

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 619 617**

51 Int. Cl.:

**C08B 37/08** (2006.01)

**G01N 33/50** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.09.2011 PCT/US2011/053015**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.03.2012 WO2012040592**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.09.2011 E 11827625 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.12.2016 EP 2619231**

54 Título: **Procedimientos para la evaluación de una lesión renal utilizando ácido hialurónico**

30 Prioridad:

**24.09.2010 US 386421 P**

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

**26.06.2017**

73 Titular/es:

**ASTUTE MEDICAL, INC. (50.0%)  
Blg 2 R. 645 3550 General Atomics Court  
San Diego, CA 92121, US y  
UNIVERSITY OF PITTSBURGH - OF THE  
COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER  
EDUCATION (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ANDERBERG, JOSEPH;  
GRAY, JEFF;  
MCPHERSON, PAUL;  
NAKAMURA, KEVIN;  
KAMPF, JAMES, PATRICK;  
SINGBARTL, KAI y  
KELLUM, JOHN A. JR.**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 619 617 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Procedimientos para la evaluación de una lesión renal utilizando ácido hialurónico

La presente solicitud reivindica la prioridad de la solicitud provisional de EE. UU. con nº de serie 61/386.421, presentada el 24 de septiembre de 2010.

- 5 Esta invención se realizó con el apoyo del gobierno de los Estados Unidos bajo la concesión/contrato N.º 5R01DK070910-035R01DK070910-03 otorgado por los Institutos Nacionales de Diabetes y Enfermedades Digestivas y Renales. El gobierno tiene determinados derechos sobre la invención.

**Antecedentes de la invención**

- 10 El siguiente análisis de los antecedentes de la invención se proporciona meramente para ayudar al lector en la comprensión de la invención, y no se admite para describir o constituir técnica anterior a la presente invención.

15 El riñón es responsable de la excreción de agua y solutos fuera del cuerpo. Sus funciones incluyen el mantenimiento del equilibrio ácido-base, la regulación de las concentraciones de electrolitos, el control del volumen de sangre, y la regulación de la presión arterial. Por ello, la pérdida de la función renal debido a lesiones y/o enfermedades provoca una importante morbilidad y mortalidad. Un análisis detallado de las lesiones renales se proporciona en "Principios de medicina interna de Harrison" (Harrison's Principles of Internal Medicine), 17ª Ed., McGraw Hill, Nueva York, páginas 1741 a 1830. La enfermedad y/o las lesiones renales pueden ser agudas o crónicas. La enfermedad renal aguda y crónica se describe de la siguiente manera (en "Current Medical Diagnosis & Treatment" (Diagnosis y tratamiento médico actual) de 2008, 47ª Ed., McGraw Hill, Nueva York, páginas 785 a 815): "La insuficiencia renal aguda es el empeoramiento de la función renal durante horas o días, lo que resulta en la retención de desechos nitrogenados (tales como nitrógeno ureico) y creatinina en la sangre. La retención de estas sustancias se llama azotemia. La insuficiencia renal crónica (enfermedad renal crónica) resulta de una pérdida anormal de la función renal durante meses o años".

25 La insuficiencia renal aguda (IRA, también conocida como lesión renal aguda) es una reducción brusca (detectada típicamente en las primeras dentro de las aproximadamente 48 horas a 1 semana aproximadamente) en la filtración glomerular. Esta pérdida de capacidad de filtración resulta en la retención de productos de desecho nitrogenados (urea y creatinina) y no nitrogenados que normalmente excreta el riñón, una reducción del gasto urinario, o ambos. Se ha informado de que la IRA supone aproximadamente el 5 % de los ingresos hospitalarios, 4 a 15 % de las cirugías de bypass cardiopulmonar, y hasta un 30 % de los ingresos en cuidados intensivos. La IRA, según su etiología, puede ser clasificada como prerrenal, renal intrínseca, o postrenal. La enfermedad renal intrínseca se puede subdividir a su vez en anomalías glomerulares, tubulares, intersticiales y vasculares. Las principales causas de la IRA se describen en la siguiente tabla, que está adaptada a partir del Manual Merck, 17ª Ed., Capítulo 222:

Tipo	Factores de riesgo
<b>Prerrenal</b>	
Hipovolemia extracelular	Diuresis excesiva, hemorragias, pérdidas gastrointestinales, pérdida de fluido intravascular al espacio extravascular (debido a ascitis, peritonitis, pancreatitis, o quemaduras), pérdida de piel y membranas mucosas, estados de pérdida de sal y agua renales
Bajo gasto cardíaco	Cardiomiopatía, IM, taponamiento cardíaco, embolia pulmonar, hipertensión pulmonar, ventilación mecánica con presión positiva
Baja resistencia vascular sistémica	Choque séptico, insuficiencia hepática, fármacos antihipertensivos
Aumento de la resistencia vascular renal	AINE, ciclosporinas, tacrolimus, hipercalcemia, anafilaxia, anestésicos, obstrucción de la arteria renal, trombosis de la vena renal, sepsis, síndrome hepatorenal

Tipo	Factores de riesgo
Disminución del tono de las arteriolas eferentes (que conduce a una disminución de la TFG por la reducción de la presión transcápsular glomerular, especialmente en pacientes con estenosis bilateral de la arteria renal)	Inhibidores de la ECA o bloqueadores de los receptores de la angiotensina II
<b>Renal intrínseca</b>	
Lesión tubular aguda	Isquemia (estado prerrenal prolongado o grave): cirugía, hemorragia, obstrucción arterial o venosa; Toxinas: AINE, ciclosporinas, tacrolimus, aminoglucósidos, foscarnet, etilenglicol, hemoglobina, mioglobina, ifosfamida, metales pesados, metotrexato, agentes de contraste radio-opacos, estreptozotocina
<b>Renal intrínseca</b>	
Glomerulonefritis aguda	Asociada a ANCA: glomerulonefritis, poliarteritis nodosa, granulomatosis de Wegener; glomerulonefritis anti-MBG: síndrome de Goodpasture; inmunocomplejo: glomerulonefritis lúpica, glomerulonefritis postinfecciosa, glomerulonefritis crioglobulinémica
Nefritis túbulointersticial aguda	Reacción a fármacos (por ejemplo, beta-lactámicos, AINE, sulfonamidas, ciprofloxacina, diuréticos tiazídicos, furosemida, fenitoína, alopurinol, pielonefritis, necrosis papilar
Nefropatía vascular aguda	Vasculitis, hipertensión maligna, microangiopatía trombótica, esclerodermia, ateroembolia
Enfermedades infiltrativas	Linfoma, sarcoidosis, leucemia
<b>Postrenal</b>	
Precipitación tubular	Ácido úrico (lisis tumoral), sulfonamidas, triamtereno, aciclovir, indinavir, metotrexato, ingestión de etilenglicol, proteína de mieloma, mioglobina
Obstrucción ureteral	Intrínseca: Cálculos, coágulos, desprendimiento de tejido renal, bola fúngica, edema, tumores malignos, defectos congénitos; Extrínsecos: Malignidad, fibrosis retroperitoneal, traumatismo ureteral durante una cirugía o lesión de elevado impacto
Obstrucción de la vejiga	Mecánicos: Hiperplasia benigna de próstata, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, estenosis uretral, fimosis, parafimosis, válvulas uretrales, sonda urinaria permanente obstruida; Neurogénicos: Fármacos anticolinérgicos, lesión de la neurona motora superior o inferior

5 En el caso de la IRA isquémica, la evolución de la enfermedad se puede dividir en cuatro fases. Durante una fase de iniciación, que dura horas o días, la reducida perfusión del riñón evoluciona a lesión. La ultrafiltración glomerular se reduce, el flujo de filtrado se reduce debido a los desechos dentro de los túbulos, y se producen fugas del filtrado a través de epitelio lesionado. La lesión renal puede prevenirse durante esta fase por reperfusión del riñón. Tras la fase inicial viene la fase de extensión que se caracteriza por una lesión isquémica continuada e inflamación, y puede cursar con lesión endotelial y congestión vascular. Durante la fase de mantenimiento, con una duración de 1 a 2 semanas, se produce daño en las células renales y la filtración glomerular y el gasto urinario alcanzan un mínimo. A continuación, se puede producir una fase de recuperación en la que el epitelio renal se repara y la TFG se recupera gradualmente. A pesar de esto, la tasa de supervivencia de los individuos con IRA puede ser de tan solo 10 aproximadamente el 60 %.

La lesión renal aguda causada por agentes de radiocontraste (también llamados medios de contraste) y otras nefrotoxinas tales como ciclosporina, antibióticos que incluyen aminoglucósidos y medicamentos contra el cáncer como el cisplatino, se manifiesta durante un periodo de días hasta aproximadamente una semana. Se cree que la nefropatía inducida por contraste (NIC, que es la IRA causada por agentes de radiocontraste) está provocada por una vasoconstricción intrarrenal (que conduce a una lesión isquémica) y por la generación de especies reactivas del oxígeno que son directamente tóxicas para las células epiteliales de los túbulos renales. La NIC se presenta clásicamente como una elevación aguda (que aparece en las primeras 24 a 48h), pero reversible (con un máximo entre los días 3 a 5 y resolución en 1 semana) del nitrógeno ureico en sangre y de la creatinina sérica.

Un criterio comúnmente utilizado para definir y detectar la IRA es una elevación brusca (normalmente en un plazo de 2 a 7 días o en un período de hospitalización) de la creatinina sérica. Aunque el uso de la elevación de la creatinina sérica para definir y detectar la IRA está bien establecida, la magnitud de la elevación de la creatinina sérica y el tiempo durante el que se mide para definir la IRA varía considerablemente entre las diferentes publicaciones. Tradicionalmente, incrementos relativamente grandes de la creatinina sérica tal como 100 %, 200 %, un aumento de al menos 100 %) hasta un valor superior a 2 mg/dl y otras definiciones, se utilizaron para definir la IRA. Sin embargo, la tendencia reciente ha sido hacia la utilización de pequeños incrementos de creatinina sérica para definir la IRA. La relación entre el aumento de la creatinina sérica, la IRA y los riesgos para la salud asociados se revisan en Praught y Shlipak, *Curr Opin Nephrol Hypertens* 14: 265-270, 2005 y Chertow y otros, *J Am Soc Nephrol* 16: 3365-3370, 2005. Como se describe en dichas publicaciones, ahora se sabe que un empeoramiento agudo de la función renal, (IRA) y un mayor riesgo de muerte y otros resultados negativos están asociados a aumentos muy pequeños de la creatinina sérica. Estos aumentos pueden determinarse en términos de un valor relativo (porcentaje) o un valor nominal. Se ha notificado que un aumento relativo de la creatinina sérica de tan solo el 20 % del valor antes de la lesión indica una insuficiencia aguda de la función renal (IRA) y un aumento del riesgo para la salud, pero el valor que se utiliza más comúnmente para definir la IRA y el aumento del riesgo para la salud es un aumento relativo de al menos 25 %. Se ha notificado que un aumento nominal de tan solo 0,3 mg/dl, 0,2 mg/dl o incluso 0,1 mg/dl indican una insuficiencia de la función renal y un mayor riesgo de muerte. Se han utilizado diversos períodos de tiempo hasta que la creatinina sérica alcanza estos valores de umbral para definir la IRA, que van, por ejemplo, desde 2 días, 3 días, 7 días, o un período variable definido como el tiempo que el paciente está en el hospital o en la unidad de cuidados intensivos. Estos estudios indican que no hay un umbral particular del aumento de la creatinina sérica (o período de tiempo para el aumento) para la insuficiencia de la función renal o IRA, sino más bien un aumento continuo del riesgo cuando aumenta la magnitud de la creatinina sérica.

Un estudio (Lassnigg et al., *J Am Soc Nephrol* 15:1597-1605, 2004) investigó tanto el aumento como la disminución de la creatinina sérica. Los pacientes con una reducción leve de la creatinina sérica de -0,1 a -0,3 mg/dl después de una operación cardíaca tenían la tasa de mortalidad más baja. Los pacientes con una reducción mayor de la creatinina sérica (más de o igual a -0,4 mg/dl) o cualquier aumento de la creatinina sérica tenían una mayor tasa de mortalidad. Estos resultados hicieron que los autores concluyesen que incluso cambios muy sutiles en la función renal (detectados por pequeños cambios en la creatinina dentro de las 48 horas tras la cirugía) afectan seriamente a los resultados de los pacientes. En un esfuerzo por alcanzar un consenso sobre un sistema de clasificación único para la utilización de la creatinina sérica para definir la IRA en ensayos clínicos y en la práctica clínica, Bellomo et al., *Crit Care*. 8(4):R204-12, 2004 propone las siguientes clasificaciones para estratificar a los pacientes con IRA:

"Riesgo": la creatinina sérica aumentó 1,5 veces con respecto al nivel basal O el gasto urinario es < 0,5 ml/kg de peso corporal/h durante 6 horas;

"Lesión": la creatinina sérica aumentó 2,0 veces con respecto al nivel basal O el gasto urinario es < 0,5 ml/kg/h durante 12 h;

"Fracaso": la creatinina sérica aumentó 3,0 veces con respecto al nivel basal O la creatinina es > 355  $\mu$ mol/l (con un aumento de > 44) o el gasto urinario está por debajo de 0,3 ml/kg/h durante 24 h o anuria durante al menos 12 horas;

E incluyó dos resultados clínicos:

"Pérdida": persistente necesidad de terapia de sustitución renal durante más de cuatro semanas.

"ERT": enfermedad renal terminal— la necesidad de diálisis durante más de 3 meses.

Estos criterios se denominan criterios RIFLE, que proporcionan una herramienta clínica útil para clasificar el estado renal. Como se explica en Kellum, *Crit. Care Med*. 36: S141-45, 2008 y Ricci et al., *Kidney Int*. 73, 538-546, 2008, los criterios RIFLE proporcionan una definición uniforme de la IRA que ha sido validada en numerosos estudios. Para los fines de la presente invención, el "estadio 0 de RIFLE" se refiere a un paciente que no está comprendido en los criterios R, I o F de RIFLE, y, por lo tanto, es de "pre-riesgo".

Más recientemente, Mehta et al., *Crit. Care* 11: R31 (doi: 10.1186.cc5713), 2007 propone las siguientes clasificaciones similares para estratificar a los pacientes con IRA, que han sido modificadas con respecto a RIFLE:

"Estadio I": aumento de la creatinina sérica de más de o igual a 0,3 mg/dl ( $\geq$  26,4  $\mu$ mol/l) o aumento a más de o igual

a 150 % (1,5 veces) con respecto al nivel basal O gasto urinario de menos de 0,5 ml/kg por hora durante más de 6 horas;

"Estadio II": aumento de la creatinina sérica a más de 200 % (> 2 veces) con respecto al nivel basal O gasto urinario inferior a 0,5 ml/kg por hora durante más de 12 horas;

- 5 "Estadio III": aumento de la creatinina sérica a más de 300 % (> 3 veces) con respecto al nivel basal O creatinina sérica > 354  $\mu\text{mol/l}$  acompañada de un aumento agudo mínimo de al menos 44  $\mu\text{mol/l}$  O gasto urinario de menos de 0,3 ml/kg por hora durante 24 horas o anuria durante 12 horas.

10 El Grupo de Trabajo de Consenso del NIC (McCullough et al., Rev. Med. Cardiovascular 2006; 7(4): 177-197) utiliza un aumento de la creatinina sérica del 25 % para definir la nefropatía inducida por contraste (que es un tipo de IRA). Aunque varios grupos proponen criterios ligeramente diferentes para la utilización de la creatinina sérica para detectar la IRA, el consenso es que pequeños cambios en la creatinina sérica, tales como 0,3 mg/dl o el 25 %, son suficientes para detectar la IRA (empeoramiento de la función renal) y que la magnitud del cambio de la creatinina sérica es un indicador de la gravedad del riesgo de IRA y de mortalidad.

15 Aunque la medición seriada de la creatinina sérica durante un período de días es un procedimiento aceptado de detección y diagnóstico de la IRA y se considera una de las herramientas más importantes para evaluar a los pacientes con IRA, generalmente se considera que la creatinina sérica tiene varias limitaciones en el diagnóstico, evaluación y seguimiento de los pacientes con IRA. El período de tiempo para el aumento de la creatinina sérica hasta valores (por ejemplo, un aumento de 0,3 mg/dl o del 25 %) considerados de diagnóstico para la IRA puede ser de 48 horas o más, dependiendo de la definición utilizada. Dado que la lesión celular en la IRA puede ocurrir en un período de horas, las elevaciones de creatinina sérica detectadas a las 48 horas o más pueden ser un indicador tardío de la lesión, y confiar en la creatinina sérica pueden así retrasar el diagnóstico de IRA. Además, la creatinina sérica no es un buen indicador del estado renal y el tratamiento necesario precisos durante las fases más agudas de la IRA cuando la función renal está cambiando rápidamente. Algunos pacientes con IRA se recuperarán totalmente, algunos necesitarán diálisis (ya sea a corto o a largo plazo) y algunos tendrán otros resultados perjudiciales, incluyendo la muerte, eventos cardíacos adversos mayores y enfermedad renal crónica. Debido a que la creatinina sérica es un marcador de la velocidad de filtración, no diferencia entre las causas de la IRA (prerenal, renal intrínseca, obstrucción postrenal, ateroembólica, etc.) o la categoría o localización de la lesión en la enfermedad renal intrínseca (por ejemplo, de origen tubular, glomerular o intersticial). El gasto urinario es igualmente limitada, sabiendo que estas cosas pueden ser de vital importancia en el manejo y el tratamiento de los pacientes con IRA.

30 Además, Richard Y Lin et al., (1995) "Urinary hyaluronic acid is a Wilms' tumor marker" Journal of pediatric surgery, vol. 30, no. 2, páginas 304-308 describen el ácido hialurónico como marcador de un tumor de Wilms. Marino Asselman et al., (2008) "Hyaluronan and Stone Disease" AIP Conference Proceedings, vol. 1049, páginas 133-144 se refieren al papel del ácido hialurónico en las enfermedades de cálculos. "Changes and clinical significance of hyaluronic acid, procollagen type III, collagen type IV and laminin in the serum and urine in patients with chronic renal diseases" Linchuang Yixue (Zhengzhou), CN, vol. 30, no. 6, páginas 4 a 7, describen la detección del ácido hialurónico en los pacientes que ya sufren enfermedad renal crónica o uremia. Del mismo modo, Zhang et al., (2006) "Clinical significance of determination of changes of serum hyaluronic acid (HA) and plasma vascular endothelial growth factor (VEGF) contents alter treatment in patients with chronic nephropathy" FANGSHE MIANYIXUE ZAZHI, vol. 19, no. 4, páginas 286-28 describen los cambios en el ácido hialurónico en el suero en pacientes que ya padecen nefropatía crónica. La solicitud de patente de EE. UU. 2010/081148 describe un procedimiento en el que se mide el ácido hialurónico en pacientes que presentan una insuficiencia renal aguda. Honkanen et al., (1991) "Serum hyaluronic acid and procollagen III amino terminal propeptide in chronic renal failure" American Journal Of Nephrology, S. Karger AG, CH, vol. 11, no. 3, páginas 201 a 206, describen el ácido hialurónico sérico en pacientes que ya sufren insuficiencia renal crónica. El ácido hialurónico también se mide en muestras obtenidas de pacientes que reciben hemodiálisis. Finalmente, Haellgren et al., (1987) "Circulating hyaluronate. A potential marker of altered metabolism of the connective tissue in uremia" Nephron Experimental Nephrology, S. Karger AG, CH, vol. 46, no. 2, páginas 150 a 154 miden el ácido hialurónico en el suero de pacientes con insuficiencia renal y con insuficiencia renal terminal previas.

50 Estas limitaciones ponen de relieve la necesidad de mejores procedimientos para detectar y evaluar la IRA, sobre todo en los estadios tempranos y subclínicos, pero también en los posteriores, cuando puede producirse una recuperación y reparación de los riñones. Además, hay una necesidad de identificar mejor a los pacientes que están en riesgo de tener una IRA.

### Breve resumen de la invención

55 Un objeto de la invención es proporcionar procedimientos y composiciones para evaluar la función renal en un individuo. El objeto de la invención se resuelve mediante el procedimiento para evaluar el estado renal en un individuo que no recibe terapia de sustitución renal, tal como se define en la reivindicación. El objeto de la invención también se resuelve mediante la utilización de ácido hialurónico (AH) para la estratificación del riesgo, tal como se define en la reivindicación 7. En el presente documento se describe asimismo la medición de los marcadores de lesión renal que se describen en el presente documento para utilizarlos para el diagnóstico, el pronóstico, la

estratificación del riesgo, la estadificación, la supervisión, la categorización y la determinación de otros regímenes de diagnóstico y tratamiento en individuos que padecen o están en riesgo de sufrir un deterioro de la función renal, una reducción de la función renal y/o una insuficiencia renal aguda (también llamada lesión renal aguda).

