

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 724 478**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.10.2009 PCT/EP2009/007738**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.04.2010 WO10046136**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.10.2009 E 09744085 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.02.2019 EP 2356450**

54 Título: **Pronóstico y evaluación del riesgo en pacientes con accidente cerebrovascular determinando el nivel de péptidos marcadores**

30 Prioridad:

07.11.2008 EP 08168671
24.10.2008 EP 08167512

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.09.2019

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

BERGMANN, ANDREAS;
MORGENTHALER, NILS y
MÜLLER, BEAT

74 Agente/Representante:

CURELL SUÑOL, S.L.P.

ES 2 724 478 T3

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

DESCRIPCIÓN

Pronóstico y evaluación del riesgo en pacientes con accidente cerebrovascular determinando el nivel de péptidos marcadores.

5

Campo de la invención

La presente invención se encuentra en el campo del diagnóstico clínico. Particularmente la presente invención se refiere al pronóstico del desenlace y a la evaluación del riesgo en pacientes con accidente cerebrovascular mediante la determinación del nivel de péptidos marcadores.

10

Antecedentes de la invención

El accidente cerebrovascular se define como un déficit neurológico focal agudo que resulta de una enfermedad cerebrovascular. Los dos tipos principales de accidente cerebrovascular son el isquémico y el hemorrágico, que representan aproximadamente 85% y 15%, respectivamente (Hickey 2003. *The clinical practice of neurological and neurosurgical nursing* (5ª ed.). Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins). Cuando se produce un accidente cerebrovascular isquémico, se interrumpe el suministro de sangre al cerebro, y las células del cerebro resultan privadas de oxígeno y glucosa. Aproximadamente 45% de los accidentes cerebrovasculares isquémicos están causados por pequeños o grandes trombos arteriales, 20% son de origen embólico, y otros tienen una causa desconocida (Hickey 2003. *The clinical practice of neurological and neurosurgical nursing* (5ª ed.). Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins).

15

20

El accidente isquémico transitorio (AIT) (conocido asimismo como "miniaccidente cerebrovascular") es un síndrome caracterizado por el comienzo repentino de síntomas neurológicos discretos que se resuelven completamente en 24 horas. Se puede informar sobre un AIT en 0,5 - 8% de la población anciana (Bots *et al.*, 1997. *Stroke* 28(4): 768-73). Un paciente que presenta un AIT presenta un elevado riesgo de eventos adversos posteriores. Se ha informado de que el riesgo de accidente cerebrovascular en 90 días es superior a 10%, produciéndose el riesgo más elevado en los 2 primeros días (Jonston *et al.*, 2003. *Neurology* 60: 1429-34).

25

30

El accidente cerebrovascular es una de las enfermedades vasculares más importantes. El accidente cerebrovascular sigue siendo la segunda causa principal de muerte en todo el mundo y es una de las principales causas de incapacidad en los adultos y de invalidez en los jóvenes en Europa (Murray y Lopez, 1997. *Lancet* 349: 1269-76. Murray y Lopez 1997. *Lancet* 349:1498-504). En los Estados Unidos, más de 700.000 personas sufren un accidente cerebrovascular cada año, de los cuales 550.000 son primeros accidentes cerebrovasculares (Thom *et al.* 2006. *Heart disease and stroke statistics - actualización 2006: A report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Circulation* 113: 85-151). Por lo tanto, es un importante problema de salud pública y una carga para los profesionales de la salud y para la comunidad en conjunto debido a la cantidad de esfuerzo que es necesario invertir en la organización y prestación de asistencia sanitaria.

35

40

La incidencia de accidentes cerebrovasculares aumenta considerablemente con el aumento de la edad en nuestra sociedad (Modan y Wagener, 1992. *Stroke* 23:1230-36): La mayor parte de los accidentes cerebrovasculares isquémicos se producen entre los 71 y los 80 años mientras la mayoría de los accidentes cerebrovasculares hemorrágicos aparecen entre los 60 y 70 años (Colombo *et al.*, 1989. *Rivista de Neurologia* 59: 1-7).

45

Se utilizan métodos de obtención de imágenes neurorradiológicas como la tomografía computarizada (TC) o la tomografía de resonancia magnética (TRM) para el diagnóstico del accidente cerebrovascular. El barrido por TC se recomienda para pacientes que padecen accidente cerebrovascular agudo causado por hemorragia cerebral. Este método, no obstante, es menos eficaz en pacientes que padecen un insulto isquémico agudo (sensibilidad inferior a 33%). La sonografía Doppler y la angiografía por sustracción digital (ASD) se pueden utilizar adicionalmente para determinar las causas de las alteraciones circulatorias agudas.

50

El tratamiento del accidente cerebrovascular isquémico normalmente se centra en el apoyo de las funciones vitales y en medidas de rehabilitación. Las terapias están destinadas a eliminar el bloqueo rompiendo el coágulo o eliminándolo mecánicamente, minimizando la expansión del coágulo y previniendo la formación de nuevos coágulos. La trombolisis (rotura de coágulos de sangre) se puede inducir aplicando un activador del plasminógeno (tPA o PLAT) en las 3 primeras horas después del accidente cerebrovascular. Puesto que algunos estados de enfermedad como la hipoglicemia, la migraña, la hemorragia cerebral y ciertos tumores cerebrales tienen los mismos síntomas que un accidente cerebrovascular isquémico agudo, existe la necesidad de diagnósticos diferenciales rápidos.

55

60

Es necesario asimismo ajustar la terapia de acuerdo con la situación individual de los pacientes, por ejemplo el pronóstico individual y/o el riesgo individual de otros accidentes cerebrovasculares.

65

El pronóstico del desenlace para los pacientes con accidente cerebrovascular después de un intervalo definido puede ser funcional o estar relacionado con la supervivencia del individuo. Para el pronóstico del desenlace funcional, se determina la morbilidad de un paciente después de un tiempo definido utilizando un sistema de puntuación tal como la escala de clasificación ("Ranking Scale") modificada (ERm; Bonita y Beaglehole, 1988. Modification of Ranking Scale: Recovery of motor function after stroke. *Stroke* 19: 1497-1500) o la Stroke Scale de los National Institutes of Health (NIHSS; Adams *et al.*, 1999. Baseline NIH Stroke Scale score strongly predicts outcome after stroke: A report of the Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST). *Neurology* 53: 126-31), siendo actualmente la NIHSS el criterio de referencia. El desenlace funcional asimismo se puede expresar en términos de necesidad de cuidados de enfermería o con respecto a actividades de la vida diaria (AVD), por ejemplo de acuerdo con el índice de Barthel, la NIHSS y la escala de clasificación modificada. The Barthel ADL Index: a reliability study. *International Disability Study* 10: 61-3. Bonita y Beaglehole, 1988. Modification of Ranking Scale: Recovery of motor function after stroke. *Stroke* 19: 1497-1500). Se ha informado de que algunos biomarcadores son indicativos de futuros eventos cardiovasculares, por ejemplo un accidente cerebrovascular adicional. Los potenciales biomarcadores de accidente cerebrovascular de los que se ha hecho referencia son S-100B (proteína de suero 100 Beta; Stranjalis *et al.* 2007 *Acta Neurochir (Wien)* 149: 231-7. Foerch *et al.*, 2005. *Arch Neurol* 62: 1130-4), NSE (neuronenspezifische Enolase; Anand y Staed 2005. *Cerebrovasc Dis* 20: 213-9), GFAP (proteína ácida fibrilar glial; Nysten *et al.*, 2007. *Stroke* 38: 1489-94), PCR (proteína C reactiva; Di Napoli *et al.* 2001. *Stroke* 32: 133-8. Di Napoli *et al.* 2001. *Stroke* 32: 917-24), IL-6 (*Interleukin-6*; Orion *et al.*, 2008. *Eur J Neurol* 15:323-8; Shenhar-Tsarfaty *et al.*, 2007. *Thromb Res* 122:167-73), y fibrinógeno de plasma (Turaj *et al.* 2006. *J Neurol Sci* 246: 13-9). Se ha demostrado que pro-BNP N-terminal (NT-proBNP) es una variable independiente para el pronóstico de supervivencia individual después de un accidente cerebrovascular isquémico (Jensen *et al.* 2006. *Cerebrovasc Dis* 22: 439-44. Sharma *et al.* 2006. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 15: 121-7; Mäkikallio *et al.* 2005. *Stroke* 36: 1016-20; Yip *et al.* 2006. *Circ J* 70: 447-52) y después de un accidente cerebrovascular hemorrágico (Sharma *et al.* 2006. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 15: 121-7).

Los niveles de ANP maduro (Estrada *et al.* 1994. *Am J Hypertens* 7: 1085-9) y ADM (Hosomi *et al.* 2004. *J Hypertens* 22: 1945-51) han sido determinados en muestras de pacientes con accidente cerebrovascular isquémico. Sin embargo, no se ha podido demostrar ninguna correlación entre las concentraciones de ANP y el estado neurológico (escala de Mathew modificada) o el desenlace.

Se han descubierto unas elevadas concentraciones de ET-1 en la sangre de pacientes con accidente cerebrovascular sin investigar el valor pronóstico de estos datos (Ziv *et al.* 1992 *Stroke* 23: 1014-6; Alioglu *et al.* 2002. *Angiology* 53: 77-82; Giannopoulos *et al.* 2008. *Neurol. Res.* 30(7):727-30). Se ha descubierto que los niveles de ET-1 son elevados en pacientes después de un accidente cerebrovascular isquémico (Estrada *et al.* 1994. *Am J Hypertens* 7: 1085-9) pero no se ha determinado ninguna correlación con la tasa de supervivencia.

Una investigación de los niveles de Procalcitonina en suero (PCT) de pacientes que padecen un accidente cerebrovascular agudo (Miyakis *et al.* 2004. *Clin Chim Acta* 350: 437-9) no reveló diferencias significativas de los niveles el día de la hospitalización y el día 7. En este estudio no se ha descubierto una correlación entre los niveles de PCT y la mortalidad o los desenlaces neurológicos.

La hormona del crecimiento humana (hGH) es un polipéptido producido por las células somatotropas en la hipófisis. Es secretada de manera pulsátil (10 a 20 pulsos en cada ciclo de 24 horas) y su secreción es regulada por tres péptidos hipotalámicos, la hormona liberadora de hormona del crecimiento (GHRH) y la grelina, que estimulan la secreción de hGH, y la somatostatina, que inhibe la secreción de hGH por medio de retroregulación (Kato *et al.* 2002. *Regulation of human growth hormone secretion and its disorders.* *Internal Med* 41: 7-13).

La hGH es heterogénea, consistiendo en varias isoformas moleculares y fragmentos (Baumann G. 1991. *Growth hormone heterogeneity: genes, isohormones, variants and binding proteins.* *Endocr Rev* 12: 424-449). Se han identificado cuatro isoformas principales de hGH en la hipófisis humana que varían en el número de aminoácidos e incluyen 191 aa (frecuencia de 87,5%), 176 aa (8,1%), 153 aa (3,3%) y 145 aa (11%) (Zhan X. *et al.* 2005. *Proteomics analysis of growth hormone isoforms in the human pituitary.* *Proteomics* 5: 1228-41). La forma de 191 aa tiene un peso molecular de 22 kDa y es secretada simultáneamente desde la hipófisis anterior con la forma de 176 aa (isoforma de 20 kDa), que carece de los residuos de aminoácido 32 a 46 (De Palo E. *et al.* 2006. *Growth hormone isoforms and segments/fragments: molecular structure and laboratory measurements.* *Clin Chim Acta* 365: 67-76).

La secreción de hGH es ligeramente superior en mujeres que en hombres, observándose los mayores niveles en la pubertad. La secreción disminuye con la edad aproximadamente 14% por década. Por otra parte, la secreción varía con las condiciones fisiológicas normales y patofisiológicas. Los principales mecanismos de regulación fisiológica de hGH son señales de ritmo endógeno neural, sueño, estrés, ejercicio, y señales nutricionales y metabólicas: los niveles de hGH son más altos durante el sueño de ondas lentas (típicamente una o dos horas después de caer dormido) y aumentan por el ejercicio, el estrés, la fiebre, el ayuno y con algunos aminoácidos (leucina y arginina). La secreción de hGH asimismo es estimulada por la hipoglucemia inducida por la insulina, la L-dopa, la clonidina (agonista α 2-adrenérgico), el γ -hidroxibutirato y los agentes bloqueadores β -adrenérgicos, mientras que la administración oral de glucosa y el aumento de los niveles de ácidos grasos libres en suero en

cambio, suprimen la secreción de hGH. La secreción de hGH asimismo es limitada en la obesidad y por el envejecimiento. (Revisión en: Kato *et al.* 2002. Regulation of human growth hormone secretion and its disorders. Internal Med 41: 7-13).

5 La proteína C reactiva (PCR) es una proteína del plasma que fue descubierta originalmente por Tillet y Francis en 1930 como una sustancia del suero de pacientes con inflamación aguda que reaccionaba con el polisacárido C de *pneumococcus*. Se ha demostrado que los pacientes con niveles basales elevados de PCR presentan un mayor riesgo de diabetes, hipertensión y enfermedad cardiovascular (Pradhan *et al.* (2001. JAMA 286: 327-334; Dehghan 2007, Diabetes 56: 872).

10 La troponina es un complejo de tres proteínas reguladoras que es una parte integrante de la contracción muscular en el músculo esquelético y cardíaco, pero no del músculo liso. La troponina presenta tres subunidades: TnC, TnI, y TnT. Las subunidades individuales cumplen diferentes funciones: La troponina C (TnC) se une a los iones de calcio para producir un cambio conformacional en TnI. La troponina T se une a la tropomiosina, entrelazándolas para formar un complejo de troponina-tropomiosina. La troponina I se une a la actina en finos miofilamentos para mantener el complejo de troponina-tropomiosina en su lugar. Algunos subtipos de troponina (troponina I y T cardíaca) son indicadores muy sensibles y específicos de la lesión del músculo cardíaco (miocardio). Se puede utilizar su nivel en muestras de sangre para diferenciar entre angina inestable e infarto de miocardio (ataque al corazón) en pacientes con dolor de pecho (Antman *et al.* 1996. N Engl J Med; 335:1342-9).

Sumario de la invención

25 Un objetivo de la presente invención es proporcionar un método mejorado para el pronóstico de las secuelas o la evaluación del riesgo de un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio, que comprende determinar el nivel de por lo menos un péptido marcador en una muestra de dicho paciente.

30 La presente invención se refiere a las formas de realización caracterizadas en las reivindicaciones. Por lo tanto, se refiere a los siguientes apartados.

1. Un método *in vitro* para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo de un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio, en el que el riesgo se selecciona de entre el grupo que comprende muerte en tres meses, repetición del accidente cerebrovascular en tres meses, repetición de AIT en tres meses, y en el que el desenlace se define de acuerdo con la escala de clasificación modificada en tres meses, el índice de Barthel en tres meses o la National Institute of Health Stroke Scale en tres meses o el desenlace funcional se expresa en términos necesidad de cuidados de enfermería o con respecto a actividades de la vida diaria que comprenden las siguientes etapas:

40 a. determinación del nivel de por lo menos dos péptidos cardiovasculares en una muestra de dicho paciente, seleccionándose dichos péptidos cardiovasculares de entre el que comprende ANP, AVP, ADM, ET-1, calcitonina, y hGH o fragmentos de los mismos o su precursor o fragmentos del mismo, en el que el conjunto de los por lo menos dos péptidos marcadores se selecciona de entre el grupo que comprende las siguientes combinaciones de péptidos cardiovasculares: ANP y AVP, ANP y ADM, ANP y ET-1, ANP y calcitonina, ANP y hGH, ADM y ET-1, ADM y calcitonina, ADM y hGH, ET-1 y calcitonina, ET-1 y hGH, y calcitonina y hGH,

45 b. correlación del nivel de dichos por lo menos dos péptidos marcadores, o fragmentos de los mismos o su precursor o fragmentos del mismo con el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo para dicho paciente.

2. Un método según el apartado 1, en el que dichos por lo menos dos péptidos cardiovasculares se seleccionan de entre el grupo que comprende MR-proANP, CT-proAVP, MR-proADM, CT-proET-1, PCT y hGH.

55 3. Un método según el apartado 1, en el que dicha muestra es una muestra previa a la intervención.

4. Un método para la estratificación de un paciente en grupos de riesgo, habiendo sufrido dicho paciente un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio y comprendiendo dicho método las etapas según cualquiera de los apartados 1 a 3.

60 5. Un método para la estratificación de un paciente según el apartado 4, en el que el nivel de dichos por lo menos dos péptidos cardiovasculares se atribuye a un accidente cerebrovascular isquémico o a un accidente cerebrovascular hemorrágico o a un accidente isquémico transitorio.

65 6. Un método según el apartado 1, en el que cada péptido cardiovascular se selecciona de entre un subconjunto diferente de péptidos marcadores seleccionados de entre el grupo que comprende péptidos cardiovasculares,

péptidos endoteliales, péptidos hipofisarios y péptidos inflamatorios, en el que el péptido cardíaco es ANP, los péptidos endoteliales se seleccionan de entre el grupo que comprende ET-1 y ADM, los péptidos hipofisarios se seleccionan de entre el grupo que comprende AVP y hGH y el péptido inflamatorio es PCR.

- 5 7. Un método según los apartados 1 a 6, en el que la determinación se realiza utilizando un análisis multivalente que considera además covariables seleccionadas de entre el grupo que comprende NIHSS, el índice de Barthel y la escala de clasificación modificada.
- 10 8. La utilización *in vitro* de un kit para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo de un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio, comprendiendo el kit una combinación de por lo menos dos sondas de captura dirigidas contra péptidos marcadores o fragmentos de los mismos o precursores o fragmentos de los mismos, seleccionándose la combinación de entre el grupo que comprende MR-proANP y MR-proADM, MR-proANP y CT-proET-1, MR-proADM y CT-proET-1, MR-proANP y hGH, hGH y MR-proADM, hGH y CT-proET-1, MR-proANP y PCT, MR-proADM y PCT, CT-proAVP y PCT, CT-proET-1 y PCT, hGH y PCT y en la que dichas sondas de captura son anticuerpos o fragmentos funcionales de los mismos.
- 15 9. La utilización de un kit como se define en el apartado 8, para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo de un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio, en la que el riesgo se selecciona de entre el grupo que comprende muerte en tres meses, repetición del accidente cerebrovascular en tres meses, repetición de AIT en tres meses, escala de clasificación modificada en tres meses.
- 20 10. La utilización del método según cualquiera de los apartados 1 a 7 o la utilización del kit como se define en el apartado 8 para el control de la terapia en un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio.
- 25 11. La utilización del método según cualquiera de los apartados 1 a 7 o la utilización del kit como se define en el apartado 8 para la diferenciación del accidente cerebrovascular isquémico del accidente cerebrovascular hemorrágico o para la diferenciación del accidente cerebrovascular isquémico y/o hemorrágico del accidente isquémico transitorio.
- 30 12. La utilización del método según cualquiera de los apartados 1 a 7 o la utilización del kit como se define en el apartado 8 para la determinación de si dicho paciente está sufriendo un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio basándose en el nivel de dichos por lo menos dos péptidos cardiovasculares.
- 35

Descripción detallada de la invención

40 La presente invención se refiere a un método *in vitro* para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo de un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio, en el que el riesgo se selecciona de entre el grupo que comprende muerte en tres meses, repetición del accidente cerebrovascular en tres meses, repetición de AIT en tres meses, y en el que el desenlace se define de acuerdo con la escala de clasificación modificada en tres meses, el índice de Barthel en tres meses o la National Institute of Health Stroke Scale en tres meses o el desenlace funcional se expresa en términos de la necesidad de cuidados de enfermería o con respecto a actividades de la vida diaria que comprenden las siguientes etapas:

45

- 50 a. determinación del nivel de por lo menos dos péptidos cardiovasculares en una muestra de dicho paciente, seleccionándose dichos péptidos cardiovasculares de entre el que comprende ANP, AVP, ADM, ET-1, calcitonina, y hGH o fragmentos de los mismos o su precursor o fragmentos del mismo, en el que el conjunto de los por lo menos dos péptidos marcadores se selecciona de entre el que comprende las siguientes combinaciones de péptidos cardiovasculares: ANP y AVP, ANP y ADM, ANP y ET-1, ANP y calcitonina, ANP y hGH, ADM y ET-1, ADM y calcitonina, ADM y hGH, ET-1 y calcitonina, ET-1 y hGH, y calcitonina y hGH,
- 55 b. la correlación del nivel de dicho por lo menos un péptido marcador, o fragmentos del mismo o su precursor o fragmentos del mismo con el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo para dicho paciente.

60 Los péptidos marcadores preferidos de acuerdo con la presente divulgación son ANP, BNP, AVP, ADM, ET-1, calcitonina, troponina, PCR (proteína C reactiva) y hGH. Los péptidos marcadores particularmente preferidos son ANP, BNP, AVP, ADM, ET-1, calcitonina y hGH. Estos péptidos asimismo se pueden clasificar en subconjuntos según su origen y/o el lugar de síntesis dentro del organismo o según el principal sitio de acción o según sus propiedades funcionales: ANP, BNP y troponina (cT) son péptidos cardiovasculares, ET-1 y ADM son péptidos endoteliales, AVP (incluyendo por ejemplo copeptina) y hGH son péptidos hipofisarios, mientras PCT y PCR son péptidos inflamatorios.

65

La troponina y la PCR (proteína C reactiva) son proteínas o complejos de proteínas, es decir polipéptidos. En el contexto de la presente divulgación, son como los otros péptidos mencionados a los que se hace referencia asimismo como péptidos marcadores.

5 El término "péptidos marcadores" en el contexto de la presente invención se refiere por lo tanto a los péptidos cardiovasculares, inflamatorios y/o hipofisarios de la invención.

10 En una forma de realización preferida de la invención, dicha muestra se ha tomado de dicho paciente de manera previa a la intervención. En otra forma de realización preferida de la invención, dicha muestra se ha tomado de dicho paciente de manera posterior a la intervención.

15 Los términos "de manera previa a la intervención", "previa a la intervención" y "antes de la intervención" en la presente memoria se refieren al momento antes de que haya iniciado la intervención para el tratamiento del accidente cerebrovascular o AIT.

20 Mediante "intervención" se hace referencia a cualquier intervención médica utilizada para modificar un desenlace médico. Esta definición incluye la administración de fármaco, los procedimientos quirúrgicos, la aplicación de dispositivos, los tratamientos conductuales, los cambios en el proceso de atención, y similares. Preferentemente, la muestra se toma tras la admisión del paciente en el hospital o antes de que se haya confirmado el diagnóstico de accidente cerebrovascular o AIT. Los términos "de manera posterior a la intervención", "posterior a la intervención" y "después de la intervención" se refieren al momento después de que haya comenzado la intervención o el tratamiento.

25 Los niveles de los marcadores obtenidos mediante los métodos o la utilización de los ensayos de acuerdo con la presente invención se pueden analizar de numerosas maneras bien conocidas por los expertos en la materia. Por ejemplo, cada resultado de ensayo obtenido se puede comparar con un valor "normal", o un valor que indique una enfermedad o desenlace particulares. Un diagnóstico/pronóstico particular puede depender de la comparación de cada resultado del ensayo con semejante valor, al que se puede hacer referencia como un "umbral" de diagnóstico o pronóstico. Como se divulga en la presente memoria, los ensayos para uno o más indicadores de diagnóstico o pronóstico se correlacionan con una afección o enfermedad por la mera presencia o ausencia del indicador o los indicadores en el ensayo. Por ejemplo, se puede diseñar un ensayo de manera que una señal positiva solamente se produzca por encima de una concentración umbral concreta de interés, y por debajo de cuya concentración el ensayo no proporciona señal por encima del fondo.

35 La sensibilidad y la especificidad de una prueba de diagnóstico y/o pronóstico dependen de algo más que solamente la "calidad" analítica de la prueba, asimismo dependen de la definición de lo que constituye un resultado anormal. En la práctica, las curvas de característica operativa del receptor (Curvas ROC), se calculan típicamente trazando el valor de una variable frente a su frecuencia relativa en poblaciones "normales" (es decir aparentemente sanas) y "enfermas". Para cualquier marcador concreto, es probable que la distribución de los niveles de marcadores para sujetos con y sin una enfermedad se solape. En tales condiciones, una prueba no distingue absolutamente la normalidad de la enfermedad con 100% de precisión, y el área de solapamiento indica cuándo la prueba no puede distinguir la normalidad de la enfermedad. Se selecciona un umbral, por encima del cual (o por debajo del cual, dependiendo de cómo cambie un marcador con la enfermedad) se considera que la prueba es anormal y por debajo del cual la prueba se considera normal. El área bajo la curva ROC es una medida de la probabilidad de que el nivel de marcador medido permita la identificación correcta de una enfermedad o afección. Se pueden utilizar curvas ROC incluso cuando los resultados de la prueba no proporcionan necesariamente un número exacto. Siempre que se puedan clasificar los resultados, se puede crear una curva ROC. Por ejemplo, los resultados de una prueba de muestras de "enfermedad" se podrían clasificar según el grado (por ejemplo 1=bajo, 2=normal, y 3=elevado). Esta clasificación se puede correlacionar con los resultados en la población "normal", y crear una curva ROC. Estos métodos son bien conocidos en la técnica. Ver, *por ejemplo*, Hanley *et al.* 1982. Radiology 143: 29-36. Preferentemente, se selecciona un umbral para proporcionar un área de curva ROC de más de aproximadamente 0,5, más preferentemente más de aproximadamente 0,7, aún más preferentemente más de aproximadamente 0,8, incluso más preferentemente más de aproximadamente 0,85, y todavía más preferentemente más de aproximadamente 0,9. El término "aproximadamente" en la presente memoria hace referencia a +/- 5% de una medida dada.

60 El eje horizontal de la curva ROC representa (1-especificidad), que aumenta con la tasa de falsos positivos. El eje vertical de la curva representa sensibilidad, que aumenta con la tasa de verdaderos positivos. Por lo tanto, para un corte concreto seleccionado, se puede determinar el valor de (1-especificidad), y se puede obtener la correspondiente sensibilidad. El área bajo la curva ROC es una medida de la probabilidad de que el nivel de marcador medido permita la identificación correcta de una enfermedad o afección. Por lo tanto, el área bajo la curva ROC se puede utilizar para determinar la eficacia de la prueba.

65 Como se divulga en la presente memoria, los umbrales concretos para uno o más marcadores en un panel no se basan en la determinación de si el perfil de niveles de marcadores obtenidos de un sujeto es indicativo de un diagnóstico/pronóstico particular. En vez de eso, la presente invención puede utilizar una evaluación de un

"perfil" del panel de marcadores como un todo unitario. Un patrón de cambios en "dedo de cinc" particular en semejante panel de marcadores puede, en efecto, actuar como un indicador de diagnóstico o pronóstico específico. Como se expone en la presente memoria, el patrón de cambios se puede obtener de una sola muestra, o de cambios temporales en uno o más miembros del panel (o un valor de respuesta del panel). Un panel en la presente memoria hace referencia a un conjunto de marcadores.

Como se describe en la presente memoria a continuación, un valor de respuesta del panel se determina preferentemente trazando curvas ROC para la sensibilidad (es decir, verdaderos positivos) de un panel de marcadores concreto frente a 1-(especificidad) (es decir, falsos positivos) para el panel a diferentes cortes. En estos métodos, se considera un perfil de mediciones de marcadores juntos de un sujeto para proporcionar una probabilidad global (expresada en forma de una puntuación numérica o en forma de un porcentaje de riesgo) de un diagnóstico o pronóstico. Como se divulga en la presente memoria, un aumento en un cierto subconjunto de marcadores puede ser suficiente para indicar un diagnóstico/pronóstico particular en un paciente, mientras que un aumento en un subconjunto diferente de marcadores puede ser suficiente para indicar el mismo o diferente diagnóstico/pronóstico en otro paciente. Asimismo se pueden aplicar factores de ponderación a uno o más marcadores en un panel, por ejemplo, cuando un marcador tiene una utilidad particularmente alta en la identificación de un diagnóstico/pronóstico particular, se puede ponderar de manera que a un nivel dado por sí solo sea suficiente para señalar un resultado positivo. Del mismo modo, se puede proporcionar un factor de ponderación de manera que ningún nivel dado de un marcador particular sea suficiente para señalar un resultado positivo, sino que solamente señala un resultado cuando otro marcador asimismo contribuye al análisis.

Asimismo se divulga que los marcadores y/o paneles de marcadores se seleccionan para que muestren por lo menos aproximadamente 70% de sensibilidad, más preferentemente por lo menos aproximadamente 80% de sensibilidad, incluso más preferentemente por lo menos aproximadamente 85% de sensibilidad, todavía más preferentemente por lo menos aproximadamente 90% de sensibilidad, y aún más preferentemente por lo menos aproximadamente 95% de sensibilidad, combinada con por lo menos aproximadamente 70% de especificidad, más preferentemente por lo menos aproximadamente 80% de especificidad, incluso más preferentemente por lo menos aproximadamente 85% de especificidad, todavía más preferentemente por lo menos aproximadamente 90% de especificidad, y aún más preferentemente por lo menos aproximadamente 95% de especificidad. En las formas de realización particularmente preferidas, tanto la sensibilidad como la especificidad son por lo menos aproximadamente 75%, más preferentemente por lo menos aproximadamente 80%, incluso más preferentemente por lo menos aproximadamente 85%, todavía más preferentemente por lo menos aproximadamente 90%, y aún más preferentemente por lo menos aproximadamente 95%. El término "aproximadamente" en este contexto hace referencia a +/- 5% de una medición dada.

Se divulga que se utiliza una proporción de probabilidad positiva, una proporción de probabilidad negativa, una razón de oportunidades, o una proporción de riesgo como una medida de la capacidad de una prueba para pronosticar el riesgo o diagnosticar una enfermedad. En el caso de una proporción de probabilidad positiva, un valor de 1 indica que un resultado positivo es igualmente probable entre los sujetos de los grupos tanto "de enfermos" como de "control"; un valor superior a 1 indica que un resultado positivo es más probable en el grupo de enfermos; un valor inferior a 1 indica que un resultado positivo es más probable en el grupo de control. En el caso de una proporción de probabilidad negativa, un valor de 1 indica que un resultado negativo es igualmente probable entre los sujetos de los grupos tanto "de enfermos" como de "control"; un valor superior a 1 indica que un resultado negativo es más probable en el grupo de prueba; un valor inferior a 1 indica que un resultado negativo es más probable en el grupo de control. Asimismo como se divulga en la presente memoria los marcadores y/o paneles de marcadores se pueden seleccionar preferentemente para que muestren una proporción de probabilidades de por lo menos aproximadamente 1,5 o más o aproximadamente 0,67 o menos, más preferentemente por lo menos aproximadamente 2 o más o aproximadamente 0,5 o menos, todavía más preferentemente por lo menos aproximadamente 5 o más o aproximadamente 0,2 o menos, incluso más preferentemente por lo menos aproximadamente 10 o más o aproximadamente 0,1 o menos, y aún más preferentemente por lo menos aproximadamente 20 o más o aproximadamente 0,05 o menos. El término "aproximadamente" en este contexto se refiere a +/- 5% de una medición dada.

En el caso de una razón de oportunidades, un valor de 1 indica que un resultado positivo es igualmente probable entre los sujetos de los grupos tanto "de enfermos" como de "control"; un valor mayor que 1 indica que un resultado positivo es más probable en el grupo de enfermos; un valor inferior a 1 indica que un resultado positivo es más probable en el grupo de control. Asimismo se divulga que los marcadores y/o paneles de marcadores se seleccionan preferentemente para que muestren una razón de oportunidades de por lo menos aproximadamente 2 o más o aproximadamente 0,5 o menos, más preferentemente por lo menos aproximadamente 3 o más o aproximadamente 0,33 o menos, todavía más preferentemente por lo menos aproximadamente 4 o más o aproximadamente 0,25 o menos, incluso más preferentemente por lo menos aproximadamente 5 o más o aproximadamente 0,2 o menos, y aún más preferentemente por lo menos aproximadamente 10 o más o aproximadamente 0,1 o menos. El término "aproximadamente" en este contexto se refiere a +/- 5% de una medición dada.

En el caso de una proporción de riesgo, un valor de 1 indica que el riesgo relativo de un acontecimiento clínico (por ejemplo, muerte) es igual en los grupos tanto "de enfermos" como de "control"; un valor superior a 1 indica que el riesgo es mayor en el grupo de enfermos; y un valor inferior a 1 indica que el riesgo es mayor en el grupo de control. Asimismo se divulga que los marcadores y/o paneles de marcadores se seleccionan preferentemente para que muestren una proporción de riesgo de por lo menos aproximadamente 1,1 o más o aproximadamente 0,91 o menos, más preferentemente por lo menos aproximadamente 1,25 o más o aproximadamente 0,8 o menos, todavía más preferentemente por lo menos aproximadamente 1,5 o más o aproximadamente 0,67 o menos, incluso más preferentemente por lo menos aproximadamente 2 o más o aproximadamente 0,5 o menos, y aún más preferentemente por lo menos aproximadamente 2,5 o más o aproximadamente 0,4 o menos. El término "aproximadamente" en este contexto hace referencia a +/- 5% de una medición dada.

El experto en la materia comprenderá que la asociación de un indicador de diagnóstico o pronóstico, con un diagnóstico o con un riesgo de pronóstico de una futura secuela clínica es un análisis estadístico. Por ejemplo, un nivel de marcador de más de X puede señalar que un paciente es más propenso a padecer un desenlace adverso que pacientes con un nivel menor o igual a X, determinado por un nivel de significación estadística. Adicionalmente, un cambio en la concentración de marcador con respecto a los niveles en el momento inicial puede reflejar el pronóstico del paciente, y el grado de cambio en el nivel de marcador puede estar relacionado con la gravedad de los eventos adversos. La significación estadística a menudo se determina comparando dos o más poblaciones, y determinando un intervalo de confianza y/o un valor p. Ver, *por ejemplo*, Dowdy y Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, New York, 1983. Los intervalos de confianza preferidos de la invención son 90%, 95%, 97,5%, 98%, 99%, 99,5%, 99,9% y 99,99%, mientras los valores preferidos de p son 0,1, 0,05, 0,025, 0,02, 0,01, 0,005, 0,001, y 0,0001.

Se pueden realizar múltiples determinaciones de marcadores de diagnóstico o pronóstico, y se puede utilizar un cambio temporal en el marcador para determinar un diagnóstico y un pronóstico. Por ejemplo, se puede determinar una concentración de marcador en una muestra de un sujeto en un momento inicial, y de nuevo en un segundo momento de una segunda muestra del sujeto. Como se divulga en la presente memoria, una disminución en el marcador desde el momento inicial con respecto a un segundo momento puede ser indicativa de un diagnóstico particular, o de un pronóstico particular. Del mismo modo, una disminución en el marcador desde el momento inicial puede ser indicativa de un diagnóstico particular, o de un pronóstico particular.

El término "muestra" como se utiliza en la presente memoria se refiere a una muestra de fluido corporal obtenida con fines de diagnóstico, pronóstico, o evaluación de un sujeto de interés, tal como un paciente. Las muestras de prueba preferidas incluyen sangre, suero, plasma, líquido cefalorraquídeo, orina, saliva, esputo, y efusiones pleurales. Además, un experto en la materia apreciará que algunas muestras de prueba serían más fácilmente analizadas después de un procedimiento de fraccionamiento o purificación, por ejemplo, separación de sangre completa en componentes de suero y plasma.

Por lo tanto, la muestra se puede seleccionar de entre el que comprende una muestra de sangre, una muestra de suero, una muestra de plasma, una muestra de líquido cefalorraquídeo, una muestra de saliva y una muestra de orina o un extracto de cualquiera de las muestras mencionadas anteriormente. Preferentemente, la muestra es una muestra de sangre, más preferentemente una muestra de suero o una muestra de plasma.

El término "paciente" como se utiliza en la presente memoria se refiere a un organismo humano o no humano vivo que está recibiendo cuidado médico o que debe recibir cuidado médico debido a una enfermedad. Esto incluye personas sin una enfermedad definida que están siendo investigadas para determinar signos de una patología. Por lo tanto, los métodos y los ensayos descritos en la presente memoria son aplicables tanto a enfermedades humanas como veterinarias.

El término "correlacionar," como se utiliza en la presente memoria haciendo referencia a la utilización de marcadores de diagnóstico o pronóstico, se refiere a la comparación de la presencia o cantidad del marcador o los marcadores en un paciente con su presencia o cantidad en personas que se sabe que padecen, o se sabe que están en riesgo de, una afección dada; o en personas que se sabe que están libres de una afección dada. Como se ha expuesto anteriormente, se puede comparar un nivel de marcador en una muestra de paciente con un nivel que se sabe que está asociado con un diagnóstico específico. Se dice que el nivel de marcador de una muestra ha correlacionado con un diagnóstico; esto es, el experto en la materia puede utilizar el nivel de marcador para determinar si el paciente padece un diagnóstico de tipo específico, y responde en consecuencia. Alternativamente, el nivel de marcador de la muestra se puede comparar con un nivel de marcador que se sabe que está asociado con un desenlace satisfactorio (*por ejemplo*, la ausencia de enfermedad, *etc.*). Asimismo se divulga que un panel de niveles de marcadores correlaciona con una probabilidad global o un desenlace en particular.

Preferentemente, dicho desenlace o dicho riesgo contempla la supervivencia y/o un desenlace funcional y/o una repetición de un accidente cerebrovascular o una repetición de un accidente isquémico transitorio.

Asimismo se divulga un método para la estratificación de un paciente en grupos de riesgo, habiendo sufrido dicho paciente un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio y comprendiendo dicho método las etapas descritas anteriormente.

5 ANP en el contexto de la presente descripción se refiere un péptido natriurético atrial o fragmentos del mismo o
 precursores o fragmentos de los mismos. Un fragmento preferido de un precursor de ANP es proANP de la
 región media (MR-proANP). El proANP de la región media (MR-proANP) se define como NT-proANP o
 cualquiera de los fragmentos del mismo que comprenden por lo menos los residuos de aminoácido 53-90 de
 10 proANP. El MR-proANP₅₃₋₉₀ es un péptido marcador particularmente preferido en el contexto de la presente
 invención.

15 AVP en el contexto de la presente invención se refiere a arginina vasopresina (= vasopresina) o fragmentos de la
 misma o precursores o fragmentos de los mismos. Un fragmento preferido de un precursor de AVP es proAVP C-
 terminal (CT-proAVP o Copeptina). CT-proAVP₁₀₇₋₁₄₅ (o CT-pre-proAVP₁₂₆₋₁₆₄) es un péptido marcador
 particularmente preferido en el contexto de la presente invención.

20 ADM en el contexto de la presente invención se refiere a adrenomedulina o fragmentos de la misma o
 precursores o fragmentos de los mismos. Un fragmento preferido de un precursor de ADM es proADM de la
 región media (MR-proADM). MR-proADM₂₄₋₇₁ (o MR-preproADM₄₅₋₉₂) es un péptido marcador particularmente
 preferido en el contexto de la presente invención.

25 ET-1 en el contexto de la presente invención se refiere a endotelina 1 o fragmentos de la misma o precursores o
 fragmentos de los mismos. Un fragmento preferido de un precursor de ET-1 es C-terminal-proET1 (CT-proET1).
 CT-proET-1₁₅₁₋₁₉₅ (o CT-preproET-1₁₆₈₋₂₁₂) es un péptido marcador particularmente preferido en el contexto de la
 presente invención.

30 La calcitonina en el contexto de la presente invención asimismo se refiere a fragmentos de de la misma o
 precursores o fragmentos de los mismos. Un precursor preferido de la calcitonina es la procalcitonina (PCT). La
 PCT en el contexto de la presente invención se refiere a procalcitonina que comprende los aminoácidos 1-116, 2-
 116, o 3-116 o fragmentos de los mismos. La procalcitonina puede comprender modificaciones
 postraduccionales tales como glicosilación, liposidación o derivatización.

35 La hGH en el contexto de la presente invención se refiere a la hormona del crecimiento humana o fragmentos de
 la misma o precursores o fragmentos de los mismos. La hGH es un péptido hipofisario particularmente preferido
 en el contexto de la presente invención.

"Fragmentos" de los péptidos marcadores se refiere a fragmentos de por lo menos 12 aminoácidos de longitud,
 preferentemente por lo menos seis aminoácidos de longitud.

40 Además, se divulga un método para el diagnóstico de un paciente que se encuentra bajo sospecha de presentar
 un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio o que presenta síntomas por lo menos
 similares a un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio que comprende

- 45 a. proporcionar una muestra de dicho paciente,
- b. determinar el nivel de por lo menos un péptido marcador en dicha muestra, siendo seleccionado dicho
 péptido marcador de entre el que comprende ANP, AVP, ADM, ET-1, calcitonina y hGH o fragmentos de
 los mismos o su precursor o fragmentos del mismo
- 50 c. determinar si dicho paciente está sufriendo un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico
 transitorio basándose en el nivel de dicho por lo menos un péptido marcador.

55 Los síntomas de accidente cerebrovascular o similares al accidente cerebrovascular pueden comprender por
 ejemplo hemiplejía, debilidad de los músculos de la cara, entumecimiento y reducción en la sensación sensorial o
 vibratoria. En la mayoría de los casos, los síntomas afectan solamente a un lado del cuerpo (unilateral).
 Dependiendo de la causa del accidente cerebrovascular, los síntomas asimismo pueden comprender uno o más
 de los siguientes síntomas: olfato, gusto, audición, o visión alterados (total o parcialmente), caída del párpado
 (ptosis) y debilidad de los músculos oculares, disminución de reflejos (por ejemplo náuseas, deglución,
 reactividad de las pupilas a la luz), disminución de las sensaciones y debilidad de los músculos de la cara,
 60 problemas de equilibrio y nistagmo, alteración de la respiración y el ritmo cardíaco, debilidad en el músculo
 esternocleidomastoideo con incapacidad para girar la cabeza hacia un lado, debilidad en la lengua (incapacidad
 para sacarla y/o moverla de lado a lado), afasia (incapacidad de hablar o entender el lenguaje por implicación del
 área Broca o el área de Wernicke), apraxia (alteración de los movimientos voluntarios), defectos en el campo
 visual, déficits de memoria (implicación del lóbulo temporal), heminegligencia (implicación del lóbulo parietal),
 65 pensamiento desorganizado, confusión, gestos de hipersexualidad (con implicación del lóbulo frontal),
 anosognosia (negación persistente de la existencia de un déficit, normalmente relacionado con el accidente

cerebrovascular), problemas para caminar, alteración de la coordinación de movimientos, vértigo y/o desequilibrio.

5 Preferentemente, el nivel de dicho por lo menos un péptido marcador se atribuye a un accidente cerebrovascular isquémico o accidente cerebrovascular hemorrágico o a un accidente isquémico transitorio. El término "nivel" en el contexto de la presente invención se refiere a la concentración (preferentemente expresada en forma de peso/volumen; p/v) de péptidos marcadores en una muestra tomada de un paciente.

10 Como se ha mencionado anteriormente, los péptidos marcadores de la presente invención asimismo se refieren a los fragmentos de los mismos o péptidos precursores o fragmentos de los mismos. Los péptidos marcadores asimismo incluyen las prohormonas o preprohormonas o fragmentos de las mismas, concretamente las prohormonas y fragmentos de las mismas. Preferentemente en el contexto de la presente invención ANP es proANP, muy preferentemente MR-proANP. Preferentemente AVP es proAVP, más preferentemente CT-proAVP, muy preferentemente CT-proAVP₁₀₇₋₁₄₅ y fragmentos de los mismos. Preferentemente ADM es proADM, más preferentemente MR-proADM, muy preferentemente MR-proADM₂₄₋₇₁ y fragmentos de los mismos. Preferentemente ET-1 es proET-1, más preferentemente CT-proET-1, muy preferentemente CT-proET-1₁₅₁₋₁₉₅ y fragmentos de los mismos. Preferentemente la calcitonina es PCT₁₋₁₁₆ y fragmentos de la misma.

20 En una forma de realización preferida de la invención el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende ANP, AVP, ADM, ET-1 y calcitonina.

En otra forma de realización preferida de la invención el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende ANP, AVP, ADM, ET-1 y hGH.

25 En otra forma de realización preferida de la invención el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende ANP, AVP, ADM y ET-1.

En otra forma de realización preferida de la invención el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende ANP, AVM y ADM.

30 En otra forma de realización preferida adicional de la invención el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende ANP y ADM.

35 En otra forma de realización preferida adicional de la invención el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende ANP, ADM, ET-1, calcitonina y hGH.

En otra forma de realización preferida adicional de la invención el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende ANP, ADM y ET-1.

40 En una forma de realización particularmente preferida de la invención el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende MR-proANP, proAVP C-terminal (coceptina), MR-proADM, CT-proET-1, PCT y hGH.

En otra forma de realización particularmente preferida el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende MR-proANP, MR-proADM y CT-proET-1.

45 En otra forma de realización preferida de la invención el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende MR-proANP, proAVP C-terminal (coceptina), MR-proADM y CT-proET-1.

50 En otra forma de realización preferida adicional de la invención el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende MR-proANP, MR-proADM, PCT y hGH.

En otra forma de realización preferida adicional de la invención el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende MR-proANP, proAVP C-terminal (coceptina), MR-proADM, CT-proET-1 y hGH.

55 En otra forma de realización preferida adicional de la invención el péptido marcador se selecciona de entre el que comprende MR-proANP, MR-proADM, CT-pro-ET-1, PCT y hGH.

En una forma de realización preferida de los métodos de la invención, el péptido marcador es proANP. Preferentemente, el nivel de péptido marcador se determina detectando proANP de la región media.

60 En una forma de realización preferida de los métodos de la invención, el péptido marcador es proAVP. Preferentemente, el nivel de péptido marcador se determina detectando proAVP C-terminal.

65 En una forma de realización preferida de los métodos de la invención, el péptido marcador es proADM. Preferentemente, el nivel de péptido marcador se determina detectando proADM de la región media.

- En una forma de realización preferida de los métodos de la invención, el péptido marcador es proET-1. Preferentemente, el nivel de péptido marcador se determina detectando proET-1 C-terminal.
- 5 En una forma de realización preferida de los métodos de la invención, el péptido marcador es PCT. Preferentemente, el nivel de péptido marcador se determina detectando PCT.
- En una forma de realización preferida de los métodos de la invención, el péptido marcador es hGH. Preferentemente, el nivel de péptido marcador se determina detectando hGH.
- 10 En una forma de realización preferida de la invención, se utiliza una combinación de dos o más marcadores cardiovasculares. Preferentemente en la presente memoria, el segundo marcador cardiovascular o marcador cardiovascular adicional se selecciona de entre el que comprende ANP, BNP, AVP, ADM, ET-1, calcitonina y hGH.
- 15 Opcionalmente, como se divulga en la presente memoria, se determina adicionalmente el nivel de BNP o fragmentos del mismo o un precursor o fragmentos de los mismos.
- BNP en el contexto de la presente divulgación se refiere un péptido natriurético cerebral o fragmentos del mismo o precursores o fragmentos de los mismos. Un fragmento preferido de un precursor de BNP es proBNP N-terminal (NT-proBNP). El NT-proBNP es un péptido marcador particularmente preferido en el contexto de la presente invención.
- 20 Se determina el nivel de más de un marcador cardiovascular y se pondera el resultado para cada marcador individual diferencialmente para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo de un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio. Es particularmente preferido determinar el nivel de un conjunto de dos o más péptidos marcadores, muy preferentemente que se determine el nivel de un conjunto de dos péptidos marcadores.
- 25 La determinación del nivel de más de un péptido marcador en la muestra conduce a una mayor probabilidad en comparación con un único marcador para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo para el paciente.
- Asimismo se divulga el método para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo de un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio de acuerdo con la presente invención, en el que se determina el nivel de por lo menos dos péptidos marcadores y en el que cada péptido marcador se selecciona de entre un subconjunto diferente de péptidos seleccionados de entre el que comprende péptidos cardíacos, péptidos endoteliales, péptidos hipofisarios y péptidos inflamatorios, en el que los péptidos cardíacos se seleccionan de entre el que comprende ANP, BNP y troponina (cT), los péptidos endoteliales se seleccionan de entre el que comprende ET-1 y ADM, los péptidos hipofisarios se seleccionan de entre el que comprende AVP y hGH y los péptidos inflamatorios se seleccionan de entre el que comprende PCT y PCR.
- 30 Como asimismo se divulga en la presente memoria, se determina el nivel de dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve péptidos marcadores en la muestra.
- 35 Como asimismo se divulga en la presente memoria, se determina el nivel de un conjunto de por lo menos dos péptidos marcadores y el conjunto de los por lo menos dos péptidos marcadores se selecciona de entre el que comprende las siguientes combinaciones de péptidos cardiovasculares: ANP y AVP, ANP y ADM, ANP y ET-1, ANP y calcitonina, ANP y hGH, ADM y ET-1, ADM y calcitonina, ADM y hGH, ET-1 y calcitonina, ET-1 y hGH, y calcitonina y hGH. Sin embargo, además del conjunto de dos péptidos cardiovasculares, se puede determinar en algunas formas de realización de la invención el nivel de un tercer péptido marcador o péptidos marcadores adicionales.
- 40 En una forma de realización preferida se determina el nivel de ANP y ADM. Preferentemente, se determina el nivel de MR-proANP y MR-proADM.
- 45 En otra forma de realización preferida se determina el nivel de ANP y ET-1. Preferentemente, se determina el nivel de MR-proANP y CT-proET-1.
- 50 En otra forma de realización preferida se determina el nivel de ANP y calcitonina. Preferentemente, se determina el nivel de MR-proANP y PCT.
- 55 En otra forma de realización preferida se determina el nivel de ANP y hGH. Preferentemente, se determina el nivel de MR-proANP y hGH.
- 60 En otra forma de realización preferida se determina el nivel de ANP y BNP. Preferentemente, se determina el nivel de MR-proANP y NT-proBNP.
- 65

En otra forma de realización preferida se determina el nivel de ADM y ET-1. Preferentemente, se determina el nivel de MR-proADM y CT-proET-1.

5 En otra forma de realización preferida se determina el nivel de ADM y calcitonina. Preferentemente, se determina el nivel de MR-proADM y PCT.

En otra forma de realización preferida se determina el nivel de ADM y hGH. Preferentemente, se determina el nivel de MR-proADM y hGH.

10 En otra forma de realización preferida se determina el nivel de ADM y BNP. Preferentemente, se determina el nivel de MR-proADM y NT-proBNP.

15 En otra forma de realización preferida se determina el nivel de ET-1 y calcitonina. Preferentemente, se determina el nivel de CT-proET-1 y PCT.

En otra forma de realización preferida se determina el nivel de ET-1 y hGH. Preferentemente, se determina el nivel de CT-proET-1 y hGH.

20 En otra forma de realización preferida se determina el nivel de ET-1 y BNP. Preferentemente, se determina el nivel de CT-proET-1 y NT-proBNP.

En otra forma de realización preferida se determina el nivel de PCT y hGH. Preferentemente, se determina el nivel de PCT y hGH.

25 En otra forma de realización preferida se determina el nivel de PCT y BNP. Preferentemente, se determina el nivel de PCT y NT-proBNP.

30 En otra forma de realización preferida se determina el nivel de y hGH y BNP. Preferentemente, se determina el nivel de hGH y NT-proBNP.

35 Asimismo se divulga que el nivel de por lo menos un péptido marcador se determina el primer día de hospitalización (día 0) y el día 1, el día 2, el día 3, el día 4, el día 5, el día 6, el día 7, el día 8, el día 9 o el día 10 después de la hospitalización. Preferentemente, el nivel de por lo menos un péptido marcador se determina el día 0, el día 1, el día 3 y el día 5 después de la hospitalización. Más preferentemente, el nivel de por lo menos un péptido marcador se determina el día 0 y el día 5 después de la hospitalización. En otra forma de realización preferida, el nivel de por lo menos un péptido marcador se determina antes de la intervención y después de la intervención. Más preferentemente, el nivel de por lo menos un péptido marcador se determina antes de la intervención y el día 5. Siempre que se determine el nivel de uno o más péptidos marcadores, la muestra se toma del paciente.

45 Asimismo se divulga que se puede tomar una muestra de dicho paciente el día 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y/o 10 y el nivel de por lo menos péptido marcador se mide en dicha muestra y se utiliza para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo para dicho paciente o para la determinación de si dicho paciente está sufriendo un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio.

50 Asimismo se divulga en el contexto de la presente invención que no se determina en la muestra la presencia o cantidad de un marcador seleccionado de entre el que consiste en receptor NOGO, subunidad reguladora de la proteína de unión a ARN, homólogo de la proteína 1 de degradación de la fusión de ubiquitina, β -quimerina, nucleósido difosfato cinasa A, y nitrotirosina, o uno o más marcadores relacionados con ellos. El término "marcador relacionado" en este contexto hace referencia a uno o más fragmentos de un marcador particular que puede ser detectado como un sustituto para el propio marcador. Estos marcadores relacionados pueden ser, por ejemplo, formas "pre," "pro," o "prepro" de marcadores, o el fragmento "pre," "pro," o "prepro" retirado para formar el marcador maduro.

55 La determinación se puede llevar a cabo utilizando un análisis de múltiples variables tomando en consideración una o más covariables seleccionadas de entre el que comprende NIHSS, índice Barthel y mRS.

60 El término "desenlace" en la presente memoria se refiere por ejemplo a la supervivencia del paciente después de un tiempo definido, por ejemplo después de 5 días, 4 semanas, 3 meses, 1 año para la repetición del accidente cerebrovascular o para un desenlace funcional. Muy preferentemente se pronostica el desenlace funcional 3 meses después del accidente cerebrovascular o AIT.

65 El término "desenlace funcional" en el contexto de la presente divulgación se refiere al grado de gravedad de la enfermedad, es decir, el estado de salud del paciente después de un tiempo definido, por ejemplo después de 5 días, 4 semanas, 3 meses, o 1 año, preferentemente con respecto a los síntomas del accidente cerebrovascular

o de tipo accidente cerebrovascular. Muy preferentemente se pronostica el desenlace funcional 3 meses después del accidente cerebrovascular o AIT.

5 En el contexto de la presente divulgación, se prefiere que el desenlace funcional sea determinado como una clasificación o grado de gravedad del desenlace. El desenlace funcional asimismo se puede expresar en términos de necesidad de cuidados de enfermería o con respecto a actividades de la vida diaria (AVD), por ejemplo de acuerdo con el índice de Barthel, la NIHSS y la escala de clasificación modificada.

10 Además la presente invención asimismo se refiere a un kit para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo de un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio, comprendiendo el kit una o más sondas de captura (preferentemente anticuerpos o fragmentos funcionales de los mismos) dirigidas contra péptidos marcadores o fragmentos de los mismos o precursores o fragmentos de los mismos seleccionados de entre el que comprende ANP, AVP, ADM, ET-1, calcitonina, troponina, PCR y hGH. El kit puede comprender opcionalmente una sonda de captura (preferentemente un anticuerpo o fragmento funcional del mismo) dirigida contra BNP. El kit puede comprender adicionalmente reactivos necesarios para la detección, tales como amortiguadores. Además el kit asimismo puede comprender una o más muestras patrón, es decir, una o más muestras de concentración definida de uno o más de los péptidos marcadores.

20 Preferentemente, el kit comprende una combinación de por lo menos dos sondas de captura dirigidas a péptidos marcadores o fragmentos de los mismos o precursores o fragmentos de los mismos, seleccionándose las combinaciones de entre el que comprende MR-proANP y MR-proADM, MR-proANP y CT-proET-1, MR-proADM y CT-proET-1, MR-proANP y hGH, hGH y MR-proADM, hGH y CT-proET-1, MR-proANP y PCT, MR-proADM y PCT, CT-proAVP y PCT, CT-proET-1 y PCT, hGH y PCT.

25 La presente invención asimismo se refiere a la utilización de los métodos de la invención o los kits de la invención para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo de un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio.

30 Asimismo se divulga la utilización de los métodos de la invención para controlar la terapia en un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio.

35 Asimismo se divulga la utilización de los métodos de la presente divulgación para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular isquémico, accidente cerebrovascular hemorrágico y/o accidente isquémico transitorio en dicho sujeto, preferentemente en el plazo de 24 horas después de los primeros síntomas de accidente cerebrovascular o AIT. Es particularmente preferido que los métodos o los kits se utilicen para diferenciar el accidente cerebrovascular isquémico del accidente cerebrovascular hemorrágico o para diferenciar el accidente cerebrovascular isquémico y/o hemorrágico de un accidente isquémico transitorio. Los marcadores individuales en este contexto son ANP, concretamente MR-proANP, AVP, concretamente copeptina, ADM, concretamente MR-proADM, ET-1, concretamente CT-proET-1, PCT y hGH. Asimismo se pueden utilizar en este contexto combinaciones de dos o más de los péptidos marcadores de la presente invención. Las combinaciones particularmente preferidas comprenden MR-proANP y MR-proADM, MR-proANP y CT-proET-1, MR-proADM y CT-proET-1, MR-proANP y hGH, hGH y MR-proADM, hGH y CT-proET-1, MR-proANP y PCT, MR-proADM y PCT, CT-proAVP y PCT, CT-proET-1 y PCT, hGH y PCT.

45 La determinación (o la medición o detección) del nivel de un péptido marcador en la presente memoria se lleva a cabo utilizando un método de detección y/o un ensayo diagnóstico como se expone a continuación.

50 Como se menciona en la presente memoria, un "ensayo" o "ensayo diagnóstico" puede ser de cualquier tipo aplicado en el campo de los diagnósticos. Semejante ensayo se puede basar en la unión de un analito que se vaya a detectar a una o más sondas de captura con una cierta afinidad. En lo que concierne a la interacción entre las moléculas de captura y las moléculas diana o moléculas de interés, la afinidad constante es preferentemente superior a 10^8 M^{-1} .

55 En el contexto de la presente invención, las "moléculas de captura" son moléculas que se pueden utilizar para la unión de moléculas diana o moléculas de interés, es decir, analitos (es decir, en el contexto de la presente invención el péptido o los péptidos cardiovasculares), de una muestra. Las moléculas de captura se pueden conformar de ese modo adecuadamente, tanto espacialmente como en términos de rasgos superficiales, tales como carga superficial, carácter hidrófobo, carácter hidrófilo, presencia o ausencia de donadores y/o aceptores de Lewis, para que se unan específicamente a las moléculas diana o a las moléculas de interés. Así, la unión puede estar mediada por ejemplo, por interacciones iónicas, de van-der-Waals, pi-pi, sigma-pi, hidrófobas o de enlaces de hidrógeno o una combinación de dos o más de las interacciones anteriormente mencionadas entre las moléculas de captura y las moléculas diana o las moléculas de interés. En el contexto de la presente invención, las moléculas de captura se pueden seleccionar, por ejemplo, de entre las que comprenden una molécula de ácido nucleico, una molécula de carbohidrato, una molécula de ARN, una proteína, un anticuerpo, un péptido o una glicoproteína. Preferentemente, las moléculas de captura son anticuerpos, incluyendo fragmentos de los mismos con suficiente afinidad hacia una diana o molécula de interés, e incluyen anticuerpos

recombinantes o fragmentos de anticuerpos recombinantes, así como derivados modificados químicamente y/o biológicamente de dichos anticuerpos o fragmentos derivados de la cadena variable con una longitud de por lo menos 12 aminoácidos.

5 Los métodos de detección preferidos comprenden inmunoensayos en diversos formatos tales como, por ejemplo, radioinmunoensayo (RIA), inmunoensayos de quimioluminiscencia y fluorescencia, inmunoensayos ligados a enzimas (ELISA), matrices de esferas basadas en Luminex, ensayos de micromatrices de proteínas, y formatos de prueba rápidos tales como, por ejemplo, pruebas de tiras inmunocromatográficas.

10 Los ensayos pueden ser ensayos homogéneos o heterogéneos, ensayos sándwich competitivos y no competitivos. El ensayo se puede encontrar en forma de ensayo sándwich, que es un inmunoensayo no competitivo, en el que la molécula que se va a detectar y/o cuantificar se une a un primer anticuerpo y a un segundo anticuerpo. El primer anticuerpo puede estar unido a una fase sólida, por ejemplo una esfera, una superficie de un pocillo u otro recipiente, un chip o una tira, y el segundo anticuerpo es un anticuerpo que está
15 marcado, por ejemplo con un colorante, con un radioisótopo, o un radical reactivo o catalíticamente activo. La cantidad de anticuerpo marcado unido al analito se mide a continuación mediante un método apropiado. La composición general y los procedimientos implicados en los "ensayos sándwich" están bien establecidos y son conocidos por los expertos en la materia. (The Immunoassay Handbook, Ed. David Wild, Elsevier LTD, Oxford; 3ª ed. (Mayo 2005), ISBN-13: 978-0080445267. Hultschig C *et al.*, Curr Opin Chem Biol. Feb 2006;10(1):4-10. PMID: 16376134), *incorporado en la presente memoria como referencia*).

El ensayo puede comprender dos moléculas de captura, preferentemente anticuerpos, que están ambas presentes en forma de dispersiones en una mezcla de reacción líquida, en el que un primer componente se ancla a la primera molécula de captura, en el que dicho primer componente es parte de un sistema de marcaje basado
25 en extinción o amplificación de fluorescencia o quimioluminiscencia, y un segundo componente de marcaje de dicho sistema de marcaje está anclado a la segunda molécula de captura, de manera que tras la unión de ambas moléculas de captura al analito, se genera una señal medible que permite la detección de los complejos sándwich formados en la solución que comprende la muestra.

30 Incluso más preferentemente, dicho sistema de marcaje comprende criptatos de tierras raras o quelatos de tierras raras combinados con un colorante fluorescente o un colorante quimioluminiscente, en particular un colorante de tipo cianina.

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

45 En el contexto de la presente divulgación, los ensayos basados en quimioluminiscencia comprenden el uso de colorantes, basado en los principios físicos descritos para los materiales quimioluminiscentes por Kirk-Othmer, en Encyclopedia of chemical technology, 4ª ed., editor ejecutivo, J. I. Kroschwitz; editor, M. Howe-Grant, John Wiley & Sons, 1993, vol.15, pág. 518-562, incorporado en la presente memoria como referencia, incluyendo las citas de las páginas 551-562. Los colorantes quimioluminiscentes preferidos son los ésteres de acridinio.

50 Los niveles, es decir, las concentraciones de los uno o más péptidos marcadores (o fragmentos de los mismos o precursores o fragmentos de los mismos) en las muestras del paciente se atribuyen al pronóstico de un desenlace o a la evaluación del riesgo para el paciente. Por ejemplo, las concentraciones del péptido marcador por encima de cierto valor umbral son indicativas de un desenlace adverso o un riesgo elevado para el paciente.
55 Tales valores umbrales se encuentran preferentemente en el intervalo de aproximadamente 100 a 300 pmoles/l, más preferentemente 250 pmoles/l, todavía más preferentemente 188 pmoles/l para MR-pro-ANP; en el intervalo de aproximadamente 10 a 40 pmoles/l, más preferentemente 15 pmoles/l, todavía más preferentemente 20,3 pmoles/l para la copeptina; en el intervalo de aproximadamente 0,4 a 1,0 pmoles/l, más preferentemente 0,5 nmoles/l, todavía más preferentemente 0,67 nmoles/l para MR-proADM; en el intervalo de aproximadamente 50 a
60 120 pmoles/l, más preferentemente 75 pmoles/l, todavía más preferentemente 98,3 pmoles/l para la CT-pro-ET-1; en el intervalo de aproximadamente 0,01 a 0,06 ng/ml, más preferentemente 0,015 ng/ml, todavía más preferentemente 0,026 ng/ml para PCT; en el intervalo de aproximadamente 0,25 a 1,0 ng/ml, más preferentemente 0,5 ng/ml, todavía más preferentemente 0,34 ng/ml para hGH; en el intervalo de aproximadamente 250 a 500 pg/ml, más preferentemente 450 pg/ml, todavía más preferentemente 370 pg/ml
65 para NT-proBNP;

Preferentemente en la presente memoria se utiliza un ensayo sensible a PCT (por ejemplo el ensayo sensible a PCT, B.R.A.H.M.S AG, Hennigsdorf, Alemania). Preferentemente en la presente memoria, el ensayo para PCT presenta una sensibilidad funcional de 0,05 ng/ml o menos.

5 Esto significa que en los métodos de la presente divulgación, los niveles de PCT se miden con una alta sensibilidad (es decir, una sensibilidad de 0,05 ng/ml, preferentemente 0,02 ng/ml), en la muestra del paciente. Preferentemente en este contexto, el nivel de PCT correlaciona con el pronóstico de supervivencia de un paciente.

10 Asimismo se divulga que el riesgo y/o el desenlace para un paciente se determina relacionando el nivel individual de péptido marcador en un paciente con ciertos percentiles (por ejemplo el percentil 97,5) de una población sana.

15 Los valores umbrales preferidos para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular (hemorrágico y/o isquémico) a partir de AIT se encuentran en el intervalo de aproximadamente 90 a aproximadamente 140 pmoles/l para MR-proANP, en el intervalo de aproximadamente 9,5 a aproximadamente 11,5 pmoles/l para copeptina, en el intervalo de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 0,8 nmoles/l para MR-proADM, en el intervalo de aproximadamente 65 a aproximadamente 90 pmoles/l para CT-pro-ET-1, en el intervalo de aproximadamente 0,0230 a aproximadamente 0,0260 ng/ml para PCT, y en el intervalo de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 0,3 ng/ml para hGH, en los que un valor por debajo del umbral es indicativo de AIT y por encima del umbral indicativo de accidente cerebrovascular. Los umbrales ilustrativos para el diagnóstico diferencial asimismo se proporcionan en la tabla 25 del ejemplo 11.

25 Se pueden utilizar un análisis de supervivencia (regresión de Cox y proporciones de riesgo) y estimadores de Kaplan-Meier para la evaluación o predicción del desenlace o riesgo (por ejemplo morbilidad) de un paciente con un nivel de péptido por ejemplo por encima o por debajo del corte. La morbilidad, por ejemplo 3, 4 o 12 meses después del accidente cerebrovascular o AIT se puede evaluar mediante las proporciones de riesgo, que describen el aumento de riesgo para pacientes con niveles de péptidos por encima de un cierto valor de corte. El incremento del riesgo de repetición de un accidente cerebrovascular o de repetición de AIT, respectivamente, que se produce dentro del período de observación después del accidente cerebrovascular o AIT, se puede determinar por ejemplo mediante las razones de oportunidades y tablas cruzadas.

35 A partir de la comparación de los respectivos niveles de uno o más de los péptidos marcadores el día de la hospitalización y en un cierto momento después de la hospitalización, por ejemplo el día 5 después de la hospitalización, se puede predecir el desenlace/riesgo, por ejemplo la probabilidad de supervivencia después de 3, 4, 12 meses utilizando los estimadores de Kaplan-Meier y las proporciones de riesgo para los pacientes con un nivel de péptido por ejemplo por encima o por debajo de un corte.

40 En general, se pueden utilizar los valores determinados de los niveles de más de un péptido marcador para la evaluación del desenlace y el riesgo para el paciente contando el número de niveles de péptidos que presentan unos valores por encima del respectivo corte. Cuantos más niveles de péptidos están por encima del corte, mayor es el riesgo para el paciente. Se pueden utilizar estimadores de Kaplan-Meier para predecir la mortalidad, se pueden aplicar las razones de oportunidades para describir el aumento de riesgo para la predicción de la repetición de accidente cerebrovascular o la repetición de AIT.

45 Como se ha mencionado anteriormente en la presente memoria, los niveles determinados de los péptidos marcadores pueden ser expresados de acuerdo con la presente invención en términos de desenlace funcional, por ejemplo expresados de acuerdo con el índice de Barthel, NIHSS o la escala de clasificación modificada. Por ejemplo, utilizando diagramas de cajas (niveles de péptido por desenlace), análisis de características operativas del receptor (ROC) y razones de oportunidades, se pueden utilizar los niveles de péptidos para predecir el futuro desenlace funcional.

55 Los métodos y kits divulgados en la presente memoria asimismo se pueden utilizar para determinar si dicho paciente está sufriendo un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio basándose en el nivel de dicho por lo menos un péptido cardiovascular. En este contexto, la muestra se toma preferentemente de manera previa a la intervención.

Secuencias

60 La secuencia de aminoácidos del péptido precursor de adrenomedulina (pre-pro-adrenomedulina) se proporciona en SEC ID n°:1. Pro-adrenomedulina se refiere a los residuos de aminoácido 22 a 185 de la secuencia de pre-pro-adrenomedulina. La secuencia de aminoácidos de pro-adrenomedulina (pro-ADM) se proporciona en SEC ID n°:2. El péptido pro-ADM N-terminal 20 (PAMP) se refiere a los residuos de aminoácido 22-41 de pre-proADM. La secuencia de aminoácidos de PAMP se proporciona en SEC ID n°:3. MR-Pro-adrenomedulina (MR-pro-ADM) se refiere a los residuos de aminoácido 45-92 de pre-pro-ADM. La secuencia de aminoácidos de MR-pro-ADM se proporciona en SEC ID n°:4. La secuencia de aminoácidos de adrenomedulina madura (ADM) se proporciona en SEC ID n°:5.

La secuencia de aminoácidos de ANP se proporciona en SEC ID nº:8. La secuencia de pre-pro-ANP de 153 aminoácidos se muestra en SEC ID nº:6. Tras la escisión de un péptido señal N-terminal (25 aminoácidos) y los dos aminoácidos C-terminales (127/128) se libera proANP (SEC ID nº:7). ANP comprende los residuos 99-126 del extremo C de la prohormona precursora pro-ANP. Esta prohormona se escinde en el péptido de 28 aminoácidos maduro ANP, asimismo mostrado como ANP (1-28) o α -ANP, y el fragmento amino terminal ANP (1-98) (NT-proANP, SEC ID nº:9). El proANP de la región media (MR-proANP) se define como NT-proANP o cualquiera de los fragmentos del mismo que comprenden por lo menos los residuos de aminoácido 53-90 (SEC ID nº: 10) de proANP. Los dos residuos de arginina C-terminales (posiciones 152 y 153 en pre-pro-ANP, SEC ID nº:6, no están presentes en otro alelo del gen que codifica pre-pro-ANP, por lo tanto pre-pro-ANP comprende solamente los residuos 1 a 151. Por supuesto esto asimismo ocurre para los respectivos fragmentos de pre-pro-ANP, concretamente pro-ANP y coceptina pueden comprender o no estas dos argininas C-terminales.

La secuencia del péptido precursor de calcitonina de 164 aminoácidos (pre-pro-calcitonina) se proporciona en SEC ID nº:11. Pro-vasopresina se refiere a los residuos de aminoácido 29 a 164 de la secuencia de pre-vasopresina. La secuencia de aminoácidos de pro-vasopresina se proporciona en SEC ID nº:12. La pro-vasopresina se escinde en vasopresina madura, neurofina II y provasopresina C-terminal (CT-proAVP o coceptina). Vasopresina se refiere a los residuos de aminoácido 20 a 28 de pre-pro-vasopresina. La secuencia de aminoácidos de vasopresina se muestra en SEC ID nº:13. Copeptina se refiere a los residuos de aminoácido 126 a 164 de pre-pro-vasopresina. La secuencia de aminoácidos de coceptina se proporciona en SEC ID nº:14. Neurofina II comprende los residuos de aminoácido 32 a 124 de pre-pro-vasopresina y su secuencia se muestra en SEC ID nº:15.

La secuencia del péptido precursor de endotelina-1 de 212 aminoácidos (pre-pro-endotelina-1) se proporciona en SEC ID nº:16. Pro-ET-1 se refiere a los residuos de aminoácido 18 a 212 de la secuencia de pre-pro-ET-1. La secuencia de aminoácidos de pro-ET-1 se muestra en SEC ID nº:17. Pro-ET-1 se escinde en ET-1 madura, big-ET-1 y proET-1 C-terminal (CT-proET-1). ET-1 se refiere a los residuos de aminoácido 53 a 73 de pre-pro-ET-1. La secuencia de aminoácidos de ET-1 se muestra en SEC ID nº:18. CT-proET-1 se refiere a los residuos de aminoácido 168 a 212 de pre-pro-ET-1. La secuencia de aminoácidos de CT-proET-1 se proporciona en SEC ID nº:19. Big-ET-1 comprende los residuos de aminoácido 53 a 90 de pre-pro-ET-1 y su secuencia se muestra en SEC ID nº:20.

La secuencia del péptido precursor de calcitonina de 141 aminoácidos (pre-pro-calcitonina) se proporciona en SEC ID nº:21. Procalcitonina se refiere a los residuos de aminoácido 26 a 141 de la secuencia de pre-pro-calcitonina. La secuencia de aminoácidos de PCT se muestra en SEC ID nº:22. La procalcitonina se escinde en PCT N-terminal, calcitonina y katalcalcina. PCT N-terminal comprende los residuos de aminoácido 26 a 82 y su secuencia se muestra en SEC ID nº:23. Calcitonina se refiere a los residuos de aminoácido 85 a 116 y su secuencia se proporciona en SEC ID nº:24. La secuencia de katalcalcina, que comprende los residuos de aminoácidos 121-141, se proporciona en SEC ID nº:25.

La secuencia del péptido precursor de péptido natriurético cerebral de 134 aminoácidos (pre-pro-BNP) se proporciona en SEC ID nº:26. Pro-BNP se refiere a los residuos de aminoácido 27 a 134 de pro-pro-BNP. La secuencia de aminoácidos de pro-BNP se muestra en SEC ID nº:27. Pro-BNP se escinde en pro-BNP N-terminal (NT-pro-BNP) y BNP maduro. NT-pro-BNP comprende los residuos de aminoácido 27 a 102 y su secuencia se muestra en SEC ID nº:28. SEC ID nº:29 muestra la secuencia de BNP que comprende los residuos de aminoácido 103 a 134 del péptido pre-pro-BNP.

SEC ID nº:1 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-ADM):

1 MKLVSVVALMY LGSLAFLGAD TARLDVASEF RKKWKNWALS RGKRELRMSS
 51 SYPTGLADV K AGPAQTLIRP QDMKGASRSP EDSSPDAARI RVKRYRQSMN
 101 NFQGLRSFGC RFGTCTVQKL AHQIYQFTDK DKDNVAPRSK ISPQGYGRRR
 50 151 RRSLPEAGPG RTLVS SKPQA HGAPAPPSGS APHFL

SEC ID nº:2 (secuencia de aminoácidos de pro-ADM):

1 ARLDVASEFR KKWKNWALS R GKRELRMSSS YPTGLADVKA GPAQTLIRPQ
 51 DMKGASRSPE DSSPDAARIR VKRYRQSMNN FQGLRSFGCR FGTCTVQKLA
 101 HQIYQFTDKD KDNVAPRSKI SPQGYGRRRR RSLPEAGPGR TLVSSK PQA
 55 151 GAPAPPSGSA PHFL

SEC ID nº:3 (secuencia de aminoácidos de pro-ADM N20):

1 ARLDVASEFR KKWKNWALS R

SEC ID nº:4 (secuencia de aminoácidos de MR-pro-ADM):

1 ELRMSSSYPT GLADVKAGPA QTLIRPQDMK GASRSPEDSS

5 SEC ID nº:5 (secuencia de aminoácidos de ADM):

1 YRQSMNNFQG LRSFGCRFGT CTVQKLAHQI YQFTDKDKDN VAPRSKISPO
51 GY

SEC ID nº:6 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-ANP)

10 1 MSSFSTTTVS FLLLLAFQLL GQTRANPMYN AVSNADLMDF KNLLDHLEEK
51 MPLEDEVVPP QVLSEPNEEA GAALSPLPEV PPWTGEVSPA QRDGGALGRG
101 PWDSSDRSAL LKSKLRALLT APRSLRRSSC FGGRMDRIGA QSGLG CNSFR
151 YRR

SEC ID nº:7 (secuencia de aminoácidos de pro-ANP):

1 NPMYNAVSNA DLMDFKNLLD HLEEKMPLED EVVPPQVLSE PNEEAGAALS
51 PLPEVPPWTG EVSPAQRDGG ALGRGPWDSS DRSALLKSKL RALLTAPRSL
15 101 RRSSCFGGRM DRIGAQSGLG CNSFRY

SEC ID nº:8 (secuencia de aminoácidos de ANP):

20 1 SLRRSSCFGG RMDRIGAQSG LGCNSFRY

SEC ID nº:9 (secuencia de aminoácidos de NT-proANP):

1 NPMYNAVSNA DLMDFKNLLD HLEEKMPLED EVVPPQVLSE PNEEAGAALS
51 PLPEVPPWTG EVSPAQRDGG ALGRGPWDSS DRSALLKSKL RALLTAPR

25 SEC ID nº:10 (secuencia de aminoácidos de los aminoácidos 53-90 de proANP):

1 PEVPPWTGEV SPAQRDGGAL GRGPWDSSDR SALLKSKL

SEC ID nº:11 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-AVP):

30 1 MPDTMLPACF LGLLAFSSAC YFQNCPRGGK RAMSDLELRQ CLPCGPGGKG
51 RCFGPSICCA DELGCFVGTA EALRCQEENY LPSPCQSGQK ACGSGGRCAA
101 FGVCCNDESC VTEPECREGEF HRRARASDRS NATQLDGPAG ALLLRLVQLA
151 GAPEPFEPAQ PDAY

SEC ID nº:12 (secuencia de aminoácidos de pro-AVP):

35 1 CYFQNCPRG KRAMSDLELR QCLPCGPGGK GRCFGPSICC ADELGCFVGT
51 AEALRCQEEN YLPSPCQSGQ KACGSGGRCA AFGVCCNDES CVTEPECREGEF
101 FHRRARASDR SNATQLDGPAG GALLLRLVQL AGAPEPFEPAQ QPDAY

SEC ID nº:13 (secuencia de aminoácidos de AVP):

40 1 CYFQNCPRG

SEC ID nº:14 (secuencia de aminoácidos de CT-pre-proAVP o copeptina):

1 ASDRSNATQL DGPAGALLLR LVQLAGAPEP FEPAQPDAY

45 SEC ID nº:15 (secuencia de aminoácidos de neurofina II):

1 AMSDLELRQC LPCGPGGKGR CFGPSICCAD ELGCFVGTAE ALRCQEENYL
51 PSPCQSGQKA CGSGGRCAAF GVCCNDESCV TEPECREGEFH RRA

SEC ID nº:16 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-ET-1):

50

1 MDYLLMIFSL LfvacQGAPE TAVLGAELSA VGENGGEKPT PSpPwRLRRS
 51 KRCSCLMD KECVYFCHLD IIWVNTPEHV VPyGLGSPRS KRALENLLPT
 101 KATDRENRCQ CASQKDKCW NFCQAGKELR AEDIMEKDNW NHKKGKDCSK
 151 LGKKCIYQQL VRGRKIRRSS EEHLRQTRSE TMRNSVKSSF HDPKLGKGPS
 201 RERYVTHNRA HW

SEC ID nº:17 (secuencia de aminoácidos de pro-ET-1):

1 APETAVLGAE LSAVGENGGE KPTSPpPwRL RRSKRCSCLMD LMDKECVYFC
 51 HLDIIWVNTPEHV EHVVPYGLGSPRS PRSKRALENLLPTKATDREN RCQCASQKDK
 101 KCWNFCQAGK ELRAEDIMEK DWNNHKKGKDCSKLGGKKCIY QQLVGRKIR
 5 151 RSSEEHLRQT RSETMRNSVK SSFHDPKLGK KPSRERYVTH NRAHW

SEC ID nº:18 (secuencia de aminoácidos de ET-1):

1 CSCSSCLMDKE CVYFCHLDII W

10

SEC ID nº:19 (secuencia de aminoácidos de CT-pro-ET-1):

1 RSSEEHLRQT RSETMRNSVK SSFHDPKLGK KPSRERYVTH NRAHW

15

SEC ID nº:20 (secuencia de aminoácidos de Big-ET-1):

1 CSCSSCLMDKE CVYFCHLDII WwVNTPEHVVP YGLGSPRS

20

SEC ID nº:21 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-calcitonina):

1 MGFQKfSPFL ALSILVLLQA GSLHAAPFRS ALESSPADPA TLSEDEARLL
 51 LAALVQDYVQ MKASELEQEQ EREGSSLDSP RSKRCGNLST CMLGTYTQDF
 101 NKFHTFPQTA IGVGAPGKKR DMSSDLERDH RPHVSMPQNA N

SEC ID nº:22 (secuencia de aminoácidos de PCT):

1 APFRSALESS PADPATLSED EARLLLAAALV QDYVQMKASE LEQEQEREGS
 51 SLDSPRSKRC GNLSTCMLGT YTQDFNKFHT FPQTAIGVGA PGKKRDMSSD
 25 101 LERDHRPHVS MPQNA

SEC ID nº:23 (secuencia de aminoácidos de PCT N-terminal):

1 APFRSALESS PADPATLSED EARLLLAAALV QDYVQMKASE LEQEQEREGS
 30 51 SLDSPRS

SEC ID nº:24 (secuencia de aminoácidos de calcitonina):

35

1 CGNLSTCMLG TYTQDFNKFH TFPQTAIGVG AP

SEC ID nº:25 (secuencia de aminoácidos de katalcalcina):

1 DMSSDLERDH RPHVSMPQNA N

40

SEC ID nº:26 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-BNP):

1 MDPQTAPSRA LLLLLFLHLA FLGGRSHPLG SPGSASDLET SGLQEQRNHL
 51 QGKLSLEQVE QTSLEPLQES PRPTGVWKS EVATEGIRGH RKMVLYTLRA
 101 PRSPKMOVQS GCFGRKMDRI SSSSGLGCKV LRRH

45

SEC ID nº:27 (secuencia de aminoácidos de pro-BNP):

1 HPLGSPGSAS DLETSGLQEQ RNHLQGKLS LEQVEQTSLEP LQESPRPTGV
 51 WKSREVATEG IRGHRKMVLY TLRAPRSPKM VQSGCFGRK MDRISSSSGL
 101 GCKVLRH

SEC ID n°:28 (secuencia de aminoácidos de NT-pro-BNP):

1 HPLGSPGSAS DLETSGLQEQ RNHLQGLSE LQVEQTSLEP LQESPRPTGV
51 WKSREVATEG IRGHRKVMVLY TLRAPR

5 SEC ID n°:29 (secuencia de aminoácidos de BNP):

1 SPKMVQSGGC FGRKMDRISS SSGLGCKVLR RH

Descripción de los dibujos

- 10 Figura 1: Gráfico de Kaplan-Meier (proporción de pacientes que sobreviven cuatro meses) para pacientes con niveles elevados (línea discontinua) y bajos (línea continua) de MR-proANP medido de manera previa a la intervención.
- 15 Figura 2: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados (línea discontinua) y bajos (línea continua) de MR-proADM medido de manera previa a la intervención.
- 20 Figura 3: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados (línea discontinua) y bajos (línea continua) de CT-proET-1 de manera previa a la intervención.
- 25 Figura 4: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados (línea discontinua) y bajos (línea continua) de CT-proAVP de manera previa a la intervención.
- 30 Figura 5: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados (línea discontinua) y bajos (línea continua) de PCT medidos de manera previa a la intervención.
- 35 Figura 6: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados (línea discontinua) y bajos (línea continua) de hGH medidos de manera previa a la intervención.
- 40 Figura 7: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de MR-proANP y CT-proAVP medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 45 Figura 8: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de MR-proANP y MR-proADM medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 50 Figura 9: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de MR-proANP y CT-proET-1 medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 55 Figura 10: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de MR-proANP y PCT medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 60 Figura 11: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de CT-proAVP y MR-proADM medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 65 Figura 12: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de CT-proAVP y CT-proET-1 medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.

- 5
 Figura 13: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de CT-proAVP y PCT medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 10
 Figura 14: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de MR-proADM y CT-proET-1 medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 15
 Figura 15: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de MR-proADM y PCT medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 20
 Figura 16: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de CT-proET-1 y PCT medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 25
 Figura 17: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de hGH y MR-proANP medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 30
 Figura 18: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de hGH y MR-proADM medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 35
 Figura 19: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de hGH y CT-proET-1 medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 40
 Figura 20: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de hGH y PCT medidos de manera previa a la intervención (combinación por pares de ambos marcadores). Línea continua: ambos marcadores bajos (por debajo del umbral definido); línea discontinua/de puntos: ambos marcadores elevados (por encima del umbral definido); línea discontinua: primer marcador bajo, segundo marcador elevado; línea de puntos: primer marcador elevado, segundo marcador bajo.
- 45
 Figura 21: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados de MR-proANP, MR-proADM, CT-proAVP, CT-proET-1 y/o PCT. Curva superior a inferior: 0, 1, 2, 3 y 4 o más de los marcadores anteriores definieron el umbral.
- 50
 Figura 22: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados MR-proANP, MR-proADM, CT-proAVP, CT-proET-1 y/o PCT. MR-proANP y CT-proAVP se han contado dos veces. Curva superior a inferior: 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 o más de los marcadores anteriores definieron el umbral.
- 55
 Figura 23: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de MR-proANP y una escala de clasificación modificada de 5 medidos de manera previa a la intervención el día 5.
- 60
 Figura 24: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de MR-proANP y un índice de Barthel < 85 medidos de manera previa a la intervención el día 5.
- 65
 Figura 25: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos PCT y un índice NIHSS < 10 medidos de manera previa a la intervención el día 1.

Figura 26: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de MR-proANP y un índice NIHSS < 10 medidos de manera previa a la intervención el día 5.

5 Figura 27: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de PCT y un índice NIHSS < 10 medidos de manera previa a la intervención el día 1.

10 Figura 28: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de MR-proANP medidos de manera previa a la intervención (día 0) y/o día 5. Línea continua: nivel por debajo del umbral el día 0 y el día 5; línea discontinua: nivel por debajo del umbral el día 0 y por encima del umbral el día 5; línea de puntos: nivel por encima del umbral el día 0 y nivel por debajo del umbral el día 5; línea discontinua/de puntos: nivel por encima del umbral el día 0 y el día 5.

15 Figura 29: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de CT-proAVP medidos de manera previa a la intervención (día 0) y/o día 5. Línea continua: nivel por debajo del umbral el día 0 y el día 5; línea discontinua: nivel por encima del umbral el día 0 y nivel por debajo del umbral el día 5; línea de puntos: nivel por encima del umbral el día 0 y nivel por debajo del umbral el día 5; línea discontinua/de puntos: nivel por encima del umbral el día 0 y el día 5.

20 Figura 30: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de MR-proADM medidos de manera previa a la intervención (día 0) y/o día 5. Línea continua: nivel por debajo del umbral el día 0 y el día 5; línea discontinua: nivel por debajo del umbral el día 0 y nivel por encima del umbral el día 5; línea de puntos: nivel por encima del umbral el día 0 y nivel por debajo del umbral el día 5; línea discontinua/de puntos: nivel por encima del umbral el día 0 y el día 5.

25 Figura 31: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de CT-proET-1 medidos de manera previa a la intervención (día 0) y/o día 5. Línea continua: nivel por debajo del umbral el día 0 y el día 5; línea discontinua: nivel por debajo del umbral el día 0 y nivel por encima del umbral el día 5; línea de puntos: nivel por encima del umbral el día 0 y nivel por debajo del umbral el día 5; línea discontinua/de puntos: nivel por encima del umbral el día 0 y el día 5.

30 Figura 32: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados y bajos de PCT medidos de manera previa a la intervención (día 0) y/o día 5. Línea continua: nivel por debajo del umbral el día 0 y el día 5; línea discontinua: nivel por debajo del umbral el día 0 y nivel por encima del umbral el día 5; línea de puntos: nivel por encima del umbral el día 0 y nivel por debajo del umbral el día 5; línea discontinua/de puntos: nivel por encima del umbral el día 0 y el día 5.

35 Figura 33: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con NIHSS elevada (>10) y NIHSS baja (<10) el día 5.

40 Figura 34: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de MR-proANP medidos el día 5.

45 Figura 35: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de MR-proANP y NIHSS elevada/baja el día 5. Línea continua: nivel de marcador bajo, NIHSS baja; línea discontinua: nivel de marcador bajo, NIHSS elevada; línea de puntos: nivel de marcador elevado, NIHSS baja, línea discontinua/de puntos: nivel de marcador elevado, y NIHSS elevada.

Figura 36: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de CT-proAVP el día 5.

50 Figura 37: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de CT-proAVP y NIHSS elevada/baja el día 5. Línea continua: nivel de marcador bajo, NIHSS bajo; línea discontinua: nivel de marcador bajo, NIHSS elevada; línea de puntos: nivel de marcador elevado, NIHSS baja, línea discontinua/de puntos: nivel de marcador elevado, y NIHSS elevada.

55 Figura 38: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de CT-proET-1 el día 5.

60 Figura 39: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de CT-proET-1 y NIHSS elevada/baja el día 5. Línea continua: nivel de marcador bajo, NIHSS bajo; línea discontinua: nivel de marcador bajo, NIHSS elevada; línea de puntos: nivel de marcador elevado, NIHSS baja, línea discontinua/de puntos: nivel de marcador elevado, y NIHSS elevada.

65 Figura 40: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con un índice de Barthel < 85% (línea discontinua) y > 85 % (línea continua) el día 5.

Figura 41: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de MR-pro-ANP e índice de Barthel </> 85 % el día 5. Línea continua: nivel de marcador bajo, índice de Barthel > 85%; línea discontinua:

nivel de marcador bajo, índice de Barthel < 85%; línea de puntos: nivel de marcador elevado, índice de Barthel >85%, línea discontinua/de puntos: nivel de marcador elevado, y índice de Barthel <85%.

5 Figura 42: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de CT-proAVP e índice de Barthel </> 85 % el día 5. Línea continua: nivel de marcador bajo, índice de Barthel > 85%; línea discontinua: nivel de marcador bajo, índice de Barthel < 85%; línea de puntos: nivel de marcador elevado, índice de Barthel >85%, línea discontinua/de puntos: nivel de marcador elevado, y índice de Barthel <85%.

10 Figura 43: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de CT-proET-1 e índice de Barthel </> 85 % el día 5. Línea continua: nivel de marcador bajo, índice de Barthel > 85%; línea discontinua: nivel de marcador bajo, índice de Barthel < 85%; línea de puntos: nivel de marcador elevado, índice de Barthel >85%, línea discontinua/de puntos: nivel de marcador elevado, y índice de Barthel <85%.

15 Figura 44: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con una puntuación de la escala de clasificación modificada de 0-2 (línea continua) y 3-6 (línea discontinua) el día 5.

20 Figura 45: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de MR-proANP y una puntuación de la escala de clasificación modificada entre 0-2 o 3-6 el día 5. Línea continua: nivel de marcador bajo, clasificación 0-2; línea discontinua: nivel de marcador bajo, clasificación 3-6; línea de puntos: nivel de marcador elevado, clasificación 0-2, línea discontinua/de puntos: nivel de marcador elevado, y clasificación 3-6.

25 Figura 46: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de MR-proADM y una puntuación de la escala de clasificación modificada entre 0-2 o 3-6 el día 5. Línea continua: nivel de marcador bajo, clasificación 0-2; línea discontinua: nivel de marcador bajo, clasificación 3-6; línea de puntos: nivel de marcador elevado, clasificación 0-2, línea discontinua/de puntos: nivel de marcador elevado, y clasificación 3-6.

30 Figura 47: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de CT-proAVP y una puntuación de la escala de clasificación modificada entre 0-2 o 3-6 el día 5. Línea continua: nivel de marcador bajo, clasificación 0-2; línea discontinua: nivel de marcador bajo, clasificación 3-6; línea de puntos: nivel de marcador elevado, clasificación 0-2, línea discontinua/de puntos: nivel de marcador elevado, y clasificación 3-6.

35 Figura 48: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de CT-proET-1 y una puntuación de la escala de clasificación modificada entre 0-2 o 3-6 el día 5. Línea continua: nivel de marcador bajo, clasificación 0-2; línea discontinua: nivel de marcador bajo, clasificación 3-6; línea de puntos: nivel de marcador elevado, clasificación 0-2, línea discontinua/de puntos: nivel de marcador elevado, y clasificación 3-6.

40 Figura 49: Gráfico de Kaplan-Meier para pacientes con niveles elevados/bajos de PCT y una puntuación de la escala de clasificación modificada entre 0-2 o 3-6 el día 5. Línea continua: nivel de marcador bajo, clasificación 0-2; línea discontinua: nivel de marcador bajo, clasificación 3-6; línea de puntos: nivel de marcador elevado, clasificación 0-2, línea discontinua/de puntos: nivel de marcador elevado, y clasificación 3-6.

50 Figura 50: Diagrama de cajas de correlación entre la escala de clasificación modificada determinada después de 3 meses y el nivel de CT-proAVP (A) y MR-proANP (B), respectivamente medido de manera previa a la intervención. Clasificación 0 a 6 en el eje x de izquierda a derecha.

55 Figura 51: Gráfico de características operativas del receptor (ROC) para CT-proAVP medido de manera previa a la intervención y escala de clasificación modificada después de 3 meses (desenlace satisfactorio = mRS 0-2; desenlace adverso = mRS 3-6). Área bajo la curva (AUC) = 0,723.

60 Figura 52: Gráfico ROC para MR-proANP medido de manera previa a la intervención y escala de clasificación modificada dicotomizada después de 3 meses (desenlace satisfactorio = mRS 0-2; desenlace adverso = mRS 3-6). AUC = 0,703.

60 Figura 53: Gráfico ROC para MR-proADM medido de manera previa a la intervención y escala de clasificación modificada dicotomizada después de 3 meses (desenlace satisfactorio = mRS 0-2; desenlace adverso = mRS 3-6). AUC = 0,658.

65 Figura 54: Gráfico ROC para CT-proET-1 medido de manera previa a la intervención y escala de clasificación modificada dicotomizada después de 3 meses (desenlace satisfactorio = mRS 0-2; desenlace adverso = mRS 3-6). AUC = 0,608.

- Figura 55: Gráfico ROC para PCT medido de manera previa a la intervención y escala de clasificación modificada dicotomizada después de 3 meses (desenlace satisfactorio = mRS 0-2; desenlace adverso = mRS 3-6). AUC = 0,580.
- 5 Figura 56: Gráfico ROC para hGH medido de manera previa a la intervención y escala de clasificación modificada dicotomizada después de 3 meses (desenlace satisfactorio = mRS 0-2; desenlace adverso = mRS 3-6). AUC = 0,581.
- 10 Figura 57: Distribución de los niveles de MR-proANP en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico, accidente cerebrovascular hemorrágico y AIT. Los valores de la mediana son 137,0 pmoles/L, 124,0 pmoles/L y 90,6 pmoles/L, respectivamente.
- 15 Figura 58: Gráfico ROC para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular isquémico y AIT utilizando MR-proANP como único marcador. AUC = 0,65 (P < 0,0001).
- Figura 59: Gráfico ROC para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular hemorrágico y AIT utilizando MR-proANP como único marcador. AUC = 0,65 (P < 0,001).
- 20 Figura 60: Distribución de los niveles de CT-proAVP (coceptina) en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico, accidente cerebrovascular hemorrágico y AIT. Los valores de la mediana son 11,0 pmoles/L, 16,6 pmoles/L y 4,8 pmoles/L, respectivamente.
- 25 Figura 61: Gráfico ROC para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular isquémico y AIT utilizando coceptina como único marcador. AUC = 0,71 (P < 0,0001).
- Figura 62: Gráfico ROC para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular hemorrágico y AIT utilizando coceptina como único marcador. AUC = 0,74 (P < 0,0001).
- 30 Figura 63: Distribución de los niveles de MR-proADM en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico, accidente cerebrovascular hemorrágico y AIT. Los valores de la mediana son 0,74 nmoles/L, 0,71 nmoles/L y 0,61 nmoles/L, respectivamente.
- 35 Figura 64: Gráfico ROC para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular isquémico y AIT utilizando MR-proADM como único marcador. AUC = 0,61 (P < 0,0001).
- Figura 65: Gráfico ROC para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular hemorrágico y AIT utilizando MR-proADM como único marcador. AUC = 0,59 (P 0,033).
- 40 Figura 66: Distribución de los niveles de CT-proET-1 en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico, accidente cerebrovascular hemorrágico y AIT. Los valores de la mediana son 72,0 pmoles/L, 75,7 pmoles/L y 63,3 pmoles/L, respectivamente.
- 45 Figura 67: Gráfico ROC para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular isquémico y AIT utilizando CT-proET-1 como único marcador. AUC = 0,59 (P < 0,001).
- Figura 68: Gráfico ROC para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular hemorrágico y AIT utilizando CT-proET-1 como único marcador. AUC = 0,68 (P < 0,0001).
- 50 Figura 69: Distribución de los niveles de PCT en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico, accidente cerebrovascular hemorrágico y AIT. Los valores de la mediana son 0,018 ng/mL, 0,018 ng/mL y 0,016 ng/mL, respectivamente.
- 55 Figura 70: Gráfico ROC para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular isquémico y AIT utilizando PCT como único marcador. AUC = 0,58 (P < 0,001).
- Figura 71: Gráfico ROC para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular hemorrágico y AIT utilizando PCT como único marcador. AUC = 0,56 (P 0,17).
- 60 Figura 72: Distribución de los niveles de hGH en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico, accidente cerebrovascular hemorrágico y AIT. Los valores de la mediana son 0,42 ng/mL, 0,41 ng/mL y 0,24 ng/mL, respectivamente.
- 65 Figura 73: Gráfico ROC para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular isquémico y AIT utilizando hGH como único marcador. AUC = 0,60 (P < 0,001).

Figura 74: Gráfico ROC para el diagnóstico diferencial del accidente cerebrovascular hemorrágico y AIT utilizando hGH como único marcador. AUC = 0,61 (P 0,013).

- 5
Figura 75: SEC ID nº:1 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-ADM)
Figura 76: SEC ID nº:2 (secuencia de aminoácidos de pro-ADM)
Figura 77: SEC ID nº:3 (secuencia de aminoácidos de pro-ADM N20)
10
Figura 78: SEC ID nº:4 (secuencia de aminoácidos de MR-pro-ADM)
Figura 79: SEC ID nº:5 (secuencia de aminoácidos de ADM)
15
Figura 80: SEC ID nº:6 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-ANP)
Figura 81: SEC ID nº:7 (secuencia de aminoácidos de pro-ANP)
Figura 82: SEC ID nº:8 (secuencia de aminoácidos de ANP)
20
Figura 83: SEC ID nº:9 (secuencia de aminoácidos de NT-proANP)
Figura 84: SEC ID nº:10 (secuencia de aminoácidos de los aminoácidos 53-90 de proANP)
25
Figura 85: SEC ID nº:11 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-AVP)
Figura 86: SEC ID nº:12 (secuencia de aminoácidos de pro-AVP)
Figura 87: SEC ID nº:13 (secuencia de aminoácidos de AVP)
30
Figura 88: SEC ID nº:14 (secuencia de aminoácidos de CT-pre-proAVP o copeptina)
Figura 89: SEC ID nº:15 (secuencia de aminoácidos de neurofisiina II)
35
Figura 90: SEC ID nº:16 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-ET-1)
Figura 91: SEC ID nº:17 (secuencia de aminoácidos de pro-ET-1)
Figura 92: SEC ID nº:18 (secuencia de aminoácidos de ET-1)
40
Figura 93: SEC ID nº:19 (secuencia de aminoácidos de CT-pro-ET-1)
Figura 94: SEC ID nº:20 (secuencia de aminoácidos de Big-ET-1)
45
Figura 95: SEC ID nº:21 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-calcitonina)
Figura 96: SEC ID nº:22 (secuencia de aminoácidos de PCT)
Figura 97: SEC ID nº:23 (secuencia de aminoácidos de PCT N-terminal)
50
Figura 98: SEC ID nº:24 (secuencia de aminoácidos de calcitonina)
Figura 99: SEC ID nº:25 (secuencia de aminoácidos de katalcalcina)
55
Figura 100: SEC ID nº:26 (secuencia de aminoácidos de pre-pro-BNP)
Figura 101: SEC ID nº:27 (secuencia de aminoácidos de pro-BNP)
Figura 102: SEC ID nº:28 (secuencia de aminoácidos de NT-pro-BNP)
60
Figura 103: SEC ID nº:29 (secuencia de aminoácidos de BNP)

Ejemplos

Ejemplo 1: Estudio clínico

5 Ámbito del estudio, criterios inclusión/exclusión

10 El estudio se estableció en la clínica de urgencias neurológicas y neuroquirúrgicas del Hospital Universitario de Basilea. Todos los pacientes consecutivos que fueron admitidos en el servicio de urgencias con un accidente cerebrovascular hemorrágico o isquémico o un accidente isquémico transitorio (AIT) de acuerdo con los criterios de la Organización Mundial de la Salud con una aparición de síntomas en los 3 últimos días se incluyeron en el estudio. Los pacientes sin consentimiento informado se excluyeron.

Recogida de datos en el momento inicial

15 El acceso a los datos de todos los pacientes seleccionables que no se incluyeron en este estudio es importante para evitar un sesgo de selección. Por lo tanto, los datos del momento inicial y la información sobre los criterios de inclusión y exclusión en todos los pacientes elegibles se recogieron con independencia de si estaban incluidos o no en el estudio. Esto permite la comparación de los datos del momento inicial de los pacientes seleccionables que aceptaron participar con los de aquellos que no lo hicieron. La recogida de datos del momento inicial en los
20 pacientes fue realizada por los investigadores y comprendió:

- a) edad
- b) género
- 25 c) IMC
- d) Cuestiones del historial médico: historial real que precedió a la hospitalización; escala ABCD (Rothwell *et al.*, 2005. A simple score (ABCD) to identify individuals at high early risk of stroke after transient ischaemic attack. *Lancet* 366: 29-36) en pacientes con accidente isquémico transitorio; historial familiar; comorbilidades relevantes asimismo evaluadas por el índice de Charlson (Goldstein *et al.*, 2004. Charlson Index comorbidity adjustment for ischemic stroke outcome studies. *Stroke* 35: 1941-5) (es decir hipertensión, accidente cerebrovascular previo, AIT previo, enfermedad cardíaca isquémica, fibrilación auricular, diabetes mellitus, disfunción renal y hepática, insuficiencia cardíaca congestiva, dislipidemia; comorbilidades con riesgo de hiponatremia (hipotiroidismo severo, insuficiencia de glucocorticoides, neoplasia, infección por VIH); historial de fumador (paquetes-año) y estado (paquetes al día); medicación actual; consumo de alcohol (vasos y gramos al día); tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la admisión.
- 40 e) Lugar de residencia: es decir vida independiente, definida como vida en el hogar o en el hogar de una persona con o sin apoyo del círculo familiar y/o cuidado de profesionales (el círculo familiar consiste en el cónyuge y/u otras personas importantes que viven junto con el paciente; vida dependiente, definida como departamento de estancia prolongada en residencias de ancianos, otro hospital.
- 45 f) Cuestiones clínicas: examen físico incluyendo estado neurológico, NIHSS (para evaluar la gravedad del accidente cerebrovascular) y Glasgow Coma scale (GCS; Adams *et al.*, 1999. Baseline NIH Stroke Scale score strongly predicts outcome after stroke: A report of the Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST). *Neurology* 53: 126-31), presión arterial, frecuencia del pulso, peso, estado volumétrico (incluyendo turgencia de la piel, distensión de la vena yugular, auscultación, si se encuentra disponible
50 diagrama de flujo de ingesta y eliminación de líquidos), temperatura corporal; en pacientes neuroquirúrgicos presión intracraneal si se realiza dentro de la gestión clínica rutinaria.
- g) Los síntomas clínicos de hiponatremia se evaluaron en la admisión y en caso de desequilibrio de sodio en
55 pacientes neurológicos. En pacientes que experimentan cirugía intracraneal la evaluación de los síntomas clínicos se realizó diariamente. Específicamente se controló la presencia de dolor de cabeza, anorexia, náuseas, vómitos, calambres y dolores musculares, convulsiones, confusión, apatía o desarrollo de letargia.
- h) Pruebas de laboratorio rutinarias/convencionales: toma de muestras de sangre rutinaria incluyendo: hematocrito, nitrógeno ureico en sangre, bicarbonato, proteína total, albúmina, suero de ácido úrico y electrolitos en orina, osmolalidad de orina y suero, creatinina, lípidos, TSH, fT4, T3, y cortisol basal. Todas las tomas de muestras de sangre se realizaron antes de la ingesta de cualquier alimento, o del primer cigarrillo, cuando fue posible. Alternativamente, se controlaron los factores determinantes.
- 60 i) Obtención de imágenes: Tomografía computarizada o MRI del neurocráneo (T1, T2, secuencia de imágenes ponderadas por difusión, con o sin contraste), si estuviera indicado angiografía de resonancia
65

magnética o angiografía cerebral convencional. Se registraron los puntos temporales de la aplicación del agente de contraste.

5 Los pacientes con accidente cerebrovascular asimismo se clasificaron basándose en el territorio vascular de la lesión isquémica como sigue: síndrome de circulación anterior total (TACS), síndrome de circulación anterior parcial (PACS), síndrome de circulación lacunar (LACS), síndrome de circulación posterior (POCS).

10 j) Otras investigaciones: Los pacientes con accidente cerebrovascular se sometieron a neurosonografía, ecocardiografía, electrocardiografía de 12 derivaciones convencional y electrocardiografía de 24 horas y a continuación se clasificaron por la etiología del accidente cerebrovascular de acuerdo con la clasificación del subtipo de accidente cerebrovascular de Trial Org-10172 in Acute Treatment (TOAST), que distingue entre aterosclerosis de arterias grandes, cardioembolia, oclusión de arterias pequeñas, otra etiología, y etiología indeterminada.

15

Declaración de consentimiento informado

20 El estudio fue aprobado por el comité ético de Basilea (Ethikkommission beider Basel). Es importante indicar que es un estudio exploratorio y observacional; la única intervención relacionada con el estudio será la afirmación de 7,5 ml de plasma obtenido durante la toma de muestras de sangre realizada de manera rutinaria. Por lo tanto, se requirió a los pacientes que proporcionarían un consentimiento informado por escrito en el que estuvieran de acuerdo con el uso de sus datos para fines científicos. En pacientes en los que el "consentimiento informado" no fue posible debido a las secuelas de la lesión aguda del SNC (esto constituye un requisito para la inclusión), su pariente más próximo podría firmar para establecer la presunta voluntad del paciente. Por si acaso, los parientes más próximos no se encontraran disponibles, un médico a cargo - que no debe estar implicado en el estudio - tendría que certificar que no hay objeciones para la inclusión en el estudio desde su punto de vista. Solamente después de estos procedimientos de consentimiento informado el paciente podría ser incluido en el estudio.

25

Gestión de los participantes a lo largo de todo el experimento

30

Etapa 1. Todos los pacientes seleccionables en el servicio de urgencias o la sala de neurología se incluyeron en el estudio.

35

Etapa 2. Se recogieron todos los datos del momento inicial.

Etapa 3. Durante la hospitalización se evaluaron todas las cuestiones clínicas incluyendo el peso, la presión arterial, la frecuencia del pulso, el estado volumétrico y la temperatura corporal mediante revisión de tablas hasta el alta.

40

- Tratamiento de fluidos y fármacos
- Síntomas potenciales de hiponatremia, es decir, dolor de cabeza, náuseas, vómitos, calambres y dolores musculares, anorexia, deterioro de la conciencia, convulsiones.

45

- Se tomaron muestras de las pruebas de laboratorio realizadas de manera rutinaria (quimiograma, glucosa en plasma, osmolalidad en suero, osmolalidad en orina, sodio en orina, hematocrito) en los puntos temporales tras la toma de muestras de sangre rutinaria.

50

Etapa 4. En todos los pacientes, el día 5 de hospitalización, se llevó a cabo un examen clínico con NIHSS, índice de Barthel y escala de clasificación (Collin *et al.*, 1988. The Barthel ADL Index: a reliability study. International Disability Study 10: 61-3; Bonita y Beaglehole, 1988. Modification of Ranking Scale: Recovery of motor function after stroke. Stroke 19: 1497-1500).

55

Se evaluó el futuro lugar de residencia (es decir vida dependiente vs. independiente).

Etapa 6. En pacientes con accidente cerebrovascular isquémico se obtuvo un seguimiento por teléfono referente a la morbilidad y mortalidad (evaluado mediante el índice de Barthel y la escala de clasificación) después de 3 meses.

60

Un desenlace favorable se definió como un índice de Barthel <85 o una escala de clasificación modificada de 3 a 6.

Medición de las concentraciones de péptidos marcadores

Se midieron los niveles de MR-proANP con un inmunoensayo sándwich de quimioluminiscencia con un límite de detección inferior de 6 pmoles/L. En 325 individuos sanos el intervalo de concentraciones de MR-proANP fue 9,6-313 pmoles/L con una mediana de 45 pmoles/L. Las concentraciones diferían de manera no significativa entre hombre y mujeres, pero correlacionaban significativamente con la edad de los sujetos.

Se midieron los niveles de MR-proADM con un inmunoensayo sándwich de quimioluminiscencia con un límite de detección inferior de 0,08 nmoles/L. En 264 individuos sanos (117 hombres y 147 mujeres) los valores de MR-proADM seguían una distribución gaussiana con una media (DT) de 0,33 (0,07) nmoles/L y un intervalo de 0,10-0,64 nmoles/L. No hubo diferencia significativa entre géneros, pero las concentraciones de MR-proADM correlacionaron significativamente con la edad.

Se midieron los niveles de CT-proET-1 con un inmunoensayo sándwich de quimioluminiscencia con un límite de detección inferior de 0,4 pmoles/L. En 326 individuos sanos (150 hombres y 176 mujeres) los valores de CT-proET-1 seguían una distribución gaussiana con una media (DT) de 44,3 (10,6) pmoles/L y un intervalo de 10,5-77,4 pmoles/L. Las concentraciones medias de CT-proET-1 en hombres y mujeres no fueron significativamente diferentes pero correlacionaron significativamente con la edad.

Se midieron los niveles de CT-proAVP (coceptina) con un inmunoensayo sándwich de quimioluminiscencia con un límite de detección inferior de 1,7 pmoles/L. En 359 individuos sanos (153 hombres y 206 mujeres), la mediana de los niveles de CT-proAVP fue 4,2 pmoles/L que oscila entre 1,0-13,8 pmoles/L. La mediana de las concentraciones de CT-proAVP difería significativamente entre hombres y mujeres. No había correlación entre los niveles de CT-proAVP y la edad.

Los niveles de PCT se midieron con el inmunoensayo sándwich de quimioluminiscencia "PCT Sensitive" (B.R.A.H.M.S, Hennigsdorf, Alemania) con un límite de detección inferior de 7 pg/ml. En 500 individuos sanos, la mediana fue 13,5 pg/ml (intervalo < 7 a 63 pg/ml). No hubo diferencias significativas en el intervalo y la mediana de los valores de PCT entre hombres y mujeres o entre los grupos de edad.

La hormona del crecimiento humana se midió con un inmunoensayo sándwich de quimioluminiscencia recién desarrollado para la detección específica de la isoforma de hGH de 22 kDa más abundante. La mediana de la concentración de la isoforma de hGH de 22 kDa en una cohorte de 50 donantes de sangre fue 0,19 ng/ml (intervalo 0,05 - 8,82 ng/ml).

Los niveles en plasma de los péptidos marcadores MR-proANP, MR-proADM, CT-proET-1, CT-proAVP (Copeptina), PCT y hGH se han determinado en 352 pacientes con accidente cerebrovascular isquémico, en 32 pacientes con hemorragia cerebral y en 102 pacientes con AIT. Las muestras de sangre se tomaron el día de la hospitalización (día 0) y 1, 3 y 5 días después de la hospitalización.

Ejemplos 2 a 11

Los ejemplos 2 a 11 se refieren al mismo grupo de pacientes y se basan en el estudio del ejemplo 1. Las tablas 1 y 2 resumen los pacientes del estudio y su desenlace. Las muestras de sangre (muestras de plasma tratadas con EDTA) se tomaron de un grupo de 501 pacientes con accidente cerebrovascular o AIT. El grupo de pacientes es el mismo que en el ejemplo 1, sin embargo, el número puede ser ligeramente diferente, ya que no todos los días estaban disponibles todos los pacientes y no todos los días se encontraba disponible suficiente volumen de muestra para cada paciente para determinar todos los marcadores.

Ejemplo 2: Pronóstico de supervivencia (muerte en 3 meses) con marcadores medidos el día 0

Se investiga el desenlace para pacientes con accidente cerebrovascular o AIT en el plazo de 3 (4) meses después del accidente cerebrovascular o AIT y se correlaciona con el nivel de los marcadores MR-proANP, MR-proADM, CT-proAVP, CT-proET1 y PCT en muestras de dichos pacientes. Las muestras se habían tomado el día 0 (día de la hospitalización). A partir de esta correlación se han calculado las proporciones de riesgo (HR) para los valores de corte proporcionados (valores umbrales). Los valores de corte se han determinado maximizando la suma de la sensibilidad y la especificidad determinada a partir del análisis ROC dependiente del tiempo.

Las tablas 3a a 4 resumen los valores HR para los diferentes marcadores y sus combinaciones. Las figuras 1 a 27 muestran los gráficos de Kaplan-Meier (proporción de pacientes que sobreviven cuatro meses) para los diferentes marcadores/combinaciones de marcadores y en la combinación con clasificación/índice de Barthel/NIHSS.

Tabla 1: Resumen de pacientes

diagnóstico definido	frecuencia	porcentaje
accidente cerebrovascular hemorrágico	32	6,4
accidente cerebrovascular isquémico	362	72,3
AIT	107	21,4
suma	501	100,0

Tabla 2: Supervivencia de pacientes

5

muerte en 3 meses	frecuencia	porcentaje
sí	53	10,6
no	447	89,2
desconocido	1	0,2
suma	501	100,0

Tabla 3a: Proporciones de riesgo (HR) para diferentes marcadores

Marcador	HR	corte
MR-proANP	10,8	188
CT-proAVP	9,4	20,257
MR-proADM	4,7	0,666
CT-proET-1	4,1	98,3
PCT sens	3,4	0,026
hGH	1,4	0,34

10 **Tabla 3b:** Proporciones de riesgo (HR) para diferentes combinaciones de marcadores

Combinación de marcadores	HR (ambos elevados vs ambos bajos)
MR-proANP+CT-proAVP	61,4
MR-proANP+MR-proADM	62,7
MR-pro ANP+CT-proET-1	17,6
MR-proANP+PCT sens	25,2
CT-proAVP+MR-proADM	37,9
CT-proAVP+CT-proET-1	13,2
CT-proAVP+PCT sens	25,3
MR-pro ADM+CT-proET-1	8,7
MR-proADM+PCT sens	11,4
CT-proET-1+PCT sens	6,8
HGH+MR-proANP	12,3
HGH+MR-proADM	5,8
HGH+CT-proET-1	5,0
HGH+PCT sens	4,4

Tabla 3c: Proporciones de riesgo (HR) para combinación de los seis marcadores

Combinaciones de marcadores	HR (>3 elevados vs todos bajos)
Combinación de 6, modelo 1	> 100
Combinación de 6, modelo 2	> 100

15

Tabla 4: Proporciones de riesgo (HR) de diferentes marcadores en combinación con diferentes puntuaciones

Marcador	HR completa	HR mRS, día 5=5	HR Barthel, día 5<85%	HR NIHSS, día 1>10	HR NIHSS, día 5>10
MR-proANP	10,8	22,4	31,1	7,8	> 100
CT-proAVP	9,4	1,8	3,5	2,9	3,0
MR-proADM	4,7	2,3	1,4	3,0	3,2
CT-proET-1	4,1	2,4	2,1	3,2	3,2
PCT sens	3,4	2,5	2,5	4,3	6,8

Ejemplo 3: Pronóstico de supervivencia (muerte en 3 meses) con marcadores medidos el día 0 y el día 5 (días 0 y 5 combinados)

20

Tabla 5: Proporciones de riesgo (HR) para diferentes marcadores

Marcador, día 0 y día 5	HR (día 0 solamente)	HR (ambos elevados vs ambos bajos)	corte
MR-proANP	10,8	26,5	188
CT-proAVP	9,4	24,2	20,257
MR-proADM	4,7	6,6	0,666
CT-proET-1	4,1	8,7	98,3
PCT sens	3,4	7,8	0,026
hGH	1,4	1,4	0,34

5 La tabla 5 resume los valores de HR para los diferentes marcadores en muestras tomadas el día 0 y el día 5. Las figuras 28 a 32 muestran los gráficos de Kaplan-Meier (proporción de pacientes que sobreviven cuatro meses) para los diferentes marcadores.

Ejemplo 4: Pronóstico de supervivencia (muerte en 3 meses) con marcadores medidos el día 5 y combinado con NIHSS

Tabla 6: Proporciones de riesgo (HR) para diferentes marcadores

Marcador, día 5 y NIHSS (>10)	HR (día 5 solamente)	HR (ambos elevados vs ambos bajos)	corte
NIHSS	7,3	-	10
MR-proANP	8,0	44,6	188
CT-proAVP	18,3	43,4	20,257
MR-proADM	2,8	14,6	0,666
CT-proET-1	7,9	48,4	98,3
PCT sens	4,1	17,7	0,026
hGH	1,4	6,6	0,34

15 La tabla 6 resume los valores de HR para los diferentes marcadores en muestras tomadas el día 5 y en combinación con los valores de NIHSS para dichos pacientes. Las figuras 33 a 39 muestran los gráficos de Kaplan-Meier (proporción de pacientes que sobreviven cuatro meses) para NIHSS sola y para los diferentes marcadores en combinación de NIHSS basada en muestras tomadas el día 5.

Ejemplo 5: Pronóstico de supervivencia (muerte en 3 meses) con marcadores medidos el día 5 y combinado con el índice de Barthel

Tabla 7: Proporciones de riesgo (HR) para diferentes marcadores

Marcador, día 5 e índice de Barthel (<85%)	HR (día 5 solamente)	HR (ambos elevados vs ambos bajos)	corte
Índice de Barthel	12,3	-	85%
MR-proANP	8,0	44,0	188
CT-proAVP	18,3	> 100	20,257
MR-proADM	2,8	14,6	0,666
CT-proET-1	7,9	68,5	98,3
PCT sens	4,1	24,4	0,026
hGH	1,4	7,2	0,34

25 La tabla 7 resume los valores de HR para los diferentes marcadores en muestras tomadas el día 5 y en combinación con los valores del índice de Barthel para dichos pacientes. Las figuras 40 a 43 muestran los gráficos de Kaplan-Meier (proporción de pacientes que sobreviven cuatro meses) para el índice de Barthel para los diferentes marcadores en combinación con el índice de Barthel basado en muestras tomadas el día 5.

Ejemplo 6: Pronóstico de supervivencia con marcadores medidos el día 5 y combinado con la escala de clasificación modificada, desenlace "muerte en 3 meses"

Tabla 8: Proporciones de riesgo (HR) para diferentes marcadores

Marcador, día 5 y clasificación (>2)	HR (día 5 solamente)	HR (ambos elevados vs ambos bajos)	corte
Clasificación	10,7	-	0-2 vs. 3-6
MR-proANP	8,0	37,1	188
CT-proAVP	18,3	> 100	20,257
MR-proADM	2,8	12,9	0,666

Marcador, día 5 y clasificación (>2)	HR (día 5 solamente)	HR (ambos elevados vs ambos bajos)	corte
CT-proET-1	7,9	49,6	98,3
PCT sens	4,1	20,4	0,026
hGH	1,4	5,7	0,34

5 La tabla 8 resume los valores de HR para los diferentes marcadores en muestras tomadas el día 5 y en combinación con los valores de la escala de clasificación modificada para dichos pacientes. Las figuras 44 a 49 muestran los gráficos de Kaplan-Meier (proporción de pacientes que sobreviven cuatro meses) para la escala de clasificación modificada sola y para los diferentes marcadores en combinación con la escala de clasificación modificada basada en muestras tomadas el día 5.

10 **Ejemplo 7: Pronóstico de "repetición de accidente cerebrovascular / repetición AIT" con marcadores medidos el día 0**

La tabla 9 resume la repetición de los accidentes cerebrovasculares (repetición de accidente cerebrovascular) y los AIT (repetición AIT) en el grupo de pacientes. Las tablas 10 a 14 resumen los valores de HR calculados para los diferentes marcadores y combinaciones de marcadores.

15 **Tabla 9:** Repetición de accidente cerebrovascular o repetición de AIT en 3 meses

repetición del evento en 3 meses	frecuencia	porcentaje
no	419	83,6
sí	29	5,8
desconocido	53	10,6
suma	501	100,0

Tabla 10: Razones de oportunidades (OR) para diferentes marcadores

Marcador	OR	OR (AIT solamente)	corte
MR-proANP	3,6	21,7	323,2
CT-proAVP	3,0	> 100	38,6
MR-proADM	3,7	4,2	1,18
CT-proET-1	-	7,0	59,2
PCT sens	2,9	3,2	0,057
hGH	-	1,9	0,34

20

Tabla 11: Razones de oportunidades para diferentes combinaciones de marcadores

Marcador (combinación)	OR (ambos elevados vs ambos bajos)	OR (ambos elevados vs ambos bajos) AIT solamente
MR-proANP+CT-proAVP	7,4	> 100
MR-proANP+MR-proADM	8,1	> 100
MR-proANP+CT-proET-1	-	76,0
MR-proANP+PCT sens	4,5*	24,0*
CT-proAVP+MR-proADM	10,5	> 100
CT-proAVP+CT-proET-1	-	> 100
CT-proAVP+PCT sens	3,5*	>100*
MR-pro ADM+CT-proET-1	-	15,2
MR-proADM+PCT sens	5,1*	-
CT-proET-1+PCT sens	-	18,5
HGH+MR-proADM	-	4,9

* no hay suficientes pacientes en el grupo "ambos elevados" para permitir el cálculo de OR; no obstante, se proporciona una OR para "ambos bajos" vs. "elevado en el primer marcador".

25 **Tablas 13a a 13e:** Cálculo de las razones de oportunidad para todos los pacientes (repetición accidente cerebrovascular y repetición AIT)

Tabla 13a: Cálculo de OR para MR-proANP

Marcador		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
MR-proANP	> corte	360	20	380
	< corte	35	7	42

Marcador		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
	suma	395	27	422
Razón de oportunidades		3,6		

Tabla 13b: Cálculo de OR para CT-proAVP

Marcador		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
CT-proAVP	> corte	346	19	365
	< corte	48	8	56
	suma	394	27	421
Razón de oportunidades		3,0		

5 Tabla 13c: Cálculo de OR para MR-proADM

Marcador		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
MR-proADM	> corte	372	22	394
	< corte	23	5	28
	suma	395	27	422
Razón de oportunidades		3,7		

Tabla 13d: Cálculo de OR para combinación de MR-proANP y CT-proAVP

Modelo de marcadores		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
MR-proANP + CT-proA VP	ambos bajos	325	17	342
	ambos elevados	13	5	18
	suma	338	22	360
Razón de oportunidades		7,4		

10

Tabla 13d: Cálculo de OR para combinación de MR-proANP y MR-proADM

Modelo de marcadores		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
MR-proANP + MR-proADM	ambos bajos	346	19	365
	ambos elevados	9	4	13
	suma	355	23	378
Razón de oportunidades		8,1		

15

Tabla 13e: Cálculo de OR para la combinación de CT-proAVP y MR-proADM

Modelo de marcadores		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
CT-proAVP+MR-proADM	ambos bajos	331	18	349
	ambos elevados	7	4	11
	suma	338	9,9	360
Razón de oportunidades		10,5		

Tabla 14a a 14d: Cálculo de las razones de oportunidad para pacientes con AIT (repetición de accidente cerebrovascular y repetición de AIT)

20 Tabla 14a: Cálculo de OR para MR-proANP

Marcador		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
MR-proANP	> corte	87	8	95
	< corte	1	2	3
	suma	88	10	98
Razón de oportunidades		21,8		

Tabla 14b: Cálculo de OR para CT-proAVP

Marcador		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
CT-proAVP	> corte	88	8	96
	< corte	0	2	2
	suma	88	10	98
Razón de oportunidades	> 100			

5 Tabla 14c: Cálculo de OR para MR-proADM

Marcador		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
MR-proADM	> corte	83	8	91
	< corte	5	2	7
	suma	88	10	98
Razón de oportunidades	4,2			

Tabla 14d: Cálculo de OR para CT-proET1

Marcador		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
CT-proET1	> corte	38	1	39
	< corte	49	9	58
	suma	87	10	97
Razón de oportunidades	7,0			

10 Tabla 14e: Cálculo de OR para combinación de MR-proANP y CT-proAVP

Modelo de marcadores		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
MR-proANP + CT-proAVP	ambos bajos	87	7	94
	ambos elevados	0	1	1
	suma	87	8	95
Razón de oportunidades	> 100			

15 Tabla 14f: Cálculo de OR para la combinación de CT-proET1 y CT-proAVP

Modelo de marcadores		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
CT-proET1	ambos bajos	38	1	39
CT-proAVP	ambos elevados	0	2	2
	suma	38	3	41
Razón de oportunidades	> 100			

Tabla 14g: Cálculo de OR para combinación de MR-proANP y MR-proADM

Modelo de marcadores		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		suma
		no	sí	
MR-proANP	ambos bajos	82	8	90
MR-proADM	ambos elevados	0	2	2
	suma	82	10	92
Razón de oportunidades	> 100			

20 Ejemplo 8: Pronóstico de "repetición de accidente cerebrovascular" (en 3 meses) con marcadores medidos el día 0 y combinado con el día 5

Las Tablas 15 a 16d resumen los resultados de un análisis ROC (control), concretamente las razones de oportunidades, para diferentes marcadores/combinaciones de marcadores.

25

Tabla 15: Cálculo de OR para diferentes marcadores

Marcador, día 0 y día 5	OR (solamente día 0)	OR (ambos elevados vs ambos bajos)	corte
MR-proANP	3,6	5,1	323,2
CT-proAVP	3,0	8,5	38,6
MR-proADM	3,7	4,8	1,18
CT-proET-1	-	-	59,2
PCT sens	2,9	4,2	0,057
hGH	-	4,2	0,34

Tabla 16a a d: Cálculo de OR para marcadores individuales, día 0 y día 5:

5

Tabla 16a: Cálculo de OR para MR-proANP

MR-proANP		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		
		no	sí	suma
día 0, día5	ambos bajos	241	14	255
	ambos elevados	17	5	22
	suma	258	19	277
Razón de oportunidades	5,1			

Tabla 16b: Cálculo de OR para CT-proAVP

10

CT-proAVP		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		
		no	sí	suma
día 0, día5	ambos bajos	220	13	233
	ambos elevados	4	2	6
	suma	224	15	239
Razón de oportunidades	8,5			

Tabla 16c: Cálculo de OR para MR-proADM

MR-proADM		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		
		no	sí	suma
día 0, día5	ambos bajos	241	15	256
	ambos elevados	10	3	13
	suma	251	18	269
Razón de oportunidades	4,8			

15

Tabla 16d: Cálculo de OR para PCT

PCT		Repetición accidente cerebrovascular o repetición AIT		
		no	sí	suma
día 0, día5	ambos bajos	235	16	251
	ambos elevados	7	2	9
	suma	242	18	260
Razón de oportunidades	4,2			

Ejemplo 9: Pronóstico de desenlace funcional (mRS, después de 3 meses) con marcadores medidos el día 0

20

La tabla 17 resume el desenlace para el grupo de pacientes en términos de la escala de clasificación modificada (0 a 6). La tabla 18 enumera la estadística Chi² de Kruskal-Wallis y el valor p para la correlación de los diferentes marcadores con la escala de clasificación modificada. La tabla 19 resume el desenlace en dos clases: pacientes con desenlace satisfactorio (clasificación 0-2) y pacientes con un desenlace adverso (clasificación 3-6). Las tablas 20a a 20dc resumen la OR el día 0 de los marcadores/combinaciones de marcadores para pacientes con un desenlace satisfactorio o adverso después de 3 meses]. Las tablas 21 a 21h resumen las razones de oportunidades (OR) calculadas para los diferentes marcadores/combinaciones de marcadores. La figura 50 ilustra la correlación entre la clasificación y el nivel de CT-proAVP (A) y MR-proANP (B), respectivamente, en un diagrama de cajas. Las figuras 51 a 56 ilustran los gráficos ROC para los diferentes marcadores.

25

Tabla 17: Distribución de frecuencia para el desenlace (medido con la escala de clasificación modificada) de pacientes con accidente cerebrovascular/AIT después de 3 meses

Clasificación después de 3 meses	frecuencia	porcentaje
0	155	30,9
1	106	21,2
2	53	10,6
3	55	11,0
4	56	11,2
5	20	4,0
6	53	10,6
desconocido	3	0,6
suma	501	100,0

5

Tabla 18: Resultados para diferentes marcadores

	Clasificación 3 meses (0-6)	
	Chi ²	valor p
MR-proANP	80,4	<0,0001
CT-proAVP	87,2	<0,0001
MR-proADM	40,5	<0,0001
CT-proET-1	26,0	0,0005
PCT sens	22,2	0,0024

Tabla 19: Clasificación después de 3 meses

10

Clasificación después de 3 meses	frecuencia	porcentaje
Clasificación 0-2 ("satisfactoria")	314	62,7
Clasificación 3-6 ("adversa")	184	36,7
desconocido	3	0,6
suma	501	100,0

Tabla 20a: OR para diferentes marcadores

Marcador	OR	corte
MR-proANP	4,5	188
CT-proAVP	5,1	20,257
MR-proADM	2,8	0,666
CT-proET-1	3,6	98,3
PCT sens	2,1	0,026
hGH	1,5	0,34

15

Tabla 20b: OR para diferentes combinaciones de marcadores

Marcador (combinaciones)	OR (ambos elevados vs ambos bajos)
MR-proANP+CT-proAVP	15,6
MR-proANP+MR-proADM	7,3
MR-proANP+CT-proET-1	7,6
MR-proANP+PCT sens	8,2
CT-proAVP+MR-proADM	9,8
CT-proAVP+CT-proET-1	8,5
CT-proAVP+PCT sens	7,1
MR-proADM+CT-proET-1	5,4
MR-proADM+PCT sens	4,4
CT-proET-1+PCT sens	4,6
HGH+CT-proAVP	5,6
HGH+MR-proADM	4,3
hGH+CT-proET-1	4,4

Marcador (combinaciones)	OR (ambos elevados vs ambos bajos)
hGH+PCT sens	2,7
hGH+MR-proANP	6,2

Tabla 20c: OR para combinación de los 6 marcadores

Marcador (combinaciones)	OR (todos elevados vs todos bajos)
combinación de 6	22,0

5 Tabla 21a: Cálculo de OR para CT-proAVP

Marcador		Clasificación		
		0-2	3-6	suma
CT-proAVP	> corte	246	85	331
	< corte	49	87	136
	suma	295	172	467
Razón de oportunidades		5,1		

Tabla 21b: Cálculo de OR para MR-proANP

Marcador		Clasificación		
		0-2	3-6	suma
MR-proANP	> corte	232	77	309
	< corte	64	95	159
	suma	296	172	468
Razón de oportunidades		4,5		

10

Tabla 21c: Cálculo de OR para MR-proADM

Marcador		Clasificación		
		0-2	3-6	suma
MR-proADM	> corte	175	59	234
	< corte	121	113	234
	suma	296	172	468
Razón de oportunidades		2,8		

Tabla 21d: Cálculo de OR para CT-proET-1

15

Marcador		Clasificación		
		0-2	3-6	suma
CT-proET-1	> corte	263	121	384
	< corte	30	49	79
	suma	293	170	463
Razón de oportunidades		3,6		

Tabla 21e: Cálculo de OR para PCT

Marcador		Clasificación		
		0-2	3-6	suma
PCT	> corte	238	114	352
	< corte	57	57	114
	suma	295	171	466
Razón de oportunidades		2,1		

20 Tabla 21f: Cálculo de OR para combinación de MR-proANP y CT-proAVP

Modelo de marcadores		Clasificación		
		no	sí	suma
MR-proANP + CT-proAVP	ambos bajos	198	54	252
	ambos elevados	15	64	79
	suma	213	118	331
Razón de oportunidades		15,6		

Tabla 21g: Cálculo de OR para combinación de MR-proANP y MR-proADM

Modelo de marcadores		Clasificación		
		no	sí	suma
MR-proANP+MR-proADM	ambos bajos	151	39	190
	ambos elevados	40	75	115
	suma	191	114	305
Razón de oportunidades		7,3		

Tabla 21h: Cálculo de OR para la combinación de MR-proADM y CT-proAVP

5

Modelo de marcadores		Clasificación		
		no	sí	suma
MR-proADM + CT-proAVP	ambos bajos	154	36	190
	ambos elevados	28	64	92
	suma	182	100	282
Razón de oportunidades		9,8		

Ejemplo 10: Pronóstico de desenlace funcional (mRS, después de 3 meses) con marcadores medidos el día 0 y combinado con el día 5

10 La tabla 22 resume la OR para los marcadores individuales el día 0 y en combinación con el día 5. Las tablas 23 y 24 resumen las razones de oportunidades calculadas (OR) para dos diferentes marcadores en correlación con los valores de clasificación.

Tabla 22: Razones de oportunidades para diferentes marcadores

15

Marcador, día 0 y día 5	OR (solamente día 0)	OR (ambos elevados vs ambos bajos)	corte
MR-proANP	4,5	-	188
CT-proAVP	5,1	6,5	20,257
MR-proADM	2,8	-	0,666
CT-proET-1	3,6	-	98,3
PCT sens	2,1	3,3	0,026

Tabla 23: Cálculo de OR para CT-proAVP, día 0 y día 5

CT-proAVP		Clasificación		
		0-2	3-6	suma
día 0, día5	ambos bajos	151	54	205
	ambos elevados	12	28	40
	suma	163	82	245
Razón de oportunidades		6,5		

Tabla 24: Cálculo de OR para PCT, día 0 y día 5

20

PCT		Clasificación		
		0-2	3-6	suma
día 0, día5	ambos bajos	129	42	171
	ambos elevados	29	31	60
	suma	158	73	231
Razón de oportunidades		3,3		

Ejemplo 11: Diagnóstico diferencial de AIT, accidente cerebrovascular isquémico y accidente cerebrovascular hemorrágico

25

30 Las figuras 57 a 74 resumen los resultados para el uso de MR-proANP, copeptina, MR-proADM, CT-proET-1, PCT y hGH como marcadores individuales para el diagnóstico diferencial de AIT, accidente cerebrovascular isquémico y accidente cerebrovascular hemorrágico. Los niveles de los marcadores se han determinado como se ha descrito anteriormente para el día 0 y el día 1. Los valores de la mediana se han determinado para cada marcador y grupo de pacientes (accidente cerebrovascular hemorrágico, accidente cerebrovascular isquémico, AIT) y se han creado las curvas ROC para el diagnóstico diferencial de accidente cerebrovascular hemorrágico con respecto a AIT y accidente cerebrovascular isquémico con respecto a AIT.

Tabla 25: Valores de corte óptimos para el diagnóstico diferencial de AIT con respecto a accidente cerebrovascular (accidente cerebrovascular isquémico y hemorrágico, respectivamente) utilizando marcadores individuales.

Marcador	Corte AIT vs. accidente cerebrovascular isquémico	Corte AIT vs. accidente cerebrovascular hemorrágico
CT-proAVP	9,65 pmoles/L	11,35 pmoles/L
CT-proET	67,15 pmoles/L	66,35 pmoles/L
hGH	0,13 ng/ml	0,13 ng/ml
MR-proADM	0,67 nmoles/L	0,36 nmoles/L
MR-proANP	130,5 pmoles/L	96,1 pmoles/L
PCT	0,0235 ng/mL	0,0235 ng/mL

5

Listado de secuencias

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

10 <120> Pronóstico y evaluación del riesgo en pacientes con accidente cerebrovascular determinando el nivel de péptidos marcadores

<130> B60405PCT

15 <150> 08168671.9

<151> 24-10-2008

<160> 29

20 <170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 185

<212> PRT

25 <213> Homo sapiens

<400> 1

ES 2 724 478 T3

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

<210> 2
 <211> 164
 5 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2

ES 2 724 478 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro His Phe Leu

<210> 3

<211> 20

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

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

Ala Leu Ser Arg
20

10 <210> 4

<211> 40

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 4

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

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

Ser Arg Ser Pro Glu Asp Ser Ser
35 40

<210> 5

20 <211> 52

<212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 724 478 T3

<400> 5
 Tyr Arg Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys
 1 5 10 15
 Arg Phe Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln
 20 25 30
 Phe Thr Asp Lys Asp Lys Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser
 35 40 45
 Pro Gln Gly Tyr
 50

5 <210> 6
 <211> 153
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 6
 Met Ser Ser Phe Ser Thr Thr Thr Val Ser Phe Leu Leu Leu Leu Ala
 1 5 10 15
 Phe Gln Leu Leu Gly Gln Thr Arg Ala Asn Pro Met Tyr Asn Ala Val
 20 25 30
 Ser Asn Ala Asp Leu Met Asp Phe Lys Asn Leu Leu Asp His Leu Glu
 35 40 45
 Glu Lys Met Pro Leu Glu Asp Glu Val Val Pro Pro Gln Val Leu Ser
 50 55 60
 Glu Pro Asn Glu Glu Ala Gly Ala Ala Leu Ser Pro Leu Pro Glu Val
 65 70 75 80
 Pro Pro Trp Thr Gly Glu Val Ser Pro Ala Gln Arg Asp Gly Gly Ala
 85 90 95
 Leu Gly Arg Gly Pro Trp Asp Ser Ser Asp Arg Ser Ala Leu Leu Lys
 100 105 110
 Ser Lys Leu Arg Ala Leu Leu Thr Ala Pro Arg Ser Leu Arg Arg Ser
 115 120 125
 Ser Cys Phe Gly Gly Arg Met Asp Arg Ile Gly Ala Gln Ser Gly Leu
 130 135 140
 Gly Cys Asn Ser Phe Arg Tyr Arg Arg
 145 150

15 <210> 7
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 7

ES 2 724 478 T3

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

5 <210> 8
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 8
 Ser Leu Arg Arg Ser Ser Cys Phe Gly Gly Arg Met Asp Arg Ile Gly
 1 5 10 15
 Ala Gln Ser Gly Leu Gly Cys Asn Ser Phe Arg Tyr
 20 25

15 <210> 9
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 9
 Asn Pro Met Tyr Asn Ala Val Ser Asn Ala Asp Leu Met Asp Phe Lys
 1 5 10 15
 Asn Leu Leu Asp His Leu Glu Glu Lys Met Pro Leu Glu Asp Glu Val
 20 25 30
 Val Pro Pro Gln Val Leu Ser Glu Pro Asn Glu Glu Ala Gly Ala Ala
 35 40 45
 Leu Ser Pro Leu Pro Glu Val Pro Pro Trp Thr Gly Glu Val Ser Pro
 50 55 60
 Ala Gln Arg Asp Gly Gly Ala Leu Gly Arg Gly Pro Trp Asp Ser Ser
 65 70 75 80
 Asp Arg Ser Ala Leu Leu Lys Ser Lys Leu Arg Ala Leu Leu Thr Ala
 85 90 95

20 Pro Arg
 <210> 10

ES 2 724 478 T3

<211> 38
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5 <400> 10
 Pro Glu Val Pro Pro Trp Thr Gly Glu Val Ser Pro Ala Gln Arg Asp
 1 5 10 15
 Gly Gly Ala Leu Gly Arg Gly Pro Trp Asp Ser Ser Asp Arg Ser Ala
 20 25 30
 Leu Leu Lys Ser Lys Leu
 35

10 <210> 11
 <211> 164
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 11
 Met Pro Asp Thr Met Leu Pro Ala Cys Phe Leu Gly Leu Leu Ala Phe
 1 5 10 15
 15 Ser Ser Ala Cys Tyr Phe Gln Asn Cys Pro Arg Gly Gly Lys Arg Ala
 20 25 30
 Met Ser Asp Leu Glu Leu Arg Gln Cys Leu Pro Cys Gly Pro Gly Gly
 35 40 45
 Lys Gly Arg Cys Phe Gly Pro Ser Ile Cys Cys Ala Asp Glu Leu Gly
 50 55 60
 Cys Phe Val Gly Thr Ala Glu Ala Leu Arg Cys Gln Glu Glu Asn Tyr
 65 70 75 80
 Leu Pro Ser Pro Cys Gln Ser Gly Gln Lys Ala Cys Gly Ser Gly Gly
 85 90 95
 Arg Cys Ala Ala Phe Gly Val Cys Cys Asn Asp Glu Ser Cys Val Thr
 100 105 110
 Glu Pro Glu Cys Arg Glu Gly Phe His Arg Arg Ala Arg Ala Ser Asp
 115 120 125
 Arg Ser Asn Ala Thr Gln Leu Asp Gly Pro Ala Gly Ala Leu Leu Leu
 130 135 140
 Arg Leu Val Gln Leu Ala Gly Ala Pro Glu Pro Phe Glu Pro Ala Gln
 145 150 155 160
 Pro Asp Ala Tyr

20 <210> 12
 <211> 145
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 12

ES 2 724 478 T3

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

Tyr
 145

5 <210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 13
 Cys Tyr Phe Gln Asn Cys Pro Arg Gly
 1 5

<210> 14
 <211> 39
 15 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 14
 Ala Ser Asp Arg Ser Asn Ala Thr Gln Leu Asp Gly Pro Ala Gly Ala
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Arg Leu Val Gln Leu Ala Gly Ala Pro Glu Pro Phe Glu
 20 25 30

Pro Ala Gln Pro Asp Ala Tyr
 35

20 <210> 15
 <211> 93
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25 <400> 15

ES 2 724 478 T3

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

- 5 <210> 16
- <211> 212
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

10 <400> 16
 Met Asp Tyr Leu Leu Met Ile Phe Ser Leu Leu Phe Val Ala Cys Gln
 1 5 10 15
 Gly Ala Pro Glu Thr Ala Val Leu Gly Ala Glu Leu Ser Ala Val Gly
 20 25 30
 Glu Asn Gly Gly Glu Lys Pro Thr Pro Ser Pro Pro Trp Arg Leu Arg
 35 40 45
 Arg Ser Lys Arg Cys Ser Cys Ser Ser Leu Met Asp Lys Glu Cys Val
 50 55 60
 Tyr Phe Cys His Leu Asp Ile Ile Trp Val Asn Thr Pro Glu His Val
 65 70 75 80
 Val Pro Tyr Gly Leu Gly Ser Pro Arg Ser Lys Arg Ala Leu Glu Asn
 85 90 95
 Leu Leu Pro Thr Lys Ala Thr Asp Arg Glu Asn Arg Cys Gln Cys Ala
 100 105 110
 Ser Gln Lys Asp Lys Lys Cys Trp Asn Phe Cys Gln Ala Gly Lys Glu
 115 120 125
 Leu Arg Ala Glu Asp Ile Met Glu Lys Asp Trp Asn Asn His Lys Lys
 130 135 140
 Gly Lys Asp Cys Ser Lys Leu Gly Lys Lys Cys Ile Tyr Gln Gln Leu
 145 150 155 160
 Val Arg Gly Arg Lys Ile Arg Arg Ser Ser Glu Glu His Leu Arg Gln
 165 170 175
 Thr Arg Ser Glu Thr Met Arg Asn Ser Val Lys Ser Ser Phe His Asp
 180 185 190
 Pro Lys Leu Lys Gly Lys Pro Ser Arg Glu Arg Tyr Val Thr His Asn
 195 200 205

ES 2 724 478 T3

Arg Ala His Trp
210

5 <210> 17
<211> 195
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 17
Ala Pro Glu Thr Ala Val Leu Gly Ala Glu Leu Ser Ala Val Gly Glu
1 5 10 15

Asn Gly Gly Glu Lys Pro Thr Pro Ser Pro Pro Trp Arg Leu Arg Arg
20 25 30

Ser Lys Arg Cys Ser Cys Ser Ser Leu Met Asp Lys Glu Cys Val Tyr
35 40 45

Phe Cys His Leu Asp Ile Ile Trp Val Asn Thr Pro Glu His Val Val
50 55 60

Pro Tyr Gly Leu Gly Ser Pro Arg Ser Lys Arg Ala Leu Glu Asn Leu
65 70 75 80

Leu Pro Thr Lys Ala Thr Asp Arg Glu Asn Arg Cys Gln Cys Ala Ser
85 90 95

Gln Lys Asp Lys Lys Cys Trp Asn Phe Cys Gln Ala Gly Lys Glu Leu
100 105 110

Arg Ala Glu Asp Ile Met Glu Lys Asp Trp Asn Asn His Lys Lys Gly
115 120 125

Lys Asp Cys Ser Lys Leu Gly Lys Lys Cys Ile Tyr Gln Gln Leu Val
130 135 140

Arg Gly Arg Lys Ile Arg Arg Ser Ser Glu Glu His Leu Arg Gln Thr
145 150 155 160

Arg Ser Glu Thr Met Arg Asn Ser Val Lys Ser Ser Phe His Asp Pro
165 170 175

Lys Leu Lys Gly Lys Pro Ser Arg Glu Arg Tyr Val Thr His Asn Arg
180 185 190

10 Ala His Trp
195

<210> 18
<211> 21
<212> PRT
15 <213> Homo sapiens

<400> 18
Cys Ser Cys Ser Ser Leu Met Asp Lys Glu Cys Val Tyr Phe Cys His
1 5 10 15

Leu Asp Ile Ile Trp
20

20 <210> 19
<211> 45

ES 2 724 478 T3

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 19
 Arg Ser Ser Glu Glu His Leu Arg Gln Thr Arg Ser Glu Thr Met Arg
 1 5 10 15

Asn Ser Val Lys Ser Ser Phe His Asp Pro Lys Leu Lys Gly Lys Pro
 20 25 30

5 Ser Arg Glu Arg Tyr Val Thr His Asn Arg Ala His Trp
 35 40 45

<210> 20
 <211> 38
 <212> PRT
 10 <213> Homo sapiens

<400> 20
 Cys Ser Cys Ser Ser Leu Met Asp Lys Glu Cys Val Tyr Phe Cys His
 1 5 10 15

Leu Asp Ile Ile Trp Val Asn Thr Pro Glu His Val Val Pro Tyr Gly
 20 25 30

Leu Gly Ser Pro Arg Ser
 35

15 <210> 21
 <211> 141
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 21
 Met Gly Phe Gln Lys Phe Ser Pro Phe Leu Ala Leu Ser Ile Leu Val
 1 5 10 15

Leu Leu Gln Ala Gly Ser Leu His Ala Ala Pro Phe Arg Ser Ala Leu
 20 25 30

Glu Ser Ser Pro Ala Asp Pro Ala Thr Leu Ser Glu Asp Glu Ala Arg
 35 40 45

Leu Leu Leu Ala Ala Leu Val Gln Asp Tyr Val Gln Met Lys Ala Ser
 50 55 60

Glu Leu Glu Gln Glu Gln Glu Arg Glu Gly Ser Ser Leu Asp Ser Pro
 65 70 75 80

Arg Ser Lys Arg Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr
 85 90 95

Thr Gln Asp Phe Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly
 100 105 110

Val Gly Ala Pro Gly Lys Lys Arg Asp Met Ser Ser Asp Leu Glu Arg
 115 120 125

Asp His Arg Pro His Val Ser Met Pro Gln Asn Ala Asn
 130 135 140

25 <210> 22
 <211> 116
 <212> PRT

ES 2 724 478 T3

<213> Homo sapiens

<400> 22

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

5

<210> 23

<211> 57

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

<400> 23

Ala Pro Phe Arg Ser Ala Leu Glu Ser Ser Pro Ala Asp Pro Ala Thr
 1 5 10 15
 Leu Ser Glu Asp Glu Ala Arg Leu Leu Leu Ala Ala Leu Val Gln Asp
 20 25 30
 Tyr Val Gln Met Lys Ala Ser Glu Leu Glu Gln Glu Gln Glu Arg Glu
 35 40 45
 Gly Ser Ser Leu Asp Ser Pro Arg Ser
 50 55

15

<210> 24

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 24

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

25

<210> 25

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

ES 2 724 478 T3

Asp Met Ser Ser Asp Leu Glu Arg Asp His Arg Pro His Val Ser Met
 1 5 10 15

Pro Gln Asn Ala Asn
 20

<210> 26
 <211> 134
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 26
 Met Asp Pro Gln Thr Ala Pro Ser Arg Ala Leu Leu Leu Leu Leu Phe
 1 5 10 15

Leu His Leu Ala Phe Leu Gly Gly Arg Ser His Pro Leu Gly Ser Pro
 20 25 30

Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser Gly Leu Gln Glu Gln Arg Asn
 35 40 45

His Leu Gln Gly Lys Leu Ser Glu Leu Gln Val Glu Gln Thr Ser Leu
 50 55 60

Glu Pro Leu Gln Glu Ser Pro Arg Pro Thr Gly Val Trp Lys Ser Arg
 65 70 75 80

10

Glu Val Ala Thr Glu Gly Ile Arg Gly His Arg Lys Met Val Leu Tyr
 85 90 95

Thr Leu Arg Ala Pro Arg Ser Pro Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys
 100 105 110

Phe Gly Arg Lys Met Asp Arg Ile Ser Ser Ser Ser Gly Leu Gly Cys
 115 120 125

Lys Val Leu Arg Arg His
 130

<210> 27
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 27

ES 2 724 478 T3

His Pro Leu Gly Ser Pro Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser Gly
1 5 10 15

Leu Gln Glu Gln Arg Asn His Leu Gln Gly Lys Leu Ser Glu Leu Gln
20 25 30

Val Glu Gln Thr Ser Leu Glu Pro Leu Gln Glu Ser Pro Arg Pro Thr
35 40 45

Gly Val Trp Lys Ser Arg Glu Val Ala Thr Glu Gly Ile Arg Gly His
50 55 60

Arg Lys Met Val Leu Tyr Thr Leu Arg Ala Pro Arg Ser Pro Lys Met
65 70 75 80

Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp Arg Ile Ser Ser
85 90 95

Ser Ser Gly Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His
100 105

<210> 28
<211> 76
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28
His Pro Leu Gly Ser Pro Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser Gly
1 5 10 15

Leu Gln Glu Gln Arg Asn His Leu Gln Gly Lys Leu Ser Glu Leu Gln
20 25 30

10 Val Glu Gln Thr Ser Leu Glu Pro Leu Gln Glu Ser Pro Arg Pro Thr
35 40 45

Gly Val Trp Lys Ser Arg Glu Val Ala Thr Glu Gly Ile Arg Gly His
50 55 60

Arg Lys Met Val Leu Tyr Thr Leu Arg Ala Pro Arg
65 70 75

15 <210> 29
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29
Ser Pro Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp
1 5 10 15

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

REIVINDICACIONES

1. Método *in vitro* para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo de un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio, en el que el riesgo se selecciona de entre el grupo que comprende muerte en tres meses, repetición de accidente cerebrovascular en tres meses, repetición de AIT en tres meses, y en el que el desenlace se define según la escala de clasificación modificada en tres meses, el índice de Barthel en tres meses o la National Institute of Health Stroke Scale en tres meses o el desenlace funcional se expresa en términos de la necesidad de cuidados de enfermería o con respecto a las actividades de la vida diaria que comprende las etapas siguientes:
- a. determinar el nivel de por lo menos dos péptidos cardiovasculares en una muestra de dicho paciente, seleccionándose dichos péptidos cardiovasculares de entre el grupo que comprende ANP, AVP, ADM, ET-1, calcitonina, y hGH o fragmentos de los mismos o su precursor o fragmentos del mismo, en el que el conjunto de dichos por lo menos dos péptidos marcadores se selecciona de entre el grupo que comprende las combinaciones siguientes de péptidos cardiovasculares: ANP y AVP, ANP y ADM, ANP y ET-1, ANP y calcitonina, ANP y hGH, ADM y ET-1, ADM y calcitonina, ADM y hGH, ET-1 y calcitonina, ET-1 y hGH, y calcitonina y hGH,
 - b. correlacionar el nivel de dichos por lo menos dos péptidos marcadores, o fragmentos de los mismos o su precursor o fragmentos del mismo con el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo para dicho paciente.
2. Método según la reivindicación 1, en el que dichos por lo menos dos péptidos cardiovasculares se seleccionan de entre el grupo que comprende MR-proANP, CT-proAVP, MR-proADM, CT-proET-1, PCT y hGH.
3. Método según la reivindicación 1, en el que dicha muestra es una muestra previa a la intervención.
4. Método para la estratificación de un paciente en grupos de riesgo, habiendo sufrido dicho paciente un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio y comprendiendo dicho método las etapas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
5. Método para la estratificación de un paciente según la reivindicación 4, en el que el nivel de dichos por lo menos dos péptidos cardiovasculares se atribuye a un accidente cerebrovascular isquémico o un accidente cerebrovascular hemorrágico o un accidente isquémico transitorio.
6. Método según la reivindicación 1, en el que cada péptido cardiovascular se selecciona de entre un subconjunto diferente de péptidos marcadores seleccionados de entre el grupo que comprende péptidos cardiovasculares, péptidos endoteliales, péptidos hipofisarios y péptidos inflamatorios, en el que el péptido cardíaco es ANP, los péptidos endoteliales se seleccionan de entre el grupo que comprende ET-1 y ADM, los péptidos hipofisarios se seleccionan de entre el grupo que comprende AVP y hGH y el péptido inflamatorio es la calcitonina.
7. Método según las reivindicaciones 1 a 6, en el que la determinación se realiza utilizando un análisis de múltiples variables que considera además covariables seleccionadas de entre el grupo que comprende NIHSS, el índice de Barthel y la escala de clasificación modificada.
8. Utilización *in vitro* de un kit para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo de un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio, comprendiendo el kit una combinación de por lo menos dos sondas de captura dirigidas contra péptidos marcadores o fragmentos de los mismos o precursores o fragmentos de los mismos, seleccionándose la combinación de entre el grupo que comprende MR-proANP y MR-proADM, MR-proANP y CT-proET-1, MR-proADM y CT-proET-1, MR-proANP y hGH, hGH y MR-proADM, hGH y CT-proET-1, MR-proANP y PCT, MR-proADM y PCT, CT-proAVP y PCT, CT-proET-1 y PCT, hGH y PCT y en la que dichas sondas de captura son anticuerpos o fragmentos funcionales de los mismos.
9. Utilización del kit como se define en la reivindicación 8 para el pronóstico de un desenlace o la evaluación del riesgo de un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio, en la que el riesgo se selecciona de entre el grupo que comprende muerte en tres meses, repetición del accidente cerebrovascular en tres meses, repetición de AIT en tres meses, escala de clasificación modificada en tres meses.
10. Utilización del método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o utilización del kit como se define en la reivindicación 8 para controlar la terapia en un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio.

11. Utilización del método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o utilización del kit como se define en la reivindicación 8 para diferenciar el accidente cerebrovascular isquémico del accidente cerebrovascular hemorrágico o para diferenciar el accidente cerebrovascular isquémico y/o hemorrágico del accidente isquémico transitorio.

5

12. Utilización del método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o utilización del kit como se define en la reivindicación 8 para determinar si dicho paciente está sufriendo un accidente cerebrovascular o un accidente isquémico transitorio basándose en el nivel de dichos por lo menos dos péptidos cardiovasculares.

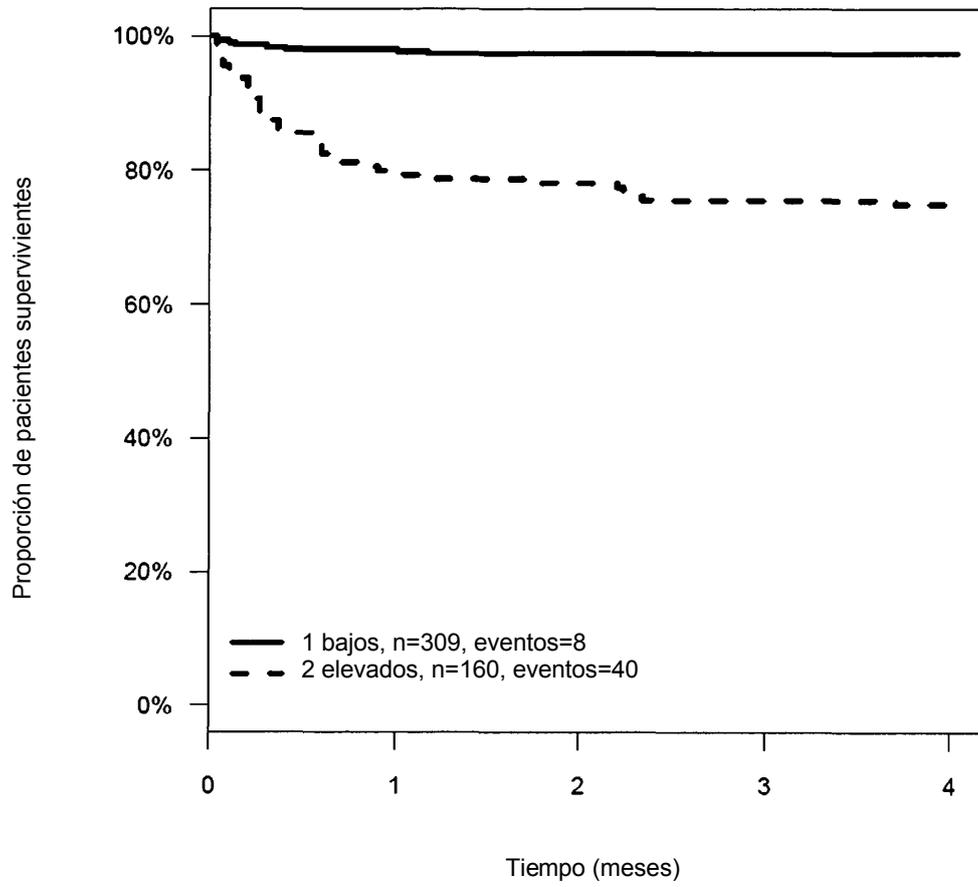


FIG. 1

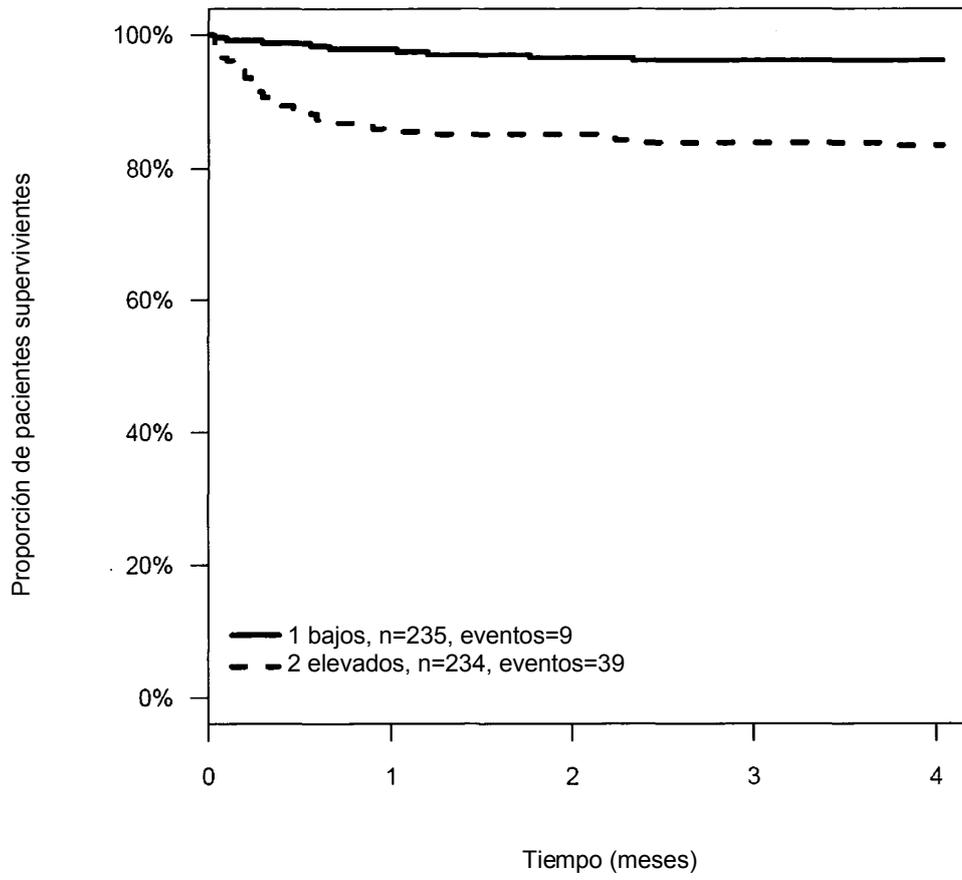


FIG. 2

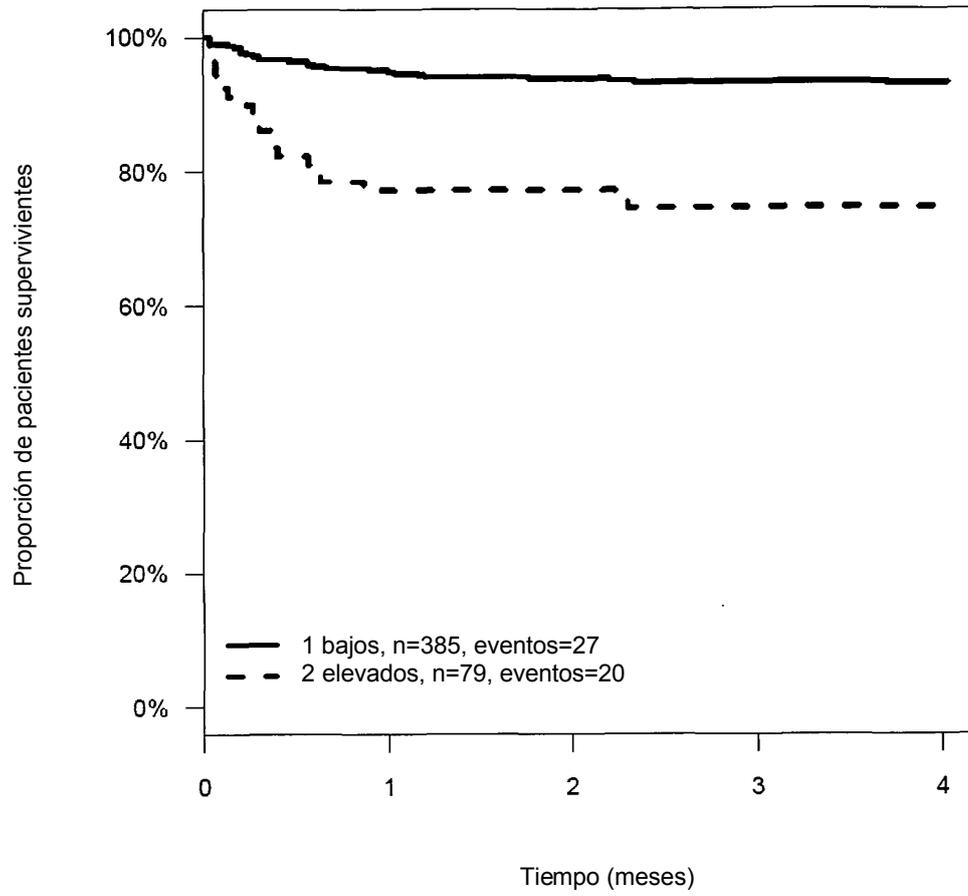


FIG. 3

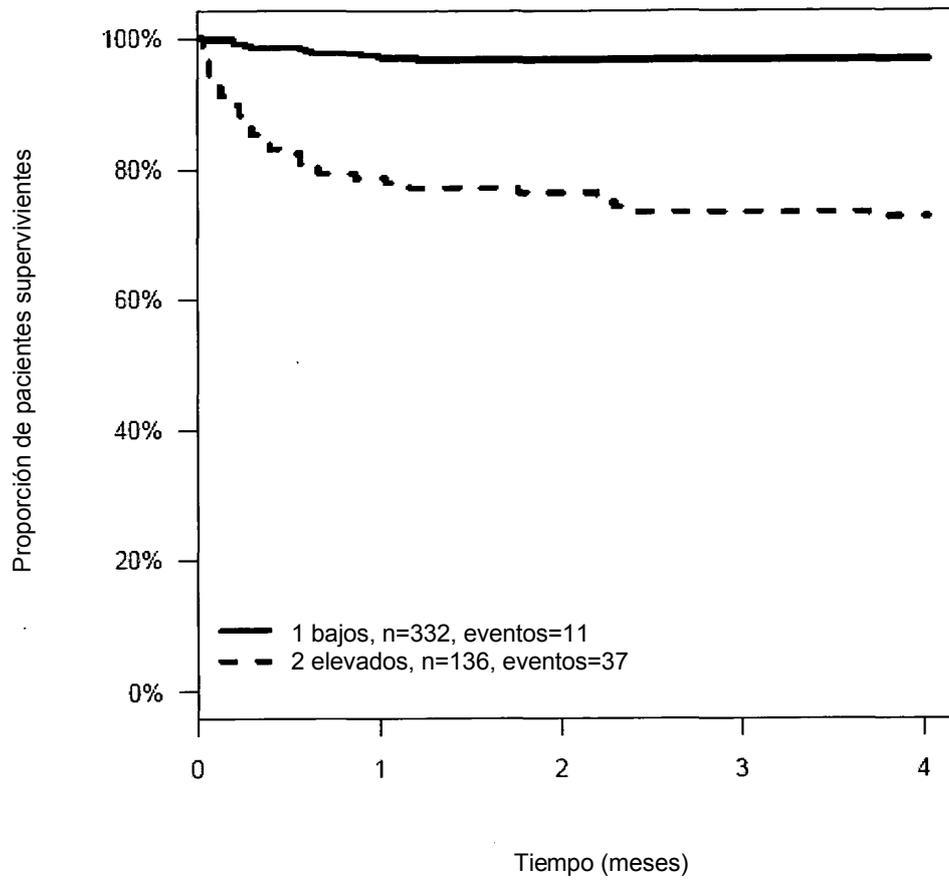


FIG. 4

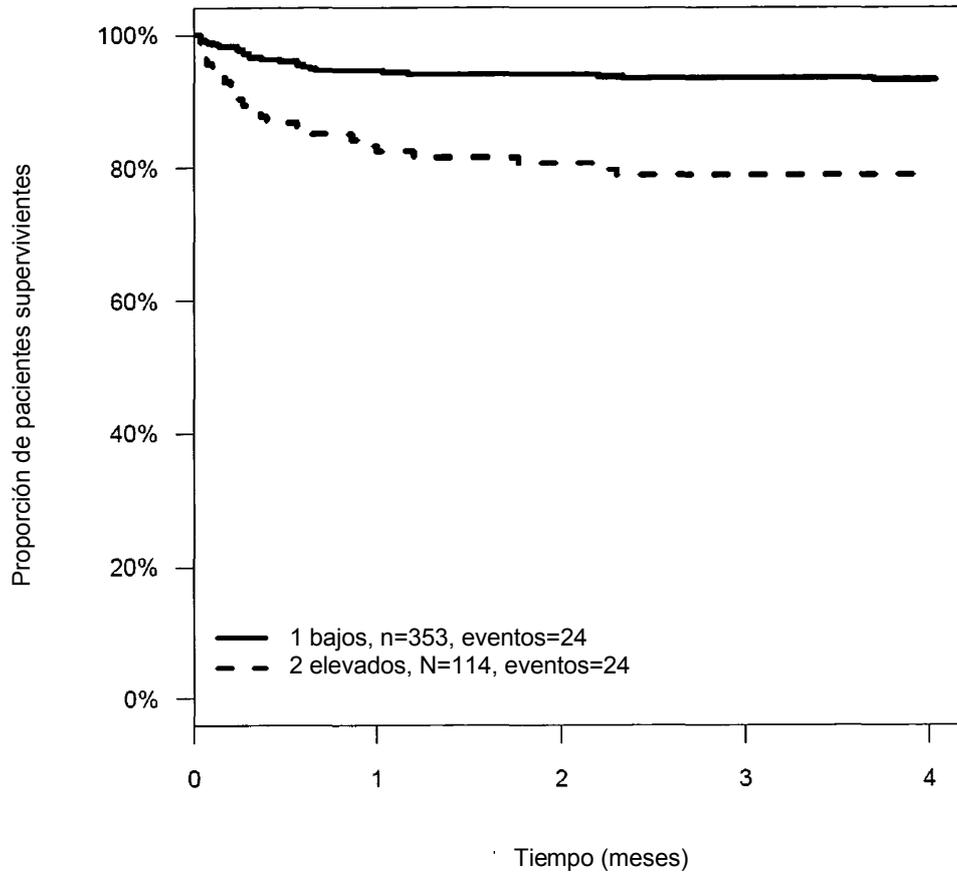


FIG. 5

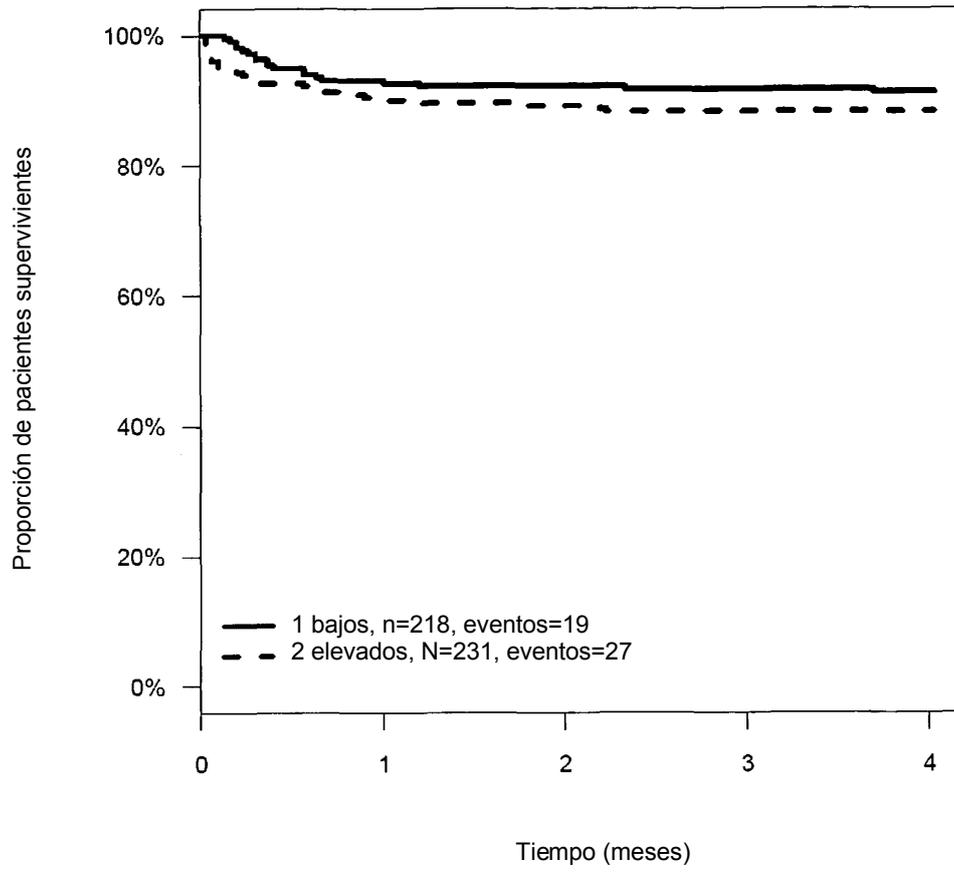


FIG. 6

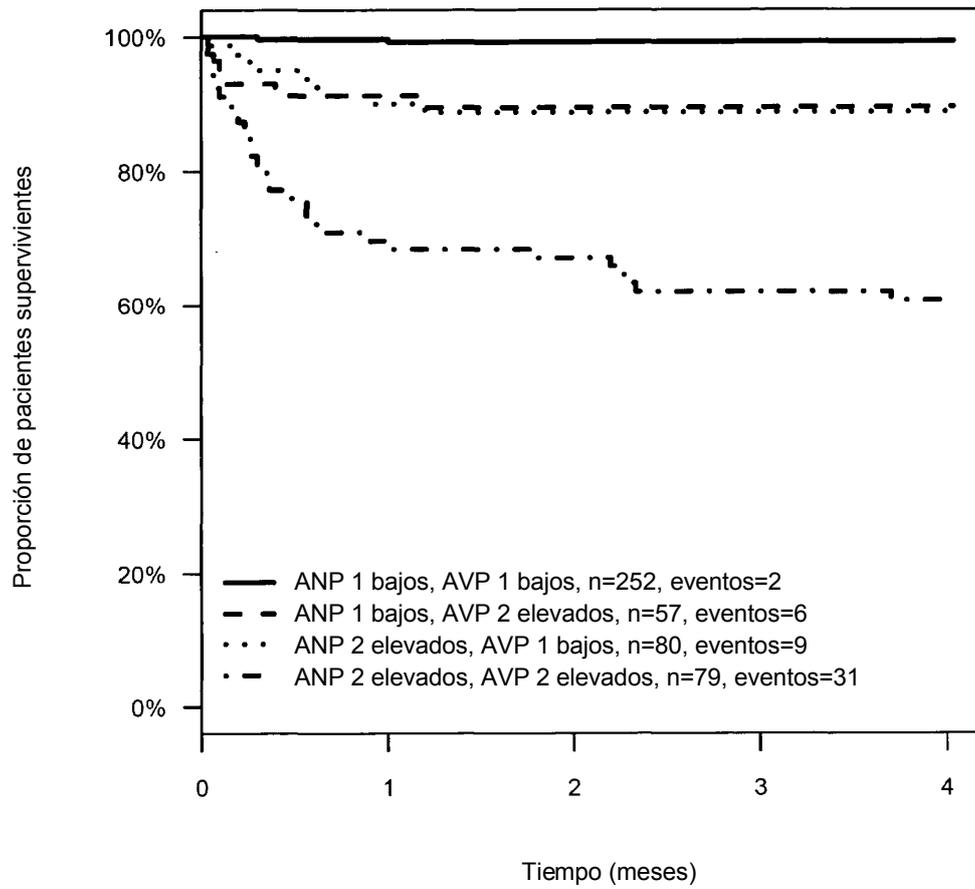


FIG. 7

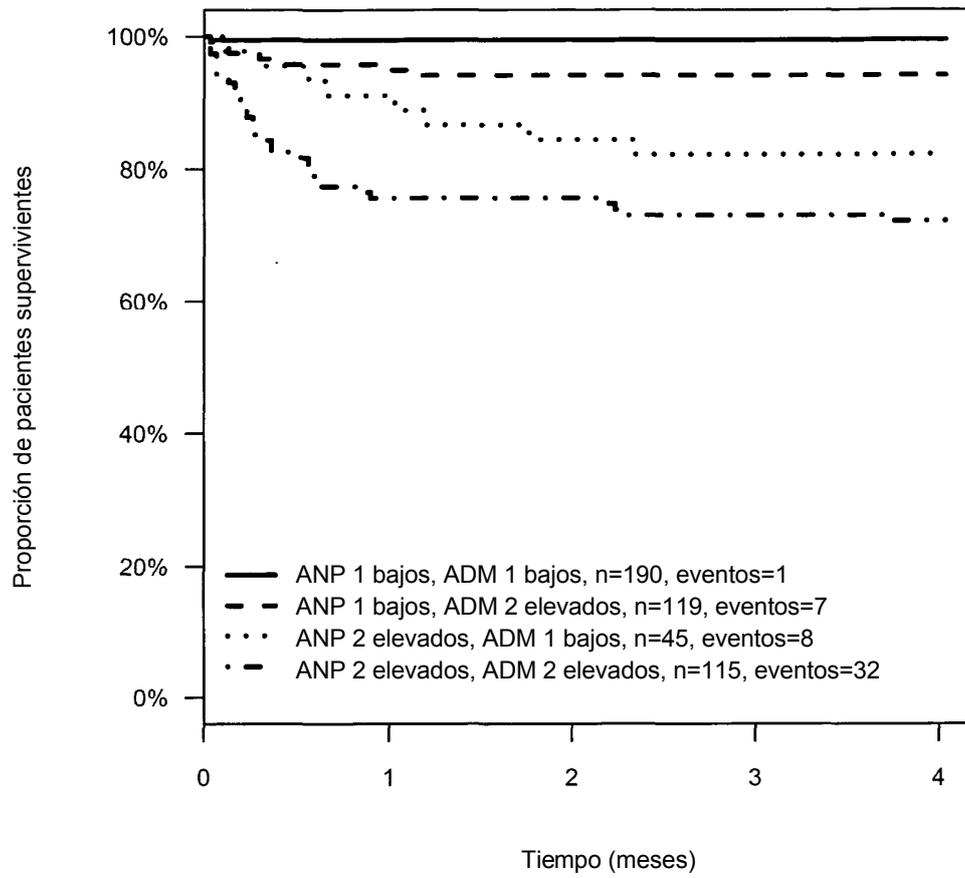


FIG. 8

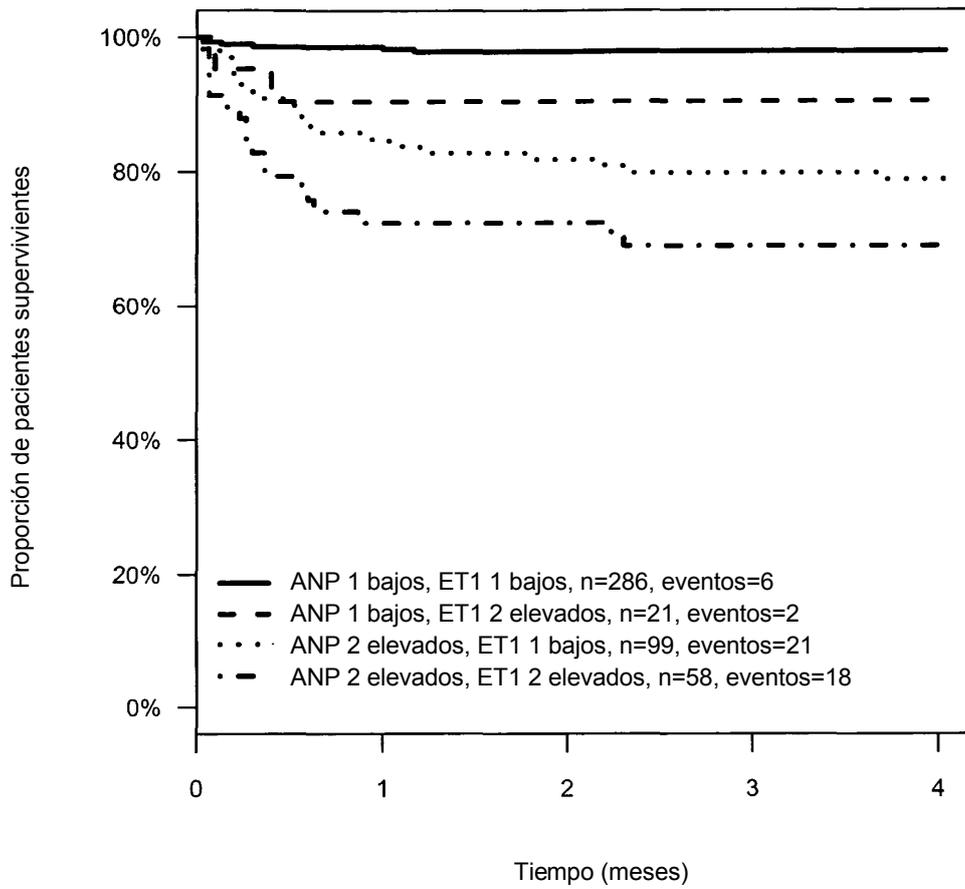


FIG. 9

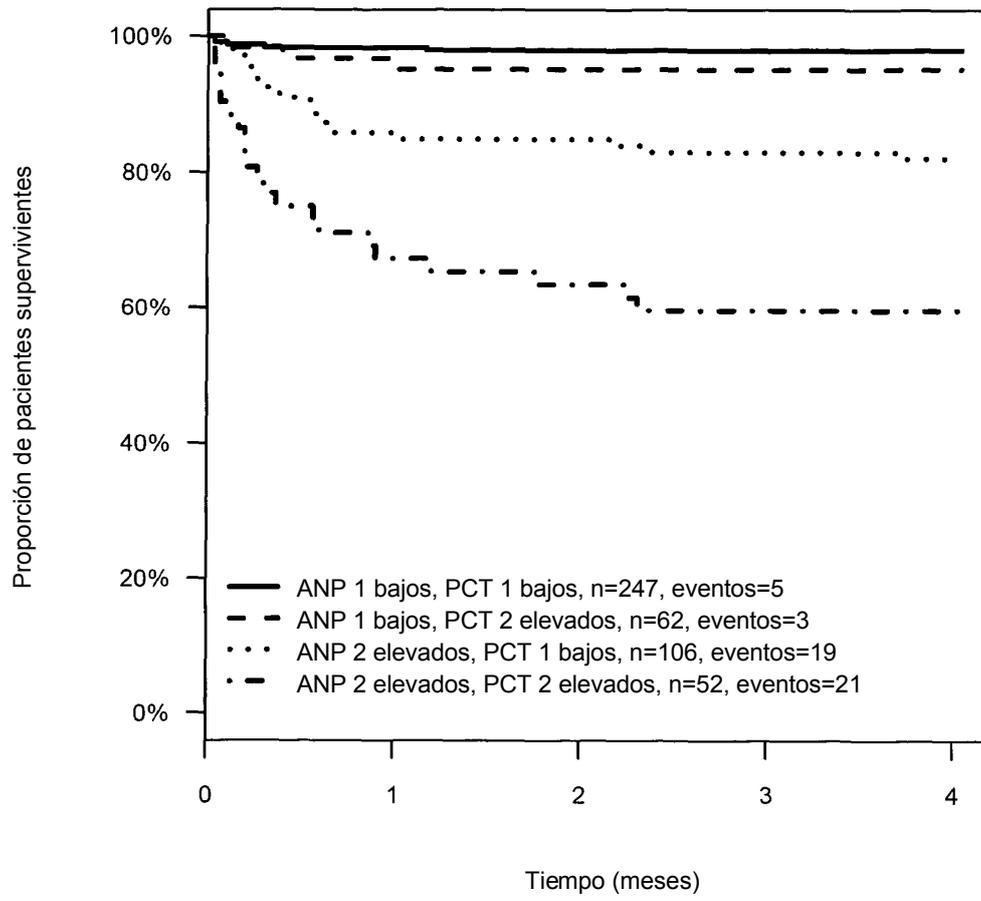


FIG. 10

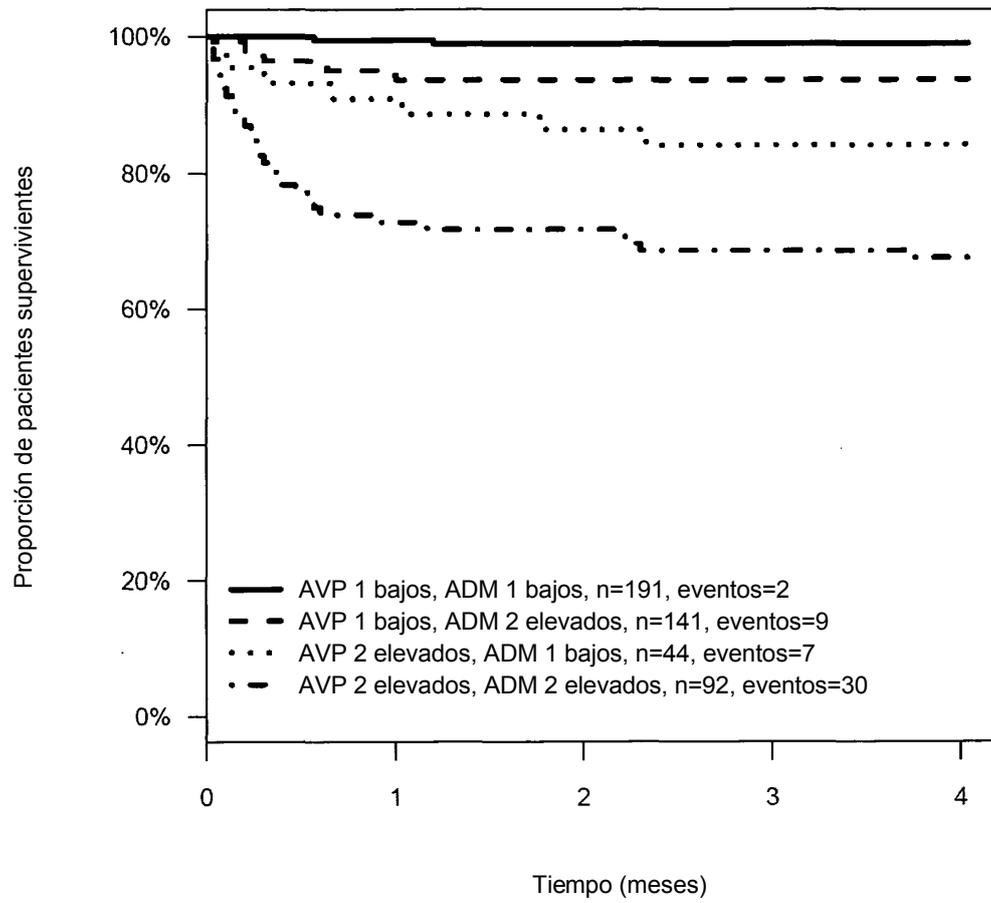


FIG. 11

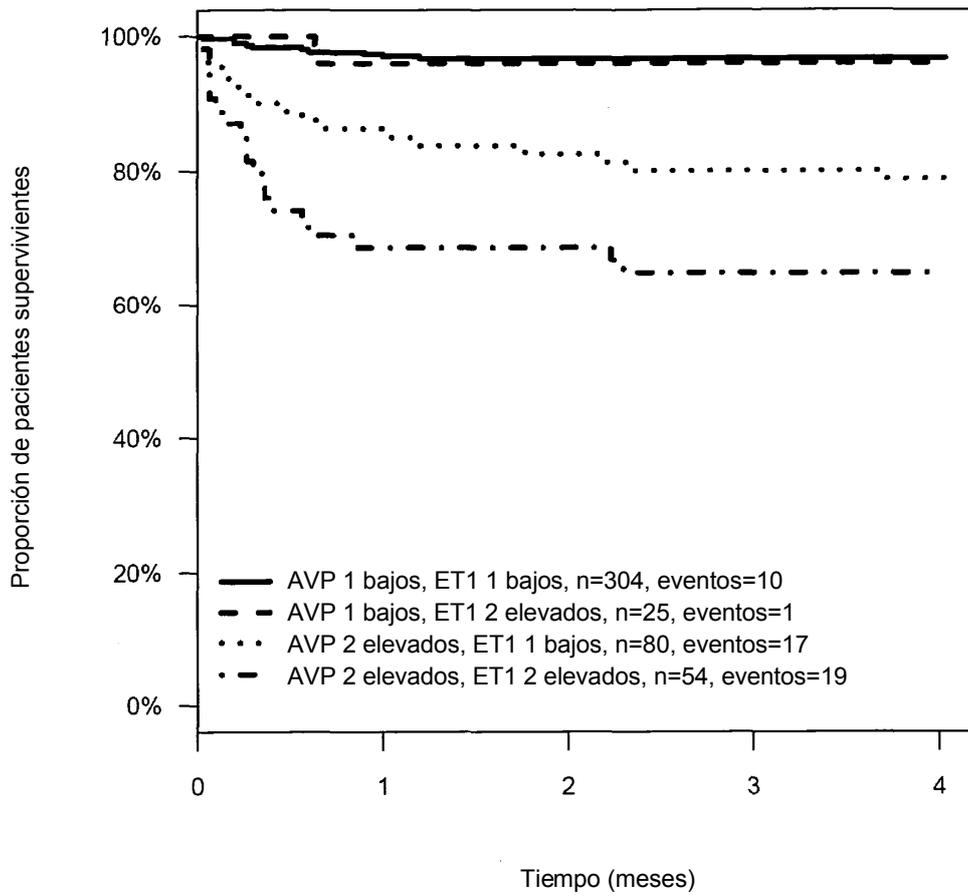


FIG. 12

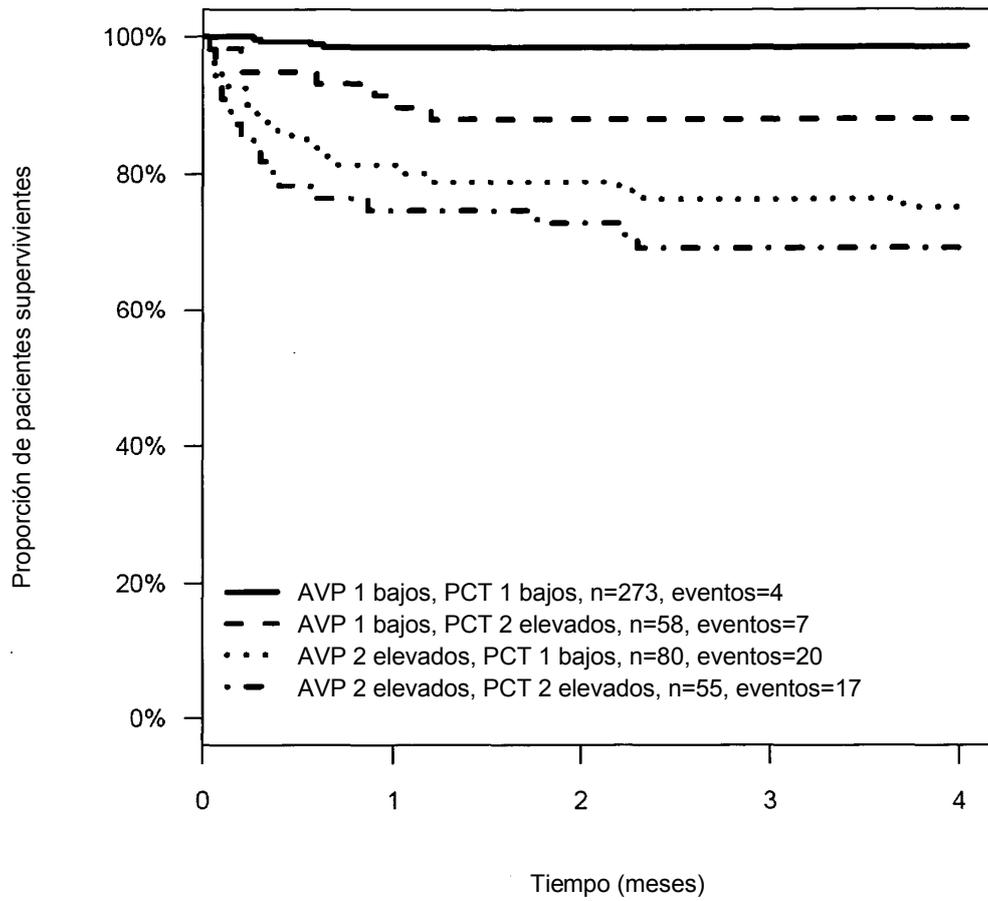


FIG. 13

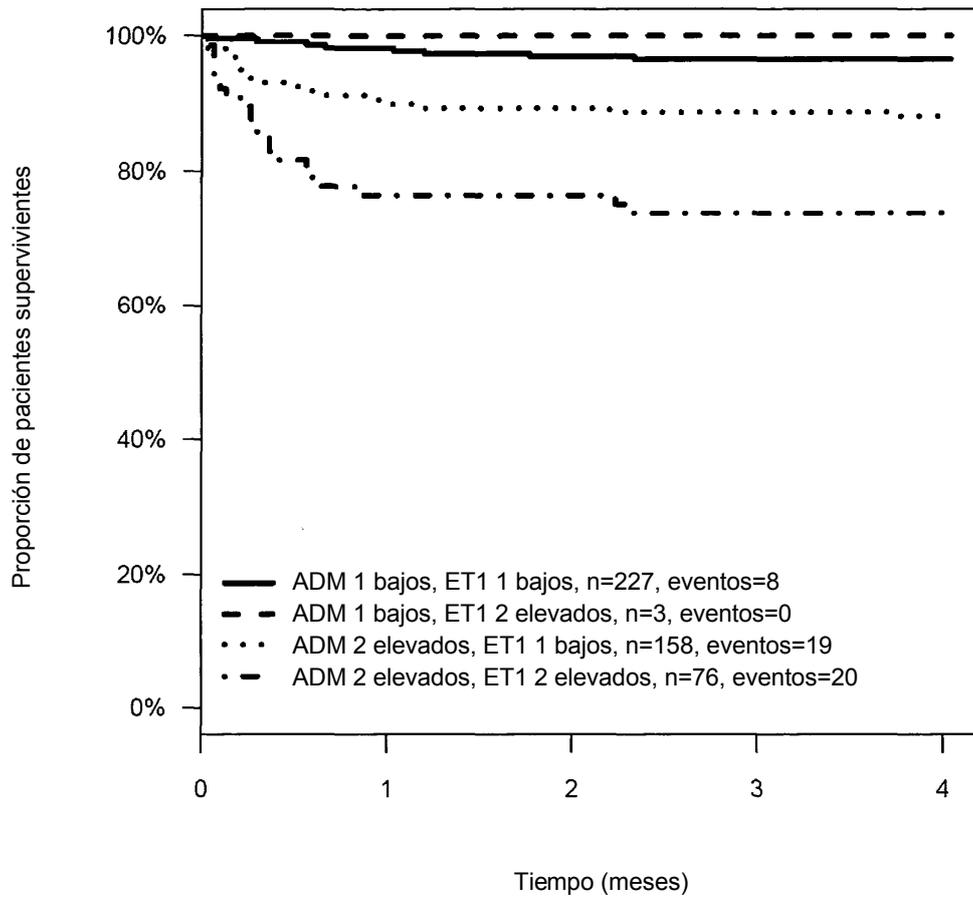


FIG. 14

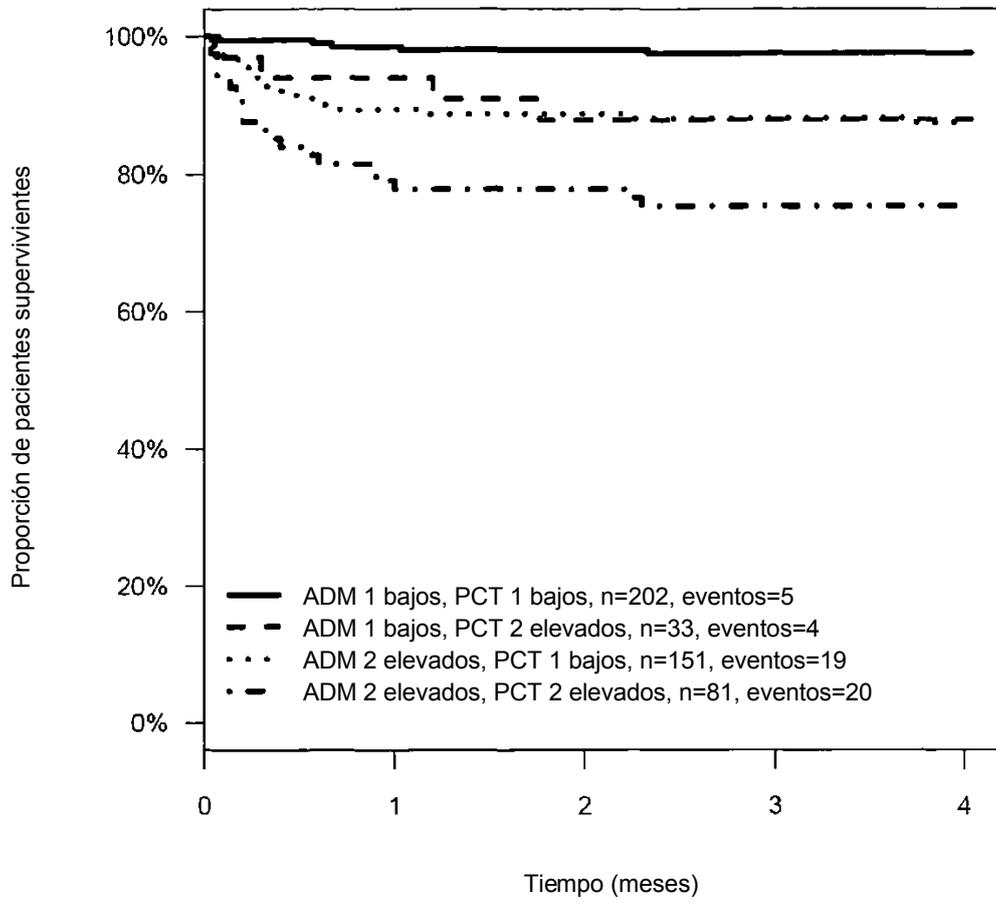


FIG. 15

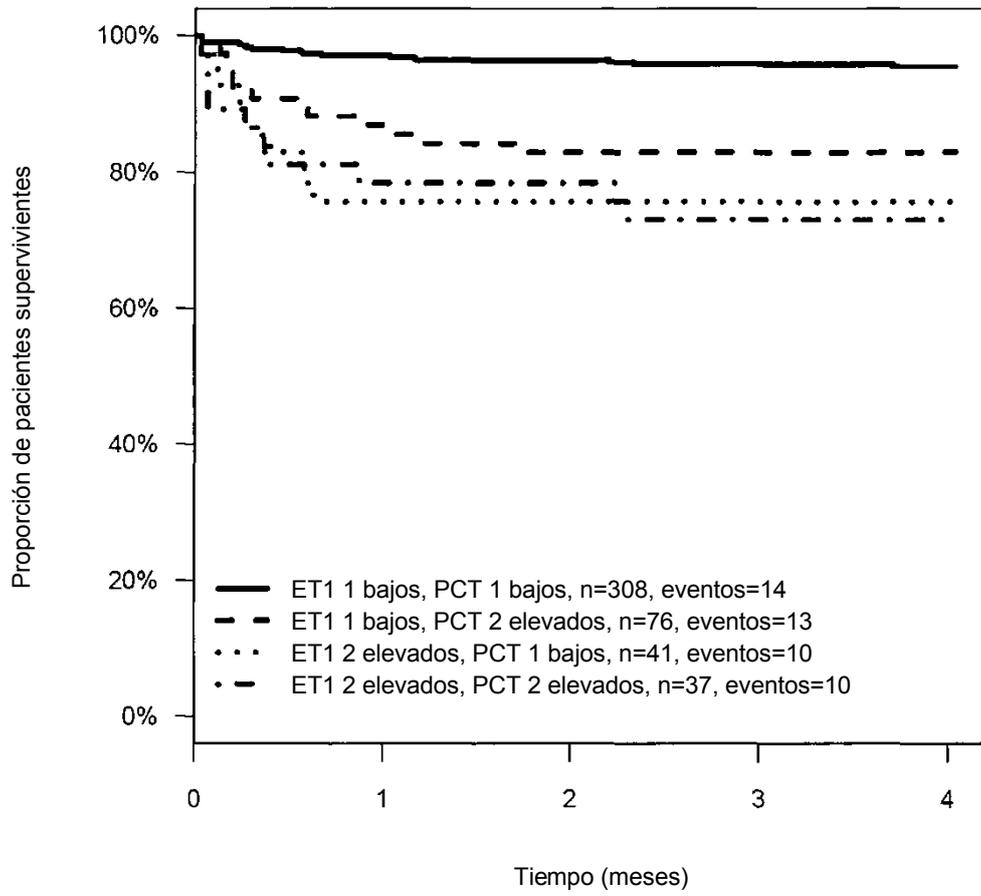


FIG. 16

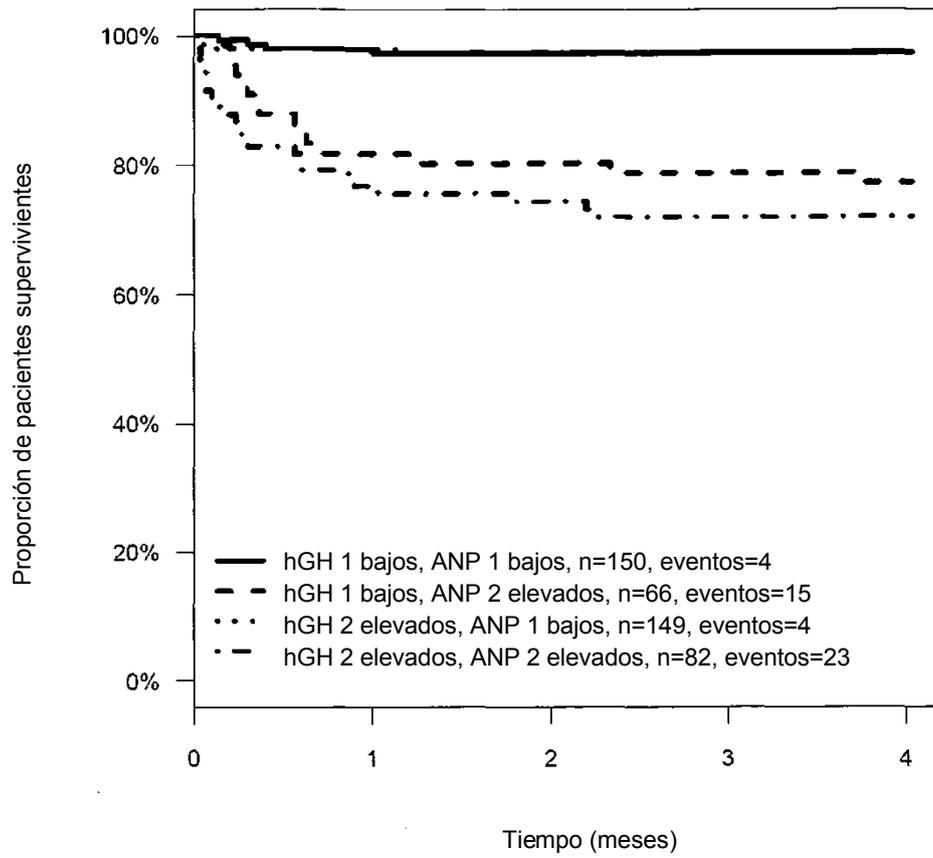


FIG. 17

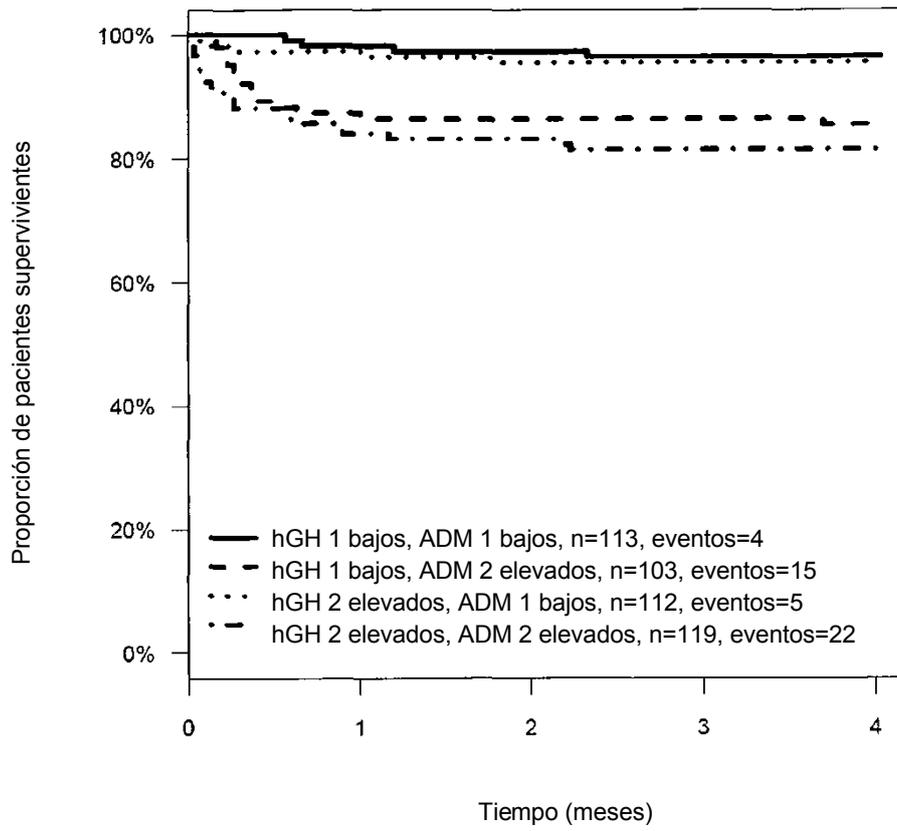


FIG. 18

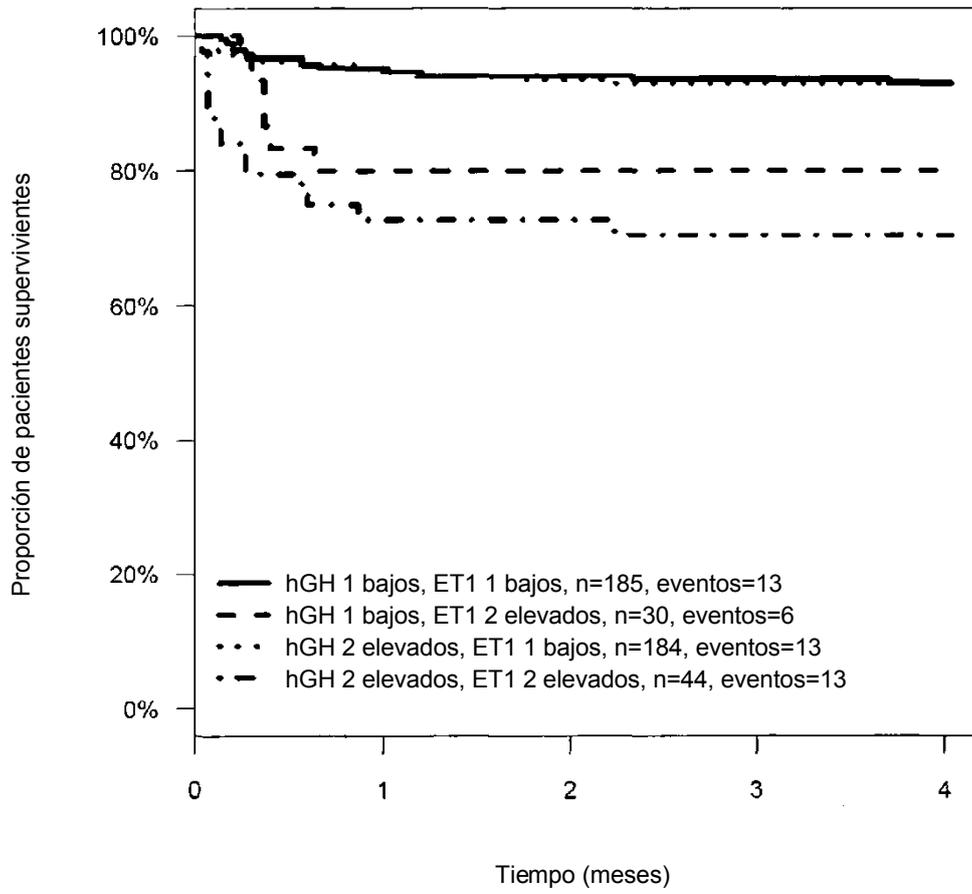


FIG. 19

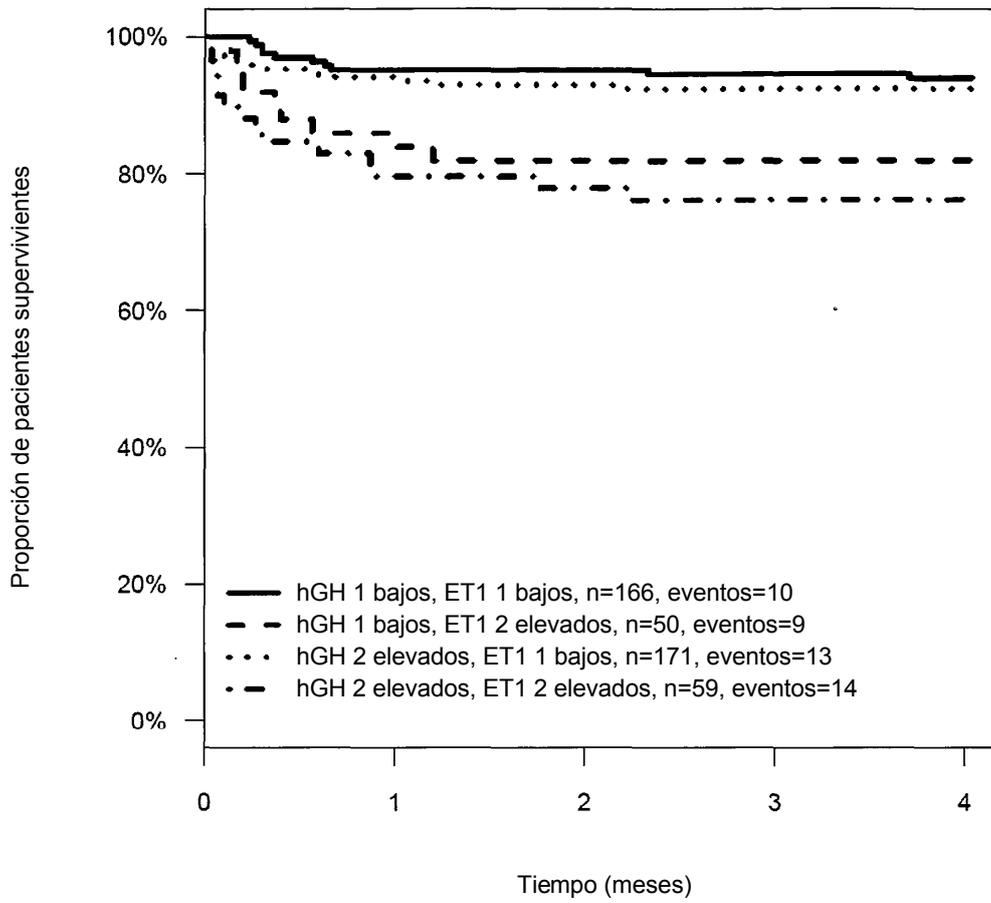


FIG. 20

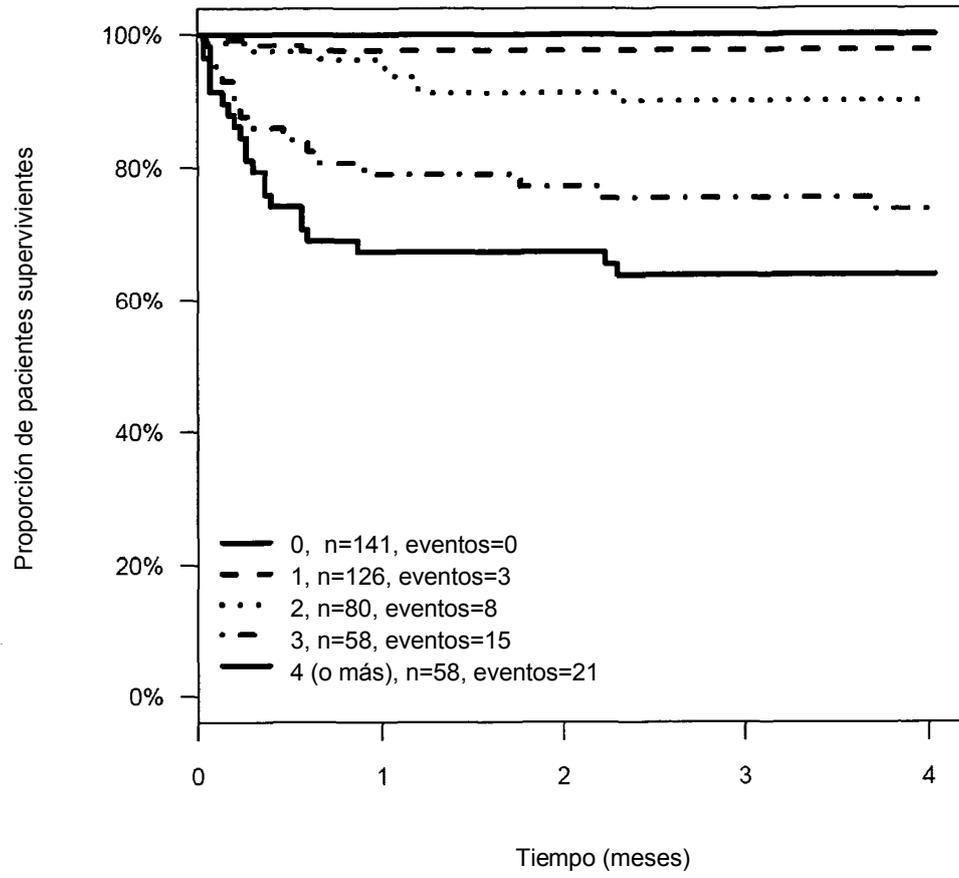


FIG. 21

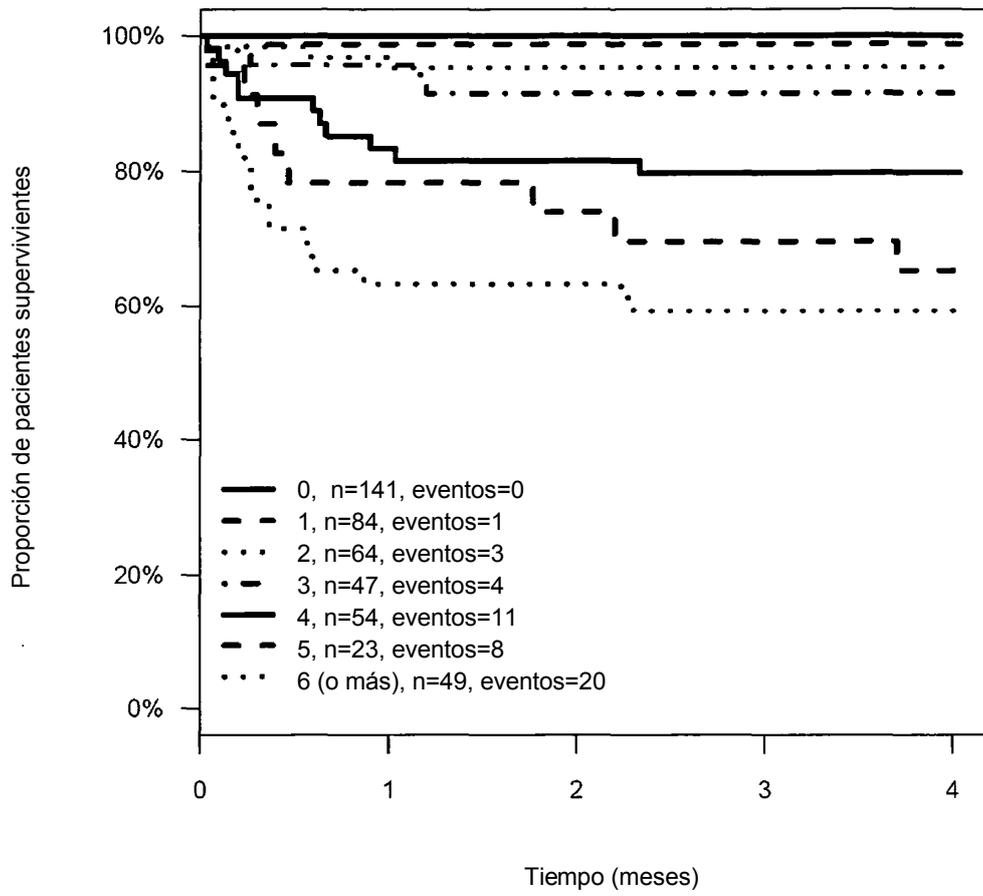


FIG. 22

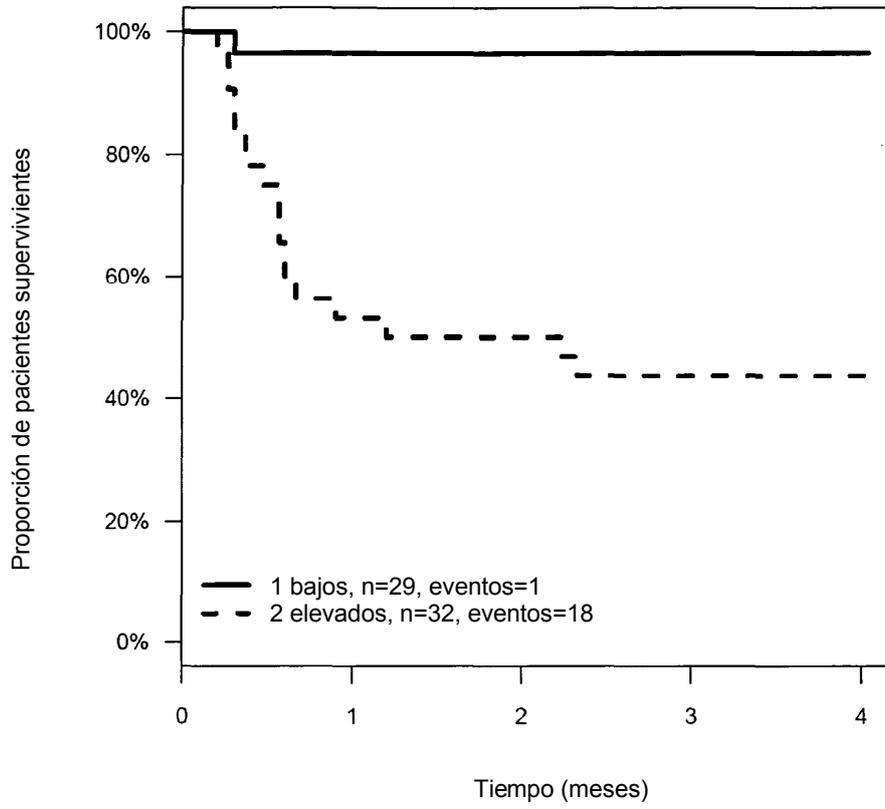


FIG. 23

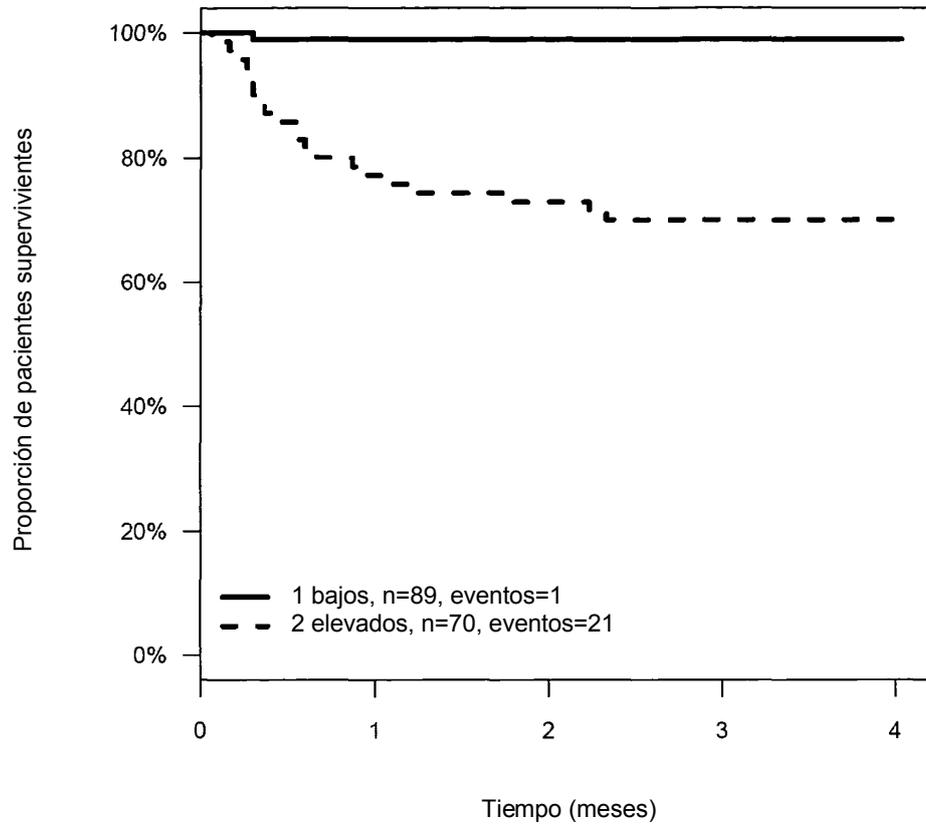


FIG. 24

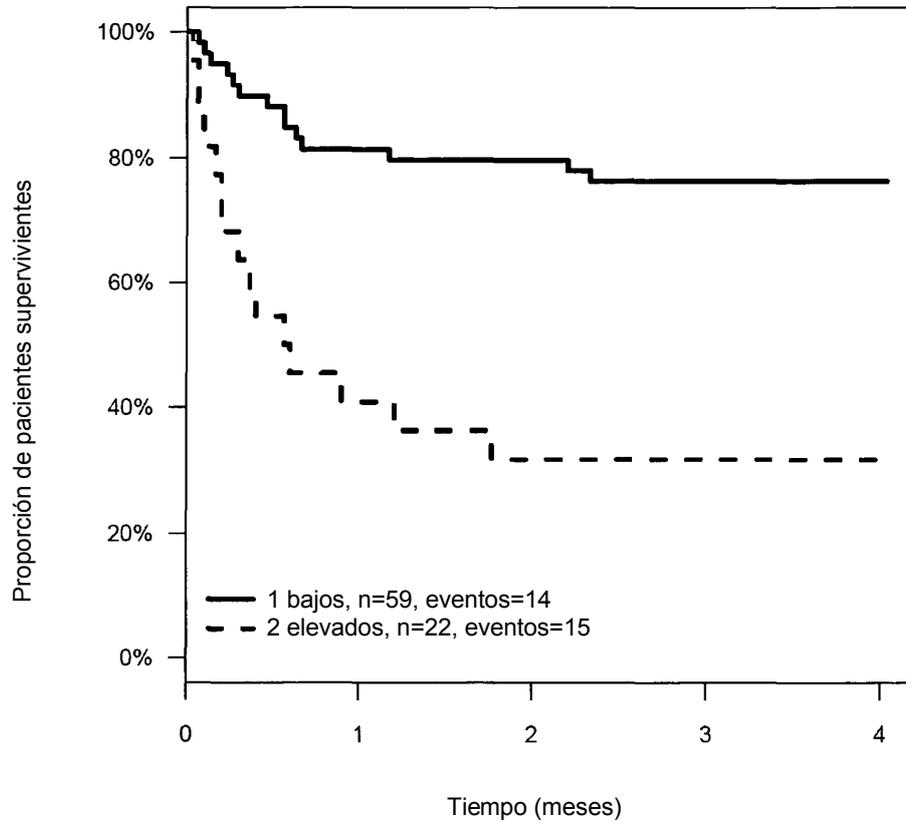


FIG. 25

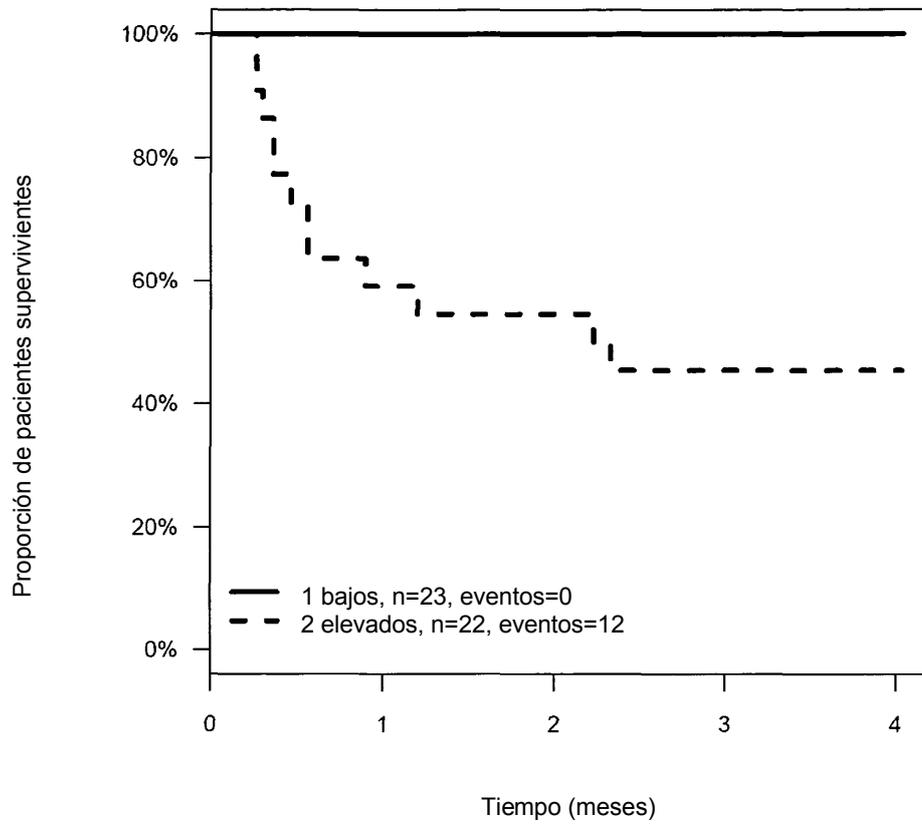


FIG. 26

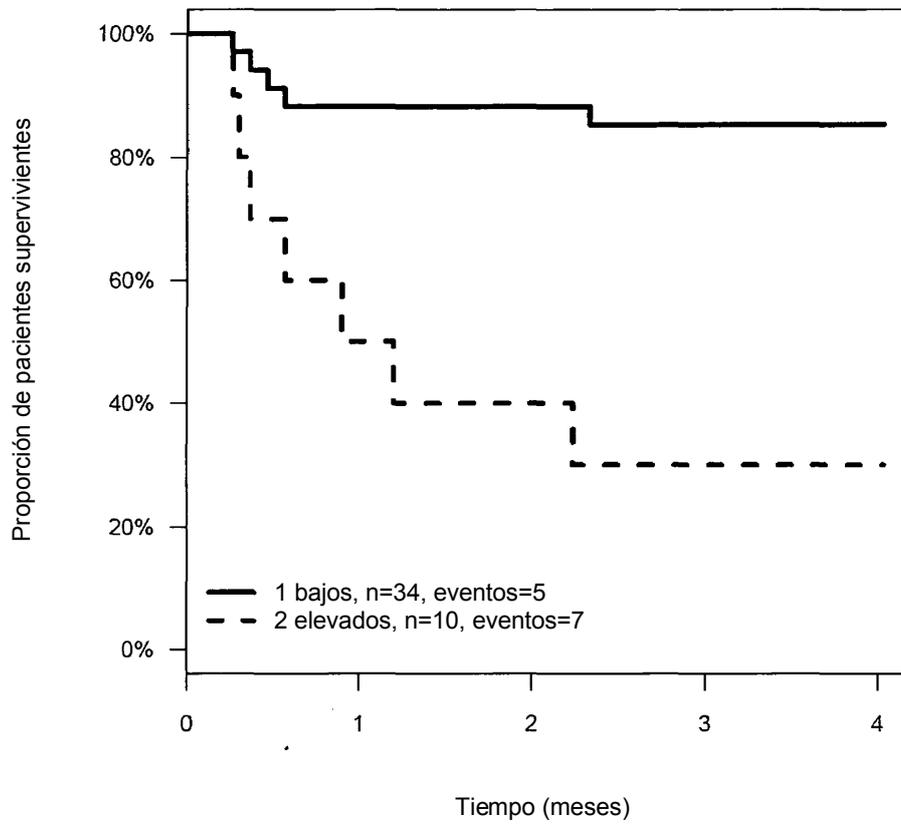


FIG. 27

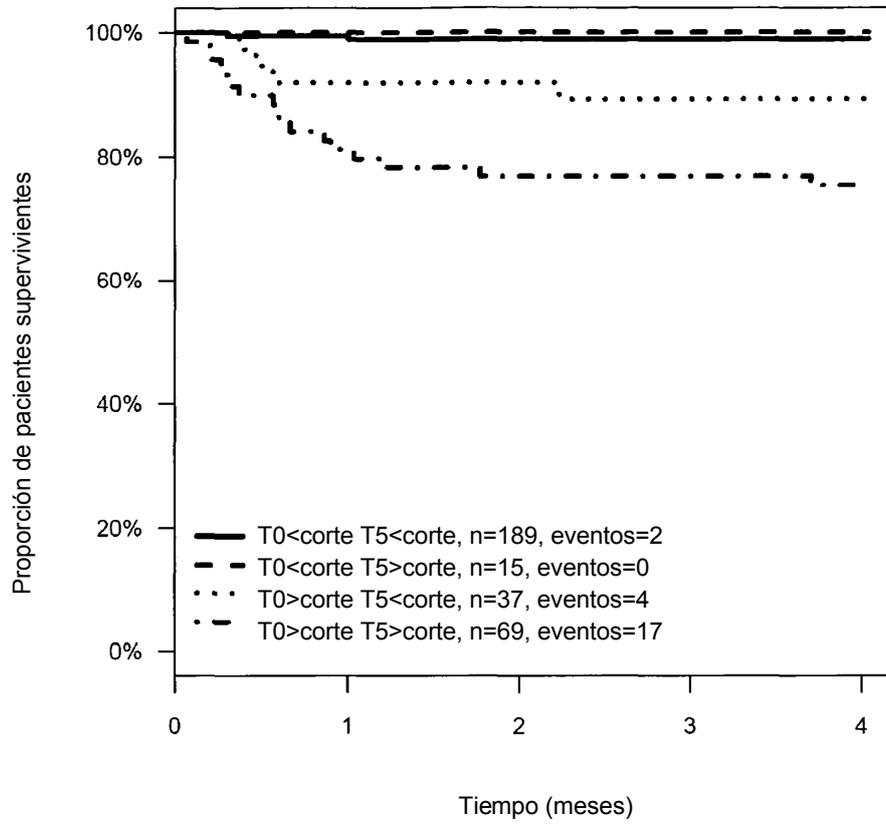


FIG. 28

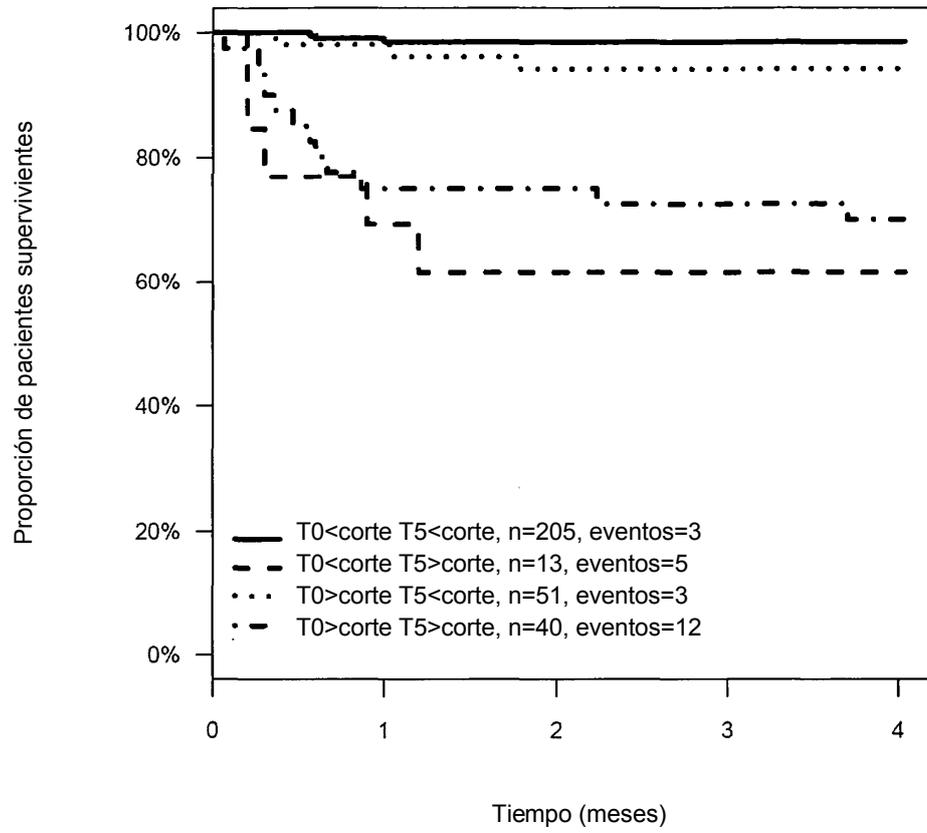


FIG. 29

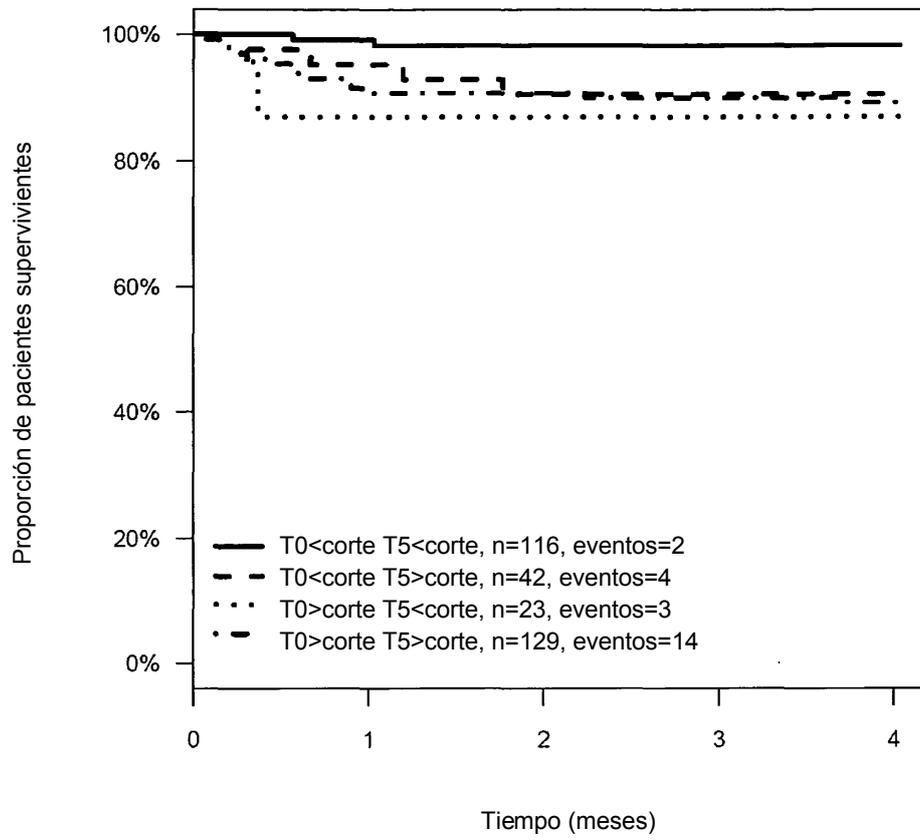


FIG. 30

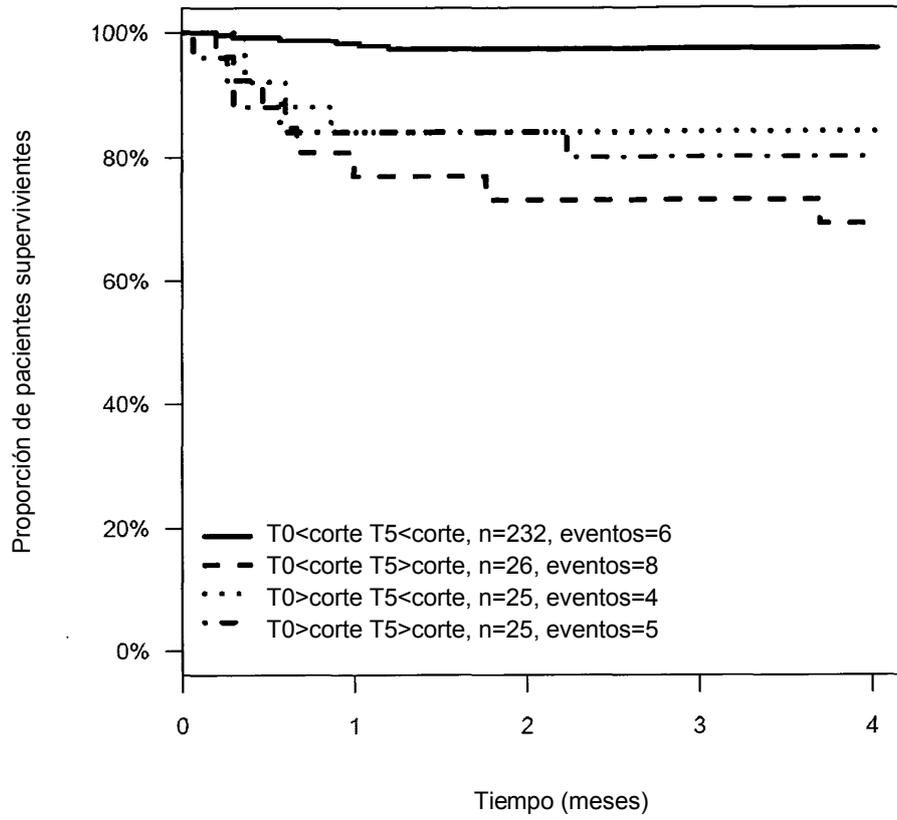


FIG. 31

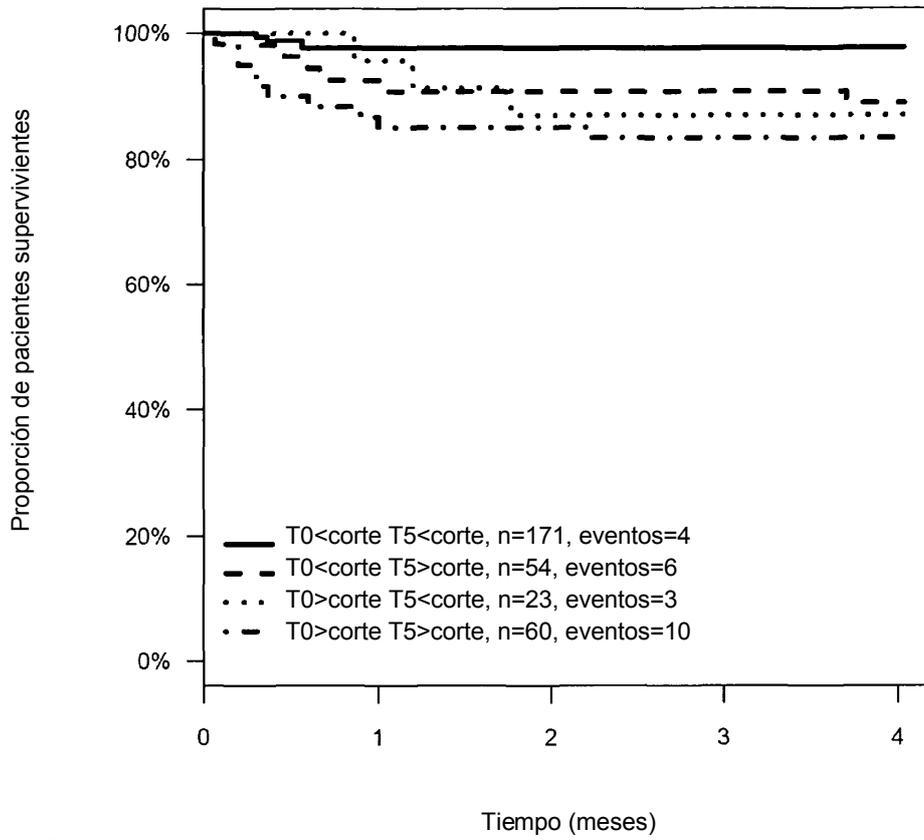


FIG. 32

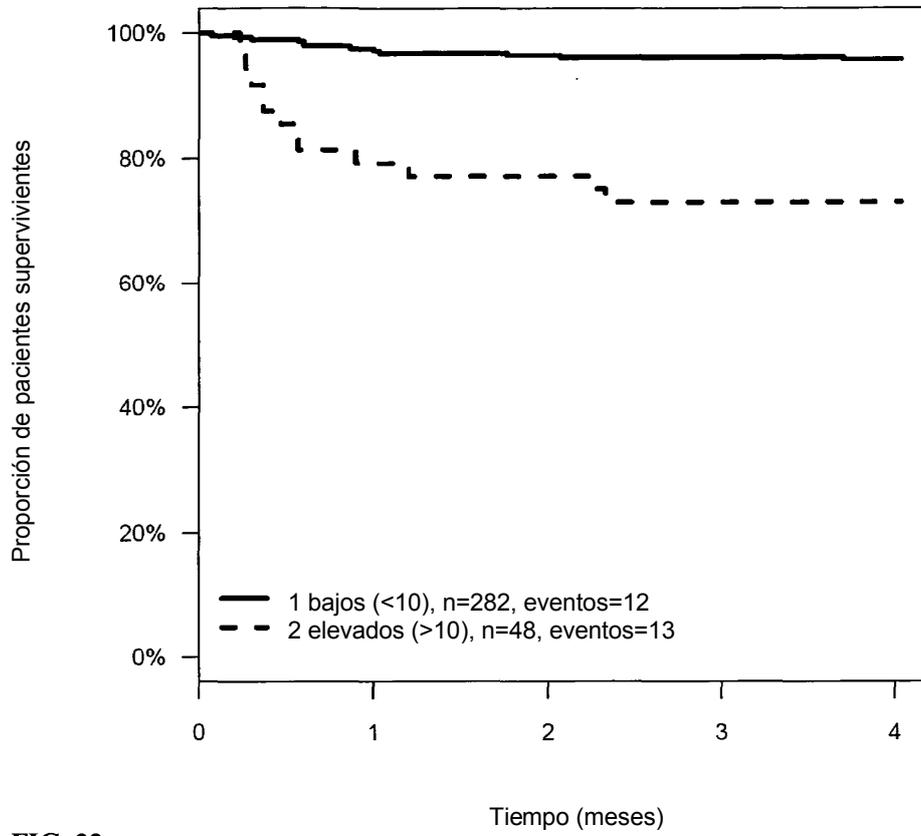


FIG. 33

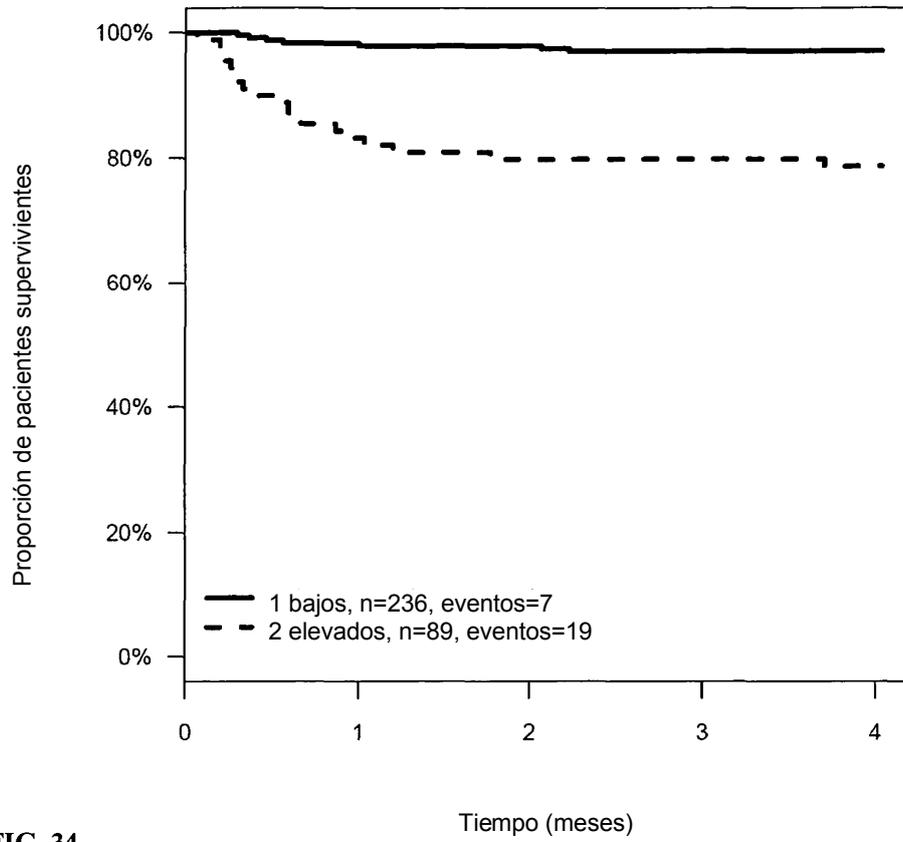


FIG. 34

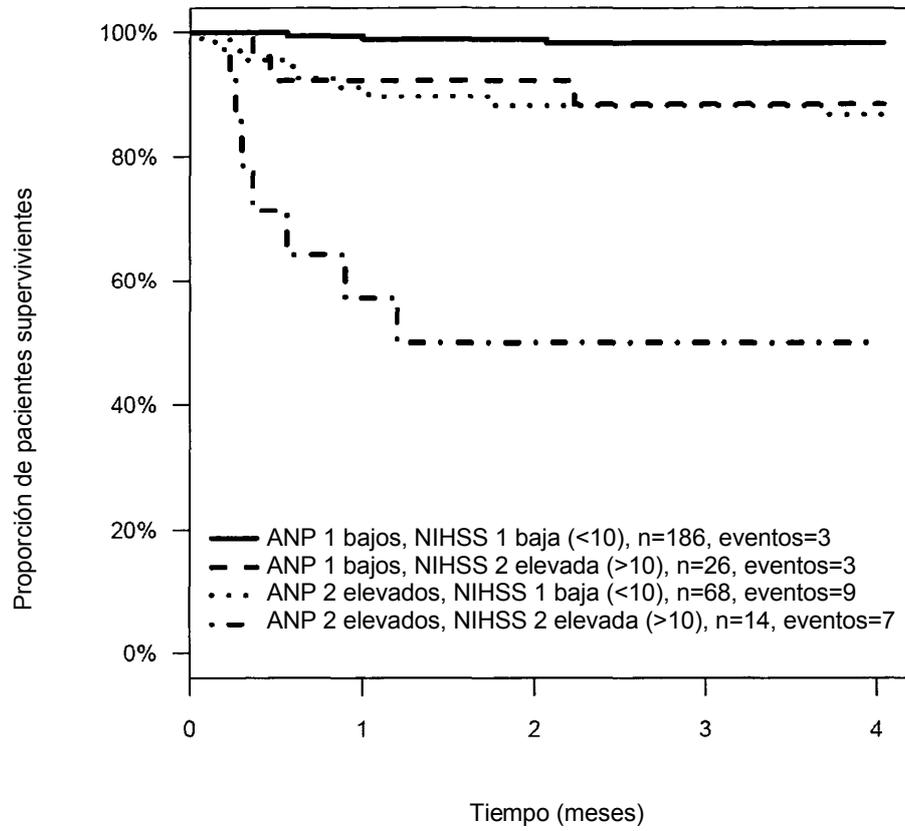


FIG. 35

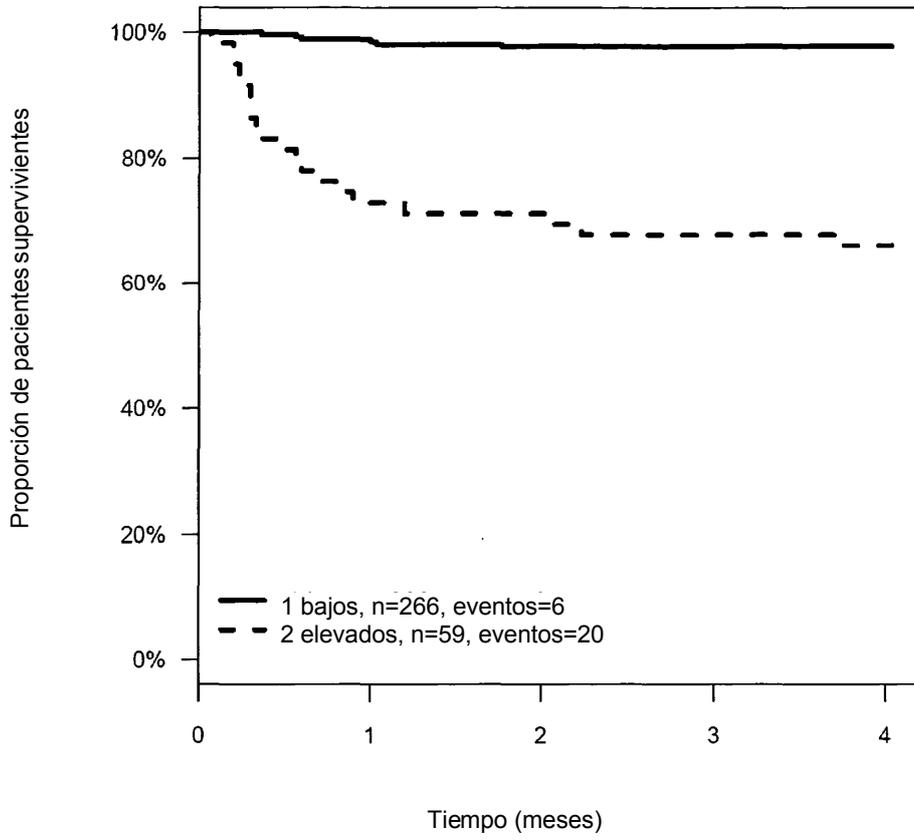


FIG. 36

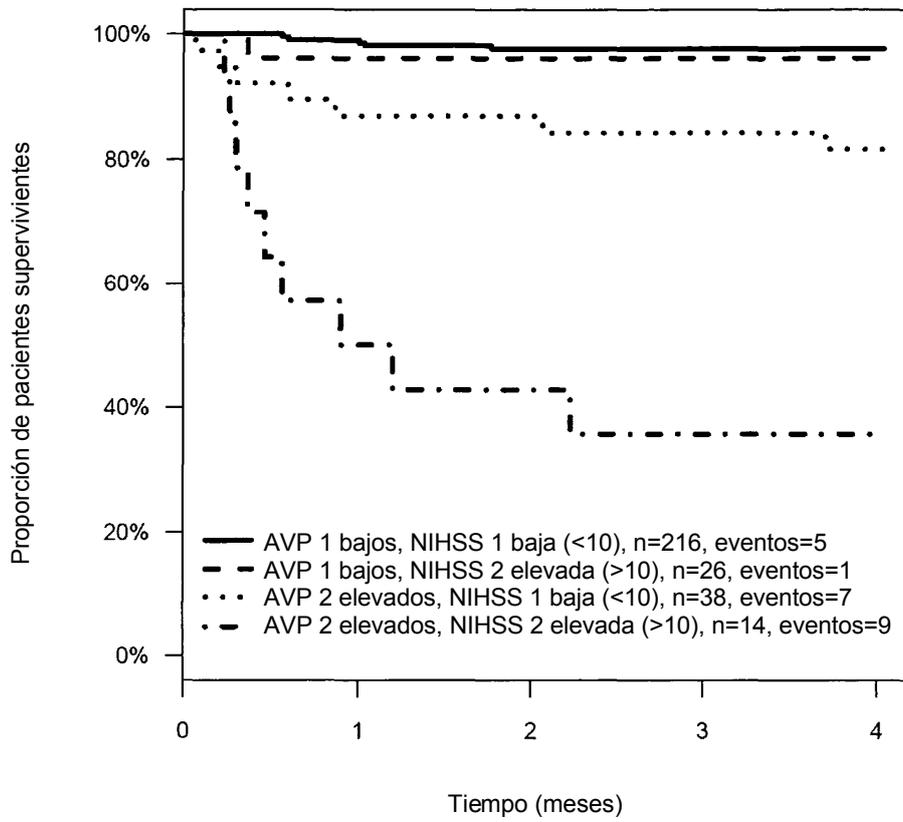


FIG. 37

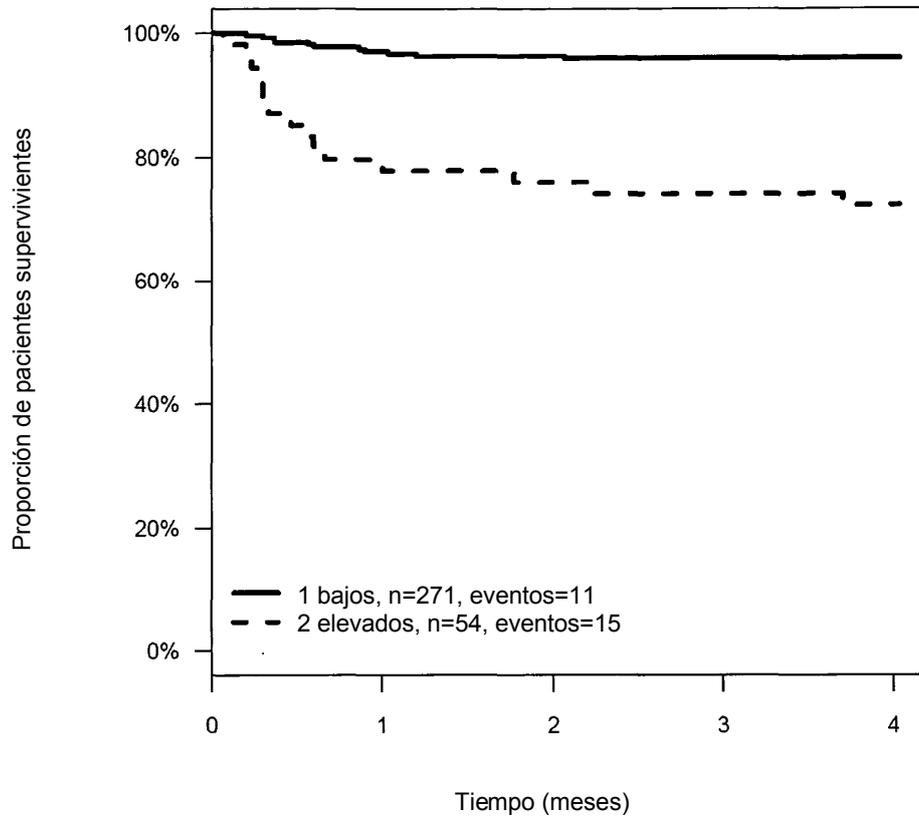


FIG. 38

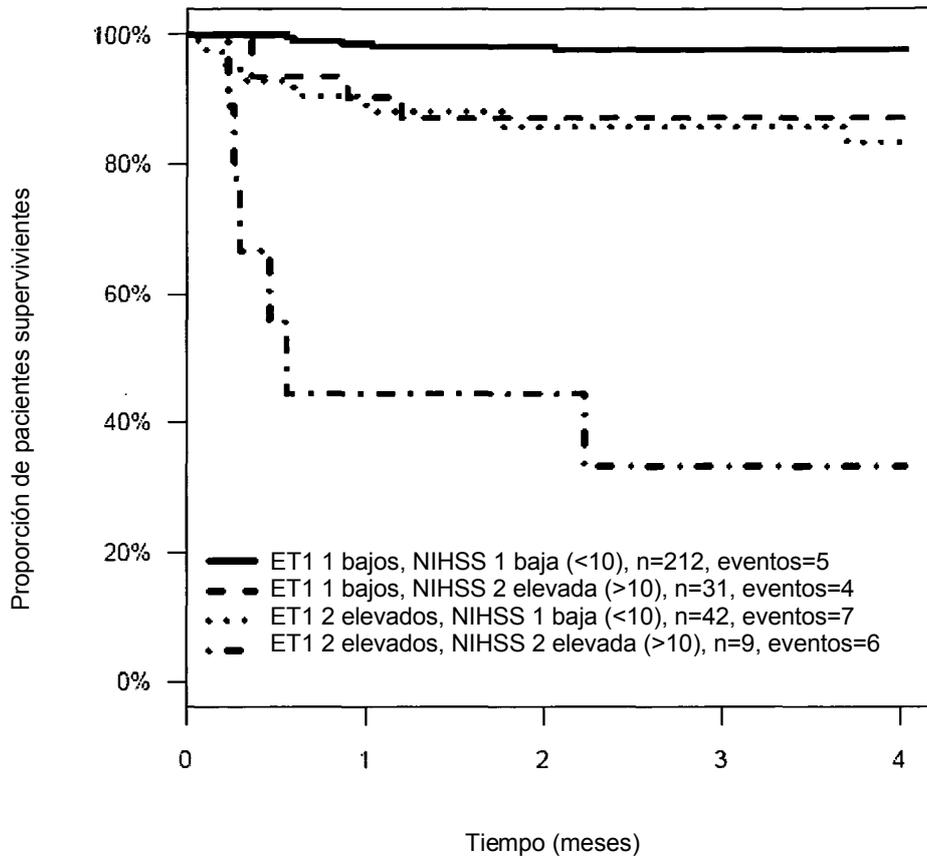


FIG. 39

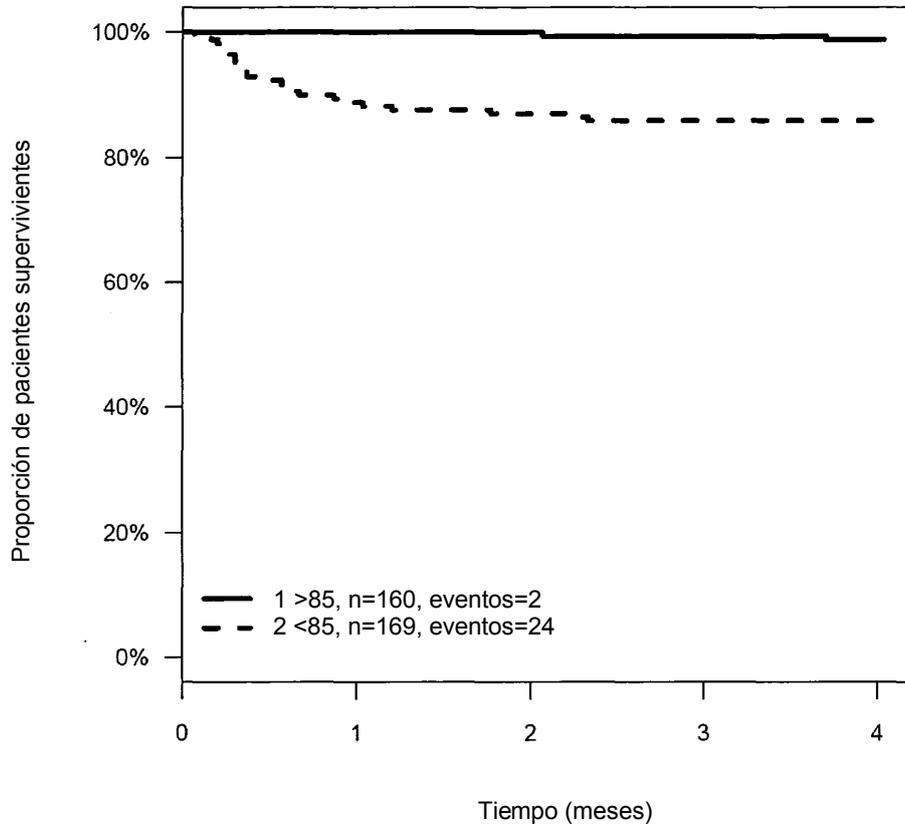


FIG. 40

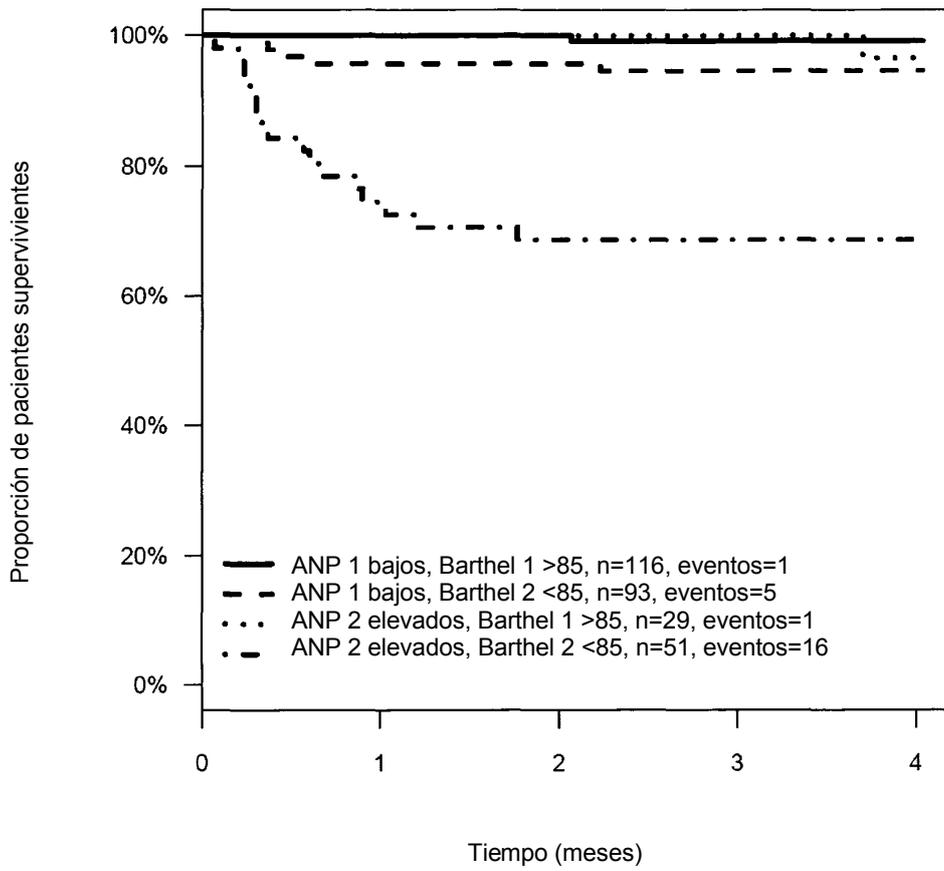


FIG. 41

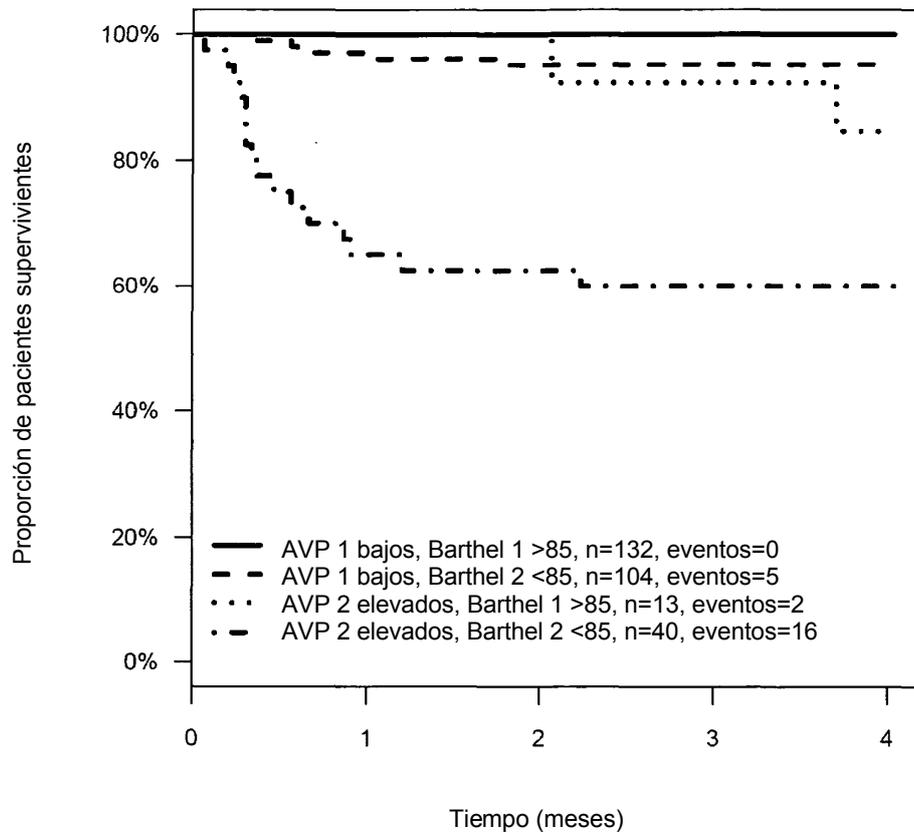


FIG. 42

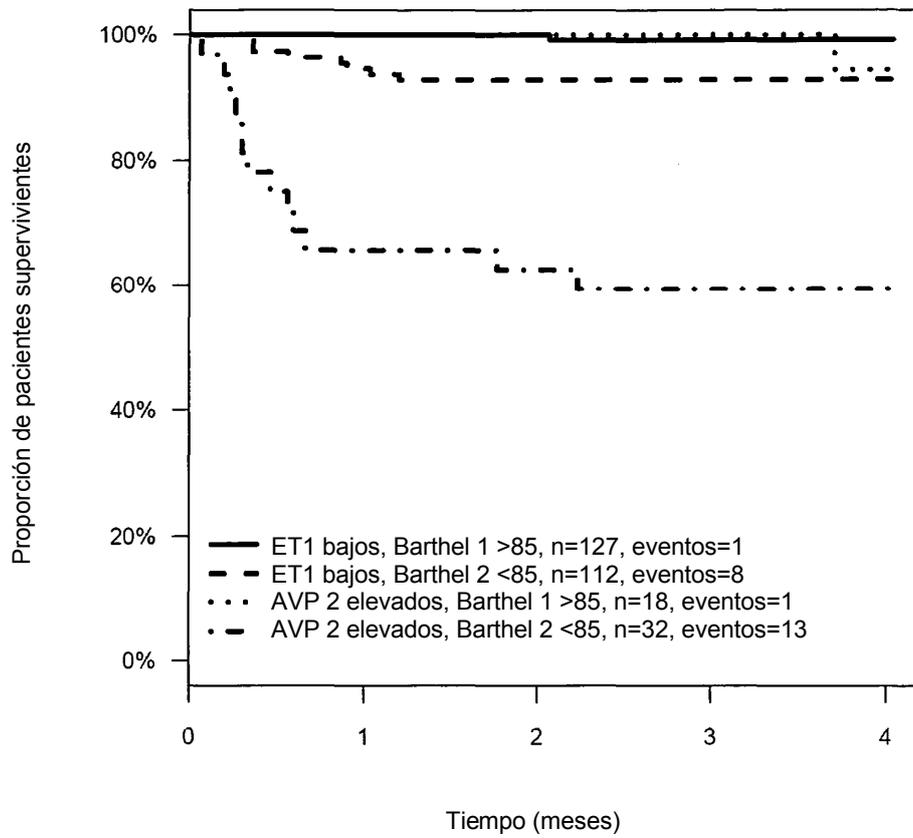


FIG. 43

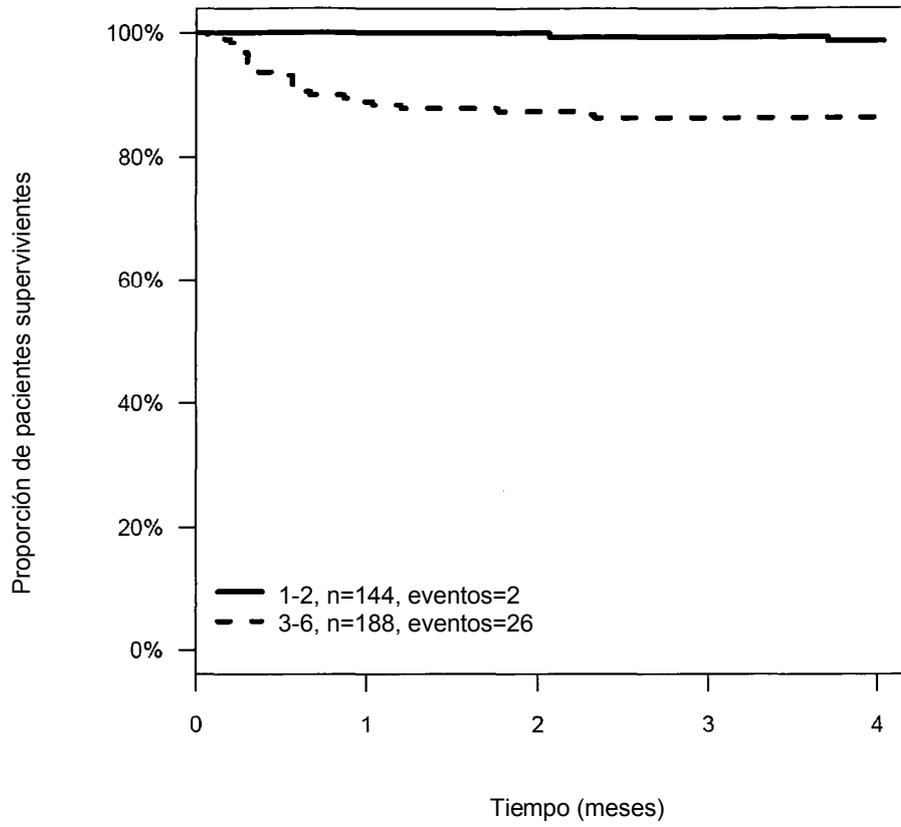


FIG. 44

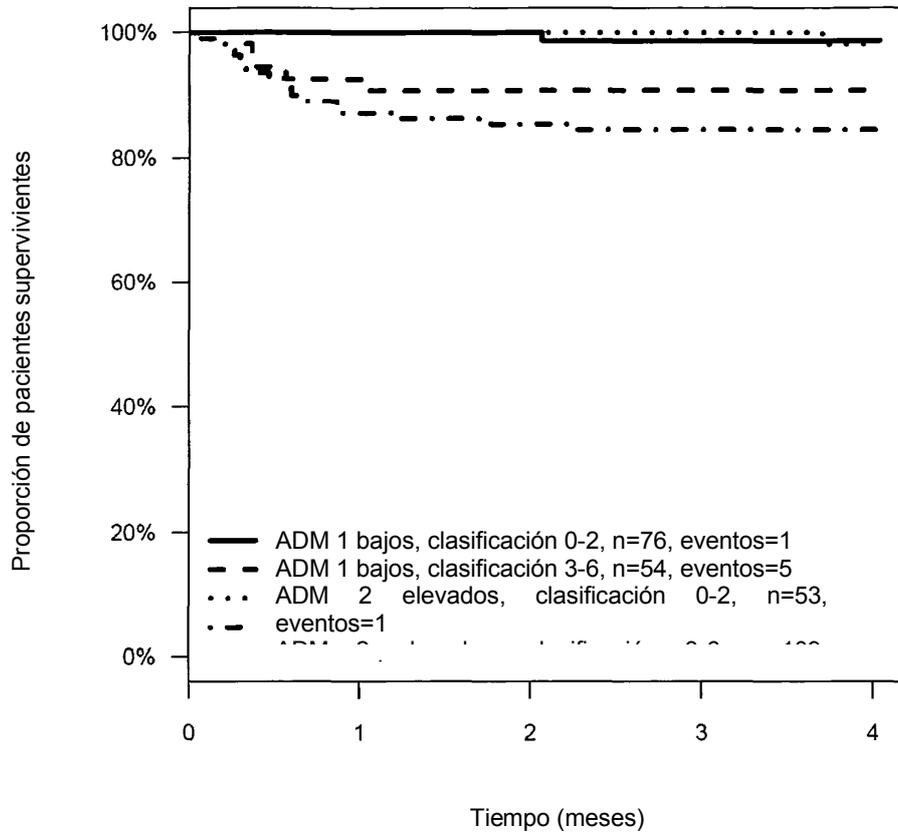


FIG. 45

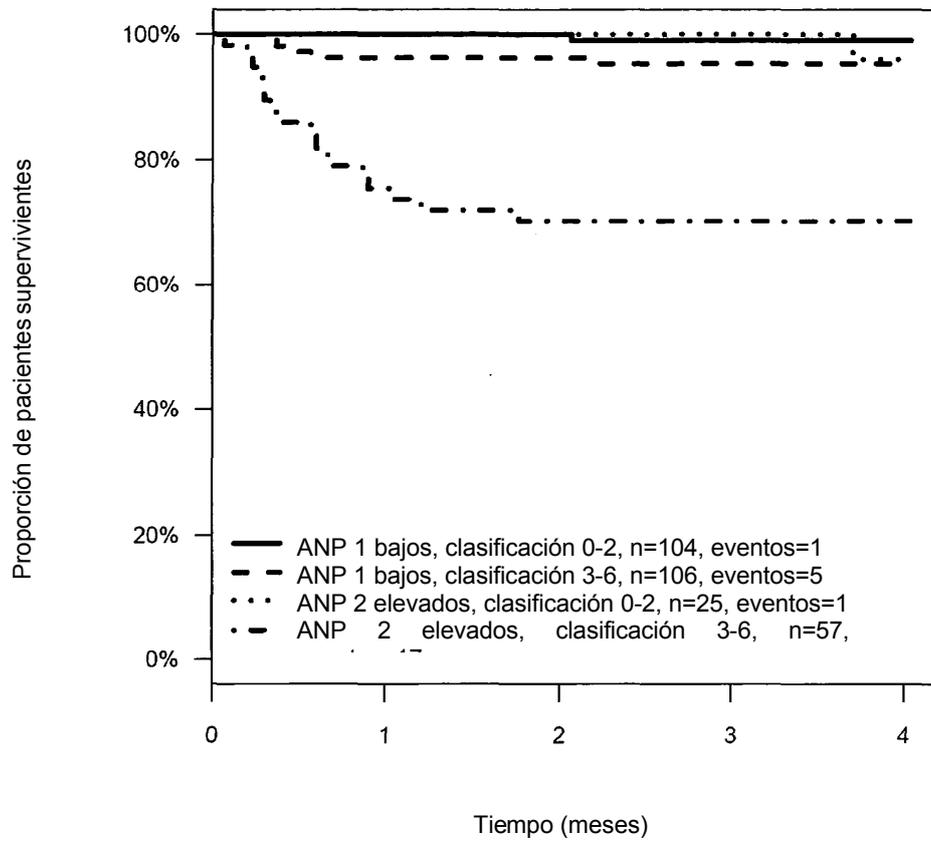


FIG. 46

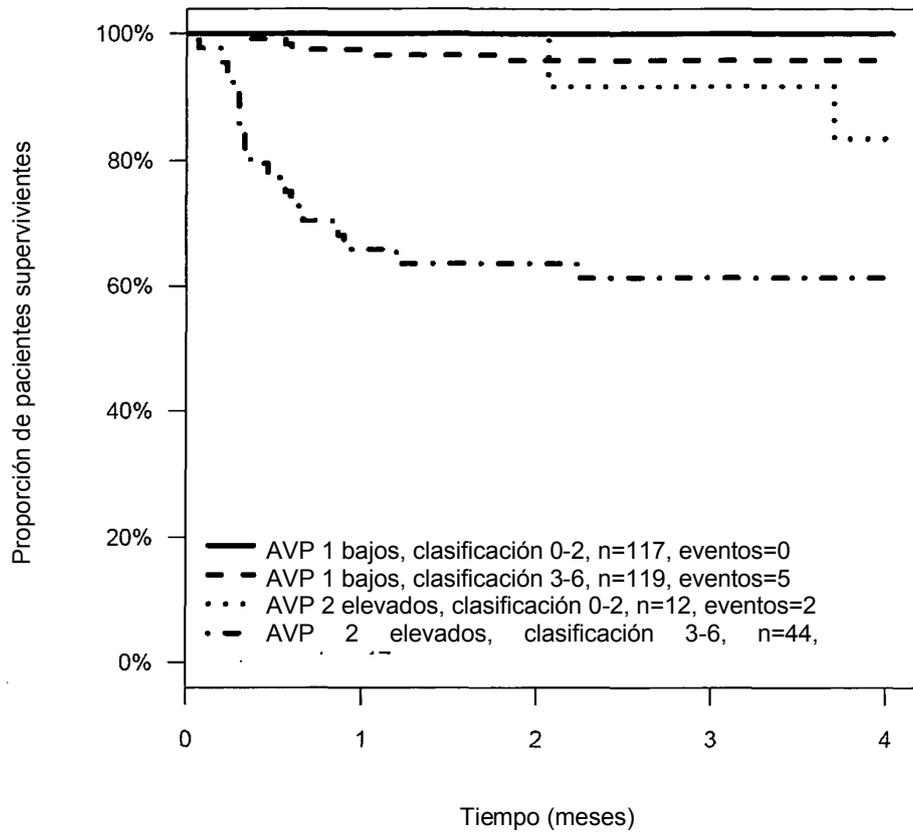


FIG. 47

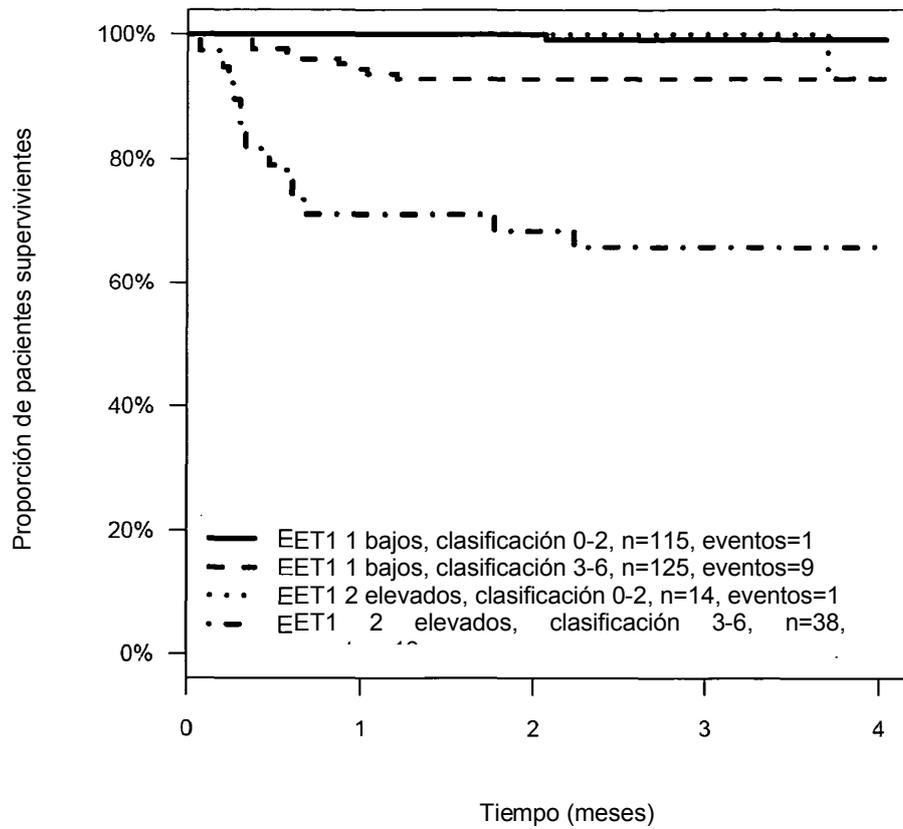


FIG. 48

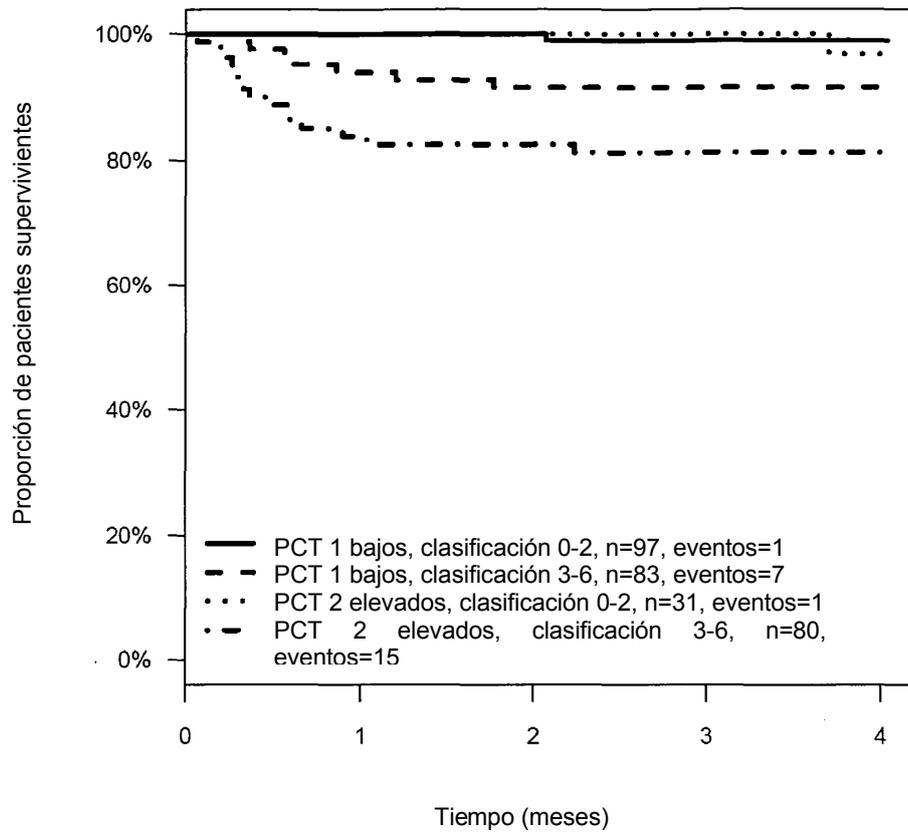


FIG. 49

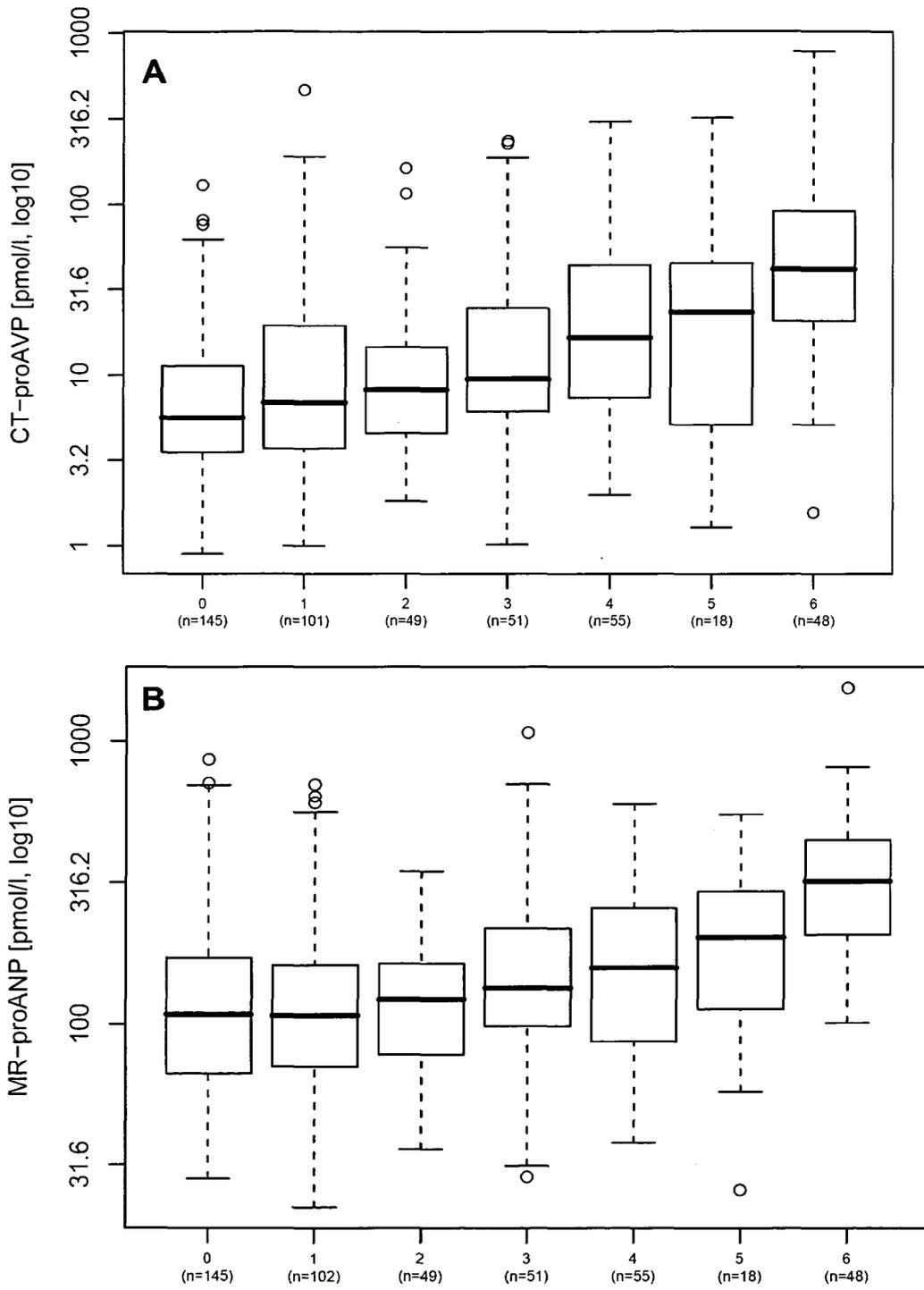


FIG. 50

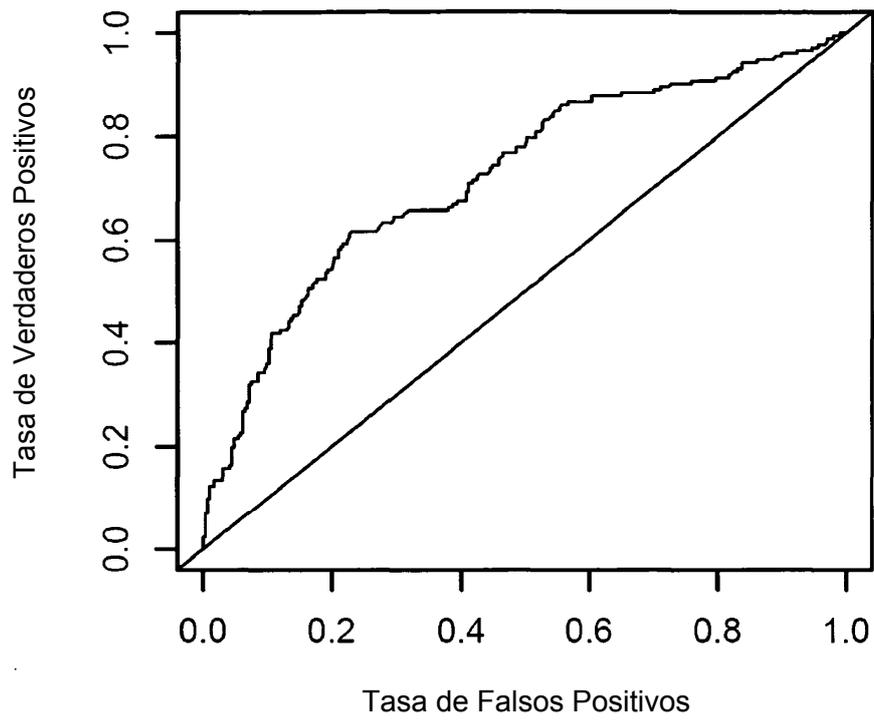


FIG. 51

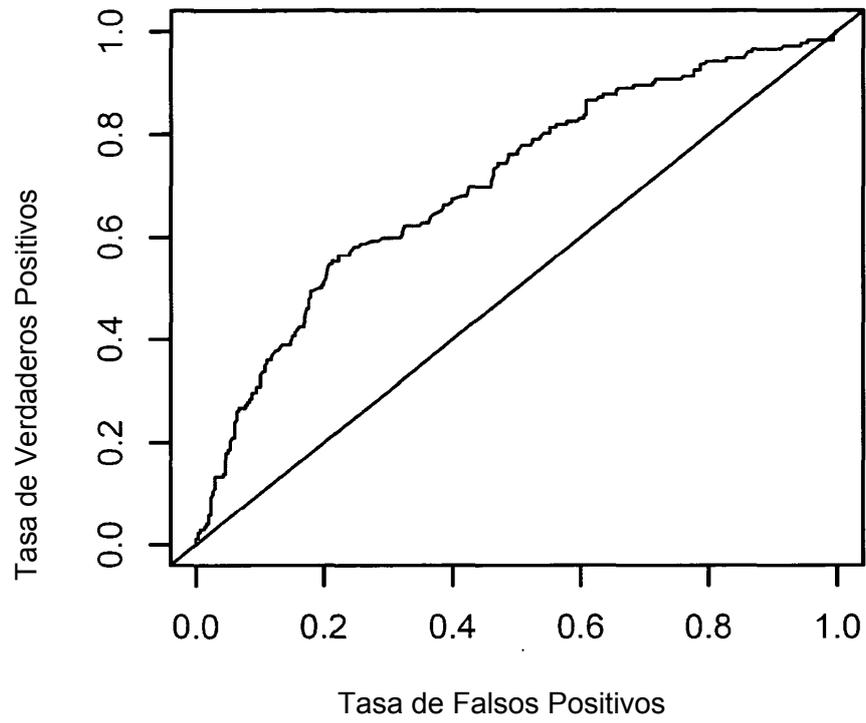


FIG. 52

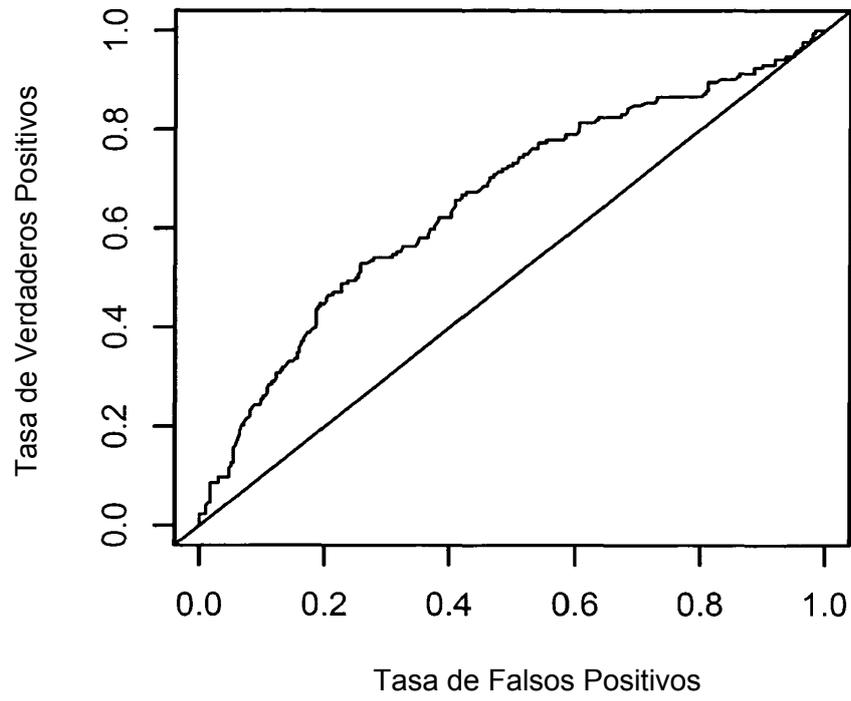


FIG. 53

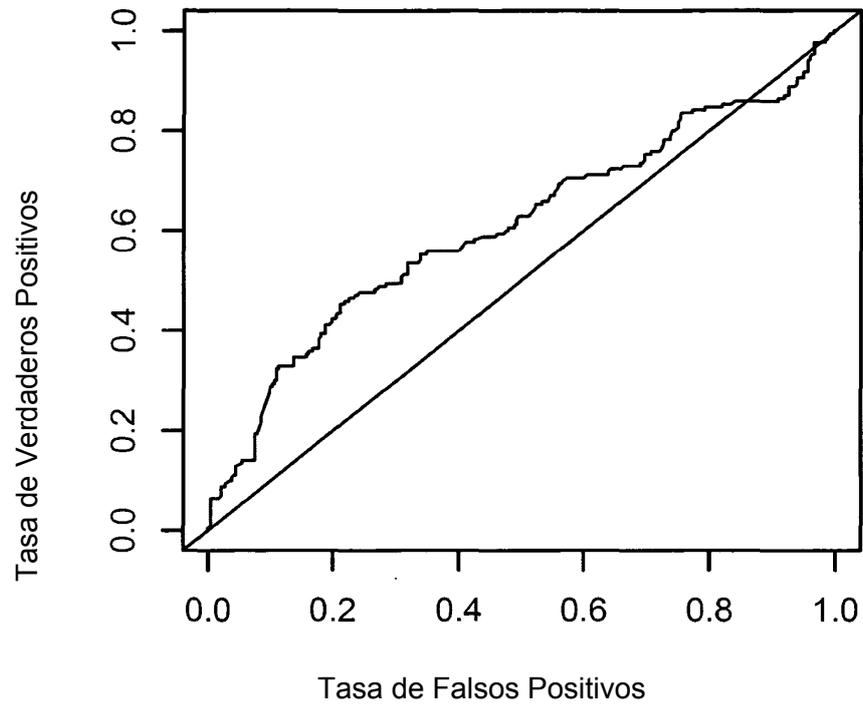


FIG. 54

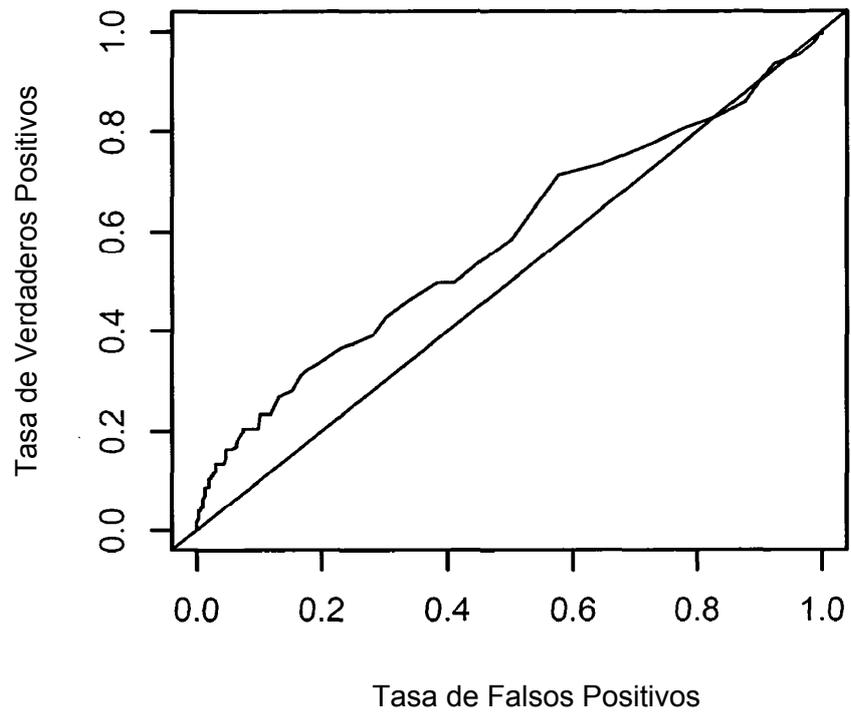


FIG. 55

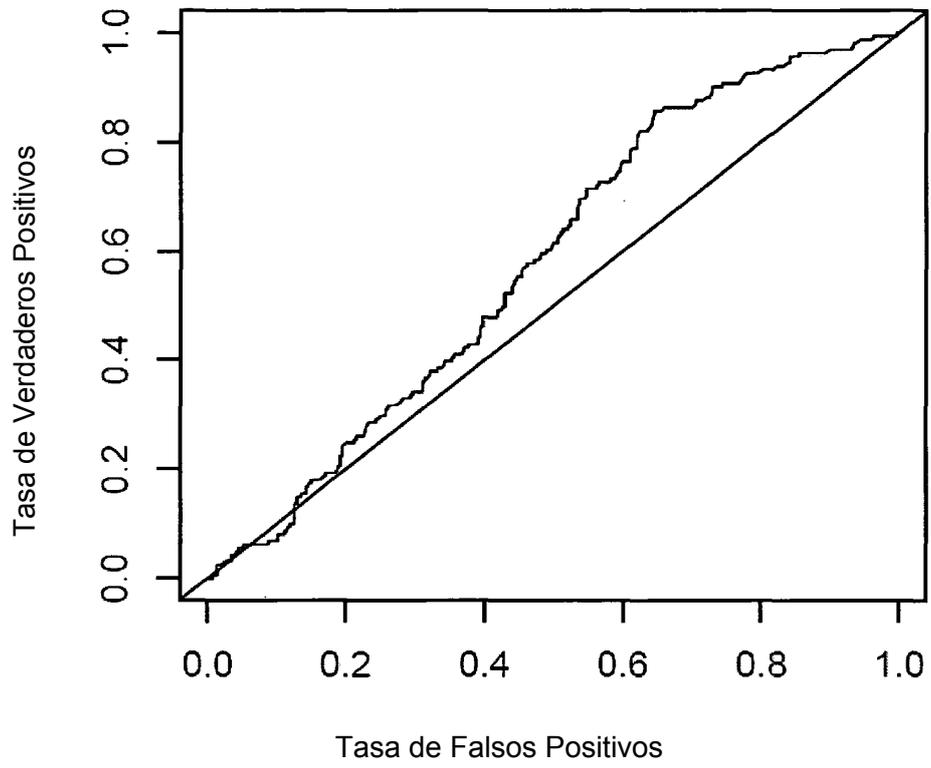


FIG. 56

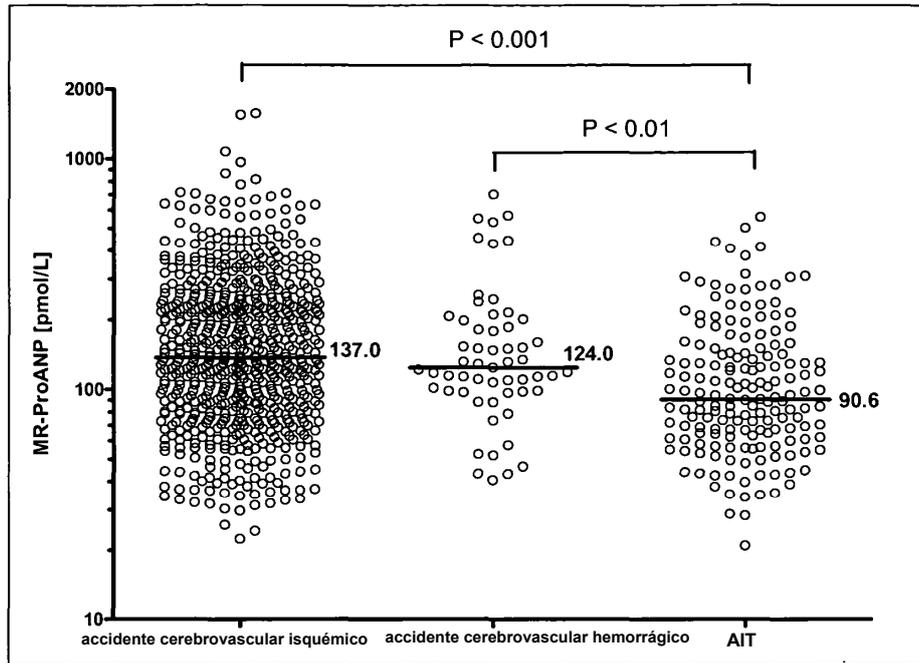


FIG. 57

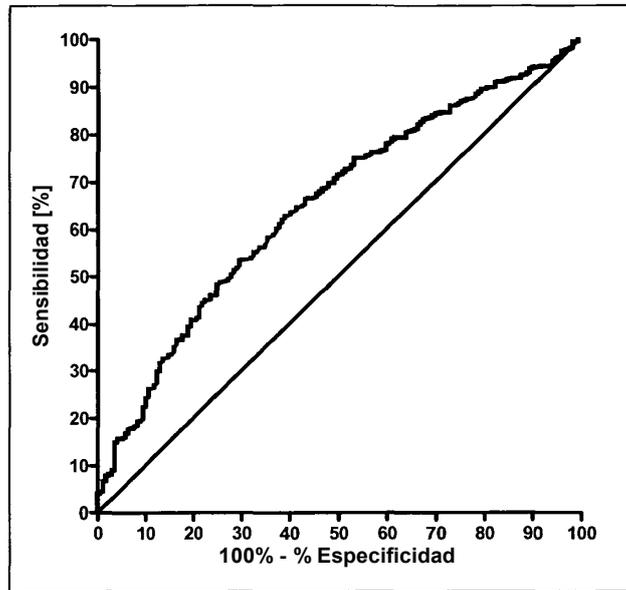


FIG. 58

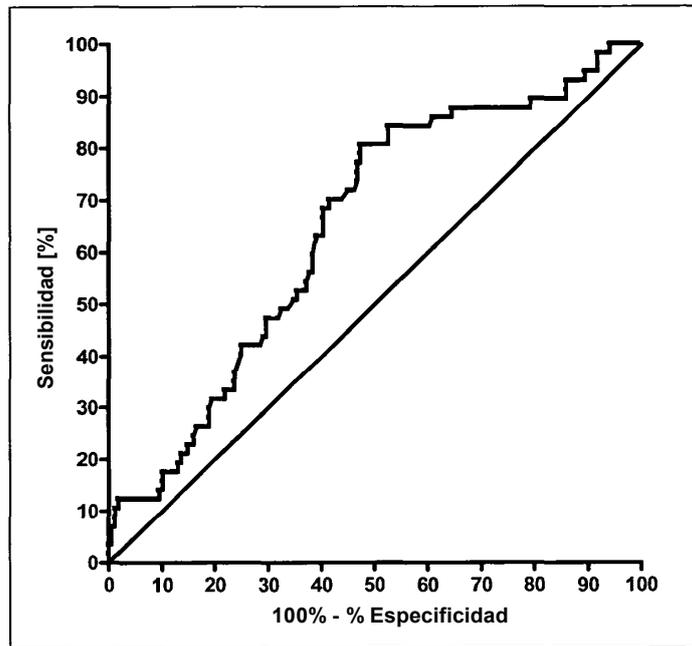


FIG. 59

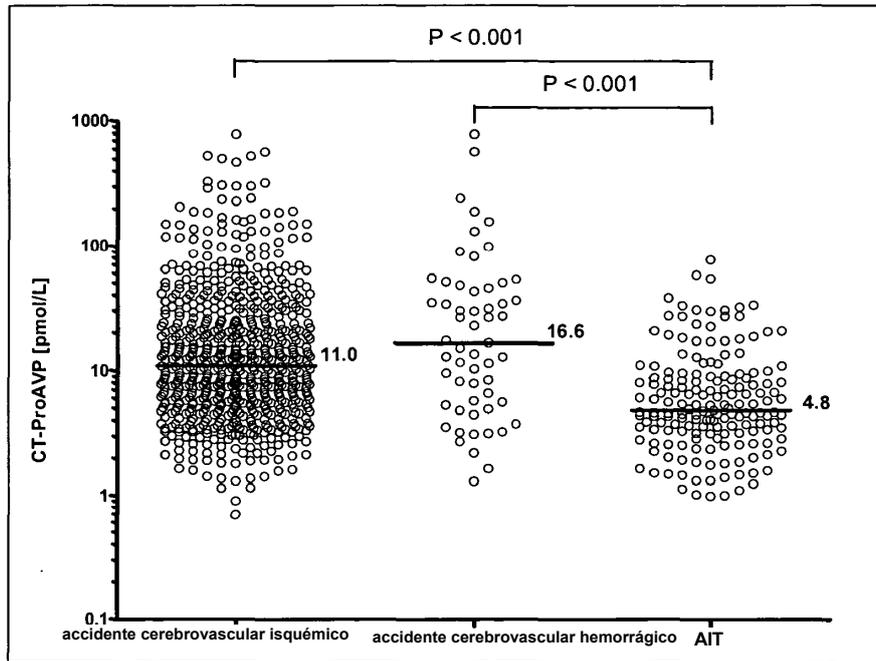


FIG. 60

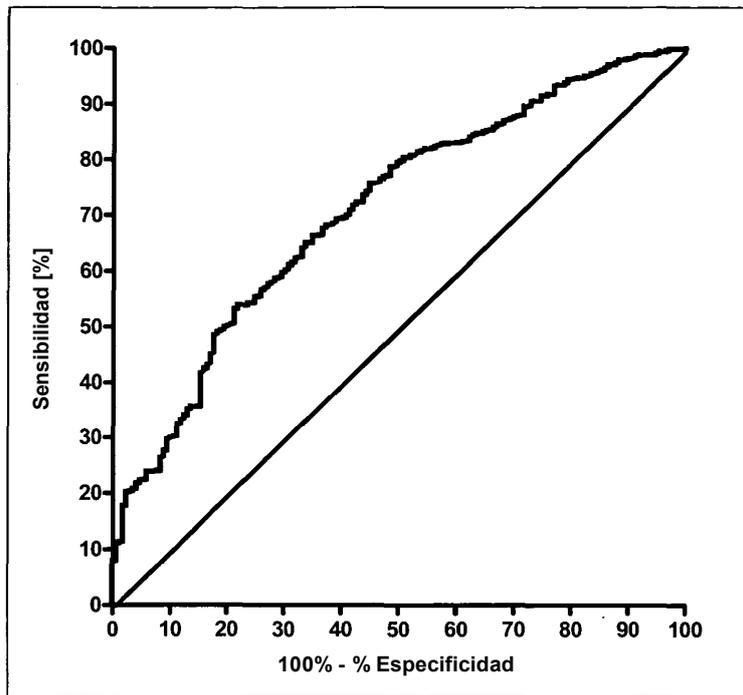


FIG. 61

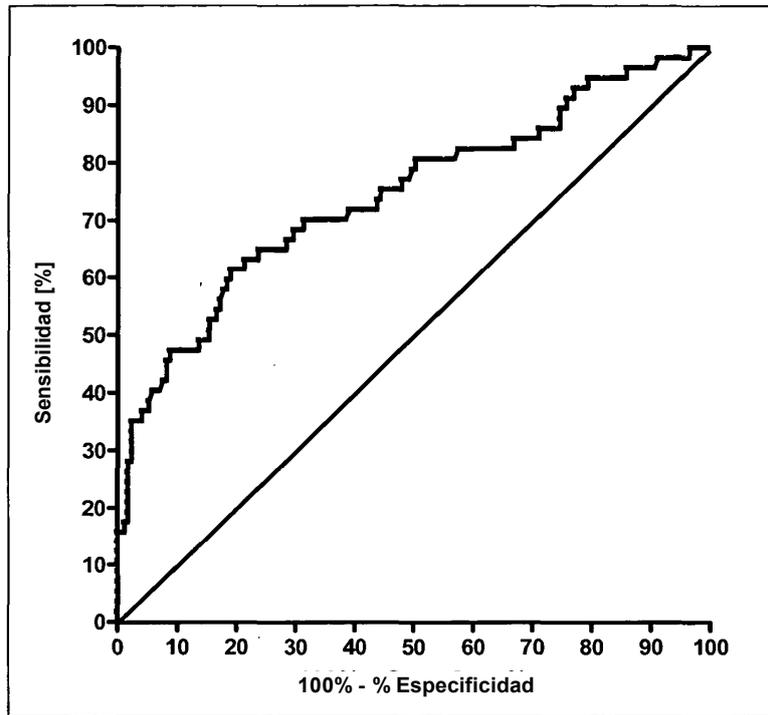


FIG. 62

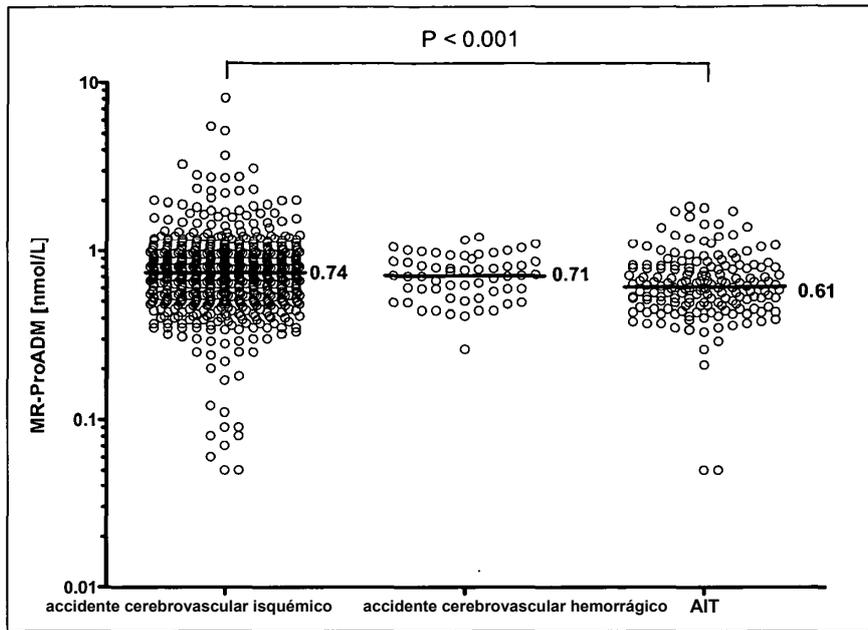


FIG. 63

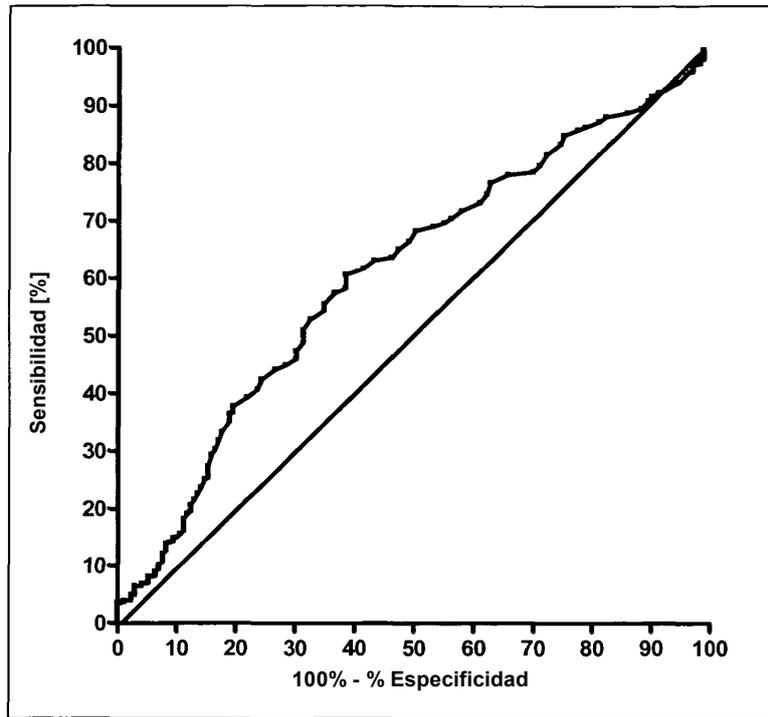


FIG. 64

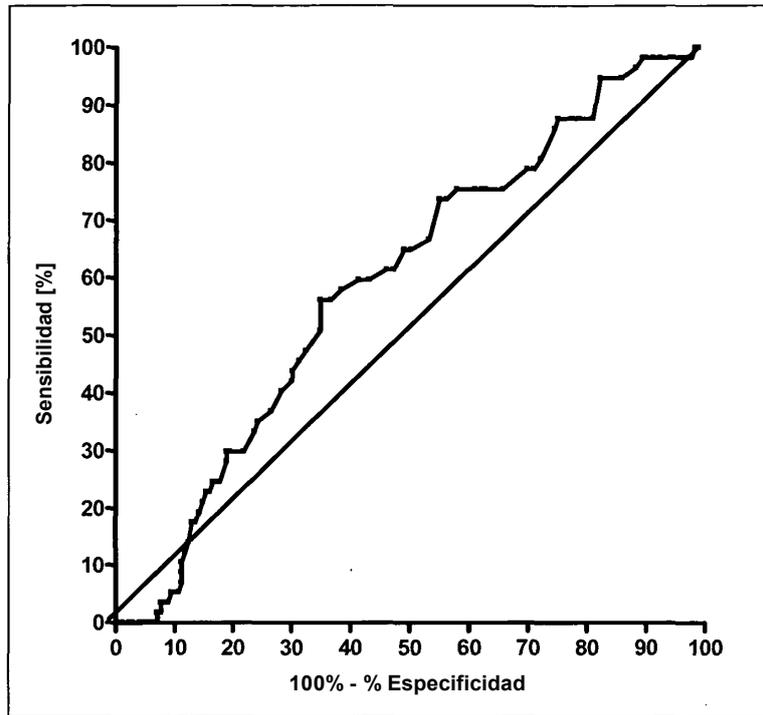


FIG. 65

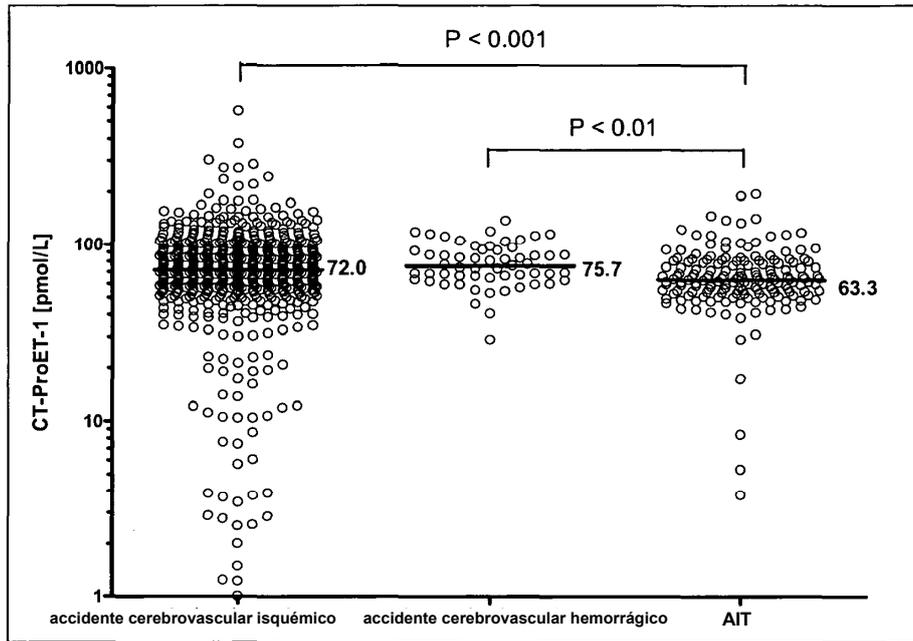


FIG. 66

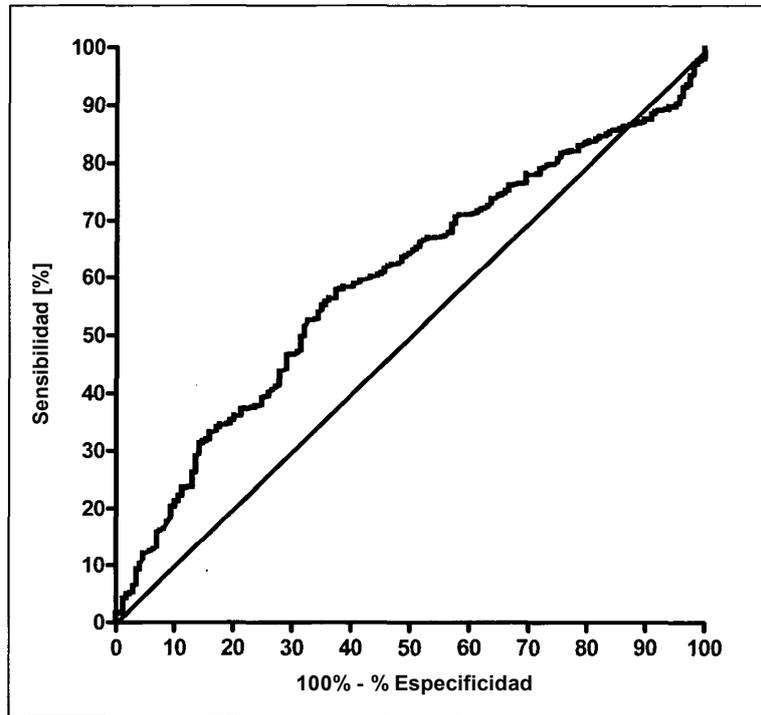


FIG. 67

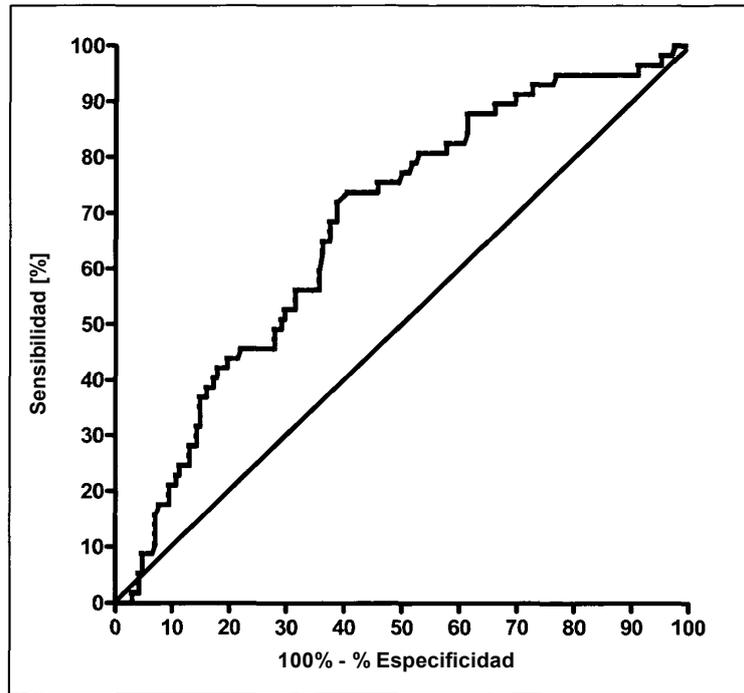


FIG. 68

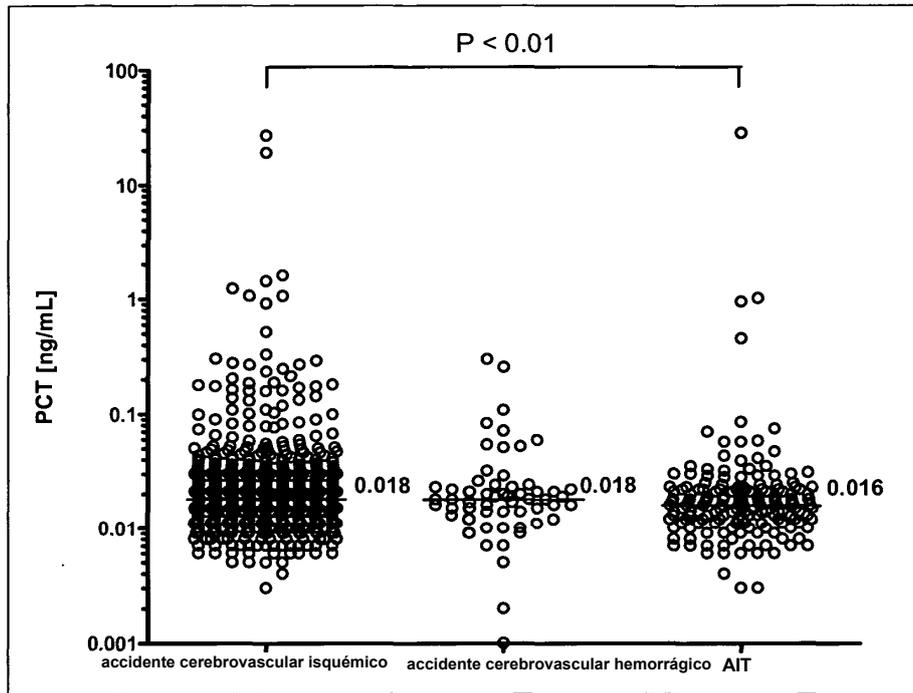


FIG. 69

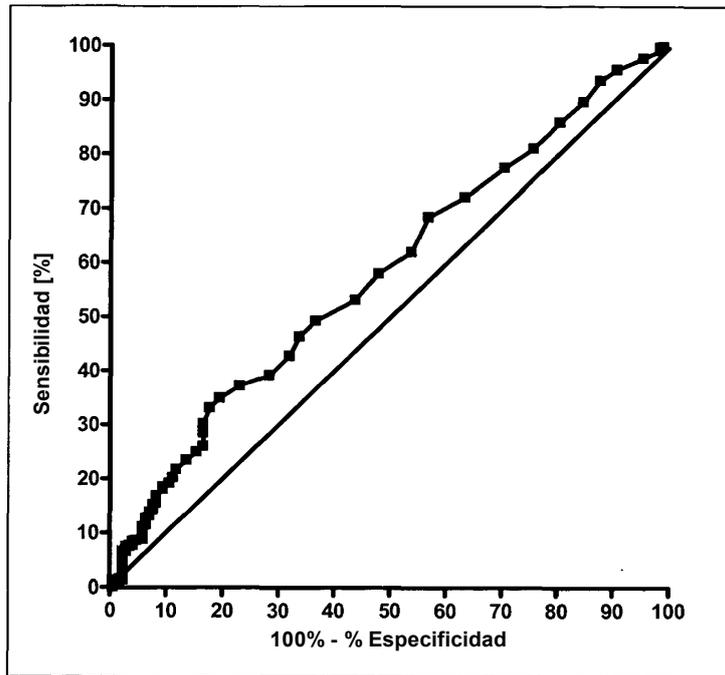


FIG. 70

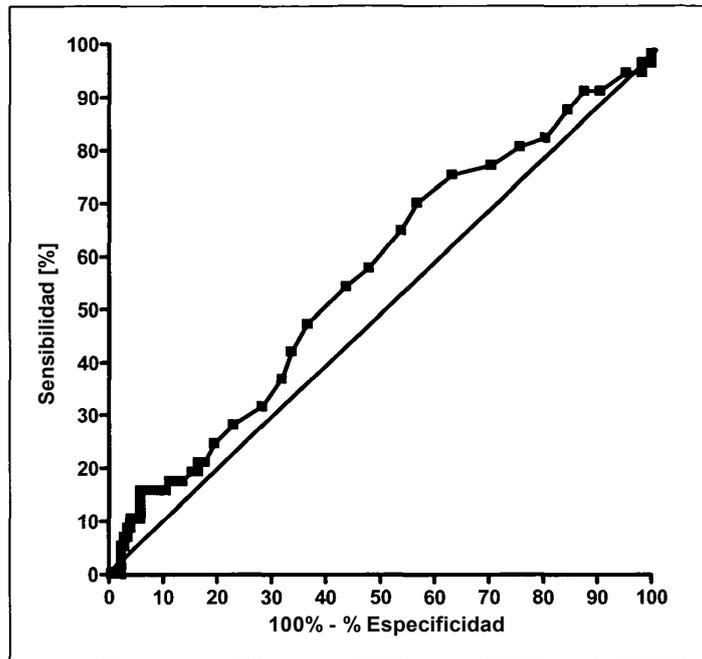


FIG. 71

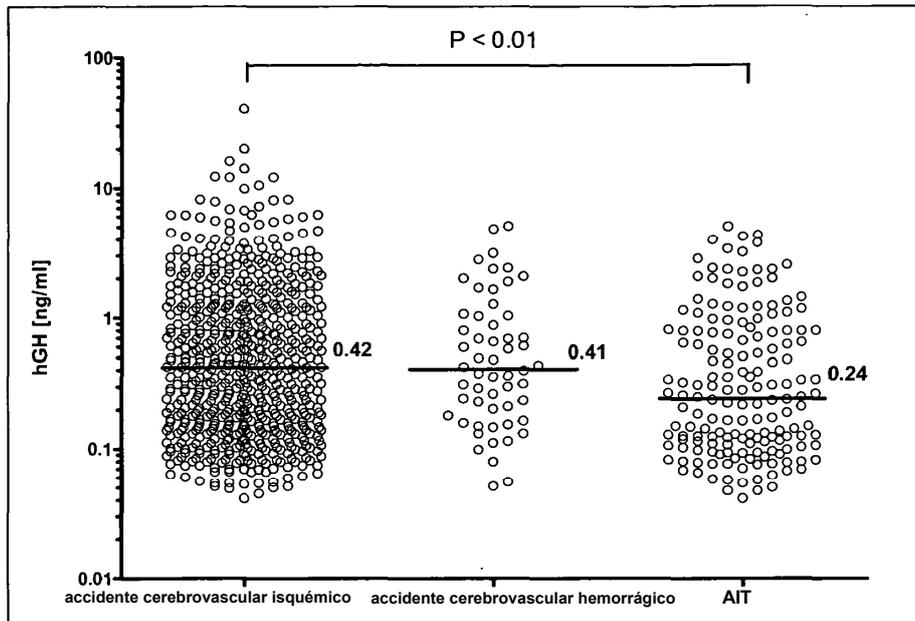


FIG. 72

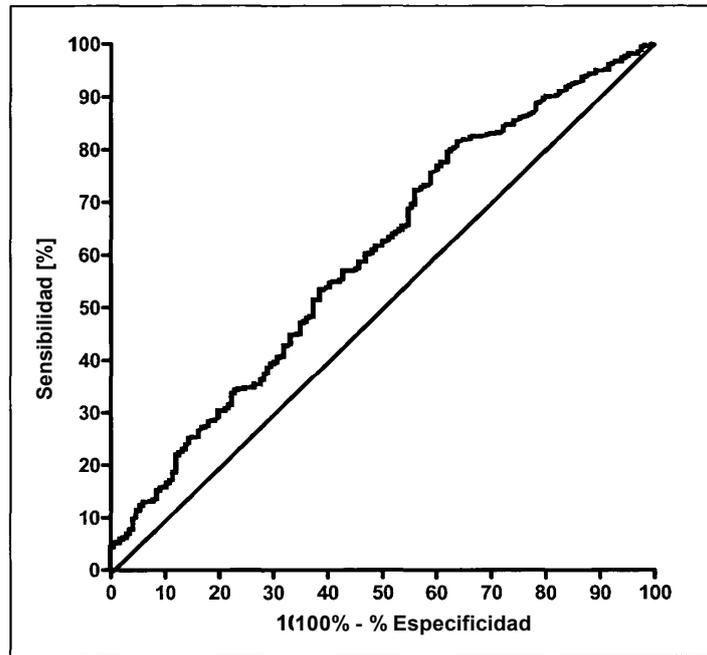


FIG. 73

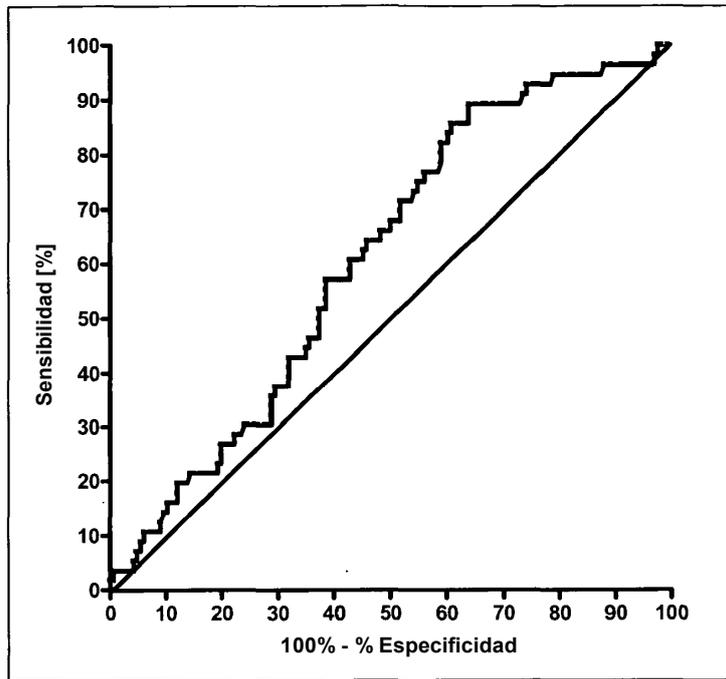


FIG. 74

Fig. 75

```

1      MKLVSVALMY LGSLAFLGAD TARLDVASEF RKKWNKWALS RGKRELRMSS
51     SYPTGLADVK AGPAQTLIRP QDMKGASRSP EDSSPDAARI RVKRYRQSMN
101    NFQGLRSFGC RFGTCTVQKL AHQIYQFTDK DKDNVAPRSK ISPQGYGRRR
151    RRSLEAGPG RTLVSCKPQA HGAPAPPSGS APHFL
    
```

Fig. 76

```

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

Fig. 77

```

1      ARLDVASEFR KKWNKWALSR
    
```

Fig. 78

```

1      ELRMSSSYPT GLADVKAQPA QTLIRPQDMK GASRSPEDSS
    
```

Fig. 79

```

1      YRQSMNNFQG LRSFGCRFGT CTVQKLAHQI YQFTDKDKDN VAPRSKISPO
51     GY
    
```

Fig. 80

```

1      MSSFSTTTVS FLLLLAFQLL GQTRANPMYN AVSNADLMDF KNLLDHLEEK
51     MPLEDEVVPP QVLSEPNEEA GAALSPLPEV PPWTGEVSPA QRDGGALGRG
101    PWDSSDRSAL LKSKLRALLT APRSLRRSSC FGGRMDRIGA QSGLG CNSFR
151    YRR
    
```

Fig. 81

```

1      NPMYNAVSNA DLMDFKNLLD HLEEKMPLED EVVPPQVLSE PNEEAGAALS
51     PLPEVPPWTG EVSPAQRDGG ALGRGPWDSS DRSALLKSKL RALLTAPRSL
101    RRSSCFGGRM DRIGAQSGLG CNSFRY
    
```

Fig. 82

```

1      SLRRSSCFGG RMDRIGAQSG LGCNSFRY
    
```

Fig. 83

1 NPMYNAVSNA DLMDFKNLLD HLEEKMPLED EVVPPQVLSE PNEEAGAALS
51 PLPEVPPWTG EVSPAQRDGG ALGRGPWDSS DRSALLKSKL RALLTAPR

Fig. 84

1 PEVPPWTGEV SPAQRDGGAL GRGPWDSSDR SALLKSKL

Fig. 85

1 MPDTMLPACF LGLLAFSSAC YFQNCPRGG RAMSDLELRQ CLPCGPGGKG
51 RCFGPSICCA DELGCFVGTA EALRCQEENY LPSPCQSGQK ACGSGGRCAA
101 FGVCCNDESC VTEPECREGF HRRARASDRS NATQLDGPAG ALLLRLVQLA
151 GAPEPFEPAQ PDAY

Fig. 86

1 CYFQNCPRGG KRAMSDLELR QCLPCGPGGK GRCFGPSICC ADELGCFVGT
51 AEALRCQEEN YLPSPCQSGQ KACGSGGRCA AFGVCCNDES CVTEPECREG
101 FHRRARASDR SNATQLDGPA GALLLRLVQL AGAPEPFEPA QPDAY

Fig. 87

1 CYFQNCPRG

Fig. 88

1 ASDRSNATQL DGPAGALLLR LVQLAGAPEP FEPAQPDAY

Fig. 89

1 AMSDLELRQC LPCGPGGKGR CFGPSICCAD ELGCFVGTAE ALRCQEENYL
51 PSPCQSGQKA CGSGGRCAAF GVCCNDESCV TEPECREGFH RRA

Fig. 90

1 MDYLLMIFSL LRVACQGAPE TAVLGAELSA VGENGGEKPT PSPPWRLRRS
51 KRCSCSSLMD KECVYFCHLD IIWVNTPEHV VPYGLGSPRS KRALENLLPT
101 KATDRENRCQ CASQDKKCW NFCQAGKELR AEDIMEKDWN NHKKGKDCSK
151 LGKKCIYQQL VRGRKIRRSS EEHLRQTRSE TMRNSVKSSF HDPKLGKPS
201 RERYVTHNRA HW

Fig. 91

1 APETAVLGAE LSAVGENGGE KPTSPPPWRL RRSKRCSCSS LMDKECVYFC
 51 HLDIIWVNTPEHVVPYGLGS PRSKRALENL LPTKATDREN RCQCASQKDK
 101 KCWNFCQAGK ELRAEDIMEK DWNNHKKGKD CSKLGKKCIY QQLVRGRKIR
 151 RSSEEHLRQT RSETMRNSVK SSFHDPKLGK KPSRERYVTH NRAHW

Fig. 92

1 CSCSSLMDKE CVYFCHLDII W

Fig. 93

1 RSSEEHLRQT RSETMRNSVK SSFHDPKLGK KPSRERYVTH NRAHW

Fig. 94

1 CSCSSLMDKE CVYFCHLDII WVNTPEHVVP YGLGSPRS

Fig. 95

1 MGFQKFSPFL ALSILVLLQA GSLHAAPFRS ALESSPADPA TLSEDEARLL
 51 LAALVQDYVQ MKASELEQEQ EREGSSLDSP RSKRCGNLST CMLGTYTQDF
 101 NKFHTFPQTA IGVGAPGKKR DMSSDLERDH RPHVSMPQNA N

Fig. 96

1 APFRSALESS PADPATLSED EARLLLAALV QDYVQMKASE LEQEQEREGS
 51 SLDSPRSKRC GNLSTCMLGT YTQDFNKFHT FPQTAIGVGA PGKKRDMSSD
 101 LERDHRPHVS MPQANAN

Fig. 97

1 APFRSALESS PADPATLSED EARLLLAALV QDYVQMKASE LEQEQEREGS
 51 SLDSPRS

Fig. 98

1 CGNLSTCMLG TYTQDFNKFH TFPQTAIGVG AP

Fig. 99

1 DMSSDLERDH RPHVSMPQNA N

Fig. 100

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

Fig. 101

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

Fig. 102

1 HPLGSPGSAS DLETSGLQEQ RNHLQGLSE LQVEQTSLEP LQESPRPTGV
51 WKSREVATEG IRGHRKMVLY TLRAPR

Fig. 103

1 SPKMVQSGC FGRKMDRISS SSSGLGCKVLR RH