuada, lo que da lugar a la disminución de la producción de orina, la acumulación de agua corporal y alteración de los fluidos corporales y acumulación de electrolitos y desechos que se eliminan mediante filtración en los riñones sanos. Por otra parte, con frecuencia se observa anemia como consecuencia de la disminución de la síntesis de eritropoyetina.

La función renal se evalúa utilizando los valores calculados a partir de las fórmulas basadas en los resultados de las pruebas de sangre y orina, en general la TFG (el volumen de sangre filtrada a través de los riñones por minuto) y/o el aclaramiento de creatinina.

La TFG es la mejor medida general de la función renal expresada en ml/min. La TFG normal en adultos jóvenes y sanos es de aproximadamente 120 a 130 ml/min/1,73 m² y disminuye con la edad hasta aproximadamente 75 ml/min/1,73 m² a la edad de 70 años. La enfermedad renal crónica se define por una TFG ≤ 60 ml/min 1,73 m² durante ≥ 3 meses. El valor de referencia para la medición de la TFG es el aclaramiento de inulina. La inulina ni se absorbe ni es secretada en los túbulos renales y por lo tanto, es el marcador ideal para la evaluación de la función renal. Sin embargo, su medición es engorrosa y por tanto se utiliza sobre todo en entornos de investigación.

La creatinina se produce a una tasa constante por el metabolismo muscular y se filtra libremente en los glomérulos y también es secretada por los túbulos renales. Debido a que la creatinina es secretada, el aclaramiento de creatinina (CrCl) sobreestima la TFG en aproximadamente un 10 a 20% en personas con función renal normal y hasta un 50% en aquellos con insuficiencia renal avanzada.

Debido a que la creatinina sérica por sí misma es insuficiente para la evaluación de la función renal, se han ideado varias fórmulas para estimar el CrCl usando la creatinina sérica y otros factores. La fórmula de Cockcroft y Gault se puede utilizar para estimar el CrCl. Utiliza la edad, el peso corporal magro y el nivel de creatinina sérica. Se basa en la premisa de que la producción diaria de creatinina es 28 mg/kg/día con una disminución de 0,2 mg/año de edad.

El experto en la técnica conoce la lesión renal aguda (LRA), así como la enfermedad renal crónica (ERC) y generalmente se reconoce que hacen referencia a insuficiencia renal según lo determinado por la TFG o el aclaramiento de creatinina.

La ERC se conoce como una pérdida de la función renal que puede empeorar durante un período de meses o incluso años. Los síntomas de empeoramiento de la función renal son inespecíficos. En la ERC, la tasa de filtración glomerular se reduce significativamente, lo que da lugar a una disminución de la capacidad de los riñones para excretar los productos de desecho mediante el agua y la filtración de solutos. Los niveles de creatinina pueden ser normales en las primeras etapas de la enfermedad renal crónica. La ERC no es reversible. La gravedad de la enfermedad renal crónica se clasifica en cinco etapas, siendo la etapa 1 la más suave y por lo general con pocos síntomas. La etapa 5 constituye una enfermedad grave, e incluye una esperanza de vida mala, y también se conoce como enfermedad renal en etapa terminal (ESRD), la insuficiencia renal crónica (IRC) o insuficiencia de riñón crónica (IRC).

La lesión renal aguda (LRA), anteriormente también denominada insuficiencia renal aguda (IRA), es una pérdida rápida de la función renal que se puede producir por diversas razones, incluyendo shock, bajo volumen de sangre, exposición a compuestos nefrotóxicos y la congestión orina tras una obstrucción de la uretra. Al contrario que la ERC, la LRA puede ser reversible. La LRA se diagnostica sobre la base de los niveles de creatinina, índices urinarios como el nitrógeno ureico en sangre (BUN), la aparición de sedimento urinario, además de la historia clínica. Un incremento diario progresivo de la creatinina sérica se considera diagnóstico de LRA.

La LRA se caracteriza por una rápida disminución de la tasa de filtración glomerular durante horas o días, en particular de al menos 0,3 mg/dl en un plazo de 3 días.

5 La LRA es heterogénea en cuanto a sus causas subyacentes, que comprenden las causas que ocurren en una situación de hipoperfusión renal (prerrenal), las causas que se producen en compartimentos predominantes del riñón (intrínseca o renal) y las causas relacionadas con la obstrucción de las vías urinarias (posrenal).

10 Las causas prerrenales de la LRA son aquellas que disminuyen un flujo de sangre eficaz en el riñón. Estas incluyen causas sistémicas, como el volumen sanguíneo bajo, la hipotensión y la insuficiencia cardíaca, así como los cambios locales en los vasos sanguíneos que irrigan el riñón. Estos últimos incluyen estenosis de la arteria renal (estrechamiento de la arteria renal) y trombosis de la vena renal (formación de coágulos de sangre en la vena renal). Para ser más precisos, las causas prerrenales incluyen hipovolemia, tal como hemorragia grave, pérdida de fluido gastrointestinal (por ejemplo, a causa de una diarrea), pérdida de fluido renal (por ejemplo, causada por los diuréticos), retención extravascular (por ejemplo, causada por quemaduras o hipoalbuminemia grave), o disminución de la ingesta (por ejemplo, deshidratación). Asimismo, la hemodinámica alterada pueden ser la causa de la insuficiencia renal aguda prerrenal, esto incluye un gasto cardíaco bajo, vasodilatación sistémica, vasoconstricción renal, deterioro de las respuestas de autorregulación renal o síndrome hepatorenal.

20 Las causas intrínsecas o renales de LRA son las que se producen en el propio riñón e incluyen daños en los glomérulos, los túbulos renales, o el intersticio, cada uno causado por glomerulonefritis, necrosis tubular aguda (NTA) y nefritis intersticial aguda (NTA), respectivamente. Para ser más precisos, las causas intrínsecas o renales incluyen obstrucción de la arteria renal, enfermedades de los glomérulos o la vasculatura, necrosis tubular aguda (que incluye infecciones y también fármacos tales como agentes de radiocontraste, antibióticos y quimioterapia) nefritis intersticial y obstrucción intratubular.

25 Las causas posrenales de LRA comprenden obstrucción del tracto urinario (del uréter, la uretra y/o el cuello de la vejiga). Esto puede estar relacionado con hiperplasia prostática benigna, cálculos renales u obstrucción de un catéter urinario.

30 Un signo clínico precoz de LRA es la oliguria con una disminución de la diuresis inferior a 400 ml/día asociados con la sobrecarga de líquido extracelular. También se pueden observar anomalías en los electrolitos y los ácidos/bases, seguido en última instancia por un aumento de la urea y la creatinina. Si bien las causas posrenales de insuficiencia renal aguda se pueden diagnosticar por imagen y en concreto mediante ecografía, las causas prerrenales e intrínsecas de la insuficiencia renal aguda no se pueden diagnosticar mediante técnicas de imagen.

35 Se supone que los marcadores utilizados en el contexto de la presente invención indican un tipo específico de daños o lesiones en los riñones o partes de los mismos. Se supone que la L-FABP y la NGAL son marcadores de daño tubular. La albúmina y la adiponectina se supone que son marcadores de daño glomerular.

40 En el contexto de la presente invención, la expresión "daño tubular" se refiere a lesiones epiteliales en las células de los túbulos. Preferentemente, el daño tubular es una consecuencia de, o sigue a, una disfunción cardíaca existente y/o una enfermedad cardiovascular, incluyendo enfermedad de las arterias coronarias e insuficiencia cardíaca. La presente invención se refiere, preferentemente, a un daño tubular crónico. Se cree que en el daño tubular, las células tubulares se convierten en isquémicas después de la insuficiencia cardíaca, pero también se cree que los túbulos han conservado su funcionalidad dentro del riñón por completo o al menos en su mayor parte o en una gran parte. Esto significa que la función renal no está alterada o solo está afectada en menor medida, de tal manera que no se diagnosticarán CKD o LRA. En el daño tubular, las células de los túbulos pueden convertirse en disfuncionales, en general por la necrosis y morir. Sin embargo, es posible regeneración del epitelio tubular después de la isquemia e incluso después de necrosis, lo que se denomina "reparación tubular" en el contexto de la presente invención. Como la presente invención se refiere preferentemente a la lesión tubular crónica, asimismo se refiere a la reparación tubular crónica o a la reparación tubular del daño tubular crónico.

55 En el contexto de la presente invención, la expresión "daño glomerular" se refiere a una lesión en las células epiteliales del glomérulo. Preferentemente, el daño glomerular es una consecuencia de, o sigue a, una disfunción cardíaca existente y/o una enfermedad cardiovascular, incluyendo enfermedad de las arterias coronarias e insuficiencia cardíaca. La presente invención se refiere, preferentemente, a un daño glomerular crónico. Se cree que en el daño glomerular, las células del glomérulo se convierten en isquémicas después de la insuficiencia cardíaca, pero también se cree que glomérulos han conservado su funcionalidad dentro del riñón por completo o al menos en su mayor parte o en gran parte. Esto significa que la función renal no está alterada o solo está afectada en menor medida, de tal manera que no se diagnosticarán CKD o LRA. En el daño glomerular, las células glomerulares pueden convertirse en disfuncionales, en general por la necrosis y morir. Sin embargo, es posible la regeneración del epitelio glomerular después de la isquemia e incluso después de la necrosis, lo que se denomina "reparación glomerular" en el contexto de la presente invención. Como la presente invención se refiere preferentemente a la lesión glomerular crónica, también se refiere a la reparación glomerular crónica o a la reparación glomerular del daño glomerular crónico.

La insuficiencia renal se produce a medida que la ERC progresa (insuficiencia renal crónica). La insuficiencia renal también se produce como consecuencia de LRA (insuficiencia renal aguda). Las etapas graves de la insuficiencia renal requieren diálisis y se pueden tratar con trasplante renal, según el caso. La insuficiencia renal aguda puede ser reversible. La LRA también puede progresar hasta la muerte.

En este contexto, se considera que la expresión "trastorno renal" está relacionada, preferentemente, con cualquier enfermedad, lesión o disfunción del riñón, o afecta al riñón, más particularmente afecta a la capacidad del riñón para eliminar los desechos y/o ultrafiltración. Ejemplos de trastornos renales incluyen trastornos congénitos y trastornos adquiridos.

La expresión "proteína de unión de ácidos grasos de tipo hepático" (L-FABP, con frecuencia denominada también FABP1 en el presente documento, también conocida proteína de unión de ácidos grasos hepáticos) se refiere a un polipéptido que es una proteína de unión de ácidos grasos de tipo hepático y a una variante de la misma. La proteína de unión de ácidos grasos de tipo hepático es una proteína transportadora intracelular de ácidos grasos libres que se expresa en los túbulos proximales del riñón humano. Para una secuencia de L-FABP humana, véase, por ejemplo, Chan et al., Human liver fatty acid binding protein cDNA and amino acid sequence, Functional and evolutionary implications, J. Biol. Chem. 260 (5), 2629-2632 (1985) o Número de acceso en GenBank M10.617.1.

Como la L-FABP se determina preferentemente en una muestra de orina del sujeto correspondiente, también se puede denominar, en el contexto de la presente invención, "proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático urinaria" o L-FABP "urinaria".

El término "L-FABP" abarca también variantes de L-FABP, preferentemente, de la L-FABP humana. Tales variantes tienen al menos las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales que la L-FABP, es decir, se fijan a los ácidos grasos libres y/o colesterol y/o retinoides, y/o están involucradas en el transporte de lípidos intracelulares. En particular, comparten las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales si son detectables por los mismos ensayos específicos mencionados en la presente memoria descriptiva, por ejemplo, mediante ensayos ELISA que usan anticuerpos policlonales o monoclonales que reconocen específicamente la L-FABP. Por otra parte, ha de entenderse que una variante a la que se hace referencia de acuerdo con la presente invención tendrá una secuencia de aminoácidos que difiere debido a una sustitución, delección y/o adición de al menos un aminoácido, en la que la secuencia de aminoácidos de la variante es, todavía, preferentemente, al menos un 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia amino de la L-FABP humana. Cómo determinar el grado de identidad se especifica en este documento. Las variantes pueden ser variantes alélicas o cualquier otro homólogo, parálogo u ortólogo específico de especie. Por otra parte, las variantes a las que se hace referencia en el presente documento incluyen fragmentos de L-FABP o los tipos mencionados anteriormente de variantes, siempre que estos fragmentos tengan las propiedades inmunológicas y biológicas esenciales a las que se ha hecho referencia anteriormente. Tales fragmentos pueden ser, por ejemplo, productos de degradación de la L-FABP. Además se incluyen las variantes que difieren debido a modificaciones postraduccionales como fosforilación o miristilación. El término "L-FABP", preferentemente, no incluye FABP de corazón, FABP de cerebro y FABP de intestino.

La adiponectina es un polipéptido (una de varias adipocitocinas conocidas) secretada por el adipocito. En la técnica, la adiponectina con frecuencia también se denomina Acrp30 y apM1. Recientemente se ha demostrado que la adiponectina posee varias actividades tales como actividades antiinflamatorias, antiaterogénicas, preventivas del síndrome metabólico y sensibilizadores a la insulina. La adiponectina está codificada por un solo gen y tiene 244 aminoácidos, su peso molecular es de aproximadamente 30 kilodaltons. La proteína adiponectina humana madura abarca los aminoácidos 19 a 244 de la adiponectina de longitud completa. Se piensa que un dominio globular abarca los aminoácidos 107 a 244 de la adiponectina de longitud completa. La secuencia del polipéptido de adiponectina se conoce bien en la técnica y por ejemplo, se da a conocer en el documento WO/2008/084003. La adiponectina es la adipocina más abundante secretada por los adipocitos. Los adipocitos son células secretoras endocrinas que liberan ácidos grasos libres y producen, además de adiponectina, varias citocinas tales como el factor de necrosis tumoral (TNF) alfa, leptina y las interleucinas.

En general se supone que la adiponectina sensibiliza al cuerpo a la insulina. En los pacientes con diabetes y síndrome metabólico se observa disminución de los niveles en sangre de adiponectina y se cree que desempeñan un papel clave en la resistencia a la insulina (véase, por ejemplo Han et al. Journal of the American College of Cardiology, Vol. 49 (5) 531 -8).

La adiponectina se asocia en estructuras más grandes. Tres polipéptidos de adiponectina se unen entre sí y forman un homotrímero. Estos trímeros se unen entre sí para formar hexámeros o dodecámeros. Se sabe que la adiponectina existe en una amplia gama de complejos de multímeros en plasma y se combina a través de su dominio de colágeno para crear 3 formas oligoméricas principales: un trímero de bajo peso molecular (LMW), un hexámero de peso molecular medio (MMW) y adiponectina de 12 a 18 unidades de alto peso molecular (HMW) (Kadowaki et al (2006) Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. J Clin Invest 116 (7): 1784-1792; Rexford S. Ahima, Obesity 2006; 14: 242S-249S). Se ha comunicado

que la adiponectina tiene varias acciones fisiológicas, tales como actividades de protección contra la aterosclerosis, mejora de la sensibilidad a la insulina y prevención de la fibrosis hepática.

5 La adiponectina como se utiliza en el presente documento, preferentemente, se refiere a la adiponectina total, que abarca la adiponectina de bajo peso molecular, la adiponectina de peso molecular medio y la adiponectina de peso molecular alto. Los expertos entienden los términos adiponectina de alto peso molecular, adiponectina de peso molecular medio y bajo y adiponectina total. Preferentemente, dicha adiponectina es la adiponectina humana. Los procedimientos para la determinación de adiponectina se divulgan en, por ejemplo, el documento US 2007/0042424 así como en el documento WO/2008/084003. La cantidad de adiponectina se determina en una muestra de orina.

10 La adiponectina a la que se hace referencia de acuerdo con la presente invención abarca además variantes alélicas y otras variantes de dicha secuencia específica de la adiponectina humana tratada anteriormente. Específicamente, se conciben variantes de polipéptidos que están a nivel de aminoácidos, preferentemente al menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, o 99% idéntica, a la adiponectina humana. El grado de identidad entre dos secuencias de aminoácidos se puede determinar mediante algoritmos bien conocidos en la técnica. Preferentemente, el grado de identidad se determina comparando dos secuencias óptimamente alineadas sobre una ventana de comparación, en la que el fragmento de la secuencia de aminoácidos en la ventana de comparación puede comprender adiciones o deleciones (por ejemplo, huecos o salientes) en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones ni deleciones) para una alineación óptima. El porcentaje se calcula determinando el número de posiciones en las que el residuo de aminoácido idéntico está en ambas secuencias para dar el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la ventana de comparación y multiplicando el resultado por 100 para dar el porcentaje de identidad de secuencia. La alineación óptima de secuencias para comparación puede realizarse por el algoritmo de homología local de Smith y Waterman Add. APL. Math. 2: 482 (1981), mediante el algoritmo de alineación de homología de Needleman y Wunsch J. Mol. Biol. 48: 443 (1970), mediante el procedimiento de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman Proc. Natl. Acad. Sci. (EE.UU.) 85: 2444 (1988), mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, BLAST, PASTAS y TFASTA en el paquete de software de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group (GCG), 575 Science Dr., Madison, WI) o mediante inspección visual. Dado que las dos secuencias se han identificado para la comparación, GAP y BESTFIT se emplean preferentemente para determinar su alineación óptima y por tanto, el grado de identidad. Preferentemente, se utilizan los valores por defecto de 5,00 para el peso vacío y 0,30 para la longitud del peso del hueco. Las variantes mencionadas en lo que antecede pueden ser variantes alélicas o cualquier otro homólogo, parólogo u ortólogo específico de especie. Sustancialmente similares y también contemplados se encuentran los productos de degradación proteolítica que aún son reconocidos por los medios diagnósticos o por ligandos dirigidos contra el respectivo péptido de longitud completa. También se abarcan variantes de polipéptidos que tienen deleciones, sustituciones, y/o adiciones de aminoácidos en comparación con la secuencia de aminoácidos de la adiponectina humana, siempre y cuando dichos polipéptidos tengan propiedades de adiponectina, en particular las propiedades de sensibilización a la insulina.

40 El término "albúmina" se refiere a una a una proteína globular que se encuentra principalmente en la sangre. Alcanzan una concentración de 3,5 g/dl a 4,5 g/dl y representan aproximadamente el 60% de las proteínas plasmáticas. La albúmina es, preferentemente, albúmina humana. La albúmina madura humana comprende 585 aminoácidos y tiene un peso molecular de aproximadamente 66.470 Da. La preproteína tiene, preferentemente, una secuencia de aminoácidos según se define en la secuencia de referencia NCBI NP_000468.1. La albúmina desempeña un papel importante en el mantenimiento de la presión osmótica coloidal de la sangre, transporta los ácidos grasos libres, las hormonas tiroideas, la bilirrubina no conjugada y muchos fármacos. Además, tampona el pH de la sangre.

50 El término "albúmina" abarca también variantes de la albúmina, preferentemente, de albúmina humana. Tales variantes tienen al menos las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales que la albúmina, es decir, mantener la presión osmótica coloidal de la sangre, y/o el transporte de ácidos grasos libres, y/o el transporte de las hormonas tiroideas, y/o transporte de la bilirrubina no conjugada, y/o tampón del pH de la sangre. En particular, comparten las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales si son detectables por los mismos ensayos específicos mencionados en esta memoria descriptiva, por ejemplo, mediante ensayos ELISA que utilizan anticuerpos policlonales o monoclonales que reconocen específicamente la albúmina. Por otra parte, ha de entenderse que una variante a la que se ha hecho referencia de acuerdo con la presente invención tendrá una secuencia de aminoácidos que difiere debido a sustitución, deleción y/o adición de al menos un aminoácido en el que la secuencia de aminoácidos de la variante es, todavía preferentemente, al menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la albúmina humana. Cómo determinar el grado de identidad se especifica en este documento. Las variantes pueden ser variantes alélicas o cualquier homólogo, parólogo u ortólogo específico de especie. Por otra parte, las variantes a las que se hace referencia en el presente documento incluyen fragmentos de albúmina o los tipos de variantes mencionados anteriormente, siempre que estos fragmentos tengan las propiedades inmunológicas y biológicas esenciales a las que se ha hecho referencia anteriormente. Tales fragmentos pueden ser, por ejemplo, productos de degradación de la albúmina. Además se incluyen las variantes que difieren debido a modificaciones postraduccionales como fosforilación o miristilación.

La expresión "proteína asociada con la gelatinasa de neutrófilos" (NGAL) se refiere a una proteína que tiene una masa molecular de 25 kDa en su forma glicosilada y de aproximadamente 21 kDa en su forma desglucosilada. Comprende 178 aminoácidos y tiene una secuencia de aminoácidos tal como describieron Kjeldsen et al. en 1993 (Journal of Biological Chemistry, 268: 10.425 -10.432). A veces se encuentra como un heterodímero con gelatinasa de neutrófilos humanos (matriz metaloproteínasa 9). Algunos signos indican que la unión de NGAL evita la degradación de la matriz metaloproteínasa 9 (Yan et al, 2001, Journal of Biological Chemistry, 276: 37258-37265). Se sabe que la expresión de NGAL está regulada por aumento en los pacientes con disfunción renal aguda, sobre todo después de lesión isquémica renal (Wagener et al, 2006, Anesthesiology, 105: 485-491).

