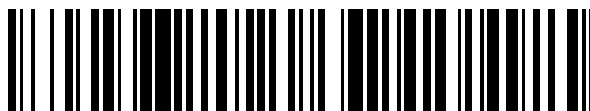


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 631 653**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

G01N 33/74 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.02.2013** **PCT/EP2013/000558**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.09.2013** **WO13131621**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.02.2013** **E 13707113 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.04.2017** **EP 2823314**

54 Título: **Predicción del desenlace en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica**

30 Prioridad:

08.03.2012 EP 12001590

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

01.09.2017

73 Titular/es:

B.R.A.H.M.S GMBH (100.0%)

Neuendorfstrasse 25

16761 Hennigsdorf, DE

72 Inventor/es:

GIERSDORF, SVEN;

TAMM, MICHAEL y

STOLZ, DAIANA

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 631 653 T3

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

DESCRIPCIÓN

Predicción del desenlace en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

Campo de la invención

5 La presente invención pertenece al campo del diagnóstico clínico. En particular, la presente invención se refiere a la determinación del nivel de biomarcadores en una muestra derivada de un fluido corporal de un paciente con EPOC.

Antecedentes de la invención

10 La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), una enfermedad común prevenible y tratable, se caracteriza por una limitación persistente del flujo de aire que suele ser progresiva y asociada con una mayor respuesta inflamatoria crónica en las vías respiratorias y el pulmón a partículas o gases nocivos. Los síntomas de EPOC incluyen disnea, tos crónica y producción crónica de esputo. La espirometría es necesaria para realizar un diagnóstico clínico de EPOC. La presencia de VEF_1/FVC postbroncodilatador (volumen espiratorio forzado en un segundo/capacidad vital forzada) $<0,70$ confirma la presencia de limitación persistente del flujo de aire y, por lo tanto, EPOC.

15 La prevalencia de EPOC clínicamente relevante es de alrededor del 4-6% en la población adulta europea con un número estimado de pacientes con EPOC de 3,0 millones en el Reino Unido, 2,7 millones en Alemania y 2,6 millones en Francia. En los Estados Unidos, la EPOC afecta a aproximadamente 16 millones de adultos. Por otra parte, la EPOC es una de las causas de morbilidad y mortalidad que crece más rápidamente (Pauwels y Rabe, 2004. Lancet 364:613-620, Sullivan et al. 2000. Chest 117:5S-9S; Lopez et al. 2006. Lancet 367:1747-1757). Es la quinta causa de muerte en todo el mundo y se esperan más aumentos en su prevalencia y mortalidad en las próximas décadas (Pauwels y Rabe 2004. Lancet 364:613-620).

20 Las exacerbaciones de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (episodios de empeoramiento agudo de los síntomas) son responsables de más del 2,4% de todas las admisiones médicas agudas y constituyen los costes directos más importantes asociados con la EPOC (Donaldson et al. 2006. Thorax 61:164-168. Halbert et al. 2006. Eur Respir J 28:523-532; Lindenauer et al. 2006. Ann Intern Med 144:894-903). En los EE. UU., se estimó que el coste medio de ingreso hospitalario por EPOC en una cohorte de pacientes con EPOC grave era de US \$7.100 (Halbert et al. 2006. Eur Respir J 28:523-532, Connors et al. 1998. Am J Respir Crit Care Med 154:959-967). Las exacerbaciones se reconocen ahora como eventos importantes en el curso natural de la progresión de la enfermedad (Celli et al. 2007. Eur Respir J 29:1224-1238). Varias características clínicas han sido ampliamente validadas como factores pronósticos de morbilidad y mortalidad en AEEPOC (Connors et al. 1998, Am. J Respir Crit Care Med 154:959-967; Antonelli Incalzi et al. 1997. Eur Respir J 10:2794-2800; Fuso et al. 1995. Am J Med 98:272-277; Gunen et al. 2005. Eur Respir J 26:234-24; Almagro et al. 2006. Respiration 73:311-317).

30 Aunque de interés epidemiológico, el valor predictivo de los parámetros clínicos varía en los diferentes estudios y la mayoría de ellos no permiten una evaluación individual precisa de los riesgos (Antonelli Incalzi et al. 1997, Eur Respir J 10:2794-2800; Yohannes et al. 2005. Age Ageing 34:491-496; Almagro et al. 2006. Respiration 73:311-317).

35 Los objetivos de la evaluación de la EPOC son determinar la gravedad de la enfermedad, su impacto en el estado de salud del paciente y el riesgo de eventos futuros (exacerbaciones, hospitalización, muerte) para guiar la terapia.

40 El grado de limitación del flujo de aire se evalúa mediante espirometría (pruebas de función pulmonar): el volumen en una exhalación forzada de un segundo es el volumen espiratorio forzado en un segundo (VEF_1), medido en litros. La respiración exhalada total se denomina capacidad vital forzada (CVF), también medida en litros. En personas con función pulmonar normal, el VEF_1 es al menos el 70% de la CVF. El sistema de clasificación de la EPOC GOLD (Iniciativa Global para las Enfermedades Pulmonares Obstructivas Crónicas) se utiliza para describir la gravedad de la obstrucción o limitación del flujo de aire. Cuanto peor es la limitación del flujo de aire de una persona, menor es su VEF_1 . A medida que la EPOC progresa, el VEF_1 tiende a disminuir. La plataforma EPOC GOLD utiliza cuatro categorías de gravedad para la EPOC, con base en el valor de VEF_1 que se resume en la Tabla 1.

45 El índice BODE (índice de masa corporal (B), el grado de obstrucción del flujo de aire (O), medido por la prueba de función pulmonar y la disnea (D), y la capacidad de ejercicio (E), medida por la prueba de seis minutos de marcha) se ha establecido recientemente y se ha demostrado que es una herramienta para el pronóstico de la mortalidad (Celli et al. 2004. N Engl J Med; 350:1005-1012) y la hospitalización por EPOC (Ong et al. 2005. Chest 128:3810-3816) en pacientes con EPOC. Sin embargo, la determinación de este índice es engorrosa, ya que requiere una prueba de marcha de 6 minutos (6MWT) en estado estable de la enfermedad y tampoco es adecuado para exacerbaciones agudas. Por lo tanto, ha habido un creciente interés en el uso de otros parámetros, incluyendo biomarcadores pulmonares para vigilar la gravedad de la enfermedad en pacientes con EPOC (Barnes et al. 2006. Am J Respir Crit Care Med 174:6-14). Varios biomarcadores circulantes, incluyendo el $TNF-\alpha$, la IL-6, la proteína C-reactiva, la endotelina-1 y la procalcitonina se incrementan durante las exacerbaciones, lo que potencialmente refleja el derrame de la inflamación de las vías respiratorias locales en la circulación (Hurst et al. 2006. Am J Respir Crit

Care Med 174:867-874, Pinto-Plata et al. 2007. Chest 131:37-43, Roland et al. 2001. Thorax 56:30-35, Stolz et al. 2007. Chest 131:9-19).

Los marcadores sistémicos también han ganado recientemente interés general como medio para determinar la gravedad de la enfermedad y el pronóstico en la EPOC estable (Dahl et al. 2007. Am J Respir Crit Care Med 175:250-255; de Torres et al. 2006. Eur Respir J 27:902-907; Man et al. 2006. Thorax 61:849-853). Sin embargo, todavía hay escasa información acerca de cómo los biomarcadores actuales se relacionan con resultados clínicos significativos, particularmente la supervivencia, durante y fuera de AEEPOC y si algún biomarcador sistémico es capaz de reemplazar el índice BODE con respecto al pronóstico en la EPOC estable (Barnes et al. 2006. Am J Respir Crit Care Med 174:6-14 Franciosi et al. 2006. Respir Res 7:74, Bhowmik et al. 2000. Thorax 55:114-120, Wedzicha et al. 2000. Thromb Haemost 84:210-215; Dev et al. 1998. Respir Med 92:664-667).

Recientemente se ha demostrado que los biomarcadores copeptina, proadrenomedulina mediarregional (MR-proADM) y péptido natriurético proauricular mediorregional (MR-proANP) podrían ser útiles en el pronóstico de pacientes con exacerbaciones graves de EPOC que requieren hospitalización (Stolz et al. 2007. Chest 131:1058-1067, Stolz et al. 2008. Chest 134:263-272, Bernasconi et al. 2011. Chest 140:91-99). Se han publicado varios estudios en los que se divulgaron diferentes biomarcadores y su importancia para la EPOC (Lacoma et al. 2009. Eur. Respir Rev 18(112): 96-104; Chi et al. 2012. Lung 190:271-276; Gemici et al., 2008 Adv Ther 25(7): 674-680). Sin embargo, el valor pronóstico de estos biomarcadores en condiciones estables es aún desconocido y falta una estrategia de estratificación de riesgo para pacientes ambulatorios.

Un objeto principal de la presente invención es la provisión de un procedimiento que permita un pronóstico fácil y fiable y/o una evaluación de riesgo y/o monitorización de la terapia y/o la gestión de pacientes con EPOC. Un objeto adicional es proporcionar un procedimiento que permita un pronóstico y/o una evaluación del riesgo y/o un seguimiento de la terapia y/o la gestión de pacientes con EPOC con inconveniencia mínima para dicho paciente. Un objeto adicional es proporcionar un procedimiento en el que al menos parte de la determinación convencional de los parámetros del índice BODE pueda ser remplazada, preferiblemente reduciendo de este modo la carga sobre el paciente.

Sumario de la invención

El objeto de la invención es un procedimiento para el pronóstico y/o la evaluación del riesgo y/o la monitorización de la terapia y/o la gestión de pacientes con EPOC, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

i) proporcionar una muestra de un fluido corporal de dicho paciente,

ii) determinar en dicha muestra el nivel de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en proadrenomedulina (proADM), péptido pronatriurético, provasopresina (proAVP) y procalcitonina (PCT) o fragmentos de los mismos de al menos 12 aminoácidos de longitud,

iii) determinar los parámetros del índice BODE de acuerdo con una de las siguientes etapas:

iii-a) determinar los parámetros del índice BODE, índice de masa corporal (IMC, parámetro B), grado de obstrucción del flujo de aire (VEF₁, parámetro O) y disnea (parámetro D), omitiendo la capacidad de ejercicio de los parámetros del índice BODE (parámetro E);

iii-b) determinar los parámetros del índice BODE, índice de masa corporal (IMC, parámetro B) y la disnea (parámetro D), omitiendo del índice BODE, los parámetros de la capacidad de ejercicio (parámetro E) y el grado de obstrucción del flujo de aire (VEF₁, parámetro O);

iv) correlacionar dicho nivel de dicho al menos un biomarcador, determinado en la etapa ii), en combinación con dichos parámetros de índice BODE determinados en la etapa iii-a) o en la etapa iii-b) para el pronóstico y/o la evaluación del riesgo y/o la monitorización de la terapia y/o la gestión de pacientes con EPOC.

Las variantes del procedimiento preferidas se describen en las reivindicaciones dependientes.

El procedimiento de la invención combina así la determinación de al menos un biomarcador específicamente seleccionado (etapa ii) en un fluido corporal de un paciente con la determinación de como máximo tres de los cuatro parámetros del índice BODE (etapa iii) y correlaciona el nivel de biomarcador con como máximo los tres valores de índice BODE determinados para el pronóstico y/o la evaluación del riesgo y/o la monitorización de la terapia y/o la gestión de los pacientes con EPOC. Como se pudo demostrar, el modelo que incluía un biomarcador fue significativamente mejor que el modelo que utiliza solamente los parámetros del índice BODE y la predicción de la muerte durante un periodo de dos años fue similar o incluso mejor cuando un biomarcador se combinó con un máximo de tres de los parámetros del índice BODE, especialmente los parámetros de índice BOD o BD, omitiendo los parámetros de índice E y/o O.

Descripción de los dibujos

Fig. 1: Diagrama de caja y bigotes de los valores de MR-proADM para la predicción de la muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC.

Fig. 2: Diagrama de caja y bigotes de los valores de MR-proANP para la predicción de la muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC.

5 **Fig. 3:** Diagrama de caja y bigotes de los valores de coceptina para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC.

Fig. 4: Diagrama de cuadro y bigotes de los valores de PCT para la predicción de la muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC.

10 **Fig. 5:** Diagrama ROC para MR-proADM para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,632).

Fig. 6: Curva ROC para MR-proANP para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,611).

Fig. 7: Curva ROC para la Copeptina para la predicción de la muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,605).

15 **Fig. 8:** Curva ROC para PCT para la predicción de la muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,604).

Fig. 9: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) por cuartiles de MR-proADM para pacientes con EPOC.

20 **Fig. 10:** Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) por cuartiles de MR-proANP para pacientes con EPOC.

Fig. 11: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) por cuartiles de coceptina para pacientes con EPOC.

Fig. 12: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) por cuartiles de PCT para pacientes con EPOC.

25 **Fig. 13:** Curva ROC para MR-proADM en combinación con BODE para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,750).

Fig. 14: Curva ROC para MR-proADM en combinación con BOD para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,743).

30 **Fig. 15:** Curva ROC para MR-proADM en combinación con BD para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,756).

Fig. 16: Curva ROC para MR-proANP en combinación con BODE para la predicción de la muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,736).

Fig. 17: Curva ROC para MR-proANP en combinación con BOD para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,727).

35 **Fig. 18:** Curva ROC para MR-proANP en combinación con BD para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,741).

Fig. 19: Curva ROC para coceptina en combinación con BODE para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,710).

40 **Fig. 20:** Curva ROC para coceptina en combinación con BOD para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,703).

Fig. 21: Curva ROC para coceptina en combinación con BD para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,724).

Fig. 22: Curva ROC para PCT en combinación con BODE para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,698).

45 **Fig. 23:** Curva ROC para PCT en combinación con BOD para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,678).

Fig. 24: Curva ROC para PCT en combinación con BD para la predicción de muerte durante un periodo de 2 años en pacientes con EPOC (AUC=0,706).

Fig. 25: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) para la combinación de BODE y MR-proADM (aplicada como variable categórica usando cortes y puntuación posterior como se indica en la tabla 5) dividiendo a los pacientes con EPOC en grupos de riesgo dependiendo en la puntuación combinada.

Fig. 26: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) para la combinación de BOD y MR-proADM (aplicada como variable categórica usando cortes y puntuación posterior según se indica en la tabla 5) dividiendo a los pacientes con EPOC en grupos de riesgo dependiendo en la puntuación combinada.

Fig. 27: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) para la combinación de BD y MR-proADM (aplicada como variable categórica utilizando cortes y la puntuación posterior según se indica en la tabla 5) dividiendo a los pacientes con EPOC en grupos de riesgo dependiendo en la puntuación combinada.

Fig. 28: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) para la combinación de BODE y MR-proANP (aplicada como variable categórica utilizando cortes y puntuación posterior según se indica en la tabla 5) dividiendo a los pacientes con EPOC en grupos de riesgo dependiendo en la puntuación combinada.

Fig. 29: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) para la combinación de BOD y MR-proANP (aplicada como variable categórica utilizando cortes y puntuación posterior según se indica en la tabla 5) dividiendo a los pacientes con EPOC en grupos de riesgo dependiendo en la puntuación combinada.

Fig. 30: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) para la combinación de BD y MR-proANP (aplicada como variable categórica utilizando los cortes y la puntuación posterior según se indica en la tabla 5) dividiendo a los pacientes con EPOC en grupos de riesgo dependiendo en la puntuación combinada.

Fig. 31: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) para la combinación de BODE y copeptina (aplicada como variable categórica utilizando cortes y puntuación posterior según se indica en la tabla 5) dividiendo a los pacientes con EPOC en grupos de riesgo dependiendo en la puntuación combinada.

