

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 685 831**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.01.2015 PCT/EP2015/051457**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.07.2015 WO15110624**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.01.2015 E 15703244 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.07.2018 EP 3097422**

54 Título: **Predicción del síndrome de HELLP postparto, de la eclampsia postparto, o de la preclampsia postparto**

30 Prioridad:

24.01.2014 EP 14152447

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

11.10.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**HUND, MARTIN;
DIETERLE, THOMAS y
LAPAIRE, OLAV**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 685 831 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 síndrome de HELLP postparto, de la eclampsia postparto, o de la preeclampsia postparto.

5 La presente invención, está dirigida a un procedimiento para predecir el riesgo, de un sujeto de sexo femenino con un embarazo sin incidentes, de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, antes de dar luz a un niño. El procedimiento, se basa en la determinación de los niveles de i) sFLt-1 y PIGF, ó ii), endoglina y PIGF, en una primera muestra obtenida de procedencia del citado sujeto, antes de dar a luz al niño, y una segunda muestra de procedencia del citado sujeto, obtenida después de dar a luz al niño. De una forma adicional, la invención, abarca a dispositivos y a equipos a modo de kits, para llevar a cabo el procedimiento de la presente invención.

15 El embarazo, puede complicarse de diferentes formas ya que, éste, por un lado, se encuentra asociado con la mortalidad relacionada con el embarazo de la mujer embarazada y, por otro lado, éste se encuentra así mismo asociado con la morbilidad y la mortalidad incrementadas del niño recién nacido. La mortalidad materna, con una tasa de 14,5 por 100.000 nacimientos vivos, es más frecuente, en mujeres embarazadas con una edad superior a los 39 años, y ésta puede ser causada por una hemorragia, por un embolismo pulmonar trombótico, por infecciones, por una cardiomiopatía y por condiciones o trastornos cardiovasculares y no cardiovasculares, así como por desórdenes o trastornos hipertensivos, entre los cuales, la preeclampsia, es la más frecuente (véase, a dicho efecto, (Berg 2010, *Obstetrics and Gynecology*, - *Obstetricia y Ginecología* - : 116: 1302 - 1309).

25 La preeclampsia, complica aproximadamente un porcentaje de un 2 % a un 8 % de la totalidad de los embarazos, y éste es un contribuyente mayor de la mortalidad materna y fetal, en el mundo entero (véase, a dicho efecto, Duley 2009, *Semin Perinatol*, - *Seminario de Perinatología* : 33: 130 – 37). La preeclampsia, acontece, de una forma usual, durante el embarazo. Sin embargo, no obstante, ésta puede también desarrollarse postparto, es decir, después de haber dado a luz al niño.

30 La preeclampsia, se define, de una forma general, como la hipertensión asociada con el embarazo o inducida por éste. Ésta se caracteriza por hipertensión y proteinuria. Los detalles de ésta, pueden también encontrarse en los libros de texto estándar de medicina, y en las directrices y recomendaciones de varias sociedades clínicas, tales como, por ejemplo, el trabajo de Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM: *The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP)*, - *La clasificación y la diagnosis de los trastornos hipertensivos del embarazo* : Informe de la Sociedad internacional para el estudio de la hipertensión en el embarazo (ISSHP) -. *Hypertens Pregnancy*, - *Embarazo hipertensivo* -, 2001, 20: IX - XIV ó *ACOG Practice Bulletin, Clinical Management Guidelines for Obstetrician - Gynecologists*, *Boletín de práctica ACOG*, *Directrices de la gestión clínica para obstetras y ginecólogos* -, no.: 33, Enero del 2002 ó *DGGG. S1-Leitlinie: Diagnostik und Therapie hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe*, - *Directrices S1: Diagnóstico y terapia de los trastornos del embarazo, de la Sociedad Alemana de ginecología y de ayuda al parto*, *AWMF online*, Número de registro *AWMF 015/018*, Clase S1.

45 De una forma adicional a la preeclampsia, existen otras consecuencias adversas relacionadas con la preeclampsia, los cuales pueden desarrollarse después de haber dado a luz al niño, tal como, por ejemplo, el síndrome de Hellp y la eclampsia. Todas estas condiciones o trastornos, se encuentran asociados con consecuencias o resultados adversos para el postparto de la madre.

50 El síndrome de HELLP, se trata de una complicación obstétrica amenazante para la vida (potencialmente mortal) y ésta involucra una anemia hemolítica, tests de ensayo con un función hepática elevada (LFTs – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a *Liver function test*] -), y un bajo recuento de plaquetas. El síndrome de HELLP, (de anemia hemolítica, enzima hepática elevada, bajo recuento de plaquetas, - [de sus siglas, en idioma inglés correspondientes a *Hemolytic anemia*, *Elevated Hemolytic enzyme*, *Low Platelet count*] -), comienza, de una forma usual, durante el tercer trimestre; pero, sin embargo, no obstante, un porcentaje de hasta un 30 % de la totalidad de los pacientes, desarrollan este síndrome, después del parto, de una forma típica, dentro de las 48 horas. La imprevisión, la brusquedad y el curso fulminante de este síndrome, son sustanciales. En un porcentaje del 20 % de los casos, puede no haber evidencia de una preeclampsia, antes o durante el parto, y todos los resultados del laboratorio, eran normales. (véase, a dicho efecto, Haram K, Svendsen E, Abildgaard U. *The HELLP syndrome: clinical issues and management. A review. BMC Pregnancy and Childbirth* 2009; 9 (8). – *El síndrome de HELLP: temas clínicos y gestión. Una revisión. Directrices de la BMC para el embarazo y el parto* 2009; 9(8). <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2393-9-8>; Pop-Trajkovic et al. 2013 *Uppsala Journal of Medical Sciences*, *Diario de Uppsala de las Ciencias Médicas*, 2013 -, 118, 51 - 53).

65 La eclampsia, se define, comúnmente, como una nueva aparición de una grave actividad epiléptica o convulsiva y / o de coma inexplicable, durante el embarazo o el posparto, en una mujer con signos o síntomas de preeclampsia. Ésta acontece, de una forma típica, durante o después de la 20^{ava} semana de gestación, o en el período postparto, después del dar a luz al niño y de desprenderse de la placenta.

Existe una altamente insatisfecha necesidad clínica, en cuanto al hecho de poder identificar a las mujeres las cuales se encuentren en riesgo de desarrollar un síndrome de HELLP, posparto, una eclampsia, o una preeclampsia, inmediatamente después del parto.

5 El factor de crecimiento placentario (PIGF – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a Placental growth factor] -), la Endoglina soluble, y la tirosina quinasa semejante al fms, del tipo 1, soluble, (sFlt-1 –[de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a soluble fms-like tyrosine kinase 1] -), se han descrito como siendo marcadores para el diagnóstico y al predicción de la preeclampsia, durante el embarazo (véase, a dicho efecto, por ejemplo, la patente WO 2004/008946, la patente WO 2008/034750; Rana, 2007, Hypertension, - Hipertensión -, 50: 137 - 142).
 10 Los factores de relación o ratios de sFlt-1 y PIGF o de Endoglina y PIGF, se han reportado como siendo parámetros de diagnóstico y de pronóstico para la preeclampsia, en mujeres embarazadas, antes del parto.

Se conoce el hecho, a raíz de la literatura, de que, los factores angiogénicos y los factores antiangiogénicos, disminuyen rápidamente, después del parto, en una mujer sana, así como en una mujer preecláptica.

15 Wikström et al., examinaron los niveles de concentración de sFlt-1 y de PIGF, antes y después del parto, en mujeres preeclápticas y en los controles, y encontraron una rápida disminución para ambos marcadores, en todos los grupos (véase, a dicho efecto, (Acta Obstetricia et Gynecologia), 2008; 87: 146 - 153). Sin embargo, no obstante, las mujeres las cuales mostraban complicaciones posparto de la preeclampsia, no se incluyeron en este estudio.

20 Reddy et al., encontraron el hecho de que, los niveles de conentracion de sFlt-1 (y de la activina A, pero no de la Endoglina soluble), se incrementaban, durante el parto, en mujeres preeclápticas, en comparación con la mujeres de control (PLoS ONE, 2009, 4(2), e4453). Éstos encontraron el hecho de que, en ambos grupos, los niveles de sFlt-1, disminuían, dentro de las 24 horas. Las mujeres las cuales mostraban complicaciones posparto, no se incluyeron en este estudio.

La patente WO 2013/068475, describe un procedimiento para diagnosticar a las mujeres embarazadas la cuales se encuentran en riesgo de desarrollar una preeclampsia (entre las aprox. 15 semanas y las aprox. 34 semanas de gestación) dentro de un corto período de tiempo, procediendo a llevar a cabo dos mediciones del factor de relación o ratio (sFlt-1 / PIGF). Las mujeres, se encuentran en riesgo de padecerla, si el factor de relación o ratio de 2, a un factor de relación o ratio, se incrementaba mediante un factor de por lo menos aprox. 3.

35 La patente WO 2014/001244, describe un procedimiento para diagnosticar el hecho de si, una mujer embarazada, no se encuentra en riesgo de desarrollar preeclampsia (eclampsia y / o síndrome de HELLP), dentro de un corto período de tiempo (de 1 – 2 semanas), el sujeto, mujer embarazada, se encontraba en una situación de aprox. 20 semanas hasta aprox. 40 semanas de gestación.

40 Prager et al. 2013, controlaron los factores de relación o cocientes de sFlt-1/PIGF, en mujeres embarazadas, con un inicio del síndrome de HELLP, antes del parto, bajo una terapia con cortisona. Las mujeres las cuales mostraban un síndrome de HELLP posparto, no se incluyeron en el estudio (véase, a dicho efecto, Prager, R; Eckart, A; Meint, P; Seel-bach-Göbel, B: Verhalten der Angiogenesefaktoren (PIGF und sFlt-1) unter präpartaler Dexamethason-Therapie beim HELLP-Syndrom, - Procedimiento de los factores de la angiogénesis (PIGF y sFlt-1), mediante una terapia preparto con Dexametasona, en el síndrome de HELLP -, Z Geburtshilfe Neonatol 2013; 217: Po01_6 DOI: 10.1055 / s-0033-1361384).

45 La diagnosis temprana de las complicaciones posparto, es importante, debido a las tasas de morbilidad y de mortalidad las cuales se encuentran asociadas con estas complicaciones, y que se han reportado anteriormente, arriba. Así, por ejemplo, la preeclampsia posparto, requiere un tratamiento inmediato. Si se deja sin tratar, la preeclampsia postparto, puede tener como resultado convulsiones o ataques epilépticos y otras complicaciones serias. Así, de este modo, si bien no se encuentra todavía disponible un ensayo el cual sea fiable, para identificar a un sujeto el cual se encuentre en riesgo de desarrollar un síndrome de HELLP, posparto, una eclampsia postparto, y una preeclampsia posparto, éste es, no obstante, altamente deseable.

50 El problema técnico subyacente, en la presente invención, puede verse como siendo la provisión de medios y de procedimientos para cumplir con las necesidades anteriormente mencionadas, arriba. El problema técnico, se soluciona mediante las formas de presentación caracterizadas en las reivindicaciones y, aquí, en la parte que sigue abajo, a continuación.

55 De una forma ventajosa, se ha encontrado, en el contexto de los estudios subyacentes de la presente invención, el hecho de que, el factor de relación o cociente sFlt-1 / PIGF ó Endoglina / PIGF, en un sujeto de sexo femenino, con un embarazo sin incidentes o acontecimientos notables, sirve como biomarcador para predecir el riesgo de dicho sujeto, desarrolle unos resultados o consecuencias adversas, las cuales se encuentren relacionadas con la preeclampsia, después del parto para dar a luz a un niño, de una forma particular, de que éste desarrolle una preeclampsia posparto, una eclampsia postparto, y / o un síndrome de HELLP, postparto. De una forma remarcable, un incremento del factor de relación o cociente sFlt-1 / PIGF ó Endoglina / PIGF, el cual se haya obtenido después

de un parto para dar a luz a un niño, si se compara con el de una muestra obtenida antes del parto para dar a luz a un niño, era indicativo de un riesgo de desarrollar unos resultados adversos los cuales se encuentran relacionados con una preeclampsia, mientras que, una disminución del factor de relación o cociente sFlt-1 / PIGF ó Endoglina / PIGF, era indicativo de un sujeto el cual no encontraba en riesgo de desarrollar unos resultados adversos los cuales se encuentran relacionados con una preeclampsia, después del parto, para dar a luz a un niño.

Gracias a la presente invención, es posible el poder evaluar, de una forma más fiable, el riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después del parto para dar a luz un niño, en base a un indicador fiable. De una forma adicional, pueden evitarse las embarazosas medidas de diagnóstico, que requieren mucho tiempo, y que son caras, cuando se procede a aplicar el procedimiento de la invención, y se puedan iniciar unas medidas de apoyo apropiadas. La gestión de la gestión médica y sanitaria, se beneficiará de un gran modo, del procedimiento de la presente invención.

Correspondientemente en concordancia, la presente invención, se refiere a un procedimiento para predecir el riesgo, para un sujeto de sexo femenino, de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz a un niño (y así, de este modo, de sufrir de por lo menos de una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz a un niño), comprendiendo, dicho procedimiento, las etapas de:

- a) medir, en una primera muestra obtenida de un sujeto de sexo femenino, con un embarazo sin acontecimientos notables, antes del parto para dar a luz a un niño,
 - (i) el nivel del biomarcador sFlt-1 (tirosina quinasa semejante a fms del tipo 1, soluble) o el nivel del biomarcador Endoglina, y
 - (ii) el nivel de biomarcador PIGF (Factor de Crecimiento placentario),
- b) calcular el primer factor de relación de los niveles de biomarcadores, según se ha medido en la etapa a),
- c) medir, en una segunda muestra obtenida del citado sujeto de sexo femenino, después de dar a luz a un niño, los niveles de los biomarcadores medidos en la etapa a),
- d) calcular el segundo factor de relación de los niveles medidos en la etapa c), y
- e) Comparar el segundo factor de relación con el primer factor de relación.

En una forma de presentación, la etapa e) de la comparación del segundo factor de relación (cociente), con el primer factor de relación (cociente), se lleva a cabo procediendo a calcular el factor de relación del segundo factor de relación, con respecto al primer factor de relación (o viceversa).

De una forma preferible, el riesgo para un sujeto de sexo femenino, de que éste desarrolle por lo menos una consecuencia o resultado adverso relacionado con la preeclampsia, después del parto para dar a luz a un niño, se predice en base a los resultados de la etapa de comparación llevada a cabo en la etapa (e). De una forma correspondientemente en concordancia, el procedimiento anteriormente citado, arriba, puede comprender, de una forma adicional, la etapa adicional de predecir (o de proporcionar una predicción de) el riesgo de que un sujeto de sexo femenino, desarrolle por lo menos una consecuencia o resultado adverso, relacionado con la preeclampsia, después del parto para dar a luz un niño, en base a los resultados de la etapa de comparación.

El procedimiento de la presente invención, se trata, de una forma preferible, de un procedimiento ex vivo o in vitro. De una forma adicional, éste puede comprender etapas adicionales a las que se han mencionado explícitamente, anteriormente, arriba. Así, por ejemplo, las etapas adicionales, pueden referirse a pretratamientos de muestra, o evaluación de los resultados obtenidos mediante el procedimiento. El procedimiento, puede llevarse a cabo manualmente, o éste puede llevarse a cabo asistido mediante automatización. De una forma preferible, las etapas de medición, la etapas de cálculo, y la etapa de comparación, pueden encontrarse asistidas, bien ya sea en su totalidad, o bien en parte, mediante automatización, tal como, por ejemplo, mediante un equipo robótico y sensorial apropiado para la medición, un algoritmo de cálculo implementado mediante computadora, o un dispositivo de procesado de datos, en las etapas de cálculo, o un algoritmo de comparación y / de diagnosis, en un dispositivo de procesado de datos, en la etapa de comparación.

En concordancia con la presente invención, puede predecirse el riesgo para un sujeto de sexo femenino, de que éste desarrolle, y así, por lo tanto, de que éste sufra de por lo menos una consecuencia o resultado adverso relacionado con la preeclampsia, después del parto para dar a luz a un niño. Las consecuencias o resultados adversos relacionados con la preeclampsia, después del parto para dar a luz a un niño, son bien conocidos, por parte de aquellas personas expertas en el arte de la técnica. Tal y como éste se utiliza aquí, el término, se refiere, de una forma preferible, a una consecuencia o resultado adverso relacionado con la preeclampsia, el cual se desarrolla después del embarazo. De una forma preferible, la por lo menos una consecuencia o resultado adverso relacionado con la preeclampsia, después del parto para dar a luz a un niño, se selecciona de entre el grupo consistente en el síndrome de HELLP postparto, la preeclampsia postparto, y la eclampsia postparto, la hemorragia cerebral postparto, el fallo renal postparto, de una forma preferible, el fallo renal agudo postparto, el edema pulmonar postparto, el

edema cerebral postparto, y la ruptura hepática postparto, coagulación intravascular diseminada (DIC – [de sus siglas en idioma inglés] -), y la muerte maternal postparto. De una forma más preferible, la por lo menos una consecuencia o resultado adverso relacionado con la preeclampsia, después del parto para dar a luz a un niño, se selecciona de entre el grupo el síndrome de HELLP postparto, la preeclampsia postparto, y la eclampsia postparto.

5 De una forma correspondientemente en concordancia, se predice, de una forma preferible, el hecho de si un sujeto de sexo femenino, se encuentra en riesgo de desarrollar un síndrome de HELLP, posparto, un preeclampsia postparto, y / o una eclampsia postparto.

10 El término “por lo menos una consecuencia adversa relacionado con la preeclampsia” (o por lo menos un resultado adverso relacionado con la preeclampsia) se refiere a una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentra relacionado con la preeclampsia, o más de uno, es decir, dos o tres (o incluso más), consecuencias o resultados adversos relacionado con la preeclampsia (ya que, por ejemplo, a la preeclampsia, le sigue, de una forma usual, la eclampsia).

15 El término “preeclampsia”, tal y como éste se utiliza aquí, se refiere a una condición o trastorno médico, el cual se caracteriza por la hipertensión y la proteinuria. La preeclampsia, puede acontecer en sujetos de sexo femenino, embarazados, entes del parto para dar a luz a un niño, es decir, antes y después del nacimiento del niño. En el contexto de la presente invención, se predecirá, más bien, el riesgo para un sujeto, de que éste sufra de una preeclampsia, después del parto para dar a luz a un niño, en lugar de que éste sufra de una preeclampsia, durante el embarazo. La mayoría de los casos de preeclampsia postparto, se desarrollan dentro de las 48 horas después del nacimiento del niño. Sin embargo, no obstante, la preeclampsia postparto, se desarrolla, algunas veces, en un transcurso de tiempo de hasta cuatro a seis semanas, después del nacimiento del niño. Esto se conoce con el nombre de preeclampsia posparto tardía. De una forma preferible, la hipertensión inducida por el embarazo, se identifica como encontrándose presente, en un sujeto, mediante dos mediciones de la presión sanguínea, de un valor de 40 mm Hg (sistólica) a 90 mm Hg (diastólica), o más, en donde, dichas dos mediciones, se han llevado a cabo en instantes de tiempo separados, por lo menos, por 6 horas. La proteinuria, se identifica como encontrándose presente, de una forma preferible, mediante un valor de 300 mg/dl de proteína, o más, de una forma particular, en una muestra de orina de 24 horas. Así mismo, también, de una forma preferible, la proteinuria, se identifica mediante análisis de proteína con varillas graduadas (si $\geq 2+$), ó si ≥ 30 mg/dl de proteína, se encuentra presenta en una muestra de orina puntual, o el factor de relación proteína / creatinina, es ≥ 30 mg de proteína / mmol de creatinina en una muestra de orina puntual.

35 La preeclampsia, puede progresar hacia la eclampsia, una condición o trastorno amenazante para la vida (mortal), caracterizado por la aparición de trastornos de convulsiones o epilepsias tónico-clónicas, o de coma. Los síntomas asociados con la preeclampsia severa, son la oliguria de menos de 500 ml, dentro de 24 horas, la perturbación cerebral o visual, el edema o cianosis pulmonar, el dolor epigástrico o del cuadrante superior derecho, el deterioro de la función hepática, la trombocitopenia.

40 El término “síndrome de HELLP”, es bien conocido en el arte especializado de la técnica. El síndrome de HELLP, es una complicación obstétrica amenazante para la vida (mortal), usualmente considerada como una complicación de la preeclampsia. Ambas condiciones o trastornos, acontecen, de una forma usual, durante las últimas etapas del embarazo, o después del alumbramiento del niño. En el contexto de la presente invención, se predecirá el riesgo para un sujeto de sexo femenino, de que éste sufra de un síndrome de HELLP, después del parto. El síndrome de HELLP, se encuentra asociado con un alto riesgo de consecuencias o resultados adversos tales como los consistentes en el fallo renal, el hematoma hepático subcapsular, la preeclampsia recurrente, o incluso la muerte. “HELLP”, es la abreviación de tres características principales del síndrome, en idioma inglés: Hemolysis, Elevated Liver enzymes, and Low Platelet count Hemólisis – [enzimas hepáticas elevadas y bajo recuento de plaquetas] -. El síndrome de HELLP, puede ser difícil de diagnosticar, debido a la variabilidad o versatilidad de los síntomas entre los pacientes (de una forma frecuente, los paciente, no presentan ningún síntoma más que un dolor abdominal), y una diagnosis, temprana, es clave, para reducir la mortalidad. Si no se trata dentro del plazo debido, los pacientes afectados del síndrome, pueden enfermar de una forma crítica, o incluso morir, debido a una ruptura / hemorragia hepática o a un edema cerebral. A un paciente el cual se encuentre posiblemente afectado de un síndrome de HELLP, se le se somete a una serie de tests de ensayo: un recuento de sangre completo, un panel de coagulación, enzimas hepáticas, electrolitos, y estudios sobre la función renal. A menudo, se procede a determinar los niveles de producto de la degradación de la fibrina (FLD – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a fibrin degradation product), los cuales pueden ser elevados. El lactato deshidrogenasa, es un marcador de la hemólisis y, éste es elevado (> 600 U / litro). La proteinuria, se encuentra presente, pero, ésta, puede ser leve. Los detalles adicionales sobre la preeclampsia y de los síntomas que la acompañan, así como de las enfermedades que la siguen, tales como las consistentes en el síndrome de HELLP o en la eclampsia, deben buscarse en los libros de texto estándar de medicina, o en las directrices de las sociedades médicas relevantes. Los detalles, pueden encontrarse, por ejemplo, en ACOG Practice Bulletin, Clinical Management Guidelines for Obstetrician - Gynecologists,- Boletín de práctica ACOG, Directrices de la gestión clínica para obstetras y ginecólogos -, no.: 33, Enero del 2002 no.: 33, ó Haram K, Svendsen E, Abildgaard U. The HELLP syndrome: clinical issues and management. A review. - El síndrome de HELLP: Aspectos clínicos y gestión -. Una revisión. BMC Pregnancy and Childbirth, - BMC Embarazo y alumbramiento de niños 2009; 9(8). <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2393-9-8> ó DGGG.

SI-Leitlinie: Diagnostik und Therapie hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe, - Directrices S1: Diagnóstico y terapia de los trastornos del embarazo, de la Sociedad Alemana de ginecología y de ayuda al parto, véase citación facilitada anteriormente, arriba.

- 5 El "sujeto", tal y como se le hace referencia aquí, se trata, de una forma preferible, de un mamífero. Los mamíferos, incluyen, si bien no de una forma limitativa en cuanto a éstos, a los animales domésticos (tales como, por ejemplo, los consistentes en las vacas, las ovejas, los gatos, los perros, y los caballos), a los primates (tales como, por ejemplo, a los humanos y a los primates no humanos, tales como los monos), a los conejos, y a los roedores (tales como, por ejemplo, los roedores y las ratas). De una forma preferible, el sujeto se trata de un sujeto humano.
- 10 El sujeto en concordancia con la presente invención, será un sujeto de sexo femenino o hembra. El sujeto de sexo femenino o hembra, se encontrará embarazada, en el momento en el cual se procede a extraer la primera muestra. Sin embargo, no obstante, la segunda muestra, se obtendrá después del alumbramiento del niño (es decir, después del parto). Los términos "sujeto" y "paciente", pueden utilizarse, aquí, de una forma intercambiable.
- 15 De una forma preferible, el sujeto de sexo femenino o hembra, será un sujeto con un embarazo sin problemas o acontecimientos notables. El término "embarazo sin problemas" (o embarazo sin acontecimientos notables), se conoce bien, por parte de las personas expertas en el arte especializado de la técnica. De una forma particular, se contempla que, un sujeto con un embarazo sin problemas o acontecimientos notables, no haya exhibido un preeclampsia (de una forma particular, una preeclampsia grave o severa), una eclampsia y / o un síndrome de HELLP, durante el embarazo (es decir, durante el presente embarazo). De una forma correspondientemente en concordancia, se contempla que, el sujeto con un embarazo sin problemas o sin acontecimientos notables, no haya sufrido de una preeclampsia (de una forma particular, de una preeclampsia grave o severa), de una eclampsia y / o de un síndrome de HELLP, antes del alumbramiento del niño (de una forma particular, durante el presente embarazo). De una forma particular, se contempla que, el sujeto, no haya sufrido de una preeclampsia (de una forma particular, de una preeclampsia grave o severa), de una eclampsia y / o de un síndrome de HELLP, antes del alumbramiento del niño.
- 20
- 25

Así, de este modo, en el momento en el cual se obtiene la muestra, el sujeto en concordancia con la presente invención, de una forma preferible, no exhibirá ninguna diagnosis clínica de padecer de una preeclampsia, de una eclampsia, y / o de un síndrome de HELLP, antes del parto. Sin embargo, no obstante, el sujeto en concordancia con la presente invención, puede exhibir por lo menos un síntoma seleccionado de entre el grupo consistente en el dolor epigástrico, la jaqueca, un disturbio visual, una hipertensión, y un edema, y que así, de este modo, éste pueda ser sospechoso de encontrarse en riesgo de desarrollar (y así, de este modo, de sufrir de) por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con preeclampsia, después del alumbramiento de niño (es decir, después del parto), de una forma particular, de encontrarse en riesgo de desarrollar un síndrome de HELLP postparto, una preeclampsia postparto, y / o una eclampsia postparto. En una forma de presentación, el sujeto, exhibe por lo menos un síntoma, poco después del alumbramiento del niño, de una forma particular, el sujeto exhibe el citado por lo menos un síntoma, en el momento en el cual se procede a obtener la primera muestra.

30

35

40 De una forma adicional, se contempla que, el sujeto con un embarazo exento de problemas o de acontecimientos notables, haya sufrido de una preeclampsia leve, antes del alumbramiento del niño, es decir, en el presente embarazo. En este caso, el riesgo, se refiere al riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso relacionado con una preeclampsia severa (grave), después del alumbramiento del niño, es decir, del parto. De una forma preferible, la consecuencia o resultado adverso relacionado con una preeclampsia severa, se selecciona de entre el síndrome de HELLP, postparto, la eclampsia postparto, y la preeclampsia severa postparto. Los términos "preeclampsia leve" y "preeclampsia severa" (o preeclampsia grave), son bien conocidos en el arte especializado de la técnica. El término "preeclampsia leve", se refiere, de una forma preferible, al de la hipertensión, (de una forma particular, de una presión sanguínea $\geq 140 / 90$ mm Hg) en 2 ocasiones, por lo menos separadas 6 horas, la una con respecto a la otra, pero sin que exista evidencia de daño final de órganos, en una mujer, la cual era normotensiva antes de las 20 semanas de gestación. El término "preeclampsia severa" (o preeclampsia grave), se refiere a la preeclampsia con por lo menos uno de los siguientes síntomas: una presión sanguínea sistólica de 150 mm Hg, o mayor, o una presión sanguínea diastólica de 110 mm de Hg, o mayor, en 2 ocasiones, por lo menos separadas por un transcurso de tiempo de 6 horas, la una con respecto a la otra; una proteinuria de más de 5 g, en una recolección de 24 horas, o más de 3+ en muestras de orina aleatorias, recolectadas por lo menos separadas por un transcurso de tiempo de 4 horas las unas con respecto a las otras; una oliguria, (< 400 ml, en 24 horas), jaquecas persistentes, dolor epigástrico, y / o función hepática dañada y la trombocitopenia. Para la definición de los términos, véase, por ejemplo, el trabajo de Sibai et al. Lancet. 2005 Feb 26 - Mar 4; 365 (9461): 785 - 99, el cual se incorpora aquí, en su totalidad, a título de referencia.

45

50

55

60 Así mismo, de una forma preferible, el sujeto, puede ser una persona la cual se encuentre en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz a un niño. De una forma particular, un síndrome de HELLP postparto, una preeclampsia postparto, y / o una eclampsia postparto. Una persona que se encuentre en riesgo es, de una forma preferible, un sujeto de sexo femenino, el cual sea mayor de 40 años y / o un sujeto de sexo femenino, el cual se encuentre en el primer embarazo, que tenga una historia familiar con preeclampsia (tal como, por ejemplo, que su madre o su hermana

65

5 haya sufrido una preeclampsia), que tenga una historia previa de preeclampsia, en un embarazo anterior, o después de un alumbramiento anterior de un niño (es decir, de un parto anterior), y que tenga un índice corporal de aprox. 35 kg / m², en el primer contacto, que tenga un embarazo múltiple, o que tenga una enfermedad vascular preexistente, tal como la hipertensión o la diabetes, tal y como se describe, por ejemplo, en el NICE (Instituto Nacional de la Salud y de excelencia en los cuidados - [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a National Institute for Health and Care Excellence) Antenatal Care guideline CG62, - directrices sobre el cuidado prenatal -, marzo del 2008.

10 La técnica del parto, puede ser cualquier técnica apropiada. De una forma preferible, las técnicas del parto, incluyen una de entre las consistentes en un nacimiento vaginal no inducido, una operación de cesárea, y un parto inducido por fármacos. En una forma preferida de presentación, se da luz a un niño individual. Sin embargo, no obstante, se contempla, también, el hecho de que se para a más de un niño. De una forma preferible, el niño, se encuentra aparentemente sano, después del parto.

15 En concordancia con el procedimiento de la presente invención, se pronosticará el riesgo del sujeto de sexo femenino, a desarrollar una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz a un niño, de una forma particular, de desarrollar un síndrome de HELLP, una preeclampsia postparto y / o una eclampsia postparto y, así, de este modo, el riesgo de dicho sujeto, de sufrir de la citada consecuencia o resultado adverso. De una forma preferible, se pronostica el hecho de si, la citada consecuencia o resultado adverso, se desarrolla inmediatamente después de parir el niño. El término "inmediatamente después de parir el niño" (o inmediatamente después de dar a luz al niño), con relación a la citada consecuencia o resultado adverso, de una forma particular, con relación al síndrome de HELLP, a la preeclampsia postparto, y / o a la eclampsia postparto, se conoce bien, por parte de las personas expertas en el arte especializado de la técnica. De una forma preferible, se pronostica el riesgo desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, dentro de las dos semanas, de una forma preferible, dentro de los siete días y, de una forma preferible, dentro de las 72 horas, o de una forma más preferible, dentro de las 48 horas, después de parir el niño. De una forma preferible, el sujeto, no sufre de por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, de una forma particular, de un síndrome de HELLP, de una preeclampsia postparto y / o de una eclampsia postparto, en el momento en el que se ha procedido a obtener la segunda muestra.

35 El término "pronosticar el riesgo" (o predecir el riesgo), tal y como éste se utiliza aquí, se refiere a la evaluación de la probabilidad, según la cual, se desarrollará por lo menos una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, en el sujeto, después de dar a luz a un niño, o bien, éste no se desarrollará. De una forma más preferible, se pronosticará el riesgo / probabilidad de desarrollar (y así, de este modo, de sufrir de) por lo menos una consecuencia o resultado adverso relacionado con la preeclampsia, dentro de un cierto período de tiempo, después de parir al niño. Tal y como se ha expuesto anteriormente, arriba, el período de tiempo pronosticado es, de una forma preferible, el correspondiente a un intervalo de dos semanas, de 72 horas, de 48 horas, o de cualquier transcurso de tiempo intermitente, después de parir al niño. En una forma particularmente preferida de presentación de la presente invención, el período de tiempo de predicción, es el correspondiente a un intervalo de 48 horas. De una forma preferible, dicho período de tiempo de predicción, se calcula a partir del momento en el cual se ha obtenido la segunda muestra.

45 Tal y como se entenderá por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica, tal tipo de predicción o pronóstico, no pretende ser correcto para un porcentaje del 100 % de los sujetos. El término, no obstante, requiere el hecho de que, la predicción o pronóstico, pueda realizarse para una porción estadísticamente significativa de sujetos, de una forma la cual sea apropiada y correcta. El hecho de si una porción es estadísticamente significativa, puede determinarse, sin más preámbulos, por parte de una persona experta en el arte especializado de la técnica, mediante la utilización de varias herramientas estadísticas de evaluación, tal como, por ejemplo, mediante la determinación de los intervalos de confianza, la determinación del valor p, la prueba T de Student, el test de ensayo de Mann-Whitney, etc. Los detalles, pueden encontrarse en Dowdy y Wearden, Statistics for Research, - Estadística para investigación -, John Wiley & Sons, New York 1983. Los intervalos de confianza preferidos, son los de por lo menos un 90 %, por lo menos un 95 %, por lo menos un 97 %, por lo menos un 98 %, ó por lo menos un 99 % de los sujetos. Los valores p, son preferiblemente, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005, ó 0,001. De una forma preferible la probabilidad la cual se contempla, mediante la presente invención, permite el hecho de que, la predicción de un riesgo incrementado, normal, o disminuido, sea correcta, para por lo menos un 60 %, por lo menos un 70 %, por lo menos un 80 %, ó por lo menos un 90 % de los sujetos, en un cohorte o población dada. El término, de una forma preferible, se refiere a la predicción de si un sujeto, se encuentra en un riesgo elevado o en un riesgo reducido, en comparación con el riesgo medio de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de haber parido a un niño, en una población de sujetos de sexo femenino, inmediatamente después de parir al niño.

65 El término "predecir" (o pronosticar) el riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia adversa (o resultado adverso) después de dar luz (o parir) al niño"; tal y como éste se utiliza aquí, significa el hecho de que, el sujeto, a analizar mediante el procedimiento de la presente invención, se asignará, bien ya sea al grupo de sujetos los cuales

se encuentran en riesgo de desarrollar la citada por lo menos una consecuencia o resultado adverso, o bien, éste se asignará al grupo de sujetos los cuales no se encuentran en riesgo de desarrollar la citada por lo menos una consecuencia o resultado adverso relacionado con una preeclampsia. Un riesgo de desarrollar la citada por lo menos una consecuencia o resultado adverso, según se hace referencia en concordancia con la presente invención, significa, de una forma preferible, el hecho de que, el riesgo de desarrollar la citada por lo menos una consecuencia o resultado adverso, es elevado (dentro del período pronosticado). De una forma preferible, dicho riesgo es elevado, en comparación con el riesgo medio en un cohorte de sujetos de sexo femenino, inmediatamente después de parir al niño (es decir, en un grupo de dichos sujetos). Si un sujeto no se encuentra en riesgo de desarrollar la citada por lo menos una consecuencia o resultado adverso relacionado con la preeclampsia, al que se hace referencia, en concordancia con la presente invención, de una forma preferible, el riesgo de riesgo de desarrollar dicha consecuencia o resultado adverso, será reducido (dentro del período pronosticado). De una forma preferible, dicho riesgo, es reducido en comparación con el riesgo medio en un cohorte de sujetos de sexo femenino, inmediatamente después de dar a luz a un niño. Un sujeto el cual se encuentra en riesgo de desarrollar la citada por lo menos una consecuencia o resultado adverso, de una forma preferible, tiene un riesgo del 80 %, o mayor o, de una forma más preferible, del 60 %, ó mayor, de desarrollar la citada por lo menos una consecuencia o resultado adverso, después de parir al niño. Un sujeto el cual no se encuentra en riesgo de desarrollar la citada por lo menos una consecuencia o resultado adverso, de una forma preferible, tiene un riesgo inferior a un 20 %, de una forma más preferible, inferior a un 10 %, ó inferior, ó de una forma más preferible, del 5 %, o inferior, de desarrollar la citada por lo menos una consecuencia o resultado adverso, de una forma preferible, después de parir al niño.

En concordancia con la presente invención, puede proporcionarse una predicción del riesgo. La frase “proporcionar una predicción” (o proporcionar un pronóstico), tal y como ésta se utiliza aquí, se refiere al uso de la información o de los datos generados, referentes al primer y segundo valor de relación o cociente, en una muestra de un paciente, para predecir el riesgo del sujeto en cuestión, de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, después de parir al niño. La información o los datos, pueden ser en cualquier forma, escrita, oral o electrónica. En algunas formas de presentación, el uso de la información o de los datos generados, incluye a la comunicación, la presentación, los reportes, el almacenaje, el envío, el transporte, el suministro, la transmisión, la dispensación, o una combinación de entre éstos. En algunas formas de presentación, la información o de los datos generados, incluye a la comunicación, la presentación, los reportes, el almacenaje, el envío, el transporte, el suministro, la transmisión, la dispensación, o una combinación de entre éstos, se prefiere que se lleven a cabo mediante un dispositivo de computación, mediante una unidad de análisis, o combinaciones de entre éstos. En algunas formas de presentación, la información o de los datos generados, incluye a la comunicación, la presentación, los reportes, el almacenaje, el envío, el transporte, el suministro, la transmisión, la dispensación, o una combinación de entre éstos, se llevan a cabo por parte de un profesional de laboratorio o médico.

El término “muestra”, se refiere a una muestra de un cuerpo fluido, a una muestra de células separadas, o una muestra procedente de un tejido o de un órgano. Las muestras de cuerpos fluidos, pueden obtenerse mediante técnicas las cuales son bien conocidas, y éstas incluyen a las muestras de sangre, de plasma, de suero, de fluido linfático, de esputo, de líquido ascítico, o de cualquier otra secreción corporal o derivados de éstos. Las muestras de tejidos o de órganos, pueden obtenerse de procedencia de cualquier tejido u órgano, mediante, por ejemplo, una biopsia. Las células separadas, pueden obtenerse de procedencia de fluidos corporales o de tejidos o de órganos, mediante técnicas de separación, tales como las consistentes en la centrifugación o en la clasificación de células. Así, por ejemplo, las muestras de células, de tejidos, o de órganos, pueden obtenerse de procedencia de aquellas células, tejidos u órganos, los cuales expresan o producen el biomarcador. La muestra en cuestión, puede tratarse de una muestra congelada, de una muestra fresca, o de una muestra fijada (tal como, por ejemplo, fijada en formalina), centrifugada, y / o embebida (tal como, por ejemplo, embebida en parafina), etc. La muestra celular, puede por supuesto someterse a una variedad de técnicas de preparación, después de la recolección, las cuales son bien conocidas (tales como, por ejemplo, de extracción de ácido nucleico y / o de proteínas, de fijación, de almacenaje, de ultrafiltración, de concentración, de evaporación, de centrifugación, etc.), previamente a evaluar el nivel del marcador en la muestra. Del mismo modo, las biopsias, pueden también someterse a técnicas preparativas de post-recolección y a técnicas de almacenaje, tal como, por ejemplo, la fijación.

En una forma de presentación, la muestra, se trata de una muestra de sangre, de plasma o, de una forma particular, de suero. De una forma preferible, la muestra, se trata de una muestra de sangre venosa, de suero venoso, derivada de un sujeto de sexo femenino. Así mismo, también, la muestra, se trata de una muestra de orina.

En concordancia con la presente invención, se contempla el proceder a medir el nivel de un biomarcador, al que se hace referencia aquí, en una primera y en una segunda muestra, procedentes del sujeto de sexo femenino. La primera muestra, se habrá obtenido del sujeto de sexo femenino, antes de dar a luz al niño, de una forma particular, inmediatamente antes de haber parido al niño. Así, de este modo, la primer muestra, de una forma preferible, se habrá obtenido dentro de un período de dos semanas o de una semanas, de una forma más preferible, dentro de los tres días, de una forma todavía más preferible, dentro de las 48 horas, o de la forma mayormente preferible, dentro de las 24 horas, antes de dar a luz al niño. De una forma adicional, se contempla el proceder a obtener la primera muestra, dentro de las 12 horas antes de dar a luz al niño.

La “segunda muestra”, de una forma preferible, se entiende como siendo una muestra, la cual se obtiene con objeto de reflejar el cambio de un segundo factor de relación o cociente, en comparación con el primer factor de relación o cociente de la primera muestra. La segunda muestra, deberá obtenerse después de la primera muestra. De una forma particular, la segunda muestra, se obtendrá después de dar a luz al niño. De una forma preferible, la segunda muestra, se habrá obtenido dentro de las 72 horas o dentro de las 48 horas después de haber dado a luz al niño, de una forma preferible, dentro de las 24 horas después de haber dado a luz al niño, de una forma preferible, dentro de las 16 horas y, de una forma mayormente preferible dentro de las 12 horas después de haber dado a luz al niño.

De una forma preferible, la segunda muestra, no se obtiene demasiado pronto después de la obtención de la primera muestra (con objeto de observar un cambio significativamente suficiente, como para permitir la predicción del riesgo). Así, de este modo, la “segunda muestra”, se obtiene, de una forma preferible, no antes de las 10 horas, de una forma preferible, no antes de las 8 horas, y de una forma mayormente preferible, no antes de las 6 horas, después de la obtención de la primera muestra. Así, de este modo, debería haber un intervalo de tiempo, preferiblemente, de por lo menos 10 horas, de una forma más preferible, de por los menos 8 horas y de la forma mayormente preferible, de por lo menos 6 horas, entre la obtención de la primera muestra y de la segunda muestra.

Así mismo, de una forma preferible, se contempla el hecho de que, la primera muestra, se obtenga en un instante de tiempo no más temprano (que sea anterior a) que las tres horas antes de parir al niño, y que, la segunda muestra, se obtenga en un instante de tiempo no más temprano que las tres horas después de haber parido al niño. Así mismo, también, la primera muestra, puede obtenerse en un instante de tiempo no más temprano que las cinco horas antes de parir al niño, y que, la segunda muestra, se obtenga en un instante de tiempo no más temprano que las tres horas después de haber parido al niño.

El término “parto”, (o alumbramiento), en conexión con el nacimiento del niño, se conoce bien, por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica. Éste es la culminación del período de embarazo o gestación, con la expulsión de o uno o de más niños neonatos, de útero de una mujer. Tal y como éste se utiliza aquí, la expresión “parir a un niño” (o alumbramiento de un niño, o dar a la luz a un niño), se refiere, de una forma preferible, al nacimiento de un niño. De una forma preferible, el alumbramiento de un niño, es el instante de tiempo, en el cual, el feto se expulsa del útero el sujeto. De una forma más preferible, el alumbramiento de un niño, es el instante de tiempo, en el cual, el niño comienza a respirar. Se contempla así mismo, también, el hecho de que, el alumbramiento de un niño, es el instante de tiempo, en el cual se expulsa la placenta.

En una forma de presentación de la presente invención, no hay complicaciones maternas o fetales durante el nacimiento del niño .

Se entenderá el hecho de que, la primera y la segunda muestra, se trata del mismo tipo de muestra. Así, por ejemplo, si la primera muestra es una muestra de suero, las segunda muestra, será así mismo, también, una muestra de suero.

El término “medir” el nivel de un marcador, tal y como se le hace referencia aquí, se refiere a la cuantificación de un biomarcador, tal como, por ejemplo, al hecho de determinar el nivel del biomarcador en la muestra, procediendo a emplear procedimientos apropiados para la detección, tal y como se describe aquí, en cualquier otro lugar.

En una forma de presentación, el nivel del por lo menos un biomarcador, se mide procediendo a poner en contacto la primera muestra, con un agente de detección, el cual, de una forma específica, se une al respectivo marcador, formando, con ello, un complejo, entre el agente y el citado marcador, detectando el nivel del complejo formado y, con ello, midiendo el nivel del citado marcador.

Los biomarcadores, tal y como se les hace referencia, aquí, pueden detectarse mediante la utilización de procedimientos, los cuales se conocen bien en el arte especializado de la técnica. Los procedimientos de detección, abarcan, de una forma general, a los procedimientos los cuales cuantifican el nivel de un biomarcador, en una muestra (procedimiento cuantitativo). Es conocido, de una forma general, por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica, cuáles de los siguientes procedimientos, son apropiados para la detección cualitativa y / o cuantitativa de un biomarcador. Las muestras, de una forma conveniente, pueden someterse a tests de ensayo, tal como, por ejemplo, las proteínas, mediante la utilización de transferencia Western y de inmunoensayos, tales como los ensayos ELISA (ensayo de inmunoabsorción, ligado a enzimas – [de sus siglsa, en idioma inglés, correspondientes a Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay] -), RIAs (Radioinmunoensayo – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a RadiolImmunoAssay] -), los inmunoensayos basados en fluorescencia, los cuales se encuentran comercialmente disponibles en el mercado. Otros procedimientos adicionalmente apropiados, para detectar un biomarcador, incluyen el proceder a medir una propiedad física o química específica para un péptido o para un polipéptido, tal como su precisa masa molecular o su espectro de NMR (Resonancia magnética nuclear – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes Nuclear magnetic resonance] -). Tales tipos de procedimientos, comprenden, por ejemplo, a los biosensores, a los dispositivos ópticos acoplados a los inmunoensayos, a los biochips, a los dispositivos analíticos, tales como los consistentes en los espectrómetros de masa, los analizadores de NMR, o los dispositivos de cromatografía. De una forma adicional, los procedimientos,

incluyen a los procedimientos basados en ensayo ELISA, en microplaca, los inmunoensayos robóticos, completamente automatizados (tales como los Analizadores, comercialmente disponibles en el mercado, del tipo El-ecsystTM analyzers), CBA (un ensayo enzimático de unión al cobalto, comercialmente disponible en el mercado, por ejemplo, del tipo Roche-HitachiTM analyzers), y ensayos de aglutinación de látex (analizadores comercialmente disponible en el mercado, por ejemplo, del tipo Roche-HitachiTM analyzers).

Para la detección de las proteínas biomarcadoras, tal y como se le hace referencia aquí, se encuentran comercialmente disponibles en el mercado una gran gama de técnicas de inmunoensayos en las cuales se utiliza un formato de ensayo de este tipo, véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses US nº 4.016.043, US nº 4.424.279, y US nº 4.018.653. Éstas incluyen a ambos tipos de ensayos, los ensayos de sitio individual y los ensayos de dos sitios ó "sándwich", de los tipos no competitivos, así, como lo ensayos de unión competitivos, tradicionales. Estos ensayos, incluyen así mismo, también, a la unión directa de un anticuerpo marcado, a un biomarcador diana.

Los ensayos sándwich, se encuentran entre los inmunoensayos mayormente y comúnmente utilizados.

Los procedimientos para la medición de los fenómenos electroquimioluminiscentes, se conocen bien. Tales tipos de procedimientos, pueden hacer uso de la capacidad, de complejos metálicos especiales, de lograr, por mediación de una oxidación, un estado excitado, a partir del cual, éstos se descomponen, a un estado elemental, emitiendo electroquimioluminiscencia. Para una revisión, véase el trabajo de Richter, M.M., publicado en Chem. Rev. 104 (2004) 3003 - 3036.

Los biomarcadores, pueden también detectarse mediante procedimientos generalmente conocidos, los cuales incluyen, a la espectroscopia de resonancia magnética (espectroscopia de NMR), la cromatografía de gases – espectrometría de masas (GC-MS), la cromatografía de líquidos – espectrometría de gases (LC-MS), la cromatografía de alto rendimiento – HPLC, y a la ultra- HPLC, tal como la HPLC de fase inversa, como, por ejemplo, la HPLC de apareamiento iónico, mediante detección dual de longitud de onda UV, la electroforesis capilar mediante detección de fluorescencia inducida por láser, la cromatografía de intercambio de iones y detección fluorescente, la cromatografía de capa fina.

De una forma preferible, la medición de nivel de un biomarcador, tal y como se la hace referencia a ésta, aquí, comprende las etapas de (a) contactar un célula la cual sea capaz de provocar una respuesta celular, cuya intensidad, es indicativa del nivel del péptido o de polipéptido con dicho péptido o polipéptido, con dicho péptido o polipéptido, para un período de tiempo adecuado, (b) medir la respuesta celular. Para medir las respuestas celulares, la muestra o muestra procesada, de una forma preferible se añade al cultivo celular, y se procede a la medición una respuesta celular interna o externa. La respuesta celular, puede incluir la expresión, susceptible de poder ser medida, de un gen reportero, o la secreción de una substancia, tal como, por ejemplo, un péptido, un polipéptido, o una molécula pequeña. La expresión o substancia, generará un señal de intensidad, la cual se encuentra correlacionada con el nivel de péptido o polipéptido.

Así mismo, de una forma preferible, la medición del nivel de un péptido o polipéptido, comprende la etapa de medir una señal de intensidad específica, susceptible de poderse obtener a partir del péptido o polipéptido, en la muestra. Tal y como se ha descrito anteriormente, arriba, tal tipo de señal, puede ser la intensidad de la señal observada en una variable m/z, específica para el péptido o polipéptido, observada en espectros de masas o un espectro de NMR, específicos para el péptido o polipéptido.

La medición del nivel de un péptido o polipéptido, puede comprender, de una forma preferible, las etapas de (a), contactar el péptido, con un agente de unión específico, (b) (opcionalmente), retirar el agente de unión no unido, (c) medir el nivel de agente de unión específico unido, es decir, el complejo de agente de unión formado en la etapa (a). En concordancia con una forma preferida de presentación, las etapas de contactar, de retirar y de medir, pueden llevarse a cabo mediante una unidad analizadora del sistema que se da a conocer aquí. En concordancia con algunas formas de presentación, dichas etapas, pueden llevarse a cabo mediante una unidad analizadora individual de dicho sistema, o mediante más de una unidad analizadora, en comunicación operativa las unas con las otras. Así, por ejemplo, en concordancia con una forma específica de presentación, el citado sistema que se revela aquí, puede incluir una primera unidad analizadora para llevar a cabo las citadas etapas, o para contactar y retirar, y una segunda unidad analizadora, operativamente conectada con la citada primera unidad analizadora, mediante una unidad de transporte (tal como, por ejemplo, un brazo robótico), el cual conforma la citada etapa de medición.

El agente de unión unido, es decir, el agente de unión o el complejo agente de unión / péptido, generará una señal de intensidad. La unión, en concordancia con la presente invención, incluye a ambas, la unión covalente y la unión no covalente. Un agente de unión, en concordancia con la presente invención, puede ser cualquier compuesto, tal como, por ejemplo, un péptido, un polipéptido, un ácido nucleico, una molécula pequeña, que se une a péptido o polipéptido el cual se describe aquí. Los agentes de unión preferidos, incluyen a los anticuerpos, a los ácidos nucleicos, a los péptidos o polipéptidos, tales como los receptores o los compañeros de unión para el péptido o polipéptido y fragmentos de éstos, los cuales comprenden los dominios de unión para los péptidos, y a los

aptámeros, tales como, por ejemplo, los aptámeros de ácidos nucleicos o de péptidos. Los procedimientos para preparar tales tipos de agentes de unión, se conocen bien, en el arte especializado de la técnica. Así, por ejemplo, la identificación y la producción de anticuerpos o aptámeros apropiados, se ofrece, también, por parte de los proveedores comerciales. La persona experta en el arte especializado de la técnica, se encuentra familiarizado con los procedimientos para desarrollar derivados de tales tipos de agentes de unión, con una afinidad o especificidad mayor. Así, por ejemplo, pueden introducirse mutaciones aleatorias en los ácidos nucleicos, péptidos, o polipéptidos. Estos derivados, pueden someterse, a continuación, a tests de ensayo, para la unión, en concordancia con procedimientos los cuales son conocidos en el arte especializado de la técnica, tales como, por ejemplo, la exhibición o visualización de fagos. Los anticuerpos, tal y como se les hace referencia aquí, incluyen a ambos, los anticuerpos policlonales y los anticuerpos monoclonales, así como, también, fragmentos de éstos, tales como los fragmentos Fv, Fab, y F(ab)₂, los cuales son capaces de unirse al antígeno o hapteno. La presente invención, incluye así mismo, también, anticuerpos de cadena individual y anticuerpos híbridos humanizados, en donde, las secuencias de aminoácidos de un anticuerpo donante no humano, que exhiben una deseada especificidad del antígeno, se combinan con secuencias de un anticuerpo aceptor humano. Las secuencias de donante, incluirán, de una forma usual, por los menos, residuos de aminoácido de unión al antígeno, del donante, pero, éstas, pueden comprender, así mismo, también, otros residuos de aminoácidos estructuralmente y / o funcionalmente relevantes, del anticuerpo del donante. Tales tipos de híbridos, pueden prepararse mediante diversos procedimientos, los cuales se conocen bien, en el arte especializado de la técnica. De una forma preferible, el agente de unión o agente, se une, de una forma específica, al péptido o polipéptido. La unión específica, en concordancia con la presente invención, significa el hecho de que, el ligante o agente, no debe unirse, substancialmente, a ("reacción cruzada" con), otro péptido, polipéptido, o substancia, la cual se encuentre presente en la muestra a analizar. De una forma preferible, el péptido o polipéptido específicamente unido, debe unirse con una afinidad por lo menos 3 veces mayor, de una forma preferible, por lo menos 10 veces mayor, y de una forma más preferible, por lo menos 50 veces mayor, que la de otro péptido o polipéptido relevante. La unión no específica, puede ser tolerable, si ésta puede distinguirse medirse, de una forma inequívoca, por ejemplo, en concordancia con su tamaño, en una transferencia de Western, o mediante su abundancia relativamente más alta, en la muestra. La unión del agente de unión, puede medirse mediante cualquier tipo de procedimiento, el cual sea conocido en el arte especializado de la técnica. De una forma preferible, dicho procedimiento, es semicuantitativo o cuantitativo. En la parte que sigue, se describen, de una forma adicional, técnicas apropiadas para la determinación de un polipéptido o péptido.

La unión de un agente de unión, puede medirse, de una forma directa, mediante, por ejemplo, NMR o resonancia de plasmones de superficie. La medición de la unión de un agente de unión, se lleva a cabo, en concordancia con formas preferidas de presentación, mediante una unidad analizadora de un sistema el cual se da a conocer aquí. A continuación, puede calcularse un nivel de la unión medida, mediante una unidad de computación de un sistema el cual se da a conocer aquí. Si el agente de unión sirve así mismo como un sustrato de una actividad enzimática del péptido o polipéptido de interés, puede medirse el producto de reacción enzimática (tal como, por ejemplo, de una proteasa, mediante la medición del nivel del sustrato escindido o segmentado, tal como, por ejemplo, mediante una transferencia Western). De una forma alternativa, el agente de unión, puede exhibir propiedades enzimáticas, por sí mismo, y el complejo "agente de unión / péptido o polipéptido" del agente de unión, el cual se ha unido mediante el péptido o polipéptido, de una forma respectiva, puede ponerse en contacto con un sustrato apropiado, el cual permita la detección, mediante la generación de una señal de intensidad. Para la medición de los productos de reacción enzimática, de una forma preferible, se satura el nivel del sustrato. El sustrato, puede también marcarse, con un marcador susceptible de poder ser detectado, previamente a la reacción. De una forma preferible, la muestra, se pone en contacto con el sustrato, durante un período de tiempo adecuado. Un período de tiempo adecuado, se refiere al tiempo necesario para un nivel susceptible de poder ser detectado, de una forma preferible, susceptible de poder ser medido, del producto a ser producido. En lugar de proceder a la medición del nivel de producto, puede también procederse a la medición del tiempo necesario para la aparición de un nivel dado del producto (el cual, por ejemplo, sea susceptible de poder ser medido). En tercer lugar, el agente de unión, puede acoplarse, de una forma covalente o no covalente, a un marcador, el cual permita la detección o la medición del agente de unión. El marcaje, puede llevarse a cabo mediante procedimientos directos o indirectos. El marcaje directo, involucra el acoplamiento de un marcador, de una forma directa (de forma covalente o de forma no covalente), al agente de unión. El marcaje indirecto, involucra el marcaje (de una forma covalente o de una forma no covalente) de un agente de unión secundario, al primer agente de unión. El agente de unión secundario, debe unirse, de una forma específica al primer agente de unión. Dicho agente de unión secundario, puede acoplarse con un marcador apropiado y / o la diana (receptor) de un agente de unión terciario, de unión al agente de unión secundario. El uso de otros agentes de unión secundarios, terciarios, o incluso de un orden mayor, se emplea, a menudo, para incrementar la señal. Los agentes de unión secundarios o de un orden incluso mayor, los cuales sean apropiados, pueden incluir a los anticuerpos, a los anticuerpos secundarios, y al bien conocido sistema estreptavidina-biotina (Vector Laboratories). El agente de unión o sustrato, puede también "marcarse", con uno o más marcadores, tal y como se conoce en el arte especializado de la técnica. Tales tipos de marcadores, pueden entonces ser marcadores para agentes de unión de un orden mayor. Los marcadores apropiados, incluyen a la biotina, a la digoxigenina, a la "His-tag" (marcaje de histidina), a la glutatión-S-transferasa, al FLAG, a la GFP, al "myc-tag", a la hemaglutinina (HA) del virus de la influenza A, a la proteína de unión a la maltosa, y por el estilo. En el caso de un péptido o polipéptido, el marcador, se encuentra, de una forma preferible, en el término N y / o en el término C. Los marcadores apropiados, son cualesquiera marcadores los cuales sean susceptibles de poderse detectar mediante un procedimiento de

detección apropiado. Los marcadores típicos, incluyen a las partículas de oro, a las perlas o cuentas de látex, al éster de acridina, al luminol, al rutenio, a los marcadores enzimáticamente activos, a los marcadores radioactivos, a los marcadores magnéticos (tales como, por ejemplo, las cuentas o perlas magnéticas, incluyendo a los marcadores paramagnéticos o supermagnéticos), y a los marcadores fluorescentes. Los marcadores enzimáticamente activos, incluyen, por ejemplo, a la peroxidasa del rábano picante, a la fosfatasa alcalina, a la beta-galactosidasa, a la luciferasa, y a los derivados de éstas. Los substratos apropiados para la detección, incluyen a la diaminobenzidina (DAB), a la 3,3'-5,5'-tetrametilbenzidina, al NBT-BCIP (azul de cloruro de 4-nitrotroazolio y fosfato de 5-bromo-4-cloro-3-indol), comercialmente disponible en el mercado, como una solución stock ya elaborada, procedente de la firma Roche Diagnostics), al CDP-Star™ (Amersham Bio-sciences), al ECF™ (Amersan Biosciences). Una combinación enzima-substrato apropiada, puede tener como resultado un producto de reacción coloreado, una fluorescencia o una quimioluminiscencia, los cuales pueden medirse en concordancia con procedimientos los cuales son conocidos en el arte especializado de la técnica (tal como, por ejemplo, mediante un film o película que sea sensible a la luz, o mediante una sistema de cámara apropiado). En cuanto a lo referente a la medición enzimática, se aplica, de una forma análoga, el criterio proporcionado anteriormente, arriba. Los marcadores fluorescentes típicos, incluyen a las proteínas fluorescentes (tales como las GFP – proteínas fluorescentes verdes -, y sus derivados), a los colorantes de cianina Cy3, y Cy5, al rojo azul, a la fluoresceína, y a los colorantes Alexa (tal como, por ejemplo, el Alexa 568). Otros marcadores fluorescentes adicionales, se encuentran comercialmente disponibles en el mercado, de procedencia, por ejemplo, de la firma Molecular Probes (Oregón). Se contempla así mismo, también, el uso de “quantum dots” (puntos cuánticos), como marcadores fluorescentes. Un marcador radioactivo, puede detectarse mediante cualquier procedimiento conocido, de la forma apropiada tal como, por ejemplo, mediante una película o film sensible, o un generador de imágenes, de fósforo.

El nivel de un péptido o polipéptido, puede también determinarse, así mismo, del siguiente modo: (a) contactar un soporte sólido, el comprenda un agente de unión para el péptido o polipéptido, de la forma la cual se ha especificado anteriormente, arriba, mediante una muestra, la cual comprenda el péptido o polipéptido y, (b) medir el nivel de péptido o polipéptido el cual se une al soporte. El agente de unión, el cual se elige, de una forma preferible, de entre el grupo consistente en los ácidos nucleicos, los péptidos, los polipéptidos, los anticuerpos y los aptámeros, se encuentra presente, de una forma preferible, en un soporte sólido, de una forma inmovilizada. Los materiales para fabricar los soportes sólidos, se conocen bien, en el arte especializado de la técnica, y éstos incluyen, entre otros, a los materiales de columna comercialmente disponibles en el mercado, a las perlas de poliestireno, a las perlas de látex, a las perlas magnéticas, a las partículas coloidales metálicas, a las virutas y superficies de vidrio y / o de silicio, a las tiras, membranas, hojas de nitrocelulosa, a los granitos duracite, a los pozos y paredes de placas de reacción, a los tubos de plástico, etc. El agente de unión o agente, puede encontrarse unido a diferentes portadores o soportes. Los ejemplos de portadores o soportes los cuales son bien conocidos, incluyen al vidrio, al poliestireno, al poli(cloruro de vinilo), el polipropileno, al polietileno, al policarbonato, al dextrano, al nylon, a las amilosas, a las celulosas naturales y modificadas, a la poli(acrilamidas), a las agarosas, y a la magnetita. La naturaleza del portador o soporte, puede ser tanto soluble como insoluble, para los propósitos de la presente invención. Los procedimientos apropiados para fijar / inmovilizar al citado agente de unión, se conocen bien, en el arte especializado de la técnica, y estos incluyen, si bien no de una forma limitativa en cuanto a éstos, a las interacciones iónicas, hidrofóbicas, covalentes, y por estilo. Se contempla, así mismo, la utilización de “series de suspensión”, como matrices de la presente invención (Nolan 2002, Trends Biotechnol. 20 (1): 9 - 12. En tales tipos de series de suspensión, del portador o soporte, tal como, por ejemplo, una microperla o microesfera, se encuentra presente en la suspensión. La serie o matriz, consiste en diferentes microperlas o microesferas, posiblemente, marcadas, que portan diferentes agentes de unión. Los procedimientos para producir dichas series o matrices, basadas, por ejemplo, en la química en fase sólida, y en grupos protectores foto-lábiles, de una forma general, son conocidos (patente US 5.744.305).

En una forma de presentación de la presente invención, los niveles de los biomarcadores, a los cuales se les hace referencia aquí, se miden mediante la utilización de los ensayos los cuales se describen en la sección de los ejemplos.

En otra forma de presentación del procedimiento de la presente invención, la mediciones en la etapa a) (o en las etapas a) y c)), pueden llevarse a cabo mediante una unidad analizadora, de una forma particular, mediante una unidad analizadora, de la forma la cual se define en cualquier otro lugar, aquí.

El término “agente de unión”, se refiere a una molécula, la cual comprende una porción de unión, la cual, de una forma específica, se une al correspondiente o respectivo biomarcador. Los ejemplos de “agente de unión”, son un aptámero, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, un péptido, un ácido nucleico peptídico (PNA), o un compuesto químico.

El término “de unión específica”, o “que se une de una forma específica”, se refiere a una reacción de unión, en donde, el par de moléculas de la unión, exhiben una unión, la una con la otra, bajo unas condiciones, en donde, éstas no se unen, de una forma significativa, a otras moléculas. El término “de unión específica” o “que se une de una forma específica”, cuando se refiere a una proteína o péptido como biomarcador, éste se refiere entonces a una reacción de unión, en donde, un agente de unión, se une al correspondiente biomarcador, con una afinidad de por lo menos 10^{-7} M. El término “de unión específica”, o “que se une de una forma específica”, se refiere, de una forma

preferible, a una afinidad de por lo menos 10^{-8} M, ó de una forma incluso más específica, de por lo menos 10^{-9} , para su molécula diana. El término “específica” o “específicamente”, usa para indicar el hecho de que, otras moléculas las cuales se encuentran presentes en la muestra, no se unen, de una forma significativa, al agente de unión específico para la molécula diana. De una forma preferible, el nivel de unión a una molécula la cual sea distinta que la molécula diana, tiene como resultado una afinidad de unión, la cual es de un valor de únicamente un 10 %, o inferior, de una forma más preferible, de únicamente un 5 %, o inferior, de la afinidad a la molécula diana.

Los ejemplos de “agentes de unión” o “agentes”, son una sonda de ácido nucleico, un cebador de ácido nucleico, una molécula de DNA, una molécula de RNA, un aptámero, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, un péptido, un ácido nucleico peptídico (PNA), o un compuesto químico. Una agente preferido, es un anticuerpo el cual se une, de una forma específica, al biomarcador a ser medido. El término “anticuerpo”, se utiliza, aquí, en su más amplio sentido, y éste abarca a varias estructuras de anticuerpos, incluyendo, si bien no de una forma limitativa en cuanto a éstos, a los anticuerpos monoclonales, a los anticuerpos policlonales, a los anticuerpos multiespecíficos (tales como, por ejemplo, los anticuerpos biospecíficos), y a los fragmentos de anticuerpos, siempre y cuando éstos exhiban la deseada actividad de unión al antígeno. De una forma preferible, el anticuerpo, es un anticuerpo policlonal. De una forma más preferible, el anticuerpo, es un anticuerpo monoclonal.

Otro agente de unión el cual puede aplicarse, puede ser un aptámero, el cual se una, de una forma específica, al por lo menos un marcador en la muestra. El término “de unión específica”, o “que se une de una forma específica”, cuando se refiere a un aptámero de ácido nucleico, como un agente de unión, éste se refiere a una reacción de unión, en donde, el aptámero de ácido nucleico, se une a la correspondiente molécula diana, con una afinidad en el rango inferior de nM a pM.

En todavía uno de sus aspectos, la muestra, se retira del complejo formado entre el agente de unión y el por lo menos un marcador, previamente a la medición del nivel del complejo formado. De una forma correspondientemente en concordancia, en uno de sus aspectos, el agente de unión, puede inmovilizarse en un soporte o portador sólido. En todavía uno de sus aspectos, la muestra, puede retirarse del complejo formado, en el soporte sólido, mediante la aplicación de una solución de lavado. El complejo formado, debe ser proporcionar al nivel del por lo menos un marcador presente en la muestra. Se entenderá el hecho de que, la especificidad y / o sensibilidad del agente de unión a ser aplicado, define el grado de proporción de por lo menos un marcador comprendido en la muestra, el cual es capaz de unirse de una forma específica. Detalles adicionales de cómo puede llevarse a cabo la determinación, se encuentran así mismo, también, aquí, en otro lugar. El nivel del complejo formado, debe transformarse en un nivel de por lo menos un marcador, el cual refleje el nivel efectivamente presente en la muestra. Un nivel de este tipo, en un aspecto, puede consistir, esencialmente, en el nivel que se encuentra presente en una muestra, o éste puede ser, en otro aspecto, un nivel, el cual consiste en una determinada proporción de éste, debido a la relación entre el complejo formado y el nivel que se encuentra presente en la muestra original.

El término "sFlt-1", tal y como éste se utiliza aquí, se refiere a un polipéptido, el cual es una forma soluble de la tirosina quinasa semejante al fms, del tipo 1. A este polipéptido, se le hace también referencia como receptor de VEGF, del tipo 1 (sVEGF R1), en el arte especializado de la técnica (véase, por ejemplo, Sunderji 2010, Am J Obstet Gynecol 202: 40e1-7). Éste se identificó en un medio de cultivo acondicionado, de células endoteliales, de la vena umbilical humana. El receptor de sFlt-1, endógeno, es cromatográficamente e inmunológicamente similar al sFlt-1 humano recombinante, y se une al [125I] VEGF con una comparable alta afinidad. El sFlt-1, muestra formar un complejo estabilizado de VEGF, con el dominio extracelular de KDR/Flk-1, in vitro. De una forma preferible, sFlt-1, se refiere a un sFlt-1 humano, tal y como se describe, por parte de Kendall 1996, en Biochem Biophys Res Commun 226(2): 324 - 328; para las secuencias de aminoácidos, véanse por ejemplo, también, los números de acceso al Genbank (Banco de genes), P17948, GI: 125361 para el sFlt-1 humano, y BAA24499.1, GI: 2809071, para el sFlt-1 del ratón (El Genbank – Banco de Genes, se encuentra disponible, de procedencia del NCBI, USA en la web www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez). El término en cuestión, abarca, así mismo, también, a variantes para los polipéptidos sFlt-1, humanos. Tales tipos de variantes, tienen por lo menos las mismas variantes propiedades biológicas e inmunológicas, si éstos son detectables mediante los mismos ensayos específicos, a los cuales se les hace referencia en este especificación, tales como, por ejemplo, mediante ensayos ELISA, utilizando anticuerpos policlonales o monoclonales, los cuales reconocen, de una forma específica, a los citados polipéptidos sFlt-1. De una forma adicional, debe entenderse el hecho de que, una variante, a la cual se le haga referencia en concordancia con la presente invención, deberá tener una secuencia de aminoácidos, la cual difiera, debido a la sustitución, eliminación y / o adición de por lo menos un aminoácido, en donde, la secuencia de aminoácidos de la variante, sea todavía, de una forma preferible, por lo menos un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 92 %, un 95 %, un 97 %, un 98 %, ó un 99 % idéntica, con las secuencias de aminoácidos del polipéptido sFlt-1 específico, de una forma preferible, con respecto a la longitud total del sFlt-1, humano, respectivamente. El grado de identidad entre dos secuencias de aminoácidos, puede determinarse mediante algoritmos, los cuales se conocen bien en el arte especializado de la técnica. De una forma preferible, el grado de identidad, debe determinarse procediendo a la comparación de dos secuencias óptimamente alineadas, en una ventana de comparación, en donde, el fragmento de la secuencia de aminoácidos, en la ventana de comparación, puede comprender adiciones o eliminaciones (tales como, por ejemplo, los consistentes en vacíos o en excedentes), si se compara con la secuencia de referencia (la cual no comprende ni adiciones ni eliminaciones), para un alineamiento óptimo. El porcentaje, se calcula

procediendo a determinar el número de posiciones, en las cuales, el residuo aminoácido idéntico, acontece en ambas secuencias, para conseguir el número de posiciones emparejadas, dividiendo el número de posiciones emparejadas entre el número total de posiciones en la ventana de comparación, y multiplicando el resultado por 100, para conseguir el porcentaje de identidad de la secuencia. Un alineamiento óptimo de las secuencias, para la comparación, puede llevarse a cabo mediante el algoritmo de homología local dado a conocer por parte de Smith en 1981, Add. APL. Math. 2:4 82, mediante el algoritmo de alineamiento de homología dado a conocer por parte de Needleman en 1970, J. Mol. Biol. 48: 443, mediante el procedimiento de la búsqueda de similitud dado a conocer por parte de Pearson en 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 85: 2444, procediendo a computerizar las implementaciones de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, BLAST, FAST, PASTA, y TFASTA en el Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group (GCG), - Pack de Software de Genética de Wisconsin, Grupo de computación de Genética -, 575 Science Dr., Madison, WI), o mediante una inspección visual. Dado que se hayan identificado dos secuencias, para su comparación, se emplean, de una forma preferible, los algoritmos GAP y BESTFIT, para determinar el alineamiento óptimo y, así, de este modo, el grado de identidad. De una forma preferible, los valores por defecto de 5,00, para el peso del intervalo (gap), y de 0,30, para la longitud del peso del intervalo, son los que se utilizan. Las variantes a las cuales se le hace referencia, anteriormente, arriba, pueden ser variantes alélicas, o cualesquiera otras especies de homólogos, parálogos u ortólogos específicos. Las variantes a las cuales se le hace referencia, anteriormente, arriba, pueden ser variantes alélicas, o cualesquiera otras especies de homólogos, parálogos u ortólogos específicos. De una forma adicional, las variantes a las cuales se les hace referencia aquí, incluyen fragmentos o subunidades de polipéptidos sFlt-1 específicos o los tipos de variantes anteriormente mencionados, arriba, siempre y cuando estos fragmentos tengan las propiedades biológicas e inmunológicas esenciales, a las que se ha hecho referencia anteriormente, arriba. Tales tipos de fragmentos, pueden ser, por ejemplo, productos de degradación de los polipéptidos sFlt-1. Se considera que, las variantes, comparten las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales, si éstas son detectables mediante los mismos ensayos específicos, a los cuales se les ha hecho referencia en esta especificación, tal como, por ejemplo, mediante tests de ensayo ELISA, mediante la utilización de anticuerpos policlonales o monoclonales, los cuales reconozcan, de una forma específica, a los citados polipéptidos sFlt-1. Un ensayo preferido, es el que se describe en los ejemplos de acompañamiento. Se incluyen, de una forma adicional, variantes las cuales difieren, debido a sus modificaciones post-traduccionales, tales como la fosforilación o la miristilación. El sFlt-1, puede detectarse en forma unida, o en forma libre, o como un nivel total de sFlt-1, en una muestra.

El término "Endogлина", tal y como éste se utiliza aquí, se refiere a un polipéptido, el cual tenga un peso molecular de 180 kDa, no reducido, de 95 kDa, después de la reducción, y de 66 kDa, en su forma reducida y N-desglucosilada. De una forma preferible, el término "Endogлина", se refiere a la Endogлина soluble. El polipéptido, es capaz de formar dímeros, y se une a los receptores de TGF- β y TGF- β . De una forma preferible, el término Endogлина, se refiere a una Endogлина humana. De una forma más preferible, la Endogлина humana, tiene una secuencia de aminoácidos, tal como la que se muestra en el Genebank (banco de genes), con el número de acceso AAC63386.1, GI: 3201489. Se han descrito dos isoformas de la Endogлина, la S-Endogлина y la L-Endogлина. La L-Endogлина, consiste en un total de 633 aminoácidos, con una cola citoplásmica de 47 aminoácidos, mientras que, la S-Endogлина, consiste en 600 aminoácidos, con una cola citoplásmica de 14 aminoácidos. De una forma preferible, la Endogлина, tal y como ésta se utiliza aquí, es la Endogлина soluble. La Endogлина soluble, tal y como se le hace referencia aquí, se describe, de una forma preferible, en la patente EP 1 804 836 B1. De una forma adicional, debe entenderse el hecho de que, una variante, a la cual se le haga referencia en concordancia con la presente invención, deberá tener una secuencia de aminoácidos, la cual difiera, debido a la sustitución, eliminación y / o adición de por lo menos un aminoácido, en donde, la secuencia de aminoácidos de la variante, sea todavía, de una forma preferible, por lo menos un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 92 %, un 95 %, un 97 %, un 98 %, ó un 99 % idéntica, con la secuencia de aminoácidos de la Endogлина específica. Las variantes a las cuales se le hace referencia, anteriormente, arriba, pueden ser variantes alélicas, variantes de empalmes, o cualesquiera otras especies de homólogos, parálogos u ortólogos específicos. De una forma adicional, las variantes a las cuales se les hace referencia aquí, incluyen a los fragmentos de la Endogлина específica, o a las variantes anteriormente mencionadas, arriba, siempre y cuando estos fragmentos tengan las propiedades biológicas e inmunológicas esenciales, a las que se ha hecho referencia anteriormente, arriba. Tales tipos de fragmentos, pueden ser, por ejemplo, productos de degradación de la Endogлина. Se considera que, las variantes, comparten las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales, si éstas son detectables mediante los mismos ensayos específicos, a los cuales se les ha hecho referencia en esta especificación, tal como, por ejemplo, mediante tests de ensayo ELISA, mediante la utilización de anticuerpos policlonales o monoclonales, los cuales reconozcan, de una forma específica, a los citados polipéptidos de Endogлина. Un ensayo preferido, es el que se describe en los ejemplos de acompañamiento. Se incluyen, de una forma adicional, variantes las cuales difieren, debido a sus modificaciones post-traduccionales, tales como la fosforilación o la miristilación. La Endogлина, puede detectarse, en forma enlazada o en forma libre, como un nivel de Endogлина total, en una muestra.

El término "PIGF" (Factor de crecimiento placentario - [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a Placental Growth Factor] -), tal y como éste se utiliza aquí, se refiere a factor de crecimiento derivado de la placenta, el cual es un polipéptido que tiene 149 aminoácidos de longitud, y el cual es altamente homólogo a la región semejante al factor de crecimiento derivado de las plaquetas del factor de crecimiento endotelial vascular, humano (VEGF - [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a vascular endothelial growth factor] -). De la misma forma que en el

VEGF, el PIGF, tiene actividad angiogénica in vitro e in vivo. Así, por ejemplo, la caracterización bioquímica y funcional del PIGF, derivado de las células COS-1 transfectadas, revelaron que hay una proteína secretada dimérica, glicosilada, la cual es capaz de estimular el crecimiento celular endotelial, in vitro (Maqione 1993, Oncogene 8 (4): 925 - 31). De una forma más preferible, el PIGF, se refiere al PIGF humano, refiriéndose éste, de una forma preferible, a una secuencia de aminoácidos, tal como la que se muestra en el Genebank (banco de genes), con el número de acceso P49763, GI: 17380555. El término, abarca a variantes de dicho PIGF humano específico. Tales tipos de variantes, tienen por lo menos las mismas propiedades biológicas e inmunológicas del polipéptido PIGF específico. Se considera que, las variantes, comparten las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales, si éstas son detectables mediante los mismos ensayos específicos, a los cuales se les ha hecho referencia en esta especificación, tal como, por ejemplo, mediante tests de ensayo ELISA, mediante la utilización de anticuerpos policlonales o monoclonales, los cuales reconozcan, de una forma específica, a los citados polipéptidos PIGF. Un ensayo preferido, es el que se describe en los ejemplos de acompañamiento. De una forma adicional, debe entenderse el hecho de que, una variante, a la cual se le haga referencia en concordancia con la presente invención, deberá tener una secuencia de aminoácidos, la cual difiera, debido a la sustitución, eliminación y / o adición de por lo menos un aminoácido, en donde, la secuencia de aminoácidos de la variante, sea todavía, de una forma preferible, por lo menos un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 92 %, un 95 %, un 97 %, un 98 %, ó un 99 % idéntica, con la secuencia de aminoácidos de los polipéptidos PIGF específicos. El grado de identidad entre dos secuencias de aminoácidos, pueden determinarse mediante algoritmos, los cuales se conocen bien, en el arte especializado de la técnica, y los cuales se describen aquí, en otro lugar. Las variantes a las cuales se le hace referencia, anteriormente, arriba, pueden ser variantes alélicas, o cualesquiera otras especies de homólogos, parálogos u ortólogos específicos. De una forma adicional, las variantes a las cuales se les hace referencia aquí, incluyen a los fragmentos de los polipéptidos PIGF, o los tipos de variantes anteriormente mencionados, arriba, siempre y cuando estos fragmentos tengan las propiedades biológicas e inmunológicas esenciales, a las que se hizo referencia anteriormente, arriba. Tales tipos de fragmentos, pueden ser, por ejemplo, productos de degradación o variantes de empalmes de los polipéptidos PIGF. Se incluyen, de una forma adicional, variantes las cuales difieren, debido a sus modificaciones post-traduccionales, tales como la fosforilación o la miristilación. El PIGF, puede detectarse en forma unida o en forma libre del nivel total de PIGF, en una muestra.

El término "nivel", tal y como éste se utiliza aquí, abarca a la cantidad absoluta de un biomarcador, tal y como se le hace referencia, aquí, a la cantidad o concentración relativa de dicho biomarcador, así como también a cualquier valor o parámetro, el cual se correlacione con éstas, o que pueda derivarse de éstas. Tales tipos de valores o de parámetros, comprenden los valores de la señal de intensidad procedentes de todas propiedades físicas o químicas obtenidas de los citados péptidos, mediante mediciones directas, tales como, por ejemplo, los valores de intensidad en espectros de masas, o en espectros de NMR. De una forma adicional, se abarca a la totalidad de valores o parámetros los cuales se hayan obtenido a partir de mediciones indirectas especificadas, en otro lugar, en esta descripción, tal como, por ejemplo, las cantidades o valores de respuesta obtenidas de los ligandos específicamente unidos. Deberá entenderse el hecho de que, los valores que se correlacionan con las cantidades o parámetros anteriormente mencionados, arriba, pueden también obtenerse mediante la totalidad de operaciones matemáticas estándar.

El término "comparar", tal y como éste se utiliza aquí, se refiere a comparar el factor de relación de los niveles de biomarcadores, de la forma la cual se les hace referencia aquí (primer factor de relación), en la primera muestra procedente de un sujeto, con el factor de relación de los niveles de los citados biomarcadores (segundo factor de relación), en la segunda muestra procedente del sujeto. Se entenderá el hecho de que, comparar, tal y como se utiliza aquí, se refiere, usualmente, a la comparación de parámetros o valores correspondientes, por ejemplo, procediendo a comparar una cantidad absoluta con una cantidad absoluta de referencia absoluta, mientras que, una concentración de referencia o una señal de la intensidad obtenida de un biomarcador, en una muestra, se compara con el mismo tipo de señal de la intensidad, obtenida de una muestra de referencia. La comparación, puede llevarse a cabo bien ya sea manualmente o bien ya sea de una forma asistida por computadora. Así, de este modo, la comparación, puede llevarse a cabo mediante un dispositivo de computación (tal como, por ejemplo, de un sistema el cual se revela aquí). El valor del (primer) factor de relación, en la primera muestra procedente del sujeto y el valor del (segundo) factor de relación, en la segunda muestra, pueden compararse, por ejemplo, el uno con respecto al otro, y dicha comparación, puede llevarse a cabo de una forma automática, mediante un programa de computadora (programa informático), el cual ejecute un algoritmo para la comparación. El programa de computadora que ejecuta la citada evaluación, proporcionará la evaluación deseada, en un formato de salida el cual sea apropiado. Para una comparación asistida por computadora, el valor del factor de relación determinado en la segunda muestra, puede compararse con un valor de relación, en la primera muestra, el cual se almacena en una base de datos, mediante un programa de computadora. El programa de computación, puede evaluar, de una forma adicional, el resultado de la comparación, es decir, proporcionar automáticamente la deseada asistencia, en un formato de salida apropiado. Para una comparación asistida por computadora, el valor del factor de relación determinado en la segunda muestra, puede compararse con el valor del factor de relación en la primera muestra, el cual se almacena en una base de datos, mediante un programa de computadora. El programa de computadora, puede evaluar, de una forma adicional, el resultado de la comparación, es decir, proporcionar, de una forma automática, la deseada asistencia, en un programa de salida apropiado.

El término “calcular un primer factor de relación”, ó “calcular un segundo factor de relación”, tal y como se le hace referencia aquí, se refiere a calcular el factor de relación del nivel de sFlt-1, ó de Endogлина, y el nivel de PIGF, procediendo a dividir dicho nivel o llevando a cabo cualquier orto cálculo matemático comparable, el cual ponga en relación el nivel de sFlt-1 ó de Endogлина, con respecto al nivel de PIGF. De una forma preferible, el nivel de sFlt-1, ó de Endogлина, se divide entre el nivel de PIGF, con objeto de calcular el factor de relación o cociente (así, de este modo, se procede a calcular el factor de relación del nivel de sFlt-1, ó de Endogлина, con respecto al nivel de PIGF). Así mismo, de una forma preferible, se procede a dividir el nivel de PIGF, entre el nivel de sFlt-1, ó de Endogлина, con objeto de calcular el factor de relación (así, de este modo, se procede a calcular el nivel PIGF entre el nivel de sFlt-1, ó de Endogлина. El cálculo, se lleva a cabo para los respetivos niveles determinados en dicha primera muestra y dicha segunda muestra, por separado, proporcionando el primer y el segundo factor de relación, respectivamente. El cálculo, puede llevarse a cabo al mismo tiempo, o en distintos tiempos.

Si el procedimiento comprende la comparación del segundo factor de relación, con el primer factor de relación, entonces, de una forma preferible, se aplica el criterio siguiente:

En una forma de presentación, el primer factor de relación y el segundo factor de relación, son los factores de relación o cocientes del Flt-1 con respecto al PIGF, o de la Endogлина con respecto al PIGF. De una forma preferible, un incremento del segundo factor de relación (o un segundo factor de relación esencialmente sin cambios), al compararse con el primer factor de relación, es indicativo de un sujeto el cual se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, y / o una disminución del segundo factor de relación, al compararse con el primer factor de relación, es indicativo de un sujeto el cual no se encuentra en riesgo de desarrollar una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño. Así mismo, de una forma preferible, el sujeto se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, si el segundo factor de relación, se encuentra incrementado, al compararse con el primer factor de relación, o bien, si el segundo factor de relación, es esencialmente el mismo que el primer factor de relación, mientras que, el sujeto, no se encuentra en riesgo de desarrollar una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, si el segundo factor de relación, se encuentra disminuido, al compararse con el primer factor de relación.

En otra forma de presentación, el primer factor de relación y el segundo factor de relación, son los factores de relación o cocientes del PIGF con respecto al Flt-1, ó del PIGF, con respecto a la Endogлина. De una forma preferible, una disminución del segundo factor de relación (o un segundo factor de relación esencialmente sin cambios), al compararse con el primer factor de relación, es indicativo de un sujeto el cual se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, y / o un incremento del segundo factor de relación, al compararse con el primer factor de relación, es indicativo de un sujeto el cual no se encuentra en riesgo de desarrollar una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño. Así mismo, de una forma preferible, el sujeto, se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, si el segundo factor de relación, se encuentra disminuido, al compararse con el primer factor de relación, o bien, si el segundo factor de relación, es esencialmente el mismo que el primer factor de relación, mientras que, el sujeto, no se encuentra en riesgo de desarrollar una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, si el segundo factor de relación, se encuentra incrementado, al compararse con el primer factor de relación.

El término “esencialmente sin cambios”, se conoce bien, el arte especializado de la técnica, y éste se entiende, por parte de las personas expertas, las cuales tengan experiencia el sector de diagnósticos. El término, se refiere a cambio menores del segundo factor de relación, al compararse con el primer factor de relación, tal como, por ejemplo, de menos un 3 % ó de un 7 %. En una forma de presentación, el término, se refiere a un factor de relación sin cambios.

Si la etapa e), de comparación del segundo factor de relación con el primer factor de relación, se lleva a cabo procediendo a comparar un factor de relación del segundo factor de relación, con respecto al primer factor de relación (o viceversa), entonces de una forma preferible, se aplica el criterio siguiente:

Si el primer y el segundo factor de relación, son factores de sFlt-1 con respecto a PIGF, o de Endogлина con respecto a PIGF, entonces, se aplica el criterio siguiente: De una forma preferible, un factor de relación, el cual sea igual o mayor de 1, es indicativo de un sujeto el cual se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, mientras que, un factor de relación, el cual sea inferior a 1, es indicativo de un sujeto el cual no se encuentra en riesgo de desarrollar una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño.

Si el primer y el segundo factor de relación, son factores de PIGF con respecto sFIt-1, ó de PIGF con respecto a Endoglina, entonces, se aplica el criterio siguiente: De una forma preferible, un factor de relación, el cual sea igual o inferior de 1, es indicativo de un sujeto el cual se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, mientras que, un factor de relación, el cual sea mayor de 1, es indicativo de un sujeto el cual no se encuentra en riesgo de desarrollar una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño.

En concordancia con la presente invención, los términos “incremento” y “disminución”, se refieren, de una forma preferible, a un incremento o a una disminución, estadísticamente significativas, respectivamente. De una forma particular, un incremento (o una disminución) que sea estadísticamente significativa, es un incremento (o una disminución), de un tamaño, el cual se considere como siendo estadísticamente significativo, para la predicción del riesgo. Los términos “significativo” (o signficante) y “estadísticamente significativo”, son conocidos, por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica. El hecho de que un incremento o una disminución, sean estadísticamente significativos, puede determinarse sin más preámbulos, por parte de una persona experta en el arte especializado de la técnica, mediante la utilización de varias herramientas de evaluación estadística, incluyendo a aquéllas a las cuales se les hace referencia aquí.

Un incremento preferido del segundo factor de relación del sFIt-1 ó la Endoglina, con respecto al PIGF, en la segunda muestra, al compararse con el factor de relación del sFIt-1 ó la Endoglina, con respecto al PIGF, en la segunda muestra, el cual se ha encontrado, en el curso de la invención, como siendo indicativo de que, un sujeto, se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, se trata, de una forma preferible, de un incremento de por lo menos un 3 %, de una forma más preferible, de por lo menos un 10 %, de una forma todavía más preferible, de por lo menos un 20 %, y de una forma mayormente preferible, de por lo menos un 30 %.

Una disminución preferida del segundo factor de relación del sFIt-1 ó la Endoglina, con respecto al PIGF, en la segunda muestra, al compararse con el factor de relación del sFIt-1 ó la Endoglina, con respecto al PIGF, en la segunda muestra, el cual se ha encontrado, en el curso de la invención, como siendo indicativa de que, un sujeto, no se encuentra en riesgo de desarrollar una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, se trata, de una forma preferible, de una disminución de por lo menos un 10 %, de una forma más preferible, de por lo menos un 20 %, de una forma todavía más preferible, de por lo menos un 30 %, y de una forma mayormente preferible, de por lo menos un 40 %.

Deberá entenderse el hecho de que, las definiciones y explicaciones de los términos, los cuales se facilitan anteriormente, arriba, y posteriormente, abajo, se aplican, de una forma correspondientemente en concordancia, para la totalidad de las formas de presentación, las cuales se encuentran descritas en esta especificación, y en las reivindicaciones que la acompañan.

La presente invención, se refiere, de una forma adicional, a un procedimiento para diferenciar entre un sujeto el cual se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, y un sujeto, el cual no se encuentra en riesgo de desarrollar una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, comprendiendo, dicho procedimiento, las etapas de:

- a) medir, en una primera muestra obtenida de un sujeto de sexo femenino, con un embarazo sin acontecimientos notables, antes del parto para dar a luz a un niño,
 - (i) el nivel del biomarcador sFIt-1 (tirosina quinasa semejante a fms del tipo 1, soluble) o el nivel del biomarcador Endoglina
 - (ii) el nivel de biomarcador PIGF (Factor de Crecimiento placentario),
- b) calcular el primer factor de relación de los niveles de biomarcadores, según se ha medido en la etapa a),
- c) medir, en una segunda muestra obtenida del citado sujeto de sexo femenino, después del parto para dar a luz a un niño, los niveles de los biomarcadores medidos en la etapa a),
- d) calcular el segundo factor de relación de los niveles medidos en la etapa c), y
- e) comparar el segundo factor de relación con el primer factor de relación.

En una forma de presentación, la etapa e) de la comparación del segundo factor de relación (cociente), con el primer factor de relación (cociente), se lleva a cabo procediendo a calcular el factor de relación del segundo factor de relación, con respecto al primer factor de relación (o viceversa).

La presente invención, se refiere, de una forma adicional, a un procedimiento para identificar a un sujeto el cual se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, comprendiendo, dicho procedimiento, las etapas de:

a) medir, en una primera muestra obtenida de un sujeto de sexo femenino, con un embarazo sin acontecimientos notables, antes del parto para dar a luz a un niño,

- 5 (i) el nivel del biomarcador sFlt-1 (tirosina quinasa semejante a fms del tipo 1, soluble) o el nivel del biomarcador Endoglina
 (ii) el nivel de biomarcador PIGF (Factor de Crecimiento placentario),

- 10 b) calcular el primer factor de relación de los niveles de biomarcadores, según se ha medido en la etapa a),
 c) medir, en una segunda muestra obtenida del citado sujeto de sexo femenino, después del parto para dar a luz a un niño, los niveles de los biomarcadores medidos en la etapa a),
 d) calcular el segundo factor de relación de los niveles medidos en la etapa c), y
 e) comparar el segundo factor de relación con el primer factor de relación.

15 En una forma de presentación, la etapa e) de la comparación del segundo factor de relación (cociente), con el primer factor de relación (cociente), se lleva a cabo procediendo a calcular el factor de relación del segundo factor de relación, con respecto al primer factor de relación (o viceversa).

20 En una forma preferida de presentación de los procedimientos de la presente invención, dichos procedimientos, comprenden, de una forma adicional, la etapa de recomendar y / o iniciar por lo menos una medida de soporte apropiada, si se predice el hecho de que, el sujeto, se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño.

25 Tal y como se ha discutido anteriormente, arriba, un sujeto que sufra de por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz a un niño, requiere unos cuidados médicos particulares. Así, de este modo, si un sujeto se identifica como encontrándose en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, de una forma particular, de desarrollar una preeclampsia postparto, una eclampsia postparto y / o un síndrome de HELLP, postparto, entonces, dicha asistencia o cuidados médicos, pueden ayudar a establecer medidas de soporte apropiadas, por adelantado, es decir, antes de que la consecuencia o resultado adverso, el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, se manifieste clínicamente. De una forma preferible la citada por lo menos una medida de soporte apropiada, se selecciona de entre el grupo consistente en: un estrecho control de seguimiento (de una forma particular, con respecto a los síntomas clínicos del síndrome de HELLP postparto, de la preeclampsia postparto, o de la eclampsia postparto), la admisión en una unidad de cuidados intensivos, la administración de corticoides, la administración de sulfato magnésico, y la administración de agentes reductores de la presión sanguínea, y otras medidas específicas dependientes de la consecuencia o resultado adverso de la madre, véase, Haram K, Svendsen E, Abildgaard U. The HELLP syndrome: clinical issues and management. A review. - El síndrome de HELLP: Aspectos clínicos y gestión -. Una revisión. BMC Pregnancy and Childbirth, - BMC Embarzo y alumbramiento de niños 2009; 9(8). <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2393-9-8> ó DGGG. SI-Leitlinie: Diagnostik und Therapie hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe, - Directrices S1: Diagnóstico y terapia de los trastornos del embarazo, de la Sociedad Alemana de ginecología y de ayuda al parto, véase citación facilitada anteriormente, arriba.

45 Correspondientemente en concordancia, la presente invención, se refiere, de una forma adicional, a un procedimiento de iniciación de por lo menos una medida de soporte, en un sujeto de sexo femenino, después de dar a luz a un niño; comprendiendo, dicho procedimiento, las etapas de los procedimientos de la presente invención, anteriormente mencionados, arriba, las etapas adicionales de identificar a un paciente el cual se encuentre en riesgo de desarrollar una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, y la etapa adicional de iniciar por lo menos una medida de soporte apropiada, de la forma indicada anteriormente, arriba.

55 Si el sujeto no se encuentra en riesgo, entonces, el sujeto, puede excluirse de la citada por lo menos una medida de soporte.

La presente invención, se refiere, de una forma adicional, al uso (in vitro) de

- 60 · los biomarcadores sFlt-1) o Endoglina) y PIGF, ó
 · un agente, el cual se una (específicamente) al sFlt-1 (o un agente, el cual se una (específicamente), a la Endoglina) y un agente, el cual se una (específicamente) al PIGF,

65 en una primera muestra, obtenida de un sujeto de sexo femenino, con un embarazo sin incidentes o acontecimientos notables, antes de dar a luz al niño, y en una segunda muestra obtenida de dicho sujeto de sexo femenino, después de dar a luz al niño, para predecir el riesgo de un sujeto de sexo femenino, de desarrollar una consecuencia o

resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño.

La presente invención, se refiere, de una forma adicional, al uso (in vitro) de

- 5 · los biomarcadores sFlt-1) o Endoglina) y PIGF, y / o
 · un agente, el cual se una (específicamente) al sFlt-1 (o un agente, el cual se una (específicamente), a la Endoglina) y un agente, el cual se una (específicamente) al PIGF,

10 para la elaboración de un diagnóstico, para predecir el riesgo de un sujeto de sexo femenino, de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, de una forma particular, en una primera muestra, obtenida de un sujeto de sexo femenino, con un embarazo sin incidentes o acontecimientos notables, antes de dar a luz al niño, y en una segunda muestra obtenida de dicho sujeto de sexo femenino, después de dar a luz al niño.

15 De una forma preferible, los biomarcadores o agentes, se utilizan de la forma indicada en el procedimiento anteriormente mencionado, arriba.

20 De una forma preferible, se calculará un primer y un segundo factor de relación de sFlt-1 ó Endoglina y PIGF (tal y como se describe aquí, en otro lugar), para la primera y la segunda muestra y, los factores de relación, se compararán, de una forma particular, en donde, un incremento del segundo factor de relación (o un factor de relación esencialmente sin cambios), al compararse con el primer factor de relación, es indicativo de un sujeto el cual se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño y / o, en donde, una disminución del segundo factor de relación, al compararse con el primer factor de relación, es indicativo de un sujeto, el cual no se encuentra en riesgo de desarrollar una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño.

30 De una forma preferible, el agente, es un agente de detección. En una forma de presentación, el agente, es un anticuerpo, tal como un anticuerpo monoclonal o policlonal.

Los algoritmos de diagnóstico preferidos, se dan a conocer anteriormente, arriba.

35 De una forma preferible, el agente, es un agente de detección. En una forma de presentación, el agente, es un anticuerpo, tal como un anticuerpo monoclonal o policlonal.

40 La presente invención, ser refiere, de una forma adicional, a un dispositivo adaptado para predecir el riesgo de un sujeto de sexo femenino, de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, de una forma particular, procediendo a llevar a cabo el procedimiento anteriormente mencionado, arriba, comprendiendo, dicho procedimiento:

- 45 a) una unidad analizadora la cual comprende un agente, el cual se une, de una forma específica, al sFlt-1 y/o la Endoglina, y un agente, el cual se une, de una forma específica, al PIGF, encontrándose adaptada, dicha unidad, para medir el nivel de sFlt-1 y / o de Endoglina y el nivel de PIGF, en una primera muestra procedente de un sujeto de sexo femenino, obtenida antes de dar a luz al niño, y una segunda muestra de dicho sujeto de sexo femenino, antes de dar a luz al niño; y.
- 50 b) una unidad de evaluación, la cual comprende un procesador de datos, el cual tiene implementado un algoritmo, para llevar a cabo las siguientes etapas de:
- i) calcular el primer factor de relación de los citados niveles de sFlt-1 ó Endoglina y PIGF, determinados en la primera muestra, y un segundo factor de relación de los citados niveles de sFlt-1 ó Endoglina y PIGF, determinados en la segunda muestra, y
- ii) comparar el valor de dicho primer y dicho segundo factor de relación y, opcionalmente,
- iii) predecir el riesgo, para dicho sujeto, de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño.

55 de una forma particular, en donde, se pronostica que un sujeto se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, si el valor del segundo factor de relación, se encuentra incrementado (o esencialmente sin cambios), al compararlo con el valor del primer factor de relación (y / o si el factor de relación del segundo factor de relación, con respecto al primer factor de relación, es igual a, o mayor de 1), y / o, en donde, se pronostica que un sujeto no se encuentra en riesgo de desarrollar una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, si el valor del segundo factor de relación, se encuentra disminuido, al compararlo con el valor del primer factor de relación (y / o, si el factor de relación del segundo factor de relación, con respecto al primer factor de relación, es inferior a 1).

65 De una forma opcional, el algoritmo para llevar a cabo la siguiente etapa, puede acarrear adicionalmente la etapa de

pronosticar el riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz al niño.

5 El término "dispositivo", tal y como éste se utiliza aquí, se refiere a un sistema el cual comprende las unidades operativamente vinculadas, las unas con las otras, de tal forma que éstas permitan la diagnosis en concordancia con los procedimientos de la invención. Los agentes preferidos (tales como, por ejemplo, los agentes de detección), los cuales pueden utilizarse para la unidad analizadora, tal y como ésta se revela aquí, en otro lugar. La unidad analizadora, comprende, de una forma preferible, los citados agentes de detección, en forma inmovilizada, sobre un soporte sólido, el cual debe conectarse a la muestra, la cual comprende los biomarcadores cuyo nivel debe determinarse. De una forma adicional, la unidad analizadora, puede también comprender un detector, el cual mida el agente de detección, el cual se encuentra específicamente unido al (a los) biomarcador(es). El nivel medido, puede transmitirse a la unidad de evaluación. Dicha unidad de evaluación, comprende un elemento procesador de datos, al como el consistente en una computadora, con un algoritmo incrementado para llevar a cabo el cálculo de los factores de relación (o de los niveles de biomarcadores), opcionalmente, un comparación de los citados factores de relación calculados, y una evaluación del resultado de la comparación, mediante la implementación de un algoritmo basa en computadora, el cual lleva a cabo las etapas del procedimiento de la presente invención, el cual se ha expuesto en detalle, aquí, en otro lugar. Los resultados, pueden proporcionarse como una salida de datos brutos paramétricos de diagnóstico. Deberá entenderse el hecho de que, esos datos, necesitan, usualmente, la interpretación, por parte del médico. Sin embargo, no obstante, se contemplan, así mismo, dispositivos de sistemas expertos, en donde, la salida, comprende datos brutos de diagnóstico procesados, cuya interpretación, no requiere un médico especialista.

25 En concordancia con algunas formas de presentación, una unidad analizadora, puede configurarse para la detección óptica de un analito, tal como, por ejemplo, un marcador, con una muestra. Una unidad analizadora, la cual se encuentre configurada para la detección óptica, comprende un dispositivo configurado para convertir la energía electromagnética, en una señal eléctrica, la cual incluye a ambos, los detectores ópticos individuales y los detectores ópticos multielemento o en serie. En concordancia con la presente revelación, un detector óptico, es capaz de llevar a cabo un control de seguimiento de una señal óptica, electromagnética, y de proporcionar una señal eléctrica de salida, o una señal de respuesta relativa a la señal de referencia, indicativa de la presencia y / o la concentración de un analito, en una muestra, la cual se encuentre localizada en una trayectoria óptica. Tales tipos de dispositivos, pueden también incluir, así mismo, por ejemplo, fotodiodos, incluyendo a los fotodiodos, a los fotodiodos de avalancha, a los fototransistores, a los detectores fotoconductores, a las series de sensores lineales, a los detectores CCD, a los detectores CMOS, incluyendo a los detectores de series CMOS, a los fotomultiplicadores, y a las series de fotomultiplicadores. En concordancia con ciertas formas de presentación, un detector óptico, tal como el consistente en un fotodiodo o en un fotomultiplicador, puede contener dispositivos electrónicos adicionales de acondicionamiento y de procesado de la señal. Así, por ejemplo, un detector óptico, puede incluir por lo menos un preamplificador, un filtro electrónico, o un circuito integrado. Los preamplificadores apropiados, incluyen, por ejemplo, a los preamplificadores integrantes, de transimpedancia, y de ganancia de corriente (de espejo de corriente).

40 De una forma adicional, una o más unidades analizadoras en concordancia con la presente revelación, pueden comprender una fuente de luz, para emitir luz. Así, por ejemplo, un fuente de luz o una unidad analizadora, pueden consistir en por lo menos un elemento de emisión de luz (tal como el consistente en un diodo de emisión de luz, en una fuente de radiación de funcionamiento eléctrico, tal como una lámpara incandescente, una lámpara electroluminiscente, una lámpara de descarga de gas, una lámpara de descarga de alta intensidad, un láser), para mediar las concentraciones de analito, en una muestra sometida a test de ensayo, o para activar una transferencia de energía (tal como, por ejemplo, mediante transferencia de energía de resonancia fluorescente, o mediante la catalización de una enzima).

50 De una forma adicional, la unidad analizadora, del sistema, puede incluir una o más unidades de incubación (tal como, por ejemplo, para mantener una muestra o un reactivo, a una temperatura especificada, o en un rango de temperaturas).

55 De una forma adicional, una unidad analizadora del sistema dado a conocer aquí, puede comprender o encontrarse operativamente conectado a un recipiente de reacción, o a una unidad de alimentación de cubeta. La unidades de alimentación ejemplares, incluyen a las unidades de procesado de líquidos, tales como las consistente en una unidad de pipeteado, para suministrar muestras y / o reactivos, a los recipientes de reacción. La unidad de pipeteado, puede comprender una aguja reutilizable, susceptible de poderse lavar, tal como, por ejemplo, una aguja de acero, o boquillas de pipeta desechables. La unidad analizadora, puede comprender, de una forma adicional, una o más unidades de mezcla, tal como, por ejemplo, un agitador, para agitar una cubeta, la cual comprende un líquido, o una paleta mezcladora, para mezclar líquidos en una cubeta, o un recipiente de reactivos.

65 Se desprende, a raíz de lo expuesto anteriormente, arriba, el hecho de que, en concordancia con algunas formas de presentación de la presente revelación, pueden llevarse a cabo porciones de algunas etapas de los procedimientos descritos aquí, mediante un dispositivo de computación. Un dispositivo de computación, puede ser el consistente en

una computadora para propósitos generales, o un dispositivo de computación portable, por ejemplo. Debe también entenderse el hecho de que pueden utilizarse, conjuntamente, múltiples dispositivos de computación, tales como una red de interconexión, u otros procedimientos de transferencia de datos, para llevar a cabo una o más etapas de los procedimientos los cuales se dan a conocer aquí. Los dispositivos de computación ejemplares, incluyen a las computadoras (ordenadores) de sobremesa, a las computadoras portátiles, a los asistentes de datos personales (“PDA” – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a personal data assistants] -), tales como los consistentes en los dispositivos de la marca BLACKBERRY, dispositivos de telefonía móviles, computadoras del tipo tableta, servidores, y por el estilo. De una forma general, un dispositivo de computación, comprende un procesador capaz de ejecutar una pluralidad de instrucciones (tal como un programa de software informático).

Un dispositivo de computación, tiene acceso a una memoria. Una memoria, es un medio de lectura por computadora, y éste puede comprender un dispositivo de almacenamiento individual, o múltiples dispositivos de almacenamiento, localizados bien ya sea localmente, con un dispositivo de computación, o bien ya se de una forma accesible al dispositivo de computación, a través de una red, por ejemplo. El medio de lectura (susceptible de poderse leer) por computadora, puede ser cualquier medio disponible, al cual se pueda acceder mediante el dispositivo de computación, y éste incluye a ambos, los medios volátiles y los medios no volátiles. De una forma adicional, el medio de lectura por computadora, puede ser uno o ambos de los medios retirables, y medios no retirables. A título de ejemplo no limitativo, los medios de lectura por computadora, pueden comprender medios de almacenamiento en computadora. Los medios de almacenamiento en computadora, incluyen, si bien no de una forma limitativa en cuanto a éstos, a los dispositivos de almacenamiento RAM, ROM, EEPROM, una memoria flash o cualquier otra tecnología de memoria, dispositivos de almacenamiento CD-ROM, discos versátiles digitales (DVD) u otros discos de almacenamiento óptico, casetes magnéticos, cintas magnéticas, discos de almacenamiento óptico, u otros dispositivos de almacenamiento magnético, o cualquier otro medio, el cual puede utilizarse para el almacenamiento de una pluralidad de instrucciones, a las cuales sea posible acceder, mediante al dispositivo de computación y las cuales sean posibles de ejecutar, mediante el procesador del dispositivo de computación.

En concordancia con formas de presentación de la presente revelación, el software informático, puede incluir instrucciones, las cuales, cuando se ejecutan mediante un procesador del dispositivo de computación, pueden realizar una o varias etapa de los procedimientos dados a conocer aquí. Algunas de las instrucciones, pueden adaptarse para para producir señales las cuales controlen la operación de otras máquinas, y así, de este modo, dichas instrucciones, pueden operarse mediante dichas señales de control, para transformar materiales bastante alejados de la computadora en sí misma. Estas descripciones y representaciones, son los medios utilizados por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica de procesado de datos, por ejemplo, para transportar de una forma más efectiva la substancia, a otras personas expertas en el arte especializado de técnica.

La pluralidad de instrucciones, puede también comprender un algoritmo, el cual se encuentra generalmente concebido, para ser una secuencia autoconsistente de las etapas que llevan al resultado deseado. Estas etapas, son aquéllas las cuales requieren manipulaciones físicas de cantidades físicas. De una forma usual, si bien no necesariamente, estas cantidades, toman la forma de pulsos o de señales eléctricas o magnéticas, capaces de poderse almacenar, transferir, transformar, combinar, comparar, o manipularse de otra forma. Ha probado ser conveniente, algunas veces, principalmente, por razones de uso común, el hacer referencia a estas a estas señales, como valores, caracteres, datos de exposición, números, o por el estilo, como una referencia a los elementos o manifestaciones, en los cuales, dichas señales, se personifican o se expresan. Debería no obstante tenerse en cuenta, no obstante, el hecho de que, la totalidad de estos términos, y términos similares, deben asociarse con las apropiadas cantidades físicas, y que éstas se utilizan meramente, aquí, como calificaciones convenientes aplicadas a dichas cantidades. En concordancia con algunas formas de presentación de la presente invención, se personifica y se ejecuta un algoritmo para llevar a cabo una comparación entre un determinado nivel de uno o más marcadores los cuales se dan a conocer aquí, y una referencia apropiada, mediante la ejecución de las instrucciones. Los resultados, pueden proporcionarse como datos brutos paramétricos de diagnóstico de salida o como niveles de absolutos o relativos. En concordancia con varias formas de presentación del sistema dado a conocer aquí, puede proporcionarse una “diagnosis”, mediante el dispositivo de computación de un sistema dado a conocer aquí, en base a la citada comparación del “nivel” calculado de referencia o un umbral o límite. Así, por ejemplo, un dispositivo de computación de un sistema, puede proporcionar un indicador, en forma de una palabra, de un símbolo, o de un valor numérico, el cual es indicativo de una diagnosis particular.

El dispositivo de computación, puede también acceder a un dispositivo de salida. Los ejemplos ejemplarizantes de dispositivos de salida, incluyen a las máquinas de fax, a las pantallas expositoras, a las impresoras, y a los archivos, por ejemplo. En concordancia con algunas formas de presentación de la siguiente revelación, un dispositivo de computación, puede realizar una o más etapas de un procedimiento dado a conocer aquí, y después de ello, proporcionar una salida, vía un dispositivo de (datos de) salida, referentes a un resultado, una indicación, un factor de relación o cociente, u otro factor del procedimiento.

De una forma adicional, mediante la presente invención, se abarca un equipo a modo de “kit”, el cual se encuentra adaptado para llevar cabo el procedimiento anteriormente mencionado, arriba, para producir el riesgo, de un sujeto de sexo femenino, para desarrollar por lo menos una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre

relacionado con la preeclampsia, después de dar a luz a un niño, el cual comprende: i) agentes de detección para determinar los niveles de los biomarcadores sFlt-1 y PIGF, ó ii) agentes de detección para determinar los niveles de los biomarcadores Endoglina y PIGF, ó iii) agentes de detección para determinar los niveles de los biomarcadores sFlt-1, Endoglina y / o PIGF, así como instrucciones para llevar a cabo dicho procedimiento.

5 El término “equipo a modo de kit”, (o simplemente “kit”), tal y como éste se utiliza aquí, se refiere a una recopilación de loa anteriormente mencionados componentes, de una forma preferible, proporcionados separadamente o en un recipiente individua. El recipiente, comprende, así mismo, también, instrucciones para llevar a cabo el procedimiento de la presente invención. Estas instrucciones, pueden ser en forma de un manual, o éste puede proporcionarse como un código de un programa de computadora, el cual sea capaz de llevar a cabo las comparaciones a las cuales se les hace referencia en los procedimientos de la presente invención y para establecer una diagnosis, correspondientemente en concordancia, cuando éstas se implementan en una computadora o en un dispositivo de procesamiento de datos. El código del programa de computadora, puede proporcionarse en un medio o dispositivo de almacenamiento de datos, tal como un medio de almacenamiento óptico (como, por ejemplo, un Compact Disc – disco de compacto -) o, directamente, en una computadora o dispositivo de procesamiento de datos. De una forma adicional, el kit, comprenderá por lo menos un patrón estándar, a modo de referencia, de la forma la cual se ha definido anteriormente, arria, es decir, una solución, con un nivel predefinido para el biomarcador, tal y como se le hace referencia, aquí, que represente un nivel de referencia.

20 En algunas formas de presentación, un kit revelado aquí, incluye por lo menos un componente, o una combinación envasada de componentes, para practicar un procedimiento dado a conocer. Mediante “combinación envasada”, se pretende dar a entender el hecho de que, los kits, proporcionen un envase adicional, el cual contiene una combinación de uno o de más componentes, tales como los consistentes en sondas (por ejemplo, un anticuerpo), controles, tampones, reactivos (tales como, por ejemplo, un conjugado y / o un sustrato), instrucciones, y por el estilo, de la forma la cual se define aquí. Se incluye también, aquí, dentro de la definición de “combinación envasada”, un kit, el cual contiene un recipiente individual. En algunas formas de presentación, los kits, incluyen por lo menos una sonda, tal como, por ejemplo, un anticuerpo (el cual tenga una afinidad específica para un epítotope de un biomarcador, de la forma la cual se define aquí. Así, por ejemplo, los kits, pueden incluir un anticuerpo, el cual se marque con un fluoróforo, o un anticuerpo el cual sea un miembro de una proteína de fusión. En el kit, la sonda, puede encontrarse inmovilizada, o ésta puede inmovilizarse en una conformación específica. Así, por ejemplo, puede proporcionarse una muestra inmovilizada, en un kit, para unirse específicamente a una proteína diana, para detectar una proteína diana, en una muestra, y / o para retirar la proteína diana, de una muestra.

35 En concordancia con algunas formas de presentación, los kits, incluyen por lo menos una sonda, la cual puede inmovilizarse, en por lo menos un recipiente. Los kits, pueden también incluir múltiples sondas, de una forma opcional, inmovilizadas, en uno o más recipientes. Así, por ejemplo, las múltiples sondas, pueden encontrarse presentes en un recipiente individual, o en recipientes separados, tal como, por ejemplo, en donde, cada contenedor, contenga una sonda individual.

40 En algunas formas de presentación, un kit, puede incluir una o más sondas no inmovilizadas, y uno o más portadores o soportes sólidos, los cuales pueden incluir, o no incluir, las sondas inmovilizadas. Algunas de tales formas de presentación, pueden comprender algunos o la totalidad de reactivos y suministros necesarios para la inmovilización de una o de más sondas, en el portador o soporte sólido, o algunos o la totalidad de los reactivos y suministros necesarios para unir las sondas inmovilizadas a proteínas específicas, dentro de una muestra.

45 En ciertas formas de presentación, una sonda individual (incluyendo a múltiples copias de la misma sonda), pueden encontrarse inmovilizadas en un portador o soporte sólido individual, y proporcionarse en un recipiente individual. En otras formas de presentación, se proporcionan dos o más sondas, cada una específica para diferentes proteínas diana o una forma diferente de una proteína diana individual (tal como un epítotope específico), en un recipiente individual. En algunas formas de presentación, puede proporcionarse una sonda inmovilizada en múltiples recipientes diferentes (tal como, por ejemplo, en forma de un solo uso), o pueden proporcionarse múltiples sondas inmovilizadas, en múltiples diferentes tipos de soportes sólidos. Se contempla cualquier combinación de sonda(s) inmovilizada(s) y de recipiente(s), para los kits dados a conocer aquí, y puede seleccionarse cualquier combinación de entre éstos, para conseguir un kit apropiado para su uso deseado.

55 Un recipiente de los kits, puede ser cualquier tipo recipiente el cual sea apropiado para envasar y / o contener uno o más de los componentes dados a conocer aquí, incluyendo, por ejemplo, a las sondas (tal como, por ejemplo, un anticuerpo), a los controles, a las sondas y a los reactivos (tal como, por ejemplo, conjugados y / o sustratos). Los materiales apropiados, incluyen, si bien no de una forma limitativa en cuanto a éstos, al vidrio, al plástico, al cartón u otro producto a base de papel, a la madera, al metal, y a cualquier aleación de éstos. En algunas formas de presentación, el recipiente, puede encerrar completamente una sonda o sondas inmovilizada(s), o puede sencillamente cubrir la muestra, para minimizar la contaminación mediante materia en polvo, aceites, etc. y su exposición a la luz. En algunas formas adicionales de presentación, los kits, pueden comprender un recipiente individual o múltiples recipientes, y en donde se encuentran presentes múltiples recipientes, pudiendo ser, cada recipiente, el mismo que los otros recipientes, diferente con respecto a los otros, o diferente de algunos, pero no de la

totalidad de los otros recipientes.

La presente invención, se refiere, así mismo, a un sistema para predecir el riesgo, para un sujeto de sexo femenino, de desarrollar una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia, el cual comprende:

- a) una unidad analizadora, configurada para contactar, in vitro, una porción de una primera y una segunda muestra, procedente de un sujeto, tal y como se explica aquí, en otro lugar, con i) un agente, el cual se une, específicamente, al PIGF, y ii) un agente, el cual se une, específicamente, a sFlt-1; ó un agente, el cual se une, específicamente, a la Endoglina,
- b) una unidad analizadora, configurada para detectar una señal procedente de una porción de la muestra procedente del sujeto contactado con los agentes,
- c) una unidad de computación, la cual tiene un procesador, en comunicación operable con las citadas unidades de análisis, y
- d) un medio no transitorio, leíble mediante máquina, el cual incluye una pluralidad de instrucciones ejecutables mediante un procesador, en donde, cuando se ejecutan las instrucciones, éstas calculan un primer y un segundo factor de relación, tal y como se expone aquí, en otro lugar, y comparan el primer factor de relación, con el segundo factor de relación, prediciendo, con ello, el riesgo, para un sujeto de sexo femenino, de desarrollar una consecuencia o resultado adverso el cual se encuentre relacionado con la preeclampsia.

La totalidad de las referencias a las cuales se hace referencia anteriormente, arriba, se incorporan, aquí, a título de referencia, con respecto a la totalidad del contenido dado a conocer, así como también, con respecto a su contenido específico dado a conocer, al que se hace referencia, en la descripción anteriormente facilitada, arriba.

EJEMPLOS

Los ejemplos que se facilitan a continuación, ilustrarán meramente la invención. Éstos no deberán interpretarse, no obstante, como siendo limitativos de la invención.

Ejemplo 1: Medición de los niveles de suero de PIGF, sFlt-1 y Endoglina.

Se procedió a determinar los niveles de PIGF, sFlt-1 y Endoglina, mediante la utilización de inmunoensayos comercialmente disponibles. De una forma particular, se utilizaron los siguientes ensayos.

El sFlt-1, se determinó mediante inmunoensayos sándwich, con la utilización de analizadores de la serie Elecsys™ ó cobas e™, de la firma Roche. Los ensayos, comprenden dos anticuerpos monoclonales, específicos para el respectivo polipéptido. El primero de estos anticuerpos, se encuentra biotinilado y, el segundo, se encuentra marcado con un complejo de Tris(2,2'bipiridil)rutenio (II). En una primera etapa de incubación, ambos anticuerpos, se incuban con la muestra. Se forma un complejo sándwich, el cual comprende el péptido a determinar, y dos diferentes anticuerpos. En una siguiente etapa de incubación, se procede a añadir, a este complejo, perlas recubiertas con estreptavidina. Las perlas, se unen a los complejos sándwich. Se procede, a continuación, a aspirar la mezcla de reacción, al interior de un célula de medición, en donde, las perlas, se capturan magnéticamente, sobre la superficie de un electrodo. La aplicación de un voltaje, induce, entonces, una emisión luminiscente procedente del complejo de rutenio, el cual se mide, mediante un fotomultiplicador. La cantidad de luz emitida, depende de la cantidad de complejos sándwich sobre el electrodo. El test de ensayo de sFlt-1, se encuentra comercialmente disponible, en el mercado, de procedencia de la firma Roche Diagnostis GmbH, Mannheim, Alemania. Otros detalles adicionales sobre el test de ensayo, se encuentran en el inserto del envase. El rango de medición del sFlt-1, incluye a niveles que van desde los 10 pg/ml, hasta los 85.000 pg/ml.

La Endoglina, se midió mediante un inmunoensayo de medición de la Endoglina humana, del tipo "Quantikine™ Human Endoglin/CD105 immunoassay", el cual se encuentra comercialmente disponible, en el mercado, de procedencia de la firma R&D Systems, Inc, Minneapolis, US. Este ensayo, emplea la técnica cuantitativa del inmunoensayo enzimático tipo sándwich. Se ha procedido, previamente, a aplicar, un anticuerpo específico para la Endoglina, como capa de recubrimiento, sobre una microplaca. Los patrones estándar y las muestras, se pipetea al interior de los pozos y, cualquier Endoglina la cual se encuentre presente, se une, mediante un anticuerpo monoclonal específico. Después de haber separado, mediante lavado, cualesquiera sustancias no unidas, se procede a añadir, a los pozos, un anticuerpo monoclonal unido a una enzima, específico para la Endoglina. Después de haber procedido a un lavado, para eliminar cualquier reactivo anticuerpo-enzima, no unido, se añade una solución de un substrato, a los pozos, y se desarrolla color, de una forma proporcional al nivel de Endoglina unido en la etapa inicial. El desarrollo del color, se para, y se procede a medir la intensidad del color. Detalles adicionales sobre el ensayo, se encuentran en el inserto del envase. El rango de medición de la Endoglina, incluye a niveles que van desde los 0,001 ng/l, hasta los 10 ng/l.

El PIGF, se sometió a test de ensayo, mediante la utilización de dos anticuerpos específicos de PIGF, en un

5 inmuensayo sándwich, el cual se llevó a cabo en un analizador de la serie Elecsys™- ó cobas e™ (véase anteriormente, arriba, para los detalles). El test de ensayo para el PIGF, se encuentra comercialmente disponible, de procedencia de la firma Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania. Otros detalles adicionales sobre el test de ensayo, se encuentran en el inserto del envase. El rango de medición del PIGF, incluye a niveles que van desde los 3 pg/ml, hasta los 10.000 pg/ml.

10 **Ejemplo 2:** Análisis de los biomarcadores sFlt-1 y PIGF, en pacientes con consecuencias, los cuales desarrollaron un síndrome de HELLP, postparto, una preeclampsia postparto, o una eclampsia postparto, y en los controles. R1, representa el resultado del factor de relación, en la primera muestra; R2, corresponde al resultado del factor de relación obtenido, de la segunda muestra.

Mujeres con síndrome de HELLP, posparto / preeclampsia postparto / eclampsia postparto

15 1) Mujeres con síndrome de HELLP, postparto:

Factor de relación sFlt-1/PIGF (R1) = 44
 Factor de relación sFlt-1/PIGF (R2) = 64
 $R2/R1 = 64/44 = 1,45 (>=1)$

20 2) Mujeres con preeclampsia postparto grave y con una hepatopatología asociada:

Factor de relación sFlt-1/PIGF (R1) = 162
 Factor de relación sFlt-1/PIGF (R2) = 283
 $R2/R1 = 283/162 = 1,74 (>=1)$

25 Controles

Mujeres con preeclampsia (inicio clínico de la enfermedad, antes del parto):

30 1) Mujeres con preeclampsia grave (inicio de la enfermedad y parto en la semana de gestación 33 -- 36)

Factor de relación sFlt-1/PIGF (R1) = 101
 Factor de relación sFlt-1/PIGF (R2) = 19
 $R2/R1 = 19/101 = 0,18 (<1)$

35 Mujeres sin preeclampsia / eclampsia / síndrome de HELLP

Factor de relación sFlt-1/PIGF (R1) = 143
 Factor de relación sFlt-1/PIGF (R2) = 73
 $R2/R1 = 73/143 = 0,51 (<1)$

40 2) Otras mujeres de control

Factor de relación sFlt-1/PIGF (R1) = 132
 Factor de relación sFlt-1/PIGF (R2) = 35
 $R2/R1 = 35/132 = 0,26 (<1)$

50 Adicionalmente, los niveles de sFlt-1 y de PIGF, en la muestra, obtenidos después del parto, se compararon con los niveles de sFlt-1 y de PIGF, en la muestra, obtenidos antes del parto. De una forma interesante, ambos niveles, descendieron, después del parto, en los sujetos con consecuencias o resultados adversos postparto, relacionados con la preeclampsia. En base al descenso observado, no fue posible establecer una predicción del riesgo, para los pacientes sometidos a test de ensayo, en base a los niveles del biomarcador individual sFlt-1 ó PIGF, solo, respectivamente (al compararse con los controles). Así, de este modo, el factor de relación, tal y como éste se da a conocer aquí, es un marcador fiable, para predecir el riesgo de desarrollar una consecuencia o resultado adverso, relacionado con la preeclampsia postparto.

REIVINDICACIONES

- 1.- Un procedimiento para predecir el riesgo, para un sujeto de sexo femenino, de desarrollar por lo menos una consecuencia adversa, la cual se encuentre relacionada con la preeclampsia, después de dar luz a un niño, comprendiendo, dicho procedimiento, las etapas de:
- a) medir, en una primera muestra obtenida de un sujeto de sexo femenino, con un embarazo sin acontecimientos notables, antes de dar a luz al niño,
 - (i) el nivel del biomarcador sFlt-1 (tirosina quinasa semejante a fms del tipo 1, soluble) o el nivel del biomarcador Endoglina, y
 - (ii) el nivel del biomarcador PIGF (Factor de Crecimiento placentario),
 - b) calcular el primer factor de relación de los niveles de biomarcadores, según se ha medido en la etapa a),
 - c) medir, en una segunda muestra obtenida del citado sujeto de sexo femenino, después de dar a luz al niño, los niveles de los biomarcadores medidos en la etapa a),
 - d) calcular el segundo factor de relación de los niveles medidos en la etapa c), y
 - e) comparar el segundo factor de relación con el primer factor de relación.
- 2.- El procedimiento de la reivindicación 1, en donde, en las etapas a) y c), se miden los niveles de los biomarcadores sFlt-1 y PIGF.
- 3.- El procedimiento de la reivindicación 2, en donde, la por lo menos una consecuencia adversa, la cual se encuentre relacionada con la preeclampsia, se selecciona de entre el grupo consistente en la preeclampsia postparto, la eclampsia postparto, y el síndrome de HELLP postparto.
- 4.- El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde, el sujeto de sexo femenino con un embarazo sin incidentes, no exhibía una consecuencia adversa, la cual se encontrara relacionada con la preeclampsia, antes de dar a luz al niño, de una forma particular, en donde, el sujeto con un embarazo sin incidentes, no sufría de una preeclampsia, de una forma particular, de una preeclampsia grave, de una eclampsia y/o de un síndrome de HELLP, antes de dar a luz al niño.
- 5.- El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde, la primera muestra, se ha obtenido dentro de las 48 horas antes de dar a luz al niño, de una forma particular, dentro de las 24 horas antes de dar a luz al niño.
- 6.- El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde, la segunda muestra, se ha obtenido dentro de las 24 horas después de dar a luz al niño, de una forma particular, dentro de las 16 horas después de dar a luz al niño.
- 7.- El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde, el primer factor de relación y el segundo factor de relación, son los factores de relación del Flt-1 con respecto al PIGF, o de la Endoglina con respecto al PIGF y, en donde, un incremento del segundo factor de relación, o un segundo factor de relación esencialmente sin cambios, al compararse con el primer factor de relación, es indicativo de un sujeto el cual se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia adversa, la cual se encuentre relacionada con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, y/o en donde, una disminución del segundo factor de relación, al compararse con el primer factor de relación, es indicativo de un sujeto el cual no se encuentra en riesgo de desarrollar una consecuencia adversa, la cual se encuentre relacionada con la preeclampsia, después de dar a luz al niño.
- 8.- El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde, el primer factor de relación y el segundo factor de relación, son los factores de relación del PIGF con respecto al Flt-1, ó del PIGF con respecto a la Endoglina y, en donde, una disminución del segundo factor de relación, o un segundo factor de relación esencialmente sin cambios, al compararse con el primer factor de relación, es indicativo de un sujeto el cual se encuentra en riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia adversa, la cual se encuentre relacionada con la preeclampsia, después de dar a luz al niño, y/o, en donde, un incremento del segundo factor de relación, al compararse con el primer factor de relación, es indicativo de un sujeto el cual no se encuentra en riesgo de desarrollar una consecuencia adversa, la cual se encuentre relacionada con la preeclampsia, después de dar a luz al niño.
- 9.- El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde, el sujeto, es un humano.
- 10.- El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde, la muestra, es una muestra de sangre, de suero, o de plasma, o en donde, la muestra, es una muestra de orina.

- 5 11.- El procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde, el sujeto, se pronostica el riesgo de desarrollar por lo menos una consecuencia adversa, la cual se encuentre relacionada con la preeclampsia, dentro de los siete días, de una forma particular, dentro de las 72 horas o dentro de las 48 horas, después de dar luz a un niño
- 12.- Uso, in vitro, de
- 10 i) los biomarcadores sFlt-1 y PIGF,
ii) un agente, el cual se una específicamente al sFlt-1 y un agente, el cual se una específicamente a PIGF,
iii) los biomarcadores Endoglina y PIGF y/o
iv) un agente, el cual se una específicamente a la Endoglina, y un agente el cual se una específicamente al PIGF,
- 15 en una primera muestra, obtenida de un sujeto de sexo femenino, con un embarazo sin incidentes, antes de dar a luz al niño, y en una segunda muestra obtenida de dicho sujeto de sexo femenino, después de dar a luz al niño, para predecir el riesgo de un sujeto de sexo femenino, de desarrollar una consecuencia adversa, la cual se encuentre relacionada con la preeclampsia, después de dar a luz al niño.
- 20 13.- El uso, según la reivindicación 12, en donde, el uso, comprende, de una forma adicional, un cálculo de un primer y un segundo factor de relación del sFlt-1 ó de la Endoglina, y del PIGF, y la comparación primer factor de relación, con el segundo factor de relación.
- 14.- El uso de las reivindicaciones 12 y 13, en donde, el citado agente, es un anticuerpo.
- 25 15.- Un dispositivo adaptado para predecir el riesgo de un sujeto de sexo femenino, de desarrollar por lo menos una consecuencia adversa la cual se encuentre relacionada con la preeclampsia, después de dar a luz a un niño, comprendiendo, dicho procedimiento:
- 30 a) una unidad analizadora la cual comprende un agente, el cual se une, de una forma específica, al sFlt-1 y/o a la Endoglina, y un agente, el cual se une, de una forma específica, al PIGF, encontrándose adaptada, dicha unidad, para medir el nivel de sFlt-1 y/o de Endoglina y el nivel de PIGF, en una primera muestra procedente de un sujeto de sexo femenino, obtenida antes de dar a luz al niño, y una segunda muestra de dicho sujeto de sexo femenino, después de dar a luz al niño; y
- 35 b) una unidad de evaluación, la cual comprende un procesador de datos, el cual tiene implementado un algoritmo, para llevar a cabo las siguientes etapas de:
- 40 i) calcular el primer factor de relación de los citados niveles de sFlt-1 ó Endoglina y PIGF, determinados en la primera muestra, y un segundo factor de relación de los citados niveles de sFlt-1 ó Endoglina y PIGF, determinados en la segunda muestra, y
ii) comparar el valor de dicho primer y dicho segundo factor de relación y, opcionalmente,
iii) predecir el riesgo, para dicho sujeto, de desarrollar por lo menos una consecuencia adversa, la cual se encuentre relacionada con la preeclampsia, después de dar a luz al niño.