El término "NGAL" abarca también variantes de NGAL, preferentemente, de NGAL humana. Tales variantes tienen al menos las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales que la NGAL, es decir, prevenir la degradación de la matriz metaloproteínasa 9. En particular, comparten las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales si son detectables por los mismos ensayos específicos mencionados en la presente especificación, por ejemplo, mediante ensayos ELISA que usan anticuerpos policlonales o monoclonales que reconocen específicamente la NGAL. Por otra parte, ha de entenderse que una variante a la que se hace referencia de acuerdo con la presente invención tiene una secuencia de aminoácidos que difiere por sustitución, delección y/o adición de por lo menos un aminoácido, en la que la secuencia de aminoácidos de la variante es, preferentemente, al menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, o 99% idéntica a la secuencia amino de la NGAL humana. Cómo determinar el grado de identidad se especifica en el presente documento. Las variantes pueden ser variantes alélicas o cualquier homólogo, parálogo u ortólogo específico de especie. Por otra parte, las variantes a las que se hace referencia en el presente documento incluyen fragmentos de NGAL o los tipos de variantes mencionados anteriormente, siempre que estos fragmentos tengan las propiedades inmunológicas y biológicas esenciales a las que se ha hecho referencia anteriormente. Tales fragmentos pueden ser, por ejemplo, productos de degradación de la NGAL. Además se incluyen las variantes que difieren debido a modificaciones postraduccionales como fosforilación o miristilación.

La determinación de la cantidad de adiponectina o una variante de la misma, L-FABP o una variante de la misma, albúmina o una variante de la misma, NGAL o una variante de la misma o cualquier otro péptido o polipéptido al que se hace referencia en esta memoria descriptiva se refiere a la medición de la cantidad o concentración, preferentemente semicuantitativamente o cuantitativamente. La medición puede realizarse directa o indirectamente. La medición directa se refiere a la medición de la cantidad o la concentración del péptido o polipéptido basándose en una señal que se obtiene a partir del péptido o polipéptido en sí y cuya intensidad se correlaciona con el número de moléculas del péptido presentes en la muestra. Dicha señal, que a veces se denomina en la presente memoria señal de intensidad, se puede obtener, por ejemplo, midiendo un valor de intensidad de una propiedad física o química específica del péptido o polipéptido. La medición indirecta incluye la medición de una señal obtenida de un componente secundario (es decir, no siendo un componente el propio péptido o polipéptido) o un sistema de lectura biológico, por ejemplo, respuestas celulares medibles, ligandos, marcadores, o productos de reacción enzimática.

De acuerdo con la presente invención, la determinación de la cantidad de un péptido o polipéptido puede lograrse por todos los medios conocidos para determinar la cantidad de un péptido en una muestra. Dichos medios comprenden dispositivos y procedimientos que pueden utilizar moléculas marcadas en varios formatos de ensayos de tipo sándwich, competición o de otro tipo. Dichos ensayos desarrollarán una señal que es indicativa de la presencia o ausencia del péptido o polipéptido. Además, la intensidad de la señal puede, preferentemente, estar correlacionada directa o indirectamente (por ejemplo inversa proporcional) con la cantidad de polipéptido presente en una muestra. Además los procedimientos adecuados comprenden medir una propiedad física o química específica del péptido o polipéptido, tal como su masa molecular exacta o espectro de RMN. Dichos procedimientos comprenden, preferentemente, biosensores, dispositivos ópticos acoplados a inmunoensayos, biochips, dispositivos analíticos como espectrómetros, analizadores de RMN, o dispositivos de cromatografía. Además, los procedimientos incluyen procedimientos de microplacas basados en ELISA, inmunoensayos totalmente automatizados o robóticos (disponibles por ejemplo en los analizadores Elecsys™), CBA (un ensayo enzimático de unión a cobalto, disponible por ejemplo en los analizadores Roche-Hitachi™) y ensayos de aglutinación de látex (disponibles, por ejemplo, en los analizadores Roche-Hitachi™).

Preferentemente, la determinación de la cantidad de un péptido o polipéptido comprende las etapas de (a) poner en contacto una célula capaz de provocar una respuesta celular cuya intensidad es indicativa de la cantidad del péptido o polipéptido, con dicho péptido o polipéptido durante un período adecuado de tiempo, (β) medir la respuesta celular. Para la medición de las respuestas celulares, la muestra o muestra procesada se añade, preferentemente, a un cultivo celular y se mide una respuesta celular interna o externa. La respuesta celular puede incluir la expresión mensurable de un gen indicador o la secreción de una sustancia, por ejemplo un péptido, polipéptido o una molécula pequeña. La expresión o sustancia generará una señal de intensidad que se correlaciona con la cantidad de péptido o polipéptido.

También preferentemente, determinar la cantidad de un péptido o polipéptido comprende la etapa de medir la intensidad de una señal específica obtenible a partir del péptido o polipéptido en la muestra. Como se ha descrito anteriormente, una señal de este tipo puede ser la intensidad de señal observada en una variable m/z específica del

péptido o polipéptido observado en los espectros de masas o en un espectro de RMN específico del péptido o polipéptido.

5 La determinación de la cantidad de un péptido o polipéptido puede, preferentemente, comprender las etapas de (α)
poner en contacto el péptido con un ligando específico, (opcionalmente) eliminando el ligando no unido, (β) medir la
cantidad de ligando unido. El ligando unido generará una intensidad señal. La unión de acuerdo con la presente
invención incluye unión tanto covalente como no covalente, un ligando de acuerdo con la presente invención puede
ser cualquier compuesto, por ejemplo, un péptido, polipéptido, ácido nucleico, o una molécula pequeña, que se une
10 al péptido o polipéptido descrito en la presente memoria. Los ligandos preferidos incluyen anticuerpos, ácidos
nucleicos, péptidos o polipéptidos tales como receptores o compañeros de unión para el péptido o polipéptido y
fragmentos de los mismos que comprenden los dominios de unión a los péptidos y aptámeros, por ejemplo, ácido
nucleico o aptámeros peptídicos. Procedimientos para preparar tales ligandos se conocen bien en la técnica. Por
ejemplo, la identificación y producción de anticuerpos o aptámeros adecuados también las ofrecen los proveedores
15 comerciales. El experto en la técnica está familiarizado con los procedimientos para desarrollar derivados de dichos
ligandos con mayor afinidad o especificidad. Por ejemplo, pueden introducirse mutaciones aleatorias en los ácidos
nucleicos, péptidos o polipéptidos. Después, puede analizarse la unión de estos derivados pueden de acuerdo con
procedimientos de cribado conocidos en la técnica, por ejemplo, presentación en fagos. Los anticuerpos como se
refiere en el presente documento incluyen anticuerpos tanto policlonales como monoclonales, así como fragmentos
20 de los mismos, tales como Fv, Fab y F(ab)₂ fragmentos que son capaces de unirse al antígeno o hapteno. La
presente invención también incluye anticuerpos de cadena sencilla y anticuerpos híbridos humanizados en los que
las secuencias de aminoácidos de un anticuerpo donante no humano que exhiben una especificidad de antígeno
deseada se combinan con secuencias de un anticuerpo aceptor humano. Las secuencias donantes incluirán
normalmente al menos los residuos de aminoácidos de unión a antígeno del donante pero pueden comprender otros
25 residuos de aminoácidos estructuralmente y/o funcionalmente relevantes del anticuerpo donante también. Tales
híbridos se pueden preparar mediante varios procedimientos bien conocidos en la técnica. Preferentemente, el
ligando o agente se une específicamente al péptido o polipéptido. Unión específica de acuerdo con la presente
invención significa que el ligando o agente no debe unirse sustancialmente a ("reacción cruzada" con) otro péptido,
polipéptido o sustancia presente en la muestra a analizar. Preferentemente, el péptido o polipéptido unido
30 específicamente deben unirse con una afinidad al menos 3 veces mayor, más preferentemente al menos 10 veces
mayor e incluso más preferentemente al menos 50 veces mayor que cualquier otro péptido o polipéptido relevante.
La unión inespecífica puede ser tolerable, si todavía se puede distinguir y medir de forma inequívoca, por ejemplo,
de acuerdo con su tamaño en una transferencia de tipo Western o por su relativamente mayor abundancia en la
muestra. La unión del ligando puede medirse por cualquier procedimiento conocido en la técnica. Preferentemente,
dicho procedimiento es semicuantitativo o cuantitativo. Los procedimientos adecuados se describen a continuación.

35 Preferentemente, el término "anticuerpo" se refiere a un anticuerpo de unión a un péptido seleccionado del grupo
que consiste en L-FABP o una variante de la misma, adiponectina o una variante de la misma, albúmina o una
variante de la misma y NGAL o una variante de la misma.

40 En primer lugar, la unión de un ligando puede medirse directamente, por ejemplo, por RMN o resonancia de plasmón
superficial.

En segundo lugar, si el ligando también sirve como sustrato de una actividad enzimática del péptido o polipéptido de
interés, se puede medir un producto de la reacción enzimática (por ejemplo, la cantidad de una proteasa puede
45 medirse midiendo la cantidad de sustrato escindido, por ejemplo, en una transferencia de tipo Western). Como
alternativa, el ligando puede presentar por sí mismo propiedades enzimáticas y el complejo "ligando/péptido o
polipéptido" o ligando unido por el péptido o polipéptido, respectivamente, pueden ponerse en contacto con un
sustrato adecuado que permite la detección mediante la generación de una señal de intensidad. Para la medición de
los productos de reacción enzimática, preferentemente la cantidad de sustrato es saturante. El sustrato también
50 puede marcarse con un marcador detectable antes de la reacción. Preferentemente, la muestra se pone en contacto
con el sustrato durante un período de tiempo adecuado. Un período de tiempo adecuado se refiere al tiempo
necesario para producir una cantidad detectable, preferentemente medible, de producto. En lugar de medir la
cantidad de producto, se puede medir el tiempo necesario para la aparición de una cantidad dada (por ejemplo
detectable) del producto.

55 En tercer lugar, el ligando puede acoplarse covalentemente o no covalentemente a un marcador que permite la
detección y medición del ligando. El marcaje puede hacerse por procedimientos directos o indirectos. El marcaje
directo implica el acoplamiento del marcador directamente (covalentemente o no covalentemente) al ligando. El
marcaje indirecto implica la unión (covalente o no covalente) de un ligando secundario al primer ligando. El ligando
60 secundario debe unirse específicamente al primer ligando. Dicho ligando secundario puede acoplarse con un
marcador adecuado y/o ser la diana (receptor) de un ligando terciario que se une al ligando secundario. El uso de
ligandos de orden secundario, terciario o incluso superior se utiliza a menudo para aumentar la señal. Los ligandos
de orden secundario y superior adecuados pueden incluir anticuerpos, anticuerpos secundarios y el conocido
sistema de estreptavidina-biotina (Vector Laboratories, Inc.). El ligando o sustrato también puede "marcarse" con uno
65 o más marcadores como se conoce en la técnica. Tales marcadores pueden ser objetivos para ligandos de orden
superior. Marcadores adecuados incluyen biotina, digoxigenina, His-Tag, Glutación-S-transferasa, FLAG, GFP, myc-

tag, hemaglutinina del virus de la gripe A (HA), proteína de unión a maltosa y similares. En el caso de un péptido o polipéptido, el marcador está preferentemente en el extremo N-terminal y/o C-terminal. Los marcadores adecuados son cualesquiera marcadores detectables mediante un procedimiento de detección apropiado. Marcadores típicos incluyen partículas de oro, perlas de látex, éster de acridano, luminol, rutenio, marcadores enzimáticamente activos, marcadores radiactivos, marcadores magnéticos (por ejemplo "esferas magnéticas", incluyendo marcadores paramagnéticos y superparamagnéticos) y marcadores fluorescentes. Marcadores enzimáticamente activos incluyen, por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa, luciferasa y derivados de los mismos. Los sustratos adecuados para la detección incluyen di-amino-bencidina (DAB), la 3,3'-5,5'-tetrametilbencidina, NBT-BCIP (cloruro de 4-nitro azul de tetrazolio y 5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato, disponible como solución madre lista de Roche Diagnostics), CDP-Star™ (Amersham Biosciences), ECF™ (Amersham Biosciences). Una combinación enzima-sustrato adecuada puede dar como resultado un producto de reacción coloreado, de fluorescencia o quimioluminiscencia, que puede medirse de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica (por ejemplo, utilizando una película sensible a la luz o un sistema de cámara adecuado). En cuanto a la medición de la reacción enzimática, los criterios dados anteriormente se aplican de forma análoga. Marcadores fluorescentes típicos incluyen proteínas fluorescentes (tales como GFP y sus derivados), Cy3, Cy5, rojo Texas, fluoresceína y los colorantes Alexa (por ejemplo Alexa 568). Otros marcadores fluorescentes están disponibles por ejemplo, en Molecular Probes (Oregon). También se contempla el uso de puntos cuánticos como marcadores fluorescentes. Marcadores radiactivos típicos incluyen ³⁵S, ¹²⁵I, ³²P, ³³P y similares. Un marcador radiactivo puede detectarse por cualquier procedimiento conocido y apropiado, por ejemplo una película sensible a la luz o un generador de imágenes de fósforo. Procedimientos de medición adecuados según la presente invención también incluyen precipitación (particularmente inmunoprecipitación), electroquimioluminiscencia (quimioluminiscencia electrogenerada), RIA (radioinmunoensayo), ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima), pruebas inmunoenzimáticas de tipo sándwich, inmunoensayos de tipo sándwich de electroquimioluminiscencia (ECLIA), inmunoensayo de fluoro lantánido potenciado por disociación (DELFLIA), ensayo de proximidad de centelleo (SPA), turbidimetría, nefelometría, turbidimetría o nefelometría potenciada con látex o pruebas inmunológicas en fase sólida. Otros procedimientos conocidos en la técnica (tales como electroforesis en gel, electroforesis en gel 2D, electroforesis en gel de poli(acrilamida) SDS (SDS-PAGE), transferencia de tipo Western y espectrometría de masas), pueden utilizarse solos o en combinación con marcadores u otros procedimientos de detección como se ha descrito anteriormente.

La cantidad de un péptido o polipéptido puede determinarse, también preferentemente, del siguiente modo: (α) poner en contacto un soporte sólido que comprende un ligando para el péptido o polipéptido como se ha especificado anteriormente con una muestra que comprende el péptido o polipéptido y (β) medir la cantidad de péptido o polipéptido que se une al soporte. El ligando, preferentemente escogido de entre el grupo que consiste en ácidos nucleicos, péptidos, polipéptidos, anticuerpos y aptámeros, está preferentemente presente en un soporte sólido en forma inmovilizada. Materiales para la fabricación de soportes sólidos se conocen bien en la técnica e incluyen, entre otros, materiales de columna comercialmente disponibles, esferas de poliestireno, esferas de látex, esferas magnéticas, partículas coloidales de metal, chips y superficies de vidrio y/o silicio, tiras de nitrocelulosa, membranas, hojas, duracitos, pocillos y paredes de bandejas de reacción, tubos de plástico etc. El ligando o agente puede unirse a muchos vehículos diferentes. Ejemplos de vehículos bien conocidos incluyen vidrio, poliestireno, cloruro de polivinilo, polipropileno, polietileno, policarbonato, dextrano, nylon, amilosas, celulosas naturales y modificadas, poli(acrilamidas), agarosas y magnetita. La naturaleza del vehículo puede ser soluble o insoluble para los propósitos de la invención. Procedimientos adecuados para fijación/inmovilización de dicho ligando se conocen bien e incluyen, entre otros, interacciones iónicas, hidrofóbicas, covalentes y similares. También se contempla el uso de "matrices de suspensión" como matrices de acuerdo con la presente invención (Nolan 2002, Trends Biotechnol 20 (1): 9-12.). En dichas matrices en suspensión, el vehículo, por ejemplo, una microperla o microesfera, está presente en suspensión. La matriz consiste en diferentes microperlas o microesferas, posiblemente marcadas, que llevan diferentes ligandos. Procedimientos de producción de tales matrices, por ejemplo basados en química de fase sólida y grupos protectores foto-lábiles, son generalmente conocidos (documento US 5.744.305).

El término "cantidad", tal como se utiliza en el presente documento, abarca la cantidad absoluta de un polipéptido o péptido, la cantidad o concentración de dicho polipéptido o péptido, así como cualquier valor o parámetro que se correlaciona con el mismo o que se puede derivar del mismo. Dichos valores o parámetros comprenden valores de la señal de intensidad de todas las propiedades físicas o químicas específicas obtenidas a partir de dichos péptidos por mediciones directas, por ejemplo, valores de intensidad en los espectros de masa o espectros de RMN. Además, se abarca todos los valores o parámetros que se obtienen mediante mediciones indirectas especificadas en otra parte en esta descripción, por ejemplo, los niveles de respuesta determinados a partir de sistemas biológicos leídos en respuesta a los péptidos o señales de intensidad obtenidas de los ligandos unidos específicamente. Debe entenderse que los valores que se correlacionan con las cantidades o parámetros mencionados anteriormente también se pueden obtener mediante todas las operaciones matemáticas estándar.

El término "comparar", tal como se utiliza en el presente documento, abarca la comparación de la cantidad de péptido o polipéptido comprendido por la muestra a analizar con una cantidad de una fuente de referencia adecuada especificada en otra parte en esta descripción. Debe entenderse que la comparación como se usa en el presente documento, se refiere a una comparación de los correspondientes parámetros o valores, por ejemplo una cantidad absoluta se compara con una cantidad de referencia absoluta mientras que una concentración se compara con una

- concentración de referencia o una señal de intensidad obtenida a partir de una muestra de ensayo se compara con el mismo tipo de señal de intensidad de una muestra de referencia o una relación de cantidades se compara con una proporción de las cantidades de referencia. La comparación a la que se hace referencia en la etapa (c) del procedimiento de la presente invención puede llevarse a cabo manualmente o con asistencia por ordenador. Para una comparación asistida por ordenador, el valor de la cantidad determinada puede compararse con los valores correspondientes a las referencias adecuadas que se almacenan en una base de datos mediante un programa informático. El programa de ordenador puede evaluar adicionalmente el resultado de la comparación, es decir, proporciona automáticamente la evaluación deseada en un formato de salida adecuado.
- Basado en la comparación de la(s) cantidad(es) determinada(s) en la etapa a) con la(s) cantidad(es) de referencia adecuada(s), es posible predecir el riesgo de un individuo de padecer un acontecimiento adverso relacionado con la LRA. Debe entenderse que cantidades de L-FABP o una variante de la misma y en su caso, adiponectina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma y/o albúmina o una variante de la misma como se determina en la etapa (a) de los procedimientos de la presente invención se comparan en la etapa (b) con las cantidades de referencia de L-FABP o una variante de la misma y en su caso, la adiponectina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma y/o albúmina o una variante de la misma como se especifica en esta solicitud en otros lugares.
- El término "cantidades de referencia", como se utiliza en el presente documento, en esta realización de la invención se refiere a las cantidades de los polipéptidos que permiten diagnosticar si un individuo no tiene un mayor riesgo de padecer una lesión renal aguda relacionada con acontecimientos adversos después de la cirugía (en general, este sujeto es un sujeto fisiológicamente saludable), o un sujeto que no es saludable y tiene un mayor riesgo de padecer un acontecimiento adverso relacionado con la LRA después de la cirugía.
- Por lo tanto, las cantidades de referencia, en general, se pueden derivar de los sujetos que se sabe que están fisiológicamente sanos, o de sujetos que se sabe que sufren trastorno renal (que pueden estar aparentemente sanos), o de sujetos que se van a someter, o que ya se han sometido, a una CABG, o sujetos que se sabe que sufren trastorno renal y se van a someter, o que ya se han sometido, a una CABG.
- En consecuencia, el término "cantidad de referencia", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad que permite predecir el riesgo de sufrir un acontecimiento adverso relacionado con la LRA en un sujeto, en particular, la propia LRA, necesidad de hemodiálisis y/o la muerte y en el que las cantidades del(os) marcador(es) respectivo(s) se puede determinar antes de la intervención quirúrgica, preferentemente intervención relacionada con la enfermedad de las arterias coronarias, en particular, intervención CABG, a la que se va a someter el sujeto. La comparación con las cantidades de referencia permite predecir o estimar el riesgo de un sujeto/individuo de sufrir un acontecimiento adverso relacionado con la LRA en un sujeto, en particular, la propia LRA, necesidad de hemodiálisis y/o muerte. La necesidad del individuo de una intervención quirúrgica, preferentemente, se ha establecido antes de la determinación de los marcadores de la presente invención.
- Las cantidades de referencia para L-FABP o una variante de la misma y en su caso, la adiponectina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma y/o albúmina o una variante de la misma se pueden derivar de los sujetos según se han definido anteriormente en la presente invención que se va a someter o que se hayan sometido a una intervención quirúrgica, en particular, CABG y en la que se determinó el resultado en el sujeto, es decir aparición de LRA, necesidad de hemodiálisis y/o muerte. Las cantidades del péptido respectivo que sirven para establecer los cantidades de referencia se pueden determinar antes de la intervención quirúrgica. En una realización adicional de la presente invención, el o los marcadores se determinan en uno o varios puntos en el tiempo después de la intervención quirúrgica, por ejemplo, la intervención inmediatamente al terminar la intervención, o después de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 16, 18 o 24 horas.
- En todas las realizaciones de la presente invención, la cantidad/cantidades de los respectivos marcadores utilizados en las mismas (L-FABP o una variante de la misma y en su caso, adiponectina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma y/o albúmina o una variante de la misma) se determinan por procedimientos conocidos por el experto en la técnica.
- En general, para la determinación de la(s) cantidad(es) respectiva(s)/cantidad(es) o las proporciones de las cantidades que permiten establecer el diagnóstico deseado de acuerdo con la realización respectiva de la presente invención, ("umbral", "cantidad de referencia"), la cantidad(es)/cantidad(es) o proporciones de las cantidades del péptido o péptidos respectivos se determinan en los grupos de pacientes apropiados. De acuerdo con el diagnóstico que se establezca, el grupo de pacientes puede, por ejemplo, comprender solo individuos sanos, o puede comprender individuos sanos e individuos que sufren del estado fisiopatológico que se va a determinar, o puede comprender solo individuos que sufren el estado fisiopatológico que se va a determinar, o puede comprender individuos que sufren los diversos estados fisiopatológicos que se van a distinguir, por el o los marcador(es) respectivo(s) utilizando procedimientos analíticos validados. Los resultados que se obtienen se recogen y se analizan por procedimientos estadísticos conocidos por el experto en la técnica. Los valores umbral obtenidos se establecen después de conformidad con la probabilidad deseada de padecer la enfermedad y en relación con el valor umbral particular. Por ejemplo, puede ser útil elegir el valor de la mediana, el percentil 60, 70, 80, 90, 95 o incluso el 99

del colectivo de pacientes sanos y/o no sanos, con el fin de establecer el o los valores umbral, el o los valores de referencia o las proporciones de las cantidades.