Fig. 32: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) para la combinación de BOD y copeptina (aplicada como variable categórica usando cortes y puntuación posterior según se indica en la tabla 5) dividiendo a los pacientes con EPOC en grupos de riesgo dependiendo en la puntuación combinada.

Fig. 33: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) para la combinación de BD y copeptina (aplicada como variable categórica utilizando cortes y puntuación posterior según se indica en la tabla 5) dividiendo a los pacientes con EPOC en grupos de riesgo dependiendo en la puntuación combinada.

Fig. 34: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) para la combinación de BODE y PCT (aplicada como variable categórica usando cortes y puntuación posterior como se indica en la tabla 5) dividiendo a los pacientes con EPOC en grupos de riesgo dependiendo en la puntuación combinada.

Fig. 35: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) para la combinación de BOD y PCT (aplicada como variable categórica usando cortes y puntuación posterior como se indica en la tabla 5) dividiendo a los pacientes con EPOC en grupos de riesgo dependiendo en la puntuación combinada.

Fig. 36: Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (muerte durante un periodo de 2 años) para la combinación de BD y PCT (aplicada como variable categórica utilizando los cortes y la puntuación posterior según se indica en la tabla 5) dividiendo a los pacientes con EPOC en grupos de riesgo dependiendo en la puntuación combinada.

Descripción detallada de la invención

El objeto de la invención es un procedimiento para el pronóstico y/o la evaluación del riesgo y/o la monitorización de la terapia y/o la gestión de pacientes con EPOC, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

i) proporcionar una muestra de un fluido corporal de dicho paciente,

ii) determinar en dicha muestra el nivel de al menos un biomarcador, seleccionado del grupo que consiste en proadrenomedulina (proADM), péptido pronatriurético, provasopresina (proAVP) y procalcitonina (PCT) o fragmentos de los mismos de al menos 12 aminoácidos de longitud,

iii) determinar los parámetros del índice BODE de acuerdo con una de las siguientes etapas:

iii-a) determinar los parámetros del índice BODE, índice de masa corporal (IMC, parámetro B), grado de obstrucción del flujo de aire (VEF₁, parámetro O) y disnea (parámetro D), omitiendo la capacidad de ejercicio de los parámetros del índice BODE (parámetro E);

iii-b) determinar los parámetros del índice BODE, índice de masa corporal (IMC, parámetro B) y la disnea (parámetro D), omitiendo del índice BODE, los parámetros de la capacidad de ejercicio (parámetro E) y el grado de obstrucción del flujo de aire (VEF₁, parámetro O);

- 5 iv) correlacionar dicho nivel de dicho al menos un biomarcador determinado en la etapa ii), en combinación con dichos parámetros del índice de BODE determinados en la etapa iii-a) o en la etapa iii-b) a la evaluación del pronóstico y/o del riesgo y/o monitorización de la terapia y/o la gestión de pacientes con EPOC.

El término "combinación" se define como una posible selección de un cierto número de parámetros y la disposición de estos parámetros en grupos especificados usando un algoritmo matemático.

- 10 El término "parámetro" se usa en la presente invención como una característica, una cualidad o un factor medible que puede ayudar a definir un sistema particular, por ejemplo, un biomarcador (por ejemplo copeptina o PCT), una variable descriptiva (por ejemplo, edad, sexo, IMC) o una variable clínica (por ejemplo VEF₁).

- 15 De acuerdo con la invención, dicho nivel de dicho al menos un biomarcador o fragmentos de los mismos de al menos 12 aminoácidos de longitud se usa en combinación con el índice de masa corporal de los índices BODE (IMC, parámetro B), grado de obstrucción del flujo de aire (VEF₁, parámetro O), y disnea (parámetro D) o los parámetros del índice BODE, índice de masa corporal (IMC, parámetro B) y la disnea (parámetro D).

En una realización preferida, el nivel de al menos un biomarcador, seleccionado del grupo que consiste en proADM, péptidos pronatriuréticos, proAVP y PCT o fragmentos de los mismos de al menos 12 aminoácidos de longitud y dichos dos o tres parámetros de índice de BODE se pueden combinar como variables continuas o categóricas.

- 20 En una realización preferida, el nivel de al menos un biomarcador, seleccionado del grupo que consiste en proADM, péptidos pronatriuréticos, proAVP y PCT o fragmentos de los mismos de al menos 12 aminoácidos de longitud y dichos dos o tres parámetros de índice BODE pueden ser combinados en una puntuación. Por ejemplo, los niveles de biomarcadores pueden ser dicotomizados o categorizados usando uno o más valores de corte para formar una variable binaria o categórica. La respectiva variable o puntuación puede añadirse entonces a una puntuación, por ejemplo, recuperado de los parámetros de índice BOD o BD, a una puntuación combinada.

- 25 En una realización particular de los procedimientos de la invención, el nivel de al menos un biomarcador, seleccionado del grupo que consiste en proADM, péptidos pronatriuréticos, proAVP y PCT o fragmentos de los mismos de al menos 12 aminoácidos de longitud y dichos dos o tres parámetros del índice BODE se ponderan de manera diferente.

- 30 En otra realización preferida, el pronóstico y/o la evaluación del riesgo se relacionan con el riesgo de mortalidad y los pacientes se estratifican en sobrevivientes potenciales y no sobrevivientes potenciales.

En una realización especialmente preferida, el pronóstico y/o la evaluación del riesgo se refieren a la evaluación del riesgo de mortalidad durante un periodo de los 5 años, más preferiblemente durante un periodo de 4 años, incluso más preferida durante un periodo de 3 años, incluso más preferida durante un periodo de 2 años, incluso más preferida durante un periodo de 1 año, lo más preferido durante un periodo de los 6 meses.

- 35 En otra realización preferida, el pronóstico y/o la evaluación del riesgo se relacionan con el riesgo de la aparición de exacerbaciones agudas y los pacientes se estratifican en un grupo de pacientes que probablemente presentan una exacerbación aguda o en un grupo de pacientes que probablemente no presentan una exacerbación aguda.

- 40 En una realización especialmente preferida, el pronóstico y/o la evaluación del riesgo se relacionan con la evaluación del riesgo de presentar una exacerbación aguda durante un periodo de 2 años, más preferiblemente durante un periodo de un año, incluso más preferida durante un periodo de 6 meses, incluso más preferida durante un periodo de 3 meses, incluso más preferida durante un periodo de 90 días, incluso más preferida durante un periodo de 1 mes, incluso más preferida durante un periodo de 30 días, incluso más preferida durante un periodo de 14 días, lo más preferible durante un periodo de 7 días.

- 45 La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) se diagnostica de acuerdo con las directrices GOLD (relación VEF₁/CVF por debajo del 70% y una reducción absoluta del VEF₁ por debajo del 80% del valor previsto).

De acuerdo con la presente invención, un paciente diagnosticado con EPOC puede estar en el estado estable o inestable (exacerbado agudo) de la enfermedad.

- 50 La exacerbación aguda de la EPOC se define como "un evento en el curso natural de la enfermedad caracterizado por un cambio en la disnea inicial del paciente, tos, y/o esputo que está más allá de las variaciones cotidianas normales, es agudo en el inicio y puede justificar un cambio en los medicamentos regulares en un paciente con EPOC subyacente" (Rabe et al. 2007. Am J Respir Crit Care Med. 176:532-555).

La gravedad de la EPOC se clasifica según los criterios de GOLD, utilizando el por ciento de VEF₁ postbronquodilatador previsto. Un VEF₁ entre el 50 y el 80% del valor previsto define una EPOC moderada (GOLD II), un VEF₁ entre 30% y 50% una EPOC grave (GOLD III) y un VEF₁ menor al 30% una EPOC muy severa (GOLD

IV), véase la Tabla 1. El volumen en una espiración forzada de un segundo se denomina volumen espiratorio forzado en un segundo (VEF₁), medido en litros.

El BODE es un índice multidimensional diseñado para evaluar el riesgo clínico en personas con EPOC (Celli et al. 2004. N Engl J Med 350:1005-1012). Combina cuatro variables en una sola puntuación: (B) el índice de masa corporal, (O) la obstrucción del flujo de aire medido por el volumen espiratorio forzado en un segundo (VEF₁), (D) la disnea medida por la escala modificada del Consejo de Investigación Médico (MRC), y (E) capacidad de ejercicio medida por la distancia de 6 minutos de marcha (6MWD). Cada componente se califica y se obtiene una puntuación de hasta 10 (Tabla 2), con puntuaciones más altas indicando un mayor riesgo. El índice BODE refleja el impacto de los factores pulmonares y extrapulmonares sobre el pronóstico y la supervivencia en la EPOC.

En la presente invención, el término "pronóstico" denota una predicción de cómo progresará la condición médica de un sujeto (por ejemplo, un paciente). Esto puede incluir una estimación de la probabilidad de recuperación o la probabilidad de un resultado adverso para dicho sujeto.

En la presente invención, el término "evaluación del riesgo" denota una asignación de una probabilidad de experimentar, por un individuo, ciertos eventos adversos. Por lo tanto, el individuo puede ser considerado preferiblemente en una cierta categoría de riesgo, en la que las categorías comprenden, por ejemplo, riesgo alto frente a riesgo bajo, o categorías de riesgo con base en valores numéricos, tales como la categoría de riesgo 1, 2, 3, etc.

El término "monitorización de terapia" en el contexto de la presente invención se refiere al control y/o ajuste de un tratamiento terapéutico de dicho paciente.

El término "gestión del paciente" en el contexto de la presente invención se refiere a:

- la decisión de admisión en un hospital o unidad de cuidados intensivos,
- la decisión de traslado del paciente a un hospital especializado o a una unidad hospitalaria especializada,
- la evaluación para una salida temprana de la unidad de cuidados intensivos u hospital,
- la asignación de recursos (por ejemplo, personal médico y/o de enfermería, diagnósticos, terapéutica),

• la decisión sobre el tratamiento terapéutico.

El término "correlación", tal como se utiliza aquí en referencia al uso de marcador(es) de diagnóstico y de pronóstico, se refiere a comparar la presencia o el nivel del marcador o marcadores en un paciente con su presencia o suma en personas que se sabe padecen, o se sabe que están en riesgo de, una condición dada. Un nivel de marcador en una muestra de paciente se puede comparar con un nivel conocido por estar asociado con un diagnóstico específico. El nivel de marcador de la muestra se dice que se ha correlacionado con un diagnóstico; es decir, el experto en la técnica puede usar el nivel de marcador para determinar si el paciente sufre de un tipo específico de una enfermedad y responde en consecuencia. Alternativamente, el nivel de marcador de la muestra puede compararse con un nivel de marcador conocido por estar asociado con un buen resultado (por ejemplo, la ausencia de enfermedad, etc.). En realizaciones preferidas, un panel de niveles de marcador está correlacionado con una probabilidad global o un resultado particular.

Los niveles de umbral se pueden obtener, por ejemplo, a partir de un análisis de Kaplan-Meier, en el que la ocurrencia de una enfermedad o la probabilidad de una afección grave y/o la muerte está correlacionada con, por ejemplo, cuartiles de los respectivos marcadores en la población. De acuerdo con este análisis, los sujetos con niveles de marcador por encima del percentil 75, tienen un riesgo significativamente aumentado de contraer las enfermedades según la invención. Este resultado es apoyado además por el análisis de regresión de Cox con ajuste para los factores de riesgo clásicos. El cuartil más alto frente a todos los otros sujetos está altamente asociado con un mayor riesgo de contraer una enfermedad o la probabilidad de una enfermedad grave y/o muerte de acuerdo con la invención. Otros valores de corte preferidos son, por ejemplo, el percentil 90, 95 o 99 de una población de referencia. Al utilizar un percentil más alto que el percentil 75, se reduce el número de sujetos falso positivos identificados, pero uno podría perder la identificación de sujetos, que están en un riesgo moderado, aunque todavía mayor. Por lo tanto, se podría adaptar el valor de corte dependiendo de si se considera más apropiado identificar la mayoría de los sujetos en riesgo a expensas de identificar también "falsos positivos", o si se considera más apropiado identificar principalmente a los sujetos en alto riesgo a expensas de perder a varios sujetos con riesgo moderado.

Otras posibilidades matemáticas para calcular el riesgo de un individuo utilizando el valor de nivel de marcador del individuo y otros parámetros pronósticos de laboratorio y clínicos son, por ejemplo, el NRI (índice de reclasificación neta) o el IDI (Índice de Discriminación Integrado). Los índices se pueden calcular de acuerdo con Pencina (Pencina MJ, et al.: Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. Stat Med. 2008; 27:157-172).

Como se ha mencionado aquí en el contexto de péptidos marcadores y precursores de los mismos, el término "fragmento" se refiere a proteínas o péptidos más pequeños derivables de proteínas o péptidos más grandes, que por lo tanto comprenden una secuencia parcial de la proteína o péptido más grande. Dichos fragmentos son derivables de las proteínas o péptidos más grandes por saponificación de uno o más de sus enlaces peptídicos. Los

5 "fragmentos" de los péptidos marcadores proADM, péptido pronatriurético, proAVP y PCT se refieren preferiblemente a fragmentos de al menos 12 aminoácidos de longitud. Tales fragmentos son preferiblemente detectables con análisis inmunológicos como se describe aquí.

Los péptidos pronatriuréticos se seleccionan del grupo que consiste en péptido natriurético proauricular (proANP) y péptido natriurético procerebro (proBNP) o fragmentos de los mismos de al menos 12 aminoácidos de longitud.

10 La secuencia de los 153 aminoácidos preproANP se muestra en la SEQ ID NO: 1. Después de la ruptura de un péptido de señal N-terminal (25 aminoácidos) y los dos aminoácidos C-terminales, se libera la proANP (SEQ ID NO: 2). Esta prohormona se rompe en el péptido maduro de 28 aminoácidos ANP, también conocido como ANP (1-28) o α -ANP, y el fragmento proANP amino terminal (1-98) (NT-proANP, SEQ ID NO: 3). El proANP de región media (MR-proANP) se define como NT-proANP o cualquier fragmento de la misma que comprende al menos los residuos de

15 aminoácidos 53-90 (SEQ ID NO: 4) de proANP.

En una realización preferida del procedimiento de acuerdo con la invención, se determina el nivel del fragmento precursor de proANP, MR-proANP.

La secuencia de aminoácidos del péptido precursor de adrenomedulina (pre-proadrenomedulina) se da en la SEQ ID NO: 5. La proadrenomedulina se refiere a los residuos de aminoácidos 22 a 185 de la secuencia de pre-proadrenomedulina. La secuencia de aminoácidos de proadrenomedulina (proADM) se da en la SEQ ID NO: 6. MR-proadrenomedulina (MR-proADM) se refiere a los residuos de aminoácidos 45-92 de pre-proADM. La secuencia de aminoácidos de MR-proADM se proporciona en la SEQ ID NO: 7.

20 En otra realización preferida del procedimiento según la invención, se determina el nivel del fragmento precursor de proADM, MR-proADM.

En otra realización preferida del procedimiento de acuerdo con la invención, se determina el nivel del fragmento precursor de proADM, MR-proADM.

25 La secuencia del péptido precursor de 164 aminoácidos de la vasopresina (pre-provasopresina) se da en la SEQ ID NO: 8. La provasopresina se refiere a los residuos de aminoácidos 19 a 164 de la secuencia de pre-provasopresina. La secuencia de aminoácidos de la provasopresina se da en la SEQ ID NO: 9. La provasopresina se rompe en vasopresina madura, Neurofina II y provasopresina C-terminal (CT-proAVP o copeptina). La copeptina se refiere a los residuos de aminoácidos 126 a 164 de la pre-provasopresina. La secuencia de aminoácidos de Copeptina se proporciona en la SEQ ID NO: 10. La neurofina II comprende los residuos de aminoácidos 32 a 124 de la pre-provasopresina y su secuencia se muestra en la SEQ ID NO: 11.