En el presente documento se describe que estos marcadores de lesión renal pueden ser utilizados individualmente o en paneles que comprenden una pluralidad de marcadores de lesión renal, para la estratificación del riesgo (es decir, para identificar individuos en riesgo de un deterioro futuro de la función renal, de una futura progresión a una reducción de la función renal, de una futura progresión a IRA, de futuras mejoras en la función renal, etc.) \ para el diagnóstico de una enfermedad existente (es decir, para identificar a los individuos que han sufrido un deterioro de la función renal, que han progresado a una reducción de la función renal, que han progresado a IRA, etc.); para el seguimiento del deterioro o la mejora de la función renal; y para predecir un resultado médico en el futuro, como la mejora o empeoramiento de la función renal, una disminución o aumento del riesgo de mortalidad, una disminución o aumento del riesgo de que un individuo requiera la iniciación o la continuación de la terapia de sustitución renal (es decir, hemodiálisis, diálisis peritoneal, hemofiltración, y/o trasplante renal), una disminución o aumento del riesgo de que un individuo se recupere de un deterioro de la función renal, una disminución o aumento del riesgo de que un individuo progrese a una enfermedad renal terminal, una disminución o aumento del riesgo de que un individuo progrese a insuficiencia renal crónica, una disminución o aumento del riesgo de que un individuo sufra el rechazo de un trasplante de riñón, etc.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para evaluar el estado renal en un individuo que no recibe terapia de sustitución renal. Este procedimiento comprende realizar uno o más ensayos configurados para detectar uno o más biomarcadores, comprendiendo los biomarcadores ácido hialurónico (AH), en una muestra de fluido corporal obtenida del individuo para proporcionar uno o más resultados del ensayo; y correlacionar el resultado o resultados del ensayo con uno o más de estratificación del riesgo para identificar individuos en riesgo de un futuro deterioro de la función renal, para la futura progresión a una reducción de la función renal, para la futura progresión a IRA y para el pronóstico del estado renal del individuo, en el que el individuo no sufre de insuficiencia renal aguda y en el que el individuo (i) no ha experimentado un aumento de 1,5 veces o más en la creatinina sérica con respecto a un valor basal determinado antes del momento en que se obtiene la muestra de fluido corporal, y/o (iii) no ha experimentado un aumento de 0,3 mg/dl o superior en la creatinina sérica con respecto a un valor basal determinado antes del momento en que se obtiene la muestra de fluido corporal.

En ciertas realizaciones, los procedimientos para evaluar el estado renal que se describen en el presente documento son procedimientos para la estratificación del riesgo del individuo; es decir, la asignación de una probabilidad de uno o más futuros cambios en el estado renal al individuo. En estas realizaciones, el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con uno o más de dichos cambios en el futuro. Los siguientes son modos de realización preferentes de la estratificación del riesgo.

En realizaciones preferentes de la estratificación del riesgo descritas en el presente documento, estos procedimientos comprenden la determinación del riesgo de un individuo de un deterioro futuro de la función renal, y el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con la probabilidad de dicho deterioro futuro de la función renal. Por ejemplo, cada una de la concentración o concentraciones medida o medidas se puede comparar con un valor umbral. Para un marcador de lesión renal "en sentido positivo", se asigna al individuo una mayor probabilidad de sufrir un deterioro de la función renal en el futuro cuando la concentración medida es superior al umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida es inferior al umbral. Para un marcador de lesión renal "en sentido negativo", se asigna al individuo una mayor probabilidad de sufrir un deterioro de la función renal en el futuro cuando la concentración medida es inferior al umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida es superior al umbral.

En otros modos de realización preferentes de estratificación del riesgo descritas en el presente documento, estos procedimientos comprenden la determinación del riesgo de un individuo de una futura reducción de la función renal, y el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con una probabilidad de dicha reducción de la función renal. Por ejemplo, cada una de las concentraciones medidas se pueden comparar con un valor umbral. Para un marcador de lesión renal "en sentido positivo", se asigna al individuo una mayor probabilidad de sufrir una reducción de la función renal en el futuro cuando la concentración medida es superior al umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida es inferior al umbral. Para un marcador de lesión renal "en sentido negativo", se asigna al individuo una mayor probabilidad de sufrir una reducción de la función renal en el futuro cuando la concentración medida es inferior al umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida es superior al umbral.

En otros modos de realización preferentes de estratificación del riesgo descritas en el presente documento, estos procedimientos comprenden la determinación del riesgo de un individuo de una futura mejoría de la función renal, y el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con una probabilidad de dicha mejoría de la función renal. Por ejemplo, cada una de la concentración o concentraciones medida o medidas se puede comparar con un valor umbral. Para un marcador de lesión renal "en sentido positivo", se asigna al individuo una mayor probabilidad de una mejora de la función renal en el futuro cuando la concentración medida es inferior al umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida es superior al umbral. Para un marcador de lesión renal "en sentido negativo", se asigna al individuo una mayor probabilidad de una mejora de la función renal en el futuro

cuando la concentración medida es superior al umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida es inferior al umbral.

En otros modos de realización preferentes adicionales de estratificación del riesgo, estos procedimientos descritos en el presente documento comprenden la determinación del riesgo de un individuo a la progresión a IRA, y el resultado o resultados es/son correlacionados con una probabilidad de dicha progresión a IRA. Por ejemplo, cada una de la concentración o concentraciones medida o medidas se puede comparar con un valor umbral. Para un marcador de lesión renal "en sentido positivo", un aumento de la probabilidad de progresión a IRA se asigna al individuo cuando la concentración medida es superior al umbral, en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida es inferior al umbral. Para un marcador de lesión renal "en sentido negativo", se asigna al individuo una mayor probabilidad de progresión a IRA cuando la concentración medida es inferior al umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida es superior al umbral.

Y en otras realizaciones preferentes de estratificación del riesgo, estos procedimientos descritos en el presente documento comprenden la determinación del riesgo de un resultado de un individuo, y el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con la probabilidad de la ocurrencia de un resultado clínico relacionado con una lesión renal sufrida por el individuo. Por ejemplo, cada una de la concentración o concentraciones medida o medidas se puede comparar con un valor umbral. Para un marcador de lesión renal "en sentido positivo", se asigna al individuo una mayor probabilidad de uno o más de: lesión renal aguda, progresión a un estadio de empeoramiento de la IRA, mortalidad, necesidad de terapia de sustitución renal, necesidad de eliminación de las toxinas renales, enfermedad renal terminal, insuficiencia cardíaca, accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, progresión a enfermedad renal crónica, etc., cuando la concentración medida es superior al umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida es inferior al umbral. Para un marcador de lesión renal "en sentido negativo", se asigna al individuo una mayor probabilidad de uno o más de: lesión renal aguda, progresión a un estadio de empeoramiento de la IRA, mortalidad, necesidad de terapia de sustitución renal, necesidad de eliminación de las toxinas renales, enfermedad renal terminal, insuficiencia cardíaca, accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, progresión a enfermedad renal crónica, etc., cuando la concentración medida es inferior al umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida es superior al umbral.

En dichas realizaciones de estratificación del riesgo descritas en el presente documento, preferentemente la probabilidad o riesgo asignado es que un evento de interés es más o menos probable que ocurra dentro de los 180 días a partir de la hora a la que se obtiene la muestra de fluido corporal del individuo. En realizaciones particularmente preferentes, la probabilidad o riesgo asignado se refiere a un evento de interés que tiene lugar dentro de un periodo de tiempo más corto, tal como 18 meses, 120 días, 90 días, 60 días, 45 días, 30 días, 21 días, 14 días, 7 días, 5 días, 96 horas, 72 horas, 48 horas, 36 horas, 24 horas, 12 horas, o menos. Un riesgo a las 0 horas de la hora a la que se obtiene la muestra de fluido corporal del individuo es equivalente al diagnóstico de una afección actual.

En realizaciones preferentes de estratificación del riesgo descritas en el presente documento, el individuo se ha seleccionado para la estratificación del riesgo basándose en la existencia previa en el individuo de uno o más factores de riesgo conocidos para una IRA prerrenal, intrínseca, o postrenal. Por ejemplo, un individuo que experimenta o que haya sufrido una cirugía vascular mayor, cirugía de revascularización coronaria, u otra cirugía cardíaca; un individuo que tiene insuficiencia cardíaca congestiva previa, preeclampsia, eclampsia, diabetes mellitus, hipertensión, cardiopatía coronaria, proteinuria, insuficiencia renal, filtración glomerular por debajo del rango normal, cirrosis, creatinina sérica por encima del rango normal, o sepsis; o un individuo expuesto a AINE, ciclosporinas, tacrolimus, aminoglucósidos, foscarnet, etilenglicol, hemoglobina, mioglobina, ifosfamida, metales pesados, metotrexato, agentes de contraste radio-opacos, o estreptoizotocina son todos ellos individuos preferentes para el seguimiento de los riesgos de acuerdo con los procedimientos descritos en el presente documento. Esta lista no pretende ser restrictiva. Por "existencia previa" en este contexto se entiende que el factor de riesgo existe en el momento que se obtiene la muestra de fluido corporal del individuo. En realizaciones particularmente preferentes, se elige un individuo para la estratificación del riesgo basándose en un diagnóstico previo de un deterioro de la función renal, una reducción de la función renal o IRA.

En otras realizaciones, los procedimientos para evaluar el estado renal descritos en el presente documento son procedimientos para el diagnóstico de una lesión renal en el individuo; es decir, para evaluar si un individuo ha sufrido o no un deterioro de la función renal, una reducción de la función renal o IRA. En estas realizaciones, el resultado o resultados del ensayo, por ejemplo una concentración medida de AH, es/son correlacionados con la ocurrencia o no ocurrencia de un cambio en el estado renal. Las siguientes son realizaciones preferentes de diagnóstico.

En realizaciones preferentes de diagnóstico, estos procedimientos descritos en el presente documento comprenden el diagnóstico de la ocurrencia o no de un deterioro de la función renal y el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con la ocurrencia o no ocurrencia de este tipo de lesiones. Por ejemplo, cada una de la concentración o concentraciones medidas se puede comparar con un valor umbral. Para un marcador en sentido positivo, se asigna al individuo un aumento de la probabilidad de la ocurrencia de un deterioro de la función renal cuando la concentración medida está por encima del umbral (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral); alternativamente, cuando la concentración medida es inferior al

umbral, se puede asignar al individuo un aumento de la probabilidad de la no ocurrencia de un deterioro de la función renal (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral). Para un marcador en sentido negativo, se asigna al individuo un aumento de la probabilidad de la ocurrencia de un deterioro de la función renal cuando la concentración medida es inferior al umbral (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral); alternativamente, cuando la concentración medida es superior al umbral, se puede asignar al individuo un aumento de la probabilidad de la no ocurrencia de un deterioro de la función renal (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral).

En otras realizaciones preferentes de diagnóstico, estos procedimientos descritos en el presente documento comprenden el diagnóstico de la ocurrencia o no de una reducción de la función renal y el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con la ocurrencia o no ocurrencia de una lesión que provoque la reducción de la función renal. Por ejemplo, cada una de la concentración o concentraciones medidas se puede comparar con un valor umbral. Para un marcador en sentido positivo, se asigna al individuo un aumento de la probabilidad de la ocurrencia de una lesión que provoque una reducción de la función renal cuando la concentración medida está por encima del umbral (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral); alternativamente, cuando la concentración medida es inferior al umbral, se puede asignar al individuo un aumento de la probabilidad de la no ocurrencia de una lesión que provoque una reducción de la función renal (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral). Para un marcador en sentido negativo, se asigna al individuo un aumento de la probabilidad de la ocurrencia de una lesión que provoque una reducción de la función renal cuando la concentración medida es inferior al umbral (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral); alternativamente, cuando la concentración medida es superior al umbral, se puede asignar al individuo un aumento de la probabilidad de la no ocurrencia de una lesión que provoque una reducción de la función renal (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral).

En otros modos de realización preferentes de diagnóstico, estos procedimientos descritos en el presente documento comprenden el diagnóstico de la ocurrencia o no de la IRA, y el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con la ocurrencia o no ocurrencia de una lesión que causa la IRA. Por ejemplo, cada una de la concentración o concentraciones medidas se puede comparar con un valor umbral. Para un marcador en sentido positivo, se asigna al individuo un aumento de la probabilidad de la ocurrencia de IRA cuando la concentración medida está por encima del umbral (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral); alternativamente, cuando la concentración medida es inferior al umbral, se puede asignar al individuo un aumento de la probabilidad de la no ocurrencia de IRA (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral). Para un marcador en sentido negativo, se asigna al individuo un aumento de la probabilidad de la ocurrencia de IRA cuando la concentración medida está por debajo del umbral (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral); alternativamente, cuando la concentración medida es superior al umbral, se puede asignar al individuo un aumento de la probabilidad de la no ocurrencia de IRA (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral).

En otras realizaciones de diagnóstico preferentes adicionales, estos procedimientos descritos en el presente documento comprenden el diagnóstico de un individuo que necesita terapia de sustitución renal, y el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con una necesidad de terapia de sustitución renal. Por ejemplo, cada una de la concentración o concentraciones medidas se puede comparar con un valor umbral. Para un marcador en sentido positivo, se asigna al individuo un aumento de la probabilidad de la ocurrencia de una lesión que cree la necesidad de una terapia de sustitución renal cuando la concentración medida está por encima del umbral (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral); alternativamente, cuando la concentración medida es inferior al umbral, se puede asignar al individuo un aumento de la probabilidad de la no ocurrencia de una lesión que cree la necesidad de una terapia de sustitución renal (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral). Para un marcador en sentido negativo, se asigna al individuo un aumento de la probabilidad de la ocurrencia de una lesión que cree la necesidad de una terapia de sustitución renal cuando la concentración medida está por debajo del umbral (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral); alternativamente, cuando la concentración medida es superior al umbral, se puede asignar al individuo un aumento de la probabilidad de la no ocurrencia de una lesión que cree la necesidad de una terapia de sustitución renal (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral).

En otras realizaciones de diagnóstico preferentes adicionales, estos procedimientos comprenden el diagnóstico de un individuo que necesita un trasplante renal, y el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con una necesidad de un trasplante renal. Por ejemplo, cada una de la concentración o concentraciones medidas se puede comparar con un valor umbral. Para un marcador en sentido positivo, se asigna al individuo un aumento de la probabilidad de la ocurrencia de una lesión que cree la necesidad de un trasplante renal cuando la concentración medida está por encima del umbral (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral); alternativamente, cuando la concentración medida es inferior al umbral, se puede asignar al individuo un aumento de la probabilidad de la no ocurrencia de una lesión que cree la necesidad de un trasplante renal (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral). Para

un marcador en sentido negativo, se asigna al individuo un aumento de la probabilidad de la ocurrencia de una lesión que cree la necesidad de un trasplante renal cuando la concentración medida está por debajo del umbral (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral);  
 5 alternativamente, cuando la concentración medida es superior al umbral, se puede asignar al individuo un aumento de la probabilidad de la no ocurrencia de una lesión que cree la necesidad de un trasplante renal (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral).

En otras realizaciones adicionales, los procedimientos para evaluar el estado renal descritos en el presente documento son procedimientos para el diagnóstico de una lesión renal en el individuo; es decir, para evaluar si la función renal el presente documento de un individuo que ha sufrido de un deterioro de la función renal, una  
 10 reducción de la función renal o IRA está mejorando o empeorando. En estas realizaciones, el resultado o resultados del ensayo, por ejemplo una concentración medida de AH, es/son correlacionados con la ocurrencia o no ocurrencia de un cambio en el estado renal. Los siguientes son modos de realización preferentes del seguimiento.

En modos de realización del seguimiento preferentes, estos procedimientos descritos en el presente documento comprenden el análisis del estado renal en un individuo que padece un deterioro de la función renal, y el resultado o  
 15 resultados del ensayo es/son correlacionados con la ocurrencia o no ocurrencia de un cambio en el estado renal del individuo. Por ejemplo, la concentración o concentraciones medida o medidas se pueden comparar con un valor umbral. Para un marcador en sentido positivo, cuando la concentración medida está por encima del umbral, se puede asignar al individuo un empeoramiento de la función renal; alternativamente, cuando la concentración medida es inferior al umbral, se puede asignar al individuo una mejora de la función renal. Para un marcador en sentido  
 20 negativo, cuando la concentración medida está por debajo del umbral, se puede asignar al individuo un empeoramiento de la función renal; alternativamente, cuando la concentración medida es superior al umbral, se puede asignar al individuo una mejora de la función renal.

En modos de realización del seguimiento preferentes, estos procedimientos comprenden el seguimiento del estado renal en un individuo que padece una reducción de la función renal, y el resultado o resultados del ensayo es/son  
 25 correlacionados con la ocurrencia o no ocurrencia de un cambio en el estado renal del individuo. Por ejemplo, la concentración o concentraciones medida o medidas se pueden comparar con un valor umbral. Para un marcador en sentido positivo, cuando la concentración medida está por encima del umbral, se puede asignar al individuo un empeoramiento de la función renal; alternativamente, cuando la concentración medida es inferior al umbral, se puede asignar al individuo una mejora de la función renal. Para un marcador en sentido negativo, cuando la  
 30 concentración medida está por debajo del umbral, se puede asignar al individuo un empeoramiento de la función renal; alternativamente, cuando la concentración medida es superior al umbral, se puede asignar al individuo una mejora de la función renal.

En otros modos de realización del seguimiento preferentes adicionales, estos procedimientos descritos en el presente documento comprenden el seguimiento del estado renal en un individuo que padece una insuficiencia renal  
 35 aguda, y el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con la ocurrencia o no ocurrencia de un cambio en el estado renal del individuo. Por ejemplo, la concentración o concentraciones medida o medidas se pueden comparar con un valor umbral. Para un marcador en sentido positivo, cuando la concentración medida está por encima del umbral, se puede asignar al individuo un empeoramiento de la función renal; alternativamente, cuando la concentración medida es inferior al umbral, se puede asignar al individuo una mejora de la función renal.  
 40 Para un marcador en sentido negativo, cuando la concentración medida está por debajo del umbral, se puede asignar al individuo un empeoramiento de la función renal; alternativamente, cuando la concentración medida es superior al umbral, se puede asignar al individuo una mejora de la función renal.

En otros modos de realización del seguimiento preferentes adicionales, estos métodos descritos en el presente documento comprenden el seguimiento del estado renal en un individuo en riesgo de un deterioro de la función renal  
 45 debido a la existencia previa de uno o más factores de riesgo conocidos para una IRA prerrenal, intrínseca, o postrenal, y el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con la ocurrencia o no ocurrencia de un cambio en el estado renal en el individuo. Por ejemplo, la concentración o concentraciones medida o medidas se pueden comparar con un valor umbral. Para un marcador en sentido positivo, cuando la concentración medida está por encima del umbral, se puede asignar al individuo un empeoramiento de la función renal; alternativamente,  
 50 cuando la concentración medida es inferior al umbral, se puede asignar al individuo una mejora de la función renal. Para un marcador en sentido negativo, cuando la concentración medida está por debajo del umbral, se puede asignar al individuo un empeoramiento de la función renal; alternativamente, cuando la concentración medida es superior al umbral, se puede asignar al individuo una mejora de la función renal.

En otros modos de realización adicionales, los procedimientos para evaluar el estado renal descritos en el presente documento son procedimientos para la clasificación de una lesión renal en el individuo; es decir, determinar si una  
 55 lesión renal en un individuo es prerrenal, renal intrínseca, o postrenal; y/o subdividir aún más estas clases en subclases tales como la lesión tubular aguda, glomerulonefritis aguda, nefritis tubulointerstitial aguda, nefropatía vascular aguda o enfermedad infiltrativa; y/o asignar una probabilidad de que un individuo progrese a un estadio RIFLE concreto. En estas realizaciones, el resultado o resultados del ensayo, por ejemplo una concentración medida de AH, es/son correlacionados con una clase y/o subclase concreta. Los siguientes son modos de realización preferentes de clasificación.  
 60

En modos de realización preferentes de clasificación, estos procedimientos descritos en el presente documento comprenden determinar si una lesión renal en un individuo es prerrenal, renal intrínseca, o postrenal; y/o subdividir aún más estas clases en subclases tales como la lesión tubular aguda, glomerulonefritis aguda, nefritis tubulointersticial aguda, nefropatía vascular aguda o enfermedad infiltrativa; y/o asignar una probabilidad de que un individuo progrese a un estadio RIFLE en concreto, y el resultado o resultados del ensayo es/son correlacionados con la clasificación de la lesión para el individuo. Por ejemplo, la concentración medida puede compararse con un valor umbral y, cuando la concentración medida es superior al umbral, se asigna una clasificación en concreto; alternativamente, cuando la concentración medida es inferior al umbral, se puede asignar al individuo una clasificación diferente.

5 El experto en la técnica puede utilizar varios procedimientos para llegar a un valor umbral deseado para su utilización en estos procedimientos. Por ejemplo, el valor umbral puede determinarse a partir de una población de individuos normales mediante la selección de una concentración que representa el percentil 75, 85, 90, 95 o 99 de un marcador de lesión renal medido en dichos individuos normales. Alternativamente, el valor umbral puede determinarse a partir de una población "enferma" de individuos, por ejemplo, los que padecen una lesión o tienen una predisposición para una lesión (*por ejemplo*, la progresión a IRA o algún otro resultado clínico tal como muerte, diálisis, trasplante renal, etc.), mediante la selección de una concentración que representa el percentil 75, 85, 90, 95 o 99 de un marcador de lesión renal medido en dichos individuos. En otra alternativa, el valor umbral puede determinarse a partir de una medición previa de un marcador de lesión renal en el mismo individuo; es decir, un cambio temporal en el nivel de un marcador de la lesión renal en el individuo puede utilizarse para asignar riesgo al individuo.

La explicación anterior no pretende implicar, sin embargo, que los marcadores de lesión renal de la presente invención deben compararse con los correspondientes umbrales individuales. Los procedimientos para combinar los resultados de los ensayos pueden comprender utilizar una regresión logística multivariante, modelizado loglineal, análisis de redes neuronales, análisis n-de-m, análisis de árbol de decisión, cálculo de proporciones de marcadores, etc. Esta lista no pretende ser restrictiva. En estos procedimientos, un resultado compuesto que se determina mediante la combinación de marcadores individuales se puede tratar como si él mismo fuera un marcador; es decir, se puede determinar un umbral para el resultado compuesto tal como se describe en el presente documento para los marcadores individuales, y el resultado compuesto para un paciente individual se puede comparar con este umbral.

La capacidad de una prueba particular, para distinguir dos poblaciones se puede establecer utilizando el análisis ROC. Por ejemplo, se puede utilizar las curvas ROC establecidas a partir de una "primera" subpoblación que está predispuesta a uno o más futuros cambios en el estado renal, y una "segunda" subpoblación que no está tan predispuesta para calcular una curva ROC, y el área bajo la curva proporciona una medida de la calidad de la prueba. Preferentemente, los ensayos descritos en el presente documento proporcionan un área de la curva ROC mayor de 0,5, preferentemente al menos 0,6, más preferentemente de 0,7, aún más preferentemente al menos 0,8, incluso más preferentemente al menos 0,9, y más preferentemente al menos 0,95.

En ciertos aspectos, la concentración medida de uno o más marcadores de lesión renal, o una combinación de dichos marcadores, pueden ser tratados como variables continuas. Por ejemplo, cualquier concentración concreta se puede convertir en una correspondiente probabilidad de una futura reducción de la función renal para el individuo, la aparición de una lesión, una clasificación, etc. En otra alternativa más, un umbral que puede proporcionar un nivel aceptable de especificidad y sensibilidad en la separación de una población de individuos en "departamentos", tales como una "primera" subpoblación (por ejemplo, que está predispuesta a uno o más futuros cambios en el estado renal, a la aparición de una lesión, una clasificación, etc.) y una "segunda" subpoblación, que no está tan predispuesta. Se selecciona un valor umbral para separar estas primera y segunda poblaciones mediante una o más de las siguientes medidas de precisión de la prueba:

45 una razón de momios mayor que 1, preferentemente 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;

50 una especificidad de más de 0,5, preferentemente al menos aproximadamente 0,6, más preferentemente al menos aproximadamente 0,7, aún más preferentemente al menos aproximadamente 0,8, incluso más preferentemente al menos aproximadamente 0,9 y lo más preferentemente al menos aproximadamente 0,95, con una sensibilidad correspondiente mayor que 0,2, preferentemente mayor que aproximadamente 0,3, más preferentemente mayor que aproximadamente 0,4, todavía más preferentemente al menos aproximadamente 0,5, incluso más preferentemente aproximadamente 0,6, aún más preferentemente mayor que aproximadamente 0,7, todavía más preferentemente mayor que aproximadamente 0,8, más preferentemente mayor que aproximadamente 0,9 y lo más preferentemente mayor que aproximadamente 0,95;

60 una sensibilidad de más de 0,5, preferentemente al menos aproximadamente 0,6, más preferentemente al menos aproximadamente 0,7, aún más preferentemente al menos aproximadamente 0,8, incluso más preferentemente al menos aproximadamente 0,9 y lo más preferentemente al menos aproximadamente 0,95, con una especificidad

- correspondiente mayor que 0,2, preferentemente mayor que aproximadamente 0,3, más preferentemente mayor que aproximadamente 0,4, todavía más preferentemente al menos aproximadamente 0,5, incluso más preferentemente aproximadamente 0,6, aún más preferentemente mayor que aproximadamente 0,7, todavía más preferentemente mayor que aproximadamente 0,8, más preferentemente mayor que aproximadamente 0,9 y lo más preferentemente mayor que aproximadamente 0,95;
- 5 una sensibilidad de al menos 75 %, en combinación con una especificidad de al menos aproximadamente 75 %;
- una relación de probabilidad positiva (calculada como sensibilidad/(1-especificidad)) mayor que 1, al menos aproximadamente 2, más preferentemente al menos aproximadamente 3, aún más preferentemente al menos aproximadamente 5, y lo más preferentemente al menos aproximadamente 10; o
- 10 una relación de probabilidad negativa (calculada como (1-sensibilidad)/especificidad) de menos de 1, al menos de o igual a aproximadamente 0,5, más preferentemente menos de o igual a aproximadamente 0,3, y lo más preferentemente menos de o igual a aproximadamente 0,1.
- El término "aproximadamente" en el contexto de cualquiera de las mediciones anteriores se refiere a +/- 5 % de una medición dada.
- 15 Se pueden utilizar asimismo múltiples umbrales para evaluar el estado renal en un individuo. Por ejemplo, una subpoblación "primera", que está predispuesta a uno o más futuros cambios en el estado renal, la aparición de una lesión, una clasificación, etc., y una "segunda" subpoblación que no está tan predispuesta, se pueden combinar en un solo grupo. Este grupo se subdivide en tres o más partes iguales (conocidas como terciles, cuartiles, quintiles, etc., dependiendo del número de subdivisiones). Una razón de momios se asigna a los individuos sobre la base de la
- 20 subdivisión a la que corresponden. Si se considera un tercil, el tercil más bajo o más alto se puede utilizar como referencia para la comparación de las otras subdivisiones. A esta subdivisión de referencia se le asigna una razón de momios de 1. Al segundo tercil se le asigna una razón de momios que es relativa a ese primer tercil. Es decir, alguien en el segundo tercil podría tener 3 veces más probabilidades de sufrir uno o más cambios futuros en su estado renal en comparación con alguien en el primer tercil. Al tercer tercil también se le asigna una razón de
- 25 momios que es relativa a ese primer tercil.
- En ciertas realizaciones, el procedimiento de ensayo es un inmunoensayo. Los anticuerpos que se usan en dichos ensayos se unirán específicamente a un marcador de lesión renal de longitud completa de interés, y también se pueden unir uno o más polipéptidos que están "relacionados" con el mismo, conforme a la definición de ese término que se incluye más adelante. Numerosos formatos de inmunoensayos son conocidos por los expertos en la técnica.
- 30 Las muestras de fluidos corporales preferentes se seleccionan del grupo que consiste en orina, sangre, suero, saliva, lágrimas, y plasma.
- Las etapas del procedimiento anterior no deben interpretarse en el sentido de que el resultado o los resultados de ensayo del marcador de lesión renal se utiliza/utilizan aislados en los procedimientos descritos en el presente documento. Más bien, se pueden incluir variables adicionales u otros indicios clínicos en los procedimientos descritos en el presente documento. Por ejemplo, un procedimiento de estratificación del riesgo, diagnóstico, clasificación, seguimiento, etc. descrito o reivindicado en el presente documento puede combinar el resultado o resultados de los ensayos con una o más variables medidas para el individuo seleccionado del grupo que consiste en información demográfica (por ejemplo, peso, sexo, edad, raza), historia médica (por ejemplo, antecedentes familiares, tipo de cirugía, enfermedades existentes previamente, tales como aneurisma, insuficiencia cardíaca congestiva, preeclampsia, eclampsia, diabetes mellitus, hipertensión, cardiopatía coronaria, proteinuria, insuficiencia renal o sepsis, el tipo de exposición a toxinas tales como los AINE, ciclosporinas, tacrolimus, aminoglucósidos, foscarnet, etilenglicol, hemoglobina, mioglobina, ifosfamida, metales pesados, metotrexato, agentes de contraste radio-opacos, o estreptozotocina), variables clínicas (por ejemplo, presión arterial, temperatura, frecuencia respiratoria), puntuaciones de riesgo (puntuación APACHE, puntuación PREDICT, índice de riesgo TIMI de IAM/SST, Puntuación de riesgo Framingham), tasa de filtración glomerular, tasa de filtración glomerular estimada, gasto urinario, concentración sérica o plasmática de creatinina, concentración de creatinina en la orina, excreción fraccional de sodio, concentración de sodio en la orina, relación entre la creatinina en orina y la creatinina sérica o plasmática, gravedad específica de la orina, osmolalidad de la orina, relación entre el nitrógeno ureico en orina y el nitrógeno ureico plasmático, relación entre el BUN plasmático y la creatinina, índice de insuficiencia renal calculado en términos de sodio en la orina/(creatinina en la orina/creatinina plasmática), concentración de gelatinasa de neutrófilos (NGAL) sérica o plasmática, concentración de NGAL en orina, concentración de cistatina C sérica o plasmática, concentración de troponina cardíaca sérica o plasmática, concentración de BNP sérica o plasmática, concentración de NTproBNP sérica o plasmática, y concentración de proBNP sérica o plasmática. Otras medidas de la función renal que se pueden combinar con uno o más del resultado o resultados del ensayo del marcador de lesión renal se describen a continuación, y en Harrison's Principles of Internal Medicine, 17ª Ed., McGraw Hill, Nueva York, páginas 1741 a 1830, y Current Medical Diagnosis & Treatment 2008, 47ª Ed, McGraw Hill, Nueva York, páginas 785 a 815.
- 55

Cuando se mide más de un marcador, los marcadores individuales se pueden medir en muestras obtenidas al mismo tiempo, o pueden ser determinados a partir de muestras obtenidas en momentos diferentes (por ejemplo,

anteriores o posteriores). Los marcadores individuales también se pueden medir en la misma o diferentes muestras de fluidos corporales. Por ejemplo, un marcador de lesión renal puede medirse en una muestra de suero o plasma, y otro marcador de lesión renal se puede medir en una muestra de orina. Además, la asignación de una probabilidad puede combinar un resultado del ensayo de marcador de lesión renal individual con los cambios temporales en una o más variables adicionales.

En varios aspectos relacionados, en el presente documento se describen dispositivos y kits para realizar los procedimientos descritos en el presente documento. Kits adecuados comprenden reactivos suficientes para realizar un ensayo para al menos uno de los marcadores de lesión renal descritos, junto con instrucciones para realizar las comparaciones con los umbrales descritos.

En ciertas realizaciones, los reactivos para la realización de dichos ensayos se proporcionan en un dispositivo de ensayo, y dichos dispositivos de ensayo pueden estar incluidos en dicho kit. Reactivos preferentes pueden comprender uno o más anticuerpos en fase sólida, comprendiendo el anticuerpo de fase sólida el anticuerpo que detecta el biomarcador objetivo previsto del unido a un soporte sólido. En el caso de inmunoensayos de tipo sándwich, dichos reactivos pueden incluir también uno o más anticuerpos marcados de forma detectable, comprendiendo el anticuerpo marcado de forma detectable el anticuerpo que detecta el biomarcador objetivo previsto unido a un marcador detectable. A continuación, se describen elementos opcionales adicionales que pueden ser proporcionados como parte de un dispositivo de ensayo.

Los marcadores detectables pueden incluir moléculas que son a su vez detectables (por ejemplo, restos fluorescentes, marcadores electroquímicos, marcadores de anguila (luminiscencia electroquímica), quelatos metálicos, partículas metálicas coloidales, etc.), así como moléculas que se pueden detectar indirectamente mediante la producción de un producto de reacción detectable (por ejemplo, enzimas tales como peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, etc.) o mediante la utilización de una molécula de unión específica que a su vez puede ser detectable (por ejemplo, un anticuerpo marcado que se une con el segundo anticuerpo, biotina, digoxigenina, maltosa, oligohistidina, 2,4-dinitrobenzeno, fenilarseniato, ssADN, dsADN, etc.).

La generación de una señal desde el elemento de desarrollo de la señal se puede realizar utilizando diversos procedimientos ópticos, acústicos y electroquímicos bien conocidos en la técnica. Ejemplos de modos de detección incluyen la fluorescencia, detección radioquímica, reflectancia, absorbancia, amperometría, conductancia, impedancia, interferometría, elipsometría, etc. En algunos de estos procedimientos, el anticuerpo de fase sólida está acoplado a un transductor (por ejemplo, una rejilla de difracción, sensor electroquímico, etc.) para la generación de una señal, mientras que en otros, un transductor genera una señal que está separada espacialmente de la del anticuerpo de fase sólida (por ejemplo, un fluorómetro que utiliza una fuente de luz de excitación y un detector óptico). Esta lista no pretende ser restrictiva. También se pueden emplear biosensores basados en anticuerpos para determinar la presencia o cantidad de analitos que eliminan opcionalmente la necesidad de una molécula marcada.

#### Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra el cambio en la concentración normalizada de ácido hialurónico en orina en respuesta a una lesión renal aguda inducida químicamente.

#### Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento según se define en la reivindicación 1, y a un uso según se define en la reivindicación 7. En el presente documento se dan a conocer asimismo composiciones para el diagnóstico, el diagnóstico diferencial, la estratificación del riesgo, el seguimiento, la clasificación y determinación de los regímenes de tratamiento en individuos que padecen o corren el riesgo de sufrir un deterioro de la función renal, reducción de la función renal y/o insuficiencia renal aguda mediante la medición de uno o más marcadores de lesión renal de la presente invención.

Lo siguiente, es una breve descripción del ácido hialurónico (AH), un marcador de lesión renal, que se utiliza en la presente invención.

El ácido hialurónico (AH) es un glicosaminoglicano del tejido conectivo muy abundante que, *in vivo*, está presente como un componente de alto peso molecular de la mayoría de las matrices extracelulares. Aunque el AH no es un constituyente principal del cortico-intersticio renal normal, se expresa en torno a las células epiteliales tubulares proximales (CTP) renales después de una lesión renal tanto aguda como crónica que es causada por numerosas enfermedades.<sup>4, 5</sup> Además, el aumento de la deposición de AH intersticial se correlaciona con la proteinuria y la función renal en enfermedad renal progresiva.<sup>6</sup> La unión de AH a su receptor principal, el CD44, promueve la inflamación mediante la interacción entre el AH y el CD44, que expresan las células inflamatorias.<sup>7</sup> La unión de AH/CD44 activa la ruta de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) y mejora la migración de las CTP, un proceso que está implicado en la transdiferenciación de las células epiteliales a fibroblastos y la fibrosis renal progresiva.<sup>8</sup> En los riñones isquémicos de los individuos diabéticos, el contenido en AH renal comenzó a aumentar ya después de 24 horas y de manera significativa, de 1 a 8 semanas después de la isquemia/reperfusión (I/R).<sup>9</sup>

A la hora de interpretar esta memoria descriptiva, se aplicarán las siguientes definiciones:

Como se usa en el presente documento, un "deterioro de la función renal" es una disminución medible brusca (en el plazo de 14 días, preferentemente de 7 días, más preferentemente en el plazo de 72 horas, y aún más preferentemente en el plazo de 48 horas) de una medida de la función renal. Dicho deterioro puede ser identificado, por ejemplo, por una disminución en la tasa de filtración glomerular o en la TFG estimada, una reducción del gasto urinario, un aumento de la creatinina sérica, un aumento de la cistatina C sérica, un requisito para la terapia de sustitución renal, etc. "mejoría de la función renal" es un aumento medible abrupto (en el plazo de 14 días, preferentemente de 7 días, más preferentemente de 72 horas, y aún más preferentemente de 48 horas) de una medida de la función renal. A continuación, se describen procedimientos preferentes para la medición y/o estimación de la TFG.

5 Tal como se usa en el presente documento, "reducción de la función renal" es una disminución brusca (en el plazo de 14 días, preferentemente de 7 días, más preferentemente de 72 horas, y aún más preferentemente dentro de 48 horas) de la función renal, identificada por un aumento absoluto de la creatinina sérica o mayor o igual a 0,1 mg/dl (> 8,8 µmol/l), un aumento del porcentaje de creatinina sérica mayor o igual al 20 % (1,2 veces con respecto al nivel basal), o una disminución del gasto urinario (oliguria/documentada de menos de 0,5 ml/kg por hora).

15 Tal como se usa en el presente documento, "insuficiencia renal aguda" o "IRA" es la disminución brusca (en el plazo de 14 días, preferentemente de 7 días, más preferentemente de 72 horas, y aún más preferentemente de 48 horas) de la función renal identificada por un aumento absoluto de la creatinina sérica mayor o igual a 0,3 mg/dl (> 26,4 µmol/l), un porcentaje de aumento de la creatinina sérica mayor o igual a 50 % (1,5 veces con respecto al nivel basal), o una reducción del gasto urinario (oliguria documentada de menos de 0,5 ml/kg por hora durante al menos 6 horas). Este término es sinónimo de "lesión renal aguda" o "LRA."

20 En este sentido, el experto en la materia comprenderá que las señales obtenidas a partir de un inmunoensayo son un resultado directo de los complejos formados entre uno o más anticuerpos y la biomolécula objetivo (es decir, el analito) y polipéptidos que contienen el epítipo o los epítipos necesarios a los que se unen los anticuerpos. Aunque dichos ensayos pueden detectar el biomarcador de longitud completa y el resultado del ensayo expresarse en términos de concentración de un biomarcador de interés, la señal del ensayo es en realidad un resultado de todos estos polipéptidos "inmunorreactivos" presentes en la muestra. La expresión de los biomarcadores también se puede determinar por medios distintos de los inmunoensayos, incluyendo mediciones de proteínas (tales como transferencias de puntos, transferencias Western, procedimientos cromatográficos, espectrometría de masas, etc.) y mediciones de ácido nucleico (cuantificación de mRNA). Esta lista no pretende ser restrictiva.

25 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "relacionar una señal con la presencia o cantidad" de un analito refleja esta interpretación. Las señales del ensayo están típicamente relacionadas con la presencia o cantidad de un analito mediante la utilización de una curva estándar calculada utilizando concentraciones conocidas del analito de interés. El experto en la materia comprenderá que las señales obtenidas en un ensayo a menudo son el resultado directo de los complejos formados entre uno o más anticuerpos y la biomolécula objetivo (es decir, el analito) y polipéptidos que contienen el epítipo o epítipos necesarios a los que se unen los anticuerpos. Aunque dichos ensayos pueden detectar el biomarcador de longitud completa y el resultado del ensayo expresarse en términos de concentración de un biomarcador de interés, la señal del ensayo es en realidad un resultado de todos estos polipéptidos "inmunorreactivos" presentes en la muestra. La expresión de los biomarcadores también se puede determinar por medios distintos de los inmunoensayos, incluyendo mediciones de proteínas (tales como transferencias de puntos, transferencias Western, procedimientos cromatográficos, espectrometría de masas, etc.) y mediciones de ácido nucleico (cuantificación de mRNA). Esta lista no pretende ser restrictiva.

30 Tal como se utiliza el término en el presente documento, un ensayo está "configurado para detectar" un analito si un ensayo puede generar una señal detectable indicativa de la presencia o cantidad de una concentración fisiológicamente relevante del analito. Debido a que un epítipo de anticuerpo es del orden de 8 aminoácidos, un inmunoensayo configurado para detectar un marcador de interés también detectará los polipéptidos relacionados con la secuencia de marcador, siempre que dichos polipéptidos contengan el epítipo o epítipos necesarios para unirse al anticuerpo o anticuerpos utilizados en el ensayo. El término "marcador relacionado" tal como se utiliza en el presente documento con respecto a un biomarcador tal como uno de los marcadores de lesión renal descritos en el presente documento se refiere a uno o más fragmentos, variantes, etc., de un marcador concreto o de su progenitor biosintético que puede ser detectado como un sustituto del propio marcador o como marcadores biológicos independientes. El término se refiere asimismo a uno o más polipéptidos presentes en una muestra biológica que se derivan a partir del precursor de biomarcador que forma complejos con especies adicionales, tales como proteínas de unión, receptores, heparina, lípidos, azúcares, etc.

35 El término marcador "en sentido positivo" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un marcador cuyo nivel se ha determinado que es mayor en individuos que sufren de una enfermedad o afección, que en los individuos que no padecen dicha enfermedad o afección. El término marcador "en sentido negativo" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un marcador cuyo nivel se ha determinado que es menor en individuos que sufren de una enfermedad o afección, que en los individuos que no padecen dicha enfermedad o afección.

40 El término "individuo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un organismo humano o no humano. Por tanto, los procedimientos y composiciones descritos en el presente documento son aplicables tanto a

enfermedades humanas como veterinarias. Además, aunque un individuo es preferentemente un organismo vivo, la invención descrita en el presente documento se puede utilizar asimismo en el análisis *post mortem*. Los individuos preferentes son los seres humanos, y los más preferentes "pacientes", que tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a los seres humanos vivos que están recibiendo atención médica para una enfermedad o trastorno. Esto incluye personas sin ninguna enfermedad definida que están siendo investigados en busca de signos de patología.

Preferentemente, un analito se mide en una muestra. Dicha muestra puede ser obtenida de un individuo, o se puede obtener a partir de materiales biológicos destinados a ser proporcionado al individuo. Por ejemplo, una muestra puede obtenerse a partir de un riñón en proceso de evaluación para un posible trasplante a un individuo, y usar una medición del analito para evaluar el riñón buscando un daño existente previamente. Las muestras preferentes son muestras de fluido corporal.

El término "muestra de fluido corporal" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una muestra de fluido corporal obtenida con el propósito de diagnóstico, pronóstico, clasificación o evaluación de un individuo de interés, tal como un paciente o donante para trasplante. En ciertas realizaciones, tal muestra se puede obtener con el propósito de determinar el resultado de una afección en curso o el efecto de un régimen de tratamiento de una afección. Las muestras de fluidos corporales preferentes incluyen sangre, suero, plasma, líquido cefalorraquídeo, orina, saliva, esputo, y derrame pleural. Además, un experto en la técnica se daría cuenta de que ciertas muestras de fluidos corporales se analizarán más fácilmente después de un procedimiento de fraccionamiento o purificación, por ejemplo, separación de sangre entera en componentes de suero o plasma.

El término "diagnóstico", tal como se usa en el presente documento, se refiere a procedimientos mediante los que el experto en la técnica puede estimar y/o determinar la probabilidad de que un paciente padezca o no una enfermedad o afección determinadas. En el caso de la presente invención, "diagnóstico" incluye la utilización de los resultados de un ensayo, lo más preferentemente un inmunoensayo, para un marcador de lesión renal de la presente invención, opcionalmente junto con otras características clínicas, para llegar a un diagnóstico (es decir, la ocurrencia o no) de una lesión renal aguda o IRA del individuo del que se obtuvo y se analizó una muestra. Que dicho diagnóstico se "determine" no pretende dar a entender que el diagnóstico es fiable al 100 %. Muchos biomarcadores son indicativos de varias afecciones. El médico experto no utiliza los resultados de los biomarcadores sin otra información, sino que por el contrario los resultados de la prueba se utilizan junto con otros indicadores clínicos para llegar a un diagnóstico. Por lo tanto, cuando el nivel del biomarcador medido está en un lado de un umbral predeterminado de diagnóstico indica una mayor probabilidad de la ocurrencia de una enfermedad en el individuo que si el nivel medido está en el otro lado del umbral de diagnóstico predeterminado.

Del mismo modo, un riesgo de pronóstico indica la probabilidad de que se produzca una evolución o resultado dado. Un nivel o un cambio en el nivel de un indicador de pronóstico, que a su vez se asocia a una mayor probabilidad de morbilidad (por ejemplo, un empeoramiento de la función renal, una futura IRA, o la muerte) se conoce como "indicativo de un aumento de la probabilidad" de un resultado adverso en un paciente.

### Ensayos de marcadores

En general, los inmunoensayos implican poner en contacto una muestra que contiene o se sospecha que contiene un biomarcador de interés con al menos un anticuerpo que se une específicamente al biomarcador. Entonces se genera una señal indicativa de la presencia o cantidad de complejos formados por la unión de los polipéptidos de la muestra al anticuerpo. La señal se relaciona entonces con la presencia o cantidad del biomarcador en la muestra. Numerosos procedimientos y dispositivos para la detección y el análisis de biomarcadores son bien conocidos por el experto en la técnica. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. 6.143.576; 6.113.855; 6.019.944; 5.985.579; 5.947.124; 5.939.272; 5.922.615; 5.885.527; 5.851.776; 5.824.799; 5.679.526; 5.525.524; y 5.480.792, y *The Immunoassay Handbook*, David Wild, ed. Stockton Press, Nueva York, 1994.

Los dispositivos y procedimientos de ensayo conocidos en la técnica pueden utilizar moléculas marcadas en varios formatos de ensayo, tipo sándwich, competitivo, o no competitivo, para generar una señal que se relaciona con la presencia o cantidad del biomarcador de interés. Los formatos de ensayo adecuados incluyen también procedimientos cromatográficos, de espectrometría de masas, y de transferencia de proteínas. Además, ciertos procedimientos y dispositivos, tales como biosensores e inmunoensayos ópticos, se pueden emplear para determinar la presencia o cantidad de analitos sin la necesidad de una molécula marcada. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.º 5.631.171; y 5.955.377. Un experto en la técnica reconoce también que la instrumentación robótica incluyendo, pero no limitada a los sistemas Beckman ACCESS®, Abbott AXSYM®, Roche ELECSYS®, Dade Behring STRATUS® son algunos de los analizadores de inmunoensayo que pueden llevar a cabo los inmunoensayos. Pero se puede utilizar cualquier inmunoensayo adecuado, por ejemplo, inmunoensayos ligados a enzimas (ELISA), radioinmunoensayos (RIE), ensayos de unión competitiva, y similares.

Los anticuerpos u otros polipéptidos se pueden inmovilizar sobre una variedad de soportes sólidos para usarlos en los ensayos. Las fases sólidas que se pueden utilizar para inmovilizar miembros de unión específicos incluyen los desarrollados y/o utilizados como fases sólidas en los ensayos de unión en fase sólida. Ejemplos de fases sólidas adecuadas incluyen filtros de membrana, papeles a base de celulosa, perlas (incluyendo partículas poliméricas, de

látex y paramagnéticas), vidrio, obleas de silicio, micropartículas, nanopartículas, TentaGels, AgroGels, geles PEGA, geles SPOCC y placas multipocillo. Una tira de ensayo se puede preparar recubriendo el anticuerpo o una pluralidad de anticuerpos en una matriz sobre un soporte sólido. Esta tira se podría entonces sumergir en la muestra de ensayo y, a continuación, procesarse rápidamente mediante etapas de lavados y detección para generar una señal medible, tal como una mancha de color. Los anticuerpos u otros polipéptidos pueden unirse a zonas específicas de los dispositivos de ensayo, ya sea mediante la conjugación directamente a una superficie del dispositivo de ensayo, o por unión indirecta. En un ejemplo de este último caso, los anticuerpos u otros polipéptidos pueden ser inmovilizados sobre partículas u otros soportes sólidos, y dicho soporte sólido inmovilizado a la superficie del dispositivo.

Los ensayos biológicos requieren procedimientos de detección, y uno de los procedimientos más comunes para la cuantificación de los resultados es conjugar un marcador detectable a una proteína o ácido nucleico que tenga afinidad por uno de los componentes en el sistema biológico que se está estudiando. Los marcadores detectables pueden incluir moléculas que son a su vez detectables (por ejemplo, restos fluorescentes, marcadores electroquímicos, quelatos de metal, etc.), así como moléculas que se pueden detectar indirectamente mediante la producción de un producto de reacción detectable (por ejemplo, enzimas tales como peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, etc.) o mediante una molécula de unión específica que a su vez puede ser detectable (por ejemplo, biotina, digoxigenina, maltosa, oligohistidina, 2,4-dinitrobenzenu, fenilarseniato, ssDNA, dsDNA, etc.).

La preparación de fases sólidas y conjugados de marcador detectables a menudo comprende la utilización de agentes de reticulación químicos. Los reactivos de reticulación contienen al menos dos grupos reactivos, y se dividen generalmente en reticulantes homofuncionales (que contienen grupos reactivos idénticos) y reticulantes heterofuncionales (que contienen grupos reactivos no idénticos). Los reticulantes homobifuncionales que se acoplan a través de aminas, sulfhidrilos o que reaccionan de forma no específica están disponibles de muchas fuentes comerciales. Las maleimidias, haluros de alquilo y arilo, alfa-haloacilos y disulfuros de piridilo son grupos reactivos para la formación de tioles. Las maleimidias, haluros de alquilo y arilo, y alfa-haloacilos reaccionan con sulfhidrilos para formar enlaces tioéter, mientras que los disulfuros de piridilo reaccionan con los sulfhidrilos para producir disulfuros mixtos. El producto disulfuro de piridilo es escindible. Los imidoésteres también son muy útiles para la reticulación entre proteínas. Una variedad de reticulantes heterobifuncionales, que combinan cada uno diferentes atributos para la conjugación con éxito, están disponibles comercialmente.

En ciertos aspectos, en el presente documento se dan a conocer kits para el análisis de los marcadores de lesión renal descritos. El kit comprende reactivos para el análisis de al menos una muestra de ensayo que comprenden al menos un anticuerpo para un marcador de la lesión renal. El kit también puede incluir dispositivos e instrucciones para realizar una o más de las correlaciones de diagnóstico y/o pronóstico descritas en el presente documento. Los kits preferentes comprenderán un par de anticuerpos para realizar un ensayo de tipo sándwich, o una especie marcada para realizar un ensayo competitivo, para el análisis. Preferentemente, un par de anticuerpos comprende un primer anticuerpo conjugado con una fase sólida y un segundo anticuerpo conjugado con un marcador detectable, en el que cada uno de los primer y segundo anticuerpos se une a un marcador de la lesión renal. Más preferentemente, cada uno de los anticuerpos son anticuerpos monoclonales. Las instrucciones de utilización del kit y la realización de las correlaciones pueden ser en forma de marcado, que se refiere a cualquier material escrito o registrado que está unido, o de otra manera acompaña a un kit en cualquier momento durante su fabricación, transporte, venta o utilización. Por ejemplo, el término marcado abarca folletos publicitarios y hojas informativas, materiales de embalaje, instrucciones, cintas de audio o de vídeo, discos informáticos, así como la escritura impresa directamente en los kits.

### Anticuerpos

El término "anticuerpo" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un péptido o polipéptido derivado de, modelizado a partir de o codificado sustancialmente mediante un gen de inmunoglobulina o genes de inmunoglobulina, o fragmentos de los mismos, capaz de unirse específicamente a un antígeno o epítipo. Véase, por ejemplo, *Fundamental Immunology*, 3ª edición, W.E. Paul, ed., Raven Press, Nueva York (1993) Wilson (1994); *J. Immunol. Methods* 175:267-273; Yarmush (1992) *J. Biochem. Biophys. Methods* 25:85-97. El término anticuerpo incluye partes de unión con antígeno, es decir, "sitios de unión con antígeno," (por ejemplo, fragmentos, subsecuencias, regiones determinantes de la complementariedad (CDR)) que conservan la capacidad para unirse con el antígeno, incluyendo (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1; (ii) un F (ab')<sub>2</sub>, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CH1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un único brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward et al., (1989) *Nature* 341:544-546), que consiste en un dominio VH; y (vi) una región determinante de complementariedad (CDR) aislada. Los anticuerpos de cadena sencilla también se incluyen por referencia en el término "anticuerpo".

Los anticuerpos utilizados en los inmunoensayos descritos en el presente documento preferentemente se unen específicamente a un marcador de la lesión renal de la presente invención. El término "se unen específicamente" no pretende indicar que un anticuerpo se une exclusivamente a su objetivo previsto, ya que, como se señaló anteriormente, un anticuerpo se une a cualquier polipéptido que muestra el epítipo o epítopos a los que se une el anticuerpo. Por el contrario, un anticuerpo "se une específicamente" si su afinidad por su objetivo previsto es de aproximadamente 5 veces mayor que su afinidad por una molécula no objetivo que no muestra el epítipo o epítopos

apropiados. Preferentemente, la afinidad del anticuerpo será al menos aproximadamente 5 veces, preferentemente 10 veces, más preferentemente 25 veces, incluso más preferentemente 50 veces, y lo más preferentemente 100 veces o más, mayor por una molécula objetivo que su afinidad por una molécula no objetivo. En realizaciones preferentes, los anticuerpos preferentes se unen con afinidades de al menos aproximadamente  $10^7 \text{ M}^{-1}$ , y preferentemente entre aproximadamente  $10^8 \text{ M}^{-1}$  y aproximadamente  $10^9 \text{ M}^{-1}$ , aproximadamente  $10^9 \text{ M}^{-1}$  y aproximadamente  $10^{10} \text{ M}^{-1}$ , o alrededor de  $10^{10} \text{ M}^{-1}$  y aproximadamente  $10^{12} \text{ M}^{-1}$ .

La afinidad se calcula como  $K_d = k_{\text{off}}/K_{\text{on}}$  ( $k_{\text{off}}$  es la constante de disociación,  $K_{\text{on}}$  es la constante de asociación y  $K_d$  es la constante de equilibrio). La afinidad se puede determinar en el equilibrio mediante la medición de la fracción unida ( $r$ ) de ligando marcado a diversas concentraciones ( $c$ ). Los datos se representan mediante la ecuación de Scatchard:  $r/c = K(n-r)$ : donde  $r$  = moles de ligando de unión/mol de receptor en el equilibrio;  $c$  = concentración de ligando libre en el equilibrio;  $K$  = constante de equilibrio de asociación; y  $n$  = número de sitios de unión de ligando por molécula de receptor. Mediante análisis gráfico,  $r/c$  se representa en el eje Y en función de  $r$  en el eje X, produciendo así una representación de Scatchard. La medición de la afinidad del anticuerpo mediante el análisis de Scatchard es bien conocida en la técnica. Véase, por ejemplo, van Erp *et al.*, *J. Immunoassay* 12: 425-43, 1991; Nelson y Griswold, *Comput. Methods Programs Biomed.* 27: 65-8, 1988.

El término "epítipo" se refiere a un determinante antigénico, capaz de unirse específicamente a un anticuerpo. Los epítipos consisten habitualmente en agrupamientos superficiales químicamente activos de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcares y normalmente tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Los epítipos conformacionales y no conformacionales se distinguen en que la unión al primero, pero no al segundo, se pierde en presencia de disolventes desnaturalizantes.

Numerosas publicaciones describen la utilización de la tecnología de presentación en fagos para producir y explorar bibliotecas de polipéptidos para la unión a un analito seleccionado. Véase, por ejemplo, Cwirla *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 6378-82, 1990; Devlin *et al.*, *Science* 249, 404-6, 1990, Scott and Smith, *Science* 249, 386-88, 1990; y Ladner *et al.*, Pat. de EE. UU. N° 5.571.698. Un concepto básico de los procedimientos de presentación en fagos es el establecimiento de una unión física entre el ADN que codifica un polipéptido que se detectará y el polipéptido. Esta unión física la proporciona la partícula de fago, que muestra un polipéptido como parte de una cápside que encierra el genoma del fago que codifica el polipéptido. El establecimiento de una unión física entre los polipéptidos y su material genético permite la detección simultánea en masa de un gran número de fagos que llevan diferentes polipéptidos. Los fagos que muestran un polipéptido con afinidad por un objetivo se unen al objetivo y estos fagos se enriquecen mediante detección de la afinidad por el objetivo. La identidad de los polipéptidos que se presentan en estos fagos puede determinarse a partir de sus respectivos genomas. Utilizando estos procedimientos un polipéptido identificado como con una afinidad de unión por un objetivo deseado puede, a continuación, ser sintetizado a granel por medios convencionales. Véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. N° 6.057.098.

Los anticuerpos que se generan mediante estos procedimientos pueden entonces ser seleccionados mediante una primera detección de afinidad y especificidad con el polipéptido purificado de interés y, si es necesario, comparando los resultados con la afinidad y especificidad de los anticuerpos con los polipéptidos que se desea que sean excluidos de la unión. El procedimiento de detección puede implicar la inmovilización de los polipéptidos purificados en pocillos separados de placas de microtitulación. La solución que contiene un anticuerpo o grupos de anticuerpos potenciales se coloca a continuación en los respectivos pocillos de microtitulación y se incuba durante aproximadamente 30 min a 2 horas. Los pocillos de microtitulación se lavan a continuación y un anticuerpo secundario marcado (por ejemplo, un anticuerpo anti-IgG de ratón conjugado a fosfatasa alcalina si los anticuerpos planteados son de ratón) se añade en los pocillos y se incuba durante aproximadamente 30 min y después se lava. Se añade a los pocillos un sustrato y aparecerá una reacción de color donde existen anticuerpos contra el polipéptido o polipéptidos inmovilizados.

Los anticuerpos identificados de esta manera pueden ser entonces analizados para determinar la afinidad y especificidad en el diseño de ensayo seleccionado. En el desarrollo de inmunoensayos para una proteína objetivo, la proteína objetivo purificada actúa como patrón con el que medir la sensibilidad y especificidad del inmunoensayo utilizando los anticuerpos que han sido seleccionados. Debido a que la afinidad de unión de diversos anticuerpos puede ser diferente; ciertos pares de anticuerpos (por ejemplo, en ensayos de tipo sándwich) pueden interferir unos con otros estéricamente, etc., el rendimiento del ensayo de un anticuerpo puede ser una medida más importante que la afinidad y especificidad absoluta de un anticuerpo.

### Correlaciones de los ensayos

Tal como se usa en el presente documento haciendo referencia a la utilización de biomarcadores, el término "correlacionar" se refiere a comparar la presencia o la cantidad del biomarcador o biomarcadores en un paciente con su presencia o cantidad en individuos que padecen o tienen riesgo de padecer una afección determinada; o en personas que se sabe que no tienen una afección determinada. A menudo, esto toma la forma de comparar un resultado del ensayo en forma de una concentración de biomarcador con un umbral predeterminado seleccionado para ser indicativo de la ocurrencia o no ocurrencia de una enfermedad o la probabilidad de algún resultado futuro.

Seleccionar un umbral de diagnóstico implica, entre otras cosas, valorar la probabilidad de la enfermedad, la

distribución de los diagnósticos verdaderos y falsos en diferentes umbrales de las pruebas, y las estimaciones de las consecuencias del tratamiento (o de la falta de tratamiento) basadas en el diagnóstico. Por ejemplo, al considerar la administración de una terapia específica que es altamente eficaz y tiene un bajo nivel de riesgo, son necesarias pocas pruebas porque los médicos pueden aceptar una incertidumbre de diagnóstico importante. Por el contrario, en situaciones en las que las opciones de tratamiento son menos eficaces y más arriesgadas, los médicos a menudo necesitan un mayor grado de certeza diagnóstica. Por lo tanto, el análisis de coste/beneficio está implicado en la selección de un umbral de diagnóstico.

Se pueden determinar umbrales adecuados en una variedad de maneras. Por ejemplo, un umbral de diagnóstico recomendado para el diagnóstico del infarto agudo de miocardio mediante la troponina cardíaca es el percentil 97,5 de la concentración observada en una población normal. Otro procedimiento puede ser mirar muestras seriadas del mismo paciente, donde se utiliza un resultado previo "basal" para controlar los cambios temporales en un nivel del biomarcador.

También se pueden usar estudios de población para seleccionar un umbral de decisión. La característica de operación del receptor ("ROC") surgió del campo de la teoría de la detección de señales desarrollado durante la Segunda Guerra Mundial para el análisis de imágenes de radar, y el análisis ROC se utiliza a menudo para seleccionar un umbral capaz de distinguir mejor una subpoblación "enferma" de una subpoblación "no enferma". Un falso positivo en este caso se produce cuando la persona da positivo, pero en realidad no tiene la enfermedad. Un falso negativo, por el contrario, se produce cuando la persona da negativo, lo que sugiere que están sanos, cuando en realidad tienen la enfermedad. Para dibujar una curva ROC, se determinan la tasa de verdaderos positivos (TVP) y la tasa de falsos positivos (TFP), dado que el umbral de decisión varía continuamente. Dado que la TVR es equivalente a la sensibilidad y la TFP es igual a  $1 -$  la especificidad, el gráfico ROC a veces se llama gráfico de sensibilidad vs ( $1 -$  especificidad). Una prueba perfecta tendrá un área bajo la curva ROC de 1,0; una prueba aleatoria tendrá un área de 0,5. Se selecciona un umbral para proporcionar un nivel aceptable de especificidad y sensibilidad.

En este contexto, "enferma" se entiende que hace referencia a una población que tiene una característica (la presencia de una enfermedad o afección o la ocurrencia de algún resultado) y "no enferma" se entiende que hace referencia a una población que carece de la característica. Aunque un solo umbral de decisión es la aplicación más sencilla de dicho procedimiento, se pueden utilizar múltiples umbrales de decisión. Por ejemplo, por debajo de un primer umbral, la ausencia de la enfermedad puede ser asignada con una confianza relativamente alta, y por encima de un segundo umbral también puede ser asignada la presencia de la enfermedad con una confianza relativamente alta. Entre los dos umbrales se puede considerar indeterminado. Esto está destinado a ser solo a modo de ejemplo.

Además de las comparaciones con un umbral, otros procedimientos para correlacionar los resultados del ensayo con una clasificación de pacientes (ocurrencia o no ocurrencia de la enfermedad, probabilidad de un resultado, etc.) incluyen árboles de decisión, conjuntos de normas, procedimientos bayesianos, y procedimientos de redes neuronales. Estos procedimientos pueden producir valores de probabilidad que representan el grado en que un individuo pertenece a una clasificación de entre una pluralidad de clasificaciones.

Las medidas de precisión de la prueba se pueden obtener como se describe en Fischer *et al.*, *Intensive Care Med.* 29: 1043-1051, 2003, y se utilizan para determinar la eficacia de un biomarcador dado. Estas medidas incluyen sensibilidad y especificidad, valores predictivos, razones de probabilidad, razón de momios de diagnóstico, y las áreas bajo la curva ROC. El área bajo la curva ("AUC") de un gráfico ROC es igual a la probabilidad de que un clasificador clasifique un caso positivo elegido al azar mayor que uno negativo elegido al azar. El área bajo la curva ROC puede considerarse como equivalente a la prueba U de Mann-Whitney, que analiza la mediana de la diferencia entre las puntuaciones obtenidas en los dos grupos considerados si los grupos son de datos continuos, o la prueba de Wilcoxon de rangos.

Como se explicó anteriormente, las pruebas adecuadas pueden presentar uno o más de los siguientes resultados en estas diversas medidas: una especificidad mayor que 0,5, preferentemente al menos 0,6, más preferentemente al menos 0,7, aún más preferentemente al menos 0,8, incluso más preferentemente al menos 0,9 y lo más preferentemente al menos 0,95, con una sensibilidad correspondiente mayor que 0,2, preferentemente mayor que 0,3, más preferentemente mayor que 0,4, todavía más preferentemente al menos 0,5, incluso más preferentemente 0,6, aún más preferentemente mayor que 0,7, todavía más preferentemente mayor de 0,8, más preferentemente mayor que 0,9, y lo más preferentemente mayor que 0,95; una sensibilidad mayor que 0,5, preferentemente al menos 0,6, más preferentemente al menos 0,7, aún más preferentemente al menos 0,8, incluso más preferentemente al menos 0,9 y lo más preferentemente al menos 0,95, con una especificidad correspondiente mayor que 0,2, preferentemente mayor que 0,3, más preferentemente mayor que 0,4, todavía más preferentemente al menos 0,5, incluso más preferentemente 0,6, aún más preferentemente mayor que 0,7, todavía más preferentemente mayor que 0,8, más preferentemente mayor que 0,9, y lo más preferentemente mayor que 0,95; una sensibilidad de al menos el 75 %, combinada con una especificidad de al menos el 75 %; un área bajo la curva ROC mayor que 0,5, preferentemente al menos 0,6, más preferentemente de 0,7, aún más preferentemente al menos 0,8, incluso más preferentemente al menos 0,9, y más preferentemente al menos 0,95; una razón de momios diferente de 1, preferentemente 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; un cociente de probabilidad positivo (calculado como la sensibilidad/(1-especificidad)) mayor que 1, al menos 2, más preferentemente al menos 3, aún más preferentemente al menos 5, y más preferentemente al menos 10; y/o un cociente de probabilidad negativo (calculado como (1-sensibilidad)/especificidad) de menos de 1, a menor o igual que 0,5, más preferentemente menor o igual que 0,3, y lo más preferentemente menor o igual que 0,1.

Se pueden combinar indicadores clínicos adicionales con el resultado o resultados de los ensayos del marcador de lesión renal de la presente invención. Estos incluyen otros biomarcadores relacionados con el estado renal. Los ejemplos incluyen los siguientes, que cita el nombre común del marcador biológico, seguido por el número de entrada de Swiss-Prot para ese biomarcador o su progenitor: actina (P68133); proteína de unión a la adenosina desaminasa (DPP-4, P27487); alfa-1-glicoproteína ácida (P02763); alfa-1-microglobulina (P02760); albúmina (P02768); angiotensinogenasa (renina, P00797); anexina A2 (P07355); beta-glucuronidasa (P08236); b2-microglobulina (P61679); beta-galactosidasa (P16278); BMP-7 (P18075); péptido natriurético cerebral (proBNP, BNP-32, NT-proBNP; P16860); subunidad beta de la proteína de unión al calcio (S100-beta, P04271); anhidrasa carbónica (Q16790); caseína quinasa 2 (P68400); cadherina-3 (P07858); ceruloplasmina (P00450); clusterina (P10909); complemento C3 (P01024); proteína rica en cisteína (CYR61, 000622); citocromo C (P99999); factor de crecimiento epidérmico (EGF, P01133); endotelina-1 (P05305); fetuina-A exosómica (P02765); proteína de unión de ácidos grasos, cardíaca (FABP3, P05413); proteína de unión de ácidos grasos, hepática (P07148); ferritina (cadena ligera, P02793, P02794 cadena pesada); fructosa-1,6-bisfosfatasa (P09467); GRO-alfa (CXCL1, (P09341); hormona del crecimiento (P01241); factor de crecimiento de hepatocitos (P14210); factor de crecimiento similar a la insulina I (P01343); inmunoglobulina G; cadenas ligeras de inmunoglobulina (Kappa y Lambda); interferón gamma (P01308); lisozima (P61626); interleucina-1 alfa (P01583); interleucina-2 (P60568); interleucina-4 (P60568); interleucina-9 (P15248); interleucina-12p40 (P29460); interleucina-13 (P35225); interleucina-16 (Q14005); molécula de adhesión celular LI (P32004); lactato deshidrogenasa (P00338); leucina aminopeptidasa (P28838); subunidad alfa de la meprina A (Q16819); subunidad beta de la meprina A (Q16820); midkina (P21741); MIP2-alfa (CXCL2, P19875); MMP-2 (P08253); MMP-9 (P14780); netrina-1 (095631); endopeptidasa neutra (P08473); osteopontina (P10451); antígeno papilar renal 1 (RPA1); antígeno renal papilar 2 (RPA2); proteína de unión al retinol (P09455); ribonucleasa; proteína de unión al calcio-S100 A6 (P06703); componente P del amiloide sérico (P02743); intercambiador sodio/hidrógeno forma iso (NHE3, P48764); espermidina/espermina NL-acetiltransferasa (P21673); TGF-Betal (P01137); transferrina (P02787); factor trefoil 3 (TFF3, Q07654); proteína 4 asociada a receptor de tipo Toll (000206); proteína total; antígeno de la nefritis tubulointersticial (Q9UJW2); uromodulina (proteína de Tamm-Horsfall, P07911).

A los efectos de la estratificación del riesgo, adiponectina (P15 848); fosfatasa alcalina (P05186); aminopeptidasa N (P15144); calbindinD28k (P05937); cistatina C (P01034); subunidad 8 de FIFO ATPasa (P03928); gammaglutamiltransferasa (P19440); GSTa (alfa-glutationa-S-transferasa, P08263); GSTpi (glutationa-S-transferasa P; GST clase-pi; P09211); IGFBP-1 (P08833); IGFBP-2 (P18065); IGFBP-6 (P24592); proteína integral de membrana 1 (ITML, P46977); interleucina-6 (P05231); interleucina-8 (P10145); interleucina-18 (Q14116); IP-10 (proteína inducida por interferón gamma de 10 kDa, P02778); IRPR (IFRD1, 000458); Isovaleril-CoA deshidrogenasa (IVD, P26440); YO- TAC/CXCL11 (014625); queratina 19 (P08727); Kim-1 (receptor celular del virus de la hepatitis A 1, 043656); L-arginina: glicina amidinotransferasa (P50440); leptina (P41159); lipocalina 2 (NGAL, P80188); MCP-1 (P13500); MIG (monoquina inducida por interferón gamma Q07325); MIP-1a (P10147); MIP-3a (P78556); MIP-1beta (P13236); MIP-1d (Q16663); NAG (N-acetil-beta-D-glucosaminidasa, P54802); transportador de iones orgánicos (OCT2, 015244); osteoprotegerina (014788); proteína P8 (060356); inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1, P05121); ProANP (L-98) (P01160); proteína fosfatasa 1 beta (PPI-beta, P62140); Rab GDI-beta (P50395); calicreína renal (Q86U61); RT1.B-1 cadena alfa de la proteína integral de membrana (Q5Y7A8); miembro 1A de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral soluble (sTNFR-I, P19438); miembro 1B de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral soluble (sTNFR-II, P20333); inhibidor tisular de la metaloproteína 3 (TIMP-3 3, P35625); uPAR (Q03405) se pueden combinar con los resultados de los ensayos del marcador de lesión renal de la presente invención.

Otros indicadores clínicos que se pueden combinar con el resultado o resultados de los ensayos del marcador de lesión renal de la presente invención incluyen información demográfica (por ejemplo, peso, sexo, edad, raza), historia médica (por ejemplo, antecedentes familiares, tipo de cirugía, enfermedad previa, tal como aneurisma, insuficiencia cardíaca congestiva, preeclampsia, eclampsia, diabetes mellitus, hipertensión, cardiopatía coronaria, proteinuria, insuficiencia renal, o sepsis, tipo de exposición a toxinas tales como los AINE, ciclosporinas, tacrolimus, aminoglucósidos, foscarnet, etilenglicol, hemoglobina, mioglobina, ifosfamida, metales pesados, metotrexato, agentes de contraste radio-opacos, o estreptozotocina), variables clínicas (por ejemplo, presión arterial, temperatura, frecuencia respiratoria), puntuaciones de riesgo (puntuación APACHE, puntuación PREDICT, índice de riesgo TIMI de IAM/SST, puntuación de riesgo Framingham), medición total de proteína en la orina, tasa de filtración glomerular, tasa de filtración glomerular estimada, gasto urinario, concentración sérica o plasmática de creatinina, medición del antígeno papilar renal 1 (RPA1); medición del antígeno papilar renal 2 (RPA2); concentración de creatinina en orina, excreción fraccional de sodio, concentración de sodio en la orina, relación entre la creatinina en orina y la creatinina sérica o plasmática, gravedad específica de la orina, osmolalidad de la orina, relación entre el nitrógeno ureico en la

5 orina y el nitrógeno ureico plasmático, relación entre el BUN plasmático y la creatinina, y/o índice de insuficiencia renal calculado como sodio en la orina/(creatinina en la orina/creatinina en el plasma). A continuación, y en Harrison's Principles of Internal Medicine, 17ª Ed., McGraw Hill, Nueva York, páginas 1741 a 1830, y Current Medical Diagnosis & Treatment 2008, 47ª Ed, McGraw Hill, Nueva York, páginas 785 a 815, se describen otras medidas de la función renal que pueden combinarse con el resultado o resultados de los ensayos del marcador de la lesión renal.

Combinar los resultados de los ensayos/indicadores clínicos de esta manera puede comprender utilizar la regresión logística de multivariante, el modelizado loglineal, análisis de redes neuronales, análisis n-de-m, análisis de árbol de decisión, etc. Esta lista no pretende ser restrictiva.

### Diagnóstico de la insuficiencia renal aguda

10 Como se señaló anteriormente, los términos "lesión renal (o de los riñones) aguda" e "insuficiencia renal (o de los riñones) aguda", tal como se utilizan en el presente documento se definen, en parte, en términos de cambios en la creatinina sérica con respecto a un valor basal. La mayoría de las definiciones de IRA tienen elementos comunes, incluyendo la utilización de la creatinina sérica y, a menudo, el gasto urinario. Los pacientes pueden presentar disfunción renal y no disponer de una medida basal de la función renal para su utilización en esta comparación. En  
15 tal caso, se puede estimar un valor basal de la creatinina sérica, suponiendo que el paciente inicialmente tenía una tasa de filtración glomerular (TFG) normal. La tasa de filtración glomerular (TFG) es el volumen de fluido filtrado por los capilares del glomérulo renal (en el riñón) en la cápsula de Bowman por unidad de tiempo. La tasa de filtración glomerular (TFG) se puede calcular midiendo cualquier producto químico que tenga un nivel constante en la sangre, y que se filtre libremente, pero ni se reabsorba ni se secrete en los riñones. La TFG se expresa normalmente en  
20 unidades de ml/min:

$$\text{TFG} = \frac{\text{Concentración de la orina} \times \text{caudal de orina}}{\text{Concentración plasmática}}$$

Mediante la normalización de la TFG para la superficie corporal, se puede suponer una TFG de aproximadamente 75 a 100 ml/min por 1,73 m<sup>2</sup>. La tasa medida, por lo tanto, es la cantidad de la sustancia en la orina que se originó a partir de un volumen de sangre calculable.

25 Existen varias técnicas diferentes que se utilizan para calcular o estimar la tasa de filtración glomerular (TFG o TFGe). En la práctica clínica, sin embargo, para medir la TFG se usa la eliminación de la creatinina. La creatinina es producida por el cuerpo de manera natural (la creatinina es un metabolito de la creatina, que se encuentra en el músculo). Es filtrada libremente por los glomérulos, pero también es secretada activamente por los túbulos renales en muy pequeñas cantidades, de manera que la eliminación de creatinina sobreestima la TFG real en un 10 a 20 %. Este margen de error es aceptable, teniendo en cuenta la facilidad con la que se mide el aclaramiento de creatinina.

30 El aclaramiento de creatinina (ACr) se puede calcular si se conocen los valores de la concentración de creatinina en orina (U<sub>cr</sub>), el caudal de orina (V), y la concentración plasmática de creatinina (P<sub>cr</sub>). Dado que el producto de la concentración de la orina por el caudal de orina da como resultado la tasa de excreción de creatinina, también se dice que el aclaramiento de creatinina es su tasa de excreción (U<sub>cr</sub> x V) dividida entre su concentración plasmática. Esto se representa comúnmente de forma matemática como:

$$\text{ACr} = \frac{\text{U}_{\text{cr}} \times \text{V}}{\text{P}_{\text{cr}}}$$

35 Comúnmente se lleva a cabo una recogida de orina de 24 horas, desde la vejiga vacía de, una mañana hasta el contenido de la vejiga a la mañana siguiente, con un análisis de sangre comparativo tomado a continuación:

$$\text{ACr} = \frac{\text{U}_{\text{cr}} \times \text{volumen de 24 horas}}{\text{P}_{\text{cr}} \times 24 \times 60 \text{ min}}$$

40 Para poder comparar los resultados entre personas de diferentes tamaños, la CCr se corrige a menudo para la superficie corporal (SC) y se expresa en comparación con el tamaño de un hombre promedio en ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Aunque la mayoría de los adultos tienen una SC que se aproxima a 1,7 (1,6 a 1,9), en pacientes extremadamente delgados u obesos se debe corregir su ACr para su SC real:

$$\text{A}_{\text{Cr-correctado}} = \frac{\text{ACr} \times 1,73}{\text{SC}}$$

La precisión de una medición del aclaramiento de creatinina (incluso cuando la recogida está completa) es limitada, porque a medida que la tasa de filtración glomerular (TFG) disminuye se incrementa la secreción de creatinina y, por lo tanto, el aumento en la creatinina sérica es menor. Por lo tanto, la excreción de creatinina es mucho mayor que la

carga filtrada, resultando en una posible gran sobreestimación de la tasa de filtración glomerular (hasta una diferencia del doble). Sin embargo, con fines clínicos es importante determinar si la función renal es estable o está empeorando o mejorando. Esto se determina a menudo mediante el control de la creatinina sérica sola. Al igual que el aclaramiento de creatinina, la creatinina sérica no será un reflejo exacto de la TFG en la condición de estado no estacionario de la IRA. No obstante, el grado de los cambios séricos en la creatinina con respecto al nivel basal reflejará el cambio en la TFG. La creatinina sérica se mide rápida y fácilmente y es específica para la función renal.

Con vistas a la determinación del gasto urinario en términos de ml/kg/h, una recogida y medición de la orina por hora es adecuada. En el caso en que, por ejemplo, solo se dispusiese de una producción acumulativa de 24 h y no se proporcionasen los pesos de los pacientes, se han descrito modificaciones menores de los criterios RIFLE de gasto urinario. Por ejemplo, Bagshaw *et al.*, *Nephrol. Dial. Transplant.* 23: 1203–1210, 2008, supone un peso promedio de los pacientes de 70 kg, y a los pacientes se les asigna una clasificación RIFLE basada en lo siguiente: <35 ml/h (Riesgo), < 21 ml/h (Lesión) o < 4 ml/h (Fracaso).

### Selección de un régimen de tratamiento

Una vez que se obtiene un diagnóstico, el médico puede seleccionar fácilmente un régimen de tratamiento que sea compatible con el diagnóstico, tal como iniciar una terapia de sustitución renal, suspender la administración de compuestos que se sabe que son perjudiciales para el riñón, trasplante de riñón, retrasar o evitar procedimientos que se sabe que son perjudiciales para el riñón, modificar la administración de diuréticos, iniciar una terapia dirigida al objetivo, etc. El experto en la materia conoce los tratamientos apropiados para numerosas enfermedades explicadas en relación con los procedimientos de diagnóstico descritos en el presente documento. Véase, por ejemplo, Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 17ª Ed. Merck Research Laboratories, Whitehouse Station, NJ, 1999. Además, puesto que los procedimientos y composiciones descritos en el presente documento proporcionan información de pronóstico, los marcadores de la presente invención se pueden usar para controlar un régimen de tratamiento. Por ejemplo, un estado del pronóstico mejorado o empeorado puede indicar que un tratamiento concreto es o no es eficaz.

Los ejemplos proporcionados en el presente documento son representativos de las realizaciones preferentes, son a modo de ejemplo y no pretenden ser limitaciones del alcance de la invención.

### Ejemplo 1: El AH como marcador diagnóstico de la IRA

El AH en orina y la creatinina plasmática se midieron en ratones después de la administración de ácido fólico, una nefrotoxina conocida. Inyecciones intraperitoneales de ácido fólico (AF, 300 mg/kg disueltos en NaHCO<sub>3</sub>) se seleccionaron como dosis adecuada para inducir la IRA (tiempo = 0 h) sobre la base de estudios piloto que indican que esta dosis fue eficaz para provocar aumentos en los niveles de creatinina plasmática indicativos de IRA, pero sin AF que conduce a una enfermedad grave o la muerte. Los animales de control recibieron un volumen de vehículo (NaHCO<sub>3</sub>) IP La creatinina plasmática y el nitrógeno ureico en sangre (BUN) se midieron para evaluar la función renal utilizando ensayos disponibles en el mercado (kit de creatinina de Diazyme (San Diego, CA), kit de BUN de Sigma (St. Louis, MO)). Los niveles de AH urinario se normalizaron expresando la concentración de AH por mg de creatinina urinaria.

Los resultados de este análisis se representan en la fig. 1. Como se puede ver, los niveles de AH normalizados son un reflejo de los niveles de creatinina indicativos de IRA en este sistema de modelo de IRA inducida.

### Ejemplo 2: utilización de AH como marcador pronóstico y diagnóstico

En el siguiente estudio se inscribieron pacientes de la unidad de cuidados intensivos (UCI). Cada paciente fue clasificado por el estado del riñón como sin lesión (0), riesgo de lesión (R), lesión (I), y fracaso (F), de acuerdo con el estadio máximo alcanzado en el transcurso de los 7 días desde la inclusión según lo determinado por los criterios RIFLE. En la inclusión, se obtuvieron muestras de sangre con el anticoagulante EDTA (10 ml) y unas muestras de orina (25 a 30 ml) de cada paciente, 4 ( $\pm$  0,5) y 8 ( $\pm$  1) horas después de la administración del contraste (en su caso); a las 12 ( $\pm$  1), 24 ( $\pm$  2), y 48 ( $\pm$  2) horas después de la inclusión, y a partir de entonces todos los días hasta el día 7 hasta el día 14, mientras que el individuo está hospitalizado. Se midió el AH por procedimientos de inmunoensayo estándar utilizando reactivos de ensayo disponibles en el mercado en las muestras de orina y en el componente plasmático de las muestras de sangre recogidas.

Se definieron dos cohortes, tal como se describe en la introducción de cada una de las tablas siguientes. En las siguientes tablas, el tiempo de "estadio máximo previo" representa el momento en el que se recoge una muestra, en relación con el tiempo en que un paciente concreto llega al estadio más bajo de la enfermedad, tal como se define para esa cohorte, agrupada en tres grupos que son  $\pm$  12 horas. Por ejemplo, "24 h antes" que utiliza 0 frente a R, I, F, dado que las dos cohortes significarían 24 h ( $\pm$  12 horas) antes de alcanzar el estadio R (o I, si no hay ninguna muestra en R, o F si no hay ninguna muestra en R o I).

Se generó una curva característica de operación del receptor (ROC) para el AH, y se determinó el área bajo cada curva ROC (AUC). Los pacientes en la cohorte 2 también fueron separados de acuerdo con el motivo de la clasificación en la cohorte 2 basado en mediciones de creatinina sérica (CrS), que se basan en el gasto urinario

(GU), o se basan en mediciones bien de la creatinina sérica o del gasto urinario. Utilizando el mismo ejemplo explicado anteriormente (0 frente a R, I, F), para aquellos pacientes clasificados como estadio R, I o F basándose únicamente en las mediciones de la creatinina sérica, la cohorte en el estadio 0 puede haber incluido pacientes clasificados como estadio R, I, o F sobre la base del gasto urinario; para aquellos pacientes clasificados como estadio R, I o F basándose únicamente en el gasto urinario, la cohorte en el estadio 0 puede haber incluido pacientes clasificados como estadio R, I o F sobre la base de mediciones de la creatinina sérica; y para aquellos pacientes clasificados como estadio R, I o F sobre la base de las mediciones de la creatinina sérica o el gasto urinario, la cohorte del estadio 0 contiene solo los pacientes en el estadio 0 para ambas mediciones de la creatinina sérica y el gasto urinario. Además, en los datos de los pacientes clasificados sobre la base de mediciones de la creatinina sérica o el gasto urinario, se utilizó el procedimiento de clasificación que condujo al estadio RIFLE más grave.

La capacidad de distinguir la cohorte 1 de la cohorte 2 se determinó utilizando un análisis ROC. El EE es el error estándar del AUC, n es el número de pacientes de la muestra o individuales ("pts", tal como se indica). Los errores estándar se calcularon como se describe en Hanley, J. A., and McNeil, B.J., The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. Radiology (1982) 143: 29 a 36; los valores de p se calcularon con una prueba z de dos colas. Un AUC < 0,5 es indicativo de un marcador de sentido negativo para la comparación, y un AUC > 0,5 es indicativo de un marcador de sentido positivo para la comparación.

Se seleccionaron varias concentraciones de AH umbral (o de "corte"), y se determinaron la sensibilidad y la especificidad asociadas para distinguir la cohorte 1 de la cohorte 2. OR es la razón de momios calculada para la concentración de corte concreta, y el IC de 95 % es el intervalo de confianza para la razón de momios.

Tabla 1: comparación de los niveles de los marcadores en muestras de orina recogidas de la Cohorte 1 (pacientes que no progresaron más allá del estadio 0 de RIFLE) y en muestras de orina recogidas de individuos a las 0, 24 horas y 48 horas antes de llegar al estadio R, I o F en la Cohorte 2.

Crs o GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	979	1840	979	1280	979	1330
Media	1290	2010	1290	1870	1290	2030
DE	1090	1300	1090	1460	1090	1540
p(prueba t)		2,3E-13		3,4E-8		3,0E-6
Mín.	41,6	151	41,6	77,8	41,6	126
Máx.	6400	5710	6400	6300	6400	5450
n (Muestra)	570	189	570	170	570	58
n (Pacientes)	259	189	259	170	259	58

Solo Crs	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1280	1600	1280	1550	1280	1150
Media	1700	1720	1700	1850	1700	1750
DE	1350	1120	1350	1290	1350	1440
p(prueba t)		0,87		0,39		0,82
Mín.	41,6	151	41,6	77,8	41,6	152
Máx.	6400	6400	6400	5710	6400	5910
n (Muestra)	1322	59	1322	60	1322	36
n (Pacientes)	467	59	467	60	467	36

ES 2 619 617 T3

Solo GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1040	2020	1040	1560	1040	1500
Media	1370	2230	1370	2090	1370	2130
DE	1130	1400	1130	1580	1130	1550
p(prueba t)		4,7E-16		1,5E-10		6,0E-6
Mín.	41,6	168	41,6	91,1	41,6	126
Máx.	5540	6400	5540	6390	5540	6190
n (Muestra)	587	173	587	161	587	54
n (Pacientes)	223	173	223	161	223	54

	0 h antes del estadio de IRA			24 h antes del estadio de IRA			48 h antes del estadio de IRA		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
AUC	0,69	0,54	0,71	0,62	0,56	0,64	0,63	0,51	0,64
EE	0,024	0,039	0,024	0,025	0,039	0,026	0,041	0,049	0,042
P	4,0E-15	0,26	0	1,9E-6	0,16	8,9E-8	9,4E-4	0,88	5,9E-4
nCohorte 1	570	1322	587	570	1322	587	570	1322	587
nCohorte 2	189	59	173	170	60	161	58	36	54
Corte 1	1180	1040	1360	886	1100	964	854	849	976
Sens 1	70 %	71 %	71 %	70 %	70 %	70 %	71 %	72 %	70 %
Espec 1	58 %	40 %	64 %	45 %	42 %	46 %	43 %	32 %	47 %
Corte 2	893	640	1020	690	770	741	719	648	776
Sens 2	80 %	81 %	80 %	80 %	80 %	80 %	81 %	81 %	81 %
Espec 2	46 %	22 %	49 %	35 %	29 %	35 %	37 %	22 %	38 %
Corte 3	451	358	583	392	389	465	437	477	437
Sens 3	90 %	92 %	90 %	90 %	90 %	90 %	91 %	92 %	91 %
Espec 3	19 %	9 %	25 %	16 %	10 %	18 %	19 %	15 %	17 %
Corte 4	1480	2010	1600	1480	2010	1600	1480	2010	1600
Sens 4	61 %	37 %	65 %	46 %	37 %	49 %	47 %	36 %	48 %
Espec 4	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %
Corte 5	1820	2610	2010	1820	2610	2010	1820	2610	2010
Sens 5	52 %	19 %	50 %	42 %	20 %	42 %	45 %	19 %	46 %
Espec 5	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %
Corte 6	2660	3790	2890	2660	3790	2890	2660	3790	2890
Sens 6	25 %	2 %	24 %	25 %	8 %	27 %	34 %	11 %	33 %
Espec 6	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %

ES 2 619 617 T3

OR Cuart 2	1,1	0,66	1,3	1,6	1,6	2,6	1,8	1,1	1,3
Valor p	0,79	0,37	0,43	0,10	0,24	0,0013	0,19	0,82	0,63
IC de 95 % de	0,61	0,27	0,69	0,91	0,73	1,4	0,74	0,45	0,49
OR Cuart 2	1,9	1,6	2,4	2,7	3,6	4,6	4,5	2,8	3,3
OR Cuart 3	1,9	1,8	2,7	1,4	1,6	1,5	1,3	0,89	1,4
Valor p	0,015	0,11	5,9E-4	0,21	0,23	0,22	0,63	0,81	0,48
IC de 95 % de	1,1	0,87	1,5	0,82	0,73	0,80	0,49	0,34	0,55
OR Cuart 3	3,2	3,7	4,8	2,5	3,6	2,7	3,3	2,3	3,6
OR Cuart 4	5,1	1,5	6,5	3,8	1,8	4,9	3,7	1,00	3,5
Valor p	1,6E-10	0,27	2,0E-11	2,7E-7	0,13	1,7E-8	0,0019	0,99	0,0031
IC de 95 % de	3,1	0,72	3,7	2,3	0,84	2,8	1,6	0,39	1,5
OR Cuart 4	8,3	3,2	11	6,3	4,0	8,5	8,4	2,5	8,0

Tabla 2: comparación de los niveles de los marcadores en muestras de orina recogidas de la Cohorte 1 (pacientes que no progresaron más allá del estadio 0 o R de RIFLE) y en muestras de orina recogidas de individuos a las 0, 24 horas y 48 horas antes de llegar al estadio I o F en la Cohorte 2.

Crs o GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1180	2190	1180	2050	1180	1880
Media	1500	2440	1500	2450	1500	2100
DE	1190	1460	1190	1650	1190	1620
p(prueba t)		1,3E-13		7,7E-14		2,0E-4
Mín.	41,6	89,4	41,6	110	41,6	81,2
Máx.	6400	6400	6400	6400	6400	6190
n (Muestra)	1183	102	1183	106	1183	61
n (Pacientes)	444	102	444	106	444	61

Solo Crs	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1330	1760	1330	2010	1330	1550
Media	1740	2060	1740	2430	1740	1970
DE	1380	1260	1380	1470	1380	1530
p(prueba t)		0,28		0,0085		0,42
Mín.	41,6	404	41,6	340	41,6	324
Máx.	6400	6400	6400	6400	6400	6400
n (Muestra)	1617	22	1617	29	1617	25
n (Pacientes)	556	22	556	29	556	25

ES 2 619 617 T3

Solo GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1220	2330	1220	2180	1220	1950
Media	1550	2600	1550	2510	1550	2290
DE	1200	1530	1200	1700	1200	1700
p(prueba t)		5,8E-15		5,4E-13		2,3E-5
Mín.	41,6	89,4	41,6	110	41,6	81,2
Máx.	6400	6400	6400	6400	6400	6190
n (Muestra)	1118	93	1118	97	1118	52
n (Pacientes)	382	93	382	97	382	52

	0 h antes del estadio de IRA			24 h antes del estadio de IRA			48 h antes del estadio de IRA		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
AUC	0,71	0,62	0,71	0,68	0,66	0,67	0,60	0,55	0,62
EE	0,030	0,064	0,031	0,030	0,056	0,031	0,039	0,060	0,042
P	2,0E-12	0,069	3,6E-12	1,5E-9	0,0033	2,0E-8	0,012	0,36	0,0051
nCohorte 1	1183	1617	1118	1183	1617	1118	1183	1617	1118
nCohorte 2	102	22	93	106	29	97	61	25	52
Corte 1	1590	1340	1660	1330	1710	1400	886	1100	957
Sens 1	71 %	73 %	71 %	71 %	72 %	70 %	70 %	72 %	71 %
Espec 1	65 %	50 %	65 %	57 %	61 %	57 %	37 %	41 %	38 %
Corte 2	1160	1070	1190	923	1150	819	582	770	648
Sens 2	80 %	82 %	81 %	80 %	83 %	80 %	80 %	80 %	81 %
Espec 2	49 %	40 %	49 %	39 %	42 %	32 %	22 %	28 %	23 %
Corte 3	671	1020	671	515	641	513	469	537	470
Sens 3	90 %	91 %	90 %	91 %	93 %	91 %	90 %	92 %	90 %
Espec 3	26 %	38 %	25 %	18 %	21 %	17 %	16 %	17 %	15 %
Corte 4	1770	2050	1850	1770	2050	1850	1770	2050	1850
Sens 4	62 %	41 %	66 %	58 %	48 %	59 %	51 %	36 %	54 %
Espec 4	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %
Corte 5	2160	2700	2280	2160	2700	2280	2160	2700	2280
Sens 5	51 %	18 %	51 %	48 %	31 %	47 %	39 %	16 %	40 %
Espec 5	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %
Corte 6	3280	3830	3390	3280	3830	3390	3280	3830	3390
Sens 6	24 %	5 %	27 %	24 %	14 %	26 %	26 %	12 %	29 %
Espec 6	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %
OR Cuart 2	1,3	5,0	1,2	1,1	1,00	1,2	0,59	1,2	0,49
Valor p	0,53	0,14	0,67	0,85	1,00	0,71	0,22	0,76	0,16
IC de 95 % de	0,57	0,59	0,51	0,51	0,20	0,54	0,25	0,36	0,18

ES 2 619 617 T3

	0 h antes del estadio de IRA			24 h antes del estadio de IRA			48 h antes del estadio de IRA		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
OR Cuart 2	3,0	43	2,8	2,3	5,0	2,5	1,4	4,0	1,3
OR Cuart 3	2,5	8,1	1,8	1,8	3,7	1,5	0,59	1,6	0,91
Valor p	0,017	0,049	0,13	0,098	0,044	0,28	0,22	0,41	0,83
IC de 95 % de	1,2	1,0	0,84	0,90	1,0	0,72	0,25	0,52	0,40
OR Cuart 3	5,3	65	4,1	3,5	14	3,1	1,4	5,0	2,1
OR Cuart 4	6,4	8,1	6,2	4,3	4,1	4,4	2,0	1,2	2,0
Valor p	1,5E-7	0,049	2,9E-7	2,7E-6	0,030	4,6E-6	0,043	0,76	0,061
IC de 95 % de	3,2	1,0	3,1	2,3	1,1	2,3	1,0	0,36	0,97
OR Cuart 4	13	65	12	8,0	15	8,3	3,7	4,0	4,1

Tabla 3: comparación de los niveles de los marcadores en muestras de orina recogidas a las 12 horas tras llegar al estadio R de la Cohorte 1 (pacientes que alcanzaron, pero no progresaron más allá del estadio R de RIFLE) y de la Cohorte 2 (pacientes que alcanzaron la fase I o F de RIFLE).

	Crs o GU		Solo Crs		Solo GU	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1680	2050	1600	2430	1850	1870
Media	1830	2300	1950	2470	1950	2220
DE	1160	1540	1410	1360	1130	1550
p(prueba t)		0,0071		0,15		0,16
Mín.	151	183	151	183	168	190
Máx.	5180	6350	6400	5250	5180	6400
n (Muestra)	169	84	65	20	142	64
n (Pacientes)	169	84	65	20	142	64

	En la inclusión		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
AUC	0,58	0,62	0,53
EE	0,039	0,075	0,044
P	0,033	0,097	0,55
nCohorte 1	169	65	142
nCohorte 2	84	20	64
Corte 1	1270	1940	1270
Sens 1	70 %	70 %	70 %
Espec 1	36 %	60 %	31 %
Corte 2	945	1400	1000
Sens 2	81 %	80 %	81 %
Espec 2	23 %	38 %	22 %

ES 2 619 617 T3

Corte 3	550	842	582
Sens 3	90 %	90 %	91 %
Espec 3	13 %	26 %	10 %
Corte 4	2150	2560	2280
Sens 4	48 %	50 %	34 %
Espec 4	70 %	71 %	70 %
Corte 5	2700	2940	2770
Sens 5	32 %	35 %	23 %
Espec 5	80 %	80 %	80 %
Corte 6	3530	3790	3470
Sens 6	18 %	15 %	17 %
Espec 6	91 %	91 %	90 %
OR Cuart 2	0,93	0,63	1,4
Valor p	0,84	0,64	0,43
IC de 95 % de	0,43	0,094	0,60
OR Cuart 2	2,0	4,2	3,2
OR Cuart 3	1,0	3,7	1,1
Valor p	1,0	0,089	0,83
IC de 95 % de	0,47	0,82	0,47
OR Cuart 3	2,1	17	2,6
OR Cuart 4	1,8	2,8	1,3
Valor p	0,11	0,18	0,56
IC de 95 % de	0,87	0,61	0,55
OR Cuart 4	3,7	13	3,0

Tabla 4: comparación de los niveles máximos de los marcadores en muestras de orina recogidas de la Cohorte 1 (pacientes que no progresaron más allá del estadio 0 de RIFLE) y los valores máximos en las muestras de orina recogidas de individuos entre la inclusión y 0, 24 horas y 48 horas antes de la llegada al estadio F en la Cohorte 2.

Crs o GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1250	3410	1250	3300	1250	3210
Media	1570	3520	1570	3470	1570	3050
DE	1190	1570	1190	1580	1190	1230
p(prueba t)		3,9E-19		5,2E-18		1,6E-8
Mín.	69,2	565	69,2	565	69,2	1020
Máx.	6400	6400	6400	6400	6400	6190
n (Muestra)	259	44	259	43	259	24
n (Pacientes)	259	44	259	43	259	24

ES 2 619 617 T3

Solo Crs	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1760	3240	1760	3170	1760	3110
Media	2100	3070	2100	2930	2100	2860
DE	1470	1530	1470	1380	1470	945
p(prueba t)		0,0033		0,012		0,056
Mín.	69,2	565	69,2	565	69,2	1330
Máx.	6400	6400	6400	5080	6400	4360
n (Muestra)	467	21	467	21	467	14
n (Pacientes)	467	21	467	21	467	14

Solo GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1400	3720	1400	3600	1400	3130
Media	1790	3850	1790	3800	1790	3090
DE	1250	1590	1250	1610	1250	1400
p(prueba t)		3,0E-15		2,8E-14		3,7E-5
Mín.	113	687	113	687	113	1020
Máx.	5540	6400	5540	6400	5540	6190
n (Muestra)	223	32	223	31	223	18
n (Pacientes)	223	32	223	31	223	18

	0 h antes del estadio de IRA			24 h antes del estadio de IRA			48 h antes del estadio de IRA		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
AUC	0,84	0,69	0,85	0,83	0,68	0,84	0,83	0,71	0,78
EE	0,039	0,065	0,044	0,040	0,066	0,045	0,053	0,079	0,066
P	0	0,0035	5,6E-15	0	0,0064	7,5E-14	3,5E-10	0,0095	2,3E-5
nCohorte 1	259	467	223	259	467	223	259	467	223
nCohorte 2	44	21	32	43	21	31	24	14	18
Corte 1	2720	2210	2910	2710	2210	2800	2200	2210	2170
Sens 1	70 %	71 %	72 %	72 %	71 %	71 %	71 %	71 %	72 %
Espec 1	85 %	65 %	84 %	85 %	65 %	83 %	79 %	65 %	73 %
Corte 2	2170	1810	2470	2170	1810	2470	1810	1810	1660
Sens 2	82 %	81 %	81 %	81 %	81 %	81 %	83 %	86 %	83 %
Espec 2	79 %	52 %	77 %	79 %	52 %	77 %	70 %	52 %	58 %
Corte 3	1060	1060	1810	1060	1060	1810	1590	1590	1320
Sens 3	91 %	90 %	91 %	91 %	90 %	90 %	92 %	93 %	94 %
Espec 3	42 %	28 %	63 %	42 %	28 %	63 %	63 %	45 %	48 %

ES 2 619 617 T3

Corte 4	1860	2450	2120	1860	2450	2120	1860	2450	2120
Sens 4	84 %	67 %	88 %	84 %	67 %	87 %	79 %	64 %	72 %
Espec 4	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %
Corte 5	2270	3280	2630	2270	3280	2630	2270	3280	2630
Sens 5	77 %	43 %	78 %	77 %	38 %	77 %	67 %	36 %	67 %
Espec 5	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %
Corte 6	3260	4350	3660	3260	4350	3660	3260	4350	3660
Sens 6	57 %	19 %	50 %	53 %	19 %	48 %	46 %	7 %	22 %
Espec 6	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %
OR Cuart 2	2,0	1,0	2,0	0,99	1,0	2,0	> 1,0	> 2,0	> 2,1
Valor p	0,42	1,0	0,58	0,99	1,0	0,58	<1,0	<0,56	<0,56
IC de 95 % de	0,36	0,14	0,18	0,19	0,14	0,18	> 0,061	> 0,18	> 0,18
OR Cuart 2	11	7,2	23	5,0	7,2	23	na	na	na
OR Cuart 3	3,1	2,6	5,3	2,1	2,6	4,2	> 7,7	> 4,1	> 4,3
Valor p	0,17	0,27	0,14	0,31	0,27	0,20	<0,060	<0,21	<0,20
IC de 95 % de	0,61	0,49	0,60	0,50	0,49	0,46	> 0,92	> 0,46	> 0,46
OR Cuart 3	16	13	46	8,7	13	39	na	na	na
OR Cuart 4	27	6,5	37	17	6,5	37	> 20	> 8,5	> 15
Valor p	1,4E-5	0,015	5,1E-4	9,6E-6	0,015	5,1E-4	<0,0040	<0,045	<0,011
IC de 95 % de	6,1	1,4	4,8	4,8	1,4	4,8	>2,6	> 1,0	> 1,8
OR Cuart 4	120	30	290	57	30	290	na	na	na

Tabla 5: comparación de los niveles de los marcadores en muestras con EDTA recogidas de la Cohorte 1 (pacientes que no progresaron más allá del estadio 0 de RIFLE) y en muestras con EDTA recogidas de individuos a las 0, 24 horas y 48 horas antes de llegar al estadio R, I o F en la Cohorte 2.

Crs o GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	284	335	284	331	284	428
Media	501	570	501	708	501	930
DE	627	641	627	839	627	999
p(prueba t)		0,43		0,053		0,021
Mín.	86,8	74,7	86,8	63,6	86,8	132
Máx.	3370	3170	3370	3200	3370	3200
n (Muestra)	162	77	162	56	162	14
n (Pacientes)	90	77	90	56	90	14

ES 2 619 617 T3

Solo Crs	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	290	350	290	573	290	309
Media	619	505	619	540	619	374
DE	764	488	764	251	764	269
p(prueba t)		0,50		0,71		0,43
Mín.	48,0	105	48,0	183	48,0	112
Máx.	3370	2060	3370	1020	3370	832
n (Muestra)	378	21	378	13	378	6
n (Pacientes)	178	21	178	13	178	6

Solo GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	323	384	323	330	323	499
Media	544	626	544	724	544	1070
DE	603	688	603	863	603	1080
p(prueba t)		0,36		0,075		0,0012
Mín.	86,8	74,7	86,8	63,6	86,8	132
Máx.	3370	3170	3370	3200	3370	3200
n (Muestra)	187	66	187	59	187	18
n (Pacientes)	94	66	94	59	94	18

	0 h antes del estadio de IRA			24 h antes del estadio de IRA			48 h antes del estadio de IRA		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
AUC	0,56	0,52	0,54	0,57	0,65	0,53	0,65	0,45	0,65
EE	0,040	0,066	0,042	0,045	0,084	0,044	0,082	0,12	0,073
P	0,16	0,73	0,33	0,12	0,077	0,56	0,070	0,70	0,039
nCohorte 1	162	378	187	162	378	187	162	378	187
nCohorte 2	77	21	66	56	13	59	14	6	18
Corte 1	246	280	248	217	326	217	317	156	317
Sens 1	70 %	71 %	71 %	71 %	77 %	71 %	71 %	83 %	72 %
Espec 1	40 %	47 %	36 %	33 %	55 %	28 %	55 %	15 %	49 %
Corte 2	198	194	217	190	318	190	182	156	212
Sens 2	81 %	81 %	80 %	80 %	85 %	81 %	86 %	83 %	83 %
Espec 2	28 %	25 %	28 %	27 %	53 %	22 %	26 %	15 %	27 %

ES 2 619 617 T3

Corte 3	124	124	141	150	232	141	168	111	168
Sens 3	91 %	90 %	91 %	91 %	92 %	92 %	93 %	100 %	94 %
Espec 3	10 %	8 %	12 %	17 %	35 %	12 %	23 %	4 %	19 %
Corte 4	409	491	501	409	491	501	409	491	501
Sens 4	40 %	33 %	29 %	48 %	54 %	36 %	50 %	33 %	50 %
Espec 4	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %
Corte 5	578	833	751	578	833	751	578	833	751
Sens 5	25 %	14 %	26 %	32 %	15 %	24 %	43 %	0 %	44 %
Espec 5	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %
Corte 6	1030	1820	1320	1030	1820	1320	1030	1820	1320
Sens 6	12 %	5 %	12 %	20 %	0 %	20 %	29 %	0 %	28 %
Espec 6	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %
OR Cuart 2	1,4	0,73	1,4	1,5	0,99	0,89	1,0	2,0	1,0
Valor p	0,45	0,69	0,40	0,40	0,99	0,79	1,0	0,57	1,0
IC de 95 % de	0,61	0,16	0,62	0,60	0,061	0,39	0,13	0,18	0,19
OR Cuart 2	3,0	3,4	3,2	3,6	16	2,1	7,4	23	5,2
OR Cuart 3	1,6	2,3	1,5	1,0	5,2	0,83	2,1	1,0	1,4
Valor p	0,26	0,17	0,30	1,0	0,14	0,67	0,41	1,0	0,70
IC de 95 % de	0,72	0,70	0,68	0,39	0,59	0,36	0,36	0,062	0,29
OR Cuart 3	3,5	7,9	3,5	2,6	45	1,9	12	16	6,4
OR Cuart 4	1,7	1,2	1,5	2,1	6,3	1,2	3,3	2,0	2,9
Valor p	0,19	0,75	0,33	0,10	0,092	0,72	0,16	0,57	0,13
IC de 95 % de	0,77	0,33	0,66	0,87	0,74	0,52	0,63	0,18	0,73
OR Cuart 4	3,7	4,8	3,4	4,9	53	2,6	17	23	12

Tabla 6: comparación de los niveles de los marcadores en muestras con EDTA recogidas de la Cohorte 1 (pacientes que no progresaron más allá del estadio 0 o R de RIFLE) y en muestras con EDTA recogidas de individuos a las 0, 24 horas y 48 horas antes de llegar al estadio I o F en la Cohorte 2.

Crs o GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	317	318	317	318	317	524
Media	581	651	581	739	581	729
DE	680	806	680	882	680	794
p(prueba t)		0,61		0,19		0,36
Mín.	74,7	113	74,7	48,0	74,7	112
Máx.	3370	2880	3370	3200	3370	2810
n (Muestra)	357	28	357	37	357	19
n (Pacientes)	179	28	179	37	179	19

ES 2 619 617 T3

Solo Crs	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	nd	nd	nd	nd	333	469
Media	nd	nd	nd	nd	647	452
DE	nd	nd	nd	nd	751	285
p(prueba t)	nd	nd	nd	nd		0,53
Mín.	nd	nd	nd	nd	48,0	112
Máx.	nd	nd	nd	nd	3370	832
n (Muestra)	nd	nd	nd	nd	477	6
n (Pacientes)	nd	nd	nd	nd	216	6

Solo GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	325	303	325	314	325	524
Media	586	638	586	745	586	760
DE	671	810	671	893	671	827
p(prueba t)		0,70		0,19		0,30
Mín.	74,7	113	74,7	48,0	74,7	119
Máx.	3370	2880	3370	3200	3370	2810
n (Muestra)	347	28	347	36	347	17
n (Pacientes)	167	28	167	36	167	17

	0 h antes del estadio de IRA			24 h antes del estadio de IRA			48 h antes del estadio de IRA		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
AUC	0,52	nd	0,49	0,54	nd	0,52	0,54	0,50	0,55
EE	0,057	nd	0,057	0,051	nd	0,051	0,069	0,12	0,073
P	0,76	nd	0,89	0,48	nd	0,67	0,54	0,97	0,53
nCohorte 1	357	nd	347	357	nd	347	357	477	347
nCohorte 2	28	nd	28	37	nd	36	19	6	17
Corte 1	246	nd	246	228	nd	227	184	194	194
Sens 1	71 %	nd	71 %	70 %	nd	72 %	74 %	83 %	71 %
Espec 1	37 %	nd	35 %	33 %	nd	31 %	22 %	23 %	22 %
Corte 2	168	nd	168	191	nd	191	141	194	183
Sens 2	82 %	nd	82 %	81 %	nd	81 %	84 %	83 %	82 %
Espec 2	19 %	nd	17 %	24 %	nd	22 %	13 %	23 %	20 %
Corte 3	141	nd	141	112	nd	111	118	111	128
Sens 3	93 %	nd	93 %	92 %	nd	92 %	95 %	100 %	94 %
Espec 3	13 %	nd	11 %	4 %	nd	3 %	6 %	4 %	8 %

ES 2 619 617 T3

Corte 4	502	nd	512	502	nd	512	502	535	512
Sens 4	29 %	nd	25 %	41 %	nd	42 %	53 %	50 %	53 %
Espec 4	70 %	nd	70 %	70 %	nd	70 %	70 %	70 %	70 %
Corte 5	833	nd	841	833	nd	841	833	940	841
Sens 5	18 %	nd	18 %	24 %	nd	25 %	21 %	0 %	24 %
Espec 5	80 %	nd	80 %	80 %	nd	80 %	80 %	80 %	80 %
Corte 6	1410	nd	1400	1410	nd	1400	1410	1860	1400
Sens 6	14 %	nd	14 %	19 %	nd	19 %	16 %	0 %	18 %
Espec 6	90 %	nd	90 %	90 %	nd	90 %	90 %	90 %	90 %
OR Cuart 2	1,0	nd	1,2	0,99	nd	1,2	0,32	2,0	0,32
Valor p	1,0	nd	0,77	0,98	nd	0,65	0,17	0,57	0,17
IC de 95 % de	0,34	nd	0,38	0,38	nd	0,49	0,063	0,18	0,063
OR Cuart 2	3,0	nd	3,7	2,6	nd	3,1	1,6	23	1,6
OR Cuart 3	1,0	nd	1,4	0,88	nd	0,64	0,65	1,0	0,65
Valor p	1,0	nd	0,58	0,80	nd	0,41	0,52	1,0	0,52
IC de 95 % de	0,34	nd	0,45	0,32	nd	0,22	0,18	0,062	0,18
OR Cuart 3	3,0	nd	4,1	2,4	nd	1,9	2,4	16	2,4
OR Cuart 4	0,99	nd	1,2	1,2	nd	1,1	1,2	2,0	0,82
Valor p	0,98	nd	0,76	0,65	nd	0,83	0,77	0,56	0,76
IC de 95 % de	0,33	nd	0,39	0,49	nd	0,43	0,38	0,18	0,24
OR Cuart 4	2,9	nd	3,7	3,1	nd	2,9	3,7	23	2,8

Tabla 7: comparación de los niveles de los marcadores en muestras con EDTA recogidas a las 12 horas de llegar al estadio R de la Cohorte 1 (pacientes que alcanzaron, pero no avanzaron más allá del estadio R de RIFLE) y de la Cohorte 2 (pacientes que alcanzaron el estadio I o F de RIFLE).

	Crs o GU		Solo Crs		Solo GU	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	316	336	nd	nd	335	348
Media	608	776	nd	nd	591	728
DE	666	936	nd	nd	664	883
p(prueba t)		0,32	nd	nd		0,45
Mín.	74,7	110	nd	nd	74,7	110
Máx.	3200	3170	nd	nd	3200	3170
n (Muestra)	67	30	nd	nd	51	26
n (Pacientes)	67	30	nd	nd	51	26

ES 2 619 617 T3

	En la inclusión		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
AUC	0,53	nd	0,52
EE	0,064	nd	0,070
P	0,65	nd	0,75
nCohorte 1	67	nd	51
nCohorte 2	30	nd	26
Corte 1	262	nd	219
Sens 1	70 %	nd	73 %
Espec 1	39 %	nd	27 %
Corte 2	194	nd	186
Sens 2	80 %	nd	81 %
Espec 2	19 %	nd	18 %
Corte 3	173	nd	159
Sens 3	90 %	nd	92 %
Espec 3	19 %	nd	18 %
Corte 4	685	nd	538
Sens 4	27 %	nd	27 %
Espec 4	70 %	nd	71 %
Corte 5	900	nd	849
Sens 5	27 %	nd	23 %
Espec 5	81 %	nd	80 %
Corte 6	1410	nd	1200
Sens 6	20 %	nd	19 %
Espec 6	91 %	nd	90 %
OR Cuart 2	1,0	nd	1,3
Valor p	1,0	nd	0,73
IC de 95 % de	0,29	nd	0,33
OR Cuart 2	3,5	nd	4,8
OR Cuart 3	1,2	nd	1,3
Valor p	0,76	nd	0,73
IC de 95 % de	0,36	nd	0,33
OR Cuart 3	4,1	nd	4,8
OR Cuart 4	1,1	nd	0,93
Valor p	0,83	nd	0,91
IC de 95 % de	0,34	nd	0,24
OR Cuart 4	3,9	nd	3,6

Tabla 8: comparación de los niveles máximos de marcadores en muestras con EDTA recogidas de la Cohorte 1 (pacientes que no progresaron más allá del estadio 0 de RIFLE) y los valores máximos en las muestras con EDTA recogidas de individuos entre la inclusión y 0, 24 horas y 48 horas antes de la llegar al estadio F en la Cohorte 2.

ES 2 619 617 T3

Crs o GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	345	698	345	698	345	663
Media	612	1270	612	1090	612	578
DE	733	1050	733	877	733	270
p(prueba t)		0,0093		0,047		0,91
Mín.	86,8	231	86,8	231	86,8	231
Máx.	3370	3200	3370	3200	3370	932
n (Muestra)	90	11	90	11	90	6
n (Pacientes)	90	11	90	11	90	6

Solo Crs	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	338	655	338	655	338	655
Media	707	576	707	576	707	576
DE	844	270	844	270	844	270
p(prueba t)		0,70		0,70		0,70
Mín.	86,8	231	86,8	231	86,8	231
Máx.	3370	932	3370	932	3370	932
n (Muestra)	178	6	178	6	178	6
n (Pacientes)	178	6	178	6	178	6

Solo GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	355	1390	355	1280	nd	nd
Media	632	1680	632	1410	nd	nd
DE	702	1110	702	948	nd	nd
p(prueba t)		4,0E-4		0,0068	nd	nd
Mín.	86,8	618	86,8	618	nd	nd
Máx.	3370	3200	3370	3200	nd	nd
n (Muestra)	94	7	94	7	nd	nd
n (Pacientes)	94	7	94	7	nd	nd

ES 2 619 617 T3

	0 h antes del estadio de IRA			24 h antes del estadio de IRA			48 h antes del estadio de IRA		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
AUC	0,76	0,62	0,85	0,75	0,62	0,83	0,64	0,62	nd
EE	0,087	0,12	0,093	0,088	0,12	0,097	0,13	0,12	nd
P	0,0029	0,35	1,8E-4	0,0046	0,35	7,3E-4	0,25	0,35	nd
nCohorte 1	90	178	94	90	178	94	90	178	nd
nCohorte 2	11	6	7	11	6	7	6	6	nd
Corte 1	626	280	689	626	280	689	278	280	nd
Sens 1	73 %	83 %	71 %	73 %	83 %	71 %	83 %	83 %	nd
Espec 1	74 %	43 %	74 %	74 %	43 %	74 %	42 %	43 %	nd
Corte 2	591	280	626	591	280	626	278	280	nd
Sens 2	82 %	83 %	86 %	82 %	83 %	86 %	83 %	83 %	nd
Espec 2	73 %	43 %	71 %	73 %	43 %	71 %	42 %	43 %	nd
Corte 3	278	228	591	278	228	591	228	228	nd
Sens 3	91 %	100 %	100 %	91 %	100 %	100 %	100 %	100 %	nd
Espec 3	42 %	30 %	70 %	42 %	30 %	70 %	34 %	30 %	nd
Corte 4	475	578	591	475	578	591	475	578	nd
Sens 4	82 %	67 %	100 %	82 %	67 %	100 %	67 %	67 %	nd
Espec 4	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	nd
Corte 5	754	946	933	754	946	933	754	946	nd
Sens 5	45 %	0 %	57 %	45 %	0 %	57 %	17 %	0 %	nd
Espec 5	80 %	80 %	81 %	80 %	80 %	81 %	80 %	80 %	nd
Corte 6	1660	2040	1810	1660	2040	1810	1660	2040	nd
Sens 6	27 %	0 %	43 %	18 %	0 %	29 %	0 %	0 %	nd
Espec 6	90 %	90 %	91 %	90 %	90 %	91 %	90 %	90 %	nd
OR Cuart 2	> 2,2	> 2,1	> 0	> 2,2	> 2,1	> 0	> 2,2	> 2,1	nd
Valor p	< 0,54	< 0,55	< na	< 0,54	< 0,55	< na	< 0,54	< 0,55	nd
IC de 95 % de	> 0,18	> 0,18	> na	> 0,18	> 0,18	> na	> 0,18	> 0,18	nd
OR Cuart 2	na	na	na	na	na	na	na	na	nd
OR Cuart 3	> 4,8	> 3,2	> 3,4	> 4,8	> 3,2	> 3,4	> 1,0	> 3,2	nd
Valor p	< 0,18	< 0,32	< 0,30	< 0,18	< 0,32	< 0,30	< 0,98	< 0,32	nd
IC de 95 % de	> 0,49	> 0,32	> 0,33	> 0,49	> 0,32	> 0,33	> 0,062	> 0,32	nd
OR Cuart 3	na	na	na	na	na	na	na	na	nd
OR Cuart 4	> 6,0 > 1,0		> 4,5	> 6,0	> 1,0	> 4,5	> 3,4	> 1,0	nd
Valor p	< 0,12	< 0,99	< 0,19	< 0,12	< 0,99	< 0,19	< 0,30	< 0,99	nd
IC de 95 % de	> 0,64	> 0,062	> 0,47	> 0,64	> 0,062	> 0,47	> 0,33	> 0,062	nd
OR Cuart 4	na	na	na	na	na	na	na	na	nd

Tabla 9: comparación de los niveles de marcadores en muestras de orina recogidas de la Cohorte 1 (pacientes que no progresaron más allá del estadio 0, R o I de RIFLE) y en muestras de orina recogidas de la Cohorte 2 (individuos

## ES 2 619 617 T3

que progresan al estadio F de RIFLE) a las 0, 24 horas y 48 horas antes de que el individuo llegue al estadio I de RIFLE.

Crs o GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1300	2590	1300	3200	1300	2010
Media	1670	2900	1670	3320	1670	2430
DE	1300	1820	1300	1750	1300	1860
p(prueba t)		1,9E-7		4,1E-11		0,020
Mín.	41,6	390	41,6	687	41,6	81,2
Máx.	6400	6400	6400	6400	6400	6190
n (Muestra)	1703	31	1703	28	1703	16
n (Pacientes)	580	31	580	28	580	16

Solo Crs	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1360	2480	1360	2500	1360	1880
Media	1750	2480	1750	2860	1750	2240
DE	1390	1900	1390	1150	1390	1120
p(prueba t)		0,083		0,012		0,30
Mín.	41,6	565	41,6	1430	41,6	1040
Máx.	6400	6400	6400	5000	6400	4360
n (Muestra)	1782	11	1782	10	1782	9
n (Pacientes)	600	11	600	10	600	9

Solo GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1380	3210	1380	3220	1380	3480
Media	1720	3380	1720	3530	1720	3040
DE	1300	1950	1300	1930	1300	2330
p(prueba t)		2,4E-8		1,1E-11		0,0045
Mín.	41,6	390	41,6	687	41,6	379
Máx.	6400	6400	6400	6400	6400	6190
n (Muestra)	1587	20	1587	25	1587	8
n (Pacientes)	499	20	499	25	499	8

ES 2 619 617 T3

	0 h antes del estadio de IRA			24 h antes del estadio de IRA			48 h antes del estadio de IRA		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
AUC	0,71	0,62	0,75	0,78	0,78	0,78	0,61	0,67	0,63
EE	0,053	0,091	0,063	0,052	0,087	0,055	0,075	0,100	0,11
P	7,5E-5	0,20	7,1E-5	4,9E-8	0,0015	5,5E-7	0,14	0,097	0,22
nCohorte 1	1703	1782	1587	1703	1782	1587	1703	1782	1587
nCohorte 2	31	11	20	28	10	25	16	9	8
Corte 1	1660	1070	2470	2450	2270	2450	1040	1420	480
Sens 1	71 %	73 %	70 %	71 %	70 %	72 %	75 %	78 %	75 %
Espec 1	62 %	40 %	78 %	79 %	74 %	78 %	39 %	52 %	14 %
Corte 2	1030	934	1660	1440	2010	1540	480	1310	471
Sens 2	81 %	82 %	80 %	82 %	80 %	80 %	81 %	89 %	88 %
Espec 2	39 %	34 %	60 %	55 %	68 %	56 %	15 %	49 %	13 %
Corte 3	874	577	874	819	1960	808	378	1040	378
Sens 3	90 %	91 %	90 %	93 %	90 %	92 %	94 %	100 %	100 %
Espec 3	32 %	19 %	30 %	30 %	67 %	28 %	10 %	38 %	9 %
Corte 4	1990	2070	2050	1990	2070	2050	1990	2070	2050
Sens 4	65 %	55 %	70 %	75 %	70 %	76 %	50 %	44 %	62 %
Espec 4	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %	70 %
Corte 5	2560	2710	2650	2560	2710	2650	2560	2710	2650
Sens 5	52 %	36 %	55 %	61 %	40 %	64 %	38 %	22 %	62 %
Espec 5	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %	80 %
Corte 6	3620	3850	3690	3620	3850	3690	3620	3850	3690
Sens 6	29 %	18 %	45 %	39 %	20 %	48 %	25 %	11 %	38 %
Espec 6	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %	90 %
OR Cuart 2	1,7	1,0	3,0	2,0	> 0	4,0	0,25	> 2,0	0
Valor p	0,48	1,0	0,34	0,57	< na	0,21	0,21	< 0,57	na
IC de 95 % de	0,40	0,14	0,31	0,18	> na	0,45	0,028	> 0,18	na
OR Cuart 2	7,0	7,1	29	22	na	36	2,2	na	na
OR Cuart 3	1,3	0,50	2,0	5,0	> 4,0	2,0	1,00	> 4,0	0
Valor p	0,71	0,57	0,57	0,14	< 0,21	0,57	1,00	< 0,21	na
IC de 95 % de	0,30	0,045	0,18	0,59	> 0,45	0,18	0,25	> 0,45	na
OR Cuart 3	6,0	5,5	22	43	na	22	4,0	na	na
OR Cuart 4	6,6	3,0	14	21	> 6,1	19	1,8	> 3,0	1,7
Valor p	0,0026	0,18	0,010	0,0031	0,095	0,0044	0,37	< 0,34	0,48
IC de 95 % de	1,9	0,61	1,9	2,8	> 0,73	2,5	0,51	> 0,31	0,40
OR Cuart 4	22	15	110	160	na	140	6,1	na	7,0

Tabla 10: comparación de los niveles de los marcadores en muestras con EDTA recogidas de la Cohorte 1 (pacientes que no progresaron más allá del estadio 0, R o I de RIFLE) y en muestras con EDTA recogidas de la

## ES 2 619 617 T3

Cohorte 2 (individuos que progresan al estadio F de RIFLE) a 0, las 24 horas y 48 horas antes de que el individuo llegue al estadio I de RIFLE.

Crs o GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	nd	nd	326	618	nd	nd
Media	nd	nd	606	1130	nd	nd
DE	nd	nd	706	1140	nd	nd
p(prueba t)	nd	nd		0,054	nd	nd
Mín.	nd	nd	48,0	190	nd	nd
Máx.	nd	nd	3370	3200	nd	nd
n (Muestra)	nd	nd	489	7	nd	nd
n (Pacientes)	nd	nd	222	7	nd	nd

Solo GU	0 h antes del estadio de IRA		24 h antes del estadio de IRA		48 h antes del estadio de IRA	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	nd	nd	326	1000	nd	nd
Media	nd	nd	604	1340	nd	nd
DE	nd	nd	698	1110	nd	nd
p(prueba t)	nd	nd		0,011	nd	nd
Mín.	nd	nd	48,0	279	nd	nd
Máx.	nd	nd	3370	3200	nd	nd
n (Muestra)	nd	nd	485	6	nd	nd
n (Pacientes)	nd	nd	208	6	nd	nd

	0 h antes del estadio de IRA			24 h antes del estadio de IRA			48 h antes del estadio de IRA		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
AUC	nd	nd	nd	0,64	nd	0,78	nd	nd	nd
EE	nd	nd	nd	0,11	nd	0,11	nd	nd	nd
P	nd	nd	nd	0,21	nd	0,012	nd	nd	nd
nCohorte 1	nd	nd	nd	489	nd	485	nd	nd	nd
nCohorte 2	nd	nd	nd	7	nd	6	nd	nd	nd
Corte 1	nd	nd	nd	278	nd	560	nd	nd	nd
Sens 1	nd	nd	nd	71 %	nd	83 %	nd	nd	nd
Espec 1	nd	nd	nd	42 %	nd	73 %	nd	nd	nd
Corte 2	nd	nd	nd	228	nd	560	nd	nd	nd
Sens 2	nd	nd	nd	86 %	nd	83 %	nd	nd	nd
Espec 2	nd	nd	nd	31 %	nd	73 %	nd	nd	nd

ES 2 619 617 T3

Corte 3	nd	nd	nd	190	nd	278	nd	nd	nd
Sens 3	nd	nd	nd	100 %	nd	100 %	nd	nd	nd
Espec 3	nd	nd	nd	22 %	nd	42 %	nd	nd	nd
Corte 4	nd	nd	nd	515	nd	518	nd	nd	nd
Sens 4	nd	nd	nd	57 %	nd	83 %	nd	nd	nd
Espec 4	nd	nd	nd	70 %	nd	70 %	nd	nd	nd
Corte 5	nd	nd	nd	845	nd	833	nd	nd	nd
Sens 5	nd	nd	nd	43 %	nd	50 %	nd	nd	nd
Espec 5	nd	nd	nd	80 %	nd	80 %	nd	nd	nd
Corte 6	nd	nd	nd	1670	nd	1660	nd	nd	nd
Sens 6	nd	nd	nd	29 %	nd	33 %	nd	nd	nd
Espec 6	nd	nd	nd	90 %	nd	90 %	nd	nd	nd
OR Cuart 2	nd	nd	nd	2,0	nd	> 1,0	nd	nd	nd
Valor p	nd	nd	nd	0,57	nd	1,0	nd	nd	nd
IC de 95 % de	nd	nd	nd	0,18	nd	> 0,062	nd	nd	nd
OR Cuart 2	nd	nd	nd	23	nd	na	nd	nd	nd
OR Cuart 3	nd	nd	nd	1,0	nd	> 2,0	nd	nd	nd
Valor p	nd	nd	nd	1,0	nd	< 0,57	nd	nd	nd
IC de 95 % de	nd	nd	nd	0,062	nd	> 0,18	nd	nd	nd
OR Cuart 3	nd	nd	nd	16	nd	na	nd	nd	nd
OR Cuart 4	nd	nd	nd	3,0	nd	> 3,0	nd	nd	nd
Valor p	nd	nd	nd	0,34	nd	< 0,34	nd	nd	nd
IC de 95 % de	nd	nd	nd	0,31	nd	> 0,31	nd	nd	nd
OR Cuart 4	nd	nd	nd	30	nd	na	nd	nd	nd

Tabla 11: comparación de los niveles de los marcadores en muestras de orina recogidas de la Cohorte 1 en la inclusión (pacientes que no progresaron más allá del estadio 0 o R de RIFLE en 48 horas) y en muestras de orina recogidas de la Cohorte 2 en la inclusión (individuos que alcanzan el estadio I o F de RIFLE en 48 horas). Las muestras de la inclusión de los pacientes que ya estaban en el estadio I o F de RIFLE se incluyeron en la Cohorte 2.

	Crs o GU		Solo Crs		Solo GU	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	1170	2300	1260	2800	1220	2220
Media	1480	2660	1680	2830	1560	2680
DE	1160	1770	1360	1780	1180	1810
p(prueba t)		2,1E-18		2,0E-5		3,6E-14
Mín.	41,6	81,2	41,6	197	41,6	81,2
Máx.	6300	6400	6400	6390	5430	6400
n (Muestra)	484	129	576	28	406	110
n (Pacientes)	484	129	576	28	406	110

ES 2 619 617 T3

	En la inclusión		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
AUC	0,70	0,69	0,69
EE	0,028	0,057	0,030
P	3,5E-13	7,6E-4	6,8E-10
nCohorte 1	484	576	406
nCohorte 2	129	28	110
Corte 1	1380	1450	1380
Sens 1	71 %	71 %	70 %
Espec 1	58 %	57 %	56 %
Corte 2	886	808	949
Sens 2	81 %	82 %	80 %
Espec 2	38 %	32 %	38 %
Corte 3	616	551	674
Sens 3	91 %	93 %	90 %
Espec 3	24 %	19 %	25 %
Corte 4	1760	1990	1880
Sens 4	59 %	68 %	57 %
Espec 4	70 %	70 %	70 %
Corte 5	2280	2660	2440
Sens 5	50 %	61 %	46 %
Espec 5	80 %	80 %	80 %
Corte 6	3190	3790	3310
Sens 6	36 %	29 %	34 %
Espec 6	90 %	90 %	90 %
OR Cuart 2	1,1	0,39	1,1
Valor p	0,86	0,27	0,85
IC de 95 % de	0,53	0,075	0,52
OR Cuart 2	2,2	2,1	2,2
OR Cuart 3	2,0	0,79	1,9
Valor p	0,030	0,74	0,069
IC de 95 % de	1,1	0,21	0,95
OR Cuart 3	3,9	3,0	3,7

ES 2 619 617 T3

OR Cuart 4	5,5	3,7	4,5
Valor p	2,0E-8	0,012	3,4E-6
IC de 95 % de	3,0	1,3	2,4
OR Cuart 4	10	10	8,4

Tabla 12: comparación de los niveles de los marcadores en muestras con EDTA recogidas de la Cohorte 1 en la inclusión (pacientes que no progresaron más allá del estadio 0 o R de RIFLE en 48 horas) y en muestras con EDTA de recogidas de la Cohorte 2 en la inclusión (individuos que alcanzan el nivel I o F de RIFLE en 48 horas). Las muestras de la inclusión de los pacientes que ya estaban en el estadio I o F se incluyeron en la Cohorte 2.

	Crs o GU		Solo Crs		Solo GU	
	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2	Cohorte 1	Cohorte 2
Mediana	309	266	nd	nd	354	247
Media	651	674	nd	nd	647	679
DE	791	841	nd	nd	774	856
p(prueba t)		0,89	nd	nd		0,85
Mín.	76,0	48,0	nd	nd	76,0	48,0
Máx.	3350	3200	nd	nd	3350	3200
n (Muestra)	140	29	nd	nd	133	28
n (Pacientes)	140	29	nd	nd	133	28

ES 2 619 617 T3

	En la inclusión		
	Crs o GU	Solo Crs	Solo GU
AUC	0,48	nd	0,47
EE	0,059	nd	0,061
P	0,79	nd	0,61
nCohorte 1	140	nd	133
nCohorte 2	29	nd	28
Corte 1	184	nd	184
Sens 1	72 %	nd	71 %
Espec 1	23 %	nd	21 %
Corte 2	140	nd	140
Sens 2	83 %	nd	82 %
Espec 2	14 %	nd	11 %
Corte 3	93,7	nd	93,7
Sens 3	93 %	nd	93 %
Espec 3	3 %	nd	3 %
Corte 4	517	nd	538
Sens 4	41 %	nd	36 %
Espec 4	70 %	nd	71 %
Corte 5	882	nd	882
Sens 5	21 %	nd	21 %
Espec 5	80 %	nd	80 %
Corte 6	1860	nd	1860
Sens 6	10 %	nd	11 %
Espec 6	90 %	nd	90 %
OR Cuart 2	1,5	nd	1,2
Valor p	0,53	nd	0,73
IC de 95 % de	0,46	nd	0,38
OR Cuart 2	4,6	nd	4,1
OR Cuart 3	1,0	nd	1,0
Valor p	0,96	nd	0,96
IC de 95 % de	0,30	nd	0,30
OR Cuart 3	3,5	nd	3,5
OR Cuart 4	1,7	nd	1,7
Valor p	0,37	nd	0,37
IC de 95 % de	0,54	nd	0,54
OR Cuart 4	5,2	nd	5,3

**Publicaciones:**

1. Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, Schetz M, Tan I, Bouman C, Macedo E, Gibney N, Tolwani A, Ronco C: Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study, *Jama* 2005,294:813-818.
- 5 2. Manns B, Doig CJ, Lee H, Dean S, Tonelli M, Johnson D, Donaldson C: Cost of acute renal failure requiring dialysis in the intensive care unit: clinical and resource implications of renal recovery, *Crit Care Med* 2003, 31:449-455.
3. Hansell P, Goransson V, Odlind C, Gerdin B, Hallgren R: Hyaluronan content in the kidney in different states of body hydration, *Kidney Int* 2000, 58:2061-2068.
- 10 4. Sibalic V, Fan X, Loffing J, Wuthrich RP: Upregulated renal tubular CD44, hyaluronan, and osteopontin in kdkd mice with interstitial nephritis, *Nephrol Dial Transplant* 1997, 12:1344-1353.
5. Lewington AJ, Padanilam BJ, Martin DR, Hammerman MR: Expression of CD44 in kidney after acute ischemic injury in rats, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000, 278:R247-254.
- 15 6. Sano N, Kitazawa K, Sugisaki T: Localization and roles of CD44, hyaluronic acid and osteopontin in IgA nephropathy, *Nephron* 2001, 89:416-421.
7. Melin J, Hellberg O, Funa K, Hallgren R, Larsson E, Fellstrom BC: Ischemia-induced renal expression of hyaluronan and CD44 in diabetic rats, *Nephron Exp Nephrol* 2006, 103:e86-94.
8. Yang J, Liu Y: Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis, *Am J Pathol* 2001, 159:1465-1475.
- 20 9. Okajima K: Regulation of inflammatory responses by natural anticoagulants, *Immunol Rev* 2001, 184:258-274.
10. Wang X, Huang G, Mei S, Qian J, Ji J, Zhang J: Over-expression of C/EBP-alpha induces apoptosis in cultured rat hepatic stellate cells depending on p53 and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, *Biochem Biophys Res Commun* 2009, 380:286-291.
- 25 11. Takeda K, Kojima Y, Ikejima K, Harada K, Yamashina S, Okumura K, Aoyama T, Frese S, Ikeda H, Haynes NM, Cretney E, Yagita H, Sueyoshi N, Sato N, Nakanuma Y, Smyth MJ, Okumura K: Death receptor 5 mediated-apoptosis contributes to cholestatic liver disease, *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008, 105:10895-10900.
12. Wolf G: Renal injury due to renin-angiotensin-aldosterone system activation of the transforming growth factor-beta pathway, *Kidney Int* 2006, 70:1914-1919.
- 30 13. Basile DP: The endothelial cell in ischemic acute kidney injury: implications for acute and chronic function, *Kidney Int* 2007, 72:151-156.
14. Hvidberg V, Jacobsen C, Strong RK, Cowland JB, Moestrup SK, Borregaard N: The endocytic receptor megalin binds the iron transporting neutrophil-gelatinase-associated lipocalin with high affinity and mediates its cellular uptake, *FEBS Lett* 2005, 579:773-777.
- 35 15. Mori K, Nakao K: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage, *Kidney Int* 2007, 71:967-970.
16. Mori K, Lee HT, Rapoport D, Drexler IR, Foster K, Yang J, Schmidt- Ott KM, Chen X, Li JY, Weiss S, Mishra J, Cheema FH, Markowitz G, Suganami T, Sawai K, Mukoyama M, Kunis C, DAgati V, Devarajan P, Barasch J: Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury, *J Clin Invest* 2005, 115:610-621.
- 40 17. Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, Sise ME, Canetta PA, Barasch N, Buchen C, Khan F, Mori K, Giglio J, Devarajan P, Barasch J: Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury, *Ann Intern Med* 2008, 148:810-819.
18. Palevsky PM, Zhang JH, O'Connor TZ, Chertow GM, Crowley ST, Choudhury D, Finkel K, Kellum JA, Paganini E, Schein RM, Smith MW, Swanson KM, Thompson BT, Vijayan A, Watnick S, Star RA, Peduzzi P: Intensity of renal support in critically ill patients with acute kidney injury, *N Engl J Med* 2008, 359:7-20.
- 45 19. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. 1992, *Chest* 2009, 136:e28.
- 50 20. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P: Acute renal failure - definition, outcome measures,

animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group, Crit Care 2004, 8:R204-212.

21. Ronco P, Lelongt B, Piedagnel R, Chatziantoniou C: Matrix metalloproteinases in kidney disease progression and repair: a case of flipping the coin, Semin Nephrol 2007, 27:352-362.

**REIVINDICACIONES**

1.Procedimiento para evaluar el estado renal en un individuo que no recibe terapia de sustitución renal, que comprende:

5 realizar uno o más ensayos configurados para detectar uno o más biomarcadores, comprendiendo dichos biomarcadores el ácido hialurónico (AH), en una muestra de fluido corporal obtenida del individuo para proporcionar uno o más resultados de los ensayos; y

10 correlacionar el resultado o resultados de los ensayos con una o más estratificaciones del riesgo para identificar individuos en riesgo de un futuro deterioro de la función renal, de una futura progresión a una reducción de la función renal, de una futura progresión a IRA y realizar un pronóstico de la estado renal del individuo, en el que el individuo no sufre de insuficiencia renal aguda y en el que el individuo (i) no ha experimentado un aumento de 1,5 veces o más en el nivel de creatinina sérica sobre un valor basal determinado antes del momento en el que se obtiene la muestra de fluido corporal, y/o (iii) no ha experimentado un aumento de 0,3 mg/dl o más en el nivel de creatinina sérica sobre un valor basal determinado antes del momento en el que se obtiene la muestra de fluido corporal.

2.Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el individuo está en el estadio 0 de RIFLE.

15 3.Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el individuo está en el estadio 0 de RIFLE, y dicha etapa de correlacionar comprende asignar una probabilidad de que el individuo alcance el estadio R, I o F de RIFLE en las 72 horas, las 48 horas o las 24 horas siguientes,

20 en el que dicho resultado o resultados de los ensayos comprenden opcionalmente una concentración de AH medida en la orina y dicha etapa de correlacionar comprende comparar dicha concentración medida con una concentración umbral, y

asignar una mayor probabilidad de progresar al estadio R, I o F de RIFLE al individuo, cuando la concentración medida es superior al umbral, o asignar una menor probabilidad de progresar al estadio R, I o F de RIFLE al individuo cuando la concentración medida está por debajo del umbral.

25 4.Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el individuo está en el estadio 0 de RIFLE, y dicha etapa de correlacionar comprende asignar una probabilidad de que el individuo alcance el estadio I o F de RIFLE en las 72 horas, las 48 horas o las 24 horas siguientes, en el que

(i) dicho resultado o resultados del ensayo comprenden opcionalmente una concentración de AH medida en la orina y dicha etapa de correlacionar comprende comparar dicha concentración medida con una concentración umbral, y

30 asignar una mayor probabilidad de progresar al estadio I o F de RIFLE al individuo, cuando la concentración medida es superior al umbral, o asignar una menor probabilidad de progresar al estadio I o F de RIFLE al individuo cuando la concentración medida es inferior al umbral o

(ii) el individuo está opcionalmente en el estadio 0 de RIFLE, y dicha etapa de correlacionar comprende asignar una probabilidad de que el individuo alcance el estadio F de RIFLE en las 72 horas, las 48 horas o las 24 horas siguientes,

35 en el que dicho resultado o resultados de los ensayos comprenden opcionalmente una concentración de AH medida en la orina y dicha etapa de correlacionar comprende comparar dicha concentración medida con una concentración umbral, y

40 asignar una mayor probabilidad de progresar al estadio F de RIFLE al individuo, cuando la concentración medida es superior al umbral, o asignar una menor probabilidad de progresar al estadio F de RIFLE al individuo cuando la concentración medida es inferior al umbral.

5.Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho resultado o resultados del ensayo comprenden

(a) una concentración de AH medida en la orina y dicha etapa de correlacionar comprende comparar dicha concentración medida con una concentración umbral, y

45 asignar al individuo una mayor probabilidad de progresar a un estadio peor de RIFLE , con respecto al estadio de RIFLE actual del individuo, cuando la concentración medida es superior al umbral, o asignar al individuo una menor probabilidad de progresar a un estadio peor de RIFLE, con respecto al estadio de RIFLE actual del individuo, cuando la concentración medida es inferior al umbral,

(b) una concentración de AH medida en la orina y dicha etapa de correlacionar comprende comparar dicha concentración medida con una concentración umbral, y

50 asignar una mayor probabilidad de progresar a una necesidad de terapia de sustitución renal al individuo cuando la concentración medida es superior al umbral, o asignar una menor probabilidad de progresar a una necesidad de

terapia de sustitución renal cuando la concentración medida es inferior al umbral,

(c) una concentración de AH medida en la orina y dicha etapa de correlacionar comprende comparar dicha concentración medida con una concentración umbral, y

- 5 asignar al individuo una mayor probabilidad de progresar a un estadio peor de RIFLE , con respecto al estadio de RIFLE actual del individuo, cuando la concentración medida es superior al umbral, o asignar al individuo una menor probabilidad de progresar a un estadio peor de RIFLE, con respecto al estadio de RIFLE actual del individuo, cuando la concentración medida es inferior al umbral,

(d) una concentración de AH medida en la orina y dicha etapa de correlacionar comprende comparar dicha concentración medida con una concentración umbral, y

- 10 asignar una mayor probabilidad de progresar a insuficiencia renal aguda cuando la concentración medida es superior al umbral, o asignar una menor probabilidad de progresar a insuficiencia renal aguda al individuo cuando la concentración medida es inferior al umbral.

6. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el individuo se selecciona para la evaluación del estado renal sobre la base de

- 15 (a) la existencia previa en el individuo de uno o más factores de riesgo conocidos de IRA prerrenal, renal intrínseca, o postrenal o

- (b) un diagnóstico previo de uno o más de insuficiencia cardíaca congestiva, preeclampsia, eclampsia, diabetes mellitus, hipertensión, cardiopatía coronaria, proteinuria, insuficiencia renal, filtración glomerular por debajo del rango normal, cirrosis, creatinina sérica por encima del rango normal, sepsis, deterioro de la función renal, reducción de la función renal, o IRA, o sobre la base de que va a someterse o se ha sometido a una cirugía vascular mayor, bypass de arterias coronarias, u otra cirugía cardíaca, o sobre la base de la exposición a AINE, ciclosporinas, tacrolimus, aminoglucósidos, foscarnet, etilenglicol, hemoglobina, mioglobina, ifosfamida, metales pesados, metotrexato, agentes de contraste radio-opacos o estreptozotocina.
- 20

7. Uso del AH para estratificar el riesgo para identificar individuos en riesgo de un futuro deterioro de la función renal, de una futura progresión a una reducción de la función renal, de una futura progresión a IRA y para pronosticar el estado renal de un individuo que no recibe terapia de sustitución renal o un individuo que no padece de insuficiencia renal aguda, o para asignar al individuo una mayor probabilidad de progresar a un estadio peor de RIFLE, con respecto al estadio de RIFLE actual del individuo, en el que el individuo (i) no ha experimentado un aumento de 1,5 veces o más en el nivel de creatinina sérica sobre un valor basal determinado antes del momento en el que se obtiene la muestra de fluido corporal, y/o (iii) no ha experimentado un aumento de 0,3 mg/dl o más en el nivel de creatinina sérica sobre un valor basal determinado antes del momento en el que se obtiene la muestra de fluido corporal, comprendiendo dicho uso una medición del AH en la orina.
- 25
- 30

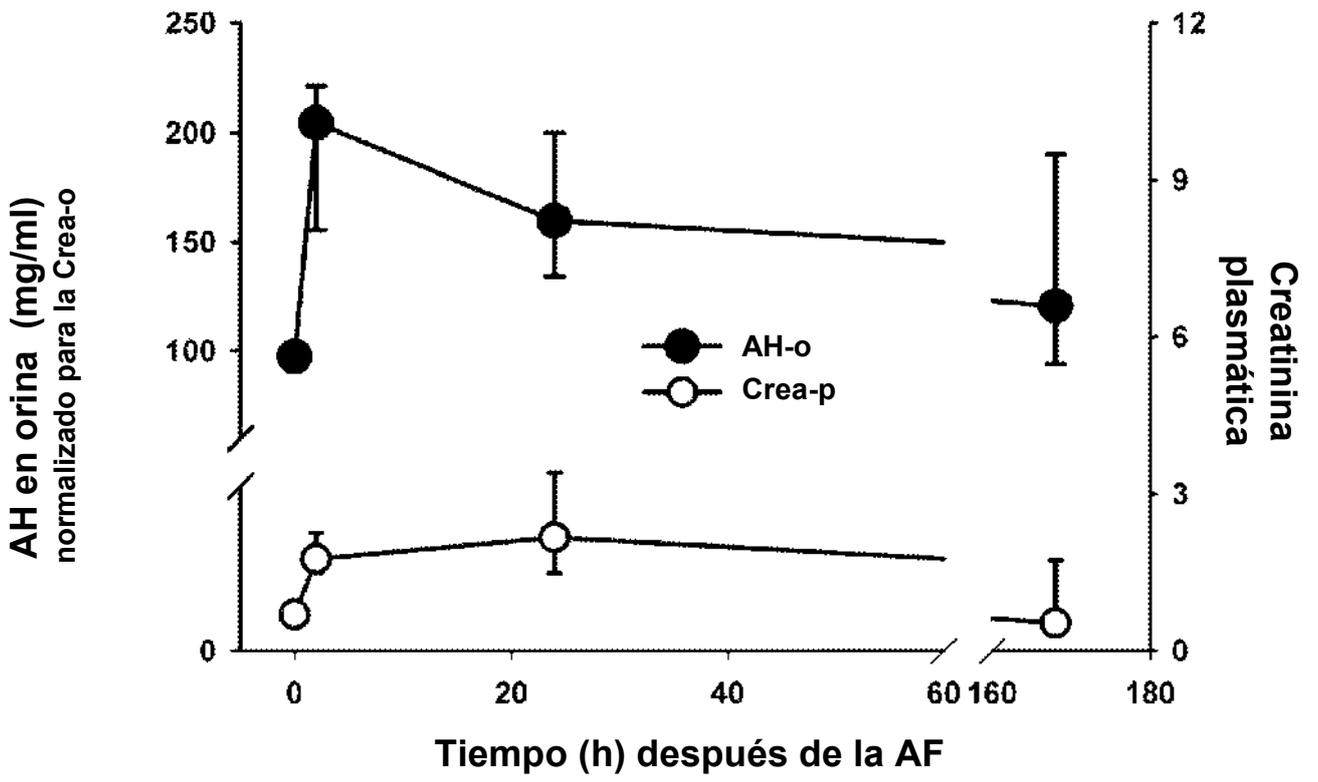


FIGURA 1