5 Puede establecerse un valor de referencia de un marcador de diagnóstico y la cantidad del marcador en una muestra de paciente simplemente se puede comparar con el valor de referencia. La sensibilidad y especificidad de una prueba de diagnóstico y/o pronóstico depende de algo más que de la "calidad" de análisis de la prueba de que también dependen de la definición de lo que constituye un resultado anormal. En la práctica, las curvas características de funcionamiento del receptor, o curvas "ROC", se calculan normalmente trazando el valor de una variable en comparación con su frecuencia relativa en las poblaciones "de enfermedad" y "normales". Para cualquier marcador particular de la invención, probablemente se solapará una distribución de las cantidades del marcador para los sujetos con y sin enfermedad. En estas condiciones, una prueba no distingue absolutamente normal de la enfermedad con un 100% de precisión y la zona de solapamiento indica donde la prueba no puede distinguir la normalidad de la enfermedad. Se selecciona un umbral, por encima del que (o por debajo del que, dependiendo de cómo un marcador cambia con la enfermedad) la prueba se considera anormal y por debajo del que la prueba se considera normal. El área bajo la curva ROC es una medida de la probabilidad de que la medición percibida permitirá la identificación correcta de una afección. Curvas ROC se pueden utilizar incluso cuando los resultados de las pruebas no necesariamente dan un número exacto. Siempre que se puedan clasificar los resultados, se puede crear una curva ROC. Por ejemplo, los resultados de una prueba en muestras de "enfermedad" pueden clasificarse según el grado (por ejemplo 1= baja, 2 = normal y 3 = alta). Esta clasificación se puede correlacionar con resultados en la población "normal" y una curva ROC creada. Estos procedimientos se conocen bien en la técnica. Véase, por ejemplo, Hanley et al, Radiology 143: 29-36 (1982).

25 En ciertas realizaciones, los marcadores y/o paneles de marcadores se seleccionan para exhibir al menos aproximadamente el 70% de sensibilidad, más preferentemente al menos aproximadamente 80% de sensibilidad, incluso más preferentemente al menos aproximadamente 85% de sensibilidad, aún más preferentemente al menos aproximadamente 90% de sensibilidad y lo más preferentemente al menos aproximadamente 95% de sensibilidad, combinada con al menos aproximadamente 70% de especificidad, más preferentemente al menos aproximadamente 80% de especificidad, incluso más preferentemente al menos aproximadamente 85% de especificidad, todavía más preferentemente al menos aproximadamente 90% de especificidad y la mayoría preferentemente al menos aproximadamente 95% de especificidad. En realizaciones particularmente preferidas, tanto la sensibilidad como la especificidad son al menos aproximadamente 75%, más preferentemente al menos aproximadamente 80%, incluso más preferentemente al menos aproximadamente 85%, aún más preferentemente al menos aproximadamente 90% y lo más preferentemente al menos aproximadamente 95 %. El término "aproximadamente" en este contexto se refiere a +/- 5% de una medición dada.

35 En otras formas de realización, una proporción de probabilidades positiva, proporción de probabilidades negativa, cociente de probabilidades y el cociente de riesgos se utilizan como una medida de la capacidad de una prueba para predecir el riesgo o diagnosticar una enfermedad. En el caso de una proporción de probabilidades positiva, un valor de 1 indica que un resultado positivo es igualmente probable entre los sujetos de ambos grupos los "enfermos" y "control"; un valor mayor que 1 indica que un resultado positivo es más probable en el grupo de enfermos; y un valor menor que 1 indica que un resultado positivo es más probable en el grupo de control. En el caso de un cociente de probabilidades negativo, un valor de 1 indica que un resultado negativo es igualmente probable entre los sujetos de ambos grupos los "enfermos" y "control"; un valor mayor que 1 indica que un resultado negativo es más probable en el grupo de prueba; y un valor menor que 1 indica que un resultado negativo es más probable en el grupo de control. En ciertas realizaciones preferidas, marcadores y/o paneles de marcadores se seleccionan preferentemente para exhibir un cociente de probabilidad positivo o negativo de al menos aproximadamente 1,5 o más o aproximadamente 0,67 o menos, más preferentemente al menos aproximadamente 2 o más o aproximadamente 0,5 o menos, todavía más preferentemente al menos aproximadamente 5 o más o aproximadamente 0,2 o menos, incluso más preferentemente al menos aproximadamente 10 o más o aproximadamente 0,1 o menos y lo más preferentemente al menos aproximadamente 20 o más o aproximadamente 0,05 o menos. El término "aproximadamente" en este contexto se refiere a +/- 5% de una medición dada.

55 En el caso de un cociente de oportunidades, un valor de 1 indica que un resultado positivo es igualmente probable entre los sujetos de ambos grupos los "enfermos" y "control"; un valor mayor que 1 indica que un resultado positivo es más probable en el grupo de enfermos; y un valor menor que 1 indica que un resultado positivo es más probable en el grupo de control. En ciertas realizaciones preferidas, marcadores y/o paneles de marcadores se seleccionan preferentemente para exhibir un cociente de oportunidades de al menos aproximadamente 2 o más o aproximadamente 0,5 o menos, más preferentemente al menos aproximadamente 3 o más o aproximadamente 0,33 o menos, aún más preferentemente al menos aproximadamente 4 o más o aproximadamente 0,25 o menos, incluso más preferentemente al menos aproximadamente 5 o más o aproximadamente 0,2 o menos y lo más preferentemente al menos aproximadamente 10 o más o aproximadamente 0,1 o menos. El término "aproximadamente" en este contexto se refiere a +/- 5% de una medición dada.

65 En el caso de un cociente de riesgos, un valor de 1 indica que el riesgo relativo de un punto final (por ejemplo, la muerte) es igual tanto en los grupos "enfermos" y "control"; un valor mayor que 1 indica que el riesgo es mayor en el grupo de enfermos; y un valor inferior a 1 indica que el riesgo es mayor en el grupo de control. En ciertas

realizaciones preferidas, marcadores y/o paneles de marcadores se seleccionan preferentemente para exhibir una proporción de riesgo de al menos aproximadamente 1,1 o más o aproximadamente 0,91 o menos, más preferentemente al menos aproximadamente 1,25 o más o aproximadamente 0,8 o menos, aún más preferentemente al menos aproximadamente 1,5 o más o aproximadamente 0,67 o menos, incluso más preferentemente al menos aproximadamente 2 o más o aproximadamente 0,5 o menos y lo más preferentemente al menos aproximadamente 2,5 o más o aproximadamente 0,4 o menos. El término "aproximadamente" en este contexto se refiere a +/- 5% de una medición dada.

Aunque los paneles de ejemplo se describen en el presente documento, uno o más marcadores pueden ser sustituidos, añadidos o restados de estos paneles de ejemplo mientras que todavía proporcionen resultados clínicamente útiles. Los paneles pueden comprender ambos marcadores específicos de una enfermedad (por ejemplo, marcadores que se aumentan o disminuyen en la infección bacteriana, pero no en otros estados de la enfermedad) y/o marcadores no específicos (por ejemplo, marcadores que se aumenta o disminuye debido a la inflamación, independientemente de la causa; marcadores que se aumentan o disminuyen debido a cambios en la hemostasia, independientemente de la causa, etc.). Si bien ciertos marcadores pueden no ser individualmente definitivos en los procedimientos descritos en el presente documento, una "huella dactilar" patrón particular de cambios puede, en efecto, actuar como un indicador específico del estado de la enfermedad. Como se ha tratado anteriormente, ese patrón de cambios se puede obtener a partir de una sola muestra, o se pueden considerar opcionalmente cambios temporales en uno o más miembros del panel (o cambios temporales en un valor de respuesta del panel).

Con el fin de probar si un valor de referencia elegido proporciona un diagnóstico suficientemente seguro de los pacientes que sufren de la enfermedad de interés, se puede por ejemplo determinar la eficiencia (E) de los procedimientos de la invención para un valor de referencia determinado, utilizando la siguiente fórmula:

$$E = (TP/TO) \times 100;$$

donde TP = verdaderos positivos y TO = número total de pruebas = TP + FP + FN + TN, donde FP = falsos positivos; FN = falsos negativos y TN = verdaderos negativos. E tiene el siguiente intervalo de valores: $0 < E < 100$). Preferentemente, un valor de referencia sometido a ensayo proporciona un diagnóstico suficientemente seguro siempre que el valor de E sea al menos aproximadamente 50, más preferentemente al menos aproximadamente 60, más preferentemente al menos aproximadamente 70, más preferentemente al menos aproximadamente 80, más preferentemente al menos aproximadamente 90, más preferentemente al menos aproximadamente 95, más preferentemente al menos aproximadamente 98.

El diagnóstico de si los individuos están sanos o sufren un cierto estado fisiopatológico se realiza mediante procedimientos establecidos conocidos por el experto en la técnica. Los procedimientos difieren en lo que respecta al estado fisiopatológico individual.

Los algoritmos para establecer el diagnóstico deseado se establecen en la presente solicitud, en los pasajes que se refieren a la realización respectiva, a la que se hace referencia.

Por consiguiente, la presente invención también comprende un procedimiento para determinar la cantidad umbral indicativa para un estado fisiológico y/o patológico y/o de un determinado estado patológico, que comprende las etapas de determinar en los grupos de pacientes adecuados las cantidades del/de los marcador(es) apropiado(s), la recogida de los datos y el análisis de los datos mediante procedimientos estadísticos y establecer los valores umbral.

El término "aproximadamente" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a +/- 20%, preferentemente +/- 10%, preferentemente, +/- 5% de una medición o valor dado.

Los autores de la invención sorprendentemente encontraron una discrepancia entre sus resultados, tal como se establece en la presente solicitud y los resultados publicados en la técnica anterior, a saber Portilla y otros, *Kidney International* 2008, l.c., quienes encontraron que los pacientes que desarrollaban LRA tenían niveles más bajos de L-FABP o una variante de la misma, la adiponectina o una variante de la misma y NGAL o una variante de la misma que los niveles en los pacientes que no desarrollaron LRA. Este sorprendente hallazgo demostró que estos marcadores, aparentemente, no son útiles para predecir LRA (que se indica mediante un aumento de la creatinina de más de 0,3 mg/dl dentro de 3 días), pero se necesitan para la diálisis con albúmina o una variante de la misma, la adiponectina y NGAL cuando se determinan inmediatamente después de la intervención. De hecho la mayoría de los pacientes evaluados tenían evidencia de un aumento de los marcadores de daño renal en la orina, pero este aumento sorprendentemente no estaba relacionado con una disminución en la función renal. Considerando que los datos de Portilla y otros (establecidos en un estudio en niños sometidos a operación de derivación cardiopulmonar), parecen mostrar que las concentraciones de L-FABP medidas antes de la cirugía no se prestaban por sí mismas a predecir LRA y que aumentos en las concentraciones de L-FABP después de la cirugía estaban asociadas con LRA, los autores de la presente invención en contraste encontraron que en los adultos, preferentemente en pacientes con enfermedad cardiovascular, las concentraciones de L-FABP medidas antes de la cirugía predijeron futura LRA.

Este hallazgo en los adultos - que contrasta con los resultados en los niños- es de importancia clínica, ya que permite tomar una decisión adecuada antes de la intervención y la aparición de LRA. En este sentido, hay que tener en cuenta que después de la aparición de LRA las opciones terapéuticas (opciones para el tratamiento) son claramente más limitadas que en los casos en los que se reconoce el riesgo de sufrir LRA y su aparición se puede tratar de manera profiláctica. Estas decisiones incluyen la reconsideración de la indicación para la cirugía en términos de mejorar la evaluación de riesgos y beneficios, la interrupción de los fármacos que se sabe que precipitan la LRA incluyendo inhibidores de la ECA, bloqueadores de los receptores de la angiotensina y AINE y potencialmente los antibióticos y otros medicamentos conocidos para precipitar LRA. Además durante la cirugía se requiere un adecuado e intenso equilibrio de fluido así como de la presión arterial. Así el procedimiento de las presentes invenciones se dirige a la profilaxis de LRA por lo tanto proporciona una mejor toma de decisiones clínicas.

Por consiguiente, los procedimientos de la presente invención se prestan en particular a adultos. En una realización preferida, el procedimiento de predicción del riesgo, el procedimiento de recomendación o decisión sobre una terapia adecuada y el procedimiento de seguimiento de la terapia se aplican a los adultos; en una realización preferida adicional, estos procedimientos citados no se aplican a los niños

Sorprendentemente se encontró que la cantidad de L-FABP o una variante de la misma es un buen predictor para futuros acontecimientos relacionados con LRA cuando se determina antes de que la intervención se lleve a cabo. También se encontró que la cantidad de adiponectina cuando se determina antes de la intervención puede añadir información complementaria a la proporcionada por L-FABP o una variante de la misma. Más información se puede añadir mediante la determinación de la cantidad de albúmina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma antes de la intervención.

Intervenciones quirúrgicas importantes, en particular las principales intervenciones de cirugía cardiovascular, se asocian con mortalidad y la morbilidad significativas, incluyendo el desarrollo de la lesión renal aguda (IRA). LRA puede resolverse sin la diálisis o, si se prolonga, puede requerir de diálisis, o incluso puede estar asociada con el trastorno renal crónico futuro. Actualmente, el riesgo de desarrollo de LRA o incluso la necesidad de diálisis no se puede predecir en pacientes con función renal normal (según la evaluación de los niveles de creatinina dentro del rango normal de la prueba o un FG superior a 60 ml/min). Sin embargo, gracias a la presente invención, L-FABP se pueden utilizar para identificar a los pacientes en riesgo incluso antes de la cirugía. Solo una evaluación de riesgos antes de la cirugía, de preferencia en el curso de un análisis de riesgo/beneficio, permite reconsiderar la indicación para la cirugía, la interrupción de los fármacos que precipitan LRA (a pesar de que puede estar indicada debido a la(s) enfermedad(es) subyacente(s)) y tomar las medidas apropiadas durante la cirugía (mantenimiento de la presión arterial, evitación de la hipovolemia temporal y otras medidas conocidas por el experto en la técnica).

L-FABP es un biomarcador urinario que se expresa en las células epiteliales del túbulo proximal en el riñón postisquémico. Como adiponectina parece ser un indicador de la "salud glomerular", determinación combinada de estos marcadores divulga la información relevante de los procesos renales patógenos.

En realizaciones adicionales de la presente invención, la albúmina y/o NGAL se determinan adicionalmente a L-FABP y adiponectina. NGAL es un marcador de daño tubular, la albúmina es un marcador de daño glomerular, permitiendo la recopilación de información suplementaria.

Ventajosamente, se ha encontrado que la cantidad de L-FABP o una variante de la misma como un biomarcador, en particular, la cantidad de L-FABP o una variante de la misma presente en la muestra, preferentemente una muestra de orina de un sujeto predicen el riesgo de un individuo de sufrir un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA después de una intervención quirúrgica de una manera fiable y eficiente, como se refleja en la alta especificidad y sensibilidad del procedimiento de la presente invención como se evidencia en los ejemplos.

También se ha encontrado que la cantidad de adiponectina o una variante de la misma como un biomarcador, en particular, la cantidad de adiponectina o una variante de la misma presente en una muestra de orina de un sujeto predice el riesgo de un individuo de padecer un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA después de una intervención quirúrgica de una manera fiable y eficiente. L-FABP o una variante de la misma y la adiponectina o una variante de la misma dan información complementaria en relación con el riesgo de un individuo de sufrir un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda.

LRA puede progresar a una necesidad de diálisis e incluso a la muerte (que ambas son considerados, en el contexto de la presente invención, que son los efectos adversos relacionados con la lesión renal aguda). En una realización preferida de la presente invención, las cantidades de L-FABP o una variante de la misma y/o de adiponectina o una variante de la misma, preferentemente una combinación de las dos, pueden ser usadas para predecir el riesgo de un individuo de desarrollar una necesidad de diálisis como consecuencia de o después de una intervención quirúrgica.

Una "necesidad de diálisis" se produce en individuos que sufren insuficiencia renal, en el contexto de la insuficiencia renal aguda presente invención (LRA), en el que la extensión o grado de insuficiencia renal (como se determina por

5 el FG y/o aclaramiento de creatinina) deteriora la función renal de tal manera que la producción de orina y la eliminación de electrolitos y desechos (que se retiran por filtración en los riñones sanos de cuerpo) no se ajustan a las necesidades del cuerpo y pueden afectar gravemente a la salud de la persona, en particular, pueden causar deterioro de la salud no reversible. Un ejemplo es la anemia que se observa con frecuencia como consecuencia de la síntesis de eritropoyetina disminuida.

10 El término "intervención quirúrgica" en el contexto de la presente invención se refiere a cualquier tipo de intervención invasiva en el cuerpo de un animal, preferentemente un mamífero, en particular un ser humano, preferentemente por un procedimiento quirúrgico, preferentemente incluyendo cirugía mayor. La intervención quirúrgica puede indicarse a causa de una enfermedad vascular, un trauma, un trastorno de sangrado, un tumor, por ejemplo un tumor benigno o maligno, una infección o por otras razones. La cirugía puede ser de duración corta o prolongada, puede estar asociada con la pérdida de fluido preexistente o de la sangre o durante el procedimiento quirúrgico en sí. El procedimiento quirúrgico puede llevarse a cabo con o sin anestesia localizada o general. El término también puede incluir la cirugía mínimamente invasiva, aunque las complicaciones que se citan en la presente solicitud que ocurren después de la cirugía se observan con menos frecuencia después de la cirugía mínimamente invasiva.

15 El término "cirugía mayor" como se usa en el contexto de la presente invención se refiere a cualquier cirugía que requiere anestesia y/o asistencia respiratoria.

20 El término "intervención quirúrgica" también incluye por ejemplo, las intervenciones en las extremidades (piernas, brazos) y la cabeza.

25 El término incluye las intervenciones de preferencia en los órganos internos, (por ejemplo, hígado, riñón, intestino, estómago, pulmón, sin ser exhaustivos). Incluso más preferentemente, el término incluye las intervenciones sobre el corazón (por ejemplo, en la válvula o cualquier parte de la miocarditis), también denominadas cirugía cardiovascular.

30 Los pacientes sometidos a cirugía cardiovascular con frecuencia sufren de insuficiencia cardíaca como consecuencia de o después de una enfermedad cardiovascular y lo más importante, de la enfermedad renal preexistente.

35 En particular, el término se refiere a las intervenciones en los vasos del corazón (también denominada cirugía cardiovascular), en particular, la derivación.

40 En cirugía de revascularización coronaria (CABG) arterias coronarias nativas con estenosis de alto grado u oclusión no apropiada para la realización de la angioplastia con endoprótesis vascular se realiza la derivación normalmente utilizando una arteria como un injerto pediculado a la arteria descendente anterior coronaria. El término y su significado se conocen por el experto en la técnica.

45 Se conoce por el experto en la técnica que, en principio, cualquier intervención quirúrgica puede causar acontecimientos adversos relacionados con LRA. Se cree que este fenómeno se debe, preferentemente, a la existencia de trastornos renales no reconocidos en los individuos respectivos (lo que significa que los individuos están aparentemente sanos) que inducen una mayor probabilidad de sufrir de un acontecimiento adverso relacionado con LRA. Preferentemente, el trastorno no reconocido renal está presente antes de la intervención quirúrgica. Con frecuencia, los trastornos renales son una consecuencia de los procesos de isquemia y/o necrosis, por lo general después de un suministro de sangre alterada que conduce a la falta de cumplimiento de las necesidades metabólicas de los riñones. A su vez, los procesos isquémicos y necróticos con frecuencia se causan por enfermedades cardiovasculares, preferentemente enfermedad de las arterias coronarias (CAD).

50 En consecuencia, hay una mayor probabilidad de que un individuo que no presenta signos y síntomas obvios de un trastorno renal, como se indica por la TFG y/o valores de creatinina y que está aparentemente sano en el sentido de la presente invención, desarrolle una LRA relacionada con acontecimiento adverso sometido a cirugía cardiovascular, en particular, en el contexto de CAD y/o insuficiencia cardíaca.

55 El término "enfermedad cardiovascular", como se usa en el contexto de la presente invención lo conoce el experto en la técnica y se refiere a cualquier disfunción observada en los vasos coronarios y en el propio corazón, e incluye, en particular, la enfermedad de las arterias coronarias CAD.

60 El término "cirugía cardiovascular" se refiere a la cirugía llevada a cabo en el contexto de las enfermedades cardiovasculares. En una realización preferida, el término se refiere a la cirugía llevada a cabo en el contexto de CAD, que también se puede denominar como "cirugía CAD".

