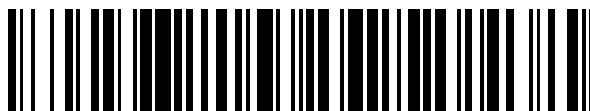


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 898 424**

51 Int. Cl.:

G01N 33/58 (2006.01)

A61K 31/557 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.03.2016 PCT/EP2016/056236**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.10.2016 WO16156107**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.03.2016 E 16715801 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.09.2021 EP 3278112**

54 Título: **Una composición que comprende prostaciclina o sus análogos para tratamiento de pacientes críticamente enfermos de modo agudo**

30 Prioridad:

29.03.2015 DK 201500197

15.06.2015 DK 201500342

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

07.03.2022

73 Titular/es:

**ENDOTHEL PHARMA APS (100.0%)
c/o Brinkmann Kronborg Henriksen Amaliegade 15
1256 Copenhagen K, DK**

72 Inventor/es:

**OSTROWSKI, SISSE RYE y
JOHANSSON, PÅR INGEMAR**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 898 424 T3

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

DESCRIPCIÓN

Una composición que comprende prostaciclina o sus análogos para tratamiento de pacientes críticamente enfermos de modo agudo

5 Campo

La presente invención se refiere a usos novedosos de prostaciclina y sus análogos, para el tratamiento de pacientes que sufren de enfermedad crítica aguda. La invención se refiere también a un método para la identificación de pacientes con una entidad de enfermedad recientemente identificada, con objeto de iniciar el tratamiento tan pronto como sea posible, prehospitalario así como intrahospitalario, después del golpe dañino.

10

Antecedente

La enfermedad crítica aguda tal como trauma, sepsis y paro cardíaco resucitado afecta a millones de personas a nivel mundial anualmente, con un incremento proyectado de 40 % en muertes a nivel global, debidas a lesiones en el período de 2002 a 2030. Aproximadamente un cuarto de los pacientes críticamente enfermos de modo agudo desarrolla aberraciones homeostáticas severas, dando como resultado alteración en la habilidad de coagulación (coagulopatía); teniendo tales pacientes críticamente enfermos de modo agudo con coagulopatía, tasas de mortalidad 3-4 veces más altas comparadas con sus contrapartes no coagulopáticas (40-50 % vs. 10-15 %). De manera importante, aparte de la mortalidad temprana relacionada con exsanguinación, pacientes críticamente enfermos de modo agudo con coagulopatía tienen un riesgo incrementado en varias veces de desarrollar y morir de falla múltiple de órgano en los días y semanas que siguen al golpe dañino. Lamentablemente, el resultado para pacientes críticamente enfermos de modo agudo con coagulopatía ha permanecido inalterado desde los años 1970s, a pesar de una mejora general en las capacidades de cuidado intensivo, apuntando hacia una falta de identificación del(los) mecanismo(s) patofisiológico(s) responsable(s) por el pobre resultado [Artenstein et al 2013; Marshall 2014]. Actualmente, no se registran fármacos/agentes farmacológicos o intervenciones terapéuticas para tratar de manera específica la coagulopatía en pacientes críticamente enfermos de modo agudo.

15

20

25

30

35

La falla microcirculatoria es un distintivo de enfermedad crítica aguda, que es causado por numerosos golpes dañinos al sistema vascular, incluyendo el endotelio, es decir, la capa individual de células que se alinea en el interior de todos los vasos sanguíneos en el cuerpo. Aunque hay un consenso emergente de que el daño del endotelio es un factor contribuyente crítico al desarrollo de la falla de órgano y al pobre resultado en pacientes críticamente enfermos de modo agudo [Opal y van der Poll 2015], actualmente no hay registro de fármacos o terapias para tratar específicamente el daño del endotelio en pacientes críticamente enfermos de modo agudo. Así, existe una necesidad no satisfecha urgente por pruebas de diagnóstico e intervenciones terapéuticas capaces de devolver y tratar los cambios dañinos observados en el sistema vascular, incluyendo el endotelio, en pacientes críticamente enfermos de modo agudo [Marshall 2014; Simmons y Pittet 2015].

40 El endotelio

El endotelio es la capa delgada colectiva de células (células endoteliales) que se alinea en el interior de todos los vasos sanguíneos y linfáticos, a lo largo del cuerpo. Es uno de los "órganos" más grandes en el cuerpo humano, que tiene un peso total de aproximadamente 1 kg y cubre un área de superficie total de aproximadamente 4-7,000 m². La superficie luminal de las células endoteliales está cubierta por una capa superficial rica en carbohidratos, cargada negativamente con espesor de 0.2-1.0 μm, el glicocáliz endotelial, que también representa una estructura grande en el sistema vascular, conteniendo un volumen fijo de plasma no circulante de aproximadamente 1 litro en adultos, correspondiendo a un tercio del volumen de plasma intravascular. El glicocáliz suministra al endotelio una superficie antiadhesiva y anticoagulante que protege las células endoteliales y mantiene la función de barrera vascular. El glicocáliz es una estructura similar a la malla, que comprende moléculas con armazón de proteoglicano y glicoproteína, que aglutina e incorpora diferentes moléculas solubles derivadas del plasma y endotelio, con las más altas cantidades de constituyentes derivados de plasma hacia la superficie luminal.

45

50

El endotelio está involucrado de manera crítica en el mantenimiento de la delicada homeostasis entre la sangre circulante y todos los órganos vitales. Al atravesar todos y cada uno los órganos en el cuerpo, el endotelio es crucial en el mantenimiento de la homeostasis entre la sangre circulante y todos los órganos vitales y células en el cuerpo y, por ello, el daño al endotelio es un factor clave del pobre resultado observado en pacientes críticamente enfermos de modo agudo. El endotelio controla el balance vasomotor, la integridad vascular, la adhesión y tráfico de células sanguíneas, la vigilancia inmune, inflamación y angiogénesis, y es instrumental para el balance de la hemostasis a través de su liberación, expresión y soporte de sistemas y elementos que promueven o inhiben la hemostasis.

55

60

En un estado saludable, el endotelio está anticoagulado por constituyentes del glicocáliz y las células endoteliales en sí mismas. Por daño endotelial, estos constituyentes son liberados al flujo de sangre, mientras retienen sus efectos anticoagulantes, contribuyendo de esa forma a la coagulopatía de enfermedad crítica aguda. Al mismo tiempo, el endotelio dañado se torna protrombótico y desencadena la formación de trombosis microvascular, dando como resultado alteración en la entrega de oxígeno a los tejidos, falla de órgano y finalmente la muerte [Johansson y

65

Ostrowski 2010]. Además, el daño endotelial interrumpe las uniones ceñidas intercelulares responsables del mantenimiento de la función de barrera endotelial entre el flujo sanguíneo y los tejidos. Esto da como resultado fuga capilar, que además conduce a hipotensión y privación de oxígeno, y por ello contribuye directamente a falla múltiple de órganos y la muerte [Opal y van der Poll 2015].

Hasta ahora, la mayoría de investigación sobre pacientes críticamente enfermos de modo agudo con coagulopatía ha estado limitada al estudio de los factores circulantes de rutas individuales tales como los sistemas de coagulación, complemento e inflamatorio, medidos fácilmente en el plasma de pacientes. Sin embargo, reconociendo que el plasma circulante es sólo una parte del sistema vascular complejo, que incluye las células sanguíneas (plaquetas, leucocitos células rojas de la sangre), micropartículas y todos los vasos que contiene la sangre, los inventores tienen como hipótesis que las aberraciones observadas de plasma reflejan una respuesta universal, desarrollada con la evolución, a la enfermedad crítica aguda, que está asociada con cambios concurrentes en el endotelio vascular y las células sanguíneas circulantes [Johansson y Ostrowski 2010].

15 Prostaciclina

La prostaciclina es una prostaglandina de ocurrencia natural liberada por células endoteliales saludables. En humanos, la generación de prostaciclina por el endotelio vascular es de aproximadamente 0.08-0.10 ng/kg/min con una concentración máxima de 3.4 pg/l en la circulación [Davies y Hagen 1993]. La prostaciclina ejecuta su función a través de una cascada de señalización paracrina que involucra receptores acoplados con la proteína G (GPCR) sobre células endoteliales cercanas y plaquetas.

Las dos acciones farmacológicas principales de prostaciclina y sus análogos son vasodilatación e inhibición de la agregación de plaquetas, lo cual se refleja por las indicaciones médicas actuales para los análogos de prostaciclina [incluyendo, pero sin limitarse a, Iloprost, Epoprostenol, Epoprostenol sodio, treprostenil sodio, selexipag, Beraprost, etc. administrados por vía intravenosa (i.v.), subcutánea (s.c.) u oral (p.o.)]:

- 1) hipertensión pulmonar primaria (pacientes de clase III-IV NYHA)
- 2) hipertensión pulmonar secundaria (pacientes de clase III-IV NYHA con el espectro de escleroderma de enfermedad, quienes no responden adecuadamente a terapia convencional)
- 3) anticoagulación durante hemodiálisis o terapia de reemplazo renal cuando está contraindicada la heparina
- 4) enfermedad arterial periférica con riesgo inminente de amputación, cuando el tratamiento quirúrgico y angioplastia no son posibles
- 5) trombangitis obliterans progresiva (mb. Burger) con isquemia límbica crítica cuando no es posible el tratamiento quirúrgico y angioplastia.

Un estudio en voluntarios humanos reportó que la prostaciclina, en dosis menores de 8 ng/kg/min, no tuvo efecto significativo sobre la presión sanguínea sistólica o diastólica, mientras una dosis de 8 ng/kg/min redujo la presión sanguínea diastólica. El estudio no encontró efecto sobre la presión sanguínea sistólica en dosis de hasta 16 ng/kg/min [O'Grady et al 1980]. Sin embargo, varios estudios han reportado que la prostaciclina, en dosis de 5-10 ng/kg/min, baja la presión sanguínea sistólica de manera dependiente con la dosis en pacientes críticamente enfermos de modo agudo [Bihari et al 1987; Radermacher et al 1995].

En voluntarios saludables, 1-4 ng/kg/min de infusión de prostaciclina no tuvo influencia en la presión sanguínea y en pacientes que sufrían de daño cerebral traumático [Grande et al 2000; Naredi et al 2001], infarto agudo de miocardio tratado mediante intervención coronaria percutánea (PCI) [Holmvang et al 2012], choque séptico [Kiefer et al 2001; Lehmann et al 2000] o cirugía de CABG [Morgera et al 2002], 0.5-2 ng/kg/min de infusión de prostaciclina no influyó negativamente en la presión sanguínea.

En conclusión, se encontró que la prostaciclina dilata todos los lechos vasculares de manera dependiente con la dosis, pero los efectos hemodinámicos de infusión de baja dosis de prostaciclina (hasta 4 ng/kg/min) son despreciables en voluntarios saludables y en pacientes críticamente enfermos de modo agudo.

55 Inhibición de agregación de plaquetas

La inhibición por prostaciclina de la agregación de plaquetas es mediada a través de GPCR expresado en plaquetas (IP), que por unión de prostaciclina da señal a adenilil ciclasa para que produzca cAMP, el cual activa PKA para disminuir las concentraciones de calcio intracelular. La elevación en cAMP inhibe directamente la activación de plaquetas (secreción y agregación) y contrarresta los incrementos en calcio citosólico resultante de la activación de plaquetas por agonistas de plaquetas.

Históricamente, la prostaciclina ha sido considerada como el inhibidor de agregación de plaquetas endógeno más potente en el organismo humano [Moncada et al 1976; O'Grady et al 1980]. Sin embargo, como para el efecto vasodilatador, el efecto de antiagregación es altamente dependiente de dosis [Moncada et al 1976; O'Grady et al 1980]. De importancia primordial para la intervención sugerida, los inventores han investigado el potencial antitrombótico de prostaciclina con ensayos funcionales hemostáticos de sangre entera, que prueban tener correlación

con condiciones de sangrado clínico y requerimientos de transfusión (tromboelastografía (TEG) y agregometría de impedancia (Multiplate)) y sorprendentemente descubrieron que una infusión de baja dosis de prostaciclina no tuvo efectos antitrombóticos mensurables.

5 En adición a las acciones farmacológicas dependientes de la dosis de prostaciclina (vasodilatación e inhibición de agregación de plaquetas), hay evidencia emergente de que la prostaciclina liberada de modo endógeno tiene una función citoprotectora paracrina que es imitada por los análogos de prostaciclina. Esta noción es considerada importante para la intervención sugerida, dado que la enfermedad crítica aguda interrumpe la liberación normal de prostaciclina por las células endoteliales, dejando a los pacientes con un mal funcionamiento del endotelio vascular interrumpido de manera sistémica.

Citoprotección

15 La acción citoprotectora de prostaciclina es mediada a través de los receptores IP de prostaciclina expresada en un amplio intervalo de células que incluyen células endoteliales.

Al nivel endotelial, la citoprotección de prostaciclina da como resultado la preservación y/o promoción de la integridad endotelial y quiescencia endotelial, favoreciendo un fenotipo anticoagulante, antiadhesivo, antiapoptótico y antiinflamatorio del endotelio. La prostaciclina promueve directamente el reclutamiento de células progenitoras endoteliales, lo cual aumenta la reendotelización endotelial del endotelio lesionado, inhibe la apoptosis endotelial y previene el desacoplamiento mitocondrial de fosforilación de oxidación en la cadena respiratoria en condiciones con tensión celular, con lo cual se preservan la estructura y función mitocondrial y se reduce la apoptosis. También, la prostaciclina mejora la integridad endotelial y la función de barrera vascular sobrerregulando la caderina vascular endotelial (VE), que es responsable por el mantenimiento de uniones estrechas entre las células endoteliales. Finalmente, la prostaciclina promueve la quiescencia endotelial aumentando la expresión endotelial de otras (aparte de prostaciclina) rutas anticoagulantes naturales que, todas en algún grado, ejercen funciones citoprotectoras.

En adición a la acción directa de prostaciclina sobre células endoteliales, la influencia de prostaciclina sobre otras células y tejidos protege indirectamente al endotelio. Así, la vasodilatación inducida por la prostaciclina mediada a través de la relajación del músculo suave vascular protege al endotelio asegurando la perfusión microvascular y el suministro de oxígeno a células y tejidos (potencialmente hipóxicos). También, la prostaciclina estabiliza las membranas lisosomal y celular en células inmunológicas, lo cual reduce la inflamación previniendo de este modo la activación transitoria y el daño potencial del endotelio [Zardi et al 2005; Zardi et al 2007]. Finalmente, la inhibición de agregación de plaquetas inducida por prostaciclina preserva indirectamente la quiescencia endotelial, dado que las plaquetas activadas promueven la activación endotelial.

En conclusión, la prostaciclina ejerce acciones citoprotectoras ampliamente difundidas, que dan como resultado la preservación y/o promoción de la integridad y quiescencia endotelial favoreciendo un fenotipo anticoagulante, antiadhesivo, antiapoptótico y antiinflamatorio del endotelio, contrarrestando así el estado patológico del endotelio en síndrome endotelio-pático sistémico.

Definiciones

45 Se entiende que el término "enfermedad crítica aguda", incluye cualquier condición que da como resultado que el paciente necesite de inmediato terapia de cuidado intensivo. La condición puede ser causada por cualquier golpe dañino agudo y extenso al cuerpo, incluyendo, pero no limitado a, trauma físico, trauma de daño por quemadura, infección (bajo ella sepsis, sepsis severa, choque séptico), síndrome sistémico de respuesta inflamatoria (SIRS), infarto agudo de miocardio u otros eventos tromboembólicos.

50 El término "terapia de cuidado intensivo", también aquí el término "cuidado de soporte de órgano", puede incluir, pero no está limitado a, terapia de ventilación (por ejemplo ventilación mecánica), hemodiálisis, terapia vasopresora, terapia de fluido, terapia de transfusión sanguínea con administración de concentrados de células rojas de la sangre, plasma recientemente congelado, concentrados de plaquetas, concentrados de sangre entera o factor de coagulación, terapia sistémica con antibiótico y/o antiviral y/o antifúngico y/o antiprotazoico, nutrición parenteral, infusión de granulocitos, infusión de células T, infusión de células del tallo, terapia anticoagulante y/o antitrombótica incluyendo heparinas de bajo peso molecular, administración de corticoesteroides, control glicémico estrecho, etc.

60 El término "trauma", como se usa en esta memoria, indica cualquier choque o herida corporal producida por una lesión física repentina, tal como un accidente, lesión o impacto a tejido vivo, causada por un agente extrínseco tal como trauma explosivo, trauma romo, trauma penetrante, trauma causado por lesión química (derrame, pelea o intoxicación), radiación o quemaduras.

65 El término "choque" es usado en el significado clínico convencional, es decir, choque es una emergencia médica en la cual los órganos y tejidos del cuerpo no reciben un adecuado flujo de sangre. Esto priva de oxígeno (llevado en la sangre) a los órganos y tejidos y permite la formación de productos de desecho. El choque es causado por cinco categorías mayores de problemas: cardiogénico (indicando problemas asociados con el funcionamiento del corazón);

hipovolémico/hemorrágico (indicando que el volumen total de sangre disponible para la circulación, es bajo); neurogénico (causado por lesión severa al sistema nervioso central), séptico (causado por infección arrolladora, usualmente por bacterias) o anafiláctico/alérgico (causado por liberación sistémica de histamina desde células inmunes y excesiva vasodilatación).

5 El término "tratamiento con prostaciclina o sus análogos", como se usa en esta memoria, indica tratamiento intravenoso de pacientes críticamente enfermos de modo agudo o continuado de pacientes críticamente enfermos, con prostaciclina o sus análogos.

10 Los términos "tratamiento" y "tratar", como se usan en esta memoria, se refieren al manejo y cuidado de un paciente con el propósito de combatir una condición, enfermedad o desorden agudos. Se pretende que el término incluya el espectro completo de tratamientos para una condición dada de la cual el paciente sufre, tal como administración de prostaciclina o sus análogos con el propósito de: mejorar, aliviar o mitigar síntomas o complicaciones; retardo en el progreso de la condición, enfermedad o desorden; curación o eliminación de la condición, enfermedad o desorden; y/o
15 reducción del riesgo de o prevención de la condición, enfermedad o desorden, incluyendo la prevención de la recurrencia de la enfermedad, en donde se entiende que "prevenir" o "prevención" se refieren al manejo y cuidado de un paciente con el propósito de impedir el desarrollo de la condición, enfermedad o desorden, e incluye la administración de las composiciones farmacéuticas para prevenir el inicio de síntomas o complicaciones. El individuo que va a ser tratado es un ser humano. Un individuo que va a ser tratado, de acuerdo con la presente invención, puede
20 tener diferentes edades y puede ser femenino o masculino.

El término "trombomodulina" o TM o CD141 o BDCA-3, es una proteína integral de membrana expresada sobre la superficie de células endoteliales, que sirve como un cofactor para trombina. Reduce la coagulación de la sangre convirtiendo la trombina en una enzima anticoagulante desde una enzima procoagulante. Es codificada por el gen
25 THBD.

El término "trombomodulina soluble" o "sTM" se refiere a una forma soluble de trombomodulina presente en la sangre y otros fluidos corporales en humanos. Un elevado nivel circulante de trombomodulina soluble en la sangre puede reflejar un aumento en la pérdida o liberación de trombomodulina desde el endotelio o reducción en el metabolismo o excreción (esta última es un hallazgo típico en pacientes con enfermedad crónica de riñón). Un bajo nivel circulante de trombomodulina refleja que la pérdida o liberación de trombomodulina es baja/normal.

El término "nivel de trombomodulina" usado en esta memoria se refiere al nivel de trombomodulina en la sangre circulante de un humano, incluyendo el nivel en sangre entera, plasma o suero. Un nivel dado de trombomodulina medida en plasma con el resultado en ng/ml plasma, puede no corresponder al nivel de trombomodulina medido en la sangre entera con el resultado ng/ml de sangre entera, dado que la fracción en plasma de la sangre entera es sólo de aproximadamente 55 %.

El término "trombomodulina elevada" (Figura 7) se refiere a una concentración de trombomodulina en plasma por encima de 4 ng/ml, en una muestra de sangre tomada de paciente críticamente enfermo de modo agudo, tan pronto como es posible. Con tan pronto como es posible se indica que la muestra de sangre debería ser tomada minutos a horas después del golpe dañino, sea antes de la hospitalización, en la admisión en el hospital o con la ocurrencia de la enfermedad crítica aguda en el hospital. La trombomodulina revela un área bajo la curva operativa característica del receptor (ROC) de 0.744 (0.712-0.776) en la predicción de mortalidad al día 28. El nivel de 4 ng/ml revela una sensibilidad (rata verdadero-positivo) de 0.781 y una 1 - especificidad (rata falso-positivo) de 0.407 y el índice más alto posible de Youdens (un parámetro estadístico individual que captura el desempeño de una prueba de diagnóstico).

La elección de un nivel umbral más bajo de trombomodulina da como resultado un incremento en la rata verdadero-positivo (sensibilidad) y rata falso-positivo (1 - especificidad); mientras la elección de un nivel umbral más alto de trombomodulina da como resultado una reducción en la rata verdadero-positivo (sensibilidad) y rata falso-positivo (1 - especificidad) (Tabla 3). Un más bajo o más alto nivel umbral de trombomodulina resultará así en un menor Índice de Youden y por ello menor desempeño de la prueba de diagnóstico.

Debería notarse que un nivel de trombomodulina de 4 ng/ml en plasma puede no corresponder al nivel de trombomodulina medido en sangre entera, dado que la fracción de plasma de sangre entera es de sólo aproximadamente 55 %.

El término "trombomodulina baja" (Figura 7) se refiere a una concentración en plasma de trombomodulina por debajo de 4 ng/ml, en una muestra de sangre tomada de un paciente críticamente enfermo de modo agudo, tan pronto como es posible. Con tan pronto como es posible se indica que la muestra de sangre debería ser tomada minutos a horas después del golpe dañino, sea antes de la hospitalización, en la admisión en el hospital o con la ocurrencia de la enfermedad crítica aguda en el hospital. Un nivel más bajo de trombomodulina en un paciente críticamente enfermo de modo agudo está asociado con un incremento en el cambio de un buen resultado clínico.

65 El término "cuidado estándar" (Figura 7) se refiere, pero no está limitado a, el cuidado y/o tratamiento normales que un paciente recibe en el hospital, tal como terapia ventilación (por ejemplo ventilación mecánica), hemodiálisis, terapia

vasopresora, terapia de fluido, terapia de transfusión sanguínea con administración de concentrados de células rojas de la sangre, plasma recientemente congelado, concentrados de plaquetas, concentrados de sangre entera o de factor de coagulación, terapia sistémica con antibiótico y/o antiviral y/o antifúngica y/o antiprotozoica, nutrición parenteral, infusión de granulocitos, infusión de células T, infusión de células del tallo, terapia anticoagulante y/o antitrombótica incluyendo heparinas de bajo peso molecular, administración de corticoesteroides, control glicémico estrecho, etc.

El término "tratamiento pronto" (Figura 7) se refiere en esta memoria, a tratamiento tan pronto como es posible con prostaciclina o sus análogos, óptimamente ya antes de la hospitalización o dentro de unos minutos u horas después de la admisión en el hospital o dentro de unos minutos u horas con la ocurrencia de golpe dañino en el hospital. La infusión intravenosa con prostaciclina o sus análogos en la dosis, debería comenzar tan pronto como sea posible después de que los resultados de la prueba de trombotomodulina han estado disponibles, es decir, dentro de 30 min - 6 horas después de conocidos los resultados, antes de la hospitalización o en el hospital.

El término "nivel T más bajo" (Figura 7) se refiere a un nivel de trombotomodulina más bajo que la línea base, donde la línea base se refiere al primer momento inicial donde se mide la trombotomodulina. Así, en todos los momentos después de la línea base donde se mide la trombotomodulina, la decisión de continuar o suspender el tratamiento con prostaciclina para las siguientes 24 horas, depende del nivel actual de trombotomodulina, comparado con el nivel de línea base de trombotomodulina. Así, la terapia es personalizada para el paciente individual.

El término "CC mejorada" (Figura 7) o "condición clínica mejorada" se refiere a una mejora en la condición clínica del paciente y/o una reducción en el requerimiento del paciente por cuidado de soporte de órgano, que se basa en la impresión del equipo de doctores/médicos que atienden o en criterios más objetivos, tales como puntajes de severidad de la enfermedad como, pero no limitado a, puntaje de Evaluación de Falla Secuencial de Organos (SOFA). Una reducción en el requerimiento de cuidado de soporte de órgano podría ser, pero no está limitada a, disminución en la necesidad de tratamiento vasopresor, disminución en la necesidad de soporte con ventilador y disminución en la necesidad de oxígeno, disminución en la necesidad de diálisis, etc.

El término "continuar prostaciclina y cuidado estándar" (Figura 7) indica que el tratamiento con prostaciclina debería continuar por otras 24 horas, en adición al cuidado estándar. Esta decisión se basa en el nivel de trombotomodulina y la condición clínica del paciente.

El término "antes de la hospitalización" se refiere a la fase antes de que el paciente llegue al hospital, sea en la escena del accidente o golpe dañino (mientras el paciente recibe tratamiento de salvamento de cuidado de emergencia o es estabilizado para el transporte hasta el hospital) o durante el transporte hasta el hospital (en carro, helicóptero, avión, bote, tren, etc.). El tratamiento antes del hospital se refiere a cualquier tratamiento que inicia antes de que el paciente llegue al hospital.

El término "individuo" se refiere a un sujeto humano.

El término "paciente" se refiere a un sujeto humano que está enfermo y/o requiere tratamiento médico.

El término "medicina personalizada" se refiere en esta memoria a un tratamiento individualizado, donde los pacientes con elevados niveles de trombotomodulina son tratados con prostaciclina o sus análogos, mientras los pacientes con bajos niveles de trombotomodulina (quienes pueden parecer clínicamente similares a los pacientes con elevados niveles de trombotomodulina) no son tratados con prostaciclina o sus análogos.

El término "prostaciclina" se refiere a la molécula de lípido prostaciclina (PGI₂), que es un miembro de la familia de los eicosanoides. La definición, como se usa en esta memoria, también incluye análogos de prostaciclina, variantes de prostaciclina o agonistas de receptores de prostaciclina que pueden tener afinidad por receptores de prostaciclina, y pueden ser capaces de mediar funciones similares a las funciones mediadas por prostaciclina es decir, los análogos o variantes de prostaciclina son equivalentes funcionales de prostaciclina.

Los términos "análogo" o "variante" son entendidos como cualquier análogo o variante de un compuesto capaz de tratar una cierta condición del cuerpo humano, particularmente análogos y/o variantes de prostaciclina, que son equivalentes funcionales del compuesto.

Los términos "análogo de prostaciclina", "variante de prostaciclina" o "agonista del receptor de prostaciclina" tienen afinidad por receptores de prostaciclina y pueden ser capaces de mediar funciones similares a las funciones mediadas por prostaciclina, es decir, los análogos de prostaciclina, variantes de prostaciclina y agonistas de receptor de prostaciclina son equivalentes funcionales de prostaciclina. Éstos compuestos incluyen, pero no están limitados a, Iloprost, Epoprostenol, Epoprostenol sodio (flolan), Selexipag, Beraprost, Beraprost sodio, Treprostinil, Treprostenil sodio, Treprostinil pegilado, Treprostinil dietanolamina, 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)amino]butoxi}-N-(metilsulfonil) acetamida (profármaco de agonista de receptor de prostaciclina de acción prolongada), ácido {4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)amino]butoxi} acético, ácido 8-[1,4,5-trifenil-1H-imidazol-2-il-oxi] octanoico (agonista de receptor IP), carbaciclina (análogo de prostaciclina), isocarbaciclina (análogo de prostaciclina), cicaprost (análogo de prostaciclina), ácido 7,8-dihidro-5-(2-(1-fenil-1-pirid-3-il-metiminoxi)-etil)-a-naftiloxiacético (receptor específico de IP no

prostanoides), ácido 2-[3-[2-(4,5-difenil-2-oxazolil)etil] fenoxi] acético (agonista parcial de prostaciclina no prostanoides), ácido 3-[4-(4,5-difenil-2-oxazolil)-5-oxazolil] fenoxi] acético (agonista parcial de prostaciclina no prostanoides), 17[alfa], 20-dimetil-[DELTA]6,6a-6a-carba PG11 (agonista parcial de prostaciclina no prostanoides), 15-desoxi-16[alfa]-hidroxi-16[beta],20-dimetil-[DELTA]6,6a-6a-carba PG11 (agonista parcial de prostaciclina no prostanoides).

Los términos "análogo de prostaciclina", "variante de prostaciclina" o "agonista de receptor de prostaciclina" se refieren a un fármaco que puede iniciar una respuesta fisiológica o farmacológica característica de prostaciclina. Los análogos de prostaciclina, variantes de prostaciclina y agonistas de receptor de prostaciclina de acuerdo con la presente invención incluyen, pero no están limitados a, compuestos que tienen afinidad por el receptor de prostaciclina y son capaces de activar una respuesta de receptor de prostaciclina de una manera similar a la prostaciclina.

El término "protección" se refiere a la inversión, reducción, mejora, alivio o mitigación de la degradación del endotelio y su glyocalyx, el endotelio y/o glicocálix en sí mismos; retardo del progreso del daño celular endotelial, degradación del glicocálix; incremento de la renovación celular endotelial e incremento de la producción del glicocálix y componentes del glicocálix, y/o disminución del riesgo de, o prevención del daño de células endoteliales y degradación del glicocálix.

Se pretende que el término "efectos moduladores endoteliales" indique un tratamiento farmacológico orientado al mantenimiento o puesta del endotelio en un estado quiescente inactivado, antiadhesivo, anticoagulante y antiinflamatorio, de ese modo preservando, restaurando o promoviendo la integridad vascular y capacidad de respuesta funcional normal del endotelio.

El término "modulador endotelial" abarca cualquier agente o compuesto que influye en el endotelio para mantener o desarrollar hasta un estado que de manera óptima preserva y asegura la integridad y capacidad de respuesta funcional normal. En un estado con integridad vascular mantenida, el endotelio ejerce también propiedades quiescentes inactivadas, antiadhesivas, anticoagulantes y antiinflamatorias.

El término "dosis", como se usa en esta memoria, indica una dosis suficiente para producir el efecto deseado en relación con las condiciones para las cuales es administrado, en particular una cantidad de un compuesto que es capaz de modular, proteger y/o tratar el endotelio y de ese modo para el síndrome endotelio-pático sistémico. Normalmente, la dosis debería ser capaz de prevenir o disminuir la severidad o dispersión de la condición o indicación que está siendo tratada. La dosis exacta dependerá de las circunstancias, tales como la condición que es tratada, el programa de administración, la semivida del compuesto capaz de modular, proteger y/o tratar el endotelio y la salud general del sujeto.

El término "trombelastografía" o "TEG" se refiere a un ensayo de hemostasis en sangre entera viscoelástica disponible comercialmente empleando sangre con citrato o no anticoagulada. El equipo de análisis de TEG usa una pequeña muestra de sangre entera en una taza rotativa y una clavija suspendida en la sangre mediante un alambre de torsión, cuyo movimiento es monitoreado. Para acelerar la formación de coágulo, puede añadirse a la taza una cantidad estandarizada de un activador de coagulación (por ejemplo, caolín, factor de tejido), justo antes de la colocación de la clavija en la taza. El ensayo de TEG es adecuado para la determinación de parámetros importantes en la actividad de coagulación (tiempo de inicio del coágulo, dinámica de la formación de coágulo), fuerza del coágulo (amplitud máxima (MA)) y degradación del coágulo (fibrinólisis). La aproximación de sistemas de TEG para monitorear la hemostasis del paciente se basa en la premisa de que el resultado final de proceso homeostático es el coágulo. Las propiedades físicas del coágulo determinan si el paciente tendrá hemostasis normal, o estará en un riesgo aumentado de hemorragia o trombosis.

El término "Multiplate" se refiere a un sistema de análisis de función de plaquetas en sangre entera a base de agregometría de impedancia, disponible comercialmente, que emplea sangre anticoagulada. El equipo analizador Multiplate usa una pequeña muestra de sangre entera en una cámara con dos pares de electrodos de platino. Se añaden agonistas estandarizados de plaquetas a la sangre en la cámara, para investigar rutas específicas de activación/señalización de plaquetas. El ensayo por Multiplate se basa en la unión de plaquetas a dos electrodos de platino, dando como resultado un incremento de la resistencia eléctrica entre los electrodos. El cambio de resistencia (llamado impedancia) es registrado continuamente y es proporcional a la cantidad de plaquetas que se adhieren a los electrodos y por ello es proporcional a la agregación de plaquetas.

El término "antiadhesivo" se refiere al efecto de compuesto(s) que reduce(n) la habilidad de las plaquetas para adherirse al endotelio y formar finalmente trombos.

El término "anticoagulante" se refiere al efecto de compuesto(s) que reduce(n) o inhibe(n) la actividad del factor de coagulación procoagulante en la sangre y por ello reduce(n) o inhibe(n) la coagulación de la sangre.

El término "antitrombótico" se refiere al efecto de compuesto(s) que reduce(n) la habilidad de las plaquetas para agregarse y adherirse, e interactuar en el proceso de formación de coágulo y por ello formar trombos.

El término "antiagregación" se refiere al efecto de compuesto(s) que reduce(n) la habilidad de las plaquetas para agregarse e interactuar en el proceso de formación de coágulo y por ello formar trombos.

5 El término "coagulopatía" (también llamada habilidad alterada de coagulación, desorden de coagulación o desorden de sangrado) es cualquier defecto en el mecanismo corporal para la coagulación y formación de coágulo, causando una predisposición a la formación de coágulo demasiado lenta (hipocoagulabilidad) o demasiado rápida (hipercoagulabilidad). Clínicamente, la coagulopatía puede presentarse con incremento en la tendencia de sangrado e incremento de eventos tromboembólicos/incremento en el riesgo de trombosis.

10 El término "glicocálix" se refiere en esta memoria a la capa rica en carbohidratos, que cubre las células endoteliales en individuos saludables. El glicocálix comprende proteoglicanos que pueden estar solubles o enlazados a la membrana celular endotelial.

15 El término "falla de órgano" se refiere a una función alterada de órgano en un paciente enfermo de modo agudo, que requiere intervención médica para lograr homeostasis de la sangre y/o para compensar la pérdida de función del órgano que está fallando. Los órganos incluyen, pero no están limitados a, corazón y vasos (falla cardíaca, colapso vascular, hipotensión, falla de órgano), pulmones (falla respiratoria), hígado (falla del hígado), riñones (falla renal), cerebro (encefalopatía).

20 El término "falla múltiple de órgano" (abreviado MOF) o "síndrome de disfunción múltiple de órgano" (abreviado MODS) es la función alterada de más de un órgano en un paciente enfermo de modo agudo que requiere intervención médica, para lograr la homeostasis y/o para compensar la pérdida de función de los órganos que están fallando.

25 El término "pérdida de trombomodulina" o "liberación de trombomodulina", como se usa en esta memoria, se refiere al proceso en el cual la trombomodulina unida a la célula es retirada de la célula y se torna soluble en la sangre y/o la fase de plasma de la sangre. Este evento refleja el daño celular endotelial.

30 El término "pérdida" del glicocálix es denominado en esta memoria como la degradación del glicocálix y liberación de sus componentes que por ello se tornan solubles en la sangre y/o la fase de plasma de la sangre

35 El término "lesión por reperfusión", como se usa en esta memoria, se refiere al daño en el tejido causado cuando el suministro de sangre retorna al tejido después de un período de isquemia. La ausencia de oxígeno y nutrientes de la sangre crea una condición en donde la restauración de la circulación da como resultado la inflamación y daño oxidativo a través de la inducción de tensión oxidativa, más que la restauración de la función normal.

El término "fibrinólisis" indica un proceso en donde se rompe un coágulo de fibrina, el producto de coagulación.

40 El término "sepsis" es usado en el significado clínico convencional, haciendo referencia a un estado inflamatorio de todo el cuerpo (llamado síndrome sistémico de respuesta inflamatoria (SIRS)) y la presencia de una infección conocida o sospechada. La "sepsis severa" es definida como disfunción de órgano o hipoperfusión de tejido inducida por sepsis (manifestándose por ejemplo como hipotensión, lactato elevado, disminución en la salida de orina o estado mental alterado). "Choque séptico" es sepsis severa más presión sanguínea persistentemente baja, independientemente de la administración de fluidos intravenosos. La sepsis puede conducir a sepsis severa, choque séptico, síndrome de disfunción múltiple de órgano/falla múltiple de órgano (MODS/MOF) y muerte.

50 El término "síndrome sistémico de respuesta inflamatoria" o "SIRS" es usado en el significado clínico convencional, haciendo referencia a inflamación sistémica en respuesta a una lesión sin proceso infeccioso confirmado. El SIRS puede ser diagnosticado cuando 2 o más de los siguientes criterios están presentes: 1) temperatura corporal menor de 36 °C (96.8 °F) o mayor de 38°C (100.4 °F); 2) tasa cardíaca mayor de 90 golpes por minuto; 3) Taquipnea (alta tasa respiratoria), con más de 20 respiraciones por minuto o una presión arterial parcial de dióxido de carbono menor de 4.3 kPa (32 mm Hg) y 4) recuento de células blancas en la sangre menor de 4000 células/mm³ (4 × 10⁹ células/l) o mayor de 12,000 células/mm³ (12 × 10⁹ células/l) o la presencia de más de 10 % de neutrófilos inmaduros (formas de banda). Cuando se sospecha o prueba una infección (por cultivo, tinción, o cadena de reacción de polimerasa (PCR)), junto con SIRS, esto es por definición sepsis.

60 El término "inflamación sistémica" es función alterada de órgano en un paciente enfermo de modo agudo, debido a la respuesta no específica conservada del cuerpo (vasculatura, sistema inmune, tejidos) a infecciones, antígenos no infecciosos, trauma, quemadura, destrucción/regeneración/daño de órgano/tejido, isquemia, hemorragia, intoxicación, y/o malignidad.

65 El término "ELISA" se refiere a "Ensayo inmunosorbente enlazado a enzima". En el método de ELISA, el antígeno/anticuerpo (Ab) enlazado es detectado por un anticuerpo enlazado (primaria o secundariamente) a una enzima (Ab*) cuya actividad puede ser determinada. La actividad del Ab* sirve como un estimado cuantitativo de la cantidad del antígeno/anticuerpo investigado en el espécimen biológico.

5 El término "sistemas de puntaje" se refiere a sistemas de puntaje desarrollados para estandarizar la evaluación de un pronóstico de paciente (riesgo de muerte), severidad de la enfermedad o progreso de la enfermedad. Dependiendo del puntaje, es aplicado en la admisión, durante la estadía en UCI/hospital y/o en momentos específicos después de la admisión (por ejemplo después de 6 meses). Los puntajes suministran así evaluaciones estandarizadas de riesgo de mortalidad, morbilidad, severidad de la enfermedad, progreso de enfermedad clínica y resultado.

10 El término "puntaje de severidad de lesión" o "ISS" se refiere a un sistema de puntaje anatómico que suministra un puntaje total para pacientes de trauma con lesiones múltiples. A cada lesión se asigna un puntaje de Escala Abreviada de Lesión (AIS) y es asignado a una de seis regiones del cuerpo (cabeza, cara, pecho, abdomen, extremidades (incluyendo pelvis), externa). Solo se usa el puntaje AIS más alto en cada región del cuerpo. Para calcular el puntaje ISS, se eleva al cuadrado el puntaje de las 3 regiones del cuerpo más severamente lesionadas y se suman conjuntamente para producir el puntaje ISS: $AIS_x^2 + AIS_y^2 + AIS_z^2 = ISS$. El puntaje ISS toma valores de 0 a 75. Si a una lesión se asigna un AIS de 6 (lesión de no supervivencia), se asigna al ISS automáticamente 75. El ISS es virtualmente el único sistema de puntaje anatómico en uso y tiene correlación lineal con la mortalidad, morbilidad, estadía en el hospital y otras medidas de severidad. El ISS es aplicado una vez en la admisión pero no en momentos posteriores durante la estadía en el hospital.

20 El término "escala de coma de Glasgow" o puntaje "GCS" se refiere a una escala de puntaje neurológico que de manera objetiva registra el estado de consciencia de un paciente para la evaluación inicial y subsiguiente. Fue usado inicialmente para evaluar el nivel de consciencia después de lesión en la cabeza, pero la escala es usada ahora para primeros auxilios, servicios de emergencia médica (EMS), enfermeras y doctores, dado que es aplicable a todos los pacientes médicos agudos y con trauma. En hospitales es usado también en el monitoreo de pacientes mientras están en la unidad de cuidado intensivo (UCI). El GCS es aplicado en la admisión y posteriormente en cualquier momento durante la estadía en el hospital, para evaluación del nivel actual de o cambios en la consciencia.

25 El GCS tiene puntajes entre 3 y 15 (la suma de puntos dados para cada uno de los tres parámetros de evaluación), siendo 3 el peor, y 15 el mejor. Un GCS de 13 o mayor tiene correlación con una lesión cerebral suave, 9-12 es una lesión moderada, ≤ 8 es una lesión cerebral severa, 3 es inconsciencia profunda.

30 El GCS está compuesto por tres parámetros: Mejor Respuesta del Ojo, Mejor Respuesta Verbal, y Mejor Respuesta Motriz:

Mejor Respuesta del Ojo (max 4 puntos)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sin abertura del ojo 2. Abertura del ojo al dolor 3. Abertura del ojo a comando verbal 4. Ojos abiertos espontáneamente
Mejor Respuesta Verbal (max 5 puntos)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sin respuesta verbal 2. Sonidos incomprensibles 3. Palabras inapropiadas 4. Confundido 5. Orientado
Mejor Respuesta Motriz (max 6 puntos)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sin respuesta motriz 2. Extensión al dolor 3. Flexión al dolor 4. Retiro del dolor 5. Dolor localizado

35 El término "Puntaje II de Fisiología Aguda Simplificada" o "SAPS II" se refiere a un sistema de puntaje diseñado para medir la severidad de enfermedad para pacientes ≥ 15 años admitidos a Unidades de Cuidado Intensivo (UCI).

40 La medición tiene que ser completada 24 horas después de la admisión en la UCI, dando como resultado un puntaje de punto entero (suma de peores valores de subpuntaje) entre 0 y 163 y una mortalidad predicha entre 0 % y 100 % (la mortalidad corresponde a 10 %, 25 %, 50 %, 75 % y 90 % en pacientes con un puntaje de 29, 40, 52, 64 y 77, respectivamente). No puede calcularse nuevo puntaje durante la estadía en la UCI, pero si un paciente sale de la UCI y es admitido nuevamente, puede calcularse un nuevo puntaje SAPS II.

El puntaje se basa en el peor valor de los siguientes parámetros fisiológicos dentro de las pasadas 24 horas:

ES 2 898 424 T3

Parámetro	Unidad	Puntaje
Edad	Años	
Rata cardíaca	gpm	
Presión sanguínea sistólica	mm Hg	
Temperatura	°C o F	
Escala de coma Glasgow	Puntaje	
Ventilación mecánica o CPAP	Sí, no	
PaO ₂	mm Hg	
FiO ₂	%	
Salida de orina	ml	
Nitrógeno de urea en la sangre	mg/dl	
Sodio	mEq/l	
Potasio	mEq/l	
Bicarbonato	mEq/l	
Bilirrubina	mg/dl	
Células sanguíneas blancas	x10 ⁹ /l	
Enfermedades crónicas	Cáncer con metástasis, malignidad hematológica o SIDA	
Tipo de admisión	Quirúrgica médica, quirúrgica médica o no programada	
Suma		X puntos

5 El término "evaluación secuencial de falla de órgano" o puntaje "SOFA" se refiere a un sistema de puntaje aplicado para determinar la extensión de función de órgano o grado de falla del órgano de una persona. El puntaje se basa en seis subpuntajes diferentes, cada uno de los sistemas respiratorio, cardiovascular, hepático, coagulación, renal y neurológico. El punto dado a cada subpuntaje es sumado para dar el puntaje SOFA total. Típicamente, el puntaje es determinado en la admisión a la UCI y después de ello diariamente, para evaluar el progreso de la enfermedad. El puntaje es aplicable a todos los tipos de pacientes de UCI, incluyendo pacientes con trauma, sepsis, paro cardíaco resucitado, cirugía mayor, etc.

10

Sistema de órgano	Parámetro	SOFA sup	Puntaje puntos		
		1	2	3	4
Nervioso	GCS	13-14	10-12	6-9	<6
Respiratorio	PaO ₂ /FiO ₂ [mm Hg]	<400	<300	<200 y ventilador	<100 y ventilador
Cardiovascular	MAP [mm Hg] y/o vasopresor (dop, epi, nor)	MAP <70	dop ≤5 o dob (cualquier dosis)	dop >5 o epi ≤0.1 o nor ≤0.1	dop >15 o epi >0.1 o nor >0.1
Renal	Creatinina [μmol/l] o salida de orina	110-170	171-299	300-440 o <500 ml/d	>440 o <200 ml/d
Hígado	Bilirrubina [μmol/l]	>20-32	>33-101	>102-204	>204
Coagulación	Conteo de plaquetas [10 ⁹ /l]	<150	<100	<50	<20

15 El término "categoría de desempeño cerebral" o "CPC" se refiere a una escala para determinar la salida neurológica después de paro cardíaco. El CPC es aplicado en cualquier momento después del paro cardíaco a un mínimo de tiempo-puntos estandarizado. El paciente es calificado de 1-5, dependiendo de la presentación clínica.

CPC 1	Buen desempeño cerebral: consciente, alerta, capaz de trabajar, podría tener déficit neurológico o psicológico suave
CPC 2	Discapacidad cerebral moderada: consciente, suficiente función cerebral para actividades independientes de la vida diaria. Capaz de trabajar en ambiente protegido.
CPC 3	Discapacidad cerebral severa: consciente, dependiente de otros para soporte diario debido a función cerebral alterada. Varía desde el estado ambulatorio hasta demencia o parálisis severas.
CPC 4	Coma
CPC 5	Muerte cerebral: apnea, arreflexia, silencio EEG, etc.

5 El término "escala modificada de Rankin" o "mRS" se refiere a una escala usada comúnmente para la medición del grado de discapacidad o de dependencia en las actividades diarias, de personas que han sufrido una apoplejía, paro cardíaco, u otras causas de discapacidad neurológica. El paciente es calificado con 1-6 dependiendo de la presentación clínica.

mRS 1	Sin síntomas en absoluto
mRS 2	Sin discapacidad significativa. Capaz de llevar a cabo actividades usuales, a pesar de algunos síntomas.
mRS 3	Ligera discapacidad. Capaz de ocuparse de sus propios asuntos sin asistencia, pero incapaz de llevar a cabo todas las actividades previas.
mRS 4	Discapacidad moderada. Requiere alguna ayuda, pero es capaz de caminar sin asistencia.
mRS 5	Discapacidad severa. Requiere cuidado y atención constantes de enfermera, confinado en cama, incontinente.
mRS 6	Muerte

10 El término "puntaje APACHE" o "APACHE II", se refiere a puntaje de Evaluación de Salud de Fisiología Aguda y Crónica (APACHE) II. APACHE II es un sistema de calificación diseñado para medir la severidad de enfermedad para pacientes con ≥ 15 años, admitidos en Unidades de Cuidado Intensivo (UCI). La medición tiene que completarse 24 horas después de la admisión a la UCI, dando como resultado un puntaje de punto entero (basado en el peor valor de subpuntajes) entre 0 y 71. Los puntajes elevados corresponden a enfermedad más severa y un mayor riesgo de muerte. El puntaje APACHE II no puede ser convertido directamente en un riesgo porcentual de mortalidad, pero puede ser usado para calcular un riesgo de mortalidad, si la indicación del paciente para admisión en UCI es tenida en cuenta. No puede calcularse un nuevo puntaje durante la estadía en UCI, pero si un paciente sale de la UCI y es admitido nuevamente, puede calcularse un nuevo puntaje APACHE II. El puntaje se basa en el peor valor de los siguientes parámetros fisiológicos, dentro de las pasadas 24 horas:

20

Parámetro	Unidad	Puntaje
Edad	Años	
Escala de coma de Glasgow	Puntaje	
Temperatura	°C o F	
Por medio de presión sanguínea arterial (MAP)	mm Hg	
Rata cardíaca	gpm	
Rata respiratoria	gpm	
FiO ₂	%	
PaO ₂	mm Hg	
Sodio	mEq/l	
Potasio	mEq/l	
Creatinina	mg/dl	

Parámetro	Unidad	Puntaje
Falla renal aguda	Sí, no	
Hematocrito	%	
Células blancas de la sangre	x 10 ⁹ /l	
¿Insuficiencia severa del sistema de órgano o está inmunocomprometido?	Hígado: cirrosis probada con biopsia con hipertensión portal; episodios de sangrado GI superior pasados, atribuidos a hipertensión portal; o episodios previos de falla hepática, encefalopatía, o coma. Cardiovascular: falla cardíaca clase IV New York Heart Asociación (NYHA). Respiratoria: enfermedad crónica restrictiva, obstructiva o vascular, dando como resultado severa restricción al ejercicio (es decir, incapaz de subir escaleras o ejecutar labores domésticas); hipoxia crónica, hipercapnia, policitemia secundaria, hipertensión pulmonar severa (> 40 mm Hg); o dependencia respiratoria documentadas. Renal: recibe diálisis crónica. Inmunocomprometido: el paciente ha recibido terapia que suprime la resistencia a la infección (por ejemplo, inmunosupresión, quimioterapia, radiación, esteroides de largo plazo o de elevada dosis, o leucemia avanzada, linfoma o SIDA)	
Suma		X puntos

Resumen

5 La invención es divulgada en la presente descripción, dibujos y en las reivindicaciones. En particular, las realizaciones divulgadas en los ejemplos de la presente invención son consideradas particularmente preferidas.

10 La presente invención se refiere a un método para el diagnóstico, usos de trombomodulina como un marcador biológico, un método de tratamiento; prostaciclina o un análogo de la misma para uso en novedosos tratamientos y composiciones que comprenden prostaciclina o un análogo de la misma para uso en novedosos tratamientos, todos de acuerdo con las realizaciones descritas en esta sección en particular, y a través de la presente divulgación.

15 En un primer aspecto e implementación se divulga un método para el diagnóstico para un individuo diagnosticado con una enfermedad crítica aguda, si el individuo es un candidato para tratamiento de combinación de cuidado estándar para la enfermedad crítica aguda, en combinación con administración de prostaciclina o un análogo de la misma, comprendiendo el método:

20 medición de una concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma del individuo; determinación de si la concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma está por encima de un nivel umbral de por lo menos 4 ng/ml; y diagnóstico al individuo como un candidato para tratamiento de combinación, si la concentración de línea base está por encima del nivel umbral.

25 En el primer aspecto e implementación se divulga un método de acuerdo con el primer aspecto e implementación, en donde el nivel umbral es por lo menos 4 ng/ml.

Además, en esta memoria se describe que el método es un método para el diagnóstico de daño endotelial severo en el individuo diagnosticado con la enfermedad crítica aguda; en donde el individuo es diagnosticado con daño endotelial severo en adición a la enfermedad crítica aguda, si la concentración de línea base está por encima del nivel umbral.

30 También se describe en esta memoria un método en donde el método es un método para el diagnóstico de síndrome endotelio-pático sistémico en un individuo diagnosticado con una enfermedad crítica aguda; en donde el individuo es diagnosticado con síndrome endotelio-pático sistémico, cuando el individuo es diagnosticado con una enfermedad crítica aguda y daño endotelial severo.

35 En un segundo aspecto se divulga el uso de trombomodulina como un marcador biológico en un método para el diagnóstico para un individuo diagnosticado con una enfermedad crítica aguda, si el individuo es un candidato para tratamiento de combinación con cuidado estándar para la enfermedad crítica aguda, en combinación con administración de prostaciclina o un análogo de la misma, comprendiendo el método:

medición de una concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma del individuo;
 determinación de si la concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma está por encima
 de un nivel umbral de por lo menos 4 ng/ml; y
 5 diagnóstico del individuo como un candidato para tratamiento de combinación, si la concentración de línea base está
 por encima del nivel umbral.

Además, se describe un método para el diagnóstico de síndrome endoteliofático sistémico en un individuo
 diagnosticado con una enfermedad crítica aguda; en donde el individuo es diagnosticado con síndrome endoteliofático
 10 sistémico, cuando el individuo es diagnosticado con una enfermedad crítica aguda y daño endotelial severo.

También, en esta memoria se divulga una composición que comprende prostaciclina o un análogo de la misma, para
 uso en un método para el tratamiento de una enfermedad crítica aguda en un individuo diagnosticado con la
 enfermedad crítica aguda, e incremento concurrente del nivel medido de trombomodulina en sangre o plasma del
 15 individuo, comprendiendo el método:

- (a) medición de una concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma del individuo;
- (b) determinación de si la concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma está por encima
 de un nivel umbral de por lo menos 4 ng/ml;
- 20 (c) administración de una dosis de 0.5 - 4 ng/kg/min de prostaciclina o un análogo de la misma al individuo
 continuamente durante un primer periodo de tiempo, si la concentración de línea base de trombomodulina soluble en
 sangre o plasma está por encima del nivel umbral de por lo menos 4 ng/ml;
- (d) medición al final del primer periodo de tiempo de una concentración de trombomodulina soluble en sangre o plasma
 del individuo;
- 25 (e) determinación de si la concentración de trombomodulina soluble es menor en por lo menos una disminución de 10
 %, comparada con la concentración de línea base de trombomodulina determinada previamente al inicio de la
 administración de prostaciclina;
- (f) evaluación de si ha ocurrido una mejora clínica de la enfermedad crítica aguda en el individuo, durante el primer
 periodo de tiempo; y
- 30 (g) si se observan tanto una disminución de concentración como una mejora clínica, suspensión de la administración
 de prostaciclina mientras se continúa el cuidado estándar para la enfermedad crítica aguda; o
- (h) de otro modo continuación de la administración de prostaciclina durante un segundo periodo de tiempo, que no
 excede el primer periodo de tiempo

35 en donde los pasos (d) a (h) son repetidos hasta que se suspende la administración de prostaciclina al individuo
 siguiendo el paso (g).

También, en esta memoria se divulga una composición que comprende prostaciclina o un análogo de la misma, en
 donde la dosis es 1 - 2 ng/kg/min , y /o en donde el análogo de prostaciclina es Iloprost o Flolan.

40 En realizaciones, la composición que comprende prostaciclina o un análogo de la misma de acuerdo con el uso
 anterior, es en donde el primer periodo de tiempo es por lo menos 48 horas o por lo menos 72 horas, y o el segundo
 periodo de tiempo es 12 horas o 24 horas, y o en el paso (e) la disminución es de por lo menos 20 %.

45 En una realización preferida, la concentración de línea base es medida inmediatamente después o poco después del
 reconocimiento de la enfermedad crítica aguda.

En una realización más preferida, la concentración de línea base es medida dentro de 5 minutos y hasta 6 horas
 después del reconocimiento de la enfermedad crítica aguda.

50 En otra realización preferida, la administración de prostaciclina es iniciada inmediatamente o poco después de que al
 completarse el paso (b) se ha determinado que la concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre
 o plasma está por encima del nivel umbral.

55 En otra realización, la administración de prostaciclina es iniciada dentro de 5 min a 12 horas, después de que al
 completarse el paso (b) se ha determinado que la concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre
 o plasma está por encima del nivel umbral.

60 En un aspecto, el incremento concurrente en un nivel medido de trombomodulina en sangre o plasma del individuo es
 el resultado de daño endotelial severo.

En otro aspecto, el incremento concurrente en un nivel medido de trombomodulina en sangre o plasma del individuo
 es el resultado de síndrome endoteliofático sistémico.

65 En una realización preferida, a la enfermedad crítica aguda es seleccionada de entre trauma, trauma de daño por

quemadura, sepsis, sepsis severa, choque séptico, infarto agudo de miocardio, paro cardíaco, síndrome sistémico de respuesta inflamatoria (SIRS), cirugía mayor aguda, terapia antishock, o un evento tromboembólico.

En una realización preferida, la administración de prostaciclina o un análogo de la misma es por infusión intravenosa.

5 Además, en esta memoria se describe un método para tratamiento de una enfermedad crítica aguda en un individuo diagnosticado con la enfermedad crítica aguda e incremento concurrente de un nivel medido de trombomodulina en sangre o plasma del individuo, comprendiendo el método:

10 (a) medición de una concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma del individuo;
 (b) determinación de si la concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma está por encima de un nivel umbral de por lo menos 2.5 ng/ml;
 (c) administración de una dosis de 0.5 - 4 ng/kg/min de prostaciclina o un análogo de la misma al individuo;

15 En una implementación adicional, la medición de trombomodulina, es conducida mediante un ensayo de punto de cuidado (POC).

Descripción de los dibujos y tablas

20 La Figura 1 muestra una presentación esquemática del síndrome endotelio-pático sistémico al nivel vascular. La Figura 1 es una presentación esquemática de síndrome endotelio-pático sistémico que ilustra, a nivel vascular, cómo un paciente críticamente enfermo de modo agudo con un golpe dañino creciente experimentará daño progresivo al endotelio, dando como resultado pérdida/liberación endotelial de trombomodulina y el consiguiente incremento en la trombomodulina soluble circulante (sTM, burbujas). El daño endotelial progresivo dará clínicamente resultado en la función de barrera vascular alterada, fuga capilar, sangrado, hipotensión, falla múltiple de órgano y, finalmente, muerte. Las Figuras 2a - 2d son gráficas que muestran los resultados de prueba que ilustran el efecto de infusión de Flolan® en voluntarios saludables.

25 La Figura 2a muestra una gráfica de una trombomodulina soluble (ng/ml) en la línea base (0 h), al final de (2 h) y después de (4 h, 5 h, 6 h, 8 h, 24 h) de 2 horas de 4 ng/kg/min de infusión de Flolan® en voluntarios saludables. *, diferencia significativa de la línea base.

30 La Figura 2b muestra una gráfica de proteína C (%) en la línea base (0 h), al final de (2 h) y después de (4 h, 5 h, 6 h, 8 h, 24 h) de 2 horas de 4 ng/kg/min de infusión de Flolan® en voluntarios saludables. *, diferencia significativa frente a la línea base.

35 La Figura 2c muestra una gráfica de inhibidor de activador de plasminógeno (PAI)-1 (ng/ml) en la línea base (0 h), al final de (2 h) y después de (4 h, 5 h, 6 h, 8 h, 24 h) de 2 horas de 4 ng/kg/min de infusión de Flolan® en voluntarios saludables. *, diferencia significativa frente a la línea base.

40 La Figura 2d muestra una gráfica de antitrombina (microgramos/ml) en la línea base (0 h), al final de (2 h) y después de (4 h, 5 h, 6 h, 8 h, 24 h) de 2 horas de 4 ng/kg/min de infusión de Flolan® en voluntarios saludables. *, diferencias significativas frente a la línea base.

Las Figuras 3a a 3c son gráficas que muestran los resultados de prueba que ilustran el efecto de infusión de Ilomedin® en voluntarios saludables.

45 La Figura 3a muestra una gráfica de trombomodulina soluble (ng/ml) en la línea base (línea base), durante (30 min), al final de (2 h) y después de (2 h post) de 2 horas de 1 ng/kg/min de infusión de Ilomedin® infusión en voluntarios saludables. *, diferencia significativa frente a la línea base; (*), frontera de diferencia significativa frente a la línea base.

La Figura 3b muestra una gráfica de proteína C (%) en la línea base (línea base), durante (30 min), al final de (2 h) y después de (2 h post) de 2 horas de 1 ng/kg/min de infusión de Ilomedin® en voluntarios saludables. *, diferencia significativa frente a la línea base; (*), frontera de diferencia significativa frente a la línea base.

50 La Figura 3c muestra una gráfica de prostaciclina (pg/ml) en la línea base (línea base), durante (30 min), al final de (2 h) y después de (2 h post) de 2 horas de 1 ng/kg/min de infusión de Ilomedin® en voluntarios saludables. *, diferencia significativa frente a la línea base; ‡, diferencia significativa del punto de tiempo previo.

La Figura 4 es una gráfica que muestra los resultados de prueba que ilustran el efecto de infusión de Ilomedin en pacientes con infarto agudo de miocardio que soportan intervención coronaria percutánea.

55 La Figura 4 muestra una gráfica que ilustra E-selectin soluble (ng/ml) en la línea base (línea base), al final de 24 horas (24 h) y después de (48 h) de 24 horas de terapia activa (0.5 ng/kg/min de infusión de Ilomedin®) o placebo (infusión salina al 0.9 %) en pacientes AMI PCI. , diferencia significativa entre grupo activo y placebo.

Las figuras 5a - 5c son gráficas que muestran los estados de prueba que ilustran el efecto de infusión de Ilomedin en pacientes que soportan la cirugía de Whipple.

60 La Figura 5a muestra una gráfica que ilustra terapia con trombomodulina soluble (ng/ml) preoperativa (0 h), postoperativa (post-op) y 6 horas de modo postoperativo (6 h) activa intra- y postoperativa (infusión de 1 ng/kg/min de Ilomedin®) o placebo (infusión salina al 0.9 %) de pacientes Whipple. *, diferencia significativa frente a la línea base; ‡, diferencia significativa entre grupo activo y placebo.

65 La Figura 5b muestra una gráfica que ilustra terapia con nucleosomas (%) preoperativa (0 h), postoperativa (post-op) y 6 horas de modo postoperativo (6 h) intra- y postoperativa activa (infusión de 1 ng/kg/min Ilomedin®) o placebo (solución salina al 0.9 %) de pacientes Whipple. *, diferencia significativa frente a la línea base; ‡, diferencia significativa entre grupos activo y placebo.

La Figura 5c muestra una gráfica que ilustra terapia con sindecano-1 (ng/ml) preoperativa (0 h), postoperativa (post-op) y 6 horas de modo postoperativo (6 h) activa intra- y postoperativa (1 ng/kg/min de infusión de Ilomedin®) o placebo (infusión salina al 0.9 %) en pacientes Whipple. *, diferencia significativa frente a la línea base.

La Figura 6 muestra una gráfica que ilustra una curva operativa característica de receptor (ROC) de trombomodulina para predecir la mortalidad en pacientes críticamente enfermos de modo agudo, que sufren de trauma, infarto de miocardio, paro cardíaco, sepsis/sepsis severa/choque séptico. Trombomodulina AUC para predecir la mortalidad al día 28: AUC 0.744 (0.712-0.776), $p < 0.0001$. El Índice más alto de Youden revela un nivel umbral de 4.0 ng/ml de trombomodulina en plasma. Sensibilidad 0.781, 1 - especificidad 0.407.

La Figura 7 muestra un diagrama de flujo que ilustra una realización ejemplar de un método para decidir el tratamiento con prostaciclina o un análogo de la misma en pacientes que presentan enfermedad críticamente aguda, en combinación con elevados niveles de trombomodulina.

La Figura 8 muestra un diagrama de flujo que ilustra la invención como ejemplar, descrita en la Figura 7 en términos de sus unidades constituyentes de identificación, tratamiento y control.

La Figura 9 muestra puntajes de ELISA para trombomodulina en sangre versus plasma. Correlaciones entre concentraciones de trombomodulina (ng/ml) medidas en plasma diluido 1:2 (estándar de oro) y sangre completa, no diluida (Figura 9a), diluida 1:2 (Figura 9b), o diluida 1:4 (Figura 9c).

La Figura 10 muestra una gráfica que ilustra la curva operativa característica de receptor (ROC) de sindecano-1.

La Figura 11 muestra una gráfica que ilustra la curva operativa característica de receptor (ROC) de adrenalina.

La Tabla 1 detalla un estudio de demografía y severidad de enfermedad en pacientes en UCI.

La Tabla 2 detalla un estudio de mediana de niveles de trombomodulina en plasma/suero (ng/ml) en 2,118 pacientes críticamente enfermos de modo agudo

La Tabla 3 detalla un estudio del nivel de trombomodulina versus sensibilidad de prueba para el grupo de pacientes de la Tabla 2.

La Tabla 4 detalla resultados para pacientes de trauma. La Tabla 4a detalla resultados para severidad de lesión de pacientes, en la admisión en 635 pacientes de trauma, dependientes del nivel de sTM (trombomodulina soluble). La Tabla 4b detalla resultados basados en 270 pacientes de trauma.

La Tabla 5 detalla resultados para pacientes de paro cardíaco sobre la base de $n=169$ pacientes resucitados de paro cardíaco. La Tabla 5a detalla la proporción de pacientes OHCA con $sTM > 2.5-5-5$ ng/ml en la admisión. La Tabla 5b detalla los cambios absolutos y proporcionales (mediana) en sTM de la admisión y 24 h y 72 h más adelante, en sobrevivientes y no sobrevivientes al día 28. La Tabla 5c detalla el valor predictivo de sTM en diferentes puntos de tiempo para salida cognitiva pobre ($CPC \geq 3$ / $mRS \geq 4$), evaluada mediante análisis de ROC.

La Tabla 6 detalla resultados sobre la base de 571 pacientes STEMI sobre la proporción de pacientes OHCA con $sTM > 2.5-5-5$ ng/ml en la admisión a UCI.

La Tabla 7 detalla resultados sobre la base de dos cohortes diferentes ($n=749$ y $n=184$) de pacientes con sepsis/sepsis severa/choque séptico, que muestra la proporción de pacientes sépticos con $sTM > 2.5-5-5$ ng/ml en la admisión a UCI.

La Tabla 8 detalla un estudio de datos demográficos y niveles de trombomodulina en plasma y sangre entera de 10 voluntarios saludables.

40 Descripción detallada

La presente invención se refiere al tratamiento de pacientes críticamente enfermos de modo agudo. Los pacientes que están críticamente enfermos de modo agudo sufren de, por ejemplo, trauma severo incluyendo lesión por quemadura, infección severa incluyendo sepsis y choque séptico, infarto agudo de miocardio, paro cardíaco resucitado, cirugía mayor y/u otras condiciones que requieren cuidado de soporte de órgano/terapia de cuidado intensivo para sobrevivir, es decir, terapia ventilatoria, infusión continua de fluidos o transfusión sanguínea, terapia vasopresora, etc.

Los inventores han descubierto que, independientemente del tipo de golpe dañino, algunos pacientes críticamente enfermos de modo agudo despliegan evidencia de una condición médica unificadora común que está asociada con el incremento en la mortalidad. En documentos de investigación previos, por ejemplo [Johansson y Ostrowski, 2010], los presentes inventores han sugerido que esta condición médica unificadora común es un diagnóstico distinto que los inventores han etiquetado ahora daño endotelial sistémico.

Basados en sus hallazgos en miles de pacientes críticamente enfermos de modo agudo, los inventores descubrieron que una gran fracción de estos pacientes presentaron daño endotelial sistémico, que a través de todos los pacientes fue el marcador más fuerte de mortalidad. Los presentes inventores han sugerido que la combinación de enfermedad crítica aguda y daño endotelial sistémico representa una novedosa entidad de enfermedad que los inventores llaman ahora síndrome endotelio-pático sistémico, caracterizado por función de barrera vascular alterada y fuga capilar, sangrado, hipotensión, falla múltiple de órgano y muerte en pacientes críticamente enfermos de modo agudo [Johansson y Ostrowski 2010]. Se considera que un paciente tiene síndrome endotelio-pático sistémico cuando el paciente sufre de enfermedad crítica aguda y es diagnosticado con daño endotelial sistémico.

La Figura 1 ilustra al nivel vascular, cómo un paciente críticamente enfermo de modo agudo con un incremento en golpe dañino experimentará daño progresivo al endotelio, dando como resultado pérdida/liberación endotelial de trombomodulina y consiguiente incremento en trombomodulina soluble (sTM) circulante. El daño endotelial progresivo

resultará clínicamente en función de barrera vascular alterada, fuga capilar, sangrado, hipotensión, falla múltiple de órgano y, finalmente, muerte. Adicionalmente se indica el progreso hipotético de síndrome endotelial sistémico.

La presente invención demuestra que el daño endotelial sistémico puede ser identificado y diagnosticado de una manera simple usando el nivel de trombomodulina soluble en una muestra de sangre, como un marcador biológico para la presencia o ausencia de daño endotelial sistémico. Usando trombomodulina como un marcador biológico, pueden identificarse rápidamente pacientes críticamente enfermos de modo agudo que presentan niveles de trombomodulina en sangre por encima de un valor umbral dado, como individuos que sufren de daño endotelial sistémico; diferenciando mediante ello de una manera simple este grupo de pacientes, de los pacientes críticamente enfermos de modo agudo que no sufren de daño endotelial sistémico.

Además, la presente invención demuestra que pacientes críticamente enfermos de modo agudo diagnosticados con daño endotelial sistémico pueden recibir de manera benéfica tratamiento temprano con composiciones que comprenden prostaciclina o sus análogos, tales como prostaciclina (PGI₂) y prostaciclina (PGX) o sus análogos tales como por ejemplo iloprost, epoprostenol, epoprostenol sodio, treprostenil sodio, selexipag o beraprost; reduciendo de ese modo de manera significativa el desarrollo de falla de órgano, mejorando la recuperación completa de largo plazo y reduciendo la mortalidad.

Una parte central de la presente invención es una aproximación de medicina personalizada para el tratamiento, es decir, que solamente los pacientes críticamente enfermos de modo agudo que sufren de síndrome endotelio-pático sistémico deberían ser tratados con prostaciclina o análogos, mientras los pacientes críticamente enfermos de modo agudo sin síndrome endotelio-pático sistémico (con trombomodulina baja) no deberían ser tratados con prostaciclina o sus análogos.

Dados los efectos directos de prostaciclina y sus análogos sobre el endotelio (descritos en detalle abajo), los inventores sugieren que la infusión de baja dosis de prostaciclina puede ser usada para tratar el síndrome endotelio-pático sistémico.

Abajo se describen los estudios de prueba de concepto de esta intervención y su efecto sobre el endotelio, medido por cambios en niveles circulantes de trombomodulina.

Los inventores sugieren que los análogos de prostaciclina deberían ser usados para el tratamiento de síndrome endotelio-pático sistémico identificado en pacientes críticamente enfermos de modo agudo, mediante una prueba rápida de medición del nivel de trombomodulina circulante.

En mayor detalle, la presente invención se refiere a un método para el diagnóstico, usos de trombomodulina como un marcador biológico, un método de tratamiento; prostaciclina o un análogo de la misma para uso en tratamientos y composiciones novedosos que comprenden prostaciclina o un análogo de la misma para uso en tratamientos novedosos, todos de acuerdo con las realizaciones descritas en esta sección en particular, y a través de la presente divulgación.

En un primer aspecto y realización se divulga un método para el diagnóstico para un individuo diagnosticado con una enfermedad crítica aguda, si el individuo es un candidato para el tratamiento de combinación de cuidado estándar para la enfermedad crítica aguda en combinación con administración de prostaciclina o un análogo de la misma, comprendiendo el método: medición de una concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma del individuo; determinación de si la concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma está por encima de un nivel umbral de por lo menos 4 ng/ml; y diagnóstico del individuo como un candidato para tratamiento de combinación, si la concentración de línea base está por encima del nivel umbral.

Este primer aspecto y realización de la invención es detallado adicionalmente en las Figuras 7 y 8. En la Figura 7, este primer aspecto y realización se refiere a los elementos 1 y 2, en la Figura 8 es ilustrado en la columna con el encabezado "Identificación".

Generalmente, la información contenida en las Figuras 7 y 8 es idéntica y el lector experto notará que en la Figura 7, como se menciona, los elementos 1 y 2 corresponden a los elementos de la Figura 8 bajo el encabezado "Identificación", mientras el elemento 3 de Figura 7 corresponde a los elementos de la Figura 8 bajo el encabezado "Tratamiento", y los elementos 4 y 5 de la Figura 7 corresponden a los elementos de la Figura 8 bajo el encabezado "Control".

La ventaja de la presentación de la información de las Figuras 7 y 8 en estas dos maneras correspondientes será obvia inmediatamente para la persona experta. En la Figura 7 el énfasis está sobre la naturaleza secuencial de los tres componentes principales, "Identificación", "Tratamiento" y "Control", que forman el concepto subyacente de la presente invención. Sin embargo, cuando la misma información es presentada como en la Figura 8, se torna inmediatamente claro para la persona experta que cada uno de estos tres conceptos, identificación, tratamiento, y control, pueden ser manipulados individualmente dentro del alcance de la invención.

5 Como un ejemplo, el tratamiento con prostaciclina o un análogo de la misma de acuerdo con la divulgación de la presente invención, puede ser iniciado inmediatamente por diagnóstico del paciente con una enfermedad crítica aguda, sin dudar en obtener el diagnóstico adicional de daño endotelial sistémico a través de la medición del nivel de trombotomodulina en el paciente. Esto acelera el inicio del tratamiento con prostaciclina o un análogo de la misma, y es posible debido al bajo riesgo de un efecto adverso del tratamiento mencionado.

10 Cuando se inicia tratamiento rápido como se describió anteriormente, la primera medición para identificación de daño endotelial sistémico siguiendo la divulgación de la presente invención, también se torna la primera medición de control, dado que puede detenerse la aplicación de dicho tratamiento a un paciente que no requiere tratamiento con prostaciclina, una vez se han obtenido los primeros resultados de prueba.

Ejemplos

15 Estudios del endotelio en pacientes críticamente enfermos de modo agudo

20 Los inventores han investigado más de 4,400 pacientes que sufren de trauma severo, sepsis, infarto agudo de miocardio, paro cardíaco resucitado y cirugía mayor, incluyendo 1,750 pacientes con grados variables de sepsis. En estos estudios los inventores encontraron que puede existir un vínculo común y crítico entre la severidad de las lesiones; desarrollo de coagulopatía y daño endotelial progresivo (endotelio patía) y mortalidad.

25 En los estudios anteriores, a través de los diferentes grupos de pacientes, los inventores encontraron que el daño celular endotelial, evidenciado por elevados niveles de trombotomodulina soluble circulante, fue el marcador más fuerte para mortalidad.

30 De modo importante, a través de los grupos investigados de diferentes pacientes con enfermedad crítica aguda, no todos los pacientes desarrollaron síndrome endotelio patico sistémico y estos pacientes, con baja trombotomodulina circulante, tuvieron un excelente resultado con elevadas ratas de supervivencia. Esto originó que los inventores se dieran cuenta de que en algunos casos el síndrome endotelio patico sistémico puede ser el resultado de enfermedad crítica aguda tal como, por ejemplo, trauma severo, sepsis, infarto agudo de miocardio, paro cardíaco resucitado y cirugía mayor u otros tipos de enfermedad crítica aguda, pero que este resultado no se da necesariamente.

35 De manera consecuente, a los pacientes que presentan enfermedad crítica aguda concurrente y elevados niveles de trombotomodulina circulante por encima de un límite umbral crítico dado, puede diagnosticárseles que presentan síndrome endotelio patico sistémico.

40 Para sorpresa de los inventores, han descubierto ahora adicionalmente que los pacientes que presentan síndrome endotelio patico sistémico, es decir, que presentan una enfermedad crítica aguda y elevados (por encima de un umbral dado) niveles de trombotomodulina en la sangre, se beneficiarán del tratamiento con prostaciclina o sus análogos, con el propósito de curar o aliviar la enfermedad crítica aguda sufrida y disminuir la mortalidad de pacientes en situaciones donde los pacientes que presentan la misma enfermedad crítica aguda, pero no presentan el diagnóstico adicional de daño endotelial sistémico como evidencia de un elevado (por encima de un umbral dado) nivel de trombotomodulina en la sangre, no lo harán.

45 Muchos pacientes críticamente enfermos de modo agudo están en choque es decir, una condición médica de emergencia en la cual los tejidos y órganos del cuerpo están privados de oxígeno debido a inadecuado flujo de sangre.

50 Hay cuatro etapas de choque: inicial, compensatoria, progresiva y de refracción. En la etapa inicial, la hipoperfusión causa hipoxia que es seguida por mecanismos fisiológicos de compensación, incluyendo mecanismos neurales (incluyendo activación simpato adrenal) y hormonales, en un intento por devolver la condición. Si la condición es no es devuelta, procederá hasta la etapa progresiva donde los mecanismos de compensación comienzan a fallar, dando como resultado perfusión celular de tejido y de órgano severamente reducida y una elevación del metabolismo anaeróbico. Finalmente esto conducirá a fuga de fluido y proteína hacia los tejidos y por pérdida de este fluido (intravascular), la concentración y viscosidad de la sangre se incrementará, causando formación de lodo de la microcirculación. También, la vasoconstricción prolongada causará el compromiso de los órganos vitales, debido a la perfusión reducida. En la etapa final de refracción, los órganos vitales habrán fallado y el choque ya no puede ser devuelto.

60 Todas las etapas del choque están asociadas con perturbaciones endoteliales sistémicas que varían desde la activación y daño reversibles hasta lesión extensa irreversible. Por ello, los presentes inventores se han dado cuenta de que la administración de prostaciclina o un análogo de la misma a pacientes críticamente enfermos de modo agudo de acuerdo con la enseñanza de la presente emulación, servirá a través de sus efectos benéficos sobre el endotelio vascular y sus efectos citoprotectores, como una terapia antichoque.

65 Prueba y tratamiento

Pacientes críticamente enfermos de modo agudo

Los pacientes que están críticamente enfermos de modo agudo sufren de, por ejemplo, trauma severo, incluyendo lesión por quemadura, infección severa incluyendo sepsis y choque séptico, infarto agudo de miocardio, paro cardíaco resucitado, cirugía mayor y otras condiciones que ocurren inmediatamente y requieren cuidado de soporte de órgano para sobrevivir es decir, terapia de ventilación, infusión continua de fluido o transfusión sanguínea, terapia vasopresora, etc.

Cuando un paciente críticamente enfermo de modo agudo requiere cuidado de emergencia para ir a la hospitalización o es admitido en el hospital (el Departamento de Emergencias, el Centro de Trauma u otro Departamento que tiene el contacto inicial con el paciente) o cuando un paciente hospitalizado se torna críticamente enfermo de modo agudo en el hospital (paro cardíaco (IHCA) en el hospital, desarrollo repentino de choque séptico en el hospital, etc.), se toma una muestra de sangre para la medición de trombotomodulina, tan pronto como sea posible, es decir, durante el transporte del paciente al hospital o dentro de minutos hasta horas a partir de la admisión en el hospital o el reconocimiento en el hospital de la enfermedad crítica aguda. En el mismo momento el paciente recibe cuidado estándar para la enfermedad crítica aguda es decir, ventilación, terapia de fluidos, transfusión sanguínea, antibióticos, terapia de vasopresor, cirugía de control de daño, fármacos específicos usados para la enfermedad crítica aguda específica, por ejemplo inhibidores de plaquetas y anticoagulantes en paro cardíaco causado por infarto de miocardio.

De manera óptima, la muestra de sangre del paciente es tomada dentro de los primeros minutos u horas antes de la hospitalización o dentro de los primeros minutos u horas después de la admisión/reconocimiento de la enfermedad crítica aguda. Sin embargo, pueden ser todavía relevantes las muestras de sangre tomadas hasta 12 horas después de la admisión/reconocimiento de enfermedad crítica aguda.

Prueba de trombotomodulina

La muestra de sangre entera es colocada inmediatamente en una centrífuga (por ejemplo 3000 rpm durante 10 minutos) para separar la fase de plasma de la fase de células de la sangre. Se toma con pipeta un pequeño volumen de la fracción de plasma (por ejemplo de 10-200 μ l) sobre un inmunoensayo por ejemplo un ensayo de inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA). Los ensayos de ELISA disponibles actualmente requieren aproximadamente 1 h de incubación con la muestra del paciente, después de ello incubación durante 30 min con reactivo de detección y después de ello incubación durante 15 min con solución de sustrato antes de que pueda leerse la placa de ELISA mediante un lector de ELISA, correspondiente a un tiempo total de ensayo de menos de 2 horas. La concentración de trombotomodulina en la muestra de paciente es calculada comparando el resultado del ensayo, por ejemplo absorbancia en la muestra, con muestras de referencia con una concentración conocida de trombotomodulina (una curva estándar).

Cuando se ha determinado la concentración de trombotomodulina en la muestra de plasma del paciente, ésta estará por encima o por debajo del nivel umbral predeterminado de por lo menos 4 ng/ml.

- Pacientes con valores de trombotomodulina por encima del nivel umbral sufren de síndrome endotelio-pático sistémico y son candidatos para tratamiento con prostaciclina y sus análogos.
- Pacientes con valores de trombotomodulina por debajo del nivel umbral no tienen daño endotelial sistémico y no serán candidatos para tratamiento con prostaciclina y sus análogos.

Preferiblemente, la prueba de trombotomodulina es una prueba rápida de punto de cuidado (POC) basada en entrada de sangre entera, de modo que se coloca una gota de sangre entera sobre, por ejemplo, un ensayo de flujo lateral (barra) u otra plataforma de inmunoensayo como, por ejemplo, cartuchos a base de tecnología de microfluidos, para desplegar un resultado dentro de 2-5 minutos que reporta si un paciente tiene un nivel de trombotomodulina por encima por debajo de un nivel umbral predeterminado.

Tratamiento de inicio

Inmediatamente después de que el resultado de la prueba está disponible, es decir, de minutos a aproximadamente 2-3 horas después de la toma de muestra de sangre antes de la hospitalización o de la admisión del paciente/reconocimiento de la enfermedad crítica aguda cuando se usa el ensayo ELISA descrito anteriormente o 15-30 min después de la toma de muestra de sangre antes de la hospitalización o admisión del paciente/reconocimiento de la enfermedad crítica aguda, si se usa prueba rápida de sangre entera o ensayo POC como se describió anteriormente, el paciente inicia tratamiento con una infusión intravenosa de prostaciclina o sus análogos en una dosis de 0.5-4 ng/kg/min, preferiblemente 1-2 ng/kg/min .

Para administrar el tratamiento a través de un sistema de infusión intravenosa, la prostaciclina o sus análogos tienen que ser diluidos en un medio apropiado de infusión (por ejemplo solución salina al 0.9 %) para obtener una concentración apropiada de prostaciclina y sus análogos en el fluido de infusión, o la prostaciclina y sus análogos están disponibles en una solución de infusión apropiada lista para el uso.

- 5 Una cantidad apropiada de prostaciclina y sus análogos diluida en el fluido de infusión intravenosa corresponde a una dosis ajustada al peso de 24-30 horas en un volumen pequeño, por ejemplo, 100-500 ml. Por ejemplo, en un paciente con un peso corporal de 70 kg tratado por 24 horas con 1 ng/kg/min de prostaciclina y sus análogos como una infusión intravenosa de 4 ml/hora, esto corresponde a una concentración de prostaciclina y sus análogos de 105 µg/100 ml en la bolsa de división de infusión ($1 \text{ ng/kg/min} * 70 \text{ kg} * 60 \text{ min} * 25 \text{ horas} = 105,000 \text{ ng/100 ml} = 105 \text{ µg/100 ml}$).
- 10 Para cada 24 horas, se preparará una nueva dilución de infusión de prostaciclina y sus análogos y se administrará (como se describió anteriormente) como infusión intravenosa continua al paciente por las siguientes 24 horas.
- 15 El equipo de tratamiento (equipo de emergencia antes de la hospitalización, médicos, enfermeras, etc.) tienen instrucciones simples sobre cómo preparar una dilución de infusión apropiada del tratamiento para un paciente con un peso dado. Las instrucciones deberían ser flexibles de modo que el equipo de tratamiento pueda administrar el tratamiento como una infusión de volumen fijo (con concentración variable de prostaciclina y sus análogos en el fluido de infusión, ajustada al peso del paciente) o una infusión de volumen variable (con una concentración fija de prostaciclina y sus análogos en el fluido de infusión), dependiendo del tipo de infusión que el equipo de tratamiento use normalmente antes de la hospitalización o en su Departamento/UCI/pabellón.
- 20 Durante el tratamiento con prostaciclina y sus análogos el paciente recibe estándar normal de cuidado, es decir, cuidado de soporte por ejemplo ventilación, terapia de fluido, transfusión sanguínea, antibióticos, terapia de vasopresor, cirugía de control de daño, fármacos específicos usados para la enfermedad crítica aguda específica, etc. la terapia es así añadida al régimen de tratamiento de estándar normal de cuidado.
- 25 De manera óptima, la infusión intravenosa con prostaciclina o sus análogos en la dosis debería comenzar tan pronto como sea posible después de que están disponibles los resultados de la prueba de trombomodulina, es decir, dentro de 30 min - 12 horas después de conocidos los resultados de la prueba, antes de la hospitalización así como en el hospital. El tiempo para la prueba no debería exceder 6 horas después de la presentación.
- 30 Vigilancia sobre la respuesta al tratamiento y decisión sobre la longitud del tratamiento
- La infusión intravenosa con prostaciclina y sus análogos debería continuar por un mínimo de 72 horas (3 días) hasta varias semanas.
- 35 Después de los primeros 3 días de tratamiento debería medirse el nivel de trombomodulina circulante, para revelar si este ha disminuido, se ha incrementado o ha permanecido sin modificación, comparado con el valor de la línea base (pretratamiento). Si el nivel de trombomodulina han disminuido frente a la línea base (por ejemplo una caída de 10 % o preferiblemente de 20 % o más) y, juzgado clínicamente por el médico que lo atiende, el paciente ha mejorado (por ejemplo, disminución en la necesidad de cuidado de soporte), puede suspenderse la infusión intravenosa con prostaciclina y sus análogos, de modo que el paciente reciba sólo cuidado estándar. Si, sin embargo, el nivel de trombomodulina se ha incrementado (incremento > 10 %) o permanecido sin modificación frente a la línea base o, juzgado clínicamente por el médico que lo atiende, el paciente no ha mejorado (por ejemplo, incremento en la necesidad de cuidado de soporte), debería continuarse con la infusión intravenosa con prostaciclina y sus análogos, por las siguientes 24 horas como un adicional al cuidado estándar.
- 40
- 45 Después de otro tratamiento por 24 horas (tratamiento total de 4 días), debería medirse el nivel de trombomodulina circulante, para revelar si este ha disminuido, se ha incrementado o ha permanecido sin modificación, comparado con el valor de la línea base (pretratamiento). Si el nivel de trombomodulina han disminuido frente a la línea base (por la caída mencionada anteriormente >10 % o, preferiblemente, por la caída mencionada anteriormente >20 %) y, juzgado clínicamente por el médico que lo atiende, el paciente ha mejorado (por ejemplo, disminución en la necesidad de cuidado de soporte), puede suspenderse la infusión intravenosa con prostaciclina y sus análogos. Si, sin embargo, el nivel de trombomodulina ha aumentado (incremento > 10 %) o permanecido sin modificación frente a la línea base o, juzgado clínicamente por el médico que lo atiende, el paciente no ha mejorado (por ejemplo, incremento en la necesidad de cuidado de soporte), debería continuarse con la infusión intravenosa con prostaciclina y sus análogos, por las siguientes 24 horas como un adicional al cuidado estándar.
- 50
- 55 Este bucle de tratamiento con prostaciclina guiado por trombomodulina continúa durante hasta varias semanas, o hasta que el paciente se ha recuperado clínicamente en extensión que permite su salida de la UCI o recibe un código de recitación-paro o muere.
- 60 Después del último tratamiento de 24 horas (hasta un tiempo total de tratamiento de hasta varias semanas), se suspende la infusión intravenosa con prostaciclina y sus análogos.
- Durante el tratamiento con prostaciclina y sus análogos, el paciente recibe estándar de cuidado.
- 65 De manera óptima, deberían medirse los valores de trombomodulina sobre una base diaria, para decidir si debiese continuarse con el tratamiento basis por otras 24 horas o debería cesar.

Ejemplo 1 - Evidencia de enlace mecanístico

5 Un enlace mecanístico entre síndrome endotelio-pático sistémico y mortalidad en pacientes críticamente enfermos de modo agudo fue indicado primero por los inventores en un estudio de ~1,200 pacientes sépticos, a quienes se hizo seguimiento diariamente con muestras de sangre desde la admisión a la unidad de cuidado intensivo (UCI) y por los siguientes cuatro días. En este caso, los inventores observaron que los pacientes que tuvieron una reducción en sus niveles de trombomodulina soluble (un marcador bruto reconocido de daño celular endotelial), tuvieron durante aquel tiempo un incremento en la rata de supervivencia, comparado con pacientes con niveles estables o crecientes de trombomodulina, como un indicador de daño endotelial continuado. De manera similar, los inventores encontraron que

10 pacientes, y a través de todos los pacientes, que sufrían de infección severa (desde infección local hasta choque séptico), trauma, infarto agudo de miocardio o paro cardíaco resucitado, todos presentes con el mismo tipo de daño endotelial sistémico, los inventores encontraron que trombomodulina es el marcador más fuerte para mortalidad.

15 Conjuntamente esto soporta la nueva noción relevante para la presente invención, de que diferentes tipos de pacientes críticamente enfermos de modo agudo pueden desarrollar la misma enfermedad, síndrome endotelio-pático sistémico, que puede ser diagnosticada mediante determinación clínica de una enfermedad crítica aguda y elevados niveles de trombomodulina soluble circulante.

20 Evidencia para el uso médico de prostaciclina y sus análogos para el tratamiento de síndrome endotelio-pático sistémico

Los inventores han investigado el potencial antitrombótico de prostaciclina con ensayos funcionales homeostáticos con sangre entera, que han probado tener con relación con condiciones de sangrado clínico y requerimientos de transfusión (trombelastografía (TEG) y agregometría de impedancia (Multiplate)) y descubrieron que, sorprendentemente, la infusión de baja dosis de prostaciclina no tenía efectos antitrombóticos medibles.

25

Los inventores investigaron (WO 2013/143548, ejemplos 2 y 3) voluntarios saludables y enfermedad crítica aguda y encontraron que en voluntarios saludables, la infusión de 1-4 ng/kg/min de prostaciclina no tuvo influencia en la formación de coágulo ni en la agregación de plaquetas. Además, en pacientes críticamente enfermos de modo agudo que soportaron cirugía abdominal mayor (Ejemplo 6) que soportaron PCI después de infarto agudo de miocardio [Holmvang et al 2012, Ejemplo 5], la infusión de 0.5-1 ng/kg/min prostaciclina no tuvo influencia en la formación de coágulo ni en la agregación de plaquetas.

30

De manera importante, los inventores encontraron sorprendentemente que la infusión intra- y postoperativa de prostaciclina estaba asociada con mejora en la formación de coágulo en pacientes que soportaron cirugía abdominal mayor (Ejemplo 6). El hallazgo de que la infusión de baja dosis de prostaciclina (0.5-1 ng/kg/min) en pacientes críticamente enfermos de modo agudo, no compromete la hemostasis o induce sangrado o eventos adversos relacionados con hemostasis alterada, está de acuerdo con varios otros estudios de pacientes críticamente enfermos de modo agudo, tratados con infusión de baja dosis de prostaciclina por horas a días (0.5-4 ng/kg/min): pacientes con lesión cerebral (0.5-2 ng/kg/min durante hasta 72 horas) [Grande et al 2000; Naredi et al 2001], pacientes con trasplante de hígado (4 ng/kg/min durante 6 días y 1 ng/kg/min durante 7 días, respectivamente) [Barthel et al 2012; Neumann et al 1999], pacientes con CABG (2 ng/kg/min durante hasta 48 horas) [Morgera et al 2002], pacientes con choque séptico (1 ng/kg/min durante 24 h y un índice cardíaco de dosis creciente 15 % (1-2 ng/kg/min) durante varias horas, respectivamente) [Kiefer et al 2001; Lehmann et al 2000], pacientes que soportaron cirugía para isquemia aguda de miembro inferior (0.5-2 ng/kg/min durante 6 horas/día durante 4-7 días) [de DG et al 2006; de DG et al 2007] y pacientes que soportaron reparación abierta electiva de aneurisma aórtico abdominal (0.8-1.2 ng/kg/min durante 72 h) [Beirne et al 2008].

35

40

45

50 En conclusión, se ha hallado ahora que la prostaciclina inhibe de manera dependiente con la dosis la agregación de plaquetas, pero la infusión de baja dosis de prostaciclina (hasta 4 ng/kg/min) no compromete la hemostasis o induce sangrado o eventos adversos relacionados con alterada y pacientes críticamente enfermos de modo agudo.

Ejemplo 2 - Reevaluación de un estudio de la técnica previa

55 Estudio de voluntarios saludables: seguridad y eficacia de infusión i.v. de 4 ng/kg/min de Flolan® en sujetos saludables, reportado en el documento WO 2013/143548. El estudio fue conducido investigando la influencia de 2 horas de infusión i.v. de Flolan® (epoprostenol sodio, análogo de prostaciclina) a una dosis de 4 ng/kg/min en ocho voluntarios masculinos saludables.

60

En el estudio se evaluó la función endotelial, por ejemplo midiendo los niveles en plasma de biomarcadores endoteliales derivados, mediante kits de ELISA disponibles comercialmente. Se investigaron biomarcadores indicando: daño de glicocálix endotelial (sindecano-1), daño de célula endotelial (trombomodulina) o necrosis (nucleosomas, HMGB1), activación de célula endotelial (PAI-1) y anticoagulación de célula endotelial (proteína C, antitrombina) (Figura 2).

65

En la dosis administrada, la prostaciclina no cambió la presión sanguínea o la tasa cardíaca frente a los valores de línea base en ningún momento durante el periodo de estudio. Además, no se observaron cambios en valores de Multiplate y TEG comparando con los valores de la línea base y posteriores, indicando que 4 ng/kg/min de infusión i.v. de prostaciclina no influye en la hemodinamia o hemostasis.

Se observó que la dosis administrada de prostaciclina tenía un efecto protector endotelial, evidenciado por una disminución marcada en el nivel de trombomodulina circulante, un efecto que pareció prolongarse continuando por varias horas después de la suspensión de la infusión de prostaciclina. También, el nivel circulante de proteína C disminuyó en las horas posteriores a la suspensión de la infusión de prostaciclina indicando que la prostaciclina mejoró la activación de proteína C. El nivel circulante de PAI-1, un inhibidor de fibrinólisis desprendido del endotelio activado, también disminuyó adicionalmente indicando que la infusión de prostaciclina desactivó el endotelio y mejoró la fibrinólisis endógena. Finalmente, el nivel circulante de antitrombina disminuyó, indicando que una mayor cantidad de antitrombina estaba unida al glicocáliz endotelial en vez de estar circulando en su forma soluble es decir, suministrando al endotelio propiedades anticoagulantes mejoradas.

El hallazgo de que la dosis administrada de prostaciclina estaba asociada con disminuciones concurrentes en trombomodulina, proteína C, PAI-1 y antitrombina circulantes en individuos sanos es reportado en esta memoria como una prueba de concepto del efecto protector endotelial importante de prostaciclina, por su capacidad para tratar el síndrome endotelio-pático sistémico.

Conclusión:

En este estudio los inventores encontraron que la infusión i.v. de un análogo de prostaciclina a una dosis aplicada clínicamente de manera amplia (4 ng/kg/min) no influyó en la hemodinamia ni en la competencia hemostática de sangre entera. El hallazgo de que el análogo de prostaciclina protegió el endotelio soporta la noción, según la cual la administración de baja dosis de prostaciclina o análogos de prostaciclina, en particular administración iv, es útil para el tratamiento de síndrome endotelio-pático sistémico.

Ejemplo 3 - Reevaluación de un estudio de técnica anterior

Estudio con voluntarios saludables: eficacia de infusión de 1 ng/kg/min de Ilomedin® i.v. en sujetos sanos. Reportado en el documento WO 2013/143548.

Se reportó un estudio investigando la influencia de infusión por 2 horas de Ilomedin® (iloprost, análogo de prostaciclina) i.v. a una dosis de 1 ng/kg/min en ocho voluntarios masculinos saludables. Se recolectaron muestras de sangre para la función endotelial, en los siguientes puntos de tiempo: antes de la infusión (0 h), después de 30 min de infusión (30 min), inmediatamente después de suspender la infusión (2 h) y 2 horas después del fin de infusión de iloprost.

Se evaluó la función endotelial midiendo los niveles en plasma de biomarcadores endoteliales derivados mediante kits ELISA disponibles comercialmente. Se investigaron biomarcadores indicando: daño de glicocáliz endotelial (sindecano-1), daño de célula endotelial (trombomodulina) y anticoagulación de célula endotelial (proteína C). Además, se midió la concentración en plasma de prostaciclina (Figura 3).

La dosis administrada de iloprost tuvo un efecto protector endotelial evidenciado por una disminución marcada en el nivel circulante de trombomodulina, un efecto que pareció ser prologado prolongado continuando por varias horas después de suspender la infusión de iloprost. También, los niveles circulantes de proteína C y Sindecano-1, este último un biomarcador de daño de glicocáliz, disminuyeron durante la infusión de iloprost, indicando que la prostaciclina mejoró la activación de proteína C (dando como resultado una declinación en la forma no activada de proteína C) y protegió el glicocáliz. Finalmente, el nivel circulante de prostaciclina incrementó en aproximadamente 15 % durante la infusión de iloprost, confirmando que mediante infusión de baja dosis de 1 ng/kg/min de iloprost se obtuvieron incrementos sistémicamente detectables en prostaciclina.

Conclusión:

Este estudio soporta la noción según la cual un efecto protector endotelial de infusión i.v. de baja dosis con un análogo de prostaciclina (1 ng/kg/min, iloprost, ilomedin®) soporta la capacidad de administración de baja dosis de prostaciclina o análogos de prostaciclina, en particular administración iv, para tratamiento de síndrome endotelio-pático sistémico.

Ejemplo 4 - Reevaluación de técnica previa

Estudio de paciente: seguridad y eficacia de infusión de prefiltro de Flolan® en pacientes críticamente enfermos [Windelov et al 2010]

Además, en un estudio retrospectivo de pacientes de cuidado intensivo que necesitan terapia de reemplazo renal continuo, los inventores encontraron que los pacientes que recibieron prostaciclina en el filtro de diálisis tenían menor mortalidad al día 30, comparada con pacientes que recibieron heparina en el filtro como un anticoagulante (21 % vs. 39 %)

5 Los inventores condujeron un estudio retrospectivo de pacientes críticamente enfermos tratados o no tratados con infusión de prostaciclina durante su estadía en la unidad de cuidado intensivo (UCI) [Windelov et al 2010]. Noventa y cuatro pacientes críticamente enfermos admitidos en la UCI por complicaciones médicas o quirúrgicas, soportaron hemofiltración (terapia de reemplazo renal continuo, CRRT) con o sin tratamiento concomitante de Flolan® (epoprostenol sodio, análogo de prostaciclina). Se administró Flolan® a una baja dosis (5 ng/kg/min) en los filtros para prevenir la coagulación de estos y en consecuencia, hubo sólo un derrame menor de Flolan® a la circulación sistémica.

15 El estudio reveló que los dos grupos (prostaciclina vs heparina) fueron comparables respecto a la severidad de la enfermedad (puntaje APACHE II) en la admisión a la UCI, pero durante su estadía en la UCI (antes de CRRT), los pacientes con prostaciclina parecieron más severamente enfermos, evidenciado por más pacientes que tenían choque séptico, coagulación intravascular diseminada (DIC), trombocitopenia severa y un menor recuento de plaquetas al inicio de la hemofiltración (Tabla 1).

20 Durante la CRRT con prostaciclina o heparina, el recuento de plaquetas aumentó en los pacientes con prostaciclina, mientras descendió en los pacientes con heparina, indicando reducción en la severidad de la enfermedad en los pacientes tratados con prostaciclina (Tabla 1). De manera importante, cuando se compara la mortalidad, los pacientes con prostaciclina tendieron a tener disminución en la mortalidad a 30 días (21 % vs. 39 %, $p = 0.12$), 90 días (34 % vs. 53 %, $p = 0.10$) y 365 días (38 % vs. 57 %, $p = 0.09$).

25 Conclusión:

30 El hallazgo del incremento en el recuento de plaquetas y disminución en la mortalidad en los pacientes de CRRT que recibieron prostaciclina en los filtros, indican que el menor derrame de prostaciclina hacia la circulación sistémica influye benéficamente al endotelio en pacientes críticamente enfermos de modo agudo, limitando el consumo de plaquetas, oclusión microvascular, falla de órgano y mortalidad, es decir, distintivos de síndrome endotelio-pático sistémico.

Ejemplo 5 - Reevaluación de técnica anterior

35 Estudio de paciente: seguridad y eficacia de infusión i.v. de 0.5 ng/kg/min de Ilomedin® en pacientes de PCI [Holmvang et al 2012]

40 Los inventores condujeron un ensayo clínico doble ciego controlado de placebo aleatorizado, investigando la seguridad y eficacia de infusión durante 24 horas de ilomedin® i.v. (iloprost, análogo de prostaciclina) a una dosis de 0.5 ng/kg/min, comparado con placebo en 17 pacientes con infarto agudo de miocardio (AMI), soportando intervención coronaria percutánea (PCI) con implantación de cánula endoluminal [Holmvang et al 2012]. Los pacientes aleatorizados a terapia de 24 horas activa ($n=9$) o placebo ($n=8$) fueron evaluados respecto a hemodinamia, eventos de sangrado y para hemostasis funcional en sangre entera (Multiplate, TEG) y función endotelial, en muestras de sangre tomadas antes de la infusión de iloprost (línea base), durante la infusión (1 h, 6 h y 24 h) y 24 horas después de detener la infusión de iloprost (48 h).

50 El sangrado fue evaluado mediante el criterio GUSTO (severo, moderado, suave, ninguno) y la hemostasis fue evaluada mediante Multiplate y TEG de acuerdo con las recomendaciones de los fabricantes. La función endotelial fue evaluada midiendo los niveles en plasma de biomarcadores endoteliales derivados mediante kits de ELISA disponibles comercialmente. Se investigaron los biomarcadores que indican: daño de glicocálix endotelial (sindecano-1), daño de célula endotelial (trombomodulina), activación de célula endotelial (sE-selectin, ICAM-1) y anticoagulación (proteína C).

55 El estudio reveló que los pacientes en los dos grupos (iloprost vs placebo) eran comparables respecto a demografía y severidad de enfermedad de línea base. Además, no se observaron diferencias en hemodinamia, eventos de sangrado, Multiplate o TEG, entre grupos durante o después de la infusión de iloprost.

60 De manera importante, los inventores encontraron que sE-selectin, un biomarcador que refleja activación endotelial, disminuyó significativamente desde la línea base a 48 h en los pacientes de iloprost, mientras aumentó en los pacientes de placebo (Figura 4), diferencia entre grupos de pacientes $p = 0.008$, indicando un efecto protector endotelial de iloprost que continúa después de la suspensión de la infusión de iloprost.

Conclusión:

65 Los pacientes de PCI con AMI tratados con infusión i.v. de 24 horas de prostaciclina desplegaron evidencia de reducción prolongada en activación endotelial que continúa 24 horas después de la suspensión de la infusión. La

infusión de prostaciclina no influye negativamente en la hemodinamia, eventos de sangrado o hemostasis. Este estudio soporta la noción de que la infusión i.v. prolongada de baja dosis de prostaciclina en pacientes críticamente enfermos de modo agudo es segura y efectiva en la protección del endotelio, y por ello capaz de tratar síndrome endotelio-pático sistémico.

5 Ejemplo 6 - seguridad y eficacia de i.v. 1 ng/kg/min
 Estudio de paciente: seguridad y eficacia de infusión i.v. de 1 ng/kg/min de Ilomedin® en pacientes de Whipple (cirugía abdominal mayor)

10 Los inventores condujeron un ensayo clínico doble ciego controlado de placebo aleatorizado, investigando seguridad y eficacia de infusión i.v. intra- y postoperativa de ilomedin® (iloprost, análogo de prostaciclina) a una dosis de 1 ng/kg/min comparada con placebo en 16 pacientes que soportaron cirugía de Whipple en Rigshospitalet, un hospital universitario de enseñanza de nivel terciario en Copenhage, Dinamarca. El criterio de inclusión fueron adultos (edad ≥ 18 años) que soportaron cirugía de Whipple sobre la base de indicación quirúrgica debido a cáncer/dislplasia, poliposis adenomatosa familiar o inflamación/pancreatitis. Sin embargo, todos los pacientes incluidos tuvieron cáncer como una indicación quirúrgica: C. páncreas n=12; C. papilla Vateri n=2; C. ductus choledochus n=1; colangiocarcinoma n=1. Los pacientes fueron aleatorizados para recibir infusión i.v. con iloprost (1 ng/kg/min, tratamiento activo, n=8) o solución salina (0.9%, tratamiento con placebo, n=8) a un volumen igual durante la cirugía (intraoperativa: mediana ~ 5 horas) y 6 horas después de la cirugía (postoperativa), dando un tiempo total de infusión activa/placebo de ~11 horas.

25 Se evaluaron datos sobre demografía, comorbilidades, tiempo quirúrgico y mortalidad al día 28. Se midió continuamente la hemodinamia (rata cardiaca (HR), presión arterial sistólica, diastólica y promedio (SBT, DBT, MAP)) o en la línea base, final de la cirugía y 6 h y 24 h postoperativa (resistencia vascular sistémica (SVR), volumen de golpe (SV), presión venosa central (CVP)). Se registraron el volumen y número de unidades de concentrados de células sanguíneas rojas (RBC), plasma y plaquetas administrados, al final de la cirugía, 6 h y 24 h postoperativos. Se evaluó el volumen de sangrado intraoperativo y 6 h y 24 h postoperativo. Se registró el volumen de cristaloides y coloides (sólo se permitió albúmina), junto con la salida de orina, intraoperativos y 6 h y 24 h postoperativos.

30 Se recolectaron muestras de sangre para evaluación de hemostasis funcional de sangre entera (TEG) y función endotelial, antes de comenzar la infusión con estudio de fármaco (línea base), al final de la cirugía (postop) y 6 h después de la cirugía, justo antes de suspender el estudio de infusión de fármaco (6 h). Se ha de considerar muestras de sangre para bioquímica de rutina (hemoglobina, creatinina y lactato) en la línea base, postop y 6 h y 24 h postoperativa.

35 Se ejecutó TEG de acuerdo con las recomendaciones de los fabricantes. Se evaluó la función endotelial, midiendo los niveles en plasma de biomarcadores endoteliales mediante kits de ELISA disponibles comercialmente. Se investigaron biomarcadores indicando: daños de glicocálix endotelial (sindecano-1), daño de celda endotelial (trombomodulina) y necrosis (nucleosomas).

40 Comparando pacientes con iloprost y placebo, no se encontraron diferencias respecto a la demografía, comorbilidades, indicación quirúrgica o mortalidad al día 28. Además, los grupos recibieron un volumen similar de fluidos intra- y postoperativos y desplegaron cambios comparables en hemodinamia.

45 Sin embargo, respecto a los requerimientos de transfusión, hemostasis y función endotelial, sorprendentemente los inventores encontraron diferencias mayores entre los grupos de tratamiento, dado que los pacientes de iloprost tenían requerimientos reducidos de transfusión RBC, incrementos reducidos en lactato, hemostasis funcional mejorada y reducido daño endotelial (Figura 5abc).

50 Así, brevemente, los pacientes con placebo recibieron más RBC intra- y postoperativa, comparada con los pacientes con iloprost (mediana 0 ml (IQR 0-163) vs. 695 ml (IQR 0-969), $p = 0.083$) y un volumen significativamente mayor de RBC desde el arribo al pabellón postoperativo y 6 h de modo postoperativo (pacientes con iloprost 0 ml (IQR 0-0) vs. pacientes con placebo 115 ml (IQR 0-296), $p = 0.027$). Además, los pacientes con placebo tendieron a tener más baja hemoglobina postoperativa, comparados con pacientes con iloprost (mediana 6.2 mmol/l (IQR 5.9-6.4) vs. 6.7 mmol/l (IQR 6.5-7.7), $p = 0.058$) y de modo postoperativo el lactato aumentó en pacientes con placebo, pero permaneció sin modificación en pacientes con iloprost, indicando que la infusión de iloprost mejoró la perfusión microvascular. Considerando la competencia hemostática, los pacientes con placebo desplegaron competencia hemostática intraoperativa alterada, dado que la firmeza máxima del coágulo TEG disminuyó de modo intraoperativo en pacientes con placebo ($p = 0.034$), mientras permaneció estable en pacientes con iloprost ($p = NS$).

60 De manera importante, los inventores encontraron que los pacientes con iloprost desplegaron evidencia de protección endotelial mejorada y disminución en el daño endotelial, comparados con pacientes con placebo (Figura 5abc), dado que los niveles de trombomodulina y nucleosoma, marcadores de daño de célula endotelial y necrosis, aumentaron significativamente más en pacientes con placebo intra- y postoperativos, comparado con pacientes con iloprost (Figura 5ab). También, los inventores observaron una tendencia hacia mayores niveles de sindecano-1 en pacientes con

placebo, comparados con pacientes con iloprost (Figura 5c) indicando que el iloprost protegió el glicocáliz. Juntos estos hallazgos indican que la infusión de iloprost ejerció un efecto protector endotelial en pacientes de cirugía críticamente enfermos de modo agudo.

5 Conclusión:

Los pacientes de Whipple tratados con infusión de iloprost de modo intra- y postoperativo recibieron menos transfusiones RBC, tuvieron capacidad hemostática mejorada, perfusión microvascular mejorada y evidencia de disminución en el daño endotelial, soportando conjuntamente una capacidad de infusión de prostaciclina para tratar síndrome endotelio-pático sistémico.

Ejemplo 7 - Reevaluación de técnica previa

Los inventores han medido niveles de trombotomodulina soluble en plasma de sangre de 2,118 pacientes críticamente enfermos de modo agudo que sufren de trauma, infarto de miocardio, paro cardíaco, sepsis, sepsis severa y choque séptico (Tabla 2). La muestra de sangre para la medición de trombotomodulina fue tomada inmediatamente en la admisión al hospital o inmediatamente después de la observación de la ocurrencia de la enfermedad crítica aguda.

Los inventores descubrieron que los pacientes críticamente enfermos de modo agudo podían ser estratificados en un grupo con baja tasa de mortalidad y un grupo con elevada tasa de mortalidad, sobre la base del nivel de trombotomodulina medido. Así, un elevado nivel de trombotomodulina en plasma de sangre fue asociado con elevada mortalidad al día 28, mientras un bajo nivel de trombotomodulina en plasma de sangre estuvo asociado con baja mortalidad al día 28.

La Tabla 2 detalla un estudio de mediana de niveles de trombotomodulina en plasma/suero (ng/ml) en 2,118 pacientes críticamente enfermos de modo agudo que sufrían de trauma, infarto de miocardio, paro cardíaco resucitado, sepsis, sepsis severa o choque séptico, estratificados de acuerdo con el género y resultado al día 28 (supervivencia vs. mortalidad).

Los inventores descubrieron que hubo una diferencia significativa en niveles de trombotomodulina entre los sobrevivientes y no sobrevivientes a través de todas las enfermedades ($p < 0.0001$), pero no hubo diferencia en trombotomodulina entre masculino y femenino ($p = 0.114$).

La Figura 6 despliega la curva operativa característica del receptor (ROC) de trombotomodulina para la predicción de mortalidad al día 28 en pacientes críticamente enfermos de modo agudo que sufren de trauma, infarto de miocardio, paro cardíaco, sepsis/sepsis severa/choque séptico. El área bajo la curva (AUC) de nivel de trombotomodulina soluble para la predicción de mortalidad al día 28 es 0.744 (0.712-0.776), $p < 0.0001$, con el Índice de Youden más alto revelando un nivel umbral de 4.0 ng/ml de trombotomodulina en plasma de sangre. Al nivel umbral de 4 ng/ml, la sensibilidad es 0.781 y 1 - especificidad es 0.407 de la prueba para predicción de mortalidad al día 28. Sobre la base de estos datos, el 85 % de los pacientes que murieron antes de 28 días tienen trombotomodulina >4 ng/ml.

Con base en los datos de los inventores, la elección de un nivel umbral de trombotomodulina más bajo da como resultado el incremento en la tasa verdad-positivo (sensibilidad) y aumento en la tasa falso-positivo (1 - especificidad), mientras la elección de un mayor nivel umbral de trombotomodulina da como resultado reducción de la tasa verdadero-positivo (sensibilidad) y disminución de la tasa falso-positivo (1 - especificidad) (Tabla 3). De manera consecuente, tanto un menor como un mayor nivel umbral de trombotomodulina darán como resultado un Índice de Youden más bajo y por ello menor desempeño en la prueba de diagnóstico.

Debería notarse que no puede esperarse que un nivel de trombotomodulina de 4 ng/ml en plasma sea idéntico al nivel de trombotomodulina medido en sangre entera, dado que la fracción de plasma de sangre entera es solamente aproximadamente 55 % (Discutido abajo sobre la base de datos que comparan el nivel de trombotomodulina en plasma y sangre entera).

Conclusión:

Los pacientes críticamente enfermos de modo agudo con valores de trombotomodulina en sangre o en plasma de sangre, por encima de 4 ng/ml sufren de síndrome endotelio-pático sistémico y se beneficiará del tratamiento con prostaciclina o sus análogos.

Sin embargo, debido a los beneficios observados de la presente invención, los inventores sugieren usar de manera operativa un nivel umbral menor de 4 ng/ml (plasma/suero) como un indicador para el tratamiento con prostaciclina o un análogo de la misma de acuerdo con la presente invención. Un nivel umbral que corresponde a un nivel en plasma/suero de 2.5 ng/ml es considerado satisfactorio en el método de la invención, o valores entre 2.5 ng/ml y 4 ng/ml, tales como por ejemplo 3.0 o 3.5 ng/ml de trombotomodulina en plasma/suero.

La selección de, por ejemplo, un nivel umbral de 2.5 ng/ml resultará en una captura de casi 91 % de sujetos adecuados para el tratamiento (verdad positivo), sin embargo al costo de un gran número de pacientes que son tratados

innecesariamente con prostaciclina o un análogo de la misma (falso positivo). Debido al elevado perfil de seguridad y bajo riesgo de efectos adversos en tratamientos que usan la baja dosis sugerida de prostaciclina o sus análogos, parece razonable proceder de tal manera, en particular dado que el control posterior de acuerdo con la invención limitará la exposición a tratamiento innecesario recibido por pacientes que no lo necesitan.

5

Ejemplo 8 - Trauma:

La Tabla 4a detalla resultados sobre la base de 635 pacientes con trauma. Se encontró que el nivel de sTM (trombomodulina soluble) en la admisión en pacientes con trauma dependió de la severidad de la lesión (aumenta más en pacientes con elevado puntaje abreviado de severidad de lesión (AIS) para abdomen y tórax, es decir, lesiones abdominales y de tórax severas) incluyendo grado de choque reflejando que la proporción de pacientes con sTM por encima de 2.5 ng/ml difiere entre partes de pacientes lesionados severamente (84.9 %) y moderadamente (45.2 %) (Tabla 4a).

10

La Tabla 4b detalla resultados sobre la base de 270 pacientes con trauma. Se encontró que en las primeras 24 h y 72 h, el nivel de sTM aumenta en 64 % y 80 % de los pacientes moderadamente lesionados, respectivamente, y de 24 h a 72 h, la sTM aumenta en 61 % de los pacientes. El cambio absoluto y proporcional en sTM desde la admisión y 72 h hacia adelante es desplegado en la Tabla 4b, variando desde una mediana que aumenta de 0.31-0.72 ng/ml correspondiente a incrementos de 12-34 %.

15

20

Se observó que:

El nivel de sTM en la línea base y durante el seguimiento está asociado con complicaciones.

25 Mortalidad

Cuando se compara el nivel de sTM en sobrevivientes y no sobrevivientes al día 28, el nivel de sTM en la admisión (mediana de IQR) (2.95 ng/ml (1.73-4.21) vs. 2.29 ng/ml (1.44-3.38)), a 24 h (3.92 ng/ml (3.7-5.55) vs. 2.94 ng/ml (2.2-4.32)) y 72 h (4.56 ng/ml (3.95-5.85) vs. 3.35 ng/ml (2.67-4.6)) es mayor en los no sobrevivientes, comparado con los sobrevivientes ($p = 0.047$, $p = 0.016$ y $p = 0.076$, respectivamente).

30

Sepsis

El elevado nivel de sTM en la admisión tiende a estar asociado con incremento en el riesgo de sepsis en los primeros 28 días (ROC para sTM en admisión por desarrollo de sepsis dentro de 28 días es AUC 0.594 (95 %CI 0.487-0.700), $p = 0.085$).

35

Terapia de reemplazo renal (RRT) (falla simple de órgano)

Los niveles de sTM a 24 h y 72 h tienden a estar asociados con incremento en el riesgo de terapia de reemplazo renal (RRT) durante los primeros 28 días (ROC para sTM de 24 h AUC 0.771 (0.556-0.985), $p = 0.068$ y ROC para sTM de 72 h AUC 0.877 (0.789-0.966), $p = 0.072$) enfatizando que los elevados niveles de sTM después de la admisión están asociados también a falla de órgano.

40

45 El cambio en el nivel de sTM desde la admisión y hacia adelante está asociado con complicaciones.

Sangrado

La sTM aumenta de 24-72 h en más pacientes que experimentan sangrados dentro de las primeras 24 h de admisión que en pacientes que no sangran en las 24 h iniciales (76 % vs. 50 % despliega incrementos de sTM, $p = 0.063$).

50

Terapia de reemplazo renal (RRT) (falla simple de órgano)

La sTM aumenta de 0-24 h, de 0-72 h y de 24-72 h en todos (100 %) los pacientes que durante los primeros 28 días requieren RRT debido al desarrollo de falla renal (falla simple de órgano). Además, un incremento en sTM en las 24 h iniciales desde la admisión (0-24 h) está asociado con incremento en el riesgo de RRT (ROC para cambio en sTM en 0-24 h en RRT dentro de 28 días es 0.794 (0.619-0.969), $p = 0.048$). También, el cambio en sTM de 0-24 h tiene correlación positiva con días de RRT (falla renal) (ambos $p < 0.05$) enfatizando que el incremento en sTM en las primeras 24 h desde la admisión está asociado con aumento en el desarrollo de falla de órgano.

55

60

Ventilación (falla simple de órgano)

También, el cambio en sTM desde 0-24 h tiene correlación positiva con los días de ventilador (longitud de tratamiento con ventilador, es decir, falla respiratoria) enfatizando que el incremento en sTM en las primeras 24 h desde la admisión está asociado con aumento en el desarrollo de falla de órgano.

65

Los puntajes de severidad de la enfermedad para trauma fueron: Puntaje de Severidad de Lesión (ISS) [evaluado en la admisión], puntaje de escala de coma de Glasgow (GCS) [evaluado en la admisión], y en puntaje de Evaluación Secuencial de Falla de Organos (SOFA) [evaluado diariamente en la UCI].

5 Juntos, estos hallazgos indican que la medición temprana y continuada de niveles de trombomodulina en sangre o plasma en pacientes con trauma permitirá la identificación de pacientes con alto riesgo, es decir, pacientes con daño endotelial sistémico y así pacientes con los más altos niveles de trombomodulina o más altos incrementos en trombomodulina. Los pacientes con elevado riesgo con niveles elevados de trombomodulina debidos a daño endotelial sistémico, se beneficiarán de terapia con baja dosis de prostaciclina o sus análogos, que será segura incluso en
10 pacientes con trauma, debido al régimen de baja dosis.

Ejemplo 9 - Paro cardíaco:

15 Sobre la base de n=169 pacientes resucitados de paro cardíaco, se encontró que el nivel de sTM en la admisión en pacientes con paro cardíaco resucitado depende del tiempo en choque y de la profundidad de choque (sTM más alto con tiempo más largo de CA a ROSC y con menor pH y mayor lactato), el nivel de catecolamina (más alta con mayor dosis de adrenalina administrada) y la edad del paciente (sTM más alta en pacientes más viejos).

20 La Tabla 5a detalla la proporción de pacientes con OHCA con sTM > 2.5-5-5 ng/ml en la admisión, 24 h, 48 h y 72 h. En las primeras 24 h, 48 h y 72 h, el nivel de sTM aumenta en 35 %, 52 % y 43 % de los pacientes comparado con la línea base y sTM aumenta en 77 % desde 24-48 h, en 38 % desde 24 h-72 h y en 16 % desde 48 h-72 h. Los cambios de mediana absoluta desde 0-24 h, desde 0-48 h y desde 0-72 h en todos los pacientes son 0.27 ng/ml, 1.08 ng/ml y 0.80 ng/ml, respectivamente.

25 La Tabla 5b detalla los cambios absolutos y proporcionales (mediana) en sTM desde la admisión y 24 h y 72 h hacia delante en sobrevivientes y no sobrevivientes al día 28. De manera importante, el cambio en sTM en sobrevivientes al día 28, comparado con no sobrevivientes difiere significativamente, siendo la diferencia más pronunciada que la sTM permanece sin modificación en sobrevivientes las primeras 24 h, mientras aumenta 16 % en no sobrevivientes.

30 La Tabla 5c detalla el valor predictivo de sTM en diferentes puntos de tiempo para pobre resultado cognitivo (CPC \geq 3 / mRS \geq 4) evaluado mediante análisis de ROC. Como puede aprenderse de los resultados, los niveles continuamente elevados de sTM permanecen estrechamente asociados con elevada mortalidad y pobre resultado.

35 Se observó que:

El nivel de sTM en la línea base y durante el seguimiento está asociado con complicaciones

Mortalidad

40 Cuando se compara el nivel de sTM en sobrevivientes y no sobrevivientes al día 28, los niveles de sTM en la admisión, 24 h, 48 h y 72 h están aumentados todos en no sobrevivientes, comparados con sobrevivientes: admisión (7.78 ng/ml (6.36-11.41) vs. 6.56 ng/ml (5.17-8.31), $p < 0.0001$), 24 h (9.04 ng/ml (6.28-11.61) vs. 6.6 ng/ml (5.28-9.27), $p < 0.0001$), 48 h (9.96 ng/ml (7.3-12.85) vs. 7.79 ng/ml (6.31-10.52), $p < 0.006$) y 72 h (8.46 ng/ml (5.95-12.16) vs. 7.23 ng/ml (5.46-9.91), $p = 0.058$).

Pobre resultado neurológico

50 También, los elevados niveles de sTM en la admisión y después de 24 h, 48 h y 72 h predicen todos un pobre resultado cognitivo, evaluado mediante los puntajes CPC y mRS (Tabla 5c).

El cambio en el nivel de sTM desde la admisión y hacia adelante está asociado con complicaciones.

55 Los incrementos en sTM desde la admisión hasta 24 h, 48 h y 72 h hacia adelante tienen todos correlación con el tiempo en y profundidad de choque (tiempo desde CA a ROSC, pH y lactato) y la dosis de adrenalina administrada (todos $p < 0.05$), enfatizando que la severidad del "golpe" inicial (choque, catecolaminas) conduce el daño endotelial progresivo y por ello aumentos en sTM.

Mortalidad

60 La magnitud del incremento de sTM desde 0-24 h está asociada con la mortalidad evidenciada por ROC: mayor incremento de sTM desde 0-24 h está asociado con el incremento en la mortalidad a 28 días con AUC 0.587 (0.484-0.689), $p = 0.103$.

65 Pobre resultado neurológico

También, la magnitud del incremento de sTM desde 0-24 h está asociada con el resultado cognitivo evidenciado por ROC: el valor predictivo del incremento de sTM desde 0-24 h está asociado con CPC ≥ 3 (AIC 0.566 (0.469-0.633), $p = 0.192$) y mRS ≥ 4 (AUC 0.578 (0.480-0.676), $p = 0.124$) indicando que los incrementos progresivos en sTM están asociados con pobre resultado cognitivo.

Los puntajes de severidad de enfermedad para paro cardíaco fueron: Categoría de Desempeño Cerebral (CPC), y Escala modificada de Rankin (mRS) [paro cardíaco].

Juntos, estos hallazgos indican que la medición temprana y continuada de niveles de trombomodulina en sangre y suero en pacientes resucitados de paro cardíaco permitirá la identificación de pacientes de elevado riesgo, es decir, pacientes con daño endotelial sistémico y así pacientes con los más altos niveles de trombomodulina o más altos incrementos en trombomodulina. Los pacientes de elevado riesgo con niveles elevados de trombomodulina, debido a daño endotelial sistémico se beneficiarán de terapia con baja dosis de prostaciclina o sus análogos, que será segura en pacientes resucitados de paro cardíaco debido al régimen de baja dosis.

Ejemplo 10 — Infarto de miocardio

Sobre la base de $n=571$ pacientes de STEMI, se encontró que el nivel de sTM en la admisión en pacientes con infarto agudo de miocardio (infarto de miocardio con elevación del segmento ST, STEMI) está asociado con la severidad y resultado de la enfermedad, con mayores niveles de sTM en pacientes con enfermedad más severa (valores máximos en pacientes con choque y requerimiento de UCI).

La Tabla 6 detalla la proporción de pacientes de OHCA con sTM > 2.5 - 5 - 5 ng/ml en la admisión en UCI (datos de dos cohortes diferentes de pacientes sépticos).

Se observó que:

El nivel de sTM en la admisión está asociado con mortalidad y complicaciones

Mortalidad

Cuando se compara el nivel de sTM en la admisión en sobrevivientes y no sobrevivientes al día 28 y al día 90, los no sobrevivientes al día 28 (3.23 ng/ml (2.23-4.16) vs. 2.09 ng/ml (1.56-2.96), $p < 0.0001$) y día 90 (3.23 ng/ml (2.20-4.16) vs. 2.10 ng/ml (1.56-2.96), $p < 0.0001$) tenían mayores niveles de sTM, comparados con los sobrevivientes. La sTM en la admisión tiene correlación inversa con días de muerte ($p = 0.045$) reflejando que elevada sTM está asociada con progresión más rápida hasta la muerte. Mediante análisis de ROC, la sTM en la admisión es un predictor fuerte de mortalidad por toda causa al día 28 (AUC 0.718 (0.635-0.801), $p < 0.0001$) y al día 90 (AUC 0.713 (0.633-0.792), $p < 0.0001$) y de mortalidad por enfermedad cardiovascular al día 28 (AUC 0.736 (0.648-0.824), $p < 0.0001$) y al día 90 (AUC 0.726 (0.639-0.812), $p < 0.0001$).

Severidad de enfermedad

La sTM en la admisión tiene correlación positiva con Troponina I (un marcador biomédico para la lesión del miocardio) ($p = 0.008$); mediante análisis de ROC, sTM está asociada con choque antes de PCI (AUC 0.580 (0.495-0.666), $p = 0.061$) y con riesgo de admisión en UCI (AUC 0.605 (0.510-0.701), $p = 0.053$). También, la sTM es un predictor fuerte de falla cardíaca congestiva al día 28 (AUC 0.640 (0.555-0.725), $p = 0.007$) y al día 90 (AUC 0.644 (0.564-0.724), $p < 0.0001$).

Juntos, estos hallazgos indican que la medición temprana y continuada de niveles de trombomodulina en sangre o suero en pacientes con infarto de miocardio permitirá la identificación de pacientes con elevado riesgo, es decir, pacientes con daño endotelial sistémico y así pacientes con los máximos niveles de trombomodulina o máximos incrementos en trombomodulina. Los pacientes de alto riesgo con elevados niveles de trombomodulina debidos a daño endotelial sistémico se beneficiarán de la terapia con baja dosis de prostaciclina o sus análogos, que será segura en pacientes de infarto de miocardio, debido al régimen de baja dosis. Se espera que la terapia de prostaciclina en pacientes de infarto de miocardio tratados con PCI (intervención coronaria percutánea) prevendrá y tratará secuelas del golpe dañino, tales como infarto de miocardio con choque, reperfusión de isquemia, catecolaminas, etc.

Ejemplo 11 - Sepsis/sepsis severa/choque séptico

Sobre la base de dos cohortes diferentes ($n=749$ y $n=184$) de pacientes con sepsis/sepsis severa/choque séptico se observó que el nivel de sTM en la admisión en pacientes con sepsis/sepsis severa/choque séptico está asociado íntimamente a la severidad de la enfermedad, con mayores niveles de sTM en pacientes con mayores puntajes de severidad de la enfermedad (APACHE II, SOFA) y por ello mayor grado de disfunción de órgano, es decir, mayor lactato, menor presión sanguínea, menor recuento de plaquetas y hemoglobina, menor salida de orina, mayores BUN y creatinina.

Se observó que el nivel de sTM en la admisión está asociado con mortalidad y complicaciones.

Mortalidad

5 Cuando se compara el nivel de sTM en la admisión en sobrevivientes y no sobrevivientes al día 7, al día 28 y al día 90, la sTM aumenta en el día 7 (9.21 ng/ml (6.74-12.79) vs. 7.35 ng/ml (4.77-10.35), $p = 0.001$), día 28 (9.34 ng/ml (6.86-12.5) vs. 6.81 ng/ml (4.47-9.66), $p < 0.0001$) y día 90 (9.11 ng/ml (6.31-11.92) vs. 6.66 ng/ml (4.61-9.7), $p = 0.006$), comparando no sobrevivientes con sobrevivientes.

10 La sTM en la admisión tiene correlación inversa con días hasta la muerte ($p = 0.001$) reflejando que la elevada sTM está asociada con progresión más rápida hasta la muerte. Mediante modelos proporcionales de peligro de Cox, el nivel de sTM en la admisión es un fuerte predictor de mortalidad al día 7, al día 28 y al día 90 (todos $p < 0.001$) y mediante análisis de ROC la sTM es un fuerte predictor de mortalidad: mortalidad al día 7 AUC 0.65 (0.56-0.75), $p = 0.005$; mortalidad al día 28 AUC 0.68 (0.60-0.76), $p < 0.001$ y mortalidad al día 90 AUC 0.63 (0.54-0.71), $p = 0.004$.

Puntajes de severidad de enfermedad

20 La sTM en la admisión tiene correlación fuertemente positiva con el puntaje SAPS II ($p < 0.0001$) y puntaje SOFA ($p = 0.003$), y por cada incremento de 1 ng/ml en la sTM, el puntaje SAPS II aumenta 1.32 (95 %CI 0.73-1.91) ($p < 0.001$) puntos y el puntaje SOFA aumenta 0.17 (95 %CI 0.07-0.27) puntos ($p = 0.001$).

Requerimientos de sangrado y transfusión

25 El nivel de sTM en la admisión predice el sangrado general en la UCI (ROC AUC 0.598 (0.498-0.678), $p = 0.059$), sangrado serio (que requiere >3 RBC) (ROC AUC 0.612 (0.506-0.717), $p = 0.068$) y sangrado de GI superior (ROC AUC 0.680 (0.551-0.809), $p = 0.037$)., También la sTM en la admisión predice la necesidad de RBC (ROC AUC 0.605 (0.517-0.693), $p = 0.018$), FFP (ROC AUC 0.582 (0.495-0.669), $p = 0.067$) y plaquetas (ROC AUC 0.614 (0.523-0.705), $p = 0.016$) durante la estadía en la UCI.

Terapia de reemplazo renal (RRT) (falla simple de órgano)

35 La sTM en la admisión predice la necesidad al día 90 por terapia de diálisis mediante ROC con AUC 0.688 (0.595-0.782), $p < 0.001$.

40 Juntos, estos hallazgos indican que la medición temprana y continuada de niveles de trombotomodulina en sangre o plasma en pacientes con sepsis, sepsis severa, o choque séptico permitirá la identificación de pacientes con alto riesgo, es decir, pacientes con daño endotelial sistémico y así pacientes con los más altos niveles de trombotomodulina o más altos incrementos en trombotomodulina. Los pacientes con elevado riesgo con niveles elevados de trombotomodulina debidos a daño endotelial sistémico, se beneficiarán de terapia con baja dosis de prostaciclina o sus análogos, que será segura en pacientes con sepsis, sepsis severa, o choque séptico, debido al régimen de baja dosis.

45 Los puntajes de severidad de enfermedad para sepsis fueron: Puntaje Simplificado de Fisiología Aguda II (SAPS II) [evaluado en la admisión], y puntaje de Evaluación Secuencial de Falla de Organo (SOFA) [evaluado diariamente en la UCI] [sepsis].

50 Juntos, estos hallazgos indican que la medición temprana y continuada de niveles de trombotomodulina en sangre o plasma en pacientes con sepsis/sepsis severa/choque séptico permitirá la identificación de pacientes con alto riesgo, es decir, pacientes con daño endotelial sistémico y así pacientes con los más altos niveles de trombotomodulina o más altos incrementos en trombotomodulina. Los pacientes con elevado riesgo con niveles elevados de trombotomodulina debidos a daño endotelial sistémico, se beneficiarán de terapia con baja dosis de prostaciclina o sus análogos, que será segura en estos pacientes, debido al régimen de baja dosis

Ejemplo 12 - Método rápido para la identificación de pacientes con síndrome endotelio-pático sistémico

55 Los inventores han descubierto una nueva entidad de enfermedad, síndrome endotelio-pático sistémico. Los pacientes con síndrome endotelio-pático sistémico sufren de enfermedad crítica aguda y concurrente evidencia de daño sistémico de célula endotelial, identificado mediante incrementos en los niveles circulantes de un marcador específico que refleja el daño de célula endotelial. En consecuencia, la identificación de pacientes con síndrome endotelio-pático sistémico entre pacientes críticamente enfermos de modo agudo puede ser hecha mediante medición de los niveles circulantes de trombotomodulina, un marcador específico del daño de célula endotelial, con una elevada sensibilidad para el diagnóstico de síndrome endotelio-pático sistémico. El hecho de que los pacientes con síndrome endotelio-pático sistémico puedan ser identificados mediante un nivel umbral predeterminado de trombotomodulina circulante introduce medicina personalizada a invención, lo cual es opuesto a la estrategia de "un tamaño se ajusta para todos" usada actualmente en el cuidado médico. La medicina personalizada se refiere a terapia ajustada al paciente individual, sobre la base de estratificación de riesgo, fenotipo de enfermedad, perfil genético, etc.

5 De acuerdo con ello, los pacientes críticamente enfermos de modo agudo con síndrome endoteliofático sistémico pueden ser identificados rápidamente (y diagnosticarse si tienen ese síndrome) usando un método que involucra la medición del nivel de trombotomodulina en una muestra biológica del paciente críticamente enfermo de modo agudo, y comparando el nivel medido de trombotomodulina con un umbral predeterminado.

10 Preferiblemente, la prueba de trombotomodulina es una prueba rápida de punto de cuidado (POC) basada en la entrada de sangre entera, de modo que una gota de la sangre entera es colocada sobre, por ejemplo, un ensayo de flujo lateral (barra) u otra plataforma de inmunoensayo como, por ejemplo, cartuchos basados en tecnología de microfluidos, para desplegar un resultado dentro de 2-5 minutos, reportando si un paciente tiene un nivel de trombotomodulina por encima por debajo de un nivel umbral predeterminado.

15 Se sugiere que la trombotomodulina puede ser detectada usando una prueba rápida de POC tal como ensayos de flujo lateral (barras) u otras plataformas de ensayo como, por ejemplo, cartuchos a base de tecnología de microfluidos, dado que el tiempo para recibir un resultado disminuiría significativamente, por ejemplo los ensayos podría ser ejecutados en la ruta a bordo de una ambulancia entre el sitio de un accidente y un centro de trauma o inmediatamente a la admisión en el hospital/reconocimiento de enfermedad crítica aguda. La obtención de un resultado de una prueba de POC dentro de minutos (en lugar de horas) permitirá una destinación rápida a la terapia con prostaciclina para pacientes con síndrome endoteliofático sistémico.

20 Como una prueba de concepto de que la trombotomodulina soluble en sangre entera es un marcador suficientemente sensible sobre el plasma, los inventores ejecutaron una medición de trombotomodulina soluble mediante ELISA en sangre entera versus plasma.

25 Medición de trombotomodulina soluble mediante ELISA en sangre entera comparada con plasma

Antecedente

30 En el método de ensayo inmunosorbente enlazado a enzima (ELISA), el antígeno (o anticuerpo) enlazado es detectado por un anticuerpo enlazado (primaria o secundariamente) a una enzima, cuya actividad puede ser determinada. La actividad de la enzima enlazada al anticuerpo sirve como un estimativo cuantitativo de la cantidad del antígeno (o anticuerpo) investigado en el espécimen biológico.

35 En ELISA de trombotomodulina, se añade la muestra del paciente (típicamente plasma o suero) a los pozos de ELISA recubiertos previamente con un anticuerpo dirigido contra trombotomodulina. Después de un paso de lavado, se añade un anticuerpo de detección dirigido contra (otro epítipo sobre) trombotomodulina (el anticuerpo de detección puede estar enlazado primaria o secundariamente a una enzima cuya actividad puede ser determinada). La cantidad de actividad de enzima en cada muestra es convertida matemáticamente a una medida de concentración basada en la actividad de enzima en muestras con cantidades conocidas de trombotomodulina (curva estándar).

40 Cuando se usa el nivel de trombotomodulina en pacientes críticamente enfermos de modo agudo para guiar la terapia, es crucial que la prueba de trombotomodulina pueda ser ejecutada rápidamente. Una vía para acelerar la prueba es medir la trombotomodulina en sangre entera, en vez de plasma/suero, dado que la sangre entera no requiere procesamiento de la muestra de sangre (la preparación de plasma toma ~15-20 min y la preparación de suero a partir de una muestra de sangre entera toma ~30-60 min).

50 Dado que no todas las moléculas pueden ser detectadas fácilmente en la sangre entera (la sangre entera puede contener sustancias que pueden interferir con la especificidad de la prueba), los inventores investigaron si la trombotomodulina era detectable directamente en sangre entera cuando se mide mediante ELISA. Mediante la conducción de los experimentos descritos abajo, los inventores descubrieron sorprendentemente que la trombotomodulina podría ser detectada con precisión y exactitud en sangre entera.

Experimentos

55 Se tomaron muestras de sangre entera de 10 voluntarios humanos saludables (dos tubos de 4 ml de EDTA de cada sujeto). De cada persona, se hizo girar un tubo a 3000 rpm durante 10 min para generar plasma y se dejó un tubo sin procesar (sangre entera). Inmediatamente después del giro (plasma), se transfirió con pipeta plasma y sangre entera hasta la placa de ELISA.

60 De cada sujeto, se investigaron los siguientes duplicados de plasma/sangre entera, respecto a su contenido de trombotomodulina:

- I) Plasma diluido 1:2 con amortiguador de ensayo (estándar de oro y recomendado para la ELISA)
- II) sangre entera no diluida
- 65 III) sangre entera diluida 1:2 con amortiguador de ensayo
- IV) sangre entera diluida 1:4 con amortiguador de ensayo

aparte del uso de sangre entera con material de muestra, se condujo la ELISA de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

Se calcularon los valores de hematocrito de los voluntarios saludables a partir de una concentración de hemoglobina normal esperada de 8.3-10.5 mmol/l en machos (promedio 9.4 mmol/l) y 7.3-9.5 mmol/l en hembras (promedio 8.4 mmol/l), correspondiente a valores de hematocrito de 42 % en voluntarios hembra y 48 % en machos (indicando que el contenido de plasma en sangre entera puede 58 % en hembras y 52 % en machos).

Resultados

La Tabla 8 despliega los medidos de trombomodulina en plasma 1:2 diluido (estándar de oro) y en diferentes diluciones de sangre entera.

En plasma, el promedio de concentración de trombomodulina fue de 1.92 (SD 0.12) ng/ml en los 10 voluntarios saludables, con una baja variación dentro del ensayo entre duplicados (CV %, correspondiente a elevada precisión) de 6.9 %.

En sangre entera no diluida, el promedio de concentración fue de 0.78 (SD 0.06) ng/ml y después de la corrección por hematocrito (hct) fue de 1.38 (SD 0.30) ng/ml, correspondiente a una recuperación de 71.5 % (SD 5.9 %), comparada con plasma. De manera notable, la precisión en la prueba en sangre entera no diluida fue extremadamente alta con promedio de CV % entre duplicados de sólo 8.8 % (Tabla 8). También, la correlación lineal entre niveles de trombomodulina en plasma y sangre entera no diluida reveló una fuerte correlación de momento de producto de Pearson, $r=0.93$, dando como resultado un elevado coeficiente de determinación, $r^2=0.87$ (Figura 9a) (indicando que 87 % de la variación en una variable era explicado estadísticamente por variación en la otra variable, es decir, un ajuste extremadamente bueno). La concentración de trombomodulina en plasma y sangre entera no diluida fue significativamente diferente ($p = 0.002$, prueba t pareada), siendo el factor de corrección $(1-71.5)/71.5=1.4$, enfatizando que la trombomodulina podría ser medida con precisión en sangre entera no diluida.

En sangre entera diluida 1:2, el promedio de concentración fue de 1.23 (SD 0.33) ng/ml y después de la corrección por hematocrito (hct) fue de 2.16 (SD 0.59) ng/ml, correspondiente a una recuperación de 110.9 % (SD 15.8 %), comparada con plasma. La predicción de la prueba en sangre entera diluida 1:2 fue extremadamente elevada con promedio de CV % entre los duplicados de sólo 10.3 % (Tabla 8). La correlación lineal entre los niveles de trombomodulina en plasma y sangre entera no diluida reveló una fuerte correlación de momento de producto de Pearson, $r=0.91$, dando como resultado un elevado coeficiente de determinación, $r^2=0.83$ (Figura 9b) (indicando que 83 % de la variación en una variable se explicaba estadísticamente por variación en la otra variable, es decir, un ajuste extremadamente bueno). La concentración de trombomodulina en plasma y sangre entera no diluida fue comparable (no diferente, $p = 0.296$, prueba t pareada), enfatizando que la trombomodulina podría ser medida precisa y exactamente en sangre entera diluida 1:2.

En sangre entera diluida 1:4, el promedio de concentración fue de 1.04 (SD 0.51) ng/ml y después de la corrección por hematocrito (hct) fue de 1.83 (SD 0.90) ng/ml, correspondiente a una recuperación de 90.19 % (SD 33.4 %), comparado con plasma. La precisión de la prueba en sangre entera diluida 1:4 fue aceptable con promedio de CV % entre los duplicados de 21.0 % (Tabla 8). La correlación lineal entre niveles de trombomodulina en plasma y sangre entera no diluida reveló una fuerte correlación de momento de producto de Pearson, $r=0.93$, dando como resultado un elevado coeficiente de determinación, $r^2=0.86$ (Figura 9c) (indicando que 86 % de la variación en una variable fue explicado estadísticamente por la variación en la otra variable, es decir, un ajuste extremadamente bueno). La concentración de trombomodulina en plasma y sangre entera no diluida fue comparable (no diferente, $p = 0.762$, prueba t pareada), enfatizando que la trombomodulina podría ser medida con exactitud en sangre entera diluida 1:4.

Conclusión

Este experimento demostró que la trombomodulina fue fácilmente detectable en sangre entera. Esto enfatiza que la trombomodulina tiene rasgos bioquímicos que permiten que los anticuerpos de trombomodulina detecten esta molécula también en sangre entera, es decir, una matriz de muestra biológica significativamente más compleja que el plasma. La precisión de la medición de trombomodulina en sangre entera no diluida fue extremadamente elevada y la dilución 1:2 de la sangre entera retuvo la precisión y mejoró la exactitud.

Con base en los resultados de este experimento, los inventores infieren que la trombomodulina puede ser medida fácilmente en un ensayo rápido a base de sangre entera, por ejemplo una barra de medición. Esto puede permitir la estratificación rápida para tratamiento de pacientes críticamente enfermos de modo agudo, cuando éste se basa en sus niveles de trombomodulina.

Diagnóstico cualificado de endotelopatía sistémica mediante adición de medición de otros biomarcadores es decir, sindecano-1, adrenalina y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) en algunos pacientes.

El diagnóstico de daño endotelial sistémico es decir, síndrome endotelio-pático sistémico (SES) en pacientes críticamente enfermos de modo agudo puede ser cualificado adicionalmente en algunos pacientes, aparte del obtenido mediante medición de niveles de trombotomodulina antes de la hospitalización o en la admisión en el hospital/reconocimiento de la enfermedad crítica aguda. Así, la adición de una medición antes de la hospitalización o en la admisión al hospital, de sindecano-1 (un biomarcador que refleja daño de glicocálix endotelial) y/o adrenalina (un biomarcador endógeno de tensión que conduce directamente al daño endotelial) ayudará al diagnóstico de "síndrome endotelio-pático sistémico".

Los pacientes, en particular pacientes de trauma, con niveles de trombotomodulina justo por encima de un corte dado, pero con niveles concurrentes de sindecano-1 y adrenalina por encima de sus cortes dados, sufren de síndrome endotelio-pático sistémico severo. Estos pacientes, con incremento en la frontera de trombotomodulina pero elevados niveles de sindecano-1 y adrenalina, están así en un riesgo más elevado que el esperado (sobre la base de trombotomodulina) de progresión de la enfermedad y falla de órgano y mortalidad en exceso, y estos pacientes se beneficiarán de la terapia con prostaciclina, como se describió anteriormente. La terapia con prostaciclina debería ser iniciada lo más pronto posible y vigilada diariamente mediante trombotomodulina y puntajes clínicos de enfermedad, como se describió anteriormente.

Así, similar a la trombotomodulina, la medición de sindecano-1 y adrenalina como biomarcadores adicionales pueden diagnosticar y cualificar la severidad de endotelio-patía sistémica, es decir, síndrome endotelio-pático sistémico. Preferiblemente, todos los biomarcadores (trombotomodulina, sindecano-1, adrenalina) son medidos individual o simultáneamente mediante una prueba rápida de POC, sea antes de la hospitalización o inmediatamente a la admisión en el hospital/reconocimiento de la enfermedad crítica aguda. La aplicación de una prueba rápida de POC que revelan resultados dentro de unos pocos minutos, habilita el diagnóstico rápido de síndrome endotelio-pático sistémico y mediante ello una estratificación rápida de riesgo e inicio de terapia con prostaciclina. El inicio rápido de terapia con prostaciclina minimizará la progresión adicional de la endotelio-patía en la fase temprana de la enfermedad crítica aguda, y habilitará así el retorno rápido y tratamiento de la endotelio-patía.

Evidencia con trauma

En 635 pacientes con trauma, los elevados niveles de sindecano-1 y adrenalina fueron predictores fuertes e independientes de mortalidad.

La Figura 10 muestra la curva operativa característica de receptor (ROC) de sindecano-1 para la predicción de mortalidad en pacientes con trauma. AUC de sindecano-1 para la predicción de mortalidad al día 28: AUC 0.599 (0.537-0.661), $p = 0.001$. El más alto índice de Youden revela un nivel umbral de 40 ng/ml de sindecano-1 en plasma. Sensibilidad 0.569, 1 - especificidad 0.354.

La Figura 11 muestra la curva operativa característica de receptor (ROC) de adrenalina para la predicción de mortalidad en pacientes con trauma. AUC de adrenalina para la predicción de mortalidad al día 28: AUC 0.629 (0.567-0.691), $p < 0.0001$. El más alto índice de Youden revela un nivel umbral de 225 pg/ml de adrenalina en plasma. Sensibilidad 0.658, 1 - especificidad 0.435.

Cuando se usaron los cortes anteriores para sindecano-1 (40 ng/ml) y adrenalina (225 pg/ml), se revelaron las siguientes relaciones de peligro (HR) para mortalidad al día 28:

Sindecano-1 de plasma por encima de 40 ng/ml: HR 2.16 (95 % CI 1.43-3.24), Wald 14, $p < 0.0001$
Adrenalina de plasma por encima de 225 pg/ml: HR 2.47 (95 % CI 1.61-3.80), Wald = 17, $p < 0.0001$

La potencia de estos cortes puede ser ilustrada mediante la proporción de pacientes que mueren dentro de 1-28 días, cuando son estratificados de acuerdo con el nivel de sindecano-1 o adrenalina en la admisión.

Mortalidad al día 1:

Los pacientes con niveles de sindecano-1 > 40 ng/ml en la admisión tienen una mortalidad < 24 h 4 veces más alta, comparada con pacientes con niveles de sindecano-1 < 40 ng/ml (10.4 % vs. 2.7 %, $p < 0.0001$). Los pacientes con niveles de adrenalina > 225 pg/ml tienen una mortalidad < 24 h 4 veces mayor, comparada con pacientes con niveles de adrenalina < 225 pg/ml (8.5 % vs. 2.1 %, $p < 0.0001$). En especial para el riesgo de mortalidad temprana (< 24 h), la adición de mediciones de sindecano-1 y adrenalina y sus niveles de corte a la medición de trombotomodulina, tiende a mejorar el diagnóstico de endotelio-patía traumática y así el riesgo de estratificación, permitiendo el inicio de tratamiento temprano (añadiendo sindecano-1 valor significativo comparado con trombotomodulina: $p = 0.153$ y añadiendo adrenalina valor significativo comparado con trombotomodulina: $p = 0.085$). La fortaleza para predicción temprana de mortalidad enfatiza la necesidad por el diagnóstico rápido de síndrome endotelio-pático sistémico mediante ensayos de POC, permitiendo el inicio rápido de terapia con prostaciclina.

Mortalidad al día 28:

Pacientes con niveles de sindecano-1 > 40 ng/ml en la admisión tienen una mortalidad al día 28 de 2 veces mayor, comparada con pacientes con niveles de sindecano-1 < 40 ng/ml (26 % vs. 14 %, p < 0.0001). Pacientes con niveles de adrenalina > 225 pg/ml tienen una mortalidad al día 28 de más de 2 veces comparada con pacientes con niveles de adrenalina < 225 pg/ml (25 % vs. 11 %, p < 0.0001)

5 Cuando se aplican otros cortes diferentes a 40 ng/ml para sindecano-1 y 225 pg/ml para adrenalina, se obtienen las sensibilidades y especificidades de 1 para la predicción de la mortalidad (datos de 635 pacientes con trauma), mostradas en las Tablas 9 y 10, respectivamente.

10 Finalmente, adicionalmente a trombomodulina y/o sindecano-1 y/o adrenalina, las mediciones del nivel de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) en pacientes que sufren de enfermedad crítica aguda pueden diagnosticar pacientes con síndrome endotelio-pático sistémico, que tienen exceso de pérdida de integridad vascular, es decir, excesiva pérdida de fluidos del compartimiento intravascular. La estratificación de riesgo y terapia con prostaciclina a base de niveles de corte de VEGF medido antes de la hospitalización o en la admisión/reconocimiento de enfermedad crítica aguda, presentan todavía otra herramienta para personalizar el cuidado para pacientes críticamente enfermos de modo agudo.

20 Así, se considera que un paciente tiene síndrome endotelio-pático sistémico (también denotado endotelio-patía sistémica o simplemente endotelio-patía) cuando el paciente sufre de enfermedad crítica aguda y es diagnosticado con daño endotelial sistémico.

Referencias

- 25 Artenstein AW, Higgins TL, Opal SM. Sepsis and scientific revolutions. *Crit Care Med* 2013; 41:2770-2772
- Barthel E, Rauchfuss F, Hoyer H et al. Impact of stable PGI(2) analog iloprost on early graft viability after liver transplantation: a pilot study. *Clin Transplant* 2012; 26:E38-E47
- Beirne C, Hynes N, Sultan S. Six years' experience with prostaglandin 12 infusion in elective open repair of abdominal aortic aneurysm: a parallel group observational study in a tertiary referral vascular center. *Ann Vasc Surg* 2008; 22:750-755
- 30 Bihari D, Smithies M, Gimson A et al. The effects of vasodilation with prostacyclin on oxygen delivery and uptake in critically ill patients. *N Engl J Med* 1987; 317:397-403
- Davies MG, Hagen PO. The vascular endothelium. A new horizon. *Ann Surg* 1993; 218:593-609
- de DG, Gussoni G, de DG et al. The ILAILL study: iloprost as adjuvant to surgery for acute ischemia of lower limbs: a randomized, placebo-controlled, double-blind study by the Italian Society for Vascular and Endovascular Surgery. *Ann Surg* 2006; 244:185-193
- 35 de DG, Gussoni G, de DG et al. Acute limb ischemia in elderly patients: can iloprost be useful as an adjuvant to surgery? Results from the ILAILL study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007; 34:194-198
- Grande PO, Moller AD, Nordstrom CH et al. Low-dose prostacyclin in treatment of severe brain trauma evaluated with microdialysis and jugular bulb oxygen measurements. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000; 44:886-894
- 40 Holmvang L, Ostrowski SR, Dridi NP et al. A single center, open, randomized study investigating the clinical safety and the endothelial modulating effects of a prostacyclin analog in combination with eptifibatid in patients having undergone primary percutaneous coronary intervention (PCI) for ST-segment elevation myocardial infarction. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2012; 99:95
- Johansson PI, Ostrowski SR. Acute coagulopathy of trauma: Balancing progressive catecholamine induced endothelial activation and damage by fluid phase anticoagulation. *Med Hypotheses* 2010; 75:564-567
- 45 Kiefer P, Tugtekin I, Wiedeck H et al. Hepato-splanchnic metabolic effects of the stable prostacyclin analogue iloprost in patients with septic shock. *Intensive Care Med* 2001; 27:1179-1186
- Lehmann C, Taymoorian K, Wauer H et al. Effects of the stable prostacyclin analogue iloprost on the plasma disappearance rate of indocyanine green in human septic shock. *Intensive Care Med* 2000; 26:1557-1560
- 50 Marshall JC. Why have clinical trials in sepsis failed? *Trends Mol Med* 2014; 20:195-203
- Moncada S, Gryglewski R, Bunting S et al. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976; 263:663-665
- Morgera S, Woydt R, Kern H et al. Low-dose prostacyclin preserves renal function in high-risk patients after coronary bypass surgery. *Crit Care Med* 2002; 30:107-112
- 55 Naredi S, Olivecrona M, Lindgren C et al. An outcome study of severe traumatic head injury using the "Lund therapy" with low-dose prostacyclin. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001; 45:402-406
- Neumann UP, Kaisers U, Langrehr JM et al. Reduction of reperfusion injury with prostacyclin 12 after liver transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31:1029-1030
- O'Grady J, Warrington S, Moti MJ et al. Effects of intravenous infusion of prostacyclin (PGI2) in man. *Prostaglandins* 1980; 19:319-332
- 60 Opal SM, van der Poll T. Endothelial barrier dysfunction in septic shock. *J Intern Med* 2015; 277:277-293
- Radermacher P, Buhl R, Santak B et al. The effects of prostacyclin on gastric intramucosal pH in patients with septic shock. *Intensive Care Med* 1995; 21:414-421
- Simmons J, Pittet JF. The coagulopathy of acute sepsis. *Curr Opin Anaesthesiol* 2015; 28:227-236
- 65 Windelov NA, Ostrowski SR, Perner A et al. Transfusion requirements and clinical outcome in intensive care patients receiving continuous renal replacement therapy: comparison of prostacyclin vs. heparin prefilter administration. *Blood*

Coagul Fibrinolysis 2010; 21:414-419 Zardi EM, Zardi DM, Cacciapaglia F et al. Endothelial dysfunction and activation as an expression of disease: role of prostacyclin analogs. Int Immunopharmacol 2005; 5:437-459
Zardi EM, Zardi DM, Dobrina A et al. Prostacyclin in sepsis: a systematic review. Prostaglandins Other Lipid Mediat 2007; 83:1-24

5

REIVINDICACIONES

1. Un método de diagnóstico para un individuo diagnosticado con una enfermedad crítica aguda, si dicho individuo es un candidato para tratamiento de combinación de cuidado estándar para dicha enfermedad crítica aguda en combinación con administración de prostaciclina o un análogo de la misma, comprendiendo dicho método:
- medición de una concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma de dicho individuo; determinación de si dicha concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma está por encima de un nivel umbral de por lo menos 4 ng/ml; y diagnóstico de dicho individuo como un candidato para tratamiento de combinación, si dicha concentración de línea base está por encima de dicho nivel umbral.
2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho método es un método para el diagnóstico de daño endotelial severo en dicho individuo diagnosticado con dicha enfermedad crítica aguda; en donde dicho individuo es diagnosticado con daño endotelial severo en adición a dicha enfermedad crítica aguda, si dicha concentración de línea base está por encima de dicho nivel umbral.
3. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho método es un método para el diagnóstico de síndrome endotelio-pático sistémico en un individuo diagnosticado con una enfermedad crítica aguda; en donde dicho individuo es diagnosticado con síndrome endotelio-pático sistémico, cuando dicho individuo es diagnosticado con una enfermedad crítica aguda y daño endotelial severo.
4. Uso de trombomodulina como un marcador biológico en un método para el diagnóstico para un individuo diagnosticado con una enfermedad crítica aguda, si dicho individuo es un candidato para tratamiento de combinación con cuidado estándar para dicha enfermedad crítica aguda en combinación con administración de prostaciclina o un análogo de la misma, comprendiendo dicho método:
- medición de una concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma de dicho individuo; determinación de si dicha concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma está por encima de un nivel umbral de por lo menos 4 ng/ml; y diagnóstico de dicho individuo como un candidato para tratamiento de combinación, si dicha concentración de línea base está por encima de dicho nivel umbral.
5. Uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde dicho método es un método para el diagnóstico de daño endotelial severo en dicho individuo diagnosticado con dicha enfermedad crítica aguda; en donde dicho individuo es diagnosticado con daño endotelial severo en adición a dicha enfermedad crítica aguda, si dicha concentración de línea base está por encima de dicho nivel umbral.
6. Un uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 o 5, en donde dicho método es un método para el diagnóstico de síndrome endotelio-pático sistémico en un individuo diagnosticado con una enfermedad crítica aguda; en donde dicho individuo es diagnosticado con síndrome endotelio-pático sistémico cuando dicho individuo es diagnosticado con una enfermedad crítica aguda y daño endotelial severo.
7. Una composición que comprende prostaciclina o un análogo de la misma para uso en un método para el tratamiento de una enfermedad crítica aguda, en un individuo diagnosticado con dicha enfermedad crítica aguda e incremento concurrente en un nivel medido de trombomodulina en sangre o plasma de dicho individuo, comprendiendo dicho método:
- (a) medición de una concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma de dicho individuo;
- (b) determinación de si dicha concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma está por encima de un nivel umbral de por lo menos 4 ng/ml;
- (c) administración de una dosis de 0.5 - 4 ng/kg/min de prostaciclina o un análogo de la misma a dicho individuo continuamente durante un primer periodo de tiempo, si dicha concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma está por encima de dicho nivel umbral de por lo menos 4 ng/ml;
- (d) medición al final de dicho primer periodo de tiempo de una concentración de trombomodulina soluble en sangre o plasma de dicho individuo;
- (e) determinación de si dicha concentración de trombomodulina soluble es menor en por lo menos una disminución de 10 % comparada con dicha concentración de línea base de trombomodulina, determinada previamente al inicio de dicha administración de prostaciclina;
- (f) evaluación de si ha ocurrido una mejora clínica de dicha enfermedad crítica aguda en dicho individuo, durante dicho primer periodo de tiempo; y
- (g) si se observa una reducción en la concentración y una mejora clínica, suspensión de la administración de prostaciclina mientras se continúa el cuidado estándar para dicha enfermedad crítica aguda; o
- (h) de otro modo continuación de la administración de prostaciclina durante un segundo periodo de tiempo que no excede dicho primer periodo de tiempo
- en donde los pasos (d) a (h) son repetidos hasta que se suspende la administración de prostaciclina a dicho individuo a continuación del paso (g).

- 5 8. Una composición que comprende prostaciclina o un análogo de la misma para uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde dicha dosis es 1 - 2 ng/kg/min y/o en donde dicho análogo de prostaciclina es Iloprost o Flolan, y/o en donde dicho primer periodo de tiempo es por lo menos 48 horas o por lo menos 72 horas, y/o en donde dicho segundo periodo de tiempo es 12 horas o 24 horas, y/o en donde en el paso (e) dicha disminución es por lo menos 20 %.
- 10 9. Una composición que comprende prostaciclina o un análogo de la misma para uso de acuerdo con las reivindicaciones 7 u 8, en donde dicha concentración de línea base es medida inmediatamente después o poco después del reconocimiento de dicha enfermedad crítica aguda.
- 10 10. Una composición que comprende prostaciclina o un análogo de la misma para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en donde dicha concentración de línea base es medida dentro de 5 minutos y hasta 6 horas después del reconocimiento de dicha enfermedad crítica aguda.
- 15 11. Una composición que comprende prostaciclina o un análogo de la misma para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en donde dicha administración de prostaciclina es iniciada inmediatamente o poco después de que al completar el paso (b) se ha determinado que dicha concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma está por encima de dicho nivel umbral.
- 20 12. Una composición que comprende prostaciclina o un análogo de la misma para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicha administración de prostaciclina es iniciada dentro de 5 min a 12 horas después de que al completarse el paso (b), se ha determinado que dicha concentración de línea base de trombomodulina soluble en sangre o plasma está por encima de dicho nivel umbral.
- 25 13. Una composición que comprende prostaciclina o un análogo de la misma para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12, en donde dicha enfermedad crítica aguda es seleccionada de entre trauma, trauma de daño por quemadura, sepsis, sepsis severa, choque séptico, infarto agudo de miocardio, paro cardíaco, síndrome sistémico de respuesta inflamatoria (SIRS), cirugía mayor aguda, choque, o un evento tromboembólico.

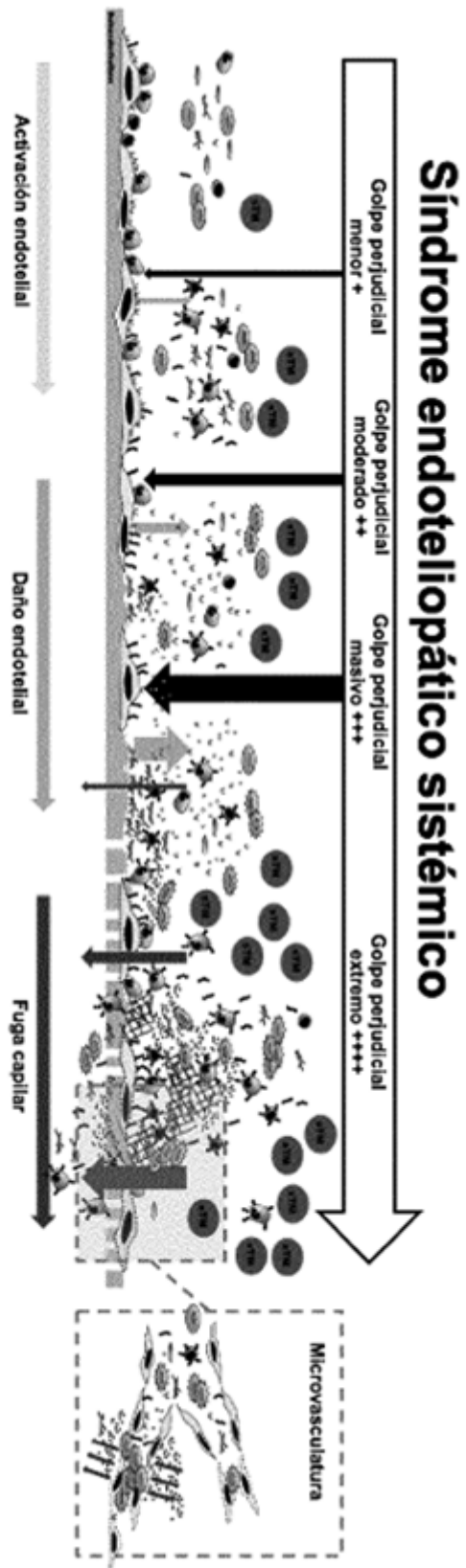


Fig. 1

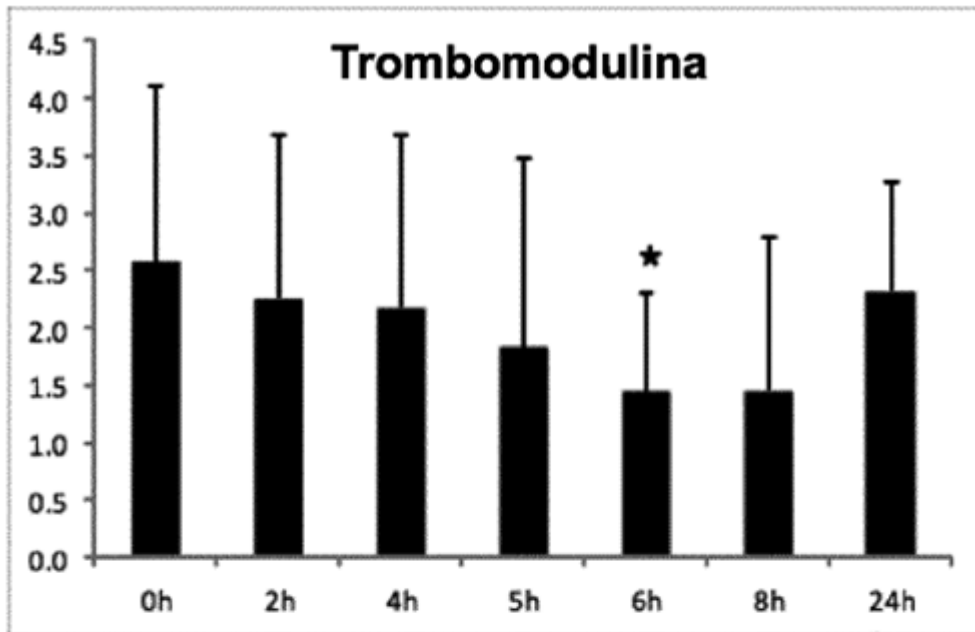


Fig. 2a

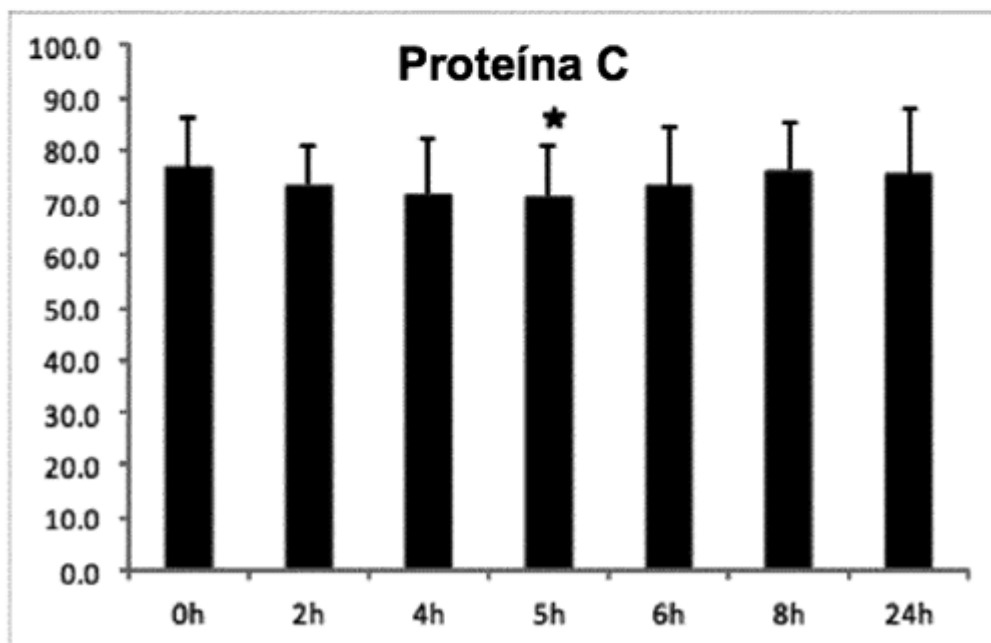


Fig. 2b

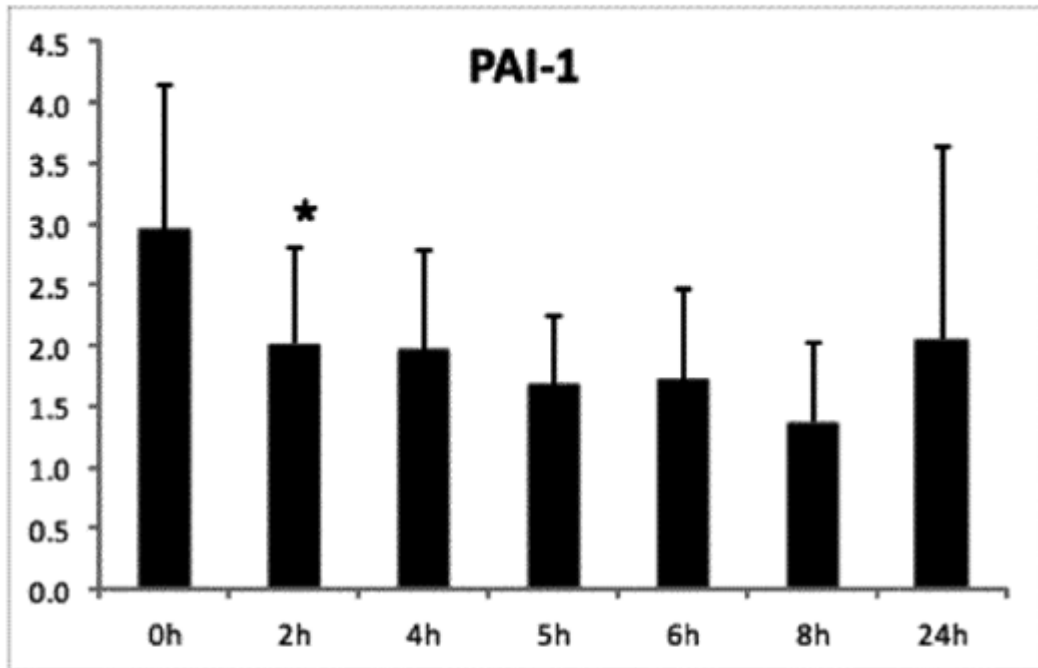


Fig. 2c

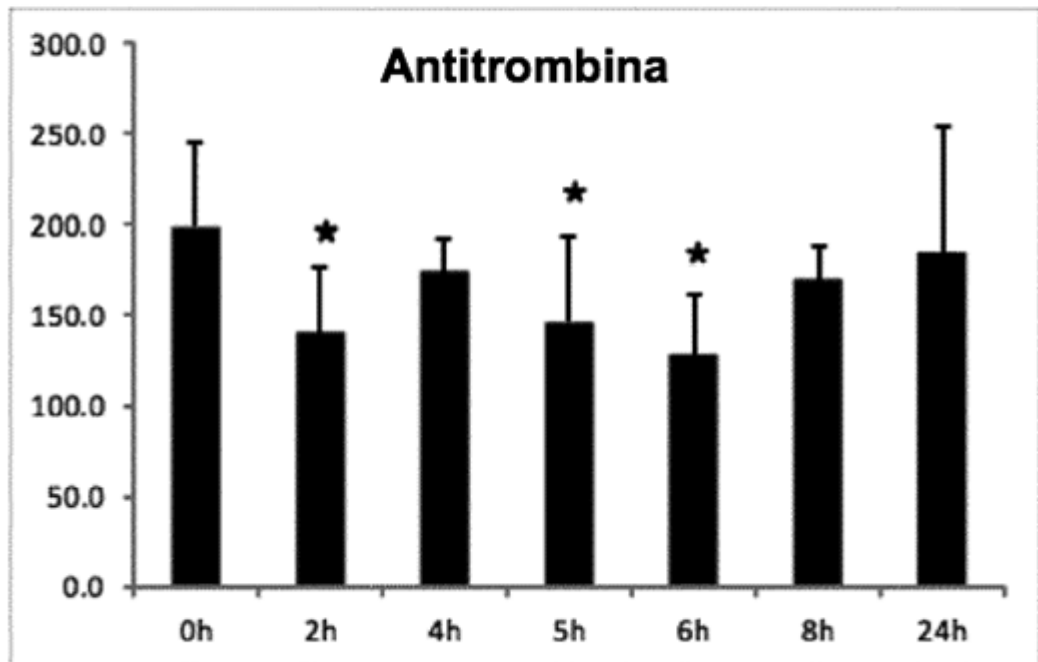


Fig. 2d

Fig. 3a

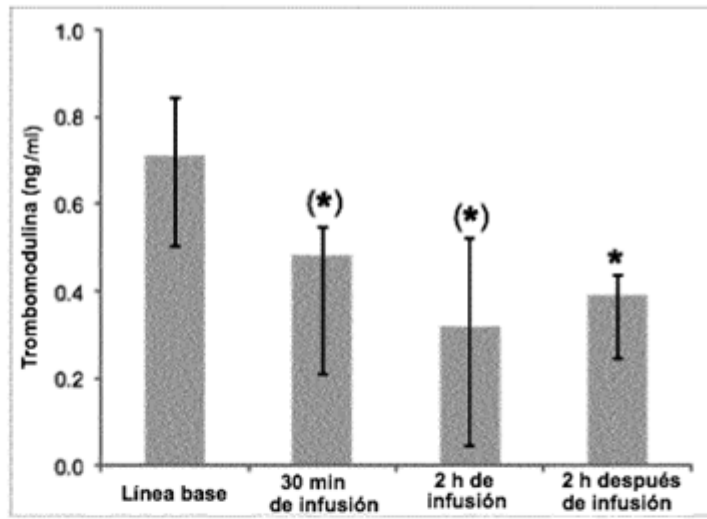


Fig. 3b

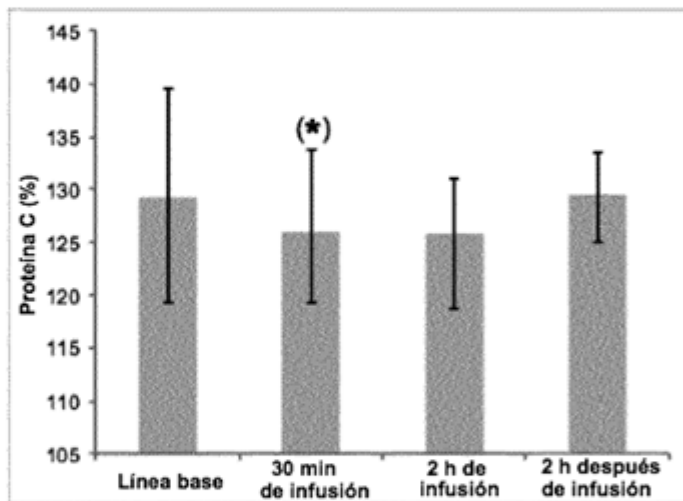
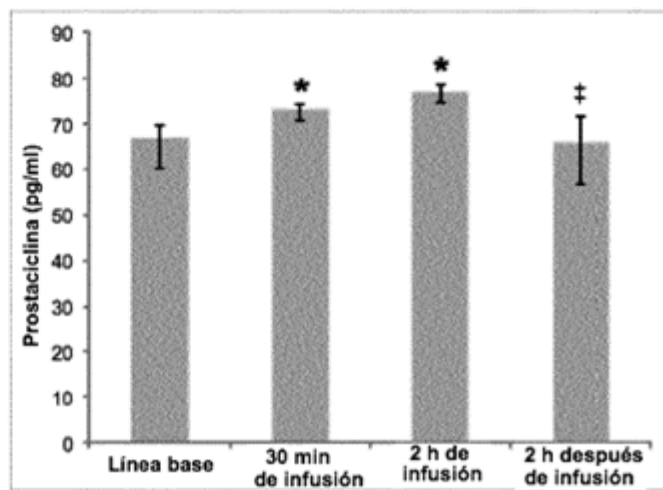


Fig. 3c



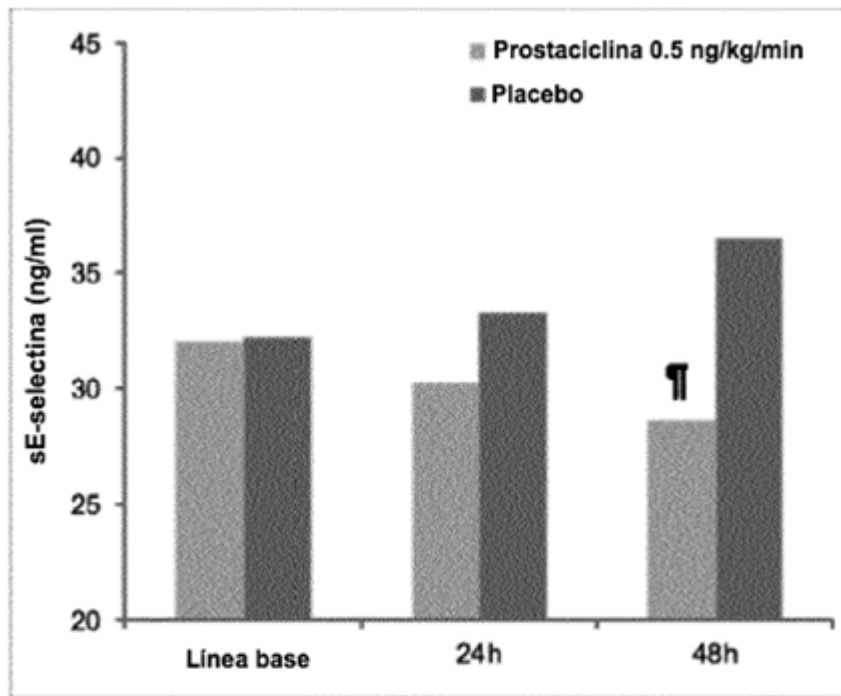


Fig. 4

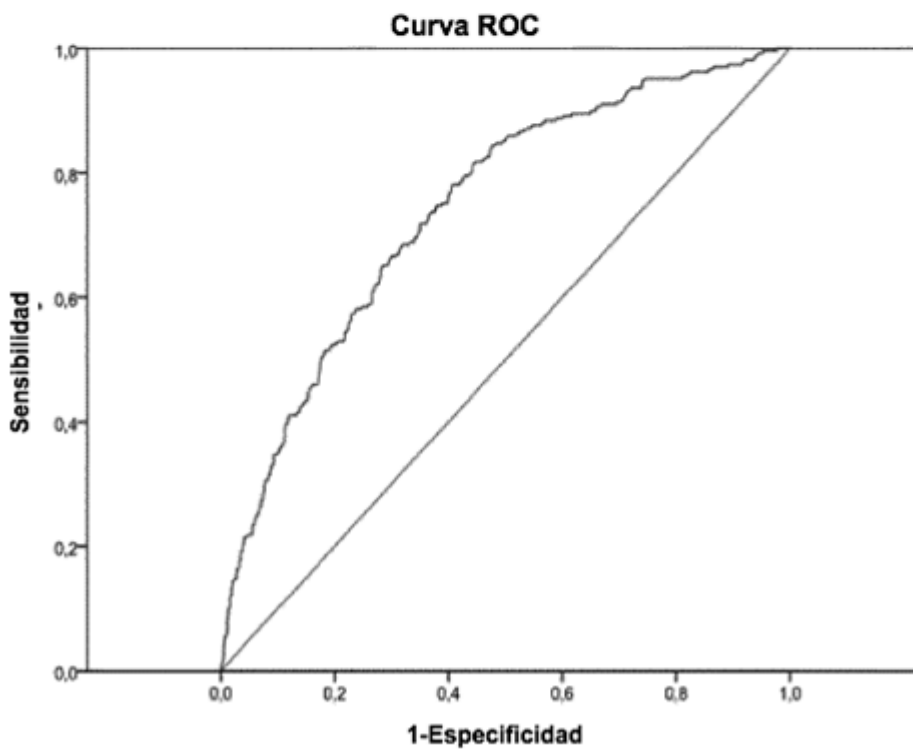


Fig. 6

Fig. 5a

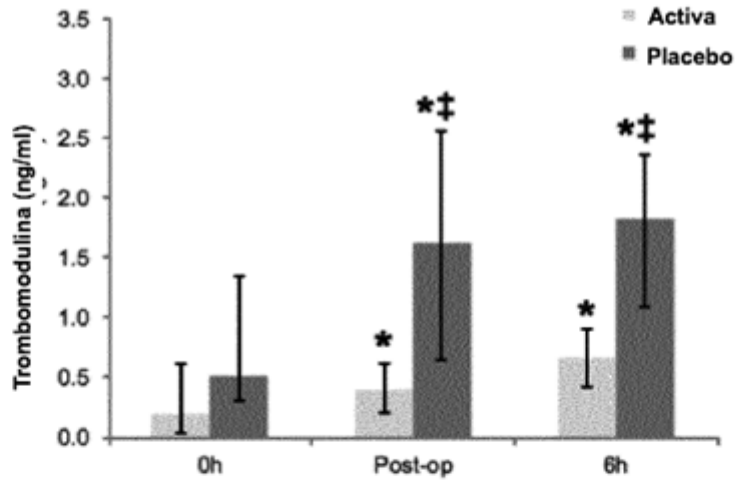


Fig. 5b

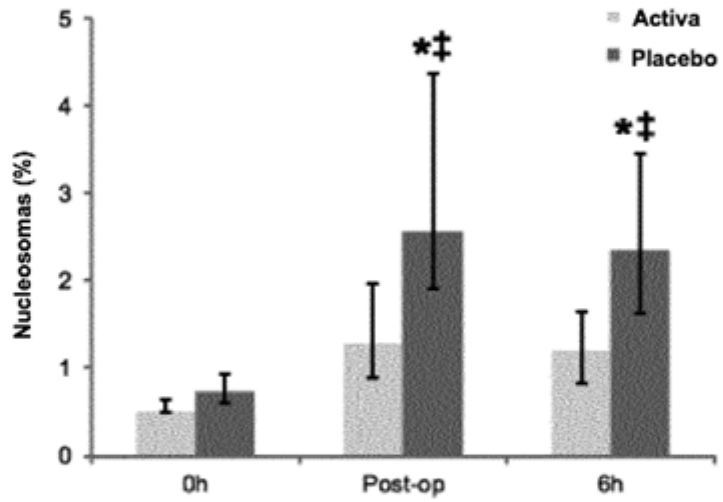
