



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 293 356**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

G01N 33/92 (2006.01)

G01N 33/94 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **04791020 .3**

86 Fecha de presentación : **29.10.2004**

87 Número de publicación de la solicitud: **1680680**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **19.07.2006**

54 Título: **Diagnóstico de enfermedades isquémicas agudas de miocardio por combinación de marcadores.**

30 Prioridad: **03.11.2003 DE 103 51 238**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2008

73 Titular/es: **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG.**
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

72 Inventor/es: **Amann-Zalan, Ildiko y**
Spinke, Jürgen

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

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

Diagnóstico de enfermedades isquémicas agudas de miocardio por combinación de marcadores.

La presente invención se refiere a un procedimiento para el diagnóstico de enfermedades isquémicas agudas de miocardio, por ejemplo el infarto agudo de miocardio, en especial sin levantamiento de tramos ST del ECG (NSTEMI), para ello se realiza la determinación por lo menos de dos marcadores en un paciente a explorar. Se proporciona además un kit para la ejecución del procedimiento de diagnóstico, en especial una tira analítica para la ejecución del ensayo rápido.

El diagnóstico del infarto de miocardio agudo se emite actualmente sobre la base de tres criterios: la presencia de alteraciones en el ECG, el dolor de pecho y la presencia anormalmente grande de enzimas cardíacas. Con todo, el diagnóstico fiable resulta a menudo difícil, porque el 60% de los pacientes que sufren infarto de miocardio agudo no presentan alteraciones en el ECG y un 33% de los pacientes no presentan los dolores de pecho típicos. Por ello, para el diagnóstico del infarto de miocardio agudo (en especial en caso de NSTEMI) se recurre cada vez más a la determinación de marcadores cardiospecíficos, como son la troponina T y el péptido natriurético de tipo B (BNP). El aumento de la concentración de uno de estos marcadores conlleva el aumento de la probabilidad de episodios isquémicos, incluida la muerte. Así se describe en las publicaciones de Hamm y col. (New Engl. J. Med. 327, 146-150, 1992), Hamm y col. (New Engl. J. Med. 340, 1623-1629, 1999), Heeschen y col. (The Lancet 354, 1757-1762, 1999), Klotwijk y Hamm (The Lancet 353, supl. II, 10-15, 1999), Wei y col. (Circulation 88, 1004-1009, 1993), De Lemos (New Engl. J. Med. 345, 1014-1021, 2001).

De Winter y col. (Cardiovasc. Res. 42, 240-245, 1999) y De Winter y col. (Clin. Chem. 46, 1597-1603, 2000) ya han constatado que la CRP y la troponina I o la troponina T son dos marcadores independientes para la estratificación de riesgo en pacientes con síndrome coronario agudo.

En el documento EP 03 010 818.7 se describe un procedimiento de diagnóstico de infarto de miocardio y/o de estratificación de riesgo del síndrome coronario agudo, en el que se realiza una determinación por lo menos de tres marcadores cardiospecíficos distintos, en cada caso se determina por lo menos un marcador neurohormonal, por lo menos un marcador cardiospecífico isquémico, por ejemplo la troponina T o la troponina I, y por lo menos un marcador inflamatorio, por ejemplo la proteína C reactiva (CRP).

En la patente US-6 461 828 se describe el uso de una combinación de marcadores cardiospecíficos químicos, como son la troponina I y T junto con marcadores neurohormonales cardiospecíficos, como son la ANP, la ProANP, la BNP y la ProBNP para diagnosticar y estratificar el riesgo en pacientes, que sufren fallo cardíaco congestivo (CHF).

En el documento WO 02/089657 se publica un procedimiento de diagnóstico de la isquemia de miocardio, en el que como marcador se determina la BNP o un marcador afín a la BNP, p.ej. la ProBNP, y eventualmente otro marcador de diagnóstico, como es la creatina-quinasa, p.ej. la CK-MB.

En el documento WO 2004/059293 (publicado el 15.07. 2004) se describen procedimientos de diagnóstico, entre otros un procedimiento para el diagnóstico diferencial de fallos cardíacos y fibrilación arterial, en el que como marcadores se determinan la BNP o un péptido afín, como es la ProBNP, la troponina I y/o la troponina T, la mioglobina y/o la CK-MB.

Sin embargo, el inconveniente de los procedimientos de diagnóstico conocidos estriba en que no se logra detectar anticipadamente y de modo fiable los pacientes de riesgo. En efecto, el aumento de los parámetros isquémicos cardiospecíficos, como son la troponina T y/o I, no se produce hasta un momento relativamente tardío (por lo general al cabo de unas 4 horas) después de haberse manifestado un episodio coronario agudo. En el caso, en que el paciente en este momento presente síntomas clínicos inciertos o ECG nada claro, no se podrá emitir un diagnóstico claro e iniciar la terapia hasta un momento relativamente tardío. Otros marcadores isquémicos, como son la albúmina de modificación isquémica (IMA) o marcadores específicos musculares, por ejemplo la mioglobina, es cierto que sufren un aumento en un momento temprano, pero tienen una cardiospecificidad relativamente baja. Los marcadores neuronales, como la ProBNP, no son específicos de la isquemia según los conocimientos actualmente disponibles, a pesar de que presentan una alta cardiospecificidad en el caso de infarto de miocardio.

Un cometido de la presente invención consiste en desarrollar un procedimiento para el diagnóstico de enfermedades isquémicas agudas de miocardio, por ejemplo el infarto de miocardio agudo, que permitan detectar mejor y de modo más precoz los episodios coronarios agudos.

Este cometido se cumple realizando una determinación por lo menos de dos marcadores en un paciente a explorar, para ello se determina por lo menos un marcador neurohormonal cardiospecífico y la albúmina de modificación isquémica como marcador isquémico no cardiospecífico y eventualmente un marcador muscular específico no cardiospecífico. Eventualmente puede realizarse además una determinación adicional de otros marcadores, en especial por lo menos de un marcador no cardiospecífico de la activación de plaquetas y/o un marcador isquémico-necrótico cardiospecífico.

De modo sorprendente se ha encontrado que la determinación conjunta de un marcador neurohormonal cardiospecífico y por lo menos uno de los marcadores no cardiospecíficos mencionados conduce a una mejor detección temprana de episodios coronarios agudos y, de este modo, permite un diagnóstico o pronóstico incluso antes del aumento de los parámetros isquémicos cardiospecíficos. De este modo pueden evitarse las hospitalizaciones innecesarias o las permanencias prolongadas en la sección de urgencias o de cuidados intensivos.

Una ventaja que se desprende de ello consiste en que, en caso de episodios cardíacos agudos, por ejemplo en caso de infarto de miocardio agudo, en especial en caso de NSTEMI, se puede identificar y tratarse adecuadamente un mayor número de pacientes en un momento más temprano que en los actuales procedimientos de diagnóstico. Con la combinación de la invención de por lo menos dos marcadores distintos para establecer el diagnóstico se puede reducir, por tanto, la frecuencia de los casos letales y de otras complicaciones cardíacas.

Se entiende por “cardiospecífico” en el sentido de la presente invención un marcador cuyo aumento guarda una relación inequívoca con una enfermedad cardíaca y que se segrega principalmente en el corazón. A diferencia de ello, un marcador “no cardiospecífico” no guarda una relación inequívoca con una enfermedad cardíaca y, por ello, puede ser elevado incluso en el caso de enfermedades no cardíacas.

El procedimiento de la presente invención comprende la determinación de por lo menos dos marcadores, con él se determina por lo menos un marcador neurohormonal cardiospecífico y la albúmina de modificación isquémica (IMA) como marcador isquémico no cardiospecífico y eventualmente por lo menos un marcador muscular específico no cardiospecífico.

El marcador neurohormonal puede elegirse por ejemplo entre el péptido natriurético atrial (ANP) (de tipo A), el péptido natriurético de tipo B (BNP) y los fragmentos terminales de los correspondientes propéptidos NT-ProANP y NT-ProBNP. Como marcador neurohormonal se determina con preferencia especial el BNP o el NT-ProBNP.

El marcador isquémico no cardiospecífico es la albúmina de modificación isquémica (IMA).

Como marcadores musculares específicos no cardiospecíficos preferidos pueden determinarse la mioglobina y/o la creatina-quinasa-MB (CK-MB). Como marcador muscular específico no cardiospecífico se determina con preferencia especial la mioglobina o la CK-MM.

En el procedimiento de la invención puede determinarse además adicionalmente un marcador no cardiospecífico de la activación de plaquetas. Como marcador de la activación de plaquetas se determina con preferencia especial el CD40.

En el procedimiento de la invención puede determinarse también adicionalmente por lo menos un marcador isquémico-necrótico cardiospecífico. Como marcadores isquémico-necróticos cardiospecíficos pueden determinarse por ejemplo la troponina T o la troponina I. Como marcador isquémico-necrótico cardiospecífico se determina con preferencia especial la troponina T.

La determinación combinada de la invención se efectúa con preferencia de modo que con una o más muestras de un paciente a explorar se realicen determinaciones paralelas de los marcadores. Un diagnóstico positivo de la presencia de una enfermedad aguda se obtiene del diagnóstico positivo de por lo menos uno de los marcadores analizados y con preferencia de un diagnóstico positivo de por lo menos dos marcadores. Con la combinación de los marcadores indicados puede aumentarse tanto la especificidad como la sensibilidad del ensayo.

En uno o en varios ensayos se analizan con preferencia simultáneamente o de modo inmediatamente consecutivo una o más muestras provenientes de un paciente, por ejemplo muestras de sangre o de suero. Las determinaciones se efectúan con preferencia especial en una única muestra del paciente.

La determinación combinada de los marcadores puede efectuarse en principio con arreglo a cualquiera de los métodos ya conocidos de los ensayos comerciales habituales. Para la determinación pueden utilizarse por ejemplo aparatos automáticos de análisis. Como alternativa pueden utilizarse también ensayos rápidos, por ejemplo los que se aplican en la sección de urgencias, en el centro hospitalario o en la sección de cuidados intensivos, en el ambulatorio o en la consulta médica o incluso en la misma cama del paciente.

La determinación de los marcadores se efectúa normalmente mediante un inmunoensayo empleando los anticuerpos dirigidos contra los marcadores. La determinación se realiza con preferencia empleando una o varias tiras analíticas, en las que los reactivos empleados para la determinación de los distintos marcadores se hallan dispuestos en forma seca (que después del contacto con la muestra puede pasar a solución) en uno o más zonas y la detección de los distintos parámetros en la zona de detección se realiza en cada caso con preferencia en regiones separadas de la zona de detección. Se determinan con preferencia varios marcadores en una sola tira analítica.

Además, la determinación de los marcadores puede realizarse también, obviamente, en ensayos líquidos.

La detección de la BNP o de la NT-ProBNP como marcador neurohormonal se ha descrito por ejemplo en Richards y col. (Circulation 97, 1921-1929, 1998), Struthers (Eur. Heart J. 20, 1374-1375, 1999), Hunt y col. (Clin. Endocrinol.

47, 287-286, 1997), Talwar y col. (Eur. Heart J. 20, 1736-1744, 1999), Darbar y col. (Am. J. Cardiol. 78, 284-287, 1996) así como en EP-A-0 648 228 y WO 00/45176. Un ensayo especialmente preferido es un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia, p.ej. el formato de ensayo ECLIA® de Roche Diagnostics GmbH, Mannheim.

5 La detección de la IMA como marcador no cardiospecífico se describe por ejemplo en Wu y col. (Journal MLO Medical Laboratory Observer 35, 36-38, 2003). La detección de la mioglobina se describe por ejemplo en Penttälä y col. (Clin. Biochem. 33, 647-653, 2002). La detección del CD40 se describe por ejemplo en Heeschen y col. (New Eng. J. Med. 348, 1104-1111, 2003).

10 En lo que respecta a la determinación de la troponina T como ejemplo de marcador isquémico cardiospecífico se remite a Katus y col. (Mol. Cell. Cardiol. 21, 1349-1353, 1989), Hamm y col. (N. Engl. Med. 327, 146-150, 1992), Ohmann y col. (N. Eng. J. Med. 335, 1333-1334, 1996), Christenson y col. (Clin. Chem. 44, 494-501, 1998) y numerosas publicaciones más así como en EP-A-0 394 819. Los ensayos especialmente preferidos para la detección de la troponina T son los inmunoensayos de electroquimioluminiscencia, p.ej. los formatos de ensayo Elecsys® Troponin T y Elecsys® Troponin T STAT de Roche Diagnostics GmbH, Mannheim.

Una combinación especialmente preferida de marcadores para el diagnóstico del infarto de miocardio es la formada por un marcador neurohormonal, en especial la NT-ProBNP, un marcador isquémico no cardiospecífico, en especial la IMA y por lo menos un marcador muscular específico no cardiospecífico, en especial la mioglobina y/o la CK-MB. Se señala un riesgo significativo de infarto de miocardio cuando dan positivo por lo menos tres de los marcadores recién mencionados. Esto se aplica también a pacientes que presentan un valor negativo de un marcador isquémico-necrótico cardiospecífico, como es la troponina T.

20 Otra combinación de marcadores especialmente preferida para el diagnóstico de la isquemia/angina de pecho inestable es la formada por un marcador neurohormonal cardiospecífico, en especial la NT-ProBNP y un marcador isquémico no cardiospecífico, en especial la IMA.

Otro aspecto de la invención es un kit de reactivos para el diagnóstico de enfermedades agudas de miocardio, en especial del infarto de miocardio, dicho kit contiene los reactivos de detección para la determinación de por lo menos dos marcadores, un reactivo de detección está destinado a un marcador neurohormonal cardiospecífico y un reactivo de detección está destinado a la albúmina de modificación isquémica (IMA) como marcador isquémico no cardiospecífico y eventualmente un reactivo de detección destinado a un marcador muscular específico no cardiospecífico. Eventualmente puede incluirse por lo menos otro reactivo de detección destinado a un marcador no cardiospecífico de la activación de plaquetas y/o a un marcador isquémico-necrótico cardiospecífico.

35 El kit de reactivos se diseña con preferencia de modo que sea idóneo para la realización de determinaciones paralelas de los marcadores y en especial para la realización de determinaciones con una sola muestra del paciente. Para ello es conveniente emplear reactivos de detección que permitan la determinación de todos los marcadores en un solo formato de ensayo, por ejemplo un ensayo enzimático, un ensayo de electroquimioluminiscencia, un ensayo turbidimétrico o un ensayo rápido con una tira analítica.

El kit de reactivos puede diseñarse de manera que sea apropiado para la realización de determinaciones en aparatos automáticos o en ensayos rápidos. Los reactivos de detección de varios marcadores se presentan con preferencia especial en forma de una sola tira analítica.

45 En una forma de ejecución especialmente preferida de la invención se proporciona un kit de reactivos en forma de una tira analítica para el diagnóstico de enfermedades agudas de miocardio, que contiene los reactivos para la determinación de la BNP o de la NP-ProBNP, para la determinación de la IMA, eventualmente para la determinación de la mioglobina y/o de la CK-MB y eventualmente para determinación de la troponina T o de la troponina I, en especial para la determinación de la troponina T y/o para la determinación del CD40.

El procedimiento de la invención y el kit de reactivos de la invención pueden utilizarse para identificar a los pacientes con síndrome coronario agudo, en especial para mejorar el reconocimiento precoz de episodios coronarios agudos, por ejemplo para mejorar el reconocimiento precoz del infarto de miocardio agudo.

55 La presente invención se ilustra además con el siguiente ejemplo.

Ejemplo

60 Diagnóstico de enfermedades isquémicas agudas de miocardio por combinación de marcadores

El ensayo descrito a continuación confirma la hipótesis de que la determinación de varios marcadores, en el sentido de la invención, mejora el diagnóstico de enfermedades isquémicas agudas de miocardio. Con el ejemplo de los pacientes que sufren dolor de pecho puede demostrarse que con la determinación de varios marcadores, en el sentido de la invención, es posible un diagnóstico más precoz de un infarto de miocardio (MI) o bien de una enfermedad isquémica.

Diseño del estudio

Se analizan retrospectivamente 40 muestras de suero de pacientes, que fueron ingresados en la clínica universitaria de Lübeck con dolores de pecho. Los criterios para la inclusión en el grupo 1 (= grupo MI) son un valor negativo de troponina T en el momento del ingreso y un valor positivo al cabo de 4-6 horas. El grupo 2 (= grupo de control) está formado por pacientes que tienen valores negativos de troponina T en el momento del ingreso y al cabo de 4-6 horas. Las muestras se eligen al azar.

Se determinan los marcadores siguientes:

NT-proBNP como marcador neurohormonal cardiospecífico

IMA como marcador isquémico no cardiospecífico

mioglobina como marcador muscular específico no cardiospecífico

CK-MB como marcador muscular específico no cardiospecífico

Método

Se almacenan las muestras a -20°C y se transportan. Se determinan la NT-proBNP (cat. n° 03121640) y la mioglobina (cat. n° 1972146) con el correspondiente kit de reactivos de Roche en un aparato analítico automático ELECSYS de Roche con arreglo a las instrucciones del fabricante. Se determinan la CK-MB y la IMA en un aparato Hitachi 912 con el kit CK-MB de Roche (cat. n° 213284) y con el kit ACB de Ischemia Technologies (cat. n° 01VAC260), con arreglo a las instrucciones del fabricante.

Resultados

Los resultados de la determinación de todos los marcadores se recogen en la tabla 1.

a) Determinación de un marcador neurohormonal cardiospecífico (NT-proBNP) junto con un marcador muscular específico no cardiospecífico (CK-MB) para la identificación precoz de pacientes de MI

Para la identificación de un valor positivo se emplean los siguientes valores de corte:

NT-proBNP: 350 pg/ml

CK-MB: 12 U/l

Si se consideran los valores positivos de ambos marcadores por separado y en combinación, entonces se obtiene la distribución siguiente:

marcador	valores positivos de NT-proBNP	valores positivos de CK-MB	valores positivos de NT-proBNP y CK-MB
grupo MI (n = 19)	65 %	35 %	20 %
grupo control (n = 20)	65 %	15 %	0 %

La NT-proBNP o la CK-MB solas no son específicas para diagnosticar precozmente un posterior aumento de la troponina T y, con él, un infarto de miocardio. Sin embargo, si se consideran los valores positivos de ambos marcadores, entonces para el 20% de los pacientes se habría podido diagnosticar un infarto de miocardio precozmente, es decir, en el mismo momento del ingreso.

b) Determinación de los cuatro parámetros para la identificación precoz de pacientes de MI

Para la identificación de un valor positivo se emplean en este caso los siguientes valores de corte:

NT-proBNP: 125 pg/ml

IMA: 85 U/ml

mioglobina: 70 ng/ml

CK-MB: 12 U/l

ES 2 293 356 T3

18 de los 20 pacientes del grupo MI tienen positivo por lo menos uno de los cuatro parámetros ya en el momento del ingreso. En el 65% de las muestras había valores altos de 0-2 marcadores. En el 35% de las muestras analizadas había 3 ó 4 marcadores por encima del valor de corte.

Sin embargo, en el grupo de control no hay ningún paciente que tenga positivos 3 ó 4 marcadores. Un 10% de los pacientes no tenía aumento alguno de un marcador, un 30% presentaba un aumento de un marcador y un 60% presentaba el aumento de dos marcadores en el momento del ingreso.

Los resultados se recogen en la tabla siguiente.

marcador positivo	0	1	2	3	4
grupo MI (n = 19)	10%	25%	30%	20%	15%
grupo de control (n = 20)	10%	30%	60%	0%	0%

Para la determinación de todos los cuatro parámetros y con arreglo al criterio de que por lo menos 3 de los marcadores tenían que ser altos, se pudo diagnosticar un infarto de miocardio a un 35% de los pacientes en el momento del ingreso (todos con la troponina negativa).

c) Determinación de un marcador neurohormonal cardiospecífico (NT-proBNP) junto con un marcador isquémico no cardiospecífico (IMA) para el diagnóstico específico de una isquemia/angina de pecho inestable

Un valor IMA positivo es un indicativo de isquemia de génesis incierta. Si se observa el colectivo de pacientes antes descrito (tabla 1) en lo que respecta a la isquemia, se emitió un diagnóstico a 34 pacientes (MI o IAP) que la mayoría de casos presentaban una patofisiología isquémica. 6 pacientes no tenían isquemia en el diagnóstico final (pacientes 23, 30, 32, 33, 36, 39 = grupo de control). No obstante, 4 de estos pacientes tenían un valor IMA elevado (valor de corte: 85 U/ml) (pacientes 23, 30, 32, 39 = “falsos positivos”). Si se incluye además en el diagnóstico un valor positivo de NT-proBNP (valor de corte: 350 pg/ml), entonces se aumenta claramente la especificidad, es decir, ya no se observan casos positivos falsos. Este resultado se recoge en la tabla siguiente.

marcador positivo	IMA	IMA + NT-proBNP
grupo MI, IAP (n = 34)	62%	29%
grupo de control (n = 6)	67%	0%

(Tabla pasa a página siguiente)

TABLA 1

Valores de los marcadores del colectivo de pacientes analizado

Diagnóstico	paciente nº/ muestra	NT-proBNP [pg/ml]	IMA [U/ml]	mioglobina [ng/ml]	CK-MB [U/l]
grupo MI (infarto cardíaco confirmado (1ª determinación: trop T negativa; 2ª determinación: trop T positiva)					
MI = infarto de miocardio	1	106	100	43	5
MI	2	398	80	29	5
MI	3	4663	107	207	23
MI	4	68	82	71	-6
MI	5	11222	78	60	18
MI	6	105	120	43	5
MI	7	158	74	28	6
MI	8	16	115	32	6
MI	9	291	76	239	20
MI	10	15364	111	152	30
MI	11	147	100	107	3
MI	12	29	71	28	9
MI	13	189	110	955	32
MI	14	825	95	44	17
MI	15	62	101	98	6
MI	16	460	105	68	10
MI	17	1123	95	27	3
MI	18	154	94	48	6
MI	19	342	70	739	18
MI	20	79	80	35	3
grupo de control (ningún infarto cardíaco (1ª y 2ª determinaciones: trop T negativa)					
IAP = angina pecho inestable	21	1125	83	17	10
IAP	22	4022	93	20	6
dolor de tórax en reposo; síndrome BWS	23	212	100	25	8

ES 2 293 356 T3

Diagnóstico	paciente nº/ muestra	NT-proBNP [pg/ml]	IMA [U/ml]	mioglobina [ng/ml]	CK-MB [U/l]
IAP	24	35	84	23	7
IAP	25	458	97	33	8
IAP	26	84	92	50	5
IAP	27	2212	108	61	7
IAP	28	55	91	39	5
IAP	29	845	103	54	7
dolor de tórax en reposo	30	181	107	19	1
IAP	31	660	102	24	9
dolor de tórax en reposo	32	32	107	15	8
dolor de tórax en reposo	33	260	77	31	21
IAP	34	108	76	25	18
IAP	35	113	100	21	3
dolor tór. izq., gastr. rec.	36	98	65	20	7
IAP	37	328	66	35	13
IAP	38	192	103	48	6
dolor tórax en reposo; síndrome BWS	39	134	98	13	3
IAP	40	357	97	13	6

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de diagnóstico de enfermedades isquémicas agudas de miocardio, **caracterizado** porque se realiza una determinación por lo menos de dos marcadores de una o más muestras de un paciente a explorar, en cada caso se determina por lo menos un marcador neurohormonal cardiospecífico y la albúmina de modificación isquémica (IMA) como marcador isquémico no cardiospecífico y eventualmente un marcador muscular específico no cardiospecífico.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el marcador neurohormonal cardiospecífico se elige entre el péptido natriurético de tipo A (ANP), el fragmento N-terminal del Pro-ANP (NT-ProANP), el péptido natriurético de tipo B (BNP) y el fragmento N-terminal del Pro-BNP (NT-ProBNP).
3. Procedimiento según la reivindicación 2, **caracterizado** porque como marcador neurohormonal se determina el BNP o el NT-ProBNP.
4. Procedimiento según una de las reivindicaciones de 1 a 3, **caracterizado** porque el marcador muscular específico no cardiospecífico se elige entre la mioglobina y/o la CK-MB.
5. Procedimiento según una de las reivindicaciones de 1 a 4, **caracterizado** porque se determina además un marcador no cardiospecífico de la activación de plaquetas.
6. Procedimiento según la reivindicación 5, **caracterizado** porque como marcador no cardiospecífico de la activación de plaquetas se determina el CD40.
7. Procedimiento según una de las reivindicaciones de 1 a 6, **caracterizado** porque se determina además un marcador isquémico-necrótico cardiospecífico.
8. Procedimiento según la reivindicación 7, **caracterizado** porque el marcador isquémico-necrótico cardiospecífico se elige entre troponina T y troponina I.
9. Procedimiento según la reivindicación 8, **caracterizado** porque como marcador isquémico-necrótico se determina la troponina T.
10. Procedimiento según una de las reivindicaciones de 1 a 9 para el diagnóstico del infarto de miocardio agudo.
11. Procedimiento según una de las reivindicaciones de 1 a 10 para la mejora del reconocimiento precoz en el diagnóstico del infarto de miocardio agudo.
12. Procedimiento según una de las reivindicaciones de 1 a 11, **caracterizado** porque se realizan determinaciones paralelas de los marcadores.
13. Procedimiento según una de las reivindicaciones de 1 a 12, **caracterizado** porque las determinaciones se realizan en una sola muestra del paciente.
14. Procedimiento según una de las reivindicaciones de 1 a 13, **caracterizado** porque las determinaciones se realizan en aparato analítico automático.
15. Procedimiento según una de las reivindicaciones de 1 a 14, **caracterizado** porque las determinaciones se realizan en forma de análisis rápido.
16. Procedimiento según la reivindicación 15, **caracterizado** porque las determinaciones se realizan con una tira analítica, en especial con una sola tira analítica.
17. Kit de reactivos para el diagnóstico de enfermedades isquémicas agudas de miocardio, **caracterizado** porque contiene los reactivos de detección para la determinación de por lo menos dos marcadores, en cada caso un reactivo de detección está destinado a un marcador neurohormonal cardiospecífico y un reactivo de detección está destinado a la albúmina de modificación isquémica (IMA) como marcador isquémico no cardiospecífico y eventualmente un reactivo de detección destinado a un marcador muscular específico no cardiospecífico.
18. Kit de reactivos según la reivindicación 17, **caracterizado** porque contiene también por lo menos un reactivo de detección de un marcador no cardiospecífico de la activación de plaquetas y/o un marcador isquémico-necrótico cardiospecífico.
19. Kit de reactivos según la reivindicación 17 ó 18 para la realización de determinaciones paralelas de marcadores.
20. Kit de reactivos según una de las reivindicaciones de 17 a 19 para la realización de determinaciones en una sola muestra del paciente.

ES 2 293 356 T3

21. Kit de reactivos según una de las reivindicaciones de 17 a 20 para la realización de determinaciones en un aparato analítico automático.

5 22. Kit de reactivos según una de las reivindicaciones de 17 a 20 para la realización de determinaciones en forma de análisis rápidos.

23. Kit de reactivos según la reivindicación 22 para la realización de determinaciones con una tira analítica, en especial con una sola tira analítica.

10 24. Kit de reactivos en forma de una tira analítica para el diagnóstico de enfermedades isquémicas agudas de miocardio, **caracterizado** porque contiene los reactivos para la determinación de la BNP o de la NT-ProBNP, para la determinación de la IMA, eventualmente para la determinación de la mioglobina y/o de la CK-MB y eventualmente para la determinación de la troponina T y/ del CD40.

15 25. Uso de un kit de reactivos según una de las reivindicaciones de 17 a 24 para la identificación “*in vitro*” de pacientes con infarto de miocardio agudo.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65