65 "Enfermedad de las arterias coronarias" (CAD) como se usa en el contexto de la presente invención se conoce por el experto en la técnica e implica deterioro del flujo sanguíneo a través de las arterias coronarias, en muchos casos por procedimientos de arteriosclerosis, en aterosomas generales, que pueden causar isquemia, angina de pecho, síndromes coronarios agudos (angina de pecho inestable, infarto de miocardio IM) y muerte súbita cardíaca. El tratamiento incluye medicamentos y procedimientos para reducir la isquemia y restaurar o mejorar el flujo sanguíneo

coronario. Por lo general, la CAD se debe al depósito de ateromas en las arterias coronarias grandes y medianas (aterosclerosis). Con menos frecuencia, la CAD se debe a un espasmo coronario. Causas poco comunes incluyen la embolia de la arteria coronaria, disección, aneurisma y vasculitis. En el contexto de la presente invención, CAD también incluye la insuficiencia cardíaca.

Según el procedimiento de la invención el aumento de las cantidades de L-FABP o una variante de la misma en comparación con las cantidades de referencia medidas en una muestra, preferentemente una muestra de orina de un sujeto, son indicativas de un daño tubular renal. El aumento de las cantidades de NGAL o una variante de la misma en comparación con las cantidades de referencia medidas en una muestra de un sujeto son indicativos de un daño tubular del riñón. Las mayores cantidades de adiponectina o una variante de la misma en comparación con las cantidades de referencia son indicativas de daño glomerular del riñón. El aumento de las cantidades de albúmina o una variante de la misma en comparación con las cantidades de referencia son indicativos de un daño glomerular del riñón. El aumento de cantidades de L-FABP o una variante de la misma y/o una mayor cantidad de NGAL o una variante de la misma, en combinación con una mayor cantidad de adiponectina o una variante de la misma y/o el aumento de cantidades de albúmina o una variante de la misma, en comparación con cantidades de referencia, son indicativos de un daño tubular y glomerular progresivo del riñón.

En el contexto de la presente invención, una realización se refiere al caso de que las cantidades de marcadores se determinan antes de llevar a cabo la intervención quirúrgica es decir, al menos o hasta aproximadamente 4 semanas, preferentemente al menos o hasta aproximadamente 2 semanas antes de la intervención, o al menos o hasta aproximadamente 7 días, o al menos o hasta aproximadamente 3 días, o al menos o hasta aproximadamente 1 día, o al menos o hasta aproximadamente 20 horas, o al menos o hasta aproximadamente 12 horas, o al menos o hasta aproximadamente 6 horas antes de la intervención quirúrgica. En caso de que se produzcan acontecimientos agudos después de la determinación de las cantidades de los marcadores, preferentemente las cantidades deberían determinarse de nuevo.

En una forma de realización preferida de la presente invención, se utilizan las siguientes cantidades de referencia para los marcadores, en las que cantidad del marcador se determina preferentemente en una muestra tomada antes de la intervención quirúrgica. Las cantidades de cada marcador se normalizan con respecto a la creatinina ("creatinina para..."), con el fin de eliminar las imprecisiones resultantes de las variaciones en el volumen de orina de la persona respectiva.

La lesión renal aguda y la necesidad de diálisis en la LRA son complicaciones conocidas de una cirugía mayor y específicamente después de la cirugía cardíaca y que se produce dentro de las 72 horas (o 3 días) después de la cirugía. El experto en la técnica sabe calcular el riesgo promedio de estas complicaciones (McIlroy D.R. et al, Clin J. Am Soc Nephrol 5: 21 1-219, 2010). El riesgo promedio depende, entre otros, de la enfermedad subyacente, las comorbidades y el tipo de intervención que constituyen la base para el cálculo del riesgo promedio. Los términos "riesgo alto", "riesgo mayor", "riesgo muy alto", como se usan en el contexto de la presente invención se refieren a los casos en los que el riesgo se incrementa con respecto al riesgo promedio. Los términos "riesgo bajo", "riesgo menor", "riesgo muy bajo", como se usan en el contexto de la presente invención se refieren a los casos en los que el riesgo disminuye en relación con el riesgo promedio.

L-FABP:

Una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 3,6 $\mu\text{g/g}$, preferentemente $\leq 3,2$ $\mu\text{g/g}$, más preferentemente $\leq 2,9$ $\mu\text{g/g}$, creatinina para la L-FABP o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, con mayor preferencia un riesgo muy bajo de padecer LRA (descartar).

Una cantidad de referencia \geq aproximadamente 10,8 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente 29,5 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \geq aproximadamente 32,3 $\mu\text{g/g}$, creatinina para la L-FABP o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo alto, preferentemente un riesgo mayor, más preferentemente un riesgo muy alto de padecer LRA (incluir).

Una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 4,2 $\mu\text{g/g}$, preferentemente $\leq 3,2$ $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente 2,8 $\mu\text{g/g}$, de creatinina para la L-FABP o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer necesidad de diálisis (descartar).

Una cantidad de referencia \geq aproximadamente 35,4 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente 36,2 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \geq aproximadamente 37,2 $\mu\text{g/g}$, creatinina para la L-FABP o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo alto, preferentemente un riesgo mayor, más preferentemente a un riesgo muy alto de padecer necesidad de diálisis (incluir).

Adiponectina:

En caso de que además se determine la cantidad de adiponectina o una variante de la misma, los valores de referencia que indican que un riesgo de sufrir LRA/necesidad de diálisis es riesgo bajo y que indican que es riesgo alto de padecer LRA/necesidad de diálisis son los siguientes:

5 Una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 3,6 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq 3,2 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq 2,8 $\mu\text{g/g}$, creatinina para la adiponectina o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer LRA (descartar).

10 Una cantidad de referencia \geq aproximadamente 15,6 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente de 17,6 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \geq aproximadamente 30,0 $\mu\text{g/g}$, creatinina para la adiponectina o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo alto, preferentemente un riesgo mayor, más preferentemente a un riesgo muy alto de padecer LRA (incluir).

15 Una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 8,8 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq 3,2 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente 1,2 $\mu\text{g/g}$, creatinina para la adiponectina o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer necesidad de diálisis (descartar).

20 Una cantidad de referencia \geq aproximadamente 30,4 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente 135,2 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \geq aproximadamente 171,6 $\mu\text{g/g}$, creatinina para la adiponectina o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo alto, preferentemente un riesgo mayor, más preferentemente un riesgo muy alto de padecer necesidad de diálisis (incluir).

25 La adiponectina ofrece información independientemente de L-FABP.

Albúmina:

30 En caso de que además se determine la cantidad de albúmina o una variante de la misma, los valores de referencia que indican que un riesgo de sufrir LRA/necesidad de diálisis es riesgo bajo y que indican que es riesgo alto de padecer LRA/necesidad de diálisis son los siguientes:

35 Una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 6 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente 4 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente 2 $\mu\text{g/g}$, creatinina para la albúmina o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo, preferentemente riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer LRA (descartar).

40 Una cantidad de referencia \geq aproximadamente 128 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente 142 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \geq 160 $\mu\text{g/g}$, de creatinina para la albúmina o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo alto, preferentemente un riesgo mayor, más preferentemente a un riesgo muy alto de padecer LRA (incluir).

45 Una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 8 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente 4 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente 2 $\mu\text{g/g}$, creatinina para la albúmina o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer necesidad de diálisis (descartar).

50 Una cantidad de referencia \geq aproximadamente 54 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente 128 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \geq aproximadamente 142 $\mu\text{g/g}$, creatinina para la albúmina o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo alto, preferentemente un riesgo mayor, más preferentemente un riesgo muy alto de padecer necesidad de diálisis (incluir).

La albúmina da información independientemente de L-FABP.

NGAL:

55 En caso de que, además, se determine la cantidad de NGAL o una variante de la misma, los valores de referencia que indican que un riesgo de sufrir LRA/necesidad de diálisis es riesgo bajo y que indican que es riesgo alto de padecer LRA/necesidad de diálisis son los siguientes:

60 Una cantidad de referencia de \leq 7,0 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente 5,5 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente 3,5 $\mu\text{g/g}$, de creatinina para NGAL o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer LRA (descartar).

Una cantidad de referencia \geq aproximadamente $12 \mu\text{g/g}$, preferentemente \leq sobre $13 \mu\text{g/g}$, más preferentemente \geq aproximadamente $14 \mu\text{g/g}$, creatinina para NGAL o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo alto, preferentemente un riesgo mayor, más preferentemente a un riesgo muy alto de padecer LRA (incluir).

5 Una cantidad de referencia de \leq aproximadamente $9,0 \mu\text{g/g}$, preferentemente $\leq 7,5 \mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente $1,5 \mu\text{g/g}$, creatinina para NGAL o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer necesidad de diálisis (descartar).

10 Una cantidad de referencia de $\geq 15,0 \mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente de $20,5 \mu\text{g/g}$, más preferentemente \geq aproximadamente de $26,5 \mu\text{g/g}$, creatinina para NGAL o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo alto, preferentemente un riesgo mayor, más preferentemente un riesgo muy alto de padecer necesidad de diálisis (incluir).

15 NGAL da información independientemente de L-FABP.

20 En una realización de la presente invención, uno o más del marcador L-FABP o una variante del mismo, la adiponectina o una variante de la misma, albúmina o una variante de la misma y NGAL o una variante de la misma se determinan al finalizar la cirugía o después de la terminación de la cirugía. Por esto, el riesgo de sufrir de LRA y/o necesidad de diálisis se puede determinar. El uno o más marcadores se determinan al final de la cirugía (es decir en unos pocos minutos hasta aproximadamente 1 hora después de la terminación de la cirugía) y/o pueden determinarse a partir de entonces en intervalos, por ejemplo aproximadamente 2 h, 4 h, 5 h, 6 h, 10 h, 12 h, 16 h, 24 h después de la terminación de la cirugía.

25 Las cantidades de albúmina o una variante de la misma determinadas en o después de finalizada la cirugía permiten diferenciar entre los individuos en riesgo de futura aparición de la lesión renal aguda y los que no están en situación de riesgo, cuando se determinan inmediatamente después de la cirugía. Además, las cantidades de albúmina o una variante de la misma permiten diferenciar entre los individuos en riesgo de futura necesidad de diálisis y los que no están en situación de riesgo, cuando se determinan después de la cirugía. A pesar de que las cantidades de albúmina o una variante de la misma disminuyen rápidamente después de la terminación de la cirugía, la determinación de las cantidades de albúmina o una variante de la misma aproximadamente de 6 a 24 horas, preferentemente de aproximadamente 6 a 12 horas después de la terminación de la cirugía, todavía son capaces de discriminar entre pacientes en riesgo y que no están en riesgo, tanto para la LRA como para la diálisis.

30 Cuando se determina después de la cirugía, preferentemente a aproximadamente 6 horas después de la terminación de la cirugía, una cantidad de referencia de \leq aproximadamente $8 \mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente $5 \mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente $4 \mu\text{g/g}$, creatinina para la albúmina o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo inferior, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer LRA (descartar).

40 Cuando se determina después de la cirugía, preferentemente a aproximadamente 12 horas después de la terminación de la cirugía, una cantidad de referencia de \leq aproximadamente $8 \mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente $4 \mu\text{g/g}$, más preferentemente ≤ 2 aproximadamente $\mu\text{g/g}$, creatinina para la albúmina o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer LRA (descartar).

45 Cuando se determina después de la cirugía, preferentemente a aproximadamente 6 horas después de la terminación de la cirugía, una cantidad de referencia de \leq aproximadamente $8 \mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente $6 \mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente $4 \mu\text{g/g}$, creatinina para la albúmina o una variante de la misma, es indicativa de que la persona tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer necesidad de diálisis (descartar).

50 Cuando se determina después de la cirugía, preferentemente a aproximadamente 12 horas después de la terminación de la cirugía, una cantidad de referencia de \leq aproximadamente $10 \mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente $4 \mu\text{g/g}$, más preferentemente ≤ 2 aproximadamente $\mu\text{g/g}$, creatinina para la albúmina o una variante de la misma, es indicativa de que la persona tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer necesidad de diálisis (descartar).

55 Las cantidades de adiponectina o una variante de la misma determinan en o después de permitir la terminación de la cirugía diferenciar entre individuos en riesgo de futura necesidad de diálisis y los que no están en situación de riesgo, cuando se determinan después de la cirugía. A pesar de que las cantidades de adiponectina o una variante de la misma aumentan rápidamente después de la terminación de la cirugía, la determinación de las cantidades de adiponectina dentro de aproximadamente 6 a 24 horas, preferentemente de aproximadamente 6 a 12 horas después

de la terminación de la cirugía son todavía capaces de discriminar entre pacientes en riesgo y sin riesgo para la diálisis.

5 Cuando se determina después de la cirugía, preferentemente a aproximadamente 6 horas después de la terminación de la cirugía, una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 65 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq 48 aproximadamente $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente 24 $\mu\text{g/g}$ de creatinina para la adiponectina o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo, e incluso más preferentemente un riesgo aún menor de padecer necesidad de diálisis (descartar).

10 Cuando se determina después de la cirugía, preferentemente a aproximadamente 12 horas después de la terminación de la cirugía, una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 72 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente 62 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente 47 $\mu\text{g/g}$ de creatinina para la adiponectina o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo, e incluso más preferentemente un riesgo aún menor de padecer necesidad de diálisis (descartar).

15 Las cantidades de L FABP o una variante de la misma determinadas en o después de la terminación de la cirugía fueron menores en los pacientes que desarrollan LRA que en aquellos que no lo hicieron, presumiblemente a causa de la enfermedad renal preexistente. La determinación de las cantidades de adiponectina o una variante de la misma no inmediatamente después de la terminación de la cirugía, sino después de aproximadamente 6 a 24 horas, preferentemente de aproximadamente 6 a 12 horas después de la terminación de la cirugía, puede discriminar entre pacientes en riesgo y pacientes que no están en riesgo de necesidad de diálisis.

25 Cuando se determina después de la cirugía, preferentemente a aproximadamente 6 horas después de la terminación de la cirugía, una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 10 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente 5 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente 0 μg , creatinina para la L-FABP o una variante de la misma, es indicativa de que la persona tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer necesidad de diálisis (descartar).

30 Cuando se determina después de la cirugía, preferentemente a aproximadamente 12 horas después de la terminación de la cirugía, una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 10 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente 5 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente 2 $\mu\text{g/g}$, creatinina para la L-FABP o una variante de la misma, es indicativa de que la persona tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer necesidad de diálisis (descartar).

35 Las cantidades de NGAL o una variante de la misma determinadas en o después de la terminación de la cirugía permiten diferenciar entre los individuos en riesgo de futura necesidad de diálisis y los que no están en situación de riesgo. La determinación de cantidades de NGAL o las de una variante de la misma aproximadamente a las 6 a 24 horas, preferentemente de aproximadamente 6 a 12 horas después de la terminación de la cirugía es capaz de discriminar entre pacientes en riesgo y los que no están en riesgo de necesidad de diálisis.

40 Cuando se determina después de la cirugía, preferentemente a aproximadamente 6 horas después de la terminación de la cirugía, una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 20 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq 15 aproximadamente $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente 10 $\mu\text{g/g}$, creatinina para NGAL o una variante de la misma, es indicativa de que la persona tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer necesidad de diálisis (descartar).

45 Cuando se determina después de la cirugía, preferentemente a aproximadamente 12 horas después de la terminación de la cirugía, una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 30 $\mu\text{g/g}$, preferentemente \leq aproximadamente 20 $\mu\text{g/g}$, más preferentemente \leq aproximadamente 10 $\mu\text{g/g}$, creatinina para NGAL o una variante de la misma, es indicativa de que la persona tiene un riesgo bajo, preferentemente un riesgo menor, más preferentemente un riesgo muy bajo de padecer necesidad de diálisis (descartar).

50 La presente invención se refiere también a un procedimiento de recomendación o decisión sobre una terapia adecuada en un sujeto en riesgo de experimentar un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA después de una intervención quirúrgica en un sujeto, basado en la predicción del riesgo del acontecimiento adverso relacionado con la LRA comparando las cantidades de proteínas de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, determinadas en una muestra de dicho sujeto, con al menos una cantidad de referencia.

55 Este procedimiento de la presente invención comprende al menos una de las siguientes etapas y/o puede comprender las siguientes etapas: a) determinar las cantidades de proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, preferentemente proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático
60 urinaria (L-FABP) o una variante de la misma, en una muestra, preferentemente una muestra de orina de un sujeto;

b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia; c) predecir el riesgo en base a la comparación llevada a cabo en la etapa b); d) recomendar o decidir la iniciación de una terapia adecuada o no iniciar la terapia adecuada, basándose en la información obtenida en la etapa c).

5 La presente invención también proporciona un procedimiento de recomendación o decisión sobre una terapia adecuada en un sujeto en riesgo de experimentar un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA después de una intervención quirúrgica en un sujeto, que comprende las etapas de:

10 a) determinar la proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, la proteína de unión a ácidos grasos de tipo hígado preferentemente urinaria (L-FABP) o una variante de la misma, en la muestra, preferentemente una muestra de orina de un sujeto;

b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia; y

c) predecir el riesgo en base a la comparación efectuada en la etapa b).

15 d) recomendar o decidir la iniciación de una terapia adecuada o no administrar la terapia adecuada, basándose en la información obtenida en la etapa c).

En otra realización de la presente invención, la presente invención proporciona un procedimiento de recomendación o decisión sobre una terapia adecuada en un sujeto en riesgo de experimentar un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA después de una intervención quirúrgica en un sujeto, que comprende las etapas de:

20 a) determinar las cantidades de proteínas de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, proteína de unión de ácidos grasos de tipo hígado preferentemente urinaria (L-FABP) o una variante de la misma, en una muestra, preferentemente una muestra de orina de un sujeto; y

b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia;

25 por lo que se predice el riesgo de que el sujeto experimente un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA después de una intervención quirúrgica y se recomienda la iniciación o no de una terapia adecuada en base a la predicción.

En una realización preferida de la presente invención, la cantidad de adiponectina o una variante de la misma se determina en la muestra de orina además de la cantidad de L-FABP o una variante de la misma y la recomendación se establece en base a la comparación de las cantidades del marcador con cantidades de referencia.

30 En otra forma de realización preferida de la presente invención, la cantidad de al menos otro marcador seleccionado de albúmina o una variante de la misma y lipocalina asociada con gelatinasa de neutrófilos (NGAL) o una variante de la misma se mide en la muestra de orina y la recomendación se establece en base a la comparación de las cantidades del marcador con cantidades de referencia. En esta forma de realización, se medirán la cantidad de solo un marcador adicional de entre el grupo anteriormente citado además de la L-FABP o una variante de la misma y preferentemente, la adiponectina o una variante de la misma, o las cantidades de ambos marcadores adicionales además de la L- FABP o una variante de la misma y preferentemente, la adiponectina o una variante de la misma.

40 En el procedimiento de recomendación o decisión sobre una terapia adecuada como se ha descrito previamente, los respectivos marcadores se determinan preferentemente antes de la cirugía. En una realización adicional de la presente invención, el o los marcadores se determinan después de finalizada la intervención quirúrgica, por ejemplo inmediatamente cuando se termina la intervención, o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 16, 18 o 24 horas más tarde.

45 En realizaciones adicionales de la presente invención, las terapias adecuadas son la administración de fármacos y/o recomendaciones de estilo de vida que son eficaces con respecto a la inhibición de la progresión de la enfermedad renal.

50 Ventajosamente, el procedimiento de la presente invención permite la identificación de pacientes con un mayor riesgo de LRA antes de la intervención quirúrgica y/o después de la intervención quirúrgica. A partir de la determinación de un aumento del riesgo de LRA en un paciente, los factores de riesgo conocidos que precipitan la LRA se pueden controlar en un paciente que tiene un mayor riesgo de padecer LRA después de un procedimiento quirúrgico. El control de estos factores de riesgo incluye un cuidadoso equilibrio hídrico durante y después de la cirugía. Si se utiliza derivación cardiopulmonar durante la cirugía, se deben evitar las bajas temperaturas de perfusión. También se debe evitar el uso de fármacos nefrotóxicos (por ejemplo, sulfonamidas y fármacos antiinflamatorios no esteroideos). Por otra parte, la administración de eritropoyetina puede estar indicada (Song et al., 2009, American Journal of Nephrology, 253-260). La posibilidad de predecir el riesgo de lesión renal aguda después de una intervención quirúrgica en un paciente antes de dicha intervención y/o después de dicha intervención, obviamente, tiene consecuencias en la decisión de si el paciente en cuestión es elegible para el procedimiento quirúrgico en cuestión.

60 El término "susceptible", como se usa en el presente documento significa que una terapia aplicada a un sujeto inhibe o mejora la progresión de la diabetes mellitus o de sus síntomas acompañantes. Debe entenderse que la evaluación de la susceptibilidad a la terapia no será correcta para todos (100%) los sujetos investigados. Sin embargo, se prevé que se pueda determinar al menos una parte estadísticamente significativa para los que la terapia pueda aplicarse

con éxito. Si una porción es estadísticamente significativa se puede determinar por técnicas especificadas en este documento.

Además, la presente invención se refiere a un procedimiento para el seguimiento de la terapia en un sujeto en riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, basándose en la predicción del riesgo de un acontecimiento adverso relacionado a LRA por la comparación de las cantidades de proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP), preferentemente L-FABP urinaria o una variante de la misma, determinada en una muestra de dicho sujeto en diversos puntos de tiempo (al menos dos puntos diferentes en el tiempo), con al menos una cantidad de referencia.

Este procedimiento de la presente invención comprende al menos uno de las siguientes etapas y/o puede comprender las siguientes etapas: a) determinar las cantidades de proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, en una muestra, preferentemente una muestra de orina de la muestra de un sujeto en diversos puntos en el tiempo (al menos dos puntos diferentes en el tiempo); b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con las cantidades de referencia; c) predecir el riesgo en base a la comparación llevada a cabo en la etapa b); d) el seguimiento de la terapia, basándose en la información obtenida en la etapa c).