30 En otra realización preferida del procedimiento de acuerdo con la invención, se determina el nivel del fragmento precursor proAVP, copeptina.

La procalcitonina es un precursor de calcitonina y katacalcina. La secuencia de aminoácidos de PCT 1-116 se da en la SEQ ID NO: 12.

35 La secuencia del péptido precursor de 134 aminoácidos del péptido natriurético cerebral (pre-pro-BNP) se da en la SEQ ID NO: 13. El pro-BNP se refiere a los residuos de aminoácidos 27 a 134 de pre-pro-BNP. La secuencia de pro-BNP se muestra en la SEQ ID NO: 14. El pro-BNP se rompe en N-terminal pro-BNP (NT-pro-BNP) y BNP maduro. El

40 NT-pro-BNP comprende los residuos de aminoácidos 27 a 102 y su secuencia se muestra en la SEQ ID NO: 15. La SEQ ID NO: 16 muestra la secuencia de BNP que comprende los residuos de aminoácidos 103 a 134 del péptido pre-pro-BNP.

En una realización preferida del procedimiento de acuerdo con la invención, se determina el nivel de los fragmentos precursores de proBNP, NT-proBNP o BNP.

45 En otra realización preferida del procedimiento de acuerdo con la invención, se determina el nivel de PCT que consiste en los aminoácidos 1 a 116 o 2 a 116 o 3 a 116.

En otra realización preferida de la invención se pueden definir valores de corte para los biomarcadores cuando se usan como variables categorizadas. Por ejemplo, se pueden definir dos valores de corte diferentes que resultan en una puntuación de 0, 2 o 4 para el biomarcador respectivo.

50 Preferiblemente, los valores de corte para MR-proADM están entre 0,5 y 2 nmol/l, más preferiblemente entre 0,5 y 1 nmol/l, lo más preferido entre 0,5 y 0,8 nmol/l. En una realización especialmente preferida de la invención, los valores de corte son 0,5 y 0,8 nmol/l.

Preferiblemente, los valores de corte para MR-proANP están entre 50 y 250 pmol/l, más preferiblemente entre 50 y 200 pmol/l, lo más preferido entre 50 y 140 pmol/l. En una realización especialmente preferida de la invención, los valores de corte son 50 y 140 pmol/l.

Preferiblemente, los valores de corte para la coceptina están entre 2 y 30 pmol/l, más preferiblemente entre 2 y 20 pmol/l, lo más preferido entre 2 y 14 pmol/l. En una realización especialmente preferida de la invención, los valores de corte son 2 y 14 pmol/l.

- 5 Preferiblemente, los valores de corte para PCT están entre 0,07 y 0,5 ng/ml, más preferible entre 0,07 y 0,25 ng/ml, aún más preferible entre 0,07 y 0,2 ng/ml, lo más preferible entre 0,07 y 0,1 ng/ml. En una realización especialmente preferida de la invención, los valores de corte son 0,07 y 0,1 ng/ml.

Los valores de corte mencionados anteriormente podrían ser diferentes en otros análisis, si éstos han sido calibrados de manera diferente de los sistemas de análisis utilizados en la presente invención. Por lo tanto, los valores de corte antes mencionados se aplicarán para dichos análisis calibrados de forma diferente, teniendo en cuenta las diferencias en la calibración. Una posibilidad de cuantificar la diferencia en la calibración es un análisis de comparación del procedimiento (correlación) del análisis en cuestión (por ejemplo, un análisis de PCT) con el análisis de biomarcador respectivo utilizado en la presente invención (por ejemplo, BRAHMS KRYPTOR PCT sensible) midiendo el biomarcador respectivo (por ejemplo PCT) en muestras usando ambos procedimientos. Otra posibilidad es determinar con el análisis en cuestión, dado que este ensayo tiene suficiente sensibilidad analítica, la media del nivel del biomarcador de una población normal representativa, comparar los resultados con la media de los niveles de biomarcadores como se describe en la literatura (por ejemplo, en el documento EP 09011073.5 para PCT "Procalcitonina para el pronóstico de los eventos adversos en la población asintomática") y recalculando la calibración con base en la diferencia obtenida por esta comparación. Con la calibración utilizada en la presente invención, se midieron muestras de sujetos normales (sanos): la mediana (intervalo intercuartílico) de procalcitonina plasmática fue 0,018 (0,015-0,022) ng/ml en hombres y 0,014 (0,012-0,017) ng/ml en mujeres (Abbasi et al. 2010. JCEM 95:E26-E31), la mediana (intervalo) de MR-proADM plasmática fue de 0,41 (0,23-0,64) nmol/l (Smith et al. 2009. Clin Chem 55:1593-1595), la mediana (intervalo intercuartílico) fue de 4,7 (2,9-7,5) pmol/l, con una concentración significativamente mayor en los machos (6,2 (4,1-9,5) pmol/l) que en las hembras (3,6 (2,4-5,5) pmol/l) (Meijer et al. 2010. Kidney Int 77: 29-36), y la concentración mediana (intervalo intercuartílico) de MR-proANP fue 66 (51-86) pmol/l (Melander et al. 2009. JAMA 302:49-57).

El término "puntuación" en el contexto de la presente invención se refiere a una clasificación, expresada numéricamente, con base en el logro específico o en el grado en que ciertas cualidades o condiciones (por ejemplo, el nivel de biomarcador o dichos parámetros del índice de BODE) están presentes en dicho paciente.

- 30 El término "nivel" en el contexto de la presente invención se refiere a la concentración (preferiblemente expresada como peso/volumen; p/v) de péptidos marcadores extraídos de una muestra de un paciente.

Como se ha mencionado aquí, un "análisis" o "análisis diagnóstico" puede ser de cualquier tipo aplicado en el campo del diagnóstico. Dicho análisis puede tener como base el enlace de un analito por detectar a una o más sondas de captura con cierta afinidad. Con respecto a la interacción entre moléculas de captura y moléculas objetivo o moléculas de interés, la constante de afinidad es preferiblemente mayor que 10^8 M^{-1} .

- 35 En el contexto de la presente invención, las "moléculas de captura" son moléculas que pueden usarse para enlazar moléculas objetivo o moléculas de interés, es decir, analitos (por ejemplo, en el contexto de la presente invención, el (los) péptido(s) cardiovasculares), de una muestra. Por lo tanto, las moléculas de captura deben tener una forma adecuada, tanto espacialmente como en términos de características superficiales, tales como carga superficial, hidrofobicidad, hidrofiliidad, presencia o ausencia de donantes y/o aceptores de Lewis para unirse específicamente a las moléculas objetivo o moléculas de interés. Por lo tanto, el enlace puede estar mediado, por ejemplo, por interacciones iónicas, de van-der-Waals, pi-pi, sigma-pi, hidrófobas o enlaces de hidrógeno o una combinación de dos o más de las interacciones antes mencionadas entre las moléculas de captura y las moléculas objetivo o moléculas de interés. En el contexto de la presente invención, las moléculas de captura pueden seleccionarse, por ejemplo, del grupo que comprende una molécula de ácido nucleico, una molécula de carbohidrato, una molécula de PNA, una proteína, un anticuerpo, un péptido o una glicoproteína. Preferiblemente, las moléculas de captura son anticuerpos, incluyendo fragmentos de los mismos con afinidad suficiente a una molécula objetivo o de interés, e incluyendo anticuerpos recombinantes o fragmentos de anticuerpos recombinantes, así como derivados modificados químicamente y/o bioquímicamente de dichos anticuerpos o fragmentos derivados de la cadena variante con una longitud de al menos 12 aminoácidos del mismo.

- 50 Los procedimientos de detección preferidos comprenden inmunoanálisis en diversos formatos tales como, por ejemplo, radioinmunoanálisis (RIA), inmunoanálisis de quimioluminiscencia y fluorescencia, inmunoanálisis con enzimas de enlace (ELISA), matrices de perlas con base en Luminex, análisis de micromatriz de proteína y formatos de ensayo rápidos tales como por ejemplo, pruebas de tira inmunocromatográfica.

- 55 Los análisis pueden ser análisis homogéneos o heterogéneos, análisis competitivos y no competitivos. En una realización particularmente preferida, el análisis está en forma de un análisis tipo emparedado, que es un inmunoanálisis no competitivo, en el que la molécula a detectar y/o cuantificar está enlazada a un primer anticuerpo y a un segundo anticuerpo. El primer anticuerpo puede estar enlazado a una fase sólida, por ejemplo, una perla, la superficie de un pozo u otro recipiente, un chip o una tira, y el segundo anticuerpo es un anticuerpo que está marcado, por ejemplo, con un colorante, con un radioisótopo, o una fracción reactiva o catalíticamente activa. La

cantidad de anticuerpo marcado enlazado al analito se mide entonces mediante un procedimiento apropiado. La composición general y los procedimientos implicados con los "análisis tipo emparezado" están bien establecidos y son conocidos por el experto en la técnica (The Immunoassay Handbook, Ed. David Wild, Elsevier LTD, Oxford, 3ª edición (mayo 2045), ISBN-13: 978-0080445267; Hultschig C et al., Curr Opin Chem Biol., 2006 Feb; 10(1):4-10, PMID:16376134). En una realización particularmente preferida, el análisis comprende dos moléculas de captura, preferiblemente anticuerpos, que están presentes como dispersiones en una mezcla de reacción líquida, en donde un primer componente de marcado se une a la primera molécula de captura, en el que dicho primer componente de marcado es parte de un sistema de marcado con base en la detención o amplificación de la fluorescencia o quimioluminiscencia, y un segundo componente de marcado de dicho sistema de marcado está unido a la segunda molécula de captura, de manera que al enlazarse ambas moléculas de captura al analito se genera una señal medible que permite la detección de los complejos de emparezado formados en la solución que comprende la muestra.

Aún más preferido, dicho sistema de marcado comprende criptatos de tierras raras o quelatos de tierras raras en combinación con un colorante de fluorescencia o colorante de quimioluminiscencia, en particular un colorante de tipo cianina. En el contexto de la presente invención, los análisis con base en fluorescencia comprenden el uso de colorantes que pueden seleccionarse, por ejemplo, del grupo que comprende FAM (5 o 6 carboxifluoresceína), VIC, NED, fluoresceína, fluoresceinisotiocianato (FITC), IRD-700/800, colorantes de cianina, tales como CY3, CY5, CY3.5, CY5.5, Cy7, xanteno, 6-carboxi-2', 4', 7', 4,7-hexaclorofluoresceína (HEX), TET, 6-carboxi-4', 5'-dicloro-2', 7'-dimetoxifluoresceína (JOE), N,N,N', N'-tetrametil-6-carboxirodamina (TAMRA), 6-carboxi-X-rodamina (ROX), 5-carboxirodamina-6G (R6G5), 6-carboxirodamina-6G (RG6), rodamina, rodamina verde, rodamina roja, rodamina 110, colorantes BODIPY, tales como BODIPY TMR, verde de Oregon, coumarinas tales como umbeliferona, benzimidaz, tales como Hoechst 33258; fenantridinas, tales como rojo de Texas, amarillo de Yakima, Fluor de Alexa, PET, bromuro de etidio, colorantes de acridinio, colorantes de carbazol, colorantes de fenoxacina, colorantes de porfirina, colorantes de polimetina y similares.

En el contexto de la presente invención, los ensayos con base en quimioluminiscencia comprenden el uso de colorantes, con base en los principios físicos descritos para materiales quimioluminiscentes en Kirk-Othmer, Encyclopedia of chemical technology, 4ª edición, editor ejecutivo, J. I. Kroschwitz; editor, M. Howe-Grant, John.

Wiley y Sons, 1993, vol. 15, pág. 518-562, incluyendo citas en las páginas 551-562. Los colorantes quimioluminiscentes preferidos son ésteres de acridinio.

El término "muestra" tal como se utiliza aquí se refiere a una muestra de fluido corporal obtenida con el propósito de diagnóstico, pronóstico o evaluación de un sujeto de interés, tal como un paciente. Las muestras de ensayo preferidas incluyen sangre, suero, plasma, líquido cefalorraquídeo, orina, saliva, esputo y derrames pleurales. Además, un experto en la técnica comprenderá que algunas muestras de ensayo se analizarán más fácilmente siguiendo un procedimiento de fraccionamiento o purificación, por ejemplo, separación de sangre entera en componentes de suero o plasma.

Por lo tanto, en una realización preferida de la invención, la muestra se selecciona del grupo que comprende una muestra de sangre, una muestra de suero, una muestra de plasma, una muestra de fluido cerebroespinal, una muestra de saliva y una muestra de orina o un extracto de cualquiera de las muestras antes mencionadas. Preferiblemente, la muestra es una muestra de sangre, más preferiblemente una muestra de suero o una muestra de plasma.

Ejemplos

Mediciones de marcadores

Se detectó MR-proANP utilizando un nuevo sistema de inmunoanálisis tipo emparezado totalmente automatizado en el B.R.A.H.M.S KRYPTOR (B.R.A.H.M.S GmbH, Hennigsdorf/Berlin, Alemania). Este analizador de acceso aleatorio emplea la tecnología de emisión de criptados amplificada con resolución temporal (TRACE), con base en una transferencia no radiactiva entre 2 fluoróforos, criptado de europio y XL665. El análisis automatizado se basa esencialmente en el análisis de quimioluminiscencia tipo emparezado que se describe en detalle en otra parte (Morgenthaler et al. 2004. Clin Chem 50:234-6), y que se usó en otros estudios (Khan et al. 2008. J Am Coll Cardiol 51:1857-64, Gegenhuber et al. 2006. Clin Chem 52:827-31). Para la detección de MR-proANP, se incubaron 14 µl de suero de los pacientes durante 14 minutos. El intervalo de medición fue de 0-10000 pmol/l, el límite de detección 2,1 pmol/l, y el límite de cuantificación 4,5 pmol/l. El CV intra análisis fue del 1,2% y el CV inter laboratorio del 5,4%. Este análisis utiliza el mismo par de anticuerpos que el análisis de referencia (Morgenthaler et al. 2004. Clin Chem 50:234-6), y la correlación entre los dos sistemas de análisis fue r=0,99.

El MR-proADM se detecta utilizando un nuevo sistema de inmunoensayo tipo emparezado totalmente automatizado en el B.R.A.H.M.S KRYPTOR (B.R.A.H.M.S GmbH, Hennigsdorf/Berlin, Alemania) (Caruhel et al. 2009. Clin Biochem 42:725-8). Este analizador de acceso aleatorio emplea la tecnología sensible de emisión de criptados amplificada con resolución temporal (TRACE), con base en una transferencia no radiactiva entre 2 fluoróforos, criptado de europio y XL665. Este análisis automatizado se basa esencialmente en el análisis de

quimioluminiscencia tipo emparejado que se describe en detalle en otra parte (Morgenthaler et al. 2005 Clin Chem 51:1823-9), y que se usó en otros estudios (Khan et al. 2007. J Am Coll Cardiol 49:1525-32, Gegenhuber et al. 2007. J Card Fail 13:42-9). Para la detección de MR-proADM, se incubaron 26 µl de suero durante 29 minutos. El intervalo de medición fue de 0-100 nmol/l, el límite de detección y el límite de cuantificación fueron 0,05 y 0,23 nmol/l, respectivamente. El CV intra análisis es del 1,9% y el CV inter laboratorio es del 9,8%. Este análisis utiliza el mismo par de anticuerpos que se describe con detalle en otra parte (Morgenthaler et al. 2005. Clin Chem 51: 1823-9), y la correlación entre los dos sistemas de análisis es $r=0,99$.

Los niveles de copeptina se midieron con un inmunoanálisis tipo emparejado de quimioluminiscencia con un límite de detección inferior de 1,7 pmol/l (Morgenthaler et al. 2006. Clin Chem 52:112-9). En 359 individuos sanos (153 hombres y 206 mujeres), los niveles medianos de copeptina fueron de 4,2 pmol/l, desde 1,0-13,8 pmol/l. Las concentraciones medias de copeptina difirieron significativamente entre hombres y mujeres. No hubo correlación entre los niveles de copeptina y la edad. El CV inter laboratorio fue $<20\%$ y CV intra análisis fue $<10\%$ para muestras $> 2,25$ pmol/l.

La PCT se midió usando un sistema de prueba ultrasensible comercialmente disponible con una sensibilidad de análisis funcional de 0,007 ng/ml como se describe en Morgenthaler et al. (Morgenthaler et al. 2002. Clin Chem. 48: 788-790).

Análisis de los datos

Se realizaron análisis descriptivos para resumir las características fundamentales de la población estudiada. Las estadísticas descriptivas dadas para variables continuas son medianas (intervalo), para variables categóricas se reporta n (porcentaje). Se utilizaron diagramas de caja y bigotes de valores de marcador único para resumir la distribución de valores de marcador entre sobrevivientes y no sobrevivientes. Para la predicción de la muerte durante un periodo de 2 años se utilizaron modelos de regresión de Cox. Para ilustrar la capacidad de los diferentes marcadores para la predicción de la mortalidad, se calcularon las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier y los pacientes fueron estratificados por cuartiles de marcadores o tertiles de puntuación combinados. Además, se realizaron diagramas de características de operación del receptor dependientes del tiempo (ROC). Una característica de operación del receptor es una representación gráfica de la sensibilidad vs. (1-especificidad), para el resultado (muerte) a medida que se varía su corte. Se calculó la sensibilidad (la proporción de positivos reales correctamente identificados como tales por un biomarcador) y la especificidad (proporción de negativos que se identificaron correctamente) para los valores de corte seleccionados. Los biomarcadores se combinaron con los parámetros del índice BODE mediante la categorización de los biomarcadores y la asignación de pesos a las diferentes categorías.

Resultados

Un total de 548 pacientes fueron incluidos en el estudio. La mediana de edad fue de 67 años (intervalo 40-88). 166 pacientes (30,3%) eran mujeres. 43 (7,8%) de estos pacientes fallecieron durante un periodo de 2 años. Las características fundamentales de la población estudiada se presentan en la Tabla 3.

Las figuras 1 a 4 muestran diagramas de caja y bigotes de valores de marcador único para la predicción de la muerte durante un periodo de los 2 años. Las concentraciones de MR-proADM, MR-proANP, copeptina y PCT fueron significativamente mayores en los no supervivientes que en los supervivientes, respectivamente (Prueba de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$ para los cuatro péptidos marcadores). Las características de operación del receptor (ROC) para los marcadores individuales se muestran en las figuras 5 a 8. Para ilustrar el valor pronóstico de los péptidos marcadores, se calcularon las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para cada marcador individual, dividiendo los pacientes en cuartiles dependiendo de las concentraciones del marcador respectivo (Figuras 9 a 12). Como se muestra en las Figuras 9 a 12, se observaron tasas de mortalidad más altas durante un periodo de 2 años, cuando las concentraciones de MR-proADM, MR-proANP, copeptina y PCT, respectivamente, estaban en el cuarto cuartil comparado con el primer al tercer cuartil.

La precisión pronóstica global de los péptidos marcadores se evaluó mediante análisis de regresión de Cox uni y multivariante (Tablas 4 y 5). En los modelos multivariantes, los biomarcadores se combinaron con los parámetros del índice BODE como variables continuas (Tabla 4) y variables categorizadas (Tabla 5). Cuando se utilizaron los biomarcadores como variables categorizadas, se definieron dos puntos de corte diferentes que resultaron en una puntuación de 0, 2 o 4 para cada biomarcador: 0,5 y 0,8 nmol/l para MR-proADM, 50 y 140 pmol/l para MR-proANP, 2 y 14 pmol/l para copeptina y 0,07 y 0,1 ng/ml para PCT. A continuación, se añadió la puntuación de biomarcador respectiva a la puntuación obtenida de los parámetros de índice BODE, BOD o BD a una puntuación combinada.

Las curvas ROC para el biomarcador MR-proADM como variable categorizada combinada con el índice BODE, BOD y BD, respectivamente, se muestran en las Figuras 13 a 15. Las curvas ROC para el biomarcador MR-proANP como variable categorizada combinada con el índice BODE, BOD y BD, respectivamente, se muestran en las Figuras 16 a 18. Las curvas ROC para el biomarcador copeptina como variable categorizada combinada con el índice BODE, BOD y BD, respectivamente, se muestran en las Figuras 19 a 21 y para el biomarcador PCT como variable categorizada combinada con el índice BODE, BOD y BD, respectivamente, en las Figuras 22 a 24.

Estos resultados muestran que un modelo que incluye un biomarcador (como variable continua o categórica) fue significativamente mejor que el modelo utilizando los parámetros del índice BODE solamente. Sorprendentemente, la predicción de la muerte durante un periodo de dos años fue similar o incluso mejor cuando un biomarcador se combinó con los parámetros del índice BOD o BD, omitiendo los parámetros del índice E y/o O. En otras palabras, una puntuación utilizando un biomarcador en combinación con los parámetros evaluables fácilmente de IMC (B) y disnea (D), omitiendo los parámetros E (prueba de marcha de 6 minutos) y O (grado de obstrucción del flujo de aire) difíciles y complejos de determinar, dan resultados similares o incluso mejores comparados con una puntuación usando un biomarcador en combinación con el índice BODE completo.

Las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier se calcularon para la combinación de péptidos marcadores con los parámetros del índice BODE, BOD o BD (Figuras 25 a 36), dividiendo a los pacientes en grupos de riesgo dependiendo de la puntuación respectiva. Por ejemplo, la Figura 25 muestra la curva de supervivencia de Kaplan-Meier para la combinación de MR-proADM y los parámetros del índice BODE. La puntuación posible fue entre 0 y 13 (de acuerdo con la puntuación de BODE en la Tabla 2 más una puntuación de 0, 2 o 4 para MR-proADM usando los valores de corte 0,5 y 0,8 nmol/l como se indica en la Tabla 5). Se observaron bajas tasas de mortalidad cuando los pacientes tuvieron una puntuación entre 0 y 3 (2,5%), mientras que se observaron tasas de mortalidad intermedia (6,8%) cuando la puntuación se situaba entre 4 y 6, y se observaron altas tasas de mortalidad (15,8%) cuando la puntuación era de 7 a 13. La Figura 27 muestra la curva de supervivencia de Kaplan-Meier para la combinación de MR-proADM y los parámetros del índice BD. La puntuación posible (de acuerdo con la puntuación de BD en la Tabla 2 más una puntuación de 0, 2 o 4 para MR-proADM usando los valores de corte 0,5 y 0,8 nmol/l como se indica en la Tabla 5) estaba entre 0 y 8. Se observaron bajas tasas de mortalidad cuando los pacientes tenían una puntuación entre 0 y 2 (3,0%), mientras que se observaron tasas de mortalidad intermedia (8,3%) cuando la puntuación estaba entre 3 y 4 y se observaron altas tasas de mortalidad (18,0%) con una puntuación de 5 a 8.

Además, este hallazgo es enfatizado por los siguiente análisis y hallazgos:

Se incluyeron en el estudio 45 pacientes adicionales sin la prueba de marcha de 6 minutos (parámetro E del índice). 11 de estos pacientes murieron durante un periodo de seguimiento de 2 años. La tasa de mortalidad de estos pacientes es del 24,4% y más de 3 veces superior a la tasa de mortalidad de los 548 pacientes inicialmente analizados en los que estaban disponibles todos los parámetros del índice (incluyendo E). Por lo tanto, se planteó la hipótesis de que la prueba de 6 minutos de marcha en estos 45 pacientes no faltara al azar, pero podría no ser realizada debido a la mala constitución de los pacientes. La variable E ausente fue reemplazada por el número máximo de 3 puntos (ver Tabla 2) y los 45 pacientes fueron incluidos en el modelo (Tabla 6). Nuevamente, el modelo que incluía un biomarcador fue significativamente mejor que el modelo utilizando solo los parámetros del índice BODE y la predicción de muerte en dos años fue similar o incluso mejor cuando se combinó un biomarcador con los parámetros del índice BOD o BD, omitiendo los parámetros E y/o O del índice.

Tabla 1: Clasificación de la gravedad de la limitación del flujo de aire en la EPOC (Iniciativa Global para la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica, Guía de Bolsillo para el diagnóstico, gestión y prevención de la EPOC, versión revisada 2011) en pacientes con VEF1/CVF <0,7

Etapa		VEF ₁	
GOLD 1	Leve	VEF ₁ ≥ 80% predicción	En esta etapa, es probable que el paciente no sepa que la función pulmonar está empezando a disminuir.
GOLD 2	Moderado	≤ 50% VEF ₁ < 80% predicción	Los síntomas durante esta etapa progresan, cuando hay esfuerzo se desarrolla la falta de aliento.
GOLD 3	Severo	≤ 30% VEF ₁ < 50% predicción	La falta de aliento empeora en esta etapa y las exacerbaciones de la EPOC son comunes.
GOLD 4	Muy Severo	VEF ₁ < 30% predicción	La calidad de vida en esta etapa está gravemente afectada. Las exacerbaciones de la EPOC pueden poner en peligro la vida.

Tabla 2: índice BODE

Variable	Puntos en el índice BODE			
	0	1	2	3

Variable	Puntos en el índice BODE			
	0	1	2	3
VEF ₁ (% de predicción)	≥65	50-64	36-49	≤ 35
Distancia caminada en 6 minutos	≥350	250-349	150-249	≤ 149
Escala de disnea MMRC	0-2	3	4	5
Índice de masa corporal (kg.m ⁻²)	>21	≤ 21		

Tabla 3: Características del paciente (n = 548 pacientes)

	Sobrevivientes (n=505)	No sobrevivientes (n=43)	p
Edad	66,4 (60-73)	69,1 (62-77)	> 0,05
Sexo (hembra)	149 (29,5 %)	17 (39,5 %)	> 0,05
IMC	26,2 (22,7-28,8)	24,0 (19,4-27,1)	< 0,05
Índice BODE	3 (1-4)	5 (2-7)	<0,001
No. exacerbaciones (por año)	0,7 (0 -1,7)	0,0 (0-2,3)	> 0,05
MR/proADM (nmol/l)	0,6 (0,5-0,8)	0,8 (0,5-1,2)	<0,01
MR-proANP (pmol/l)	80,7 (52,0-135,9)	141,7 (62,3-197,8)	< 0,05
Copeptina (pmol/l)	8,6 (2,4-14,5)	11,1 (6,1-28,8)	< 0,05
PCT (ng/ml)	0,08 (0,07-0,1)	0,09 (0,07-0,1)	< 0,05

Tabla 4: Predicción de la mortalidad durante un periodo de 2 años (biomarcador continuo, parámetros del índice BODE como variable categórica) en 548 pacientes con EPOC

Modelo Univariable	Modelo χ^2	Valor p	Índice C
PCT	4,04	<0,05	0,604
Copeptina	9,58	<0,01	0,605
MR-proANP	10,9	<0,001	0,611
MR-proADM	16,41	<0,001	0,632
BODE	21,87	<0,001	0,678
BOD	15,91	<0,001	0,654
BD	24,15	<0,001	0,683
PCT, BODE	26,67	<0,001	0,698
PCT, BOD	20,63	<0,001	0,678
PCT, BD	26,97	<0,001	0,706
Copeptina, BODE	29,65	<0,001	0,71
Copeptina, BOD	25,12	<0,001	0,703

Copeptina, BD	32,65	<0,001	0,724
MR-proANP, BODE	33,71	<0,001	0,736
MR-proANP, BOD	29,91	<0,001	0,727
MR-proANP, BD	36,54	<0,001	0,741
MR-proADM, BODE	35,28	<0,001	0,75
MR-proADM, BOD	31,84	<0,001	0,743
MR-proADM, BD	37,47	<0,001	0,756

Tabla 5: Predicción de la mortalidad durante un periodo de 2 años (biomarcadores y parámetros del índice BODE como variables categóricas) en 548 pacientes con EPOC

Modelo Multivariable	Modelo χ^2	Valor p	Índice C
PCT, BODE (*)	33,51	<0,001	0,727
PCT, BOD (*)	26,48	<0,001	0,713
PCT, BD (*)	29,18	<0,001	0,726
Copeptina, BODE (**)	23,37	<0,001	0,687
Copeptina, BOD (**)	17,81	<0,001	0,673
Copeptina, BD (**)	22,1	<0,001	0,686
MR-proANP, BODE (~)	32,29	<0,001	0,739
MR-proANP, BOD (~)	27,73	<0,001	0,727
MR-proANP, BD (~)	31,32	<0,001	0,728
MR-proADM, BODE (#)	27,89	<0,001	0,721
MR-proADM, BOD (#)	33,43	<0,001	0,706
MR-proADM, BD (#)	25,38	<0,001	0,715

Cortes de biomarcador en este modelo:

* PCT: $\leq 0,07$ ng/ml → puntuación 0

$>0,07$ ng/ml y $\leq 0,1$ ng/ml → puntuación 2

$> 0,1$ ng/ml → puntuación 4

** Copeptina: ≤ 2 pmol/l → puntuación 0

>2 pmol/l y ≤ 14 pmol/l → puntuación 2

> 14 pmol/l → puntuación 4

□ MR-proANP: ≤ 50 pmol/l → puntuación 0

>50 pmol/l y ≤ 140 pmol/l → puntuación 2

> 140 pmol/l → puntuación 4

MR-proADM: ≤ 0.5 nmol/l → puntuación 0

$>0,5$ nmol/l y ≤ 0.8 nmol/l → puntuación 2

$> 0,8$ nmol/l → puntuación 4

Tabla 6: Predicción de la mortalidad durante un periodo de 2 años (biomarcadores y parámetros del índice BODE como variables continuas) en 593 pacientes (548 pacientes más 45 con el parámetro E ausente que fue reemplazado por el máximo de 3 puntos)

Modelo Univariable	Modelo χ^2	Valor p	Índice C
PCT	10,78	0,0010	0,621
Copeptina	13,64	0,0002	0,627
MR-proANP	20,84	<0,0001	0,650
MR-proADM	26,71	<0,0001	0,661
BODE	42,69	<0,001	0,718
BOD	31,95	<0,0001	0,693
BD	45,06	<0,0001	0,723
PCT, BODE	53,05	<0,001	0,739
PCT, BOD	43,24	<0,0001	0,726
PCT, BD	52,15	<0,0001	0,748
Copeptina, BODE	53,93	<0,001	0,751
Copeptina, BOD	45,26	<0,0001	0,740
Copeptina, BD	56,44	<0,0001	0,764
MR-proANP, BODE	62,04	<0,001	0,772
MR-proANP, BOD	57,12	<0,0001	0,766
MR-proANP, BD	66,07	<0,0001	0,782
MR-proADM, BODE	62,44	<0,001	0,778
MR-proADM, BOD	56,4	<0,0001	0,774
MR-proADM, BD	65,15	<0,0001	0,789

5 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> B.R.A.H.M.S. GmbH

<120> Predicción del desenlace en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

<130> B.P 882 WO

<150> EP 12001590.4

10 <151> 2012-03-08

<160> 16

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 153

15 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

ES 2 631 653 T3

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

<210> 2

<211> 126

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 2

ES 2 631 653 T3

Asn Pro Met Tyr Asn Ala Val Ser Asn Ala Asp Leu Met Asp Phe Lys
1 5 10 15

Asn Leu Leu Asp His Leu Glu Glu Lys Met Pro Leu Glu Asp Glu Val
20 25 30

Val Pro Pro Gln Val Leu Ser Glu Pro Asn Glu Glu Ala Gly Ala Ala
35 40 45

Leu Ser Pro Leu Pro Glu Val Pro Pro Trp Thr Gly Glu Val Ser Pro
50 55 60

Ala Gln Arg Asp Gly Gly Ala Leu Gly Arg Gly Pro Trp Asp Ser Ser
65 70 75 80

Asp Arg Ser Ala Leu Leu Lys Ser Lys Leu Arg Ala Leu Leu Thr Ala
85 90 95

Pro Arg Ser Leu Arg Arg Ser Ser Cys Phe Gly Gly Arg Met Asp Arg
100 105 110

Ile Gly Ala Gln Ser Gly Leu Gly Cys Asn Ser Phe Arg Tyr
115 120 125

<210> 3

<211> 98

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 3

Asn Pro Met Tyr Asn Ala Val Ser Asn Ala Asp Leu Met Asp Phe Lys
1 5 10 15

Asn Leu Leu Asp His Leu Glu Glu Lys Met Pro Leu Glu Asp Glu Val
20 25 30

Val Pro Pro Gln Val Leu Ser Glu Pro Asn Glu Glu Ala Gly Ala Ala
35 40 45

Leu Ser Pro Leu Pro Glu Val Pro Pro Trp Thr Gly Glu Val Ser Pro
50 55 60

Ala Gln Arg Asp Gly Gly Ala Leu Gly Arg Gly Pro Trp Asp Ser Ser
65 70 75 80

Asp Arg Ser Ala Leu Leu Lys Ser Lys Leu Arg Ala Leu Leu Thr Ala
85 90 95

Pro Arg

ES 2 631 653 T3

<210> 4

<211> 38

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5 <400> 4

Pro Glu Val Pro Pro Trp Thr Gly Glu Val Ser Pro Ala Gln Arg Asp
1 5 10 15

Gly Gly Ala Leu Gly Arg Gly Pro Trp Asp Ser Ser Asp Arg Ser Ala
20 25 30

Leu Leu Lys Ser Lys Leu
35

<210> 5

<211> 185

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 5

ES 2 631 653 T3

Met Lys Leu Val Ser Val Ala Leu Met Tyr Leu Gly Ser Leu Ala Phe
1 5 10 15
Leu Gly Ala Asp Thr Ala Arg Leu Asp Val Ala Ser Glu Phe Arg Lys
20 25 30
Lys Trp Asn Lys Trp Ala Leu Ser Arg Gly Lys Arg Glu Leu Arg Met
35 40 45
Ser Ser Ser Tyr Pro Thr Gly Leu Ala Asp Val Lys Ala Gly Pro Ala
50 55 60
Gln Thr Leu Ile Arg Pro Gln Asp Met Lys Gly Ala Ser Arg Ser Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ser Ser Pro Asp Ala Ala Arg Ile Arg Val Lys Arg Tyr Arg
85 90 95
Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys Arg Phe
100 105 110
Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln Phe Thr
115 120 125
Asp Lys Asp Lys Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser Pro Gln
130 135 140
Gly Tyr Gly Arg Arg Arg Arg Arg Ser Leu Pro Glu Ala Gly Pro Gly
145 150 155 160
Arg Thr Leu Val Ser Ser Lys Pro Gln Ala His Gly Ala Pro Ala Pro
165 170 175
Pro Ser Gly Ser Ala Pro His Phe Leu
180 185

<210> 6

<211> 164

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 6

ES 2 631 653 T3

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

Ala Leu Ser Arg Gly Lys Arg Glu Leu Arg Met Ser Ser Ser Tyr Pro
20 25 30

Thr Gly Leu Ala Asp Val Lys Ala Gly Pro Ala Gln Thr Leu Ile Arg
35 40 45

Pro Gln Asp Met Lys Gly Ala Ser Arg Ser Pro Glu Asp Ser Ser Pro
50 55 60

Asp Ala Ala Arg Ile Arg Val Lys Arg Tyr Arg Gln Ser Met Asn Asn
65 70 75 80

Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys Arg Phe Gly Thr Cys Thr Val
85 90 95

Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln Phe Thr Asp Lys Asp Lys Asp
100 105 110

Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser Pro Gln Gly Tyr Gly Arg Arg
115 120 125

Arg Arg Arg Ser Leu Pro Glu Ala Gly Pro Gly Arg Thr Leu Val Ser
130 135 140

Ser Lys Pro Gln Ala His Gly Ala Pro Ala Pro Pro Ser Gly Ser Ala
145 150 155 160

Pro His Phe Leu

<210> 7

<211> 48

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 7

Glu Leu Arg Met Ser Ser Ser Tyr Pro Thr Gly Leu Ala Asp Val Lys
1 5 10 15

Ala Gly Pro Ala Gln Thr Leu Ile Arg Pro Gln Asp Met Lys Gly Ala
20 25 30

Ser Arg Ser Pro Glu Asp Ser Ser Pro Asp Ala Ala Arg Ile Arg Val
35 40 45

<210> 8

ES 2 631 653 T3

<211> 164

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Pro Asp Thr Met Leu Pro Ala Cys Phe Leu Gly Leu Leu Ala Phe
1 5 10 15

Ser Ser Ala Cys Tyr Phe Gln Asn Cys Pro Arg Gly Gly Lys Arg Ala
20 25 30

Met Ser Asp Leu Glu Leu Arg Gln Cys Leu Pro Cys Gly Pro Gly Gly
35 40 45

Lys Gly Arg Cys Phe Gly Pro Ser Ile Cys Cys Ala Asp Glu Leu Gly
50 55 60

Cys Phe Val Gly Thr Ala Glu Ala Leu Arg Cys Gln Glu Glu Asn Tyr
65 70 75 80

Leu Pro Ser Pro Cys Gln Ser Gly Gln Lys Ala Cys Gly Ser Gly Gly
85 90 95

Arg Cys Ala Ala Phe Gly Val Cys Cys Asn Asp Glu Ser Cys Val Thr
100 105 110

Glu Pro Glu Cys Arg Glu Gly Phe His Arg Arg Ala Arg Ala Ser Asp
115 120 125

Arg Ser Asn Ala Thr Gln Leu Asp Gly Pro Ala Gly Ala Leu Leu Leu
130 135 140

Arg Leu Val Gln Leu Ala Gly Ala Pro Glu Pro Phe Glu Pro Ala Gln
145 150 155 160

5 Pro Asp Ala Tyr

<210> 9

<211> 145

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 9

ES 2 631 653 T3

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

<210> 10

5 <211> 39

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Ala Ser Asp Arg Ser Asn Ala Thr Gln Leu Asp Gly Pro Ala Gly Ala
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Arg Leu Val Gln Leu Ala Gly Ala Pro Glu Pro Phe Glu
 20 25 30
 Pro Ala Gln Pro Asp Ala Tyr
 35

10 <210> 11

ES 2 631 653 T3

<211> 93

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Ala Met Ser Asp Leu Glu Leu Arg Gln Cys Leu Pro Cys Gly Pro Gly
1 5 10 15

Gly Lys Gly Arg Cys Phe Gly Pro Ser Ile Cys Cys Ala Asp Glu Leu
20 25 30

Gly Cys Phe Val Gly Thr Ala Glu Ala Leu Arg Cys Gln Glu Glu Asn
35 40 45

Tyr Leu Pro Ser Pro Cys Gln Ser Gly Gln Lys Ala Cys Gly Ser Gly
50 55 60

Gly Arg Cys Ala Ala Phe Gly Val Cys Cys Asn Asp Glu Ser Cys Val
65 70 75 80

Thr Glu Pro Glu Cys Arg Glu Gly Phe His Arg Arg Ala
85 90

5

<210> 12

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10 <400> 12

ES 2 631 653 T3

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

<210> 13

<211> 134

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 13

ES 2 631 653 T3

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

<210> 14

<211> 108

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 14

ES 2 631 653 T3

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

<210> 15

<211> 76

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 15

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

<210> 16

<211> 32

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

ES 2 631 653 T3

Ser Pro Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp
1 5 10 15

Arg Ile Ser Ser Ser Ser Gly Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His
20 25 30

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para el pronóstico y/o la evaluación del riesgo y/o la monitorización de la terapia y/o la gestión de pacientes con EPOC, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

i) proporcionar una muestra de un fluido corporal de dicho paciente,

5 ii) determinar en dicha muestra el nivel de al menos un biomarcador, seleccionado del grupo que consiste en proadrenomedulina (proADM), péptido pronatriurético, provasopresina (proAVP) y procalcitonina (PCT) o fragmentos de los mismos de al menos 12 aminoácidos de longitud,

iii) determinar los parámetros del índice BODE de acuerdo con una de las siguientes etapas:

10 iii-a) determinar los parámetros del índice BODE, el índice de masa corporal (IMC, parámetro B), grado de obstrucción del flujo de aire (VEF₁, parámetro O), y disnea (parámetro D), omitiendo la capacidad de ejercicio de los parámetros de índice BODE (parámetro E);

iii-b) determinar los parámetros del índice BODE, el índice de masa corporal (IMC, parámetro B) y la disnea (parámetro D), omitiendo del índice BODE, los parámetros de la capacidad de ejercicio (parámetro E) y el grado de obstrucción del flujo de aire (VEF₁, parámetro O);

15 iv) correlacionar dicho nivel de dicho al menos un biomarcador determinado en la etapa ii), en combinación con dichos parámetros del índice BODE determinados en la etapa iii-a) o en la etapa iii-b) para el pronóstico y/o la evaluación del riesgo y/o la monitorización de la terapia y/o la gestión de pacientes con EPOC.

20 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho nivel de dicho al menos un biomarcador o fragmentos de los mismos de al menos 12 aminoácidos de longitud se combina como una variable continua o categórica con dichos dos o tres parámetros de índice BODE.

3. El procedimiento de las reivindicaciones 1 a 2, en el que dicho nivel de dicho al menos un biomarcador o fragmentos de los mismos de al menos 12 aminoácidos de longitud y dichos dos o tres parámetros de índice BODE se combinan en una puntuación.

25 4. El procedimiento de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el nivel de dicho al menos un biomarcador o fragmentos de los mismos de al menos 12 aminoácidos de longitud y dichos dos o tres parámetros de índice BODE se ponderan de manera diferente.

5. El procedimiento de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el paciente diagnosticado con EPOC puede estar en el estado estable o inestable (exacerbado agudo) de la enfermedad.

30 6. El procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5, en el que el pronóstico y/o la evaluación del riesgo se relacionan con la evaluación del riesgo de mortalidad y los pacientes se estratifican en supervivientes potenciales y no supervivientes potenciales.

35 7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el pronóstico y/o la evaluación del riesgo se refiere a la evaluación del riesgo de la mortalidad durante un periodo de 5 años, más preferible durante un periodo de 4 años, incluso más preferible durante un periodo de 3 años, incluso más preferible durante un periodo de 2 años, incluso más preferible durante un periodo de 1 año, lo más preferible durante un periodo de 6 meses.

8. El procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5, en el que el pronóstico y/o la evaluación del riesgo se relacionan con el riesgo de sufrir una exacerbación aguda y los pacientes se estratifican en un grupo de pacientes que probablemente presentarán una exacerbación aguda o en un grupo de pacientes que probablemente no presenten una exacerbación aguda.

40 9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el pronóstico y/o evaluación de riesgo se refiere a la evaluación del riesgo de sufrir una exacerbación aguda durante un periodo de 2 años, más preferible durante un periodo de un año, incluso más preferible durante un periodo de 6 meses, incluso más preferible durante un periodo de 3 meses, incluso más preferible durante un periodo de 90 días, incluso más preferible durante un periodo de 1 mes, incluso más preferible durante un periodo de 30 días, incluso más preferible durante un periodo de 14 días, lo más preferible durante un periodo de 7 días.

45 10. El procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 8, en el que la muestra se selecciona del grupo que comprende una muestra de sangre, una muestra de suero, una muestra de plasma, una muestra de líquido cefalorraquídeo, una muestra de saliva y una muestra de orina o un extracto de cualquiera de las muestras antes mencionadas.

50 11. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que se determina el nivel de un fragmento precursor, seleccionado del grupo que consiste en MR-proADM, NT-proBNP, BNP, MR-proANP, copeptina, PCT 1-116, PCT 2-116 o PCT 3-116.

12. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que los valores de corte de MR-proADM están entre 0,5 y 2 nmol/l, más preferible entre 0,5 y 1 nmol/l, lo más preferible entre 0,5 y 0,8 nmol/l.

13. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que los valores de corte para MR-proANP están entre 50 y 250 pmol/l, más preferible entre 50 y 200 pmol/l, lo más preferible entre 50 y 140 pmol/l.

5 14. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que los valores de corte para copeptina están entre 2 y 30 pmol/l, más preferible entre 2 y 20 pmol/l, lo más preferible entre 2 y 14 pmol/l.

15. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que los valores de corte para PCT están entre 0,07 y 0,5 ng/ml, más preferible entre 0,07 y 0,25 ng/ml, incluso más preferible entre 0,07 y 0,2 ng/ml, lo más preferible entre 0,07 y 0,1 ng/ml.

10

Fig. 1

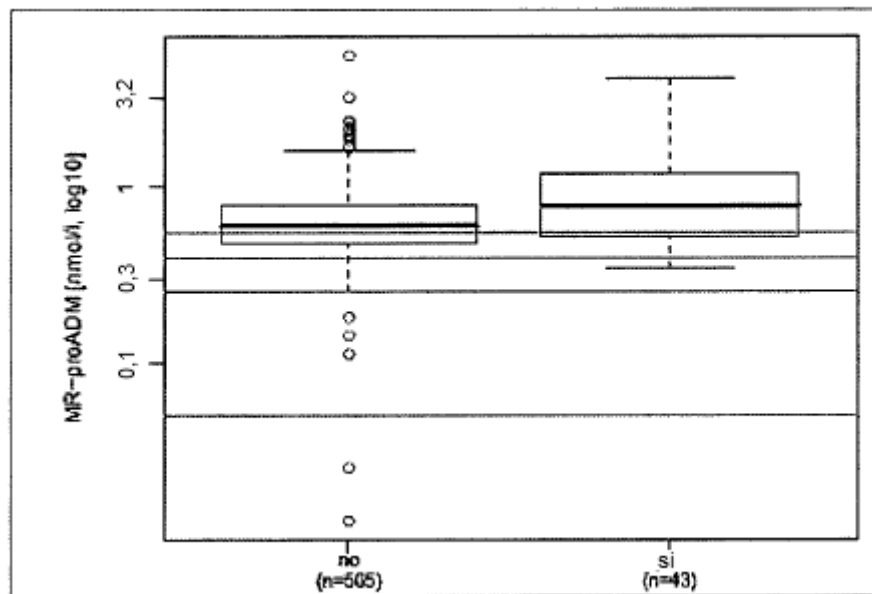


Fig. 2

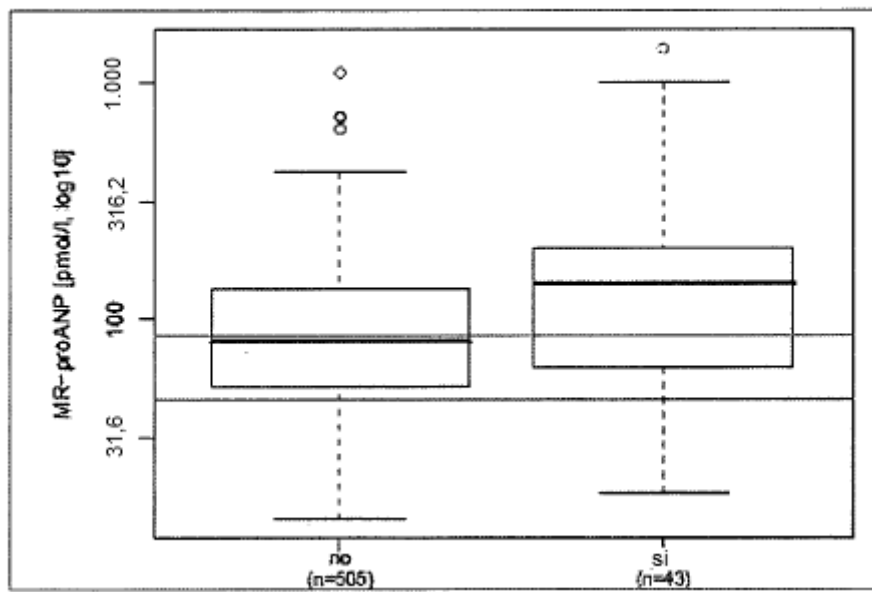


Fig. 3

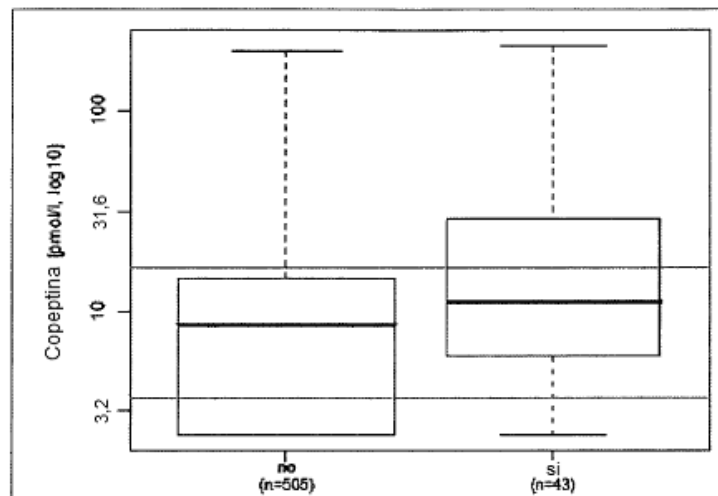


Fig. 4

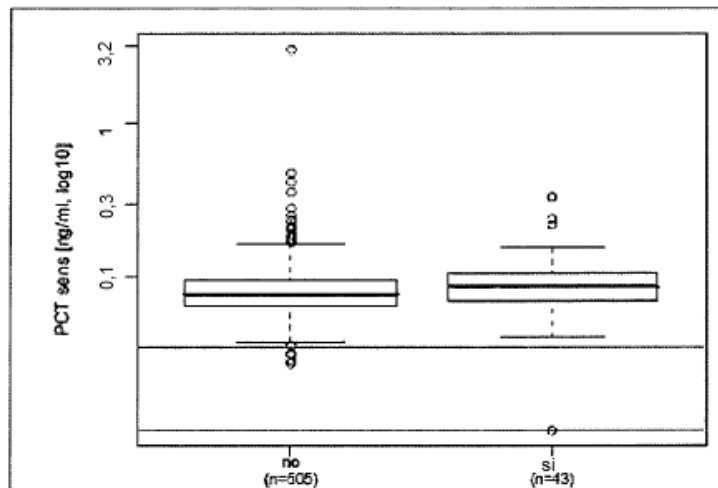


Fig. 5

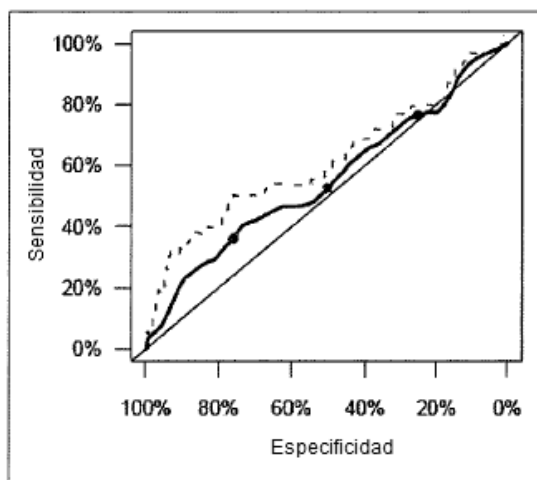


Fig. 6

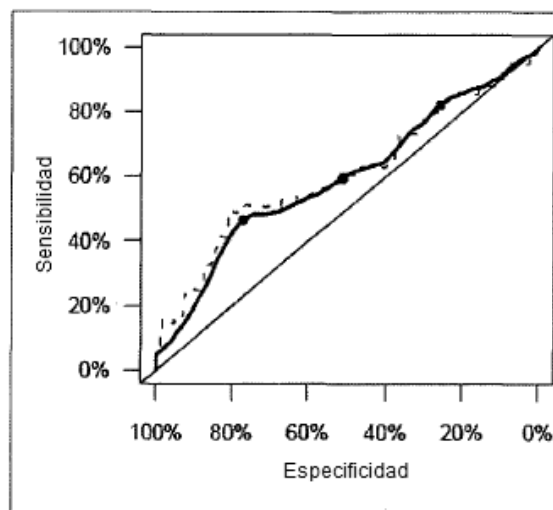


Fig. 7

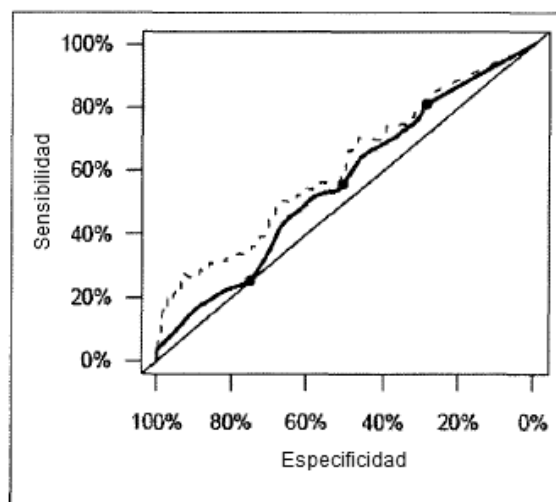


Fig. 8

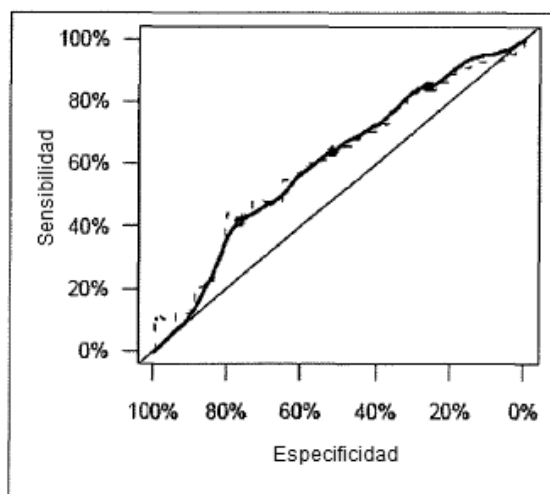


Fig. 9

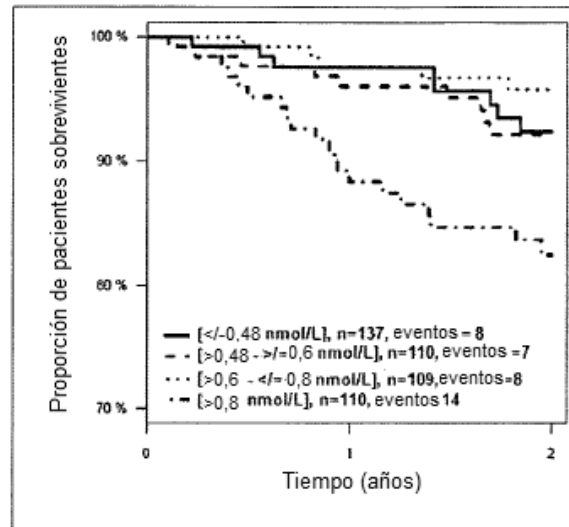


Fig. 10

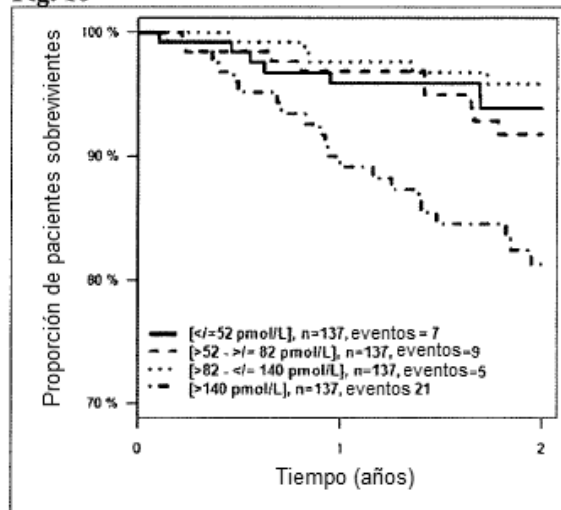


Fig. 11

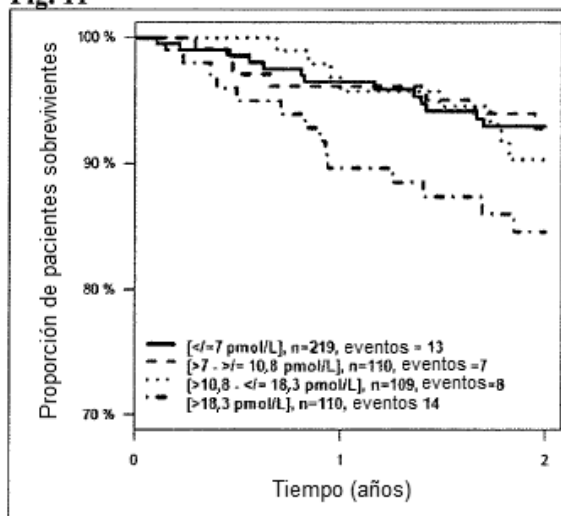


Fig. 12

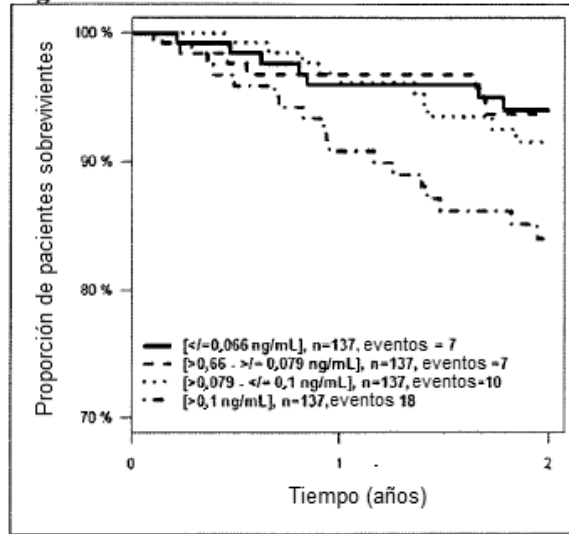


Fig. 13

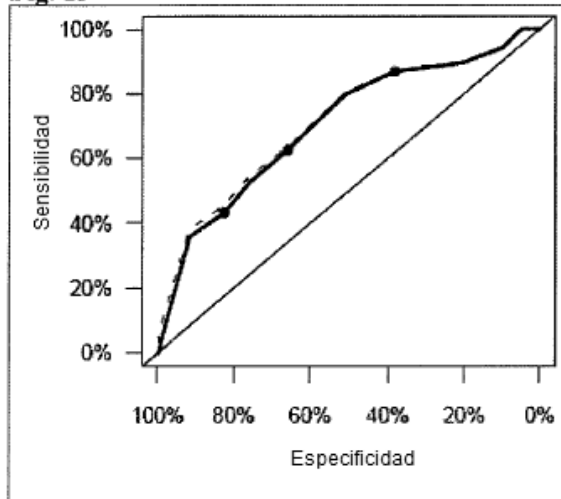


Fig. 14

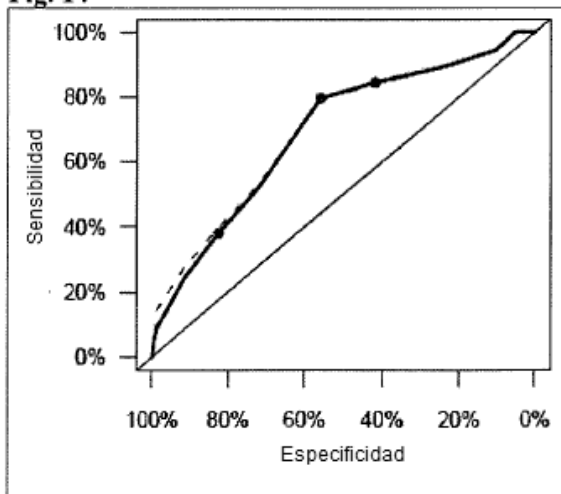


Fig. 15

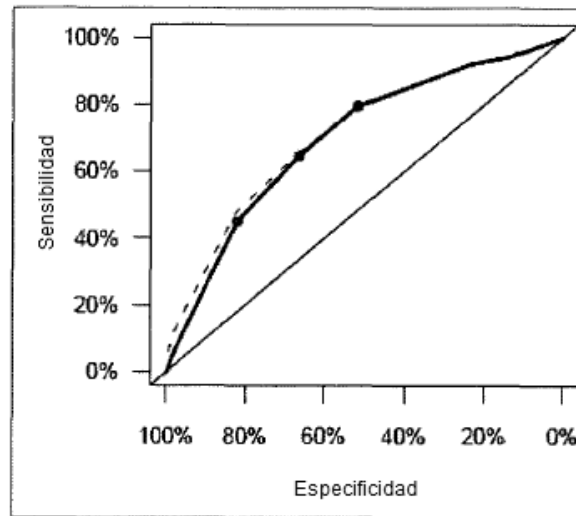


Fig. 16

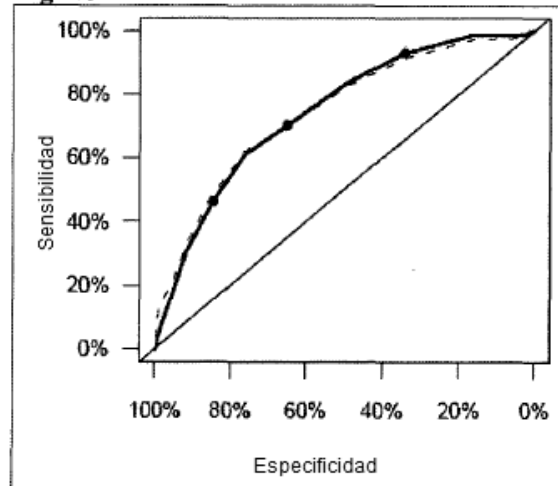


Fig. 17

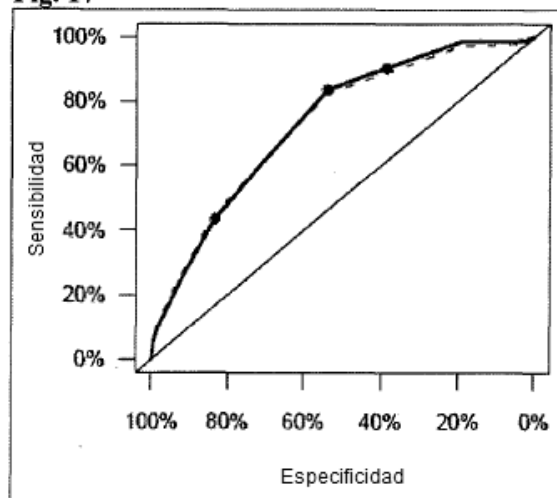


Fig. 18

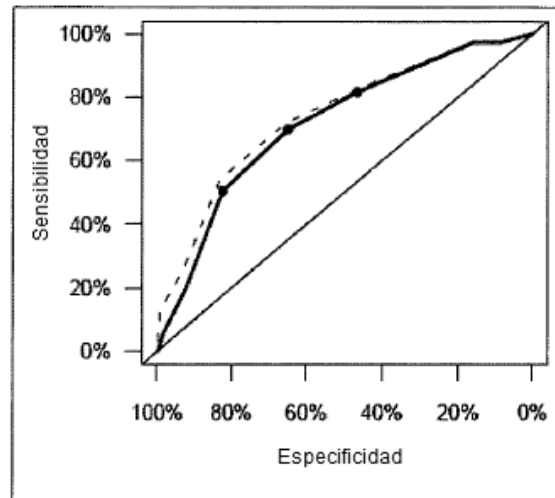


Fig. 19

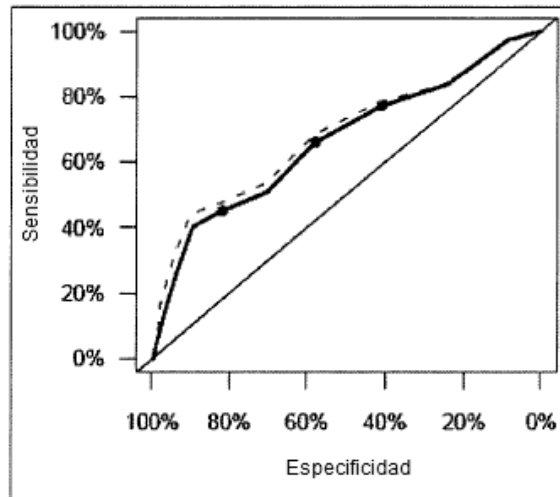


Fig. 20

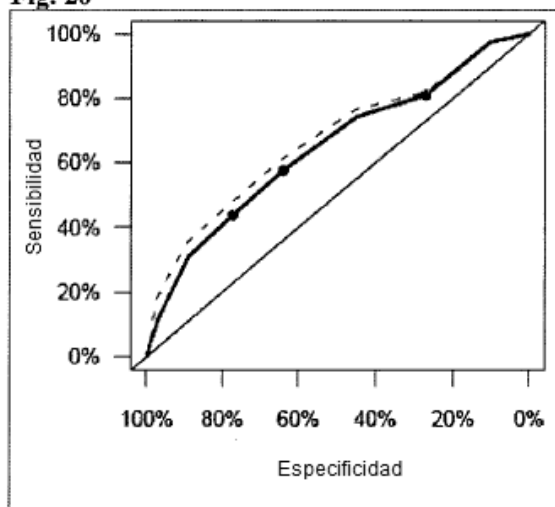


Fig. 21

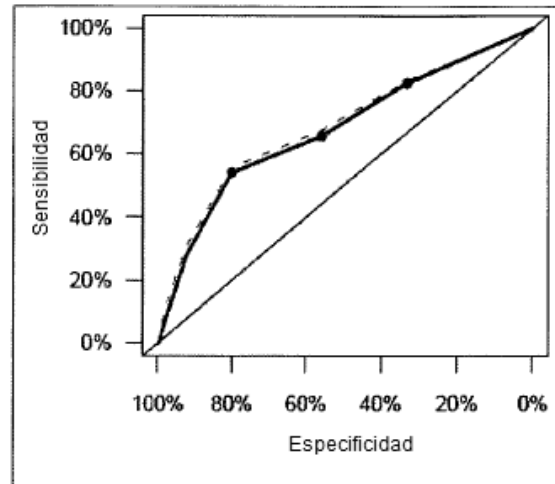


Fig. 22

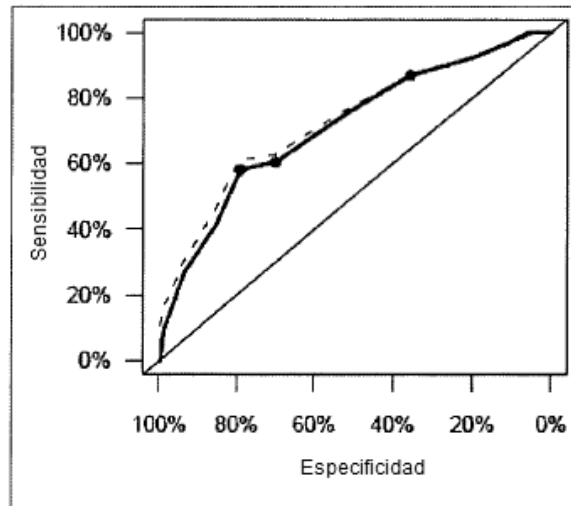


Fig. 23

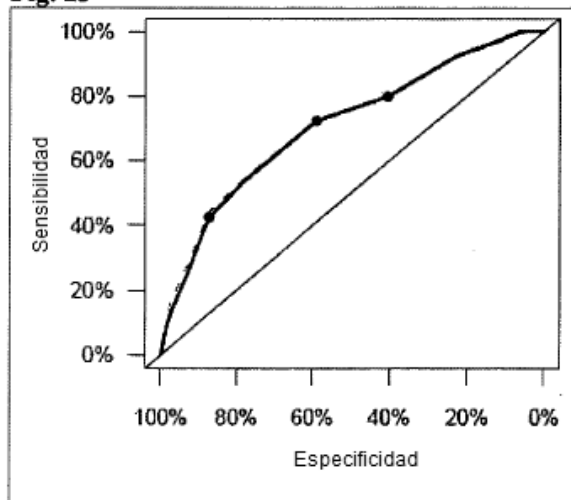


Fig. 24

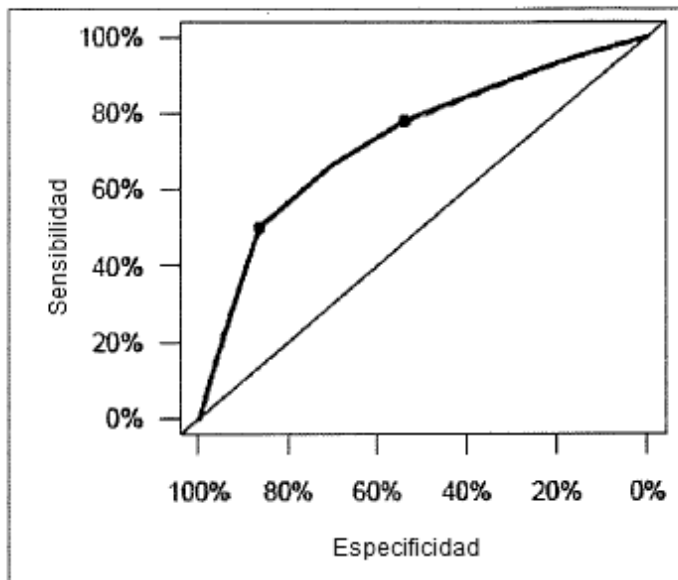


Fig. 25

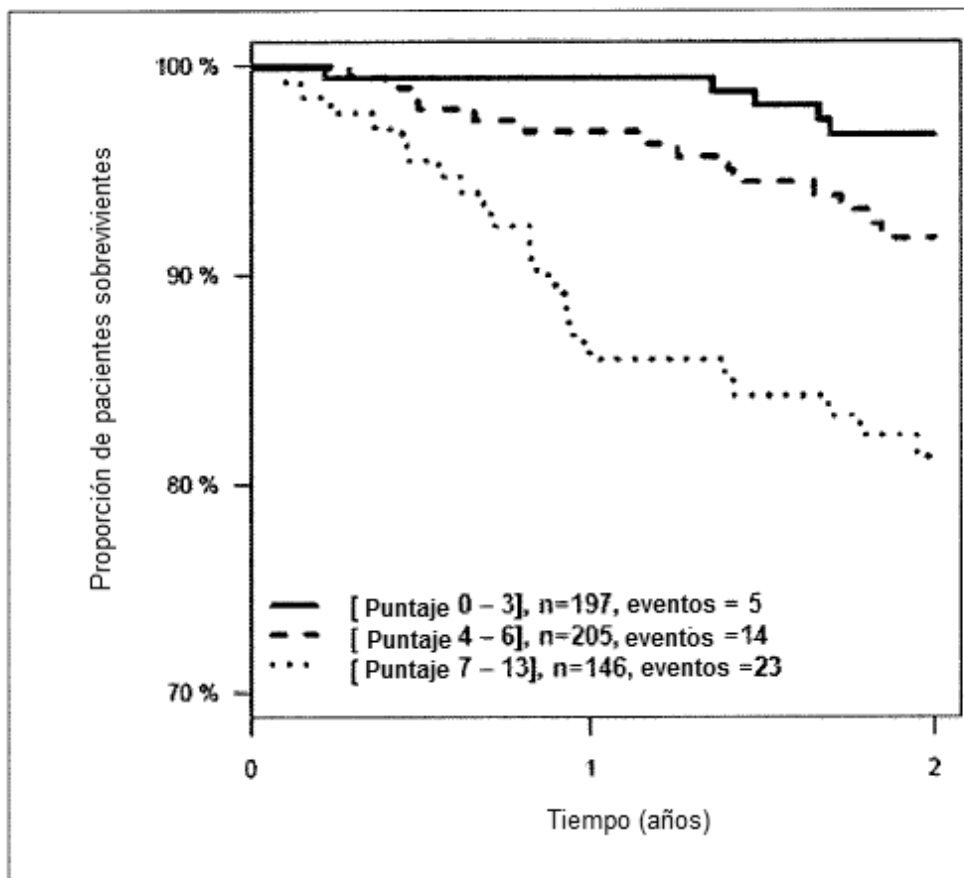


Fig. 26

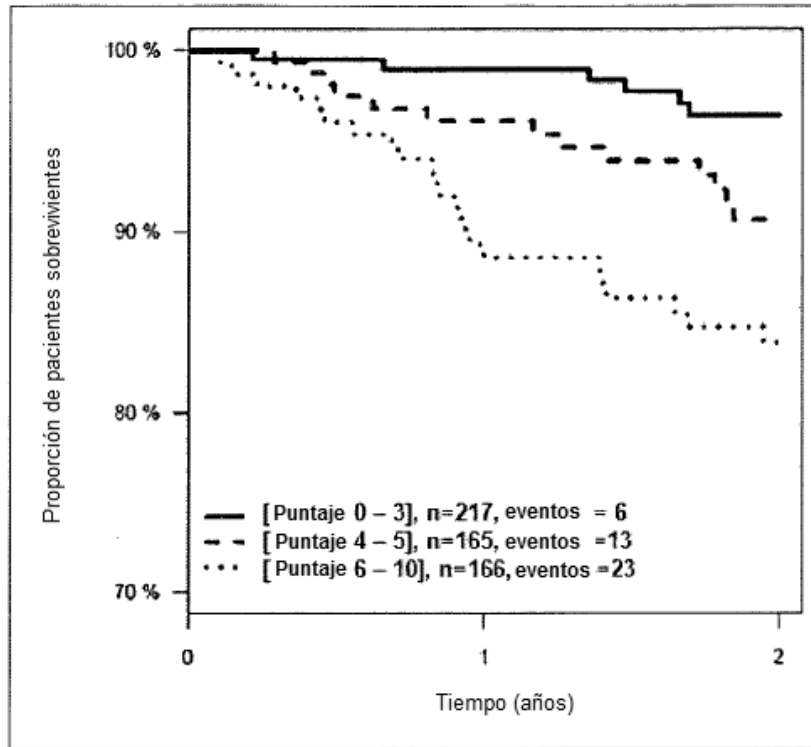


Fig. 27

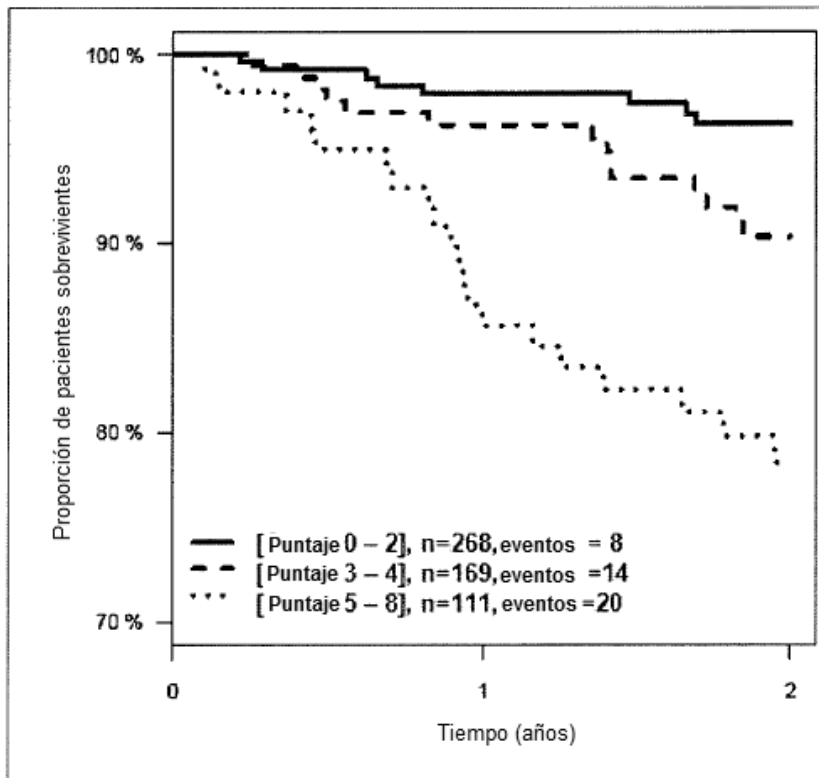


Fig. 28

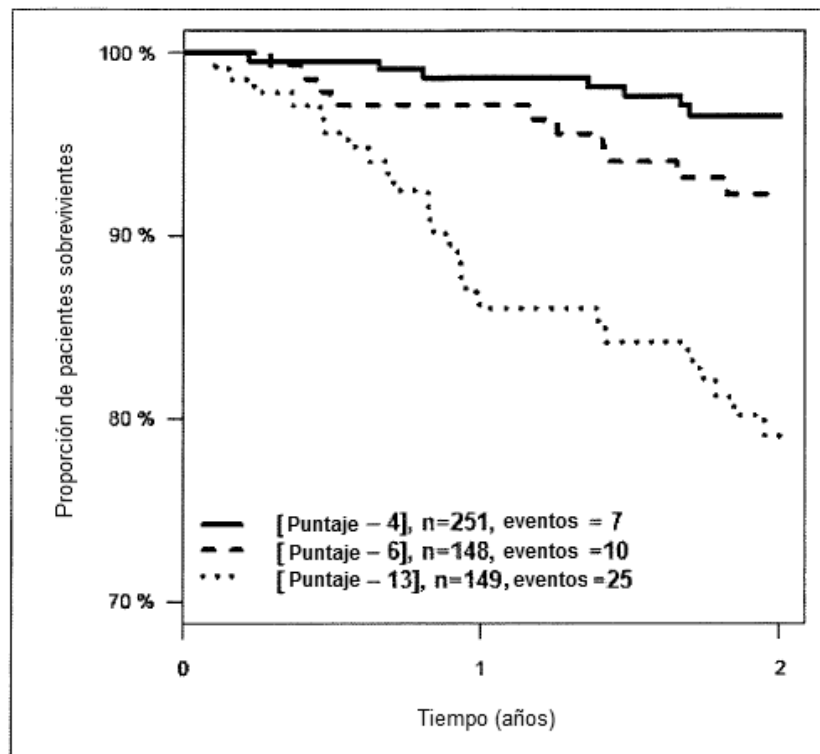


Fig. 29

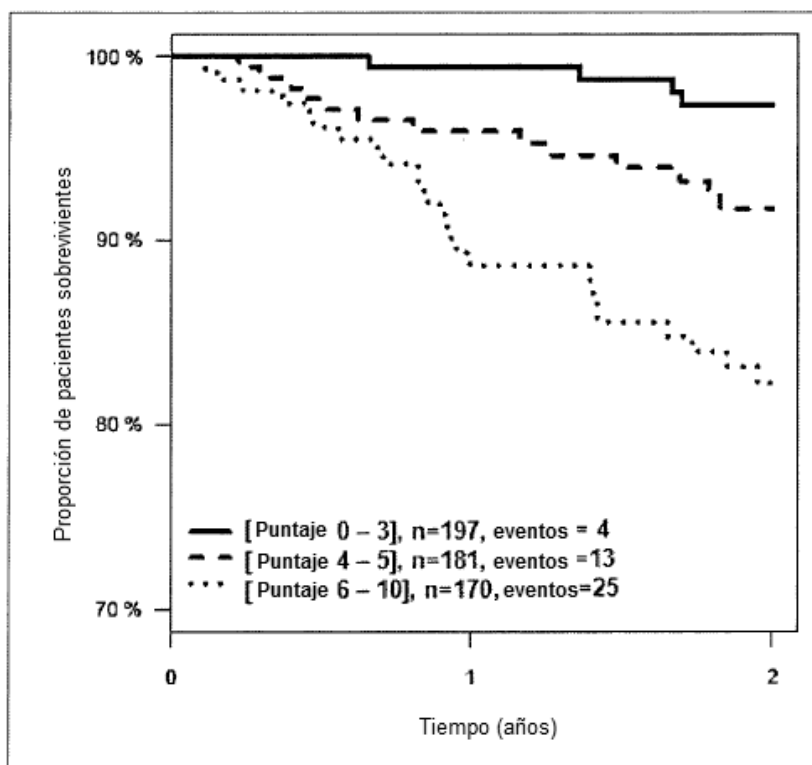


Fig. 30

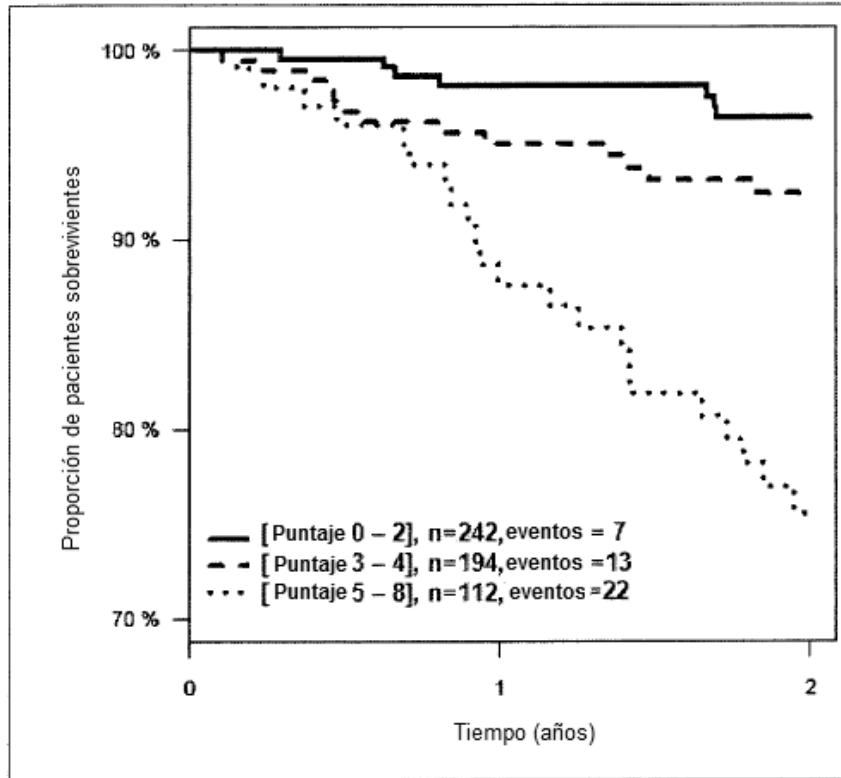


Fig. 31

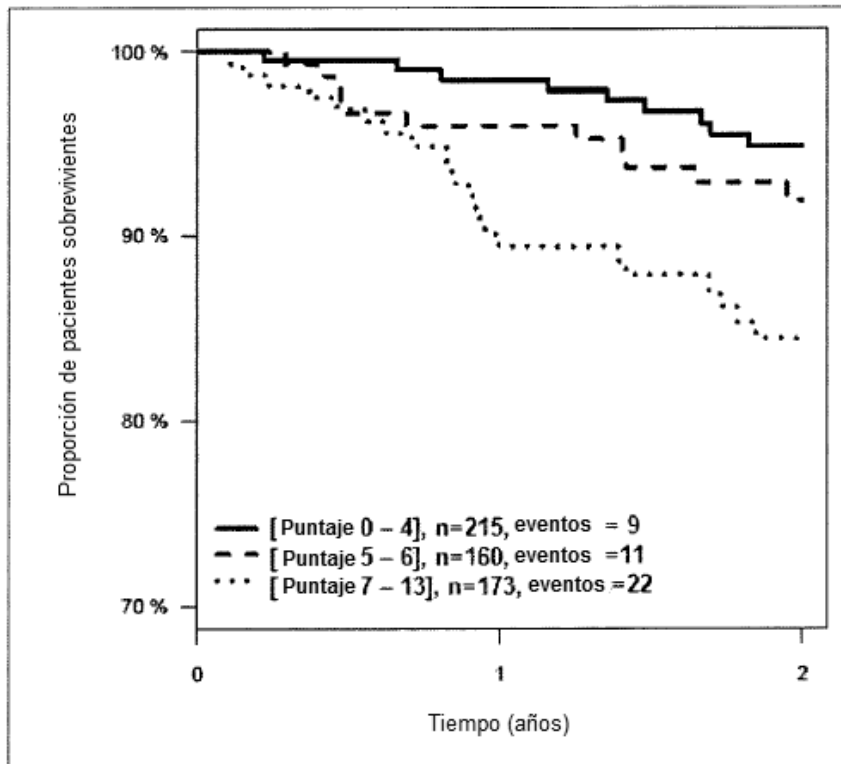


Fig. 32

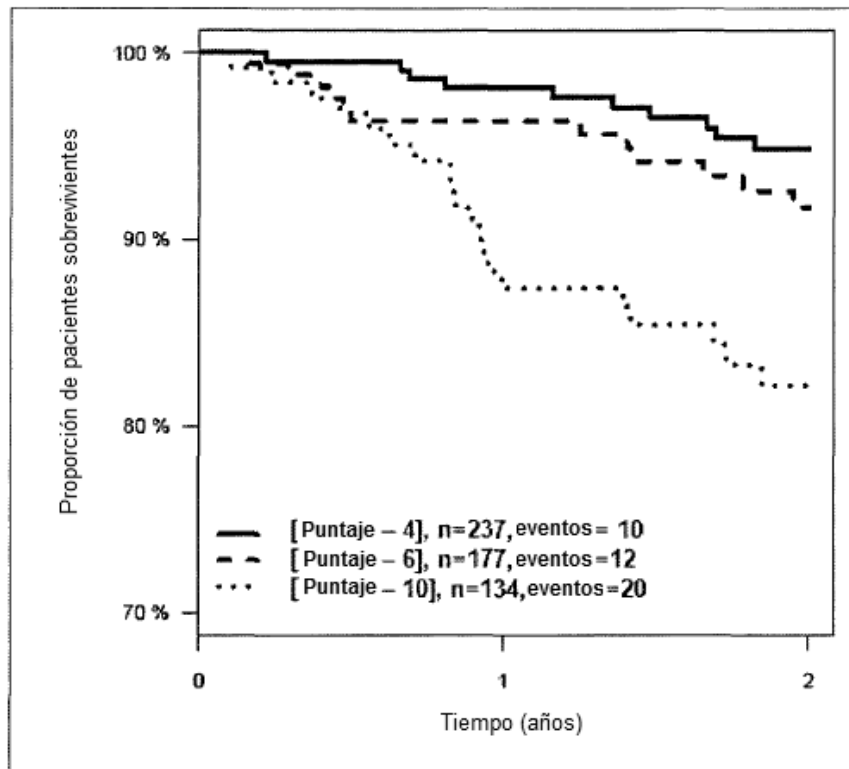


Fig. 33

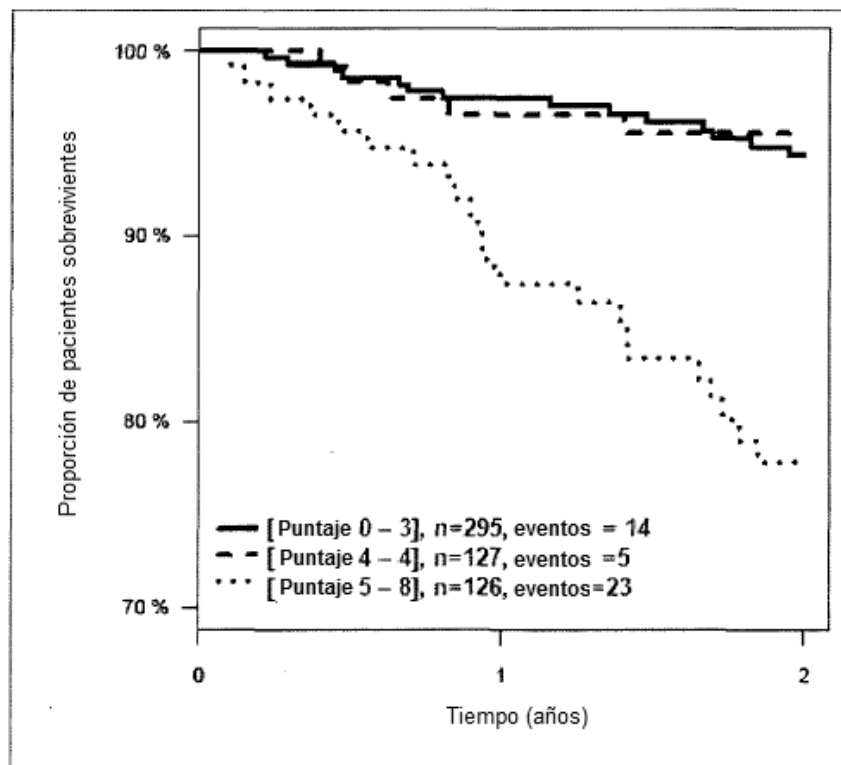


Fig. 34

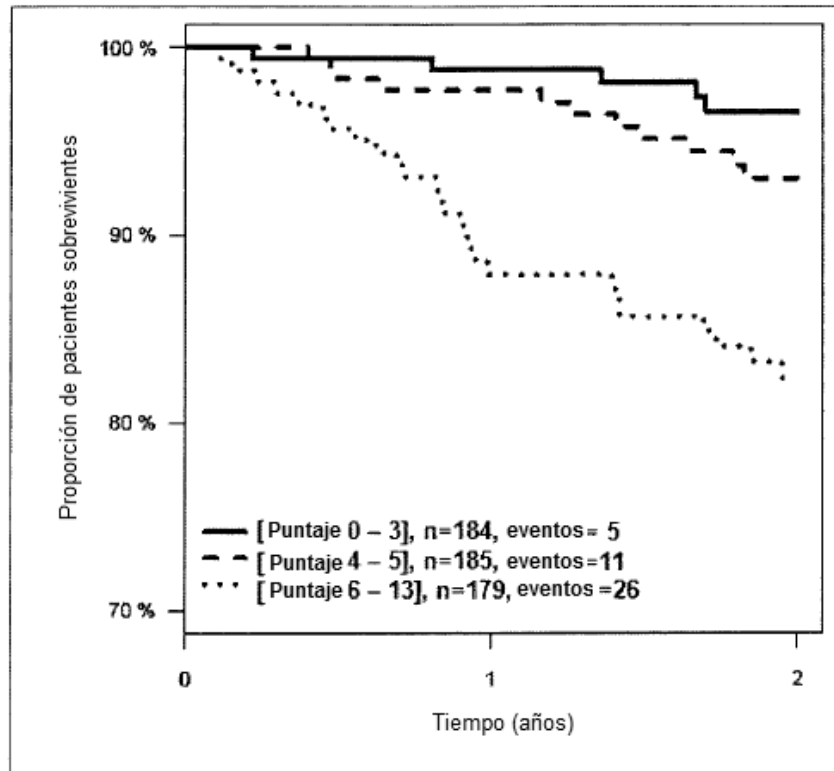


Fig. 35

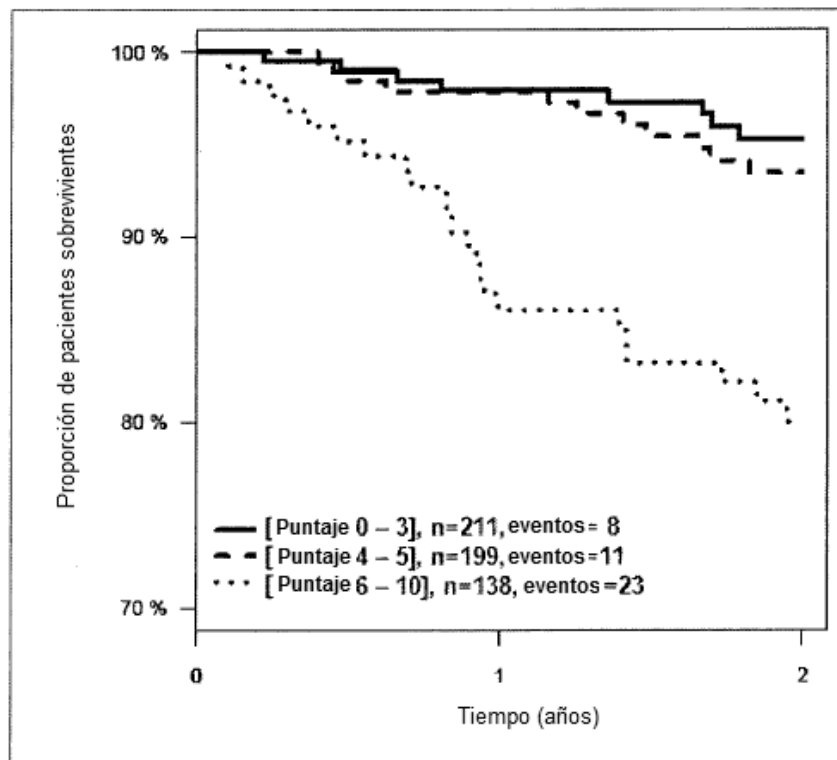


Fig. 36