



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104094121 B

(45)授权公告日 2016.10.26

(21)申请号 201280068882.4

(22)申请日 2012.11.29

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 104094121 A

(43)申请公布日 2014.10.08

(30)优先权数据
11191579.9 2011.12.01 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2014.08.01

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2012/073897 2012.11.29

(87)PCT国际申请的公布数据
W02013/079567 EN 2013.06.06

(73)专利权人 霍夫曼-拉罗奇有限公司
地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 G.赫斯 A.霍希 D.祖内克

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

(56)对比文件

US 2005181386 A1,2005.08.18,摘要,说明书第9、42-43、87-92、340、349段,权利要求43、86-87、104、108-109、116-117.

WO 2004059293 A2,2004.07.15,说明书第112、122段,权利要求78-79、89、125.

CN 1938431 A,2007.03.28,全文.

US 2009275059 A1,2009.11.05,全文.

WO 2007042165 A1,2007.04.19,全文.

ROSARIO GIUFFRIDA et

al..Immunohistochemical modifications of vasoactive neuropeptides and excitatory amino acids in the nervous tissue of the mongolian gerbil after transient cerebral ischemia.《International journal of developmental neuroscience》.1999,第17卷(第2期),99-107.

审查员 胡晓佳

权利要求书3页 说明书26页

(54)发明名称

用于诊断中风的NT-原ANP和NT-原BNP

(57)摘要

本发明涉及一种用于诊断受试者中的短暂性缺血发作(TIA)的方法,所述受试者被怀疑已展现过短暂性缺血发作,但尚未展现中风。该方法基于来自所述受试者的样品中NT-原ANP量的测定。而且,本发明还针对一种用于诊断受试者中的急性脑缺血事件的方法,其基于来自所述受试者的样品中NT-原BNP和NT-原ANP量的测定。所述方法还包括计算NT-原BNP和NT-原ANP的量的比率的步骤。本发明还涵盖适用于实施本发明方法的试剂盒和装置。上面提到的量/比率的高数值指示了病症。优选地,所述患者在收集样品前72小时内,更优选地24小时内已经怀疑具有TIA的症状。然而,优选地,所述样品在症状结束后不

早于1小时获得。

1. 用于测定来自受试者的样品中NT-原ANP的量的试剂在制备试剂盒中的用途,所述试剂盒用于诊断所述受试者中的短暂性缺血发作,所述受试者被怀疑展现过短暂性缺血发作,但尚未展现中风,其中所述诊断包括测定来自所述受试者的血液、血清或血浆样品中NT-原ANP的量,并将测定的NT-原ANP的量与参照量比较,由此诊断所述受试者是否展现过短暂性缺血发作,其中怀疑展现过短暂性缺血发作的所述受试者在获得所述样品前72小时内已显示短暂性缺血发作的症状且其中所述受试者在获得所述样品时不再显示短暂性缺血发作的症状。

2. 权利要求1的用途,其中所述受试者在获得所述样品前24小时内已显示短暂性缺血发作的症状。

3. 权利要求1的用途,其中在获得所述样品前72小时内诊断出所述受试者是否展现过短暂性缺血发作。

4. 权利要求2的用途,其中在获得所述样品前72小时内诊断出所述受试者是否展现过短暂性缺血发作。

5. 权利要求3的用途,其中在获得所述样品前24小时内诊断出所述受试者是否展现过短暂性缺血发作。

6. 权利要求4的用途,其中在获得所述样品前24小时内诊断出所述受试者是否展现过短暂性缺血发作。

7. 权利要求1的用途,其中在不早于短暂性缺血发作症状结束后一小时从所述受试者获得所述样品。

8. 权利要求2的用途,其中在不早于短暂性缺血发作症状结束后一小时从所述受试者获得所述样品。

9. 权利要求3的用途,其中在不早于短暂性缺血发作症状结束后一小时从所述受试者获得所述样品。

10. 权利要求4的用途,其中在不早于短暂性缺血发作症状结束后一小时从所述受试者获得所述样品。

11. 权利要求5的用途,其中在不早于短暂性缺血发作症状结束后一小时从所述受试者获得所述样品。

12. 权利要求6的用途,其中在不早于短暂性缺血发作症状结束后一小时从所述受试者获得所述样品。

13. 权利要求1至12中任一项的用途,其中:

a. 所述参照量源自来自自己知展现过短暂性缺血发作的受试者的样品,且其中来自测试受试者的样品中NT-原ANP的量基本等于所述参照量或大于所述参照量指示所述受试者已展现过短暂性缺血发作,和/或

b. 其中所述参照量源自来自自己知未展现过短暂性缺血发作的受试者的样品,且其中来自测试受试者的样品中NT-原ANP的量基本等于所述参照量或低于所述参照量指示所述受试者未展现过短暂性缺血发作。

14. 权利要求1至12中任一项的用途,其中所述参照量是计算的参照量,且其中来自测试受试者的样品中NT-原ANP的量大于所述计算的参照量指示所述受试者已展现过短暂性缺血发作,且其中来自测试受试者的所述样品中NT-原ANP的量低于所述计算的参照量指示

所述受试者未展现过短暂性缺血发作。

15. 权利要求1至12中任一项的用途,其中所述受试者不患有心力衰竭和/或冠状动脉病。

16. 权利要求13的用途,其中所述受试者不患有心力衰竭和/或冠状动脉病。

17. 权利要求14的用途,其中所述受试者不患有心力衰竭和/或冠状动脉病。

18. 权利要求1至12、16和17中任一项的用途,其中所述受试者是人。

19. 权利要求13的用途,其中所述受试者是人。

20. 权利要求14的用途,其中所述受试者是人。

21. 权利要求15的用途,其中所述受试者是人。

22. NT-原ANP多肽和/或特异性结合其的检测剂制备用于在怀疑展现过短暂性缺血发作的受试者的血液、血清或血浆样品中诊断短暂性缺血发作的试剂盒的用途,其中将测定的NT-原ANP的量与参照量比较,由此诊断所述受试者是否展现过短暂性缺血发作,其中怀疑展现过短暂性缺血发作的所述受试者在获得所述样品前72小时内已显示短暂性缺血发作的症状且所述受试者在获得所述样品时不再显示短暂性缺血发作的症状。

23. 权利要求22的用途,其中所述受试者是人。

24. 一种用于诊断短暂性缺血发作的装置,所述装置包含:

a) 一种包含针对NT-原ANP多肽的检测剂的分析单元,所述分析单元用于测定怀疑展现过短暂性缺血发作的受试者的血液、血清或血浆样品中所述NT-原ANP多肽的量;和

b) 一种包含数据处理器的评估单元,所述评估单元用于将通过所述分析单元测定的量与数据库中存储的参照量进行比较从而建立NT-原ANP诊断,

a. 其中所述参照量源自来自自己已知展现过短暂性缺血发作的受试者的样品,且其中来自测试受试者的样品中NT-原ANP的量基本等于所述参照量或大于所述参照量指示所述受试者已展现过短暂性缺血发作,和/或

b. 其中所述参照量源自来自自己已知未展现过短暂性缺血发作的受试者的样品,且其中来自测试受试者的样品中NT-原ANP的量基本等于所述参照量或低于所述参照量指示所述受试者未展现过短暂性缺血发作,

其中怀疑展现过短暂性缺血发作的所述受试者在获得所述样品前72小时内已显示短暂性缺血发作的症状且在获得所述样品时不再显示TIA的症状。

25. 权利要求24的装置,其中所述受试者在获得所述样品前24小时内已显示短暂性缺血发作的症状。

26. 权利要求24的装置,其中在获得所述样品前72小时内诊断出所述受试者是否展现过短暂性缺血发作。

27. 权利要求25的装置,其中在获得所述样品前72小时内诊断出所述受试者是否展现过短暂性缺血发作。

28. 权利要求26的装置,其中在获得所述样品前24小时内诊断出所述受试者是否展现过短暂性缺血发作。

29. 权利要求27的装置,其中在获得所述样品前24小时内诊断出所述受试者是否展现过短暂性缺血发作。

30. 权利要求24至29中任一项的装置,其中在不早于短暂性缺血发作症状结束后一小

时从所述受试者获得所述样品。

31. 权利要求24至29中任一项的装置,其中所述参照量是计算的参照量,且其中来自测试受试者的样品中NT-原ANP的量大于所述计算的参照量指示所述受试者已展现过短暂性缺血发作,且其中来自测试受试者的所述样品中NT-原ANP的量低于所述计算的参照量指示所述受试者未展现过短暂性缺血发作。

32. 权利要求30的装置,其中所述参照量是计算的参照量,且其中来自测试受试者的样品中NT-原ANP的量大于所述计算的参照量指示所述受试者已展现过短暂性缺血发作,且其中来自测试受试者的所述样品中NT-原ANP的量低于所述计算的参照量指示所述受试者未展现过短暂性缺血发作。

33. 权利要求24至29和32中任一项的装置,其中所述受试者不患有心力衰竭和/或冠状动脉病。

34. 权利要求30的装置,其中所述受试者不患有心力衰竭和/或冠状动脉病。

35. 权利要求31的装置,其中所述受试者不患有心力衰竭和/或冠状动脉病。

用于诊断中风的NT-原ANP和NT-原BNP

发明领域

[0001] 本发明涉及一种用于诊断受试者中的短暂性缺血发作(TIA)的方法,所述受试者被怀疑已展现过短暂性缺血发作(Transitory ischemic attack),但尚未展现中风(stroke)。该方法基于来自所述受试者的样品中NT-原ANP量的测定。而且,本发明还针对一种用于诊断受试者中的急性脑缺血事件(acute cerebral ischemic event)的方法,其基于来自受试者的样品中NT-原BNP和NT-原ANP量的测定。所述方法还包括计算NT-原BNP和NT-原ANP的量的比率的步骤。本发明还涉及用于实施TIA诊断和用于诊断急性脑缺血事件的系统,和在实施本文所公开的方法中使用的试剂和试剂盒。本发明进一步涵盖适用于实施本发明方法的试剂盒和装置。

[0002] 发明背景

[0003] 中风是继缺血性心脏病后第二位的在高收入国家中的伤残调整寿命年损失(lost disability-adjusted-life years)的起因和全球范围内的死亡起因。如果早期呈现,中风的不良后果可通过融栓改善,在后期呈现的情况中通过使用阿司匹林和抗凝的二级预防(预防二级中风)似乎是避免疾病进展的唯一适宜方法(van der Worp B和van Gijn J.NEJM 2007:357:572.578)。

[0004] 短暂性缺血发作(TIA)是仅短暂持续的中风症状的发作,标准定义是低于24h,但大多数TIA持续低于1h。TIA的起因类似于缺血性中风的起因,但由于TIA可能预报中风,因此它们是应当分开考虑的一项重要风险因子(参见W.E.Smith等,Cerebrovascular Diseases,Chapter 364 in Harrison,Principles of Internal Medicine,17th edition)。

[0005] 一项特定的挑战代表为对短暂性缺血发作(TIA)的诊断,因为症状仅持续数小时,然后症状消失,而结果是主治医师不确定诊断和需要的工作。而且,症状依赖于受影响的区域(和伴随的血管)。大脑中动脉(arteria cerebri media)经常受影响,相关的症状包括失语症、对侧臂或腿的虚弱。大脑前部(cerebri anterior)的TIA可能与失语症、apractnosia、意识错乱(confusion)、失读症等有关,如果脑下部的中心部分受影响,那么症状可能是意向震颤(intention tremor)、共济失调感觉迟钝(ataxia dysesthesia)等。髓质的损伤可以包括眩晕、复视、恶心和呕吐。如此,许多症状可能是非特定的。而且,由于它们仅暂时存在而不能得到验证。因此,TIA的诊断可能是困难的而且不能容易地与其他疾病分开。

[0006] TIA由脑局部区域的暂时灌注不足和缺血导致,而功能障碍由产生代谢和离子扰乱的局部水肿引起的脑的可逆性功能异常所导致。TIA的诊断是重要的,因为有过TIA的人相比于没有这些TIA发作的人有显著增加的中风风险。中风的危险在TIA的2天后是4-5%,而在7天后是11%。在先前的48小时内患有过TIA,TIA持续>10分钟,有心房纤维颤动,而且有进展性颈动脉狭窄和TIA按照渐强模式发生超过一次的患者具有最大的中风风险。

[0007] NT-原BNP和NT-原ANP是公知的标志物。NT-原BNP属于已知从脑释放的脑利钠肽(natriuretic peptide),然而大多数BNP源于心脏。NT-原BNP和NT-原ANP都与中风的心

栓性(cardioembolic)起因相关(Rodrigues-Yanez M.等,Disease Markers 2009:26:189-195)。

[0008] Estrada等.1994(Am J Hypertens,7:1085-1089)披露了用于诊断患者中的缺血性中风的基于ANP检测的方法。依照Estrada,ANP水平在中风患者中高于在正常志愿者中。

[0009] Sato等.1995(Kurume Med J,42:71-77)披露了用于区分高风险和低风险中风患者且还用于区分心栓性中风和腔隙性(lacunar)中风的基于ANP检测的方法。

[0010] Mäkikallio等.2005(Stroke,36:1016-1020)披露了NT-原ANP和NT-原BNP的血浆水平在(急性)中风患者中等于或高于患有急性心肌梗塞的患者,且该水平在中风患者中相对于健康患者升高。还涵盖脑损伤的幅度与NT-原ANP和NT-原BNP的水平平行。

[0011] Shibazaki等.2009(Int Med 48:259-264)披露了用于在中风患者中区分心栓性中风和其他中风类型(包括小血管疾病、大血管疾病)的基于血浆BNP检测的方法。

[0012] Rodrigues-Yanez等.2009(Disease Markers 26:189-195)披露了用于在中风患者中将心栓性中风与动脉粥样硬化血栓形成(atherothrombotic)、腔隙性和其他中风类型区分开来的基于血清NT-原BNP检测的方法。对NT-原ANP的相应测量显示类似的效用,尽管可信的数据要少一些。

[0013] Naruse等(Stroke 1991:22:61-65)描述了一项研究,其中使大鼠中的中左侧脑动脉闭塞以诱发脑水肿。进一步灌注ANP。ANP灌注导致脑水肿的降低。该结果解释为一种保护效应。最近,Wiggins A.K.等.(Neuroscience 2003:118:715-26)报道了在扩散性抑制(spreading depression)模型的大鼠中的ANP表达并将ANP视为一种神经保护途径。

[0014] 发明人在较大的TIA和中风患者的分组中测定了NT-原ANP和NT-原BNP的量。发现NT-原ANP是TIA的可靠标志物。该观察是有利的,因为TIA的诊断是困难的(尤其是相对于中风的诊断而言)。而且,显示TIA患者中的NT-原ANP水平在TIA后升高达相当长的时间。这允许甚至在TIA后数天对TIA的诊断。

[0015] 需要用于诊断受试者中的短暂性缺血发作的手段和方法。因此,本发明的根本性技术问题可视为提供用于满足前述需要的手段和方法。

[0016] 所述技术问题由权利要求和下文中表征的实施方案解决。

[0017] 发明概述

[0018] 用于诊断短暂性缺血发作(TIA)的方法

[0019] 本发明涉及一种用于诊断受试者中的短暂性缺血发作(TIA)的方法,所述受试者被怀疑已展现出短暂性缺血发作,但尚未展现中风,所述方法包括测定来自所述受试者的样品中NT-原ANP的量。

[0020] 在一个优选的实施方案中,前述方法进一步包括将测定的NT-原ANP量与参照量比较。由此,诊断短暂性缺血发作。

[0021] 如此,本发明具体地涉及一种用于诊断受试者中的短暂性缺血发作(TIA)的方法,所述受试者被怀疑已展现出短暂性缺血发作,但尚未展现中风,所述方法包括以下步骤:

[0022] a. 测定来自所述受试者的样品中NT-原ANP的量,和

[0023] b. 将如此测定的NT-原ANP量与参照量比较,由此诊断短暂性缺血发作。

[0024] 优选地,基于步骤b)中实施的比较的结果,通过实施进一步的步骤c)诊断所述受试者是否展现过短暂性缺血发作,来诊断所述受试者是否展现过短暂性缺血发作。

[0025] 优选地,本发明的方法是离体方法。而且,它除了上文明确提及的那些外还可以包括其他步骤。例如,另外的步骤可以涉及样品预处理或评估由所述方法获得的结果。所述方法可以手动或由自动化辅助进行。优选地,步骤(a)和/或(b)可以全部或部分由自动化辅助,例如通过适用于步骤(a)中测定或计算机执行的比较和/或基于步骤(b)中所述比较的诊断的机器人和感应设备。更优选地是完全以自动化方式实施所述方法。在这种情况下,在步骤(b)中建立的诊断结果以适宜的输出形式生成,从而其可用作例如医学专业人员建立最终临床诊断的辅助。

[0026] 因此,本发明优选地还涉及一种用于诊断受试者中的短暂性缺血发作(TIA)的系统,所述受试者被怀疑已展现出短暂性缺血发作,但尚未展现中风,所述系统包含:

[0027] a)配置为使来自所述受试者的样品的一部分与对标志物NT-原ANP具有特异性结合亲和力的配体体外接触的分析单元,

[0028] b)配置为检测来自与所述配体接触的所述受试者样品部分的信号的分析单元,

[0029] c)一种计算装置,其具有处理器且与所述分析单元处于可操作联系中,和

[0030] d)一种非短暂性机器可读媒体(media),其包含可由所述处理器执行的多个指令,所述指令在执行时计算所述标志物的量,并将所述标志物的量与参照量比较,由此诊断出短暂性缺血发作。

[0031] 发明详述

[0032] 如本文中使用的,术语“受试者”指动物,优选哺乳动物,更优选是人。依照本发明的受试者应被怀疑为展现过短暂性缺血发作。优选地,所述受试者应被怀疑为在获得待测试样品前72小时内,更优选48小时内,且最优选24小时内展现过短暂性缺血发作。因此,应依照本发明诊断测试受试者是否展现过TIA或尚未展现过TIA,优选地在获得待测试样品前72小时内,更优选48小时内,且最优选24小时内。

[0033] 优选地,待测试的受试者(以及得到参照量的受试者)不具有受损的肾功能。如何评估受试者是否展现受损的肾功能是本领域中公知的。可以通过已知的且认为合适的任何手段来诊断肾病症。具体地,可以通过肾小球滤过率(GFR)来评估肾功能。例如,GFR可以通过Cockcroft-Gault或MDRD公式计算(Levey 1999,Annals of Internal Medicine,461-470)。GFR是每单位时间从肾小球毛细血管过滤到Bowman囊中的流体体积。临床上经常将其用于测定肾功能。GFR最初通过将菊粉(inulin)注射到血浆中来估测(从来都不能测定GFR,从公式如Cockcroft Gault公式或MDRD公式衍生的所有计算仅递送估测值而非“真实的”GFR)。由于菊粉在肾小球过滤后不被肾再吸收,因此其排泄速率直接与水 and 溶质越过肾小球滤器的过滤速率成比例。然而,在临床实践中,将肌酐清除率用于测量GFR。肌酐酐是一种在身体中合成的内源性分子,其由肾小球游离过滤(但还由肾小管以非常小的量分泌)。肌酐酐清除率(CrCl)因此是GFR的紧密近似。GFR通常以毫升每分钟(mL/min)记录。男性GFR的正常范围为97至137mL/min,女性GFR的正常范围为88至128ml/min。如此,特别涵盖不展现受损的肾功能的受试者的GFR在此范围内。而且,所述受试者优选具有低于0.9mg/dl,更优选低于1.1mg/dl且最优选低于1.3mg/dl的血液肌酐酐水平(特别是血清肌酐酐水平)。

[0034] 优选地,所述受试者具有针对急性脑缺血事件,特别是TIA的风险因子。术语“急性脑缺血事件”在本文中别处描述。优选的风险因子包括冠状动脉病、心力衰竭(特别是急性心力衰竭)、收缩和/或舒张性心功能障碍、瓣膜性心脏病和动脉高血压。别的风险因子是糖

尿病和肥胖。因此,所述测试受试者优选限制这些风险因子中的至少一种。具体地,涵盖所述测试受试者(和参照受试者,即得到参照量的受试者)患有冠状动脉病和/或心力衰竭。

[0035] 最优选地,所述受试者患有心力衰竭。这尤其适用于如果在本发明方法的背景中计算NT-原ANP和NT-原BNP量的比率的情况下(见本文中别处)。术语“心力衰竭”(heart failure)是本领域中公知的。如本文中使用的,该术语优选指受损的收缩和/或舒张性心功能,伴有心力衰竭的明显迹象。优选地,心力衰竭在本文中指慢性心力衰竭。更优选地,它是急性心力衰竭。术语“急性心力衰竭”优选指在最长2周内心功能的恶化,有或特别地没有在前面的慢性心力衰竭。

[0036] 可将HF分类为多种严重程度。根据NYHA(纽约心脏协会)分类,心力衰竭患者被分成属于NYHA I、II、III和IV类。患有心力衰竭的患者已经历其心包、心肌膜、冠状循环或心瓣膜的结构性和功能性变化。他将不能完全恢复其健康,而且需要治疗学处理。NYHA I类患者没有明显的心血管疾病的症状,但已经具有功能受损的客观证据。NYHA II类患者具有轻微的身体活动限制。NYHA III类患者显示显著的身体活动限制。NYHA IV类患者无法没有不适地进行任何身体活动。他们在休息时显示心功能不全的症状。

[0037] 这一功能分类得到更新近的美国心脏病学协会(American College of Cardiology)和美国心脏协会(American Heart Association)的分类的补充(参见J. Am. Coll. Cardiol. 2001;38;2101-2113,2005年更新,参见J. Am. Coll. Cardiol. 2005;46;e1-e82)。定义了4个阶段A、B、C和D。阶段A和B不是HF但视为帮助鉴定早在形成“真正的”HF之前的患者。A和B阶段患者最佳定义为那些具有形成HF的风险因子的患者。例如,患有冠状动脉病、高血压或糖尿病,但尚未显现受损的左心室(LV)功能、肥大或几何室变形(geometric chamber distortion)的患者将被视为阶段A,而无症状但显示LV肥大和/或受损的LV功能的患者将称为阶段B。阶段C指具有与根本的结构心脏病有关的HF的当前或过去的症状的患者(许多患有HF的患者),而阶段D指患有真正的顽固性HF的患者。

[0038] 如本文中使用的,术语“心力衰竭”优选指上文提述的ACC/AHA分类的阶段C和D。在这些阶段,受试者显示典型的心力衰竭症状。因此,患有心力衰竭的患者患有根据ACC/AHA分类的阶段C或D心力衰竭。更优选地,术语“心力衰竭”根据NYHA分类归为NYHA III或IV。

[0039] 还涵盖依照本发明方法要测试的受试者(以及不展现急性冠脉综合症(缩写为“ACS”)的参照受试者)。如本文中使用的,术语“ACS”优选包括STEMI(ST-升高心肌梗塞);NSTEMI(非ST-升高心肌梗塞)和不稳定的心绞痛。还涵盖要测试的受试者优选不具有ACS的病史。优选地,所述受试者不应在实施本发明方法前一周内,或更优选地一月内(更准确地,在获得样品前一月内)患有过ACS。

[0040] 优选地,所述受试者也不患有心脏循环事件(特别是在获得样品时)。术语“心脏循环事件”优选指心功能的突然衰退(deterioration)。这类衰退优选由心律失常、短暂的心脏骤停或肺栓塞导致。心律失常可以两种形式发生:缓慢心律失常(bradyarrhythmia)和快速心律失常(tachyarrhythmia)。在缓慢心律失常中,心跳的频率相比于健康的受试者病理性降低,优选地,在缓慢心律失常中,心率低于60次心跳每分钟。最频繁的缓慢心律失常形式是窦性心动过缓(sinus bradycardia)、窦房传导阻滞(sinoatrial block)、窦性停搏(sinus arrest)、病态窦综合征(sick sinus syndrome)和房室传导阻滞(atrioventricular block)。在快速心律失常中,频率相比于健康的受试者病理性升高,优

选地,在快速心律失常中,心率高于100次心跳每分钟。大多数快速心律失常的病例是患有结构性心血管疾病的室上性心动过速(supraventricular tachycardia)、患有Wolff-Parkinson-White综合症的心房颤动(atrial fibrillation)、具有1:1房室传导(atrioventricular conduction)的心房扑动(atrial flutter)和室性心动过速(ventricular tachycardia)。肺栓塞是由血液凝块(血栓栓塞)或气泡(空气栓塞)导致的肺动脉阻塞。血液凝块通常在骨盆静脉或下肢静脉中形成并迁移到肺动脉,在该处它们被堵住。空气栓塞优选由潜水事故或漏静脉导管导致。肺栓塞的症状包括胸部疼痛、呼吸困难和咳血(咳出血)。肺循环中的压强可能上升且可能导致右心室衰竭。心脏循环事件也可以通过目前已知的方法测定或确认。

[0041] 术语“短暂性缺血发作”(本文中缩写为TIA)是本领域中公知的(参见W.E.Smith等,Cerebrovascular Diseases,chapter 364 in Harrison,Principles of Internal Medicine,17th edition)。如本文中使用的,该术语优选指由缺血导致的神经功能障碍的短暂性发作(episode),没有急性梗塞形成,由此没有组织死亡。如此,与中风相对,TIA不引起由于脑细胞死亡所致的不可逆的组织损伤。TIA与中风共享相同的根本性病因学:脑血液流动的破坏(CBF)。而且,TIA的症状通常与中风的相同。TIA和中风的症状是本领域中公知的。而且,本领域中公知它们可能依赖于受缺血影响的脑部区域(亦参见下文)且它们的严重性可以变化。症状包括暂时性视觉损失(一过性黑矇(amaurosis fugax))、讲话困难(失语症);身体一侧虚弱(轻偏瘫),和麻木或刺痛(感觉异常(paresthesia)),通常在身体一侧。别的症状是言语障碍(dysphasia)、构音困难(dysarthria)、偏盲(hemianopia)、虚弱、共济失调和疏忽(neglect)。头晕、缺少协调或不良平衡也是与TIA有关的症状。

[0042] TIA的症状是短暂的且通常持续几秒至几分钟,而且大多数症状在60分钟内消失。因此,症状仅简短地持续,优选短于24小时,特别是短于1小时。

[0043] 依照前述方法要测试的受试者未展现中风,即受试者不应已展现过中风。优选地,所述受试者不应在获得要测试的样品前72小时内,更优选地48小时内,甚至更优选地24小时内展现过中风。最优选地,受试者不应在获得所述测试样品前1或2周内展现过中风。

[0044] 术语“中风”是本领域中公知的。该术语优选地涵盖缺血性中风。术语“缺血性中风”也是熟练技术人员充分理解的(参见例如Adams等.,Guidelines for the Early Management of Adults With Ischemic Stroke,A Guideline From the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council,Clinical Cardiology Council,Cardiovascular Radiology and Intervention Council,and the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research Interdisciplinary Working Groups in Stroke.2007;38:1655,通过提述将其完整公开内容据此并入)。如本文中使用的,该术语优选地指脑缺血中风。而且,其优选指由减少的到脑部或其部分的血液流动(导致降低的到脑细胞的氧气投递(供应不足))导致的中风。在本发明方法的背景中的中风导致由脑细胞死亡所致的不可逆的组织损伤。因此,如本文中使用的术语“中风”不包括TIA。

[0045] 中风的症状是本领域中公知的。优选地,它们是与上文对于TIA所公开的相同的症状。

[0046] 缺血性中风可能由脑大动脉的动脉粥样硬化血栓形成(atherothrombosis)或栓

塞、由凝固病症或非动脉粥样化血管疾病、由导致降低的总体血液流动的心脏缺血所造成。缺血性中风优选选自下组：动脉粥样硬化血栓形成性中风、心栓性中风和腔隙性中风。确定中风类型是本领域技术人员已知的且包括不同的成像技术如心回波描记术(echocardiography)、心电图和doppler超声。优选地，所述缺血性中风是急性缺血性中风。

[0047] TIA和中风是脑部特定或所有部分缺血和/或灌注不足的结果。症状依赖于受影响的区域(和伴随的血管)。大脑中动脉(arteria cerebri media)经常受影响，相关的症状包括失语症、对侧臂或腿的虚弱，大脑前部(cerebri anterior)的TIA可能与失语症、apractnosia、意识错乱、失读症等有关，如果脑下部的中心部分受影响，那么症状可能是意向震颤、共济失调感觉迟钝等。髓质的损伤可以包括眩晕、复视、恶心和呕吐。

[0048] 术语“缺血性中风”优选不包括出血性中风。

[0049] 可通过公知的方法来确定受试者是否患有过中风，特别是缺血性中风。而且，中风的症状是本领域中公知的，且例如记载于Adams等。(在上文引文)。例如，中风症状包括突然的脸、臂或腿，尤其是在身体一侧上的麻木或虚弱、突然的意识错乱、讲话或理解有问题、突然在一只或两只眼睛中有视力问题、和突然走路有问题、头晕、失去平衡或协调。

[0050] 如上文陈述的，依照前述方法要测试的受试者应被怀疑展现过短暂性缺血发作。优选地，怀疑展现过短暂性缺血发作的受试者是已显示TIA症状的受试者。优选地，所述受试者在获得测试样品前的某段窗口期内已显示TIA的症状。优选地，所述受试者在获得样品前72小时内，更优选地48小时内，和最优选地24小时内已显示TIA的症状。然而，优选地，所述测试样品应在不早于TIA症状结束后1小时，特别是不早于2小时获得。另外，涵盖所述测试样品在不早于TIA症状结束后4小时获得。还涵盖所述测试样品在不早于TIA症状结束后6小时获得。

[0051] 还涵盖受试者在获得样品前12小时内显示过TIA的症状。

[0052] 通过本发明的前述方法，应诊断出TIA。如本文中使用的，术语“诊断”意为评估依照本发明方法所指的受试者是否展现过短暂性缺血发作。具体地，应诊断所述受试者是否在获得要测试的样品前的某段窗口期内展现过短暂性缺血发作。在一个优选的实施方案中，应诊断出所述受试者在获得样品前72小时内是否展现过短暂性缺血发作。在一个进一步的优选的实施方案中，应诊断所述受试者在获得样品前48小时内是否展现过短暂性缺血发作。在一个甚至进一步的优选的实施方案中，应诊断所述受试者在获得样品前24小时内是否展现过短暂性缺血发作。优选地，所述受试者在获得样品时已不再显示TIA的症状。

[0053] 如本领域技术人员会理解的，评估本文中所指的受试者是否展现过TIA通常不意图对100%的要诊断的受试者是正确的。然而，该术语要求该评估对于受试者的统计学显著的部分(例如分组研究中的一个组)是正确的。而如此，本发明的方法至少提供了对于建立最终临床诊断的辅助。使用多种公知的统计学评估工具，本领域技术人员可以不用再费周折地确定该部分是否是统计学显著的，所述统计学评估工具例如确定置信区间、p值确定、Student's t检验、Mann-Whitney检验等。详情见于Dowdy和Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, New York 1983。优选的置信区间为至少90%、至少95%、至少97%、至少98%或至少99%。P值优选为0.1、0.05、0.01、0.005、或0.0001。

[0054] 术语“样品”指体液样品、分离细胞样品或来自组织或器官的样品。体液样品可通过公知的技术获得，且优选包括血液、血浆、血清或尿液样品，更优选地，血液、血浆、尿液或

血清样品,最优选地,血液、血浆或血清。组织或器官样品可通过例如活组织检查从任意组织或器官获得。分离的细胞可通过分离技术如离心或细胞分选从体液或组织或器官获得。优选地,细胞、组织或器官样品获自那些表达或产生本文中所指的肽的细胞、组织或器官。优选地,所述样品在短暂性缺血发作的症状开始后不超过72小时获得。更优选地,所述样品在短暂性缺血发作的症状开始后不超过48小时,且最优选地不超过24小时获得。优选地,所述受试者在获得所述样品时不再显示TIA的症状。

[0055] 标志物NT-原ANP(N端原心房利钠(natriuretic)肽)是本领域中公知的(参见例如Bonow,1996,Circulation 93:1946-1950,其通过提述完整据此并入)。NT-原ANP属于利钠肽组。NT-原ANP通过从前体分子前-原ANP肽的蛋白水解切割生成,从而得到活性激素ANP(心房利钠肽)和相应的N端片段NT-原ANP。ANP在心房肌细胞中合成。在释放时,激素原被分裂成等摩尔量的高度生物学活性的原ANP(氨基酸99至126)和NT-原ANP(氨基酸1至98)。该活性激素涉及身体水、钠、钾和脂肪组织的内稳态控制。它由肌细胞在心脏的上部室中应答高血压而释放。如本文中使用的,NT-原ANP优选指人NT-原ANP。术语“NT-原ANP”优选还涵盖前述人NT-原ANP多肽的变体。这类变体具有与前述NT-原ANP多肽相同的基本的生物学和免疫学特性。具体地,如果它们通过本文中所述的相同的测定法例如通过使用特异性识别所述NT-原ANP多肽的多克隆或单克隆抗体的ELISA测定法是可检测的,那么它们共享相同的基本的生物学和免疫学特性。具体的NT-原ANP和NT-原BNP的变体的例子及其测量方法是已知的(Ala-Kopsala,M.,Magga,J.,Peuhkurinen,K.等.(2004):Molecular heterogeneity has a major impact on the measurement of circulating N-terminal fragments of A-type and B-type natriuretic peptides.Clinical Chemistry,vol.50(9),1576-1588)。而且,应理解如依照本发明所指的变体应具有由于至少一个氨基酸取代、缺失和/或添加而不同的氨基酸序列,其中所述变体的氨基酸序列优选仍然与特定的NT-原ANP多肽的氨基酸序列分别至少50%、60%、70%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、或99%相同,优选在人NT-原ANP的整个长度内(特别是在整个长度内)。两个氨基酸序列之间的同一性程度可通过本领域公知的和本文中别处描述的算法来测定。上文所指的变体可以是等位变体或任何其他物种特异性的同源物、paralog(侧系同源物)、或直系同源物。而且,本文所指的变体包括特定NT-原ANP多肽或前述变体类型的片段或亚基,只要这些片段具有如上文所述的基本的免疫学和生物学特性。这类片段可以是例如NT-原ANP多肽的降解产物。还包括由于翻译后修饰如磷酸化或十四烷基化(myristylation)而不同的变体。

[0056] 测定本说明书中所指的肽或多肽的量涉及测量量或浓度,优选半定量或定量地。测量可以直接或间接完成。直接测量涉及基于从所述肽或多肽本身获得且其强度直接与样品中存在的肽分子数相关的信号来测量所述肽或多肽的量或浓度。这类信号-有时在本文中称为强度信号-可例如通过测量所述肽或多肽的特定物理或化学特性的强度值来获得。间接测量包括测量从次要组分(即不是肽或多肽本身的组分)或生物学读出系统例如可测量的细胞应答、配体、标记或酶反应产物获得的信号。

[0057] 依照本发明,测定肽或多肽的量可通过所有已知用于测定样品中肽的量的手段来实现。所述手段包括可以以多种夹心、竞争或其他测定形式利用经标记分子的免疫测定和方法。这类测定法优选地基于检测剂如特异性识别要测定的肽或多肽的抗体。检测剂应能够直接或间接地生成指示所述肽或多肽的存在或不存在的信号。而且,优选地,信号强度可

与样品中存在的多肽量直接或间接相关(例如成反比)。别的适宜的方法包括测量特异于所述肽或多肽的物理或化学特性,如其准确的分子质量或NMR谱。所述方法包括,优选地,生物传感器、偶联于免疫测定法的光学装置、生物芯片、分析装置如质谱仪、NMR分析仪、或层析装置。另外,方法包括基于ELISA的微板方法、全自动或机器人免疫测定法(例如可在Elecsys™分析仪上获得)、CBA(酶促Cobalt Binding Assay,例如可在Roche-Hitachi™分析仪上获得)、和胶乳凝集测定法(例如可在Roche-Hitachi™分析仪上获得)。

[0058] 优选地,测定肽或多肽的量包括以下步骤:(a)使能引发细胞应答的细胞与肽或多肽接触达适宜的一段时间,所述细胞应答的强度指示所述肽或多肽的量,(b)测量所述细胞应答。对于测量细胞应答,优选地将所述样品或经加工样品添加到细胞培养物并测量内部或外部细胞应答。所述细胞应答可以包括报道基因的可测量的表达或物质例如肽、多肽或小分子的分泌。所述表达或物质应生成与所述肽或多肽的量相关的强度信号。

[0059] 还优选地,测定肽或多肽的量包括测量可从样品中的所述肽或多肽获得的特定强度信号的步骤。如上文描述的,这类信号可以是在特异于所述肽或多肽的质谱或NMR谱中观察到的特异于所述肽或多肽的m/z变量处观察到的信号强度。

[0060] 测定肽或多肽的量优选地可以包括以下步骤:(a)使所述肽与特定配体接触,(b)(任选地)除去未结合的配体,(c)测量结合的配体的量。

[0061] 依照一个优选的实施方案,所述接触、除去和测量的步骤可以由本文中公开的系统分析单元实施。依照一些实施方案,所述步骤可以由所述系统的单个分析单元或彼此处于可操作联系的超过一个分析单元实施。例如,依照一个特定的实施方案,本文中公开的所述系统可以包含用于实施所述接触和除去步骤的第一分析单元和通过运输单元(例如机器人臂)可操作地连接于所述第一分析单元的第二分析单元,其实施所述测量步骤。

[0062] 结合的配体,特别是配体或配体/肽复合物,将生成强度信号。依照本发明的结合包括共价和非共价结合。依照本发明的配体可以是任何化合物,例如肽、多肽、核酸或小分子,其结合本文中描述的肽或多肽。优选的配体包括抗体、核酸、肽或多肽(如所述肽或多肽的受体或结合伴侣及其包含针对该肽的结合域的片段)、和适体(例如核酸或肽适体)。制备这类配体的方法是本领域中公知的。例如,对适宜的抗体或适体的鉴定和生产亦由商业供应商提供。本领域技术人员熟悉开发具有更高的亲和力或特异性的这类配体的衍生物的方法。例如,可将随机突变引入核酸、肽或多肽中。然后,可依照本领域中已知的筛选规程例如噬菌体展示来测试这些衍生物的结合。如本文中所指的抗体包括多克隆和单克隆抗体两者,以及它们的片段如能结合抗原或半抗原的Fv、Fab和F(ab)₂片段。本发明还包括单链抗体和人源化杂合抗体,其中将展现期望的抗原特异性的非人供体抗体的氨基酸序列与人接受抗体的序列组合。所述供体序列通常将含有至少该供体的抗原结合氨基酸残基,但也可包含供体抗体的其他结构和/或功能相关的氨基酸残基。这类杂合体可通过本领域中公知的几种方法来制备。优选地,所述配体或试剂特异性结合所述肽或多肽。依照本发明的特异性结合意指所述配体或试剂不应实质性结合(与其“交叉反应”)要分析的样品中存在的另一种肽、多肽或物质。优选地,特异性结合的肽或多肽应以比任何其他相关肽或多肽高至少3倍,更优选至少高10倍,甚至更优选至少高50倍的亲和力结合。非特异性结合可以是可容忍的,如果其仍然能区分并明确测量的话,例如根据其在Western印迹上的大小,或其样品中的相对更高的丰度。配体的结合可通过本领域已知的任意方法来测量。优选地,所述方

法是半定量或定量的。下文记载了用于测定多肽或肽的别的适宜的技术。

[0063] 首先,配体的结合可通过,例如NMR或表面等离子共振直接测量。根据优选的具体实施方案,配体结合的量通过本文公开的系统的分析单元执行。此后,测量的结合量可通过本文公开的系统的计算设备进行计算。第二,如果所述配体还充当感兴趣的肽或多肽的酶促活性底物,还可测量酶促反应产物(例如通过测量例如在Western印迹上经切割的底物的量测量蛋白酶的量)。或者,配体本身可能显示酶促特性,可使“配体/肽或多肽”复合物或所述肽或多肽结合的配体分别与合适的底物接触,通过生成强度信号而允许检测。对于酶促反应产物的测量,优选底物的量是饱和的。所述底物也可以在反应之前用可检测的标记物标记。优选地,样品与底物接触达适宜的时间段。适宜的时间段指产生可检测量的,优选可测量量的产物所必需的时间。可测量出现给定(例如可检测的)量的产物所必需的时间,而不必测量产物的量。第三,所述配体可与允许所述配体被检测和测量的标记物共价或非共价偶联。标记可通过直接或间接的方法进行。直接标记包括将标记物直接(共价或非共价地)偶联到配体上。间接标记牵涉将第二配体与所述第一配体(共价或非共价地)结合。第二配体应特异地结合第一配体。所述第二配体可以与合适的标记物偶联和/或作为结合于第二配体的第三配体的靶物(受体)。第二,第三或甚至更高级别的配体的作用通常是用来增强信号。合适的第二配体或更高级别的配体可以包括抗体,第二抗体,以及公知的链霉亲和素蛋白-生物素系统(Vector Laboratories, Inc.)。所述配体或底物也可以用本领域已知的一个或多个标签“加上标签”。此种标签可从而作为更高级别配体的靶物。合适的标签包括生物素,洋地黄毒苷,His-Tag,谷胱甘肽S转移酶,FLAG, GFP, myc-标签,甲型流感病毒血凝素(HA),麦芽糖结合蛋白,等等。对于肽或多肽,所述标签优选位于N端和/或C端。适合的标记物是任何可通过适当的检测方法检测的标记物。通常的标记物包括金颗粒、乳胶珠、9,10-二氢吡啶酯(acridan ester)、鲁米诺(luminol)、钌、酶活性的标记物、放射性标记物、磁性标记物(例如“磁性珠子”,包括顺磁性或超顺磁性标记物),以及荧光标记物。酶活性标记物包括,例如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、萤光素酶及其衍生物。用于检测的合适的底物包括二氨基联苯胺(DAB)、3,3'-5,5'-四甲基联苯胺、NBT-BCIP(氯化4-硝基四氮唑蓝和5-溴-4-氯-3-吡啶-磷酸,现成的储液在Roche Diagnostics有售)、CDP-Star™(Amersham Biosciences), ECF™(Amersham Biosciences)。合适的酶-底物组合可产生着色的反应产物、荧光或化学发光,其可以根据本领域已知的方法进行测量(例如使用光敏胶片或合适的照相系统)。对于酶促反应的测量,类似地应用上述标准。通常的荧光标记物包括荧光蛋白(如GFP及其衍生物)、Cy3、Cy5、德克萨斯红、荧光素和Alexa染料(例如Alexa 568)。更多的荧光标记物可购自例如Molecular Probes(Oregon)。还涵盖用量子点作为荧光标记物。典型的放射性标记物包括³⁵S, ¹²⁵I, ³²P, ³³P等等。放射性标记物可以通过任意已知的适当方法检测,例如光敏胶片或磷光显影仪(phosphor imager)。本发明的适当测量方法还包括沉淀法(尤其是免疫沉淀法)、电化学发光法(电促化学发光, electro-generated chemiluminescence)、RIA(放射免疫分析)、ELISA(酶联免疫吸附分析)、夹层酶免疫试验(sandwich enzyme immune tests)、电化学发光夹层免疫分析(ECLIA)、解离-增强的镧系元素荧光免疫分析(dissociation-enhanced lanthanide fluoro immuno assay, DELFIA)、闪烁亲近测定法(scintillation proximity assay, SPA)、比浊法、浊度法、乳胶-增强的比浊法或浊度法,或者固相免疫试验。本领域已知的其它方法(如凝胶电

泳、2D凝胶电泳、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)、Western印迹法和质谱法)可单独使用,或与标记或者上述其它检测方法组合使用。

[0064] 所述肽或多肽的量也可以,优选地依照下述步骤确定:(a)使包含所述肽或多肽的样品与含上述肽或多肽的配体的固体支持物接触,(b)测量与所述支持物结合的肽或多肽的量。优选选自由核酸,肽,多肽,抗体和适体组成的组的配体,优选地以固定化的形式存在于固体支持物上。制备固体载体的材料是本领域公知的,除其它已知材料外,包括可商购的柱材料,聚苯乙烯珠,乳胶珠,磁性珠,胶体金属颗粒,玻璃和/或硅芯片或表面,硝酸纤维素条,膜,片,Duracyte,反应盘的孔和壁,塑料管,等等。所述的配体或试剂可以与很多不同的载体结合。公知的载体的实例包括玻璃、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚丙烯、聚乙烯、聚碳酸酯、葡聚糖、尼龙、直链淀粉、天然或经修饰的纤维素、聚丙烯酰胺、琼脂糖和磁铁矿。依照本发明的目的所述载体的性质可以是可溶性的或不溶性的。固定(fixing)/固定化(immobilizing)所述载体适当方法是本领域所公知的,包括但不限于离子的、疏水的、共价的相互作用等等。还可以考虑使用“悬浮阵列”作为根据本发明的阵列(Nolan 2002, Trends Biotechnol. 20(1):9-12)。在此种悬浮阵列中,所述的载体,例如微珠或微球以悬浮状态存在。所述的阵列由不同的微珠或微球组成,所述的微珠或微球可能是经标记的,载有不同的配体。制备此种阵列的方法,例如基于固相化学或对光不稳定的保护基团,是本领域公知的(US 5,744,305)。

[0065] 如本文中使用的,术语“量”包括所述多肽或肽的绝对量,所述多肽或肽的相对量或浓度,以及与之相关或者从其衍生的任何值或参数。这类值或参数包括来自通过直接测量从所述肽所获得的全部特定物理或化学特性的强度信号值,例如质谱或NMR谱中的强度值。此外,还包括本说明书其它部分所描述的、通过间接测量所获得的全部值或参数,例如在所述肽的应答中由生物读出系统确定的应答水平,或者从特异性结合配体获得的强度信号。应理解,与前述的量或参数相关的值也可以通过所有的标准化数学运算获得。根据本发明的优选实施方案,所述“量”的确定通过所述公开的系统执行,其中基于由所述系统的一个或多个分析单元执行的接触和测量步骤,计算设备测定所述“量”。

[0066] 优选地,如本文中所指的多肽,如此NT-原ANP和NT-原BNP的量以实施例部分所描述的测定法测定。例如,可通过检测前-原ANP肽的氨基酸1至98来测定NT-原ANP的量。

[0067] 如本文中使用的,术语“比较”涵盖将要分析的样品所包含的所述肽或多肽的量与本说明书中别处指定的适宜参照源的量进行比较。应理解如本文中使用的比较指相应的参数或值的比较,例如将绝对量与绝对参照量比较,而将浓度与参照浓度或从测试样品获得的强度信号与参照样品的同一类型的强度信号比较。本发明方法的步骤(b)中所指比较可以手动或计算机辅助(例如通过(例如本文公开的系统的)计算装置)进行。对于计算机辅助的比较,可通过计算机程序将测定量的值与存储于数据库中的对应于适宜参照的值比较。所述计算机程序可以进一步评估比较的结果,即自动化地提供适宜输出形式的期望评估,即诊断结果。所述诊断结果优选地可以充当用于例如医学专业人员建立最终临床诊断的辅助。

[0068] 基于测定的和参照量的比较,应当可以评估测试受试者是否展现过TIA。例如,比较的结果可以以原始数据给出(绝对或相对量),而在一些情况中以词、短语、符号、或数值的形式指示物给出,其可以指示具体的诊断。因此,要选择参照量从而比较的量中的不同

或身份允许鉴定出那些属于已展现过或未展现过TIA的受试者组的测试受试者。该方法允许排除(除去)或鉴定(划入)已展现过或未展现过TIA的受试者。如本文中使用的,量中的差异即升高或降低是统计学显著的差异。可通过本文中别处所述的统计学技术来确定差异是否是统计学显著的。类似地,量中的身份涵盖相等的量和那些量中的不统计学显著且对于测量参数在标准偏差内的差异。

[0069] 如本文中使用的,术语“参照量”指允许将受试者分成(i)已展现过TIA的受试者组或(ii)未展现过TIA的受试者组的量。所述划入和/或排除诊断可由本文中公开的系统的计算装置基于计算的“量”对参照或阈值的比较提供。例如,系统的计算装置可以提供以词、符号、或数值的形式指示物,其指示划入或排除诊断之一。适用于个体受试者的参照量可以根据多种生理学参数如年龄、性别或亚群,以及用于测定本文中所指的多肽或肽的手段而变化。适宜的参照量可从要与测试样品一起(即同时或随后)分析的参照样品测定。

[0070] 从原理上讲,可通过应用标准的统计学方法基于给定生物标志物的平均值或均值对如上文指出的受试者分组计算参照量。具体地,测试如目标为诊断一种事件与否的方法的准确度由其接受者操作属性(receiver-operating characteristics)(ROC)最佳描述(尤其参见Zweig 1993, Clin. Chem. 39:561-577)。ROC图是从在观察的数据的整个范围内连续变化决策阈值所得到的所有敏感性对特异性对的图。诊断方法的临床表现取决于其准确度,即其正确将受试者分为特定预后或诊断的能力。ROC图通过绘出适用于进行区分的完整阈值范围的敏感性对1-特异性来指示两个分布之间的重叠。Y轴上是敏感性或真-阳性分数,其定义为真-阳性测试结果的数目对真-阳性数目与假-阴性测试结果数目的乘积的比率。这亦称为在存在疾病或状况情况下的阳性。它仅从受影响的亚组计算。X轴上是假-阳性分数或1-特异性,其被定义为假-阳性结果的数目对真-阴性数目与假-阳性结果数目的乘积的比率。它是特异性的指标且完全从未受影响的亚组计算。由于真阳性和假阳性分数是完全分开计算的,通过使用来自两个不同亚组的测试结果,ROC图独立于分组中事件的流行性。ROC图上的每个点代表对应于具体决策阈值的敏感性/-特异性对。具有完美区分的测试(两个结果分布中没有重叠)具有穿过左上角的ROC图,其中真阳性分数是1.0、或100%(完美敏感性),而假阳性分数是0(完美特异性)。没有区分力的测试的理论图(两个组有相同的分布结果)是从左下角到右上角的45°对角线。大多数图落入这两种极端之间。如果ROC图完全在45°对角线之下,那么这可以通过将“阳性”的标准从“大于”逆转为“小于”或反之来修正。定性地,图离左上角越近,测试的总体准确性越高。根据期望的置信区间,可从ROC曲线衍生出允许以适宜的敏感性和特异性平衡分别诊断或预测给定事件的阈值。因此,要用于本发明前述方法的参照,即允许在展现过TIA或未展现过TIA的受试者之间区分的阈值,优选可通过为如上文描述的所述分组建立ROC并从其衍生出阈值量来生成。根据对诊断方法的期望的敏感性和特异性,ROC图允许衍生适宜的阈值。应理解对于排除TIA(即除去)期望最佳敏感性,而对于要评估为展现过TIA(即划入)的受试者则希望有最佳特异性。而且,优选将在本发明方法的步骤a)中测定的量与超过一个参照量比较,例如用于划入TIA的参照量和用于排除TIA的参照量。

[0071] 优选地,所述参照量源自来自已知展现过TIA(特别是在如本文中别处指定的窗口期内)的受试者(或受试者组)的样品,和/或来自已知未展现过TIA(特别是在如本文中别处指定的窗口期内)的受试者(或受试者组)的样品。

[0072] 已知未展现过TIA的受试者优先为健康的受试者。还优选地,已知未展现过TIA的受试者未展现过中风,特别是在如上文所提述的窗口期内。

[0073] 还优选所述参照受试者(即已知展现过TIA的受试者或已知未展现过TIA的受试者)具有急性脑缺血事件,特别是TIA的风险因子。优选的急性脑缺血事件特别是TIA的风险因子包括冠状动脉病、心力衰竭(特别是心力衰竭)、收缩性和/或舒张性心功能障碍、瓣膜性心脏病和动脉高血压。别的风险因子是糖尿病和肥胖。因此,所述参照受试者优先地显示这些风险因子中的至少一种。优选地,所述参照受试者患有冠状动脉病。甚至更优选地,所述参照受试者患有心力衰竭。最优选地,所述参照受试者以及测试受试者患有心力衰竭。还优选地,所述参照受试者以及测试受试者患有心力衰竭。这尤其适用于如果测定NT-原ANP和NT-原BNP的量且如果在本发明方法的背景中(见本文中别处)计算NT-原ANP对NT-原BNP的量的比率。

[0074] 如果仅测定NT-原ANP的量,那么还优选参照受试者或测试受试者都不患有心力衰竭或冠状动脉病。

[0075] 以下适用作诊断算法。

[0076] 优选地,参照量是:

[0077] a. 源自已知展现过TIA的受试者(或受试者组)的样品,其中来自测试受试者的样品中NT-原ANP的量基本等于所述参照量或大于所述参照量指示所述受试者已展现过短暂性缺血发作,和/或

[0078] b. 源自来自已知未展现过TIA的受试者的样品,其中来自测试受试者的样品中NT-原ANP的量基本等于所述参照量或低于所述参照量指示所述受试者未展现过短暂性缺血发作。

[0079] 源自已知展现过TIA的受试者(或受试者组)的样品的优选参照量是约54500pg/ml至约150000pg/ml,且更优选地,约54500至约137800pg/ml。甚至更优选地,源自已知展现过TIA的受试者(或受试者组)的参照量是约137500、或94800,或最优选地,54500pg/ml。

[0080] 源自已知未展现过TIA的受试者(或受试者组)的优选的参照量是约1000pg/ml至约33600pg/ml,更优选地,是约1000至约12570pg/ml。甚至更优选地,源自已知未展现过TIA的受试者(或受试者组)的参照量是约33600、或15000,或最优选地12570pg/ml。还优选所述参照量是4662pg/ml。

[0081] 另外,所述参照量可以限定阈值量,具体为计算的参照量,由此测试受试者的样品中大于相应阈值的NT-原ANP量应指示TIA,而测试受试者的样品中低于计算的参照量的NT-原ANP量应指示受试者未展现过TIA。特别优选的阈值量作为计算的参照量,优选为约54500pg/ml,或更优选地为45000pg/ml。

[0082] 如本文中使用的,术语“约”意指从所提述的特定值 $\pm 20\%$ 、 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 2\%$ 或 $\pm 1\%$ 。

[0083] 在本发明方法的一个优选的实施方案中,应划入TIA。在该情况中,参照量源自已知展现过TIA的受试者的样品(或来自受试者组的样品)。

[0084] 因此,本发明涵盖一种用于在怀疑展现过短暂性缺血发作,但未展现过中风的受试者中划入短暂性缺血发作(TIA)的方法,所述方法包括以下步骤:

[0085] a. 测定来自所述受试者的样品中NT-原ANP的量,和

- [0086] b. 将如此测定的NT-原ANP量与参照量比较,由此划入短暂性缺血发作,
- [0087] 其中所述参照量源自来自已知展现过TIA的受试者的样品(或来自受试者组的样品),其中来自测试受试者的样品中NT-原ANP的量基本等于或大于所述参照量指示所述受试者已展现过短暂性缺血发作。
- [0088] 在本发明方法的一个优选的实施方案中,应划入TIA。在该情况中,参照量源自已知未展现过TIA的受试者的样品(或来自受试者组的样品)。
- [0089] 因此,本发明涵盖一种用于在怀疑展现过短暂性缺血发作,但未展现过中风的受试者中排除短暂性缺血发作(TIA)的方法,所述方法包括以下步骤:
- [0090] a. 测定来自所述受试者的样品中NT-原ANP的量,和
- [0091] b. 将如此测定的NT-原ANP量与参照量比较,由此排除短暂性缺血发作,
- [0092] 其中所述参照量源自来自已知展现过TIA的受试者的样品(或来自受试者组的样品),其中来自测试受试者的样品中NT-原ANP的量基本等于或低于所述参照量指示所述受试者未展现过短暂性缺血发作。
- [0093] 在本发明的一个进一步的优选实施方案中,前述方法进一步包括以下步骤:测定来自所述受试者的样品中NT-原BNP的量,并计算NT-原ANP的量和NT-原BNP的量的比率。两种标志物的测定是有利的,因为两种标志物的量的比率允许特别可靠的诊断出患有心力衰竭的受试者中的TIA(见实施例)。
- [0094] 因此,本发明具体地针对一种用于在怀疑展现过短暂性缺血发作,但未展现过中风的受试者中诊断短暂性缺血发作(TIA)的方法,包括:
- [0095] a. 测定来自所述受试者的样品中NT-原ANP的量,
- [0096] b. 测定来自所述受试者的样品中NT-原BNP的量,和
- [0097] c. 计算NT-原ANP和NT-原BNP的量的比率。
- [0098] 优选地,上文a)和b)中测定的量是在同一样品中测定的。然而,还涵盖在不同的样品中测量。
- [0099] 在一个优选的实施方案中,所述方法还包括将如此计算的比率与参照比率比较,由此诊断出所述受试者中的TIA。
- [0100] 如此,本发明还涉及一种用于在怀疑展现过短暂性缺血发作,但未展现过中风的受试者中诊断短暂性缺血发作(TIA)的方法,包括:
- [0101] a. 测定来自所述受试者的样品中NT-原ANP的量,
- [0102] b. 测定来自所述受试者的样品中NT-原BNP的量,
- [0103] c. 计算NT-原ANP和NT-原BNP的量的比率,和
- [0104] d. 比较计算的比率与参照比率,由此诊断出所述受试者中的TIA。
- [0105] 标志物NT-原BNP(N端原脑利钠肽)是本领域中公知的。NT-原BNP是优选包含对应于人脑利钠肽(BNP)分子N端部分的长度为76个氨基酸的多肽。现有技术中已详细描述了人BNP和NT-原BNP的结构,例如WO 02/089657,WO 02/083913或Bonow(在上述引文中)。优选地,如本文中使用的NT-原BNP是如EP 0 648 228 B1中披露的NT-原BNP。这些现有技术文件通过提述将其中披露的特定NT-原BNP序列及其变体纳入本文。依照本发明所指的NT-原BNP还涵盖上文论述的人NT-原BNP的所述特定序列的等位和其他变体。具体地,涵盖在氨基酸水平上与人NT-原BNP,优选在整个长度上至少60%等同,更优选至少70%、至少80%、

至少90%、至少95%、至少98%或至少99%等同的变体多肽。从原理上讲,可通过本领域公知的算法来确定两个氨基酸序列之间的同一性程度。优选地,同一性程度要通过在比较窗口内比较两个最佳比对的序列测定,其中比较窗口中的氨基酸序列的片段可以包含如相比于参照序列(不包含添加或缺失)的添加或缺失(例如缺口或悬突)以用于最佳比对。百分比通过计算两个序列中存在相同氨基酸残基所在的位置的数目以得到匹配位置的数目,将匹配的位置数目除以比较窗口中的总位置数目,并将结果乘以100以得到序列同一性的百分数。用于比较的序列最佳比对可通过Smith 1981,Add.APL.Math.2:482的局部同源性算法,通过Needleman 1970,J.Mol.Biol.48:443的同源性比对算法,通过Pearson 1988,Proc.Natl.Acad.Sci.(USA)85:2444的寻找相似性方法,通过这些算法的计算机化执行(GAP,BESTFIT,BLAST,PASTA和TFASTA,于Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group(GCG),575 Science Dr.,Madison,WI),或通过视觉观察来进行。在已鉴定两个序列用于比较时,优选采用GAP和BESTFIT来测定其最佳比对,由此测定同一性程度。优选地,对于缺口权重使用5.00的缺省值,而对于缺口权重长度(gap weight length)使用0.30的缺省值。基本类似且亦涵盖的是蛋白水解性降解产物,其仍由诊断手段或由针对相应全长肽的配体识别。还涵盖相比于人NT-原BNP氨基酸序列具有氨基酸缺失、取代和/或添加的变体多肽,只要所述多肽具有NT-原BNP特性。如本文中所述的NT-原BNP特性是免疫学和/或生物学特性。优选地,所述NT-原BNP变体具有与NT-原BNP的那些可比的免疫学特性(即表位组成)。如此,所述变体应可由前述手段或用于测定利尿肽量的配体识别。生物学和/或免疫学NT-原BNP特性可由以下中记载的测定法检测:Karl等.(Karl 1999,Scand J Clin Invest 59:177-181),Yeo等.(Yeo 2003,Clinica Chimica Acta 338:107-115)。变体还包括翻译后修饰的肽,如糖基化或十四烷基化肽。还有,依照本发明的变体还是在样品收集后经修饰的肽或多肽,例如通过对肽共价或非共价衔接标记物,特别是放射性或荧光标记物。

[0106] 如本文中使用的,术语“计算”指评估在受试者样品中测定的NT-原ANP和NT-原BNP量的比率。依照本发明,可以测定NT-原ANP量对NT-原BNP量的比率,或NT-原BNP量对NT-原ANP量的比率。优选地,测定NT-原ANP量对NT-原BNP量的比率。

[0107] 上文中公开了优选的参照受试者。优选地,所述参照比率源自已知展现过TIA的受试者的样品(或来自受试者组的样品),和/或已知未展现过TIA的受试者的样品(或来自受试者组的样品)(亦见上文的解释)。

[0108] 如果计算的比率(和参照比率)是NT-原ANP量对NT-原BNP量的比率的话,以下适用作诊断算法:

[0109] 优选地,参照比率为

[0110] a. 源自已知展现过TIA的受试者的样品(或来自受试者组的样品),其中来自测试受试者的样品中的比率基本等于或大于参照比率指示所述受试者展现过短暂性缺血发作,和/或

[0111] b. 源自已知未展现过TIA的受试者的样品(或来自受试者组的样品),其中来自测试受试者的样品中的比率基本等于或低于参照比率指示所述受试者未展现过短暂性缺血发作。

[0112] 如果计算的比率(和参照比率)是NT-原BNP量对NT-原ANP量的比率的话,以下适用

作诊断算法。

[0113] 优选地,参照比率为

[0114] a.源自已知展现过TIA的受试者的样品(或来自受试者组的样品),其中来自测试受试者的样品中的比率基本等于或低于参照比率指示所述受试者展现过短暂性缺血发作,和/或

[0115] b.源自已知未展现过TIA的受试者的样品(或来自受试者组的样品),其中来自测试受试者的样品中的比率基本等于或大于参照比率指示所述受试者未展现过短暂性缺血发作。

[0116] 另外,参照比率可以限定阈值比率,特别是计算的参照比率,由此测试受试者样品中NT-原ANP对NT-原BNP量的比率大于相应阈值应指示TIA,而测试受试者样品中NT-原ANP对NT-原BNP量的比率低于相应阈值指示受试者未展现过TIA(如果测定NT-原ANP对NT-原BNP量的比率)。

[0117] 源自已知未展现过TIA的受试者(或受试者组)的样品的NT-原ANP量对NT-原BNP量的参照比率是约10至约125,且更优选地,约20至约100、或约20至约90。甚至更优选地,源自已知未展现过TIA的受试者(或受试者组)的样品的参照比率是约125,或最优选地约80。

[0118] 优选地,如果参照比率源自具有TIA的风险因子的受试者(如本文中别处描述的,特别是来自患有心力衰竭的受试者),源自已知未展现过TIA的受试者(或受试者组)的样品的NT-原ANP量对NT-原BNP量的参照比率是约10至约40,更优选地,约20至约40、或约20至约30。甚至更优选地,源自已知未展现过TIA的受试者(或受试者组)的样品的参照比率是约40,或最优选地约30。

[0119] 源自已知展现过TIA的受试者(或受试者组)的样品的NT-原ANP量对NT-原BNP量的参照比率是约150至约300,且更优选地,约150至约250、或约200至约250。甚至更优选地,源自已知展现过TIA的受试者(或受试者组)的样品的参照比率是约250,或最优选地约200。

[0120] 在本发明的一个优选的实施方案中,所述方法还包括推荐适宜疗法的步骤,如果已诊断出TIA的话。

[0121] 如本文中使用的,术语“推荐/建议”意指建立可应用于受试者的疗法的建议。然而,应理解应用何种适宜的疗法不由该术语包含。要推荐的疗法依赖于由本发明的方法提供的诊断结果。上文提述的推荐步骤优选地还可以是自动化的。优选地,从本发明方法的步骤b)获得的诊断或辅助,即所述方法的诊断结果,将用于搜索包含针对个体可能诊断结果的治疗手段推荐的数据库。在已诊断TIA的情况中推荐的适宜的疗法是本领域中公知的,且优选地,涵盖目标是减少进一步的脑缺血事件风险,特别是中风和/或TIA的风险的那些治疗方案。这些治疗包括药物的施用、干预以及生活方式变化。所述治疗可能依赖于TIA的起因。优选的治疗方案包括抗凝疗法、抗血小板疗法、摄取阿司匹林和/或肝素、支架(stenting)(参见Chimowitz等.NEJM 2011:993-1003),和动脉内膜切除术,特别是颈动脉动脉内膜切除术。优选的生活方式变化是戒烟和/或戒酒,和减轻体重(特别是降低的卡路里摄取和/或增加的身体锻炼)。

[0122] 在本发明的一个方面,涵盖一种用于在怀疑展现过短暂性缺血发作,但未展现过中风的受试者中建立诊断短暂性缺血发作(TIA)的辅助的方法,所述方法包括:

[0123] a)测定标志物NT-原ANP的量,其通过(i)使样品与特异性结合所述标志物的检测

剂接触达一段时间,该时间足以允许形成所述检测剂和来自样品的标志物的复合物,(ii)测量形成的复合物的量,其中所述形成的复合物的量与样品中存在的标志物的量成比例,和(iii)将形成的复合物的量转化成标志物的量,其反映样品中存在的标志物的量;

[0124] b)将所述量与参照比较;并

[0125] c)基于步骤b)中进行的比较的结果,建立用于诊断短暂性缺血发作(TIA)的辅助。

[0126] 在本发明的另一个方面,涵盖一种用于在怀疑展现过短暂性缺血发作,但未展现过中风的受试者中诊断短暂性缺血发作(TIA)的系统,包含:

[0127] a)分析单元,其配置为使所述样品与特异性结合标志物NT-原ANP的检测剂接触达一段时间,该时间足以允许形成所述检测剂和来自样品的标志物的复合物,

[0128] b)分析单元,其配置为测量形成的复合物的量,其中所述形成的复合物的量与样品中存在的标志物的量成比例,

[0129] c)计算装置,其具有处理器且与所述分析单元处于可操作联系中,和

[0130] d)一种非短暂性机器可读媒体,其包含可由所述处理器执行的多个指令,所述指令在执行时将形成的复合物的量转化成标志物的量,该量反映样品中存在的标志物的量,并建立用于在与所述参照的所述比较的结果上诊断短暂性缺血发作(TIA)的辅助。

[0131] 在一个方面,适宜的检测剂可以是特异性结合要通过本发明方法研究的受试者样品中的标志物的抗体。在一个方面,另一种可应用的检测剂可以是特异性结合样品中标志物的适体(aptamere)。在再一个方面,在测量检测剂与标志物之间形成的复合物的量之前,从复合物除去样品。因此,在一个方面,所述检测试剂可以固定化于固体支持物上。在另一方面,可通过施用清洗溶液使样品与在固体支持物上形成的复合物分离。所形成的复合物与存在于样品中的标志物的量是成比例的。应理解待应用的检测试剂的特异性和/或灵敏度限定了样品中包含的可被特异性结合的至少一种标志物的比例程度。在本文中别处还可见关于如何实施测定的更详细的描述。所形成的复合物的量将被换算为标志物的量,其反映实际存在于样品中至少一种标志物的量。该量一方面可能基本上就是存在于样品中的量,或者在另一方面也可能是由于所形成的复合物与原始样品中的量的关系所呈现出的为其特定比例的量。

[0132] 在前述方法的又一方面,步骤a)可通过分析单元实施,在一方面,所述的分析单元如本文中别处所定义的。

[0133] 在本发明方法的一个方面,将步骤a)中测定的量与参照比较。在一个方面,所述参照是如本文中别处定义的参照。在再一个方面,所述参照考虑到测量的复合物量和原始样品中存在的量之间的比例关系。如此,在本发明方法的一个方面中应用的参照是人为参照,其被用于反映使用的检测剂的限制。在另一个方面,在实施比较时还可以考虑所述关系,例如通过在实际比较测定量与参照的值之前对于测定量纳入标准化和/或校正计算步骤。对于测定量的标准化和/或校正计算步骤再次采用比较步骤,从而适当地反映已使用的检测剂的限制。在一个方面,自动化实施所述比较,例如通过计算机系统等的辅助。

[0134] 基于在步骤b)中,通过如本文别处所述的、将受试者划归为展现过TIA或未展现过TIA的受试者组所进行的比较,建立诊断TIA的辅助。如本文别处已讨论过的,在所研究的病例中,对于待研究的受试者的划分不一定是100%正确的。而且,研究的受试者所归入的受试者组是人为的组,这是因为这些组是基于统计学意义上的考虑建立的,即某种预先选择

的可能性程度,本发明的方法将基于其运行。在本发明的一个方面,所述用于诊断TIA的辅助是自动建立的,例如,由如本文所描述和公开的计算设备等辅助。

[0135] 在本发明的方法的一个方面中,所述方法还包括根据如本文别处详细列举的在步骤c)中建立的结果建议和/或管理受试者,和/或调整疾病监控的密集性的步骤。

[0136] 在前述方法的一个方面,通过本文中别处所述的一个或多个分析单元来实施步骤b)和/或c)。

[0137] 上文给出的解释和定义如作适当变动也适用于以下。

[0138] 用于诊断急性脑缺血事件的方法

[0139] 发明人还显示NT-原ANP量和NT-原BNP量的比率是用于诊断受试者中的急性脑缺血事件的有价值的指示物。

[0140] 因此,本发明进一步涉及一种用于诊断怀疑患有过急性脑缺血事件的受试者中的急性脑缺血事件的方法,包括:

[0141] a. 测定来自所述受试者的样品中NT-原ANP的量,

[0142] b. 测定来自所述受试者的样品中NT-原BNP的量,和

[0143] c. 计算NT-原ANP和NT-原BNP的量的比率。

[0144] 在一个优选的实施方案中,前述方法还包括将如此计算的比率与参照比率比较,由此诊断急性脑缺血事件。

[0145] 因此,本发明具体地涉及一种用于诊断怀疑患有过急性脑缺血事件的受试者中的急性脑缺血事件的方法,包括:

[0146] a. 测定来自所述受试者的样品中NT-原ANP的量,

[0147] b. 测定来自所述受试者的样品中NT-原BNP的量,

[0148] c. 计算NT-原ANP和NT-原BNP的量的比率,和

[0149] d. 将如此计算的比率与参照比率比较,由此诊断急性脑缺血事件。

[0150] 本领域技术人员充分理解术语“急性脑缺血事件”。该术语具体地涉及一种急性状况,其中到脑(或脑的部分)的血液流动不足以达到脑的代谢需求。优选地,有两种类型的急性脑缺血事件:1. 与事件有关的缺血可能受限于脑的特定区域(局灶性缺血);或2. 与事件有关的缺血可能涵盖脑组织的广泛区域(系统性缺血)。所述事件应是急性的,由此应突然出现。优选地,所述急性脑缺血事件选自中风和短暂性缺血发作。术语“中风”和“短暂性缺血发作”在本文中别处定义。

[0151] 如本文中使用的,已在本文别处描述的术语“受试者”指动物,优选哺乳动物,更优选是人。依照本发明的受试者应被怀疑为展现过急性脑缺血事件。优选地,所述受试者应被怀疑为在获得待测试样品前72小时内,更优选48小时内,且最优选24小时内展现过急性脑缺血事件。因此,应依照本发明诊断所述测试受试者是否展现过急性脑缺血事件或尚未展现过急性脑缺血事件,优选地在获得待测试样品前72小时内,更优选48小时内,且最优选24小时内。

[0152] 优选地,测试受试者(和参照受试者)具有急性脑缺血事件的风险因子。优选的风险因子包括冠状动脉病、心力衰竭(特别是急性心力衰竭)、收缩性和/或舒张性心功能障碍、瓣膜性心脏病和动脉高血压。别的风险因子是糖尿病和肥胖。因此,测试受试者优选地显示这些风险因子中的至少一种。具体地,测试受试者(和参照受试者,即得到参照量的受

试者)患有冠状动脉病和/或心力衰竭。最优选地,所述受试者患有心力衰竭。优选地,这同样适用于参照受试者。

[0153] 如上文陈述的,依照前述方法要测试的受试者应被怀疑患有急性脑缺血事件,如此在如本文中别处所述的特定窗口期内展现过急性脑缺血事件。优选地,怀疑展现过急性脑缺血事件的受试者是已显示急性脑缺血事件症状的受试者。优选地,所述受试者是在获得测试样品前的特定窗口期内已显示急性脑缺血事件症状的受试者。优选地,所述受试者是在获得样品前72小时内,更优选地48小时内,和最优选地24小时内已显示急性脑缺血事件的症状。然而,优选地,所述测试样品应在不早于急性脑缺血事件症状开始后1小时,特别是不早于2小时获得。

[0154] 通过本发明的前述方法,应诊断出急性脑缺血事件。如本文中使用的,术语“诊断”意为评估依照本发明方法所指的受试者是否展现过急性脑缺血事件。具体地,应诊断所述受试者是否在获得要测试的样品前的某段窗口期内展现过急性脑缺血事件。在一个优选的实施方案中,应诊断出所述受试者在获得待测试样品前72小时内是否展现过急性脑缺血事件。在一个进一步的优选的实施方案中,应诊断所述受试者在获得待测试样品前48小时内是否展现过急性脑缺血事件。在一个甚至进一步的优选的实施方案中,应诊断所述受试者在获得待测试样品前24小时内是否展现过急性脑缺血事件。优选地,所述受试者在获得样品时已不再显示急性脑缺血事件的症状。

[0155] 优选地,所述样品在不超过急性脑缺血事件症状开始后72小时获得。更优选地,所述样品在不超过急性脑缺血事件症状开始后48小时,最优选不超过24小时获得。优选地,所述受试者在获得样品时已不再显示急性脑缺血事件的症状。

[0156] 优选地,所述参照比率源自已知展现过急性脑缺血事件的受试者的样品(或来自受试者组的样品),和/或已知未展现过急性脑缺血事件的受试者的样品(或来自受试者组的样品)。

[0157] 优选地,参照受试者(即已知展现过急性脑缺血事件的受试者或已知未展现过急性脑缺血事件的受试者)具有急性脑缺血事件的风险因子。急性脑缺血事件的优选的风险因子在上文中公开且包括冠状动脉病、心力衰竭(特别是心力衰竭)、收缩性和/或舒张性心功能障碍、瓣膜性心脏病和动脉高血压。别的风因子是糖尿病和肥胖。因此,参照受试者优选地显示这些风险因子中的至少一种。优选地,参照受试者患有冠状动脉病。更优选地,参照受试者患有心力衰竭。最优选地,测试受试者以及参照受试者患有心力衰竭。还优选地,测试受试者以及参照受试者患有冠状动脉病。

[0158] 如果计算的比率(和参照比率)是NT-原ANP量对NT-原BNP量的比率的话,以下适用作诊断算法:

[0159] 优选地,参照比率源自已知展现过急性脑缺血事件的受试者的样品,其中来自测试受试者的样品中的NT-原ANP对NT-原BNP比率基本等于或大于参照比率指示所述受试者展现过急性脑缺血事件,和/或

[0160] 参照比率源自已知未展现过急性脑缺血事件的受试者的样品,其中来自测试受试者的样品中的NT-原ANP对NT-原BNP比率基本等于或低于参照比率指示所述受试者未展现过急性脑缺血事件。

[0161] 源自已知未展现过急性脑缺血事件的受试者(或受试者组)的样品的NT-原ANP量

对NT-原BNP量的优选参照比率是约10至约100,且更优选地,约20至约90、或约20至约80。甚至更优选地,源自已知未展现过急性脑缺血事件的受试者(或受试者组)的样品的参照比率是约100,或最优选地约80。

[0162] 优选地,如果参照比率源自具有急性脑缺血事件的风险因子的受试者(特别是来自患有心力衰竭或冠状动脉病的受试者),源自已知未展现过急性脑缺血事件的受试者(或受试者组)的样品的NT-原ANP量对NT-原BNP量的优选的参照比率是约10至约40,更优选地,约20至约40、或约20至约30。甚至更优选地,源自已知未展现过急性脑缺血事件的受试者(或受试者组)的样品的参照是约40,或最优选地约30。

[0163] 源自已知展现过急性脑缺血事件的受试者(或受试者组)的样品的NT-原ANP量对NT-原BNP量的优选参照比率是约100至约250,且更优选地,约100至约200、或约100至约150。甚至更优选地,源自已知展现过急性脑缺血事件的受试者(或受试者组)的样品的参照是约100,或最优选地约150。TIA的优选的参照量在本文中别处公开。

[0164] 在本发明的一个方面,涵盖一种用于在怀疑患有过急性脑缺血事件的受试者中建立诊断急性脑缺血事件的辅助的方法,所述方法包括:

[0165] a)测定标志物NT-原ANP和NT-原BNP的量,其通过(i)使样品与特异性结合所述标志物的检测剂接触达一段时间,该时间足以允许形成所述检测剂和来自样品的标志物的复合物,(ii)测量形成的复合物的量,其中所述形成的复合物的量与样品中存在的标志物的量成比例,和(iii)将形成的复合物的量转化成标志物的量,其反映样品中存在的标志物的量;

[0166] b)计算NT-原ANP和NT-原BNP的量的比率;

[0167] c)将所述比率与参照比较;并

[0168] d)基于步骤c)中进行的比较的结果,建立用于诊断急性脑缺血事件的辅助。

[0169] 在本发明的另一个方面,涵盖一种用于在怀疑患有急性脑缺血事件的受试者中诊断急性脑缺血事件的系统,包含:

[0170] a)分析单元,其配置为使所述样品与特异性结合标志物NT-原ANP的检测剂接触达一段时间,该时间足以允许形成所述检测剂和来自样品的标志物的复合物,

[0171] b)分析单元,其配置为测量形成的复合物的量,其中所述形成的复合物的量与样品中存在的标志物的量成比例,

[0172] c)计算装置,其具有处理器且与所述分析单元处于可操作联系中,和

[0173] d)一种非短暂性机器可读媒体,其包含可由所述处理器执行的多个指令,所述指令在执行时将形成的复合物的量转化成标志物的量,该量反映样品中存在的标志物的量,并基于与所述参照的所述比较的结果,建立用于诊断急性脑缺血事件的辅助。

[0174] 在一个方面,适宜的检测剂可以是特异性结合要通过本发明方法研究的受试者样品中的标志物的抗体,如本文中别处陈述的。

[0175] 在前述方法的又一个方面,可通过分析单元来实施步骤a),所述分析单元在一个方面是如本文中别处定义的分析单元。

[0176] 在本发明方法的一个方面,将步骤b)中计算的比率与参照比率比较。在一个方面,所述参照比率是如本文中别处定义的参照比率。如此,在本发明方法的一个方面中应用的参照可以是人为参照,其被用于反映使用的检测剂的限制。在另一个方面,在实施比较时还

可以考虑所述关系,例如通过在实际比较测定量与参照的值之前对于测定量或比率纳入标准化和/或校正计算步骤。在一个方面,自动化实施所述比较,例如通过计算机系统等的辅助。

[0177] 基于在步骤c)中所进行的比较,通过如本文别处所述的、将受试者划归为患有急性脑事件或未患有急性脑事件的受试者组,建立诊断急性脑缺血事件的辅助。如本文别处已经讨论过的,在所研究的病例中,对于所研究的受试者的划分不一定是100%研究例正确的。而且,研究的受试者所归入的受试者组是人为的组,这是因为这些组是基于统计学考虑建立的,即特定的预先选择的可能性程度,本发明的方法将基于其运行。在本发明的一个方面中,用于诊断急性脑事件的辅助是自动建立的,例如,由如本文所描述和公开的计算设备等辅助。

[0178] 在本发明的方法的一个方面中,所述方法还包括根据如本文别处详细列举的在步骤c)中建立的结果推荐和/或管理受试者,和/或调整疾病监控的密集性的步骤。

[0179] 在前述方法的一个方面,通过本文中别处所述的一个或多个分析单元来实施步骤b)和/或c)。

[0180] 此外,本发明涉及NT-原ANP多肽和/或特异性结合其的检测剂在怀疑展现过短暂性缺血发作(TIA)的受试者的样品中用于诊断短暂性缺血发作的用途。

[0181] 另外,本发明涉及NT-原ANP多肽和NT-原BNP多肽在怀疑展现过短暂性缺血发作(TIA)的受试者的样品中用于诊断短暂性缺血发作的用途。

[0182] 还有,本发明涉及特异性结合NT-原ANP多肽的检测剂和特异性结合NT-原BNP多肽的检测剂在怀疑展现过短暂性缺血发作(TIA)的受试者的样品中用于诊断短暂性缺血发作的用途。

[0183] 而且,本发明涉及NT-原ANP多肽和NT-原BNP多肽在怀疑患有急性脑缺血事件的受试者的样品中用于诊断急性脑缺血事件的用途。

[0184] 另外,本发明涉及特异性结合NT-原ANP多肽的检测剂和特异性结合NT-原BNP多肽的检测剂在怀疑患有急性脑缺血事件的受试者的样品中用于诊断急性脑缺血事件的用途。

[0185] 如本文中使用的,术语“检测剂”指能特异性识别和结合本文中所述的生物标志物(NT-原ANP或NT-原BNP)(在存在于样品中时)的试剂。而且,所述试剂应允许直接或间接检测由所述试剂和生物标志物形成的复合物。直接检测可通过将可检测标记纳入所述试剂来实现。间接标记可通过特异性结合包含生物标志物和检测剂的复合物的一种别的试剂来实现,其中所述别的试剂能生成可检测信号。可用作检测剂的适宜的化合物是本领域中公知的。优选地,所述检测剂是特异性结合生物标志物的抗体或适体。如本文中所指的抗体包括多克隆和单克隆抗体以及它们的能结合抗原或半抗原的片段如Fv、Fab和F(ab)₂片段。还涵盖单链抗体和人源化杂合抗体,其中将展现期望的抗原特异性的非人供体抗体的氨基酸序列与人接受抗体的序列组合。

[0186] 本发明还涉及一种用于诊断短暂性缺血发作的装置,所述装置包含:

[0187] a)一种分析单元,包含针对NT-原ANP多肽的检测剂,其允许测定所述NT-原ANP多肽的量;和

[0188] b)一种包含数据处理器的评估单元,所述数据处理器配备有用于将通过所述分析单元测定的量与数据库中存储的参照量进行比较从而建立NT-原ANP诊断的算法,其中所述

参照量源自用于诊断TIA的方法的背景中的如本文中别处描述的受试者的样品,且所述算法是如在所述方法的背景中陈述的算法。

[0189] 依照本发明的一个别的方面,提供适用于实施本发明方法的装置,包含:

[0190] a)一种分析单元,包含针对NT-原ANP多肽的检测剂,其允许测定所述NT-原ANP多肽的量;和

[0191] b)一种用于将测定的量与参照量进行比较的分析单元,由此诊断出所述受试者是否展现过TIA,所述单元包含具有参照量值的数据库和实施该比较的计算机执行的算法。

[0192] 本发明还涉及一种用于诊断短暂性缺血发作的装置,所述装置包含:

[0193] a)一种分析单元,包含允许测定所述NT-原ANP多肽的量的、针对NT-原ANP多肽的检测剂,和允许测定所述NT-原BNP多肽的量的、针对NT-原BNP多肽的检测剂;和

[0194] b)一种包含数据处理器的评估单元,所述数据处理器用于计算由分析单元测定的NT-原ANP和NT-原BNP量的比率,所述数据处理器配备有用于将所述比率与数据库中存储的参照比率进行比较以建立TIA诊断的算法,其中所述参照比率源自用于诊断TIA的方法的背景中的如本文中别处描述的受试者的样品,且所述算法是如在所述方法的背景中所述的算法。

[0195] 本发明还涉及一种用于诊断急性脑缺血事件的装置,所述装置包含:

[0196] a)一种分析单元,包含允许测定所述NT-原ANP多肽的量的、针对NT-原ANP多肽的检测剂,和允许测定所述NT-原BNP多肽的量的、针对NT-原BNP多肽的检测剂;和

[0197] b)一种包含数据处理器的评估单元,所述数据处理器用于计算由分析单元测定的NT-原ANP和NT-原BNP量的比率,所述数据处理器配备有用于将所述比率与数据库中存储的参照比率进行比较以建立TIA诊断的算法,其中所述参照比率源自用于诊断急性脑缺血事件的方法的背景中的如本文中别处描述的受试者的样品,且所述算法是如在所述方法的背景中陈述的算法。

[0198] 还涵盖一种用于诊断急性脑缺血事件的装置,所述装置包含:

[0199] a)一种分析单元,包含允许测定所述NT-原ANP多肽的量的、针对NT-原ANP多肽的检测剂,和允许测定所述NT-原BNP多肽的量的、针对NT-原BNP多肽的检测剂;和

[0200] b)一种包含数据处理器的分析单元,所述数据处理器用于计算NT-原ANP和NT-原BNP量的比率,所述数据处理器配备有用于将所述比率与数据库中存储的参照比率进行比较以建立事件诊断的算法,其中所述参照比率源自用于诊断急性脑缺血事件的方法的背景中的如本文中别处描述的受试者的样品,且所述算法是如在所述方法的背景中陈述的算法。

[0201] 如本文中使用的,术语“装置”指一种包含可操作地彼此连接以允许依照本发明方法的诊断的前述单元的系统。本文中别处公开了可用于分析单元的优选的检测剂。所述分析单元优选地包含在固体支持物上处于固定化形式的所述检测剂,检测剂将与包含要测定其量的生物标志物的样品接触。而且,分析单元还可包含测定特异性结合生物标志物的检测剂量的检测器。测定的量可传输至评估单元。所述评估单元包含数据处理元件如计算机,具有用于实施测定量和适宜参照之间比较的执行算法。适宜的参照可以源自要用于生成如本文中别处描述的参照量的受试者样品。诊断结果可以以参数诊断性原始数据给出,优选地作为绝对或相对量。应理解这些数据可能需要临床医师的解译。然而,还涵盖专家系统装

置,其中输出包含经加工的诊断性原始数据,其解译不需要专门的临床医师。优选地,本发明的装置可用于以自动化方式实施本发明的前述方法。

[0202] 本公开的一个优选的实施方案包括一种用于诊断如别处公开的TIA或急性脑事件的系统。所述系统的实例包括用于检测化学或生物反应结果或者监控化学或生物反应进程的,临床化学分析仪,凝聚化学分析仪(coagulation chemistry analyzers),免疫化学分析仪,尿分析仪,核酸分析仪。更具体而言,本申请的示例性系统包括Roche Elecsys™ Systems和Cobas®e Immunoassay分析仪,Abbott Architect™和AxSYM™分析仪,Siemens Centaur™和Immulite™分析仪,以及Beckman Coulter UniCel™和Access™分析仪,等等。

[0203] 所述系统的实施方案可包括一个或以上的用于实践本申请的主题的分析单元。本申请中所公开的系统的分析单元可通过已知的任何有线连接,蓝牙,LANS,或无线信号与本申请所公开的计算设备可操作地通讯。此外,根据本申请,分析单元可以包括较大设备中用于诊断目的的样品检测,例如定性和/或定量评估之一或两者的独立的装置或元件。例如,分析单元可以执行或辅助样品和/或试剂的移液、剂量施用(dosing)、混合。分析单元可包括用来夹持试剂以进行测定的试剂夹持单元。试剂的安排可以是,例如在盛有单独的试剂或一组试剂的容器或盒(cassettes)里,置于储藏室或输送器中合适的托座或位置之中。检测试剂还可以固定在与样品相接触的固体支持物上。分析单元还可以包括对于特定的分析最优化的处理和/或检测组件。

[0204] 根据一些实施方案,分析单元可配置为对样品中的分析物,例如标志物,进行光学检测。用于光学检测的分析单元的示例包括配置为将电磁能转化成电信号的设备,其包括单一的和多元件或阵列光学探测器。根据本公开,光学探测器能监控光电磁信号并提供代表置于光路中的样品内分析物的存在和/或浓度的电输出信号,或与相对于基线信号的应答信号。所述设备还可以包括,例如光电二极管,包括雪崩光电二极管(avalanche photodiodes),光电晶体管,光电导检测器,线性传感器阵列,CCD检测器,CMOS检测器,包括CMOS阵列检测器,光电倍增管,以及光电倍增管阵列。根据某些实施方案,光学检测器,例如光电二极管或光电倍增管可包括附加的信号调节或处理电器元件。例如光学检测器可包括至少一个预放大器,电子过滤器,或集成电路。合适的预放大器包括,例如集成、跨阻抗,和电流增益(电流反射镜)预放大器。

[0205] 此外,本申请的一个或以上的分析单元可包含用于发射光的光源。例如,分析单元的光源可以由至少一个光发射元件(例如,发光二极管,电力发射源如白炽灯,电致发光灯,气体放电灯,高强度放电灯,激光)组成,用于测量待测样品中分析物的浓度,或使得能够能量转换(例如,通过荧光共振能量转移或催化酶)。

[0206] 此外,所述系统的分析单元可包括一个或以上的温育单元(例如用于将样品或试剂保持在特定的温度或温度范围)。在一些实施方案中,分析单元可包括用于使样品处于重复的温度循环中并监测样品中扩增产物量的变化的热循环仪,包括实时热循环仪。

[0207] 本文中公开的系统分析单元还可包括或可操作地连接于反应容器或小杯(cuvette)输送单元。输送单元的示例包括液体加工单元,例如移液单元,用来将样品和/或试剂递送到反应容器。所述移液单元可包含可重复使用的耐洗针,例如钢针,或者一次性的移液头。所述的分析单元还可包括一个或以上的混合单元,例如用于振荡含液体的小杯的振荡器,或用来混合小杯或试剂容器中的液体的搅拌桨。

[0208] 根据上文描述,依照本公开的一些实施方案,本文中公开和描述的方法的一些步骤的部分可通过计算装置实施。计算装置可以是例如一般目的计算机或手提式计算装置。应理解可一起使用多重计算装置,如网络或转移数据的其他方法来实施本文中公开方法的一个或多个步骤。例示性的计算装置包括桌面计算机、便携式计算机、个人数据助手(“PDA”)如BLACKBERRY牌装置、手机装置(cellular device)、平板电脑、服务器等。一般而言,计算装置包含能执行多个指令(如软件程序)的处理器。

[0209] 优选地,计算装置能访问存储器。存储器是计算机可读媒体且可以包含单个存储装置或多个存储装置,例如局部位于计算装置的或可跨网络为计算装置可访问。计算机可读媒体可以是任何可由计算装置可访问的介质,而且包括稳定和不稳定介质。另外,计算机可读媒体可以是可移除和不可移除介质之一或两者。举例而言且无限制地,计算机可读媒体可以包含计算机存储介质。例示性的计算机存储介质包括但不限于, RAM、ROM、EEPROM、闪存或任何其他存储技术, CD-ROM、Digital Versatile Disk(DVD)或其他光盘存储器、磁带盒、磁带、磁盘存储器,或任何其他可用于存储多个指令的媒体,所述指令能由计算装置访问并由计算机装置的处理器执行。

[0210] 依照本公开的实施方案,软件可以包含指令,其在由计算装置的处理器执行时,可以实施本文公开方法的一个或多个步骤。一些指令可改编为产生控制其他机器运行的信号,如此可以经由那些控制信号运行以转化离计算机远距离的材料。这些描述和示例是由数据处理领域技术人员使用的手段,例如以最有效地将其工作物传达给本领域其他技术人员。

[0211] 所述多个指令还可以包含一种算法,其一般理解为产生期望结果的自身一致的步骤序列。这些步骤是需要物理操作物理量的那些步骤。通常尽管非必要地,这些量采用能被存储、转移、转化、组合、比较和另外操作的电或磁脉冲或信号的形式。主要出于普遍使用的原因,将这些信号指为值、字符、展示数据、数字等作为其中实体化或表示这类信号的物理项或显示的提述在多次证明是方便的。然而,应当记住,所有这些和相似的术语应与适宜的物理量有关且本文中仅用作应用于这些量的方便的标记。依照本公开的一些实施方案,将用于实施本文中所公开的一种或多种标志物的测定量和适宜参照之间的比较的算法实体化,而且通过执行指令来进行。结果可以参数诊断性原始数据或绝对或相对量输出。依照本文所公开系统的多个实施方案,“诊断”可以由本文中公开的系统的计算装置基于计算的“量”对参照或阈值的比较来提供。例如,系统的计算装置可以以词、符号或数值的形式提供指示物,其指示具体的诊断。

[0212] 所述计算装置还可以访问输出装置。例示性的输出装置包含例如传真机、显示器、打印机和文档。依照本公开的一些实施方案,计算装置可以实施本文公开方法的一个或多个步骤,且其后提供经由输出装置输出,其涉及方法的结果、指示、比率或其他因子。

[0213] 本发明还涵盖一种用于诊断受试者中的TIA的试剂盒,所述试剂盒至少包含针对NT-原ANP多肽的检测剂,以及优选地,反映从已知展现过TIA的受试者和/或已知未展现过TIA的受试者衍生的参照量的标准。

[0214] 本发明还涵盖一种用于诊断受试者中的TIA的试剂盒,所述试剂盒至少包含针对NT-原ANP多肽的检测剂和针对NT-原BNP多肽的检测剂,以及优选地,反映从已知展现过TIA的受试者和/或已知未展现过TIA的受试者衍生的参照比率的标准。

[0215] 本发明还涵盖一种用于诊断受试者中的急性脑缺血事件的试剂盒,所述试剂盒至少包含针对NT-原ANP多肽的检测剂和针对NT-原BNP多肽的检测剂,以及优选地,反映从已知展现过急性脑缺血事件的受试者或已知未展现过急性脑缺血事件的受试者衍生的参照比率的标准。

[0216] 如本文中使用的,术语“试剂盒”指上述组分的集合,优选地,其单独地或在单一的容器内提供。所述的容器内还包括实施本发明的方法的操作指南。这些操作指南可以是使用手册的形式,也可以通过计算机程序代码提供,当在计算机或数据处理设备上运行所述计算机程序代码时,其能够执行本发明的方法中的比较,并相应地建立诊断。所述的计算机程序代码可以是在数据存储介质或设备上,例如光学存储介质(例如光盘),或者直接在计算机或数据处理设备上提供。而且,所述试剂盒优选地可包含反映如本文中别处详细描述和陈述的参照量的标准。所述检测剂优选地固定化于载体上,且优选为测试条(test stripe)。

[0217] 本说明书中引用的全部参考文献通过参考其所公开的全部内容以及本说明书中特别引用的公开内容的形式并入本申请。

[0218] 下述的实施例仅用来解释本发明。它们不以任何形式限制本发明的范围。

实施例

[0219] 实施例1:NT-原BNP和NT-原ANP的测定

[0220] 使用Roche的电化学发光ELISA夹层测试Elecsys原BNP II STAT(Short Turn Around Time)测定来测定NT-原BNP。该测试采用识别位于原BNP(1-108)N端部分(1-76)中的表位的两种单克隆抗体。

[0221] 使用来自Biomedica Medizinprodukte GmbH(Vienna,Austria)的NT-原ANP测定来测定NT-原ANP(前-原ANP肽的氨基酸1至98)。目录号为BI-20892。检测限为0.05 nmol/l。该测定利用多克隆绵羊抗原ANP抗体。

[0222] 在下列受试者组的血清样品中测试生物标志物的水平。

[0223] • 健康受试者(n=149)

[0224] • 患有稳定冠状动脉病CAD的患者(即其中经常形成中风的患者,n=235),

[0225] • 患有心脏代偿失调的患者(n=64),

[0226] • 患有TIA的患者(n=79)。

[0227] • 患有小中风和大中风的患者(分别的n=61和108)

[0228] CAD患者:将患有慢性动脉病的总计235位患者纳入本研究中,均值年龄64岁,141位男性和94位女性。在所有患者中,通过血管造影术验证冠状动脉病。血管直径中50%降低被用于1、2或3级血管病的分类。心脏功能通过心回波描记术和NT-原BNP的测定评估。

[0229] 心力衰竭:另一组的64位患者患有代偿失调性心力衰竭(24位女性和40位男性,均值年龄69岁)。他们的特征为在先前2周内增加的呼吸短促,所有患者均可依照NYHA分类归为NYHA III或IV。

[0230] 健康控制:将149位临床健康的人受试者纳入研究作为对照,52位男性和97位女性(均值年龄41岁,范围为19至56岁)。这些受试者没有心脏病,如通过医学病史和心电图评估的,没有糖尿病和这些疾病的风险因子。而且,他们有正常的肾功能,如通过正常肌酐值

和恶性病症评估的。

[0231] **中风/TIA患者**:将患有TIA或缺血性中风的总计255位患者(均值年龄70岁)纳入本研究中。在23位患者中存在短暂性缺血发作,在61位患者中诊断出小中风,而在108位患者中发现大中风。除了上文描述的以外,还实施颈动脉和经颅超声(caotoid and transcranial ultrasound)以及心电描记术和心回波描记术,并依照TOAST标准将患者分类。在患有中风和TIA的患者中,在呈现时获得的样品和在呈现后6和24小时获得的样品中测量生物标志物NT-原ANP和NT-原BNP。症状开始和允入(admission)之间的中值间期为4.2小时(25th百分比:2.5,75th百分比:8小时)。

[0232] 实施例2:结果

[0233] 获得以下结果(显示为中值水平,以及25th和75th百分比):

	NT-原BNP	NT-原ANP
	pg/ml	pg/ml
健康受试者	37	882
N = 149	18 – 68	635- 1280
患有稳定CAD的患者	266	2710
N = 236	95 – 928	1880 - 4662
[0234] 患有心脏代偿失调的患者	4477	33600
N = 64	1971 – 7131	12570 – 57800
TIA: n = 27	331	106000
	165 – 473	79000 – 149000
小中风n = 60	238	81000
	79 – 547	43400 – 125000
大中风(n = 108)	412	107151
[0235]	127 – 1053	70600 – 240000

[0236] 令人惊讶的发现指示中风中的NT-原ANP水平在患有TIA和中风的患者中显著增加。具体地,它们高于明显的心脏代偿失调中的。如此,NT-原ANP将心脏病患者与中风患者分开。NT-原BNP的测定提供另外的信息。

[0237] 而且,测定NT-原ANP对NT-原BNP的比率:

[0238] 比率如下(中值,25th百分比/75th百分比):

健康	74 (14/125)
CAD	10 (4/25)
代偿失调HF	10 (4/18)

[0239]

大中风	249 (128/ 603)
小中风	321 (149/ 670)
TIA	524 (204/905)

[0240] 如可从表中看到的,比率的测定是有利的,因为它允许在i)具有中风/TIA的风险因子的患者,即患有冠状动脉病(CAD)的患者和患有心力衰竭(HF)的患者,其具有高水平的NT-原ANP和NT-原BNP,和ii)患有中风或TIA的患者之间区分。

[0241] 当在中风过程中追踪NT-原ANP值时,获得以下值:

	NT-原ANP
	pg/ml
呈现时	106000
	79000 – 149000
[0242] 6小时时	95500
	54000 – 139000
24小时时	82000
	48000 – 139000

[0243] 随访(follow-up)指示这是一种持续的作用,表明也可以识别过去的事件。

[0244] 结论:

[0245] TIA的识别是重要的,因为它可以先于经常导致残疾的中风。TIA经常仅持续数分钟,而且大多数TIA在1小时内消退而不导致对脑的永久损伤。TIA的诊断是困难的,因为i)根据TIA的定位,TIA模拟多种其他病症,和ii)患者呈递用于评估时症状不再存在,这使得最终诊断困难。TIA经常在患有先前有的心脏病如系统性高血压、冠状动脉病和不同起源的心力衰竭的患者中形成。本研究的令人惊讶的发现是已知在心力衰竭中释放的NT-原ANP在中风中和令人惊讶地还在TIA中高度升高,甚至超过在患有晚期和代偿失调心力衰竭的患者中发现的水平。而且,NT-原ANP/NT-原BNP的比率可安全地用于此目的,特别是在心力衰竭患者中。

[0246] 怀疑的TIA的确认的临床重要性在于根本性起因(例如心栓性)的鉴定、适宜的干预(例如在颈动脉狭窄(carotis stenosis)中的血管成形术,心房纤维颤动中的抗凝),和由此在于中风特别是大中风的预防。

[0247] 而且,已显示NT-原ANP/NT-原BNP比率的测定允许可靠的诊断中风和TIA,尤其在患有心力衰竭的患者中。