La presente invención también proporciona un procedimiento para el seguimiento de la terapia en un sujeto en riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, que comprende las etapas de:

a) determinar las cantidades de proteínas de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, en una muestra de orina de un sujeto en diversos puntos en el tiempo (al menos dos puntos diferentes en el tiempo);

b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia; y

c) predecir el riesgo en base a la comparación efectuada en la etapa b)

d) recomendar o decidir la iniciación de una terapia adecuada o abstenerse de la terapia adecuada, basándose en la información obtenida en la etapa c).

En otra realización de la presente invención, la presente invención proporciona un procedimiento para el seguimiento de la terapia en un sujeto en riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, que comprende las etapas de:

a) determinar las cantidades de proteínas de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, en una muestra de orina de un sujeto en diversos puntos en el tiempo (al menos dos puntos diferentes en el tiempo);

b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia;

por lo que se predice el riesgo de que el sujeto experimente un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda.

Se predice LRA después de una intervención quirúrgica y el inicio o la abtención de una terapia adecuada se recomienda en base a la predicción.

En una realización preferida de la presente invención, la cantidad de adiponectina o una variante de la misma se determina en la muestra de orina además de la cantidad de L-FABP o una variante de la misma y el seguimiento se lleva a cabo en base a la comparación de las cantidades de marcadores con cantidades de referencia.

En otra forma de realización preferida de la presente invención, la cantidad de al menos otro marcador seleccionado de albúmina o una variante de la misma y lipocalina asociada con gelatinasa de neutrófilos (NGAL) o una variante de la misma se mide en la muestra de orina y el seguimiento se lleva a cabo sobre la base de la comparación de las cantidades del marcador con cantidades de referencia. En esta forma de realización, se medirá la cantidad de solo un marcador adicional de entre el grupo anteriormente citado adicionalmente a L-FABP o una variante de la misma y preferentemente, adiponectina o una variante de la misma, o las cantidades de ambos marcadores adicionales además a L- FABP o una variante de la misma y preferentemente, adiponectina o una variante de la misma.

"Control" como se usa en el presente documento se refiere a realizar un seguimiento del estado fisiopatológico del respectivo individuo con respecto a los acontecimientos relacionados con la LRA, en particular la propia LRA o la necesidad de diálisis, la aparición y/o progresión de la enfermedad o la influencia de un tratamiento particular en la progresión a LRA de la enfermedad. Control significa el control preferentemente después de aproximadamente 1 día, aproximadamente 2 días, 3 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 7 días, aproximadamente 10 días, aproximadamente 12 días, aproximadamente 14 días.

En una realización, la presente invención proporciona un procedimiento para el diagnóstico de la lesión renal aguda LRA en un sujeto, que comprende las etapas de:

a) determinar las cantidades de proteínas de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, preferentemente una muestra de orina de un sujeto;

b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia; y

c) diagnosticar LRA sobre la base de las etapas llevadas a cabo en la etapa b).

La presente invención también proporciona un procedimiento para el diagnóstico de la lesión renal aguda LRA en un sujeto, que comprende las etapas de:

- a) determinar las cantidades de proteínas de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, preferentemente una muestra de orina de un sujeto; y
- b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia;

En la que se diagnostica LRA sobre la base de las etapas llevadas a cabo en la etapa b).

Además, la presente invención también contempla kits y dispositivos adaptados para llevar a cabo el procedimiento de la presente invención.

Además, la presente invención se refiere a un dispositivo para predecir el riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, que comprende:

- a) medios para determinar las cantidades de proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático, preferentemente la proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático urinaria (L-FABP) o una variante de la misma y en su caso, la adiponectina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma y/o albúmina o una variante de la misma, en una muestra, preferentemente una muestra de orina de un sujeto;
- b) medios para comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia; y
- c) predecir el riesgo basándose en la comparación realizada en la etapa b) y mediante lo que el dispositivo se adapta para el diagnóstico de la lesión renal.

Además, la presente invención se refiere a un kit para predecir el riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, que comprende:

- a) medios para determinar las cantidades de proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático, preferentemente proteína de unión a ácidos grasos de tipo hepático urinaria (L-FABP) o una variante de la misma y en su caso, la adiponectina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma y/o albúmina o una variante de la misma, en una muestra, preferentemente una muestra de orina de un sujeto;
- b) medios para comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia; y
- c) predecir el riesgo basada en la comparación realizada en la etapa b) y por lo que el kit está adaptado para el diagnóstico de la lesión renal.

El término "dispositivo" como se utiliza en el presente documento se refiere a un sistema de medios que comprenden al menos los medios mencionados anteriormente operativamente unidos entre sí para permitir la predicción del riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, y/o recomendar o decidir sobre una terapia adecuada en un sujeto en riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, y/o el seguimiento de la terapia en un sujeto en riesgo de sufrir un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, basada en la predicción del riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la LRA en un sujeto. Los medios preferidos para la determinación de la cantidad de (L-FABP) y en su caso, de adiponectina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma y/o albúmina o una variante de la misma y medios para llevar a cabo la comparación se han divulgado anteriormente en relación con el procedimiento de la invención. La forma de vincular los medios de una manera operativa, dependerá del tipo de medios incluidos en el dispositivo. Por ejemplo, cuando se aplican medios para determinar automáticamente la cantidad de los péptidos, los datos obtenidos por dichos medios que operan automáticamente se pueden procesar mediante, por ejemplo, un programa de ordenador con el fin de obtener los resultados deseados. Preferentemente, los medios consisten en un único dispositivo en tal caso. De acuerdo con lo anterior, dicho dispositivo puede incluir una unidad de análisis para la medición de la cantidad de los péptidos o polipéptidos en una muestra aplicada y una unidad de ordenador para procesar los datos resultantes para la evaluación. Como alternativa, cuando se usan tiras de ensayo para determinar la cantidad de los péptidos o polipéptidos, los medios para la comparación pueden comprender tiras o tablas de control para asignar la cantidad determinada a una cantidad de referencia. Las tiras de ensayo se acoplan, preferentemente, a un ligando que se une específicamente a los péptidos o polipéptidos denominados en la presente memoria. La tira o dispositivo, preferentemente, comprende medios para la detección de la unión de dichos péptidos o polipéptidos a dicho ligando. Los medios preferidos para la detección se han descrito en relación con realizaciones relativas al procedimiento de la invención anteriores. En tal caso, los medios están unidos operativamente en cuanto a que el usuario del sistema reúne el resultado de la determinación de la cantidad y el valor de diagnóstico o pronóstico de los mismos debido a las instrucciones e interpretaciones dadas en un manual. Los medios pueden aparecer como dispositivos separados en una realización de este tipo y están, preferentemente, empaquetados juntos como un kit. El experto en la técnica conocerá la forma de vincular los medios sin ayuda adicional. Los dispositivos preferidos son aquellos que se pueden aplicar sin el conocimiento particular de un clínico especializado, por ejemplo, tiras de ensayo o dispositivos electrónicos que meramente requieren la carga con una muestra. Los resultados se pueden dar como salida de datos en bruto que necesitan la interpretación del clínico. Preferentemente, la salida del dispositivo está, sin embargo, procesada, es decir, evaluada, en los datos en bruto cuya interpretación no requiere un clínico. Otros

dispositivos preferidos comprenden las unidades/dispositivos de análisis (por ejemplo, biosensores, matrices, soportes sólidos acoplados a ligandos que reconocen específicamente L-FABP o una variante de la misma y en su caso, la adiponectina o una variante de la misma y/o la NGAL o una variante de la misma y/o la albúmina o una variante de la misma, los dispositivos de resonancia de plasmón superficial, espectrómetros de RMN, espectrómetros de masa, etc.) o unidades de evaluación/dispositivos mencionados anteriormente de acuerdo con el procedimiento de la invención.

El término "kit" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a una colección de los medios mencionados, preferentemente, proporcionados por separado o dentro de un solo recipiente. Opcionalmente, el kit puede comprender adicionalmente un manual del usuario para la interpretación de los resultados de cualquier/cualesquiera medición/mediciones con respecto a la predicción del riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, y/o recomendar o decidir sobre una terapia adecuada en un sujeto en riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, y/o el seguimiento de la terapia en un sujeto en riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, basándose en la predicción del riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con LRA, según se define en la presente invención. En particular, tal manual puede incluir información acerca de qué cantidades determinadas corresponden a qué tipo de diagnóstico. Esto se describe en detalle en esta especificación en otro lugar. Además, dicho manual del usuario puede dar instrucciones sobre el uso correcto de los componentes del kit para la determinación de las cantidades de los respectivos biomarcadores.

La presente invención también se refiere al uso de un kit o dispositivo para determinar la cantidad de L-FABP o una variante de la misma y según el caso, adiponectina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma y/o albúmina o una variante de la misma, en una muestra de un sujeto, y/o el uso de medios para determinar la cantidad de L-FABP o una variante de la misma y según el caso, adiponectina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma y/o albúmina o una variante de la misma, y/o el uso de medios para comparar la cantidad de L-FABP o una variante de la misma y según el caso, adiponectina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma y/o albúmina o una variante de la misma, con al menos una cantidad de referencia, para: predecir el riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, y/o recomendar o decidir sobre una terapia adecuada en un sujeto en riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, y/o el seguimiento de la terapia en un sujeto en riesgo de un acontecimiento adverso relacionado LRA para la lesión renal aguda como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, en el que todos los usos se basan en la predicción del riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con LRA en un sujeto.

Preferentemente, la predicción del riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica se basa en una muestra tomada antes de la intervención quirúrgica.

La presente invención también se refiere al uso de: un anticuerpo frente a la L-FABP o una variante de la misma y en su caso, un anticuerpo frente a la adiponectina o una variante de la misma y/o un anticuerpo frente a la NGAL o una variante de la misma y/o un anticuerpo frente a la albúmina o una variante de la misma, y/o de medios para determinar la cantidad de L-FABP o una variante de la misma y en su caso, medios para determinar la cantidad de adiponectina o una variante de la misma y/o medios para determinar la cantidad de NGAL o una variante de la misma y/o de medios para determinar la cantidad de albúmina o una variante de la misma, y/o de medios para comparar la cantidad de L-FABP o una variante de la misma y según sea el caso ser, adiponectina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma y/o albúmina o una variante de la misma, con al menos una cantidad de referencia para la fabricación de una composición de diagnóstico para: predecir el riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, y/o recomendar o decidir sobre una terapia adecuada en un sujeto en riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, y/o el seguimiento de la terapia en un sujeto en riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, en el que todos los usos se basan en la predicción del riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con LRA en un sujeto.

Preferentemente, la predicción del riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica se basa en una muestra tomada antes de la intervención quirúrgica.

La presente invención también se refiere al uso de: un anticuerpo frente a la L-FABP o una variante de la misma y en su caso, un anticuerpo frente a la adiponectina o una variante de la misma y/o un anticuerpo frente a NGAL o una variante de la misma y/o un anticuerpo frente a la albúmina o una variante de la misma, y/o de medios para determinar la cantidad de L-FABP o una variante de la misma y en su caso, de los medios para determinar la cantidad de adiponectina o una variante de la misma, y/o de medios para determinar la cantidad de NGAL o una variante de la misma y/o de medios para determinar la cantidad de albúmina o una variante de la misma, y/o de

medios para comparar la cantidad de L-FABP o una variante de la misma y según el caso, adiponectina o una variante de la misma y/o NGAL o una variante de la misma y/o albúmina o una variante de la misma, con al menos una cantidad de referencia para: predecir el riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, y/o recomendar o decidir sobre una terapia adecuada en un sujeto en riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, y/o un control la terapia en un sujeto en riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica en un sujeto, en el que todos los usos se basan en la predicción del riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con LRA en un sujeto.

Preferentemente, la predicción del riesgo de un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA como consecuencia de una intervención quirúrgica se basa en una muestra tomada antes de la intervención quirúrgica.

Todas las referencias citadas en esta memoria descriptiva se incorporan en el presente documento por referencia con respecto a la totalidad del contenido de la divulgación y el contenido de la divulgación mencionada específicamente en la presente memoria descriptiva.

Los siguientes ejemplos ilustran meramente la invención. No se entenderá, en absoluto, que limitan el alcance de la invención.

Figuras:

Fig 1: análisis ROC para L FABP urinaria de muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 antes de la cirugía, el análisis se realizó con respecto al criterio de valoración clínico de lesión renal aguda (sí o no).

Fig 2: análisis ROC para L FABP urinaria de muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 antes de la cirugía, el análisis se realizó con respecto a la necesidad de diálisis (sí o no).

Fig 3: análisis ROC para la adiponectina de muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 antes de la cirugía, el análisis se realizó con respecto al criterio de valoración clínico de lesión renal aguda (sí o no).

Fig 4: análisis ROC para la adiponectina de muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 antes de la cirugía, el análisis se realizó con respecto a la necesidad de diálisis (sí o no).

Fig 5: análisis ROC para la albúmina de las muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 antes de la cirugía, el análisis se realizó con respecto al criterio de valoración clínico de lesión renal aguda (sí o no).

Fig 6: análisis ROC para la albúmina de las muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 antes de la cirugía, el análisis se realizó con respecto a la necesidad de diálisis (sí o no).

Fig 7: análisis ROC para NGAL de muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 antes de la cirugía, el análisis se realizó con respecto al criterio de valoración clínico de lesión renal aguda (sí o no).

Fig 8: análisis ROC para NGAL de muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 antes de la cirugía, el análisis se realizó con respecto a la necesidad de diálisis (sí o no).

Fig 9: análisis ROC para la albúmina de las muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 aproximadamente 6 horas después de terminada la cirugía, el análisis se realizó con respecto al criterio de valoración clínico de lesión renal aguda (sí o no).

Fig 10: análisis ROC para la albúmina de las muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 aproximadamente 12 horas después de terminada la cirugía, el análisis se realizó con respecto al criterio de valoración clínico de lesión renal aguda (sí o no).

Fig 11: análisis ROC para la albúmina de las muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 aproximadamente 6 horas después de terminada la cirugía, el análisis se realizó con respecto a la necesidad de diálisis (sí o no).

Fig 12: análisis ROC para la albúmina de las muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 aproximadamente 12 horas después de terminada la cirugía, el análisis se realizó con respecto a la necesidad de diálisis (sí o no).

Fig 13: análisis ROC para la adiponectina de muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 aproximadamente 6 horas después de terminada la cirugía, el análisis se realizó con respecto a la necesidad de diálisis (sí o no).

Fig 14: análisis ROC para la adiponectina de muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 aproximadamente 12 horas después de terminada la cirugía, el análisis se realizó con respecto a la necesidad de diálisis (sí o no).

5 Fig 15: análisis ROC para L-FABP urinaria de muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 aproximadamente 6 horas después de la terminación de la cirugía, el análisis se realizó con respecto a la necesidad de diálisis (sí o no).

10 Fig 16: análisis ROC para L-FABP urinaria de muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 aproximadamente 12 horas después de terminada la cirugía, el análisis se realizó con respecto a la necesidad de diálisis (sí o no).

15 Fig 17: análisis ROC para NGAL de muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 aproximadamente 6 horas después de terminada la cirugía, el análisis se realizó con respecto a la necesidad de diálisis (sí o no).

20 Fig 18: análisis ROC para NGAL de muestras obtenidas de los pacientes descritos en el Ejemplo 1 aproximadamente 12 horas después de terminada la cirugía, el análisis se realizó con respecto a la necesidad de diálisis (sí o no).

Ejemplos

25 En los siguientes ejemplos se utilizaron los siguientes ensayos para la determinación de las cantidades de los respectivos péptidos:

30 La L-FABP se determinó mediante ELISA utilizando el Kit-L-FABP de CMIC Co., Ltd, Japón. La prueba se basa en un ensayo ELISA de 2 etapas. Las muestras patrón o de orina de L-FABP se trataron en primer lugar con solución de pretratamiento como se proporciona con la prueba y se transfirieron a una microplaca recubierta de anticuerpo frente a L-FABP que contiene tampón de ensayo y se incubaron. Durante esta incubación, la L-FABP en la solución de reacción se unió al anticuerpo inmovilizado. Después del lavado, se añadió el 2º conjugado anticuerpo-POD como anticuerpo secundario y se incubó, formando un sándwich del antígeno L-FABP entre el anticuerpo inmovilizado y el anticuerpo conjugado. Después de la incubación, la placa se lavó y se añadió sustrato para la reacción enzimática, el color se desarrolla de acuerdo a la cantidad de antígeno L-FABP. La concentración de L-FABP se determinó sobre la base de la densidad óptica. El ensayo tenía un intervalo de medición de 3 ng/ml a 400 ng/ml.

40 La adiponectina (multimérica) se determinó utilizando el ensayo EIA de ALPCO diagnostics® (EE.UU.), operando en el principio de un ELISA de formato "sandwich". Los anticuerpos específicos utilizados en el kit fueron anticuerpos monoclonales (MoAbs) anti-humanos de adiponectina dirigidos a dos epítomos independientes, las muestras se pretrataron como se describe a continuación y la adiponectina total y los multímeros individuales de adiponectina se determinaron de forma selectiva, directa o indirectamente. Los multímeros de adiponectina se clasificaron en cuatro fracciones con este kit:

- 45 1) fracción total de adiponectina: "Total-Ad" –analizada directamente en la placa
- 2) fracción de adiponectina de alto peso molecular (equivalente de -octodecámero dodecámero): "HMW-Ad" - analizada directamente en la placa
- 3) fracción de adiponectina de peso molecular medio (equivalente de hexámero): "MMW-Ad" valor inferido obtenido restando la concentración de HMW-Ad de la concentración combinada de MMW-Ad + Ad-HMW
- 50 4) fracción de adiponectina de bajo peso molecular (equivalente de trímero incluyendo la adiponectina de unión a albúmina): "LMWAd" valor inferido obtenido restando la concentración combinada de MMW-Ad + Ad-HMW de la concentración total de Ad. Los pocillos de la placa de microtitulación se habían recubierto con un anticuerpo monoclonal anti-adiponectina humana. La adiponectina en los patrones y las muestras pretratadas se capturó por el anticuerpo durante la primera incubación. Después, una etapa de lavado eliminó todo el material no unido. Subsiguientemente, se añadió un anticuerpo anti-adiponectina humana que se había marcado con biotina y se unió a la la adiponectina inmovilizada en los pocillos. Subsiguientemente, se añadió un anticuerpo anti-adiponectina humana que se había marcado con biotina y unido a la adiponectina inmovilizada en los pocillos. Después de la segunda incubación y la posterior etapa de lavado, se añadió estreptavidina marcada con HRP. Después de la tercera etapa de incubación y el lavado posterior, se añadió solución de sustrato. Finalmente, se añadió reactivo de detención después de permitir que el color se desarrolle. La intensidad del desarrollo de color se leyó en un lector de microplacas. El valor de la absorbancia indicado por el lector de placas fue proporcional a la concentración de adiponectina en la muestra. El kit de ensayo fue eficaz en el intervalo de 0,075 ng/ml a 4,8 ng/ml.

60 La NGAL se determinó mediante el kit de ELISA de NGAL Rapid ELISA Kit de Bioporto® Diagnostics, Dinamarca. El ensayo fue un ELISA realizado en micropocillos recubiertos con un anticuerpo monoclonal contra la NGAL humana. La NGAL unida se detectó con un anticuerpo monoclonal conjugado a una peroxidasa de rábano picante (HRP) y el

ensayo se desarrolló mediante incubación con un sustrato de formación de color. El ensayo utilizó un procedimiento rápido de 2 etapas:

5 Etapa 1. Las alícuotas de los calibradores, las muestras diluidas y los controles se incubaron con anticuerpo de detección conjugado con HRP en los micropocillos recubiertos. Solo NGAL se uniría a los anticuerpos de detección y recubrimiento, mientras que los materiales no unidos se eliminaron mediante lavado.

10 Etapa 2. Un sustrato de peroxidasa cromogénico que contiene tetrametilbenzidina (TMB) se añadió a cada pocillo de ensayo. La HRP unida al anticuerpo de detección unido se hizo reaccionar con el sustrato para generar un producto coloreado. La reacción enzimática se detuvo químicamente y la intensidad del color se leyó a 450 nm en un lector de ELISA. La intensidad del color (absorbancia) era una función de la concentración de NGAL originalmente añadida a cada pocillo. Los resultados para los calibradores se utilizaron para construir una curva de calibración a partir de la que se leyeron las concentraciones de NGAL en las muestras de ensayo.

15 La albúmina se determinó mediante el uso de la prueba de albúmina Cobas® Tina-quant Albumin test (Roche Diagnostics) mediante inmunturbidimetría. El principio del ensayo fue el reconocimiento de la albúmina por un anticuerpo anti-albúmina específica que forma un complejo con la albúmina, que se determinó después de la aglutinación. El ensayo tenía un intervalo de medición en la orina entre 3 ng/ml y 400 ng/ml.

20 Los ensayos citados también se emplearon preferentemente en el contexto general de la presente invención para la determinación de los respectivos péptidos.

25 A fin de optimizar los valores de referencia que predecirán la probabilidad de que se produzcan complicaciones o no se construyeron curvas de funcionamiento del receptor (ROC). Las complicaciones en el contexto de la presente invención son la lesión renal aguda definida como o necesidad de diálisis. Los puntos de tiempo para determinar la probabilidad de que se produzcan complicaciones o no fueron preferentemente antes de la cirugía. Este punto de tiempo permite adoptar todas las medidas adecuadas para evitar este tipo de complicaciones, incluyendo la posibilidad de no realizar la cirugía como se ha descrito en la presente invención. Las medidas postquirúrgicas o incluso más tardías para evitar o reducir dichas complicaciones son mucho más limitadas, sin embargo en lo que respecta al riesgo de diálisis tal información proporcionará tiempo apropiado para prepararse para una complicación, por ejemplo, la disponibilidad de equipos de diálisis, el transporte a la unidad apropiada, más vigilancia intensiva etc.

