

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
15. Mai 2008 (15.05.2008)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2008/055491 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:
G01N 33/50 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2007/002018

(22) Internationales Anmeldedatum:
8. November 2007 (08.11.2007)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2006 052 916.2
8. November 2006 (08.11.2006) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **BRAHMS AKTIENGESellschaft** [DE/DE];
Neuendorfstrasse 25, 16761 Henningsdorf (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **BERGMANN, An-
dreas** [DE/DE]; Baumläuferweg 47, 12351 Berlin (DE).
MORGENTHALER, Nils [DE/DE]; Heiligenseestrasse
121F, 13503 Berlin (DE). **PAPASSOTIRIOU, Jana**

[DE/DE]; Sven-Hedin-Strasse 45, 14163 Berlin (DE).
STRUCK, Joachim [DE/DE]; Zerndorfer Weg 52A,
13465 Berlin (DE).

(74) Anwalt: **SIMANDI, Claus**; Höhenstrasse 26, 53773 Hen-
nef (DE).

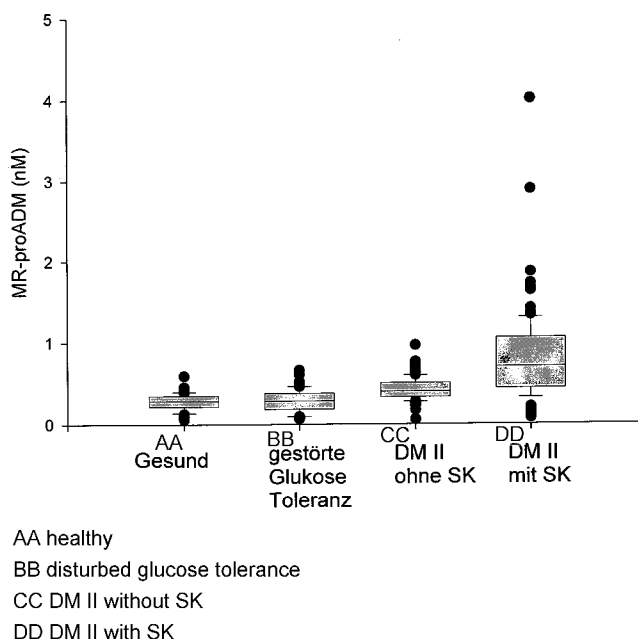
(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG,
ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL,
IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL,
PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: DIAGNOSIS AND RISK ASSESSMENT OF PANCREATIC DIABETES USING MR-PROADM

(54) Bezeichnung: DIAGNOSE UND RISIKOSTRATIFIZIERUNG VON DIABETES MELLITUS MITTELS MR-PROADM



(57) Abstract: The invention relates to a method for diagnosis and/or risk assessment of pancreatic diabetes, in particular of diabetic sequelae, wherein a determination of the marker mid-regional proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2) or a partial peptide or fragment thereof or if contained in a marker combination (Panel, Cluster) is carried out on a patient under investigation. The invention further relates to a diagnostic device and a kit for carrying out said method.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2008/055491 A2



TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— mit dem Sequenzprotokollteil der Beschreibung in elektronischer Form getrennt veröffentlicht; auf Antrag vom Internationalen Büro erhältlich

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Diabetes mellitus, insbesondere von diabetischen Folgeerkrankungen, wobei eine Bestimmung des Markers midregionalem proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2) oder ein Teilpeptid oder Fragment davon oder enthaltend in einer Markerkombination (Panel, Cluster) an einem zu untersuchenden Patienten durchgeführt wird. Weiterhin betrifft die Erfindung eine diagnostische Vorrichtung und ein Kit zur Durchführung des Verfahrens.

Diagnose und Risikostratifizierung von Diabetes mellitus mittels MR-proADM

Beschreibung

5

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Diabetes mellitus, insbesondere von diabetischen Folgeerkrankungen, wobei eine Bestimmung des Markers midregionalem proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2) oder ein Teilpeptid oder Fragment davon oder enthaltend in einer Markerkombination (Panel, Cluster) an einem zu untersuchenden Patienten durchgeführt wird. Weiterhin betrifft die Erfindung eine diagnostische Vorrichtung und ein Kit zur Durchführung des Verfahrens.

15

Die Diagnose von Diabetes mellitus ist für Adrenomedullin bekannt (Garcia-Unzueta MT, Montalban C, Pesquera C, Berrazueta JR, Amado JA. Plasma adrenomedullin levels in type 1 diabetes. Relationship with clinical parameters. Diabetes Care. 21:999-1003, 1998 und Turk HM, Buyukberber S, Sevinc A, Ak G, Ates M, Sari R, Savli H, Cigli A. Relationship between plasma adrenomedullin levels and metabolic control, risk factors, and diabetic microangiopathy in patients with type 2 diabetes. Diabetes Care 23:864-7, 2000). Nachteilig ist jedoch, dass aufgrund der mangelnden Stabilität des Adrenomedullins sowie dessen Kurzweiligkeit (Lewis LK, Smith MW, Yandle TG, Richards AM, Nicholls MG. Adrenomedullin (1-52) measured in human plasma by radioimmunoassay: plasma concentration, adsorption, and storage. Clin Chem. 44:571-7 1998) im Plasma keine sichere Diagnose erfolgen kann.

30

Es besteht jedoch ein Bedürfnis für Diabetes mellitus eine sichere Diagnose zu stellen oder eine (Risiko)Stratifizierung vorzunehmen, insbesondere hinsichtlich weiterer klinischen Entscheidungen und insbesondere hinsichtlich des Schweregrades einer Diabetes mellitus oder diabetischen Folgeerkrankungen.

Ferner ist im Stand der Technik die proAdrenomedullin (proADM)-Bestimmung in der Diagnose beschrieben (EP0622458B1), insbesondere zwecks Untersuchung von Sepsis (EP1121600B1). Zudem ist ein weiteres Fragment des proAdrenomedullins - nämlich das sogenannte midregionale proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2, auch: AS45-92 der preproADM in SEQ ID No. 1 (Figur 1)) in EP1488209B1 zu diagnostischen Zwecken offenbart. Die Eignung des midregionalen proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2) zur Diagnose von Diabetes mellitus wird jedoch nicht offenbart.

Es ist Aufgabe der vorliegenden Erfindung ein verbessertes Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Diabetes mellitus, insbesondere von diabetischen Folgeerkrankungen, bereitzustellen.

Die Aufgabe wird durch ein Verfahren zur in-vitro Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Diabetes mellitus gelöst, wobei eine Bestimmung des Markers midregionalen proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2) oder ein Teilpeptid oder Fragment davon oder enthaltend in einer

Markerkombination (Panel, Cluster) an einem zu untersuchenden Patienten durchgeführt wird (nachstehend erfindungsgemäßes Verfahren).

- 5 Der Begriff „Risikostratifizierung“ umfasst erfindungsgemäß das Auffinden von Diabetespatienten, insbesondere solche mit diabetischen Folgeerkrankungen, mit der schlechteren Prognose, zwecks intensiverer Diagnostik und (Folge-) Therapie/Behandlung von Diabetes mellitus mit dem Ziel einen
10 möglichst günstigen Verlauf der Diabetes mellitus zu ermöglichen.

- Besonders vorteilhaft kann daher mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens eine sichere Diagnose und / oder
15 Risikostratifizierung erfolgen. Das erfindungsgemäße Verfahren ermöglicht klinische Entscheidungen, die zu einer schnelleren Diagnose, insbesondere der diabetischen Folgeerkrankungen, führen. Solche klinische Entscheidungen umfassen ebenfalls weiterführende Behandlung mittels Arzneimitteln zur Behandlung
20 oder Therapie von Diabetes mellitus.

- In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens erfolgt die Diagnose und / oder Risikostratifizierung zur Prognose, zur Prophylaxe, zur
25 differentialdiagnostischen Früherkennung und Erkennung, zur Beurteilung des Schweregrades und zur therapiebegleitenden Verlaufsbeurteilung von Diabetes mellitus.

In einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird dem zu untersuchenden Patienten Körperflüssigkeit, insbesondere Blut entnommen, wahlweise Vollblut, Serum oder erhältliches Plasma und die Diagnose erfolgt *in vitro/ex vivo*, d.h. außerhalb des menschlichen oder tierischen Körpers. Aufgrund der Bestimmung des Markers midregionalem proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2) oder Teilpeptide oder Fragmente davon und seiner vorhandenen Menge bzw. dessen Mengenveränderung gegenüber einer Referenz in mindestens einer Patientenprobe kann die Diagnose und / oder Risikostratifizierung erfolgen.

Im Rahmen dieser Erfindung wird unter „Diabetes mellitus“, insbesondere der Typ II Diabetes mellitus (Insulinresistenz) verstanden, eine chronische Stoffwechselerkrankung, wobei die Insulinproduktion in den β -Zellen der Langerhansschen Inseln in der Bauchspeicheldrüse gestört ist oder Insulin zwar vorhanden ist, an seinem Zielort, den Zellmembranen, aber nicht richtig wirken kann. Die Folge dieser gestörten Insulinproduktion bzw. -wirkung sind erhöhte Blutzuckerwerte (Hyperglykämie). Beim diabetischen Krankheitsverlauf unterscheidet man zwischen Prädiabetes, bei dem es erst in seinem Endstadium zu einer laborchemisch nachweisbaren „gestörten Glukosetoleranz“ kommt, und dem eigentlichen manifesten Diabetes mellitus. Am Anfang der prädiabetischen Krankheitsphase steht die Insulinresistenz. Nahezu zeitgleich entwickeln sich bereits eine endotheliale Dysfunktion, Hyperlipoproteinämie und hypertensive Kreislaufdysregulation.

Die Folge dieser Risikokonstellation sind zudem arteriosklerotische Gefäßwandveränderungen (Mikro- und Makroangiopathie) sowie vaskuläre Komplikationen infolge Mikrozirkulationsstörungen. Weitere Folge- Begleiterkrankungen sind diabetische Retinopathie bis zur Erblindung, sowie die Nephropathie bis hin zur Niereninsuffizienz, die Neuropathie, das diabetische Fußsyndrom und kardiovaskuläre Komplikationen.

Daher betrifft die Erfindung die Diagnose und / oder Risikostratifizierung der Diabetes mellitus vom Typ II und dessen Folge- und Begleiterkrankungen, insbesondere endotheliale Dysfunktionen, Hyperlipoproteinämie, hypertensive Kreislaufdysregulation, diabetische Retinopathie, Nephropathie, Niereninsuffizienz, Neuropathie, diabetische Fußsyndrom und kardiovaskuläre Komplikationen.

Alle genannten Indikationen werden zudem z.B. im Pschyrembel, De Gruyter, Berlin 2004 beschrieben.

Im Rahmen dieser Erfindung wird unter „midregionalem proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2)“ ein humanes Protein oder Polypeptid verstanden mit einer Aminosäuresequenz von 45-92 (Position 45 ist Glu, Position 92 ist Val) der SEQ ID No. 1 (Figur 1) des preproAdrenomedullins (Kitamura K, Sakata J, Kangawa K, Kojima M, Matsuo H, Eto T. Cloning and characterization of cDNA encoding a precursor for human adrenomedullin Biochem Biophys Res Commun 1993;194:720-725) bzw. Aminosäuresequenz 1-48 der SEQ ID No. 2 (Figur 2). Dieses

Fragment des proAdenomedullins wird „midregionales proAdrenomedullin (MR-proADM)“ bezeichnet (EP 1488209B1) und weist besonders vorteilhaft eine hohe Plasmastabilität auf.

- 5 Ferner kann das erfindungsgemäße „midregionale proAdrenomedullin“ Modifikationen aufweisen, wie Glykolisierung, Lip(o)idisierung oder Derivatisierungen.

- 10 In einer weiteren Ausführungsform kann die Bestimmung von midregionalem proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2) zusätzlich mit weiteren Markern erfolgen, wobei das midregionale proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2) in einer Markerkombination (Panel, Cluster) enthalten ist, und zwar vorzugsweise solche, die bereits auf eine Diabetes
- 15 mellitus hinweisen. In einer weiteren besonderen Ausführungsform kann dies ebenfalls ein vaskulärer Marker sein, der auf eine Diabetes-begleitende endotheliale Dysfunktion des Kreislaufs hinweisen kann.
- 20 Daher betrifft die Erfindung eine solche Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens, wobei die Bestimmung zusätzlich mit mindestens einem weiteren Marker ausgewählt aus der Gruppe inflammatorischer Marker, vaskulärer Marker an einem zu untersuchenden Patienten durchgeführt wird.

25

Erfindungsgemäß kann der inflammatorische Marker aus mindestens einem Marker aus der Gruppe C-reaktivem Protein (CRP), Cytokinen, wie etwa TNF-alpha, Interleukinen, wie etwa

- IL-6, Interleukin-1 β , Procalcitonin (1-116, 3-116), Angiotensin II, Endothelin-1 und Adhäsionsmolekülen, wie VCAM oder ICAM ausgewählt sein sowie der vaskuläre Marker aus mindestens einem Marker aus der Gruppe Kreatinkinase,
- 5 Myeloperoxidase, Myoglobin, natriuretisches Protein, insbesondere ANP (bzw. ANF), proANP, NT-proANP, BNP, proBNP, NT-proBNP oder jeweils eine Teilsequenz davon, CRP ausgewählt sein. Ferner werden hierunter vorzugsweise
- 10 Kreislaufregulierende (Pro)Hormone verstanden, insbesondere wie pro-Gastrin-Releasing Peptid (proGRP), pro-Endothelin-1, pro-Leptin, pro-Neuropeptid-Y, pro-Somatostatin, pro-Neuropeptid-YY, pro-Opiomelanocortin oder jeweils eine Teilsequenz davon.
- 15 In einer weiteren Ausführungsform kann zusätzlich mindestens ein diabetischer Marker/Faktor bestimmt werden. Diabetische Marker/Faktoren sind erfindungsgemäß insbesondere solche wie Adiponectin, Kohlenhydrate, Fette, wie Cholesterine (LDH) u.a., Bodymass Index (BMI), Alter, Blutdruck, HOMA-IR
- 20 (Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance index, zur Bestimmung siehe: Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC, Homeostasis Model Assessment: Insulin Resistance and B-cell Function from Fasting Plasma Glucose and Insulin Concentrations in Man. Diabetologia 28:
- 25 412-419. 1985).

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung kann das erfindungsgemäße Verfahren mittels parallelen oder simultanen

Bestimmungen der Marker durchgeführt werden (z.B. Multititerplatten mit 96 und mehr Kavitäten), wobei die Bestimmungen an mindestens einer Patientenprobe durchgeführt werden.

5

Ferner kann das erfindungsgemäße Verfahren und dessen Bestimmungen an einem Analyseautomaten, insbesondere mittels einem Kryptor (<http://www.kryptor.net/>) durchgeführt werden.

10 In einer weiteren Ausführungsform kann das erfindungsgemäße Verfahren und dessen Bestimmungen mittels einem Schnelltest durchgeführt werden (z.B. lateral-flow Test), sei es in Einzel- oder Multiparameterbestimmung.

15 Ferner betrifft die Erfindung die Verwendung von midregionalem proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2) oder Teilpeptide oder Fragmente davon oder enthaltend in einer Markerkombination (Panel, Cluster) zur in-vitro Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Diabetes mellitus, insbesondere
20 Diabetes mellitus vom Typ II und dessen Folge- und Begleiterkrankungen, sowie insbesondere unter Berücksichtigung der oben genannten Ausführungsformen. Die Markerkombination kann ggfs. einen weiteren geeigneten Marken enthalten.

25 Eine weitere Aufgabe ist die Bereitstellung einer entsprechenden diagnostischen Vorrichtung oder die Verwendung einer solchen Vorrichtung zur Durchführung der erfindungsgemäßen Verfahren.

Im Rahmen dieser Erfindung wird unter einer solchen diagnostischen Vorrichtung, insbesondere ein Array oder Assay verstanden (z.B. Immunoassay, ELISA etc.), im weitesten Sinne
5 eine Vorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens.

Die Erfindung betrifft zudem ein Kit oder die Verwendung eines solchen Kit zur in-vitro Diagnose und Risikostratifizierung
10 von Diabetes mellitus, insbesondere Diabetes mellitus vom Typ II und dessen Folge- und Begleiterkrankungen, wobei eine Bestimmung von midregionalem proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2) oder Teilpeptide oder Fragmente davon oder
15 enthaltend in einer Markerkombination (Panel, Cluster) an einem zu untersuchenden Patienten durchgeführt wird, insbesondere unter Berücksichtigung der oben genannten Ausführungsformen. Solche Nachweisreagenzien umfassen z.B. Antikörper, etc.

20 Nachfolgende Beispiele und Figuren dienen zur näheren Erläuterung der Erfindung, jedoch ohne die Erfindung auf diese Beispiele und Figuren zu beschränken.

Beispiele:

25 Beispiel 1:

Der MR-proADM Assay wurde nach Morgenthaler et al.

(Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Measurement of midregional proadrenomedullin in plasma with an

immunoluminometric assay. Clin Chem. 2005 Oct; 51(10):1823-9)
durchgeführt.

MR-proADM wurde in 100 gesunden Probanden mit ungestörter
5 Glukosetoleranz, 60 Patienten mit bereits gestörter
Glukosetoleranz und 200 Patienten mit manifestiertem Diabetes
mellitus Typ II (kurz: „DM II“) bestimmt. Diese 200 Patienten
unterteilten sich in 100 Diabetiker ohne Folgeerkrankungen und
100 Diabetiker mit bereits vorhandenen Folgeerkrankungen, wie
10 diabetische Nephropathie und diabetische Retinopathie.
Figur 3 zeigt einen signifikanten Anstieg der MR-proADM Werte
mit zunehmendem Schweregrad des DM II. Insbesondere die beiden
Gruppen von DM II Patienten unterschieden sich von den
gesunden Kontrollen und den Patienten mit gestörter
15 Glucosetoleranz. Überraschenderweise fanden sich die höchsten
MR-proADM Werte in den DM II Patienten, die bereits
diabetische Folgeerkrankungen zeigten.

Tabelle 1 zeigt neben MR-proADM die Diabetes relevanten
Parameter wie Glucose und HbA1c in den jeweiligen Gruppen.

20

Tabelle 1 (Spätkomplikationen (SK) (syn: Folgeerkrankungen)):

	Gesund (n=100)	Gestörte Glukose Toleranz (n=60)	DM II Ohne SK (n=100)	DM II Mit SK (N=100)	p value (for trend)
Geschlecht (% male)	50	32	58	55	0.007
Alter (yr)	40 (14)	44 (11)	58 (10)	61 (10)	<0.001

Dauer der Erkrankung (Jahre)	-	-	16 (7)	17 (9)	0.55
Body mass index (kg/m ²)	22.9 (3.7)	24.1 (4.2)	25.8 (4.2)	26.1 (4.5)	<0.001
Systolischer Blutdruck (mmHg)	121 (14)	126 (22)	136 (17)	147 (21)	<0.001
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	77 (8)	78 (12)	81 (8)	81(11)	0.02
Nüchtern Plasma Glukose (mmol/L)	4.9 (0.3)	5.9 (0.4)	7.0 (1.2)	8.5 (3.5)	<0.001
HBA1c (%)	-	-	7.8(1.3)	8.1(1.6)	0.07
Midregionales-proadrenomedullin (nmol/L)	0.27 (0.09)	0.29 (0.13)	0.42 (0.13)	0.81(0.54)	<0.001

Der Zusammenhang zwischen bereits vorhandener eingeschränkter Mikrozirkulation und MR-proADM Werten zeigt sich auch durch eine signifikante Korrelation ($r = 0.43$, $P = 0,002$) zwischen den MR-proADM Werten bei 50 Patienten mit DM II und dem Zirkulationsfluss gemessen als resting forearm cutaneous micro-circulatory perfusion. (RCMP: A Enrique Caballero, Rola Saouaf, Subodh Arora, Su C Lim, Frank W. LoGerfo, Edward S Horton, Aristidis Veves. Reactivity of the micro- and macro-circulation is impaired in those at risk for type 2 diabetes. Diabetes 48:1856-1862, 1999).

Figuren:

15

Figur 1 zeigt die SEQ ID No. 1 des preproADM samt zugehörige

Teilsequenzen.

Figur 2 zeigt SEQ ID No. 2 des MR-proADM

Figur 3 zeigt MR-proADM in gesunden Probanden, Patienten mit gestörter Glucosetoleranz, Patienten mit Diabetes mellitus Typ

- 5 II (DM II) ohne Spätkomplikationen (SK) (syn: Folgeerkrankungen) und Patienten mit DM II mit Spätkomplikationen (syn: Folgeerkrankungen).

Patentansprüche

1. Verfahren zur in-vitro Diagnose und/oder
5 Risikostratifizierung von Diabetes mellitus,
dadurch gekennzeichnet,
dass eine Bestimmung von midregionalem proAdrenomedullin
(MR-proADM: SEQ ID No. 2) oder Teilpeptide oder Fragmente
davon an einem zu untersuchenden Patienten durchgeführt
10 wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, dass die in-vitro Diagnose
und/oder Risikostratifizierung von Diabetes mellitus vom
Typ II und dessen Folge- und Begleiterkrankungen,
15 insbesondere endotheliale Dysfunktionen,
Hyperlipoproteinämie, hypertensive
Kreislaufdysregulation, diabetische Retinopathie,
Nephropathie, Niereninsuffizienz, Neuropathie,
diabetische Fußsyndrom und kardiovaskuläre Komplikationen
20 erfolgt.
3. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass zusätzlich eine Bestimmung mindestens eines weiteren
Marker ausgewählt aus der Gruppe inflammatorischer
25 Marker, vaskulärer Marker und / oder diabetischer
Marker/Faktor an einem zu untersuchenden Patienten
durchgeführt wird.

4. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der inflammatorische Marker aus mindestens einem Marker aus der Gruppe C-reaktives Protein (CRP), Cytokinen, wie etwa TNF-alpha,
5 Interleukinen, wie etwa IL-6, Interleukin-1 β , Procalcitonin (1-116, 3-116), Angiotensin II, Endothelin-1 ausgewählt ist.
5. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der vaskuläre Marker aus mindestens
10 einem Marker aus der Gruppe Kreatinkinase, Myeloperoxidase, Myoglobin, natriuretisches Protein, insbesondere ANP (bzw. ANF), proANP, NT-proANP, BNP, proBNP, NT-proBNP oder Kreislaufregulierende (Pro)Hormone wie pro-Gastrin-Releasing Peptid (proGRP), pro-
15 Endothelin-1, pro-Leptin, pro-Neuropeptid-Y, pro-Somatostatin, pro-Neuropeptid-YY, pro-Opiomelanocortin oder jeweils eine Teilsequenz davon ausgewählt ist.
6. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,
20 dass parallele oder simultane Bestimmungen der Marker durchgeführt werden.
7. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,
25 dass die Bestimmungen an mindestens einer Patientenprobe durchgeführt werden.

8. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Bestimmungen an einem Analyseautomaten, insbesondere mittels einem Kryptor, durchgeführt werden.
- 5 9. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Bestimmungen mittels einem Schnelltest, insbesondere in Einzel- oder Multiparameterbestimmungen durchgeführt werden.
10. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Diagnose zur Stratifizierung von Patienten für klinische Entscheidungen, insbesondere weiterführende Behandlung mittels Arzneimitteln zur Behandlung oder Therapie von Diabetes mellitus, insbesondere Diabetes mellitus vom Typ II und dessen
10 Folge- und Begleiterkrankungen.
15
11. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Diagnose und / oder Risikostratifizierung zur Prognose, zur Prophylaxe, zur differentialdiagnostischen Früherkennung und Erkennung,
20 zur Beurteilung des Schweregrades und zur therapiebegleitenden Verlaufsbeurteilung von Diabetes mellitus, insbesondere Diabetes mellitus vom Typ II und dessen Folge- und Begleiterkrankungen erfolgt.
12. Verwendung von midregionalem proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2) oder Teilpeptide oder Fragmente
25 davon oder enthaltend in einer Markerkombination zur in-

vitro Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Diabetes mellitus, insbesondere Diabetes mellitus vom Typ II und dessen Folge- und Begleiterkrankungen, wobei die Markerkombination weitere Marker nach einem der Ansprüche 3 bis 5 enthält oder ggfs. einen weiteren geeigneten Marker.

13. Diagnostische Vorrichtung zur Durchführung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 11.

14. Kit zur in-vitro Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Diabetes mellitus, insbesondere Diabetes mellitus vom Typ II und dessen Folge- und Begleiterkrankungen, enthaltend Nachweisreagenzien zur Bestimmung des Markers midregionalem proAdrenomedullin (MR-proADM: SEQ ID No. 2) oder Teilpeptide oder Fragmente davon oder enthaltend in einer Markerkombination, wobei die Markerkombination weitere Marker nach einem der Ansprüche 3 bis 5 enthält und Hilfsmittel.

Figur 1

SEQ ID No. 1:

```

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

```

1-185 preproADM (185 AS)

22-185 proADM (164 AS)

95-146 ADM (52 AS)

Figur 2

SEQ ID No. 2

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

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

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

1-48 MR-proADM = AS 45 - 92 aus preproADM (48 AS)

Figur 3