Ejemplo 1:

35 En un total de 126 pacientes (edad media 63 años), creatinina dentro de los límites normales, sometidos a cirugía de derivación coronaria programada se evaluó la presencia de marcadores de daño renal antes, después y 6, 12 y 24 horas después de la intervención. 89 pacientes no desarrollaron LRA. La LRA se reconoció en 37 pacientes, indicada por un aumento de la creatinina en al menos 0,3 mg/dl, 12 pacientes desarrollaron necesidad de diálisis y 9 murieron en los 30 días posteriores la cirugía.

40 Se midieron los siguientes marcadores renales urinarios: albúmina, adiponectina, L-FABP y NGAL.

Los resultados se presentan en las curvas ROC 1 - 18 (véase anteriormente).

45 La cantidad de L-FABP en una muestra tomada antes de la cirugía predice la necesidad de diálisis después de la cirugía así (véase la Fig. 2). Se puede alcanzar una sensibilidad de aproximadamente 60% manteniendo al mismo tiempo una selectividad de aproximadamente 80%. Por lo tanto, la necesidad de diálisis después de la cirugía se predice correctamente para más de la mitad de todos los pacientes que finalmente requieren diálisis.

50 Es importante entender que la lesión renal aguda y la lesión renal aguda específicamente seguida de diálisis pueden deberse a una enfermedad antes de la intervención o estar causadas por complicaciones de la intervención misma. En el estudio actual, la L-FABP urinaria identificó un subgrupo de pacientes con mayor riesgo de lesión renal aguda y diálisis que no se reconoció en otras pruebas de la función renal, por ejemplo, sobre la base de la determinación de la creatinina. Esta identificación fue posible antes de la intervención. La evaluación del riesgo antes de la intervención permite la adopción de medidas preventivas que no son eficaces o que son menos eficaces si se adoptan después de la aparición de los acontecimientos que conducen a la lesión renal aguda. Tales medidas incluyen un equilibrio de fluidos específicamente cuidadoso, evitar fármacos nefrotóxicos y la evitación de las bajas temperaturas de perfusión, si se utiliza circulación extracorpórea.

60 Ejemplo 2:

Se ha programado una cirugía de revascularización cardiovascular para un paciente. La cantidad de L-FABP urinaria del paciente antes de la cirugía es de 36,0 µg/g de creatinina. En consecuencia, el balance hídrico del paciente se controla cuidadosamente y se evitan las bajas temperaturas de perfusión de la derivación cardiopulmonar. El paciente se recupera de la cirugía sin signos o síntomas de lesión renal.

65

Ejemplo 3:

5 Se ha programado una cirugía de revascularización cardiovascular para un paciente. La cantidad de L-FABP urinaria del paciente antes de la cirugía es de 3,1 $\mu\text{g/g}$ de creatinina. Aunque no se toman medidas preventivas especiales, el paciente se recupera de la cirugía sin signos o síntomas de lesión renal.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para predecir el riesgo de un sujeto de experimentar un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda (LRA) después de una intervención quirúrgica, que comprende las etapas de:
- 5 a) determinar las cantidades de proteínas de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de la misma, en una muestra, preferentemente una muestra de orina, obtenida de un sujeto antes de la intervención quirúrgica; y
- b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia; y
- 10 por lo que se predice el riesgo de que el sujeto experimente un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA después de una intervención quirúrgica.
2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que además la cantidad de adiponectina o una variante de la misma se determina en la muestra y el riesgo se predice basándose en la comparación de las cantidades de marcadores con las cantidades de referencia respectivas.
- 15 3. El procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que la cantidad de al menos otro marcador seleccionado de albúmina o una variante de la misma y de lipocalina asociada con gelatinasa de neutrófilos (NGAL) o una variante de la misma se mide en la muestra y el riesgo se prevé basándose en la comparación de las cantidades de marcador con las respectivas cantidades de referencia.
- 20 4. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 3,6 $\mu\text{g/g}$ de creatinina para la L-FABP o una variante de la misma es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo de padecer LRA y una cantidad de referencia de \geq aproximadamente 10,8 $\mu\text{g/g}$, de creatinina para la L-FABP o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo alto de padecer LRA, cuando se determina antes de llevar a cabo la intervención quirúrgica.
- 25 5. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que una cantidad de referencia de \leq 4,2 mg/g de creatinina para la L-FABP o una variante de la misma, es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo de tener necesidad de diálisis y una cantidad de referencia de \geq aproximadamente 35,4 $\mu\text{g/g}$ de creatinina para la L-FABP o una variante de la misma es indicativa de que el individuo tiene un riesgo alto de tener necesidad de diálisis, cuando se determina antes de llevar a cabo la intervención quirúrgica.
- 30 6. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 3,6 $\mu\text{g/g}$ de creatinina para la adiponectina o una variante de la misma es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo de padecer LRA y una cantidad de referencia de \geq aproximadamente 15,6 $\mu\text{g/g}$ de creatinina para la adiponectina o una variante de la misma es indicativa de que el individuo tiene un riesgo alto de padecer LRA, cuando se determina antes de llevar a cabo la intervención quirúrgica.
- 35 7. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que una cantidad de referencia de \leq aproximadamente 8,8 $\mu\text{g/g}$ de creatinina para la adiponectina o una variante de la misma es indicativa de que el individuo tiene un riesgo bajo de tener necesidad de diálisis y una cantidad de referencia \geq aproximadamente 30,4 $\mu\text{g/g}$ de creatinina para la adiponectina o una variante de la misma es indicativa de que el individuo tiene un riesgo alto de tener necesidad de diálisis, cuando se determina antes de llevar a cabo la intervención quirúrgica.
- 40 8. Un procedimiento de recomendación de una terapia adecuada en un sujeto en riesgo de experimentar un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA tras una intervención quirúrgica, que comprende las etapas de:
- 45 a) determinar antes de la intervención quirúrgica las cantidades de proteínas de unión a ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP) o una variante de las mismas, en una muestra de orina de un sujeto;
- 50 b) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia; y
- por lo que se predice el riesgo de que el sujeto experimente un acontecimiento adverso relacionado con la lesión renal aguda LRA después de una intervención quirúrgica y el inicio o la restricción de una terapia adecuada se recomienda en base a la predicción.
- 55 9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la cantidad de adiponectina o una variante de la misma se determina en la muestra de orina además de la cantidad de L-FABP o de una variante de la misma y la recomendación se establece basándose en la comparación de las cantidades del marcador con las cantidades de referencia.
- 60 10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, en el que la cantidad de al menos un marcador adicional seleccionado de albúmina o una variante de la misma y lipocalina asociada con gelatinasa de neutrófilos (NGAL) o una variante de la misma se mide en la muestra de orina y la recomendación se establece basándose en la comparación de las cantidades del marcador con las cantidades de referencia.

11. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 o 10, en el que los marcadores respectivos se determinan antes de la cirugía o después de finalizada la intervención quirúrgica, preferentemente antes de la cirugía.
- 5 12. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, en el que las terapias adecuadas son la administración de sustancias farmacéuticas y/o las recomendaciones del estilo de vida que son eficaces con respecto a la inhibición de la progresión adicional de enfermedad renal y/o control de los factores de riesgo conocidos que precipitan la LRA.
- 10 13. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12, en el que las terapias adecuadas incluyen un cuidadoso equilibrio de fluidos durante y después de la cirugía, evitando las temperaturas de perfusión bajas si se usa una derivación cardiopulmonar durante la cirugía, evitando fármacos nefrotóxicos, preferentemente fármacos antiinflamatorios no esteroideos y sulfonamidas y la administración de eritropoyetina.
- 15 14. Uso *in vitro* de un anticuerpo anti-L-FABP antes de una intervención quirúrgica para predecir el riesgo de un sujeto de experimentar un acontecimiento adverso relacionado con una lesión renal aguda (LRA) tras una intervención quirúrgica.
- 20 15. Uso *in vitro* de un anticuerpo anti-L-FABP antes de una intervención quirúrgica para recomendar o decidir sobre una terapia adecuada en un sujeto en riesgo de experimentar un acontecimiento adverso relacionado con una lesión renal aguda (LRA) tras una intervención quirúrgica.

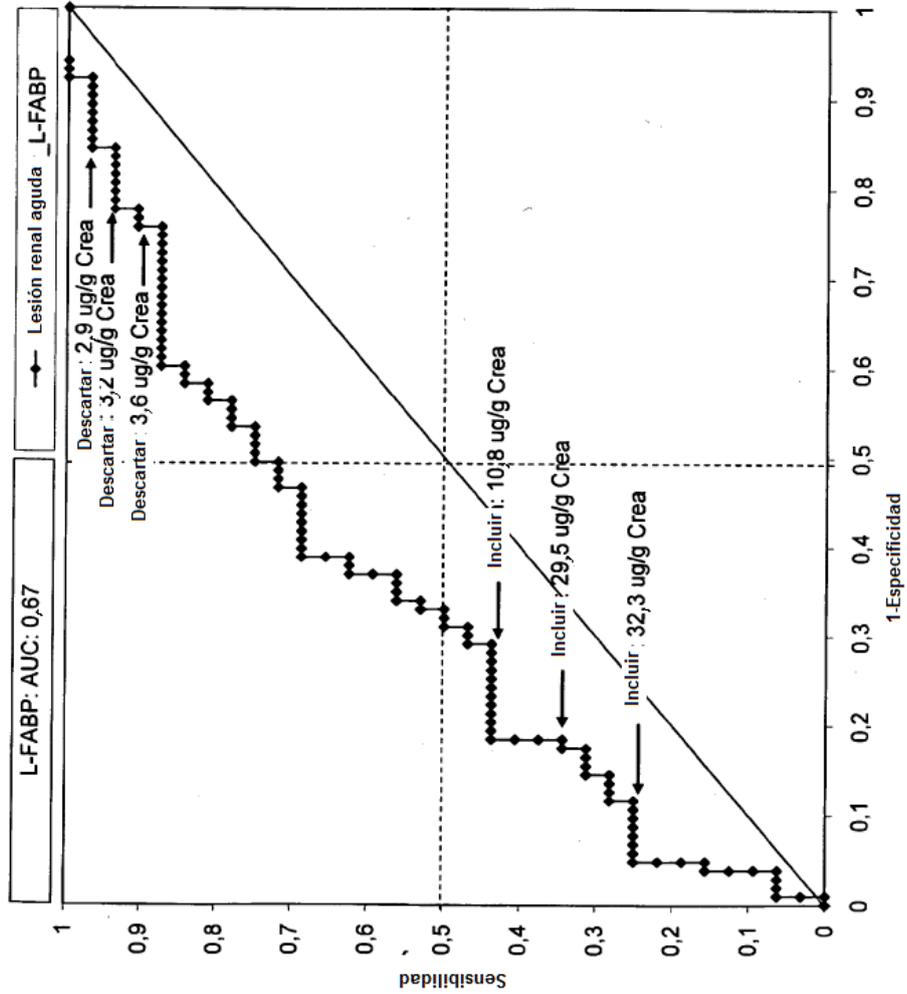


Fig. 1:

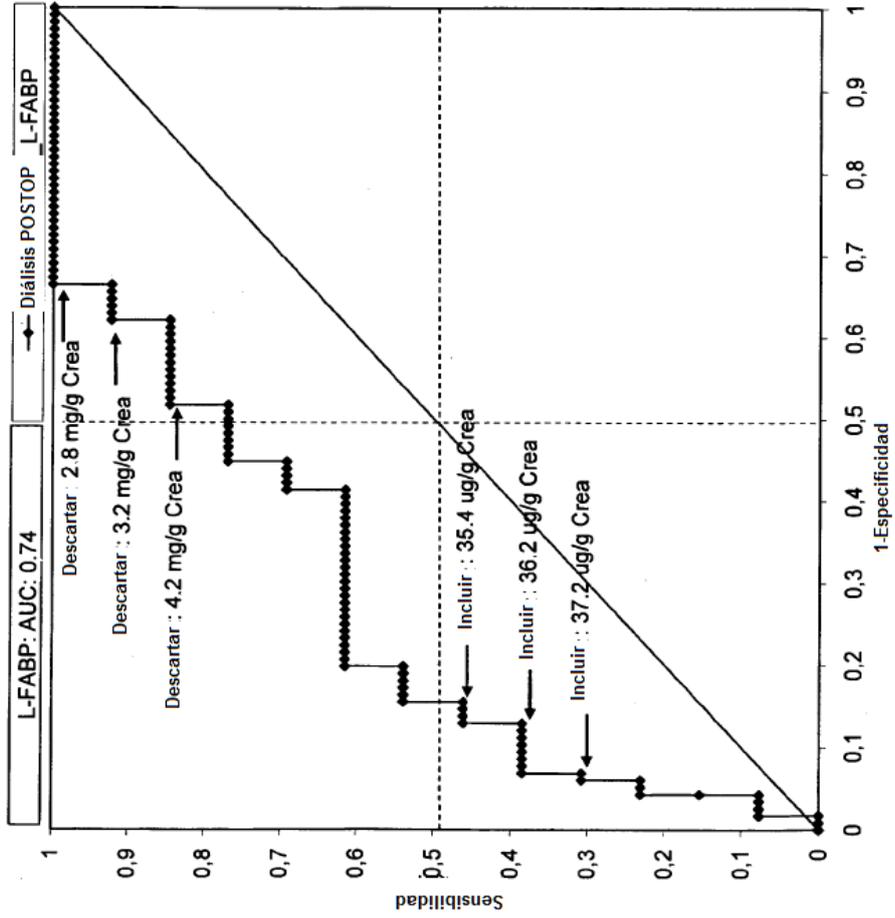


Fig. 2:

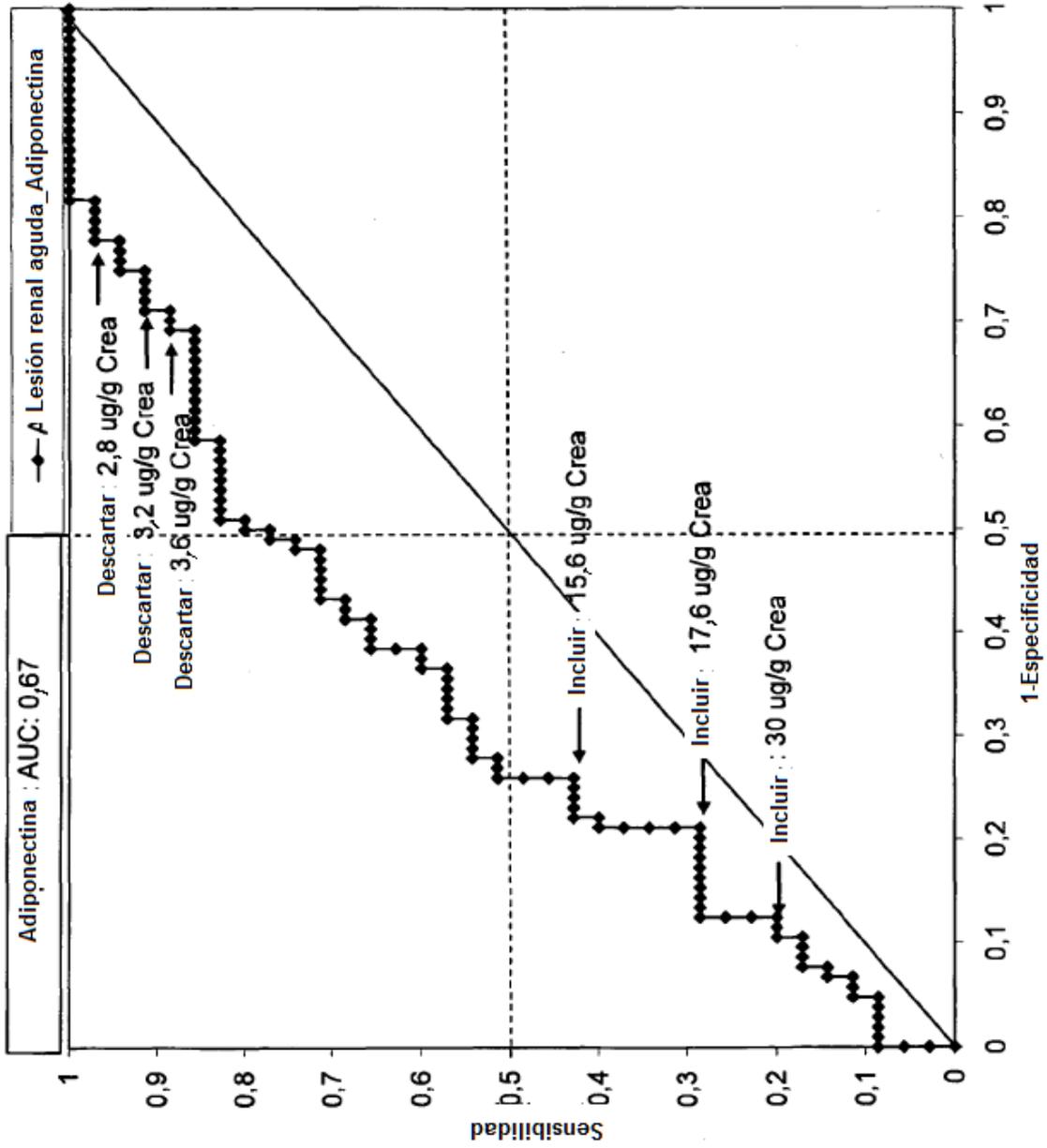
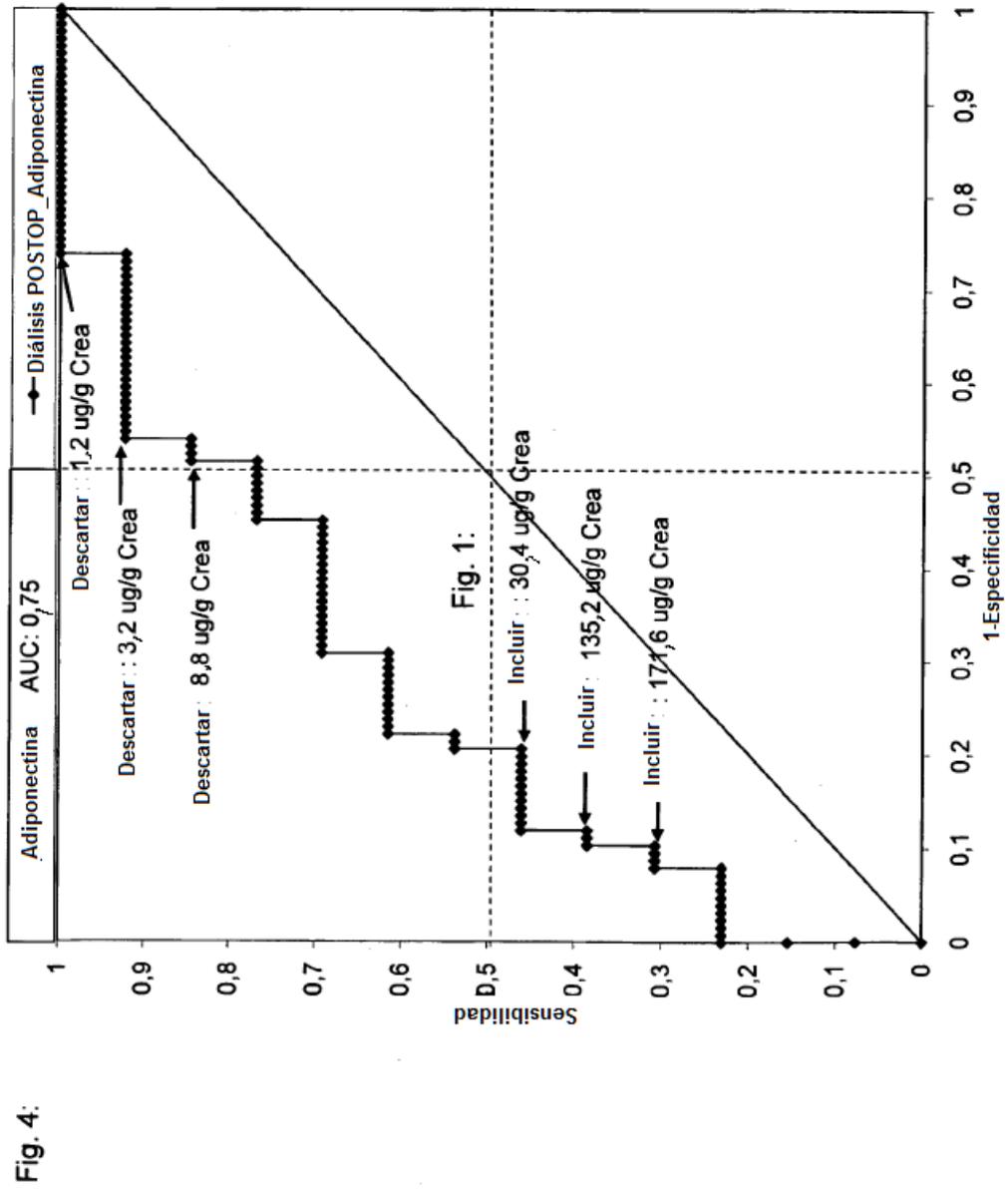


Fig. 3:



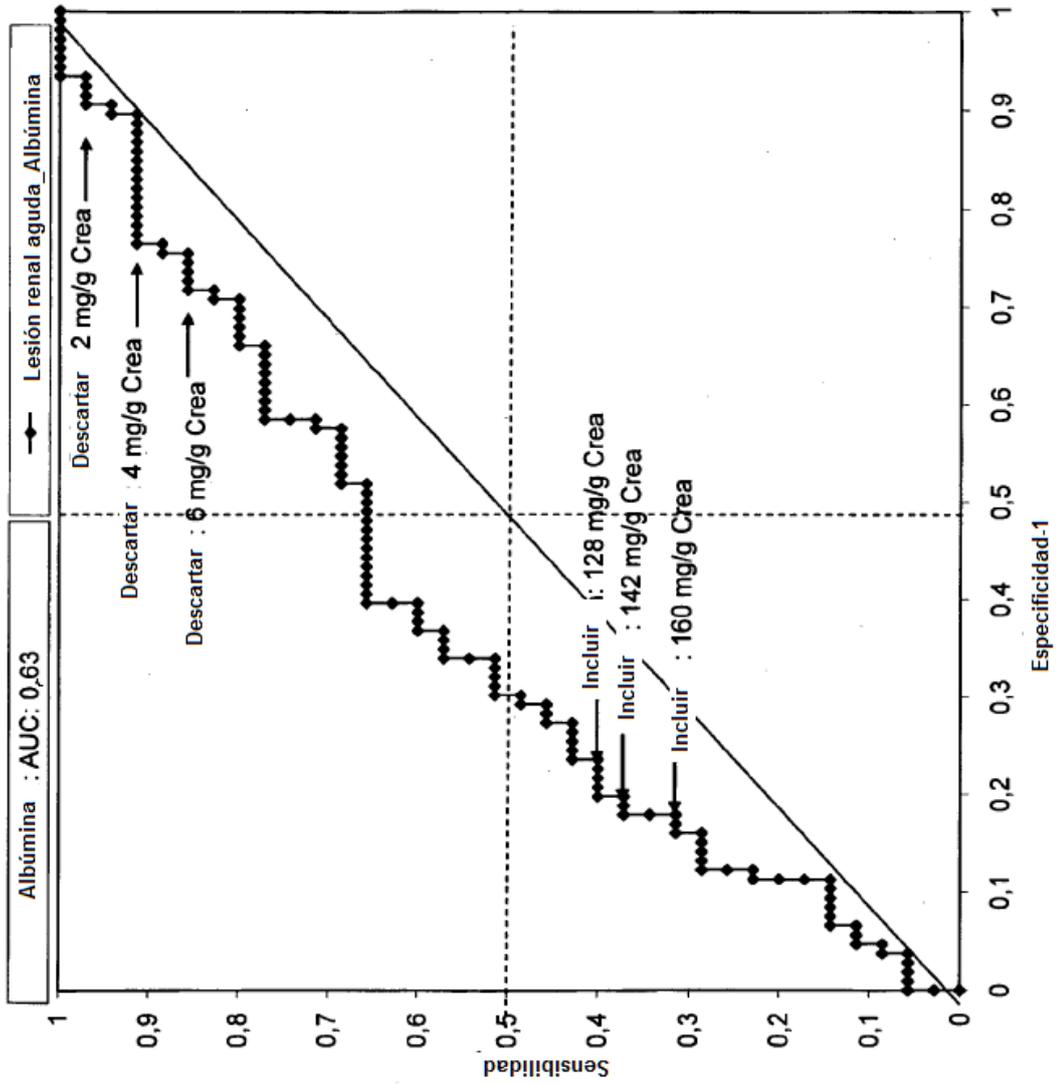
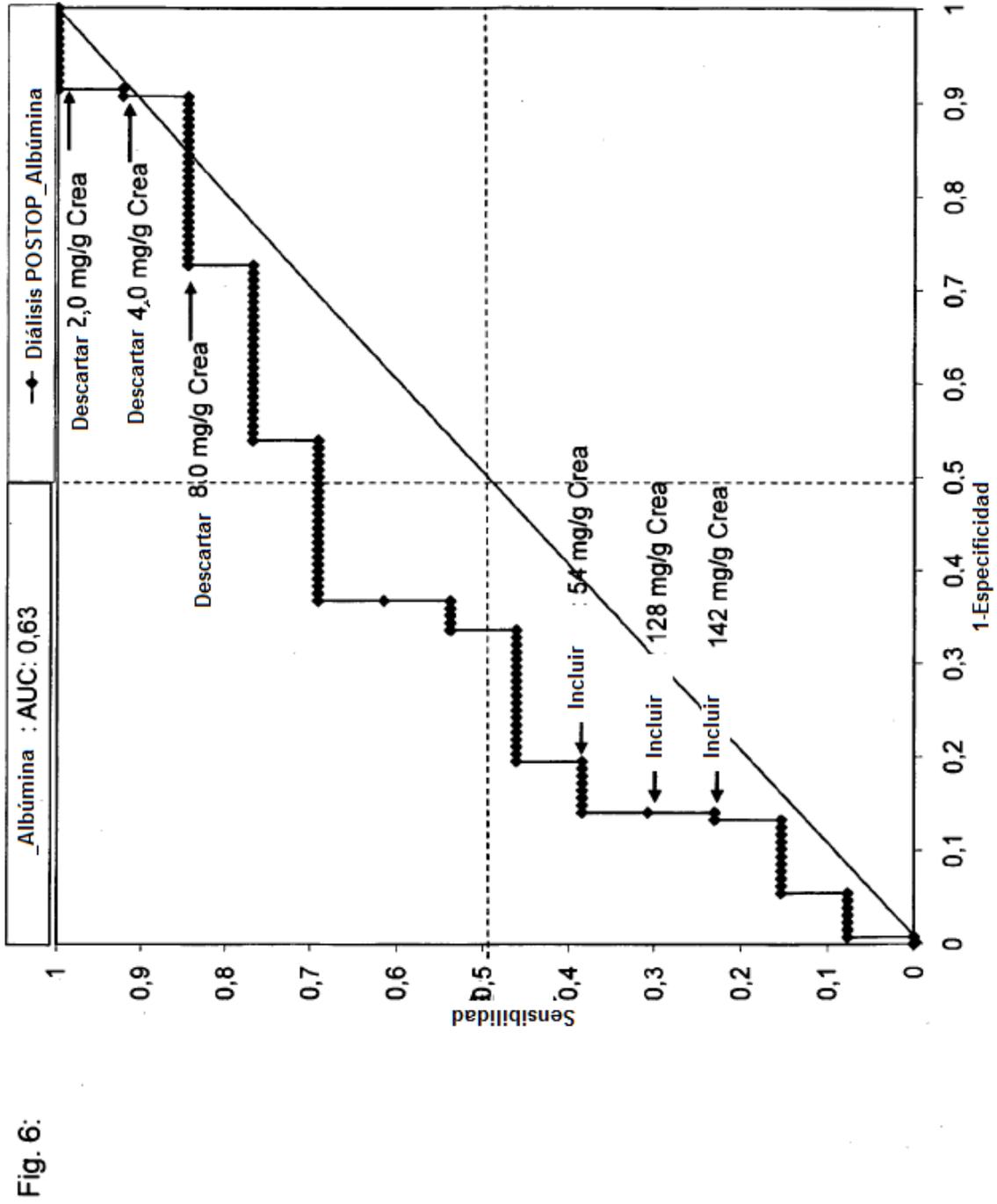


Fig. 5:



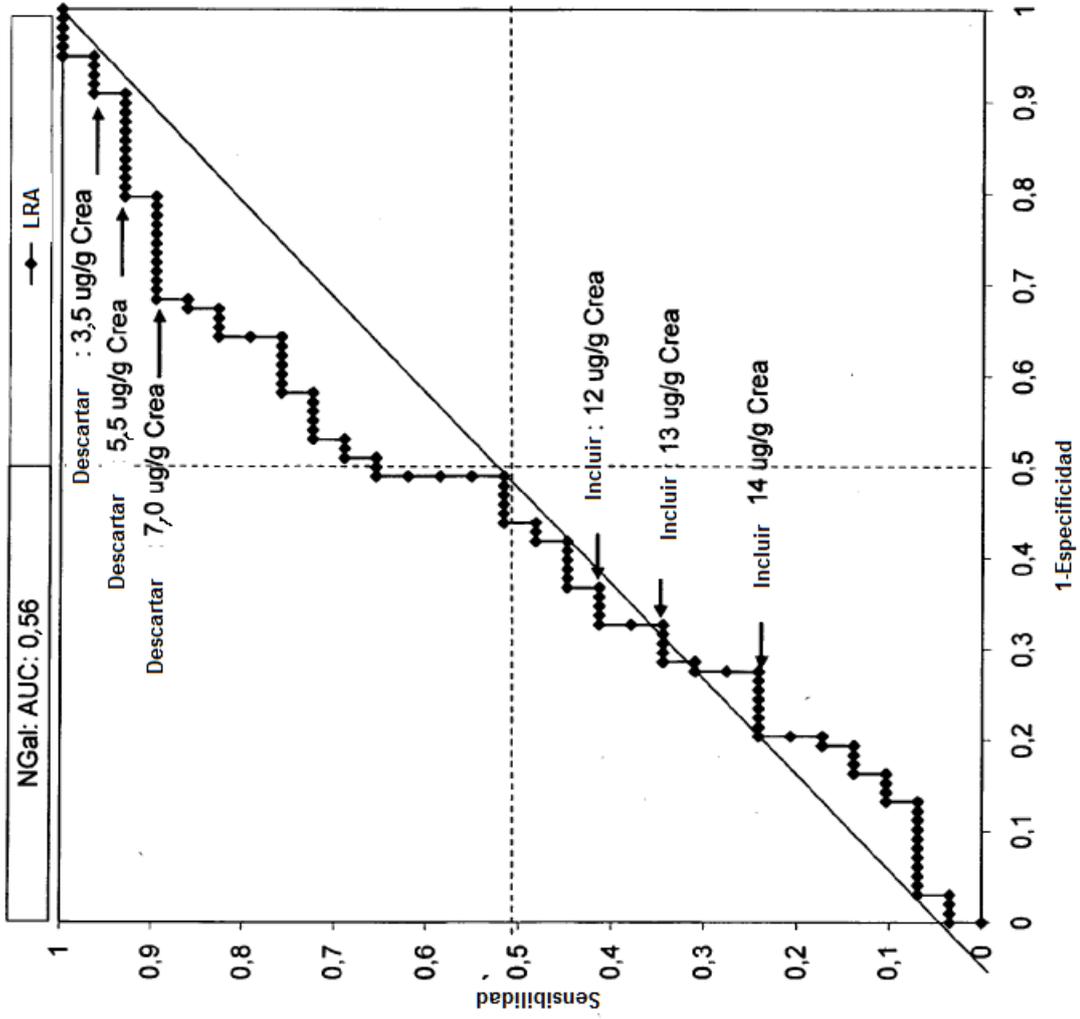


Fig. 7:

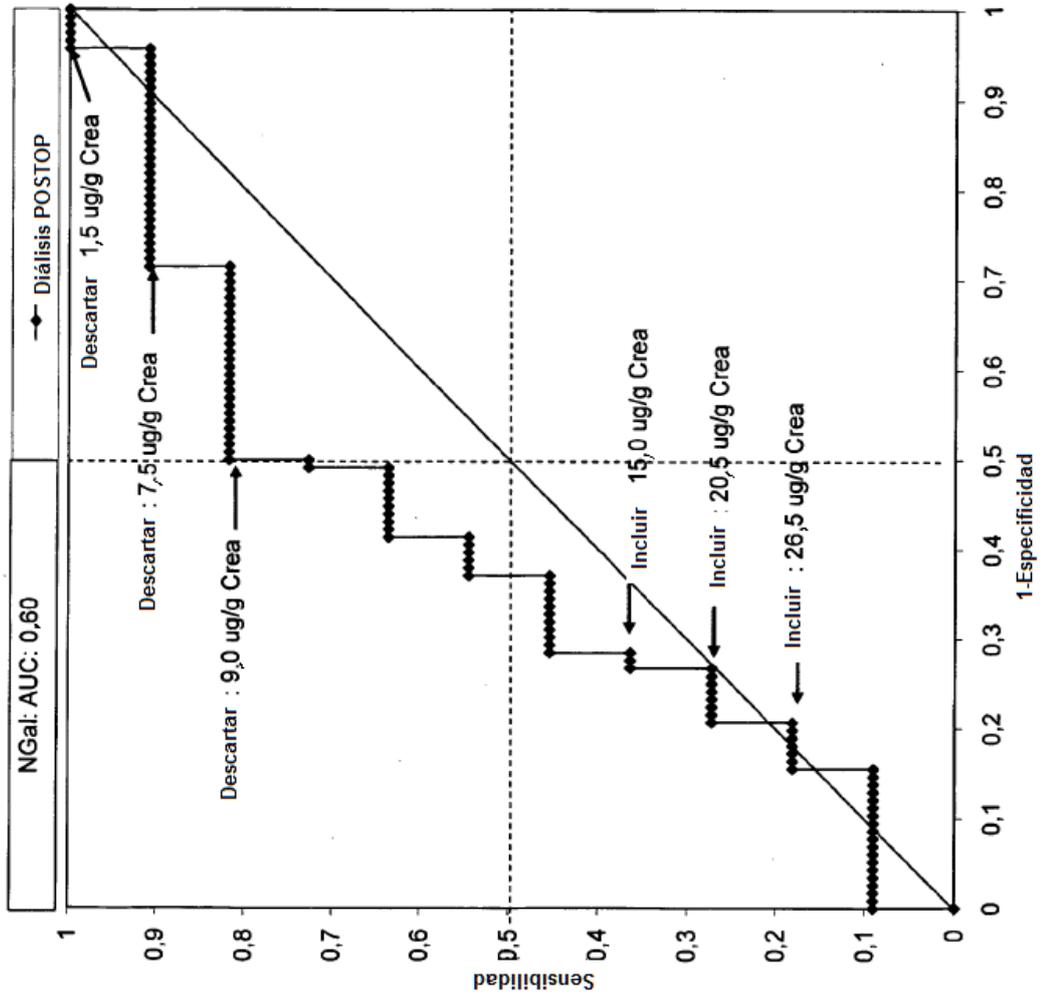


Fig. 8:

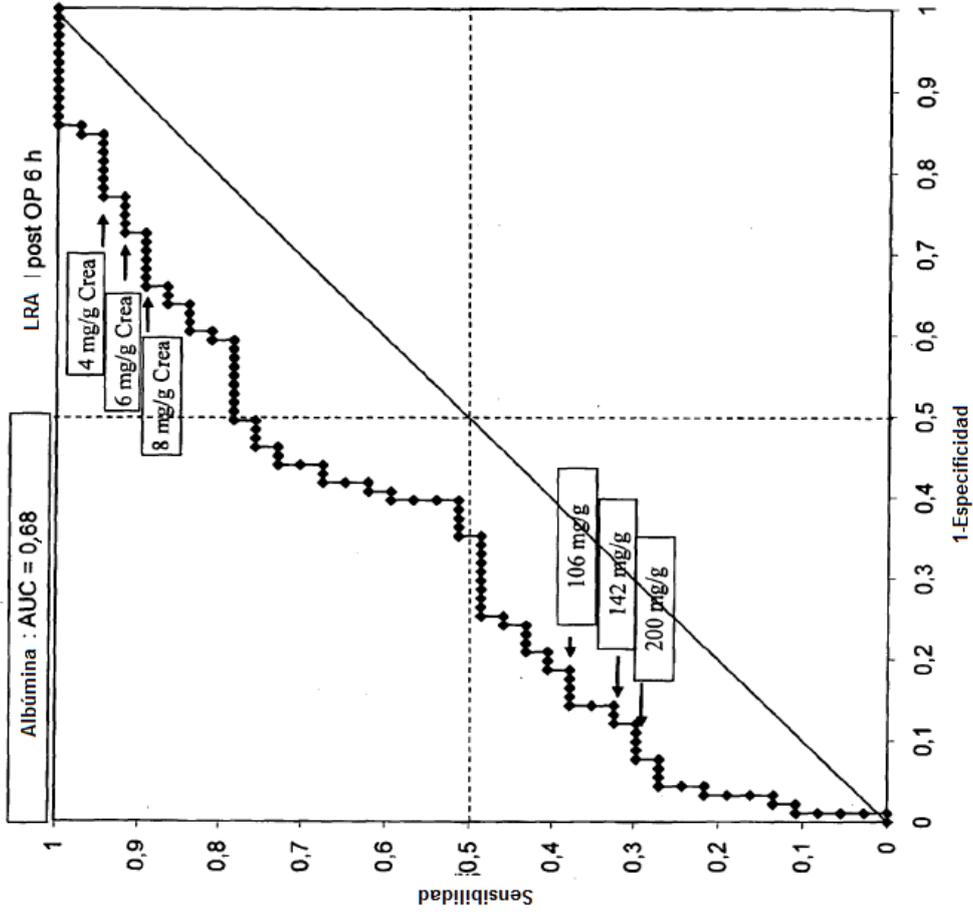


Fig. 9:

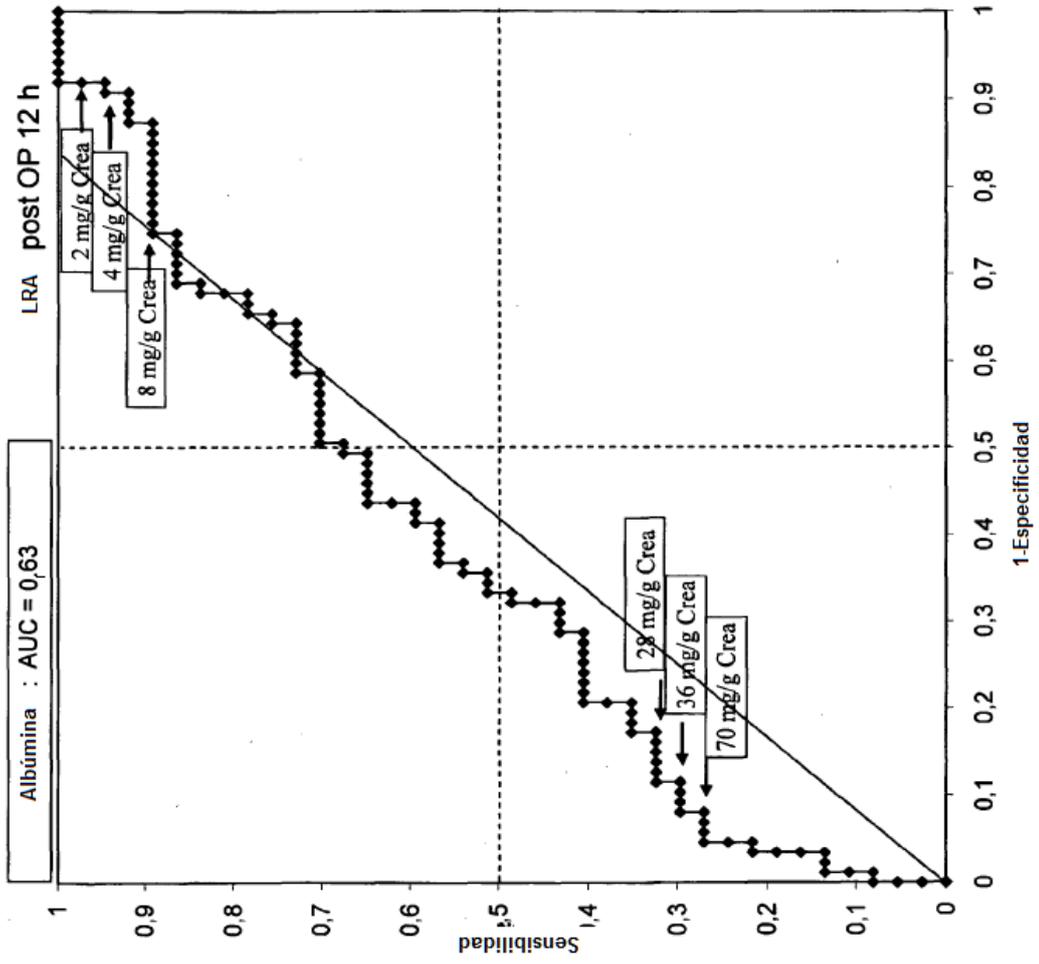


Fig. 10:

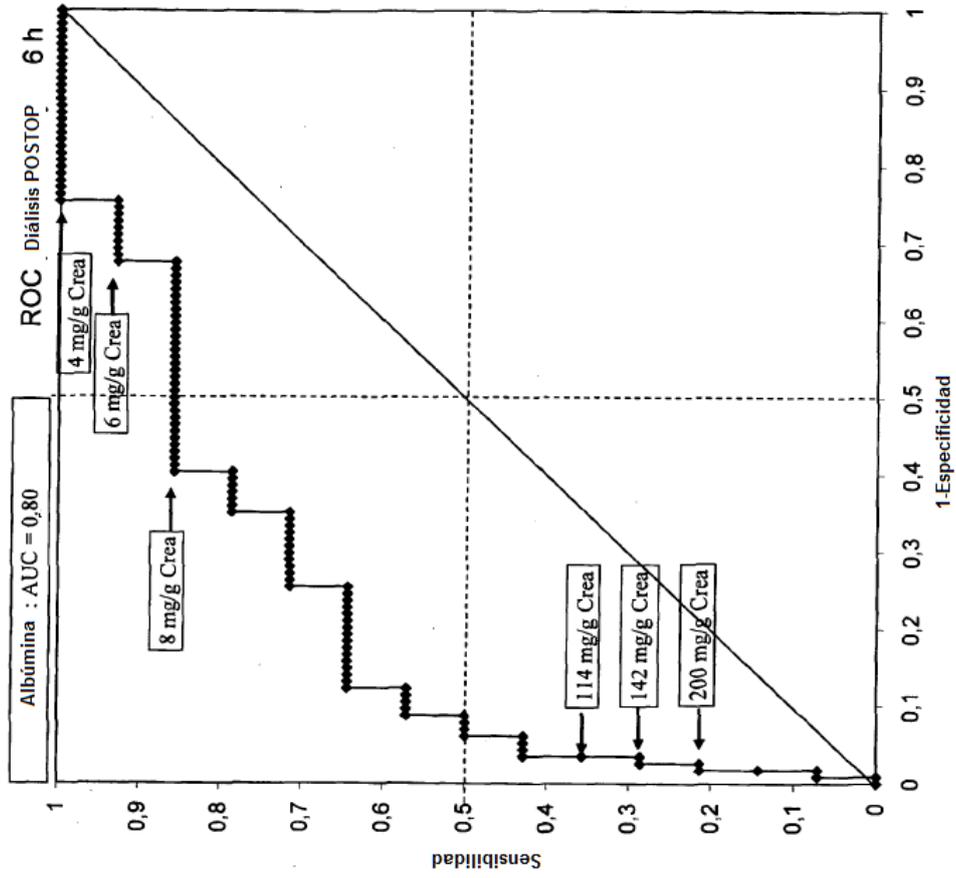


Fig. 11:

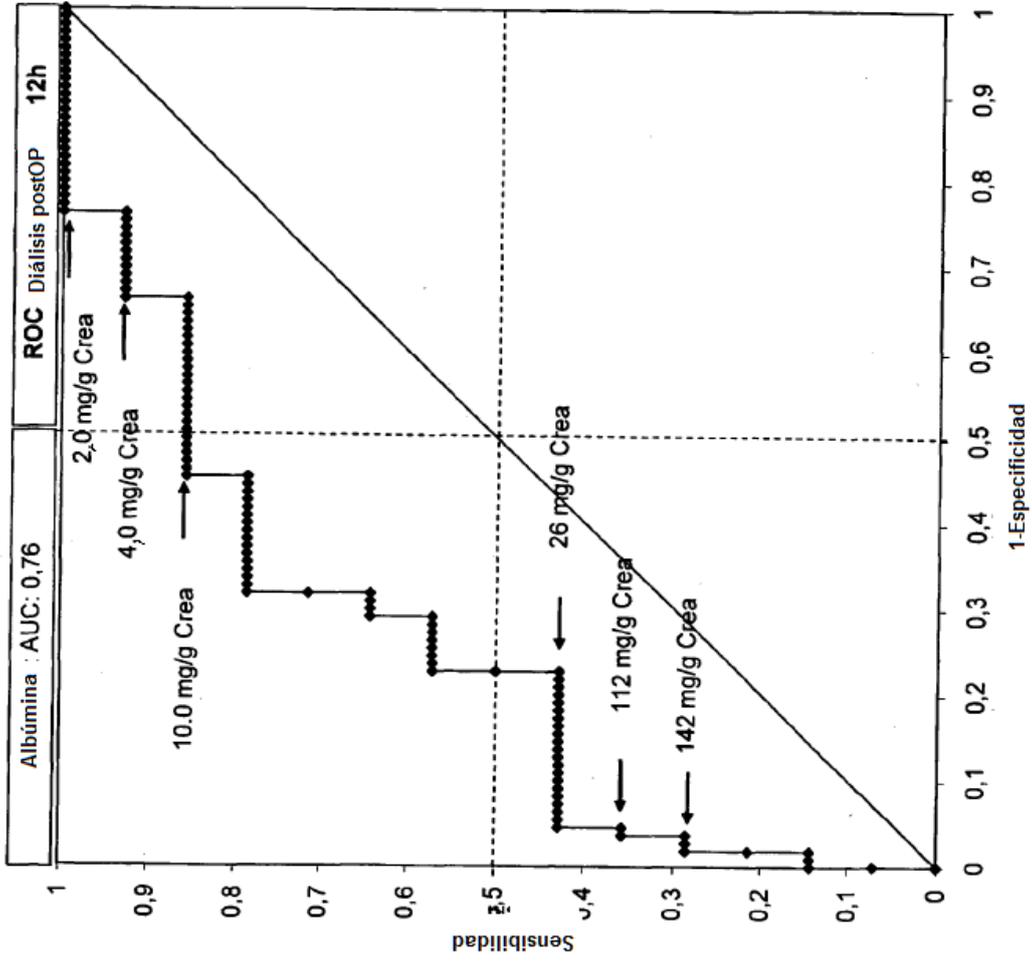


Fig. 12:

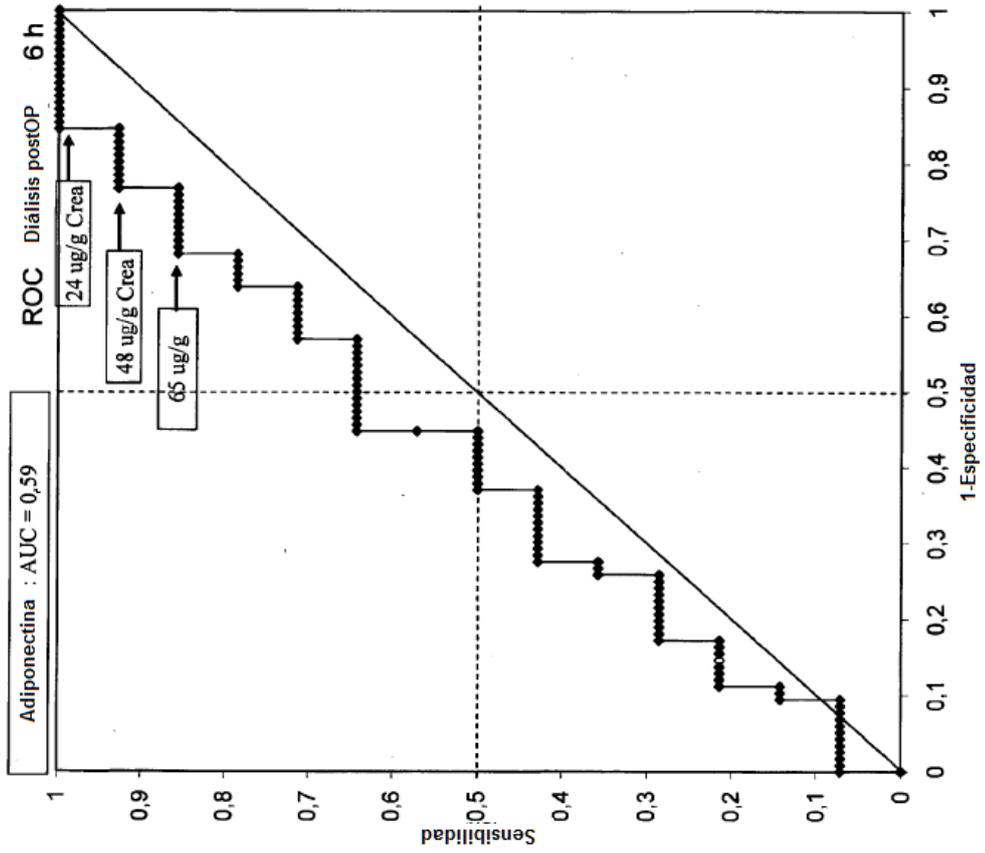


Fig. 13:

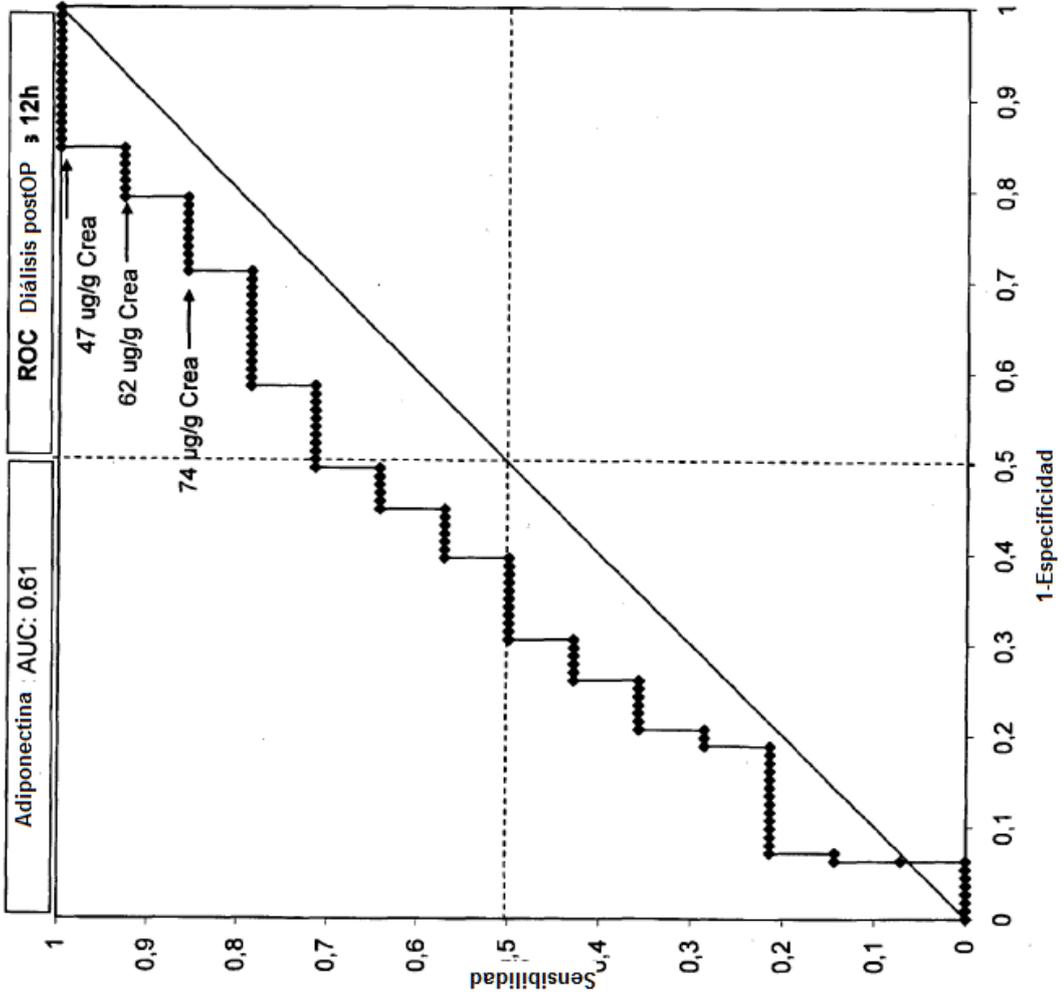


Fig. 14:

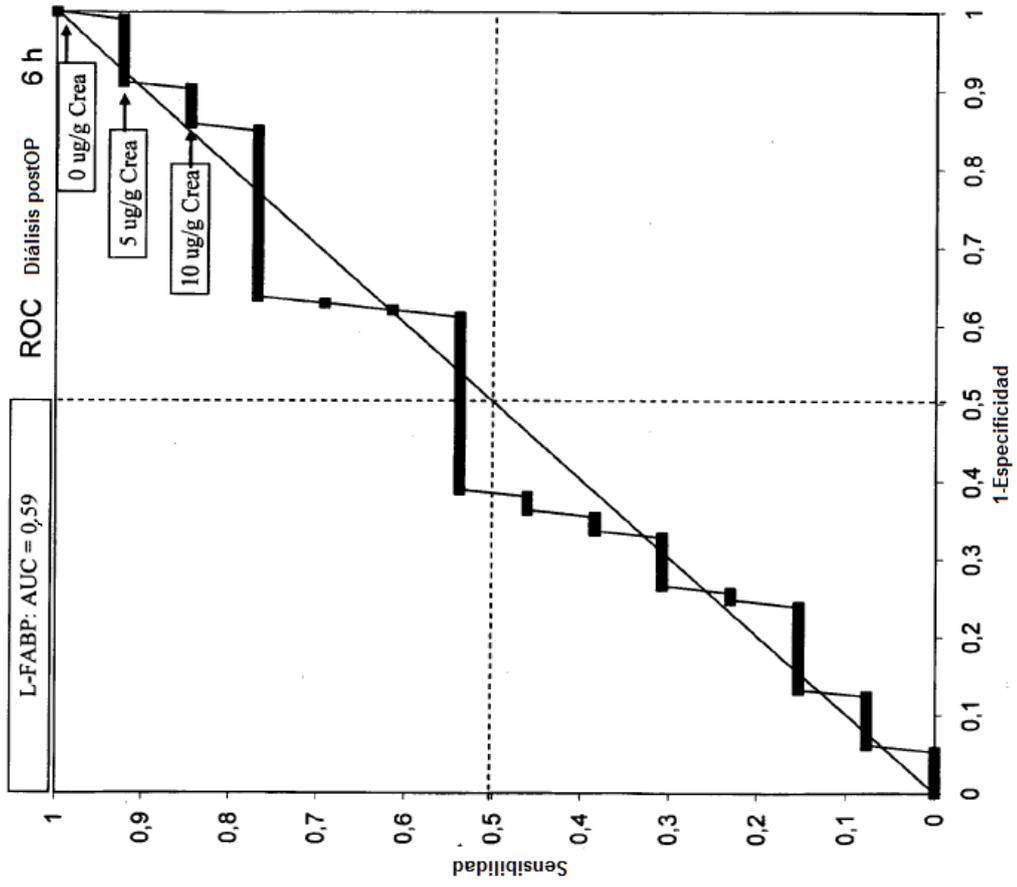


Fig. 15:

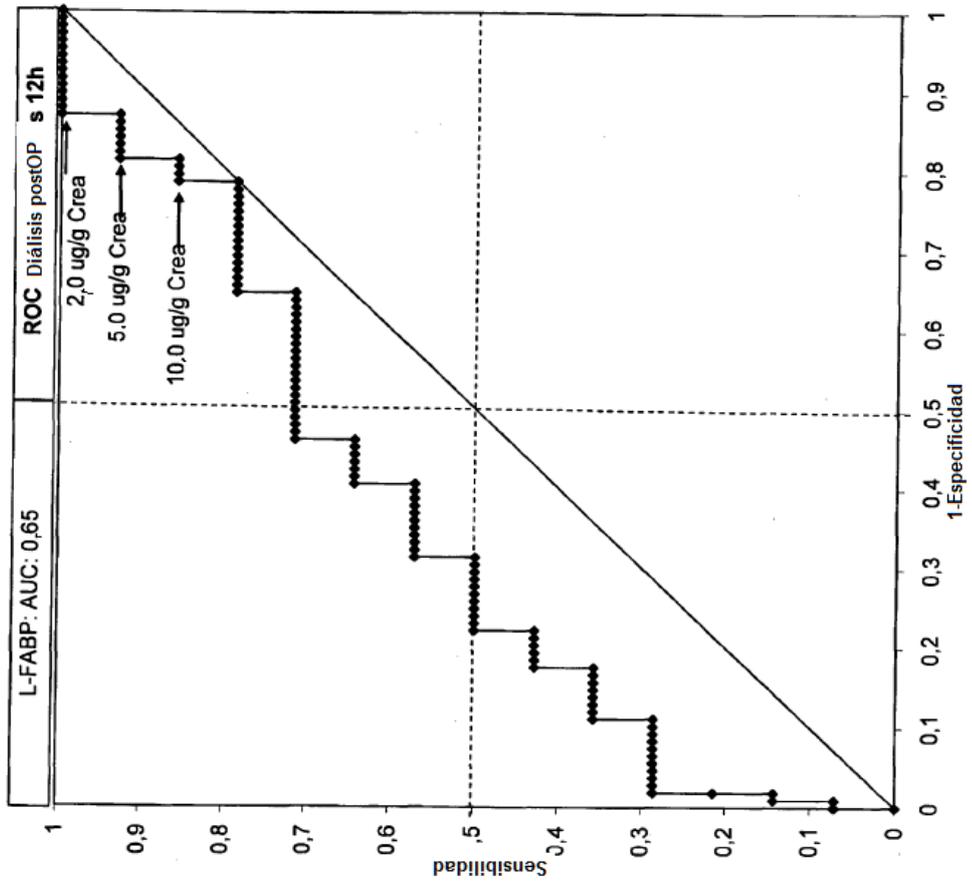


Fig. 16:

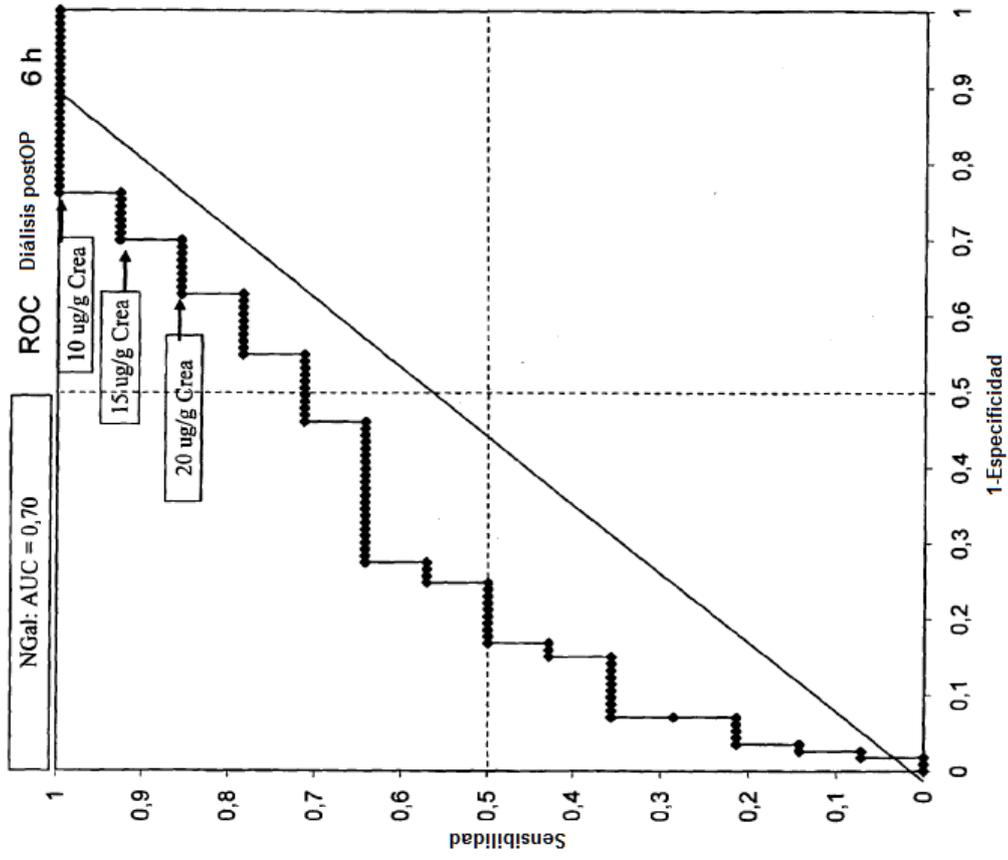


Fig. 17:

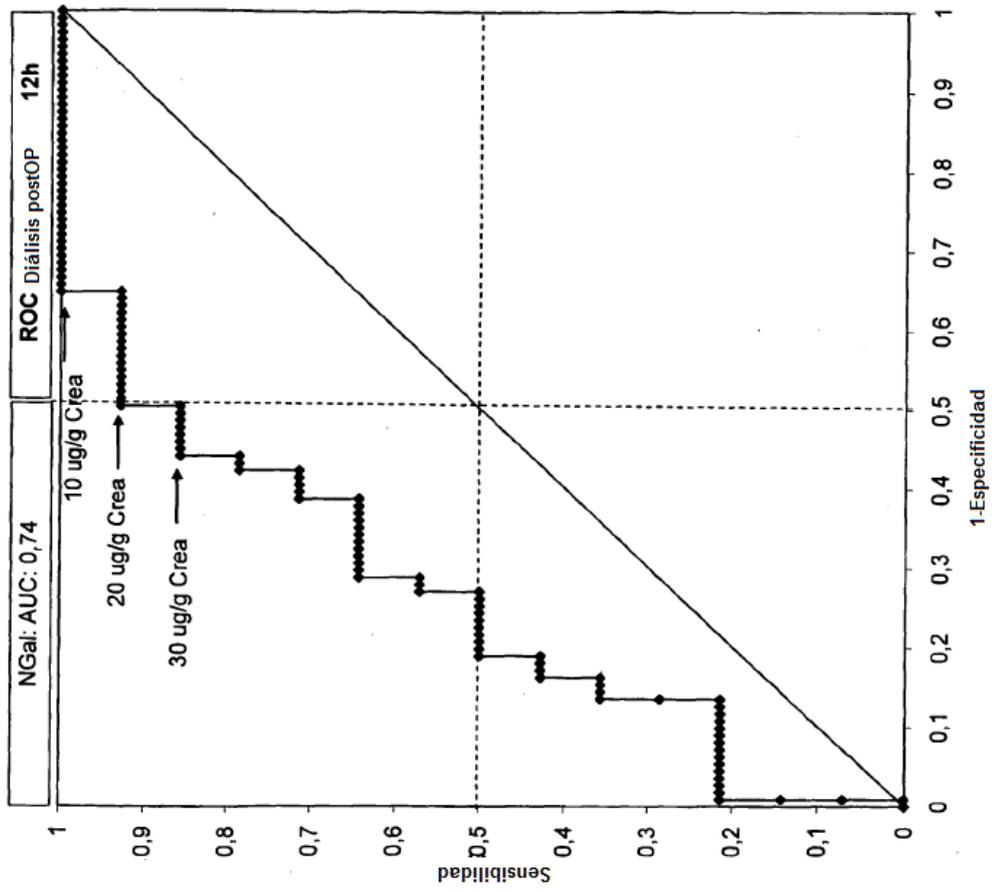


Fig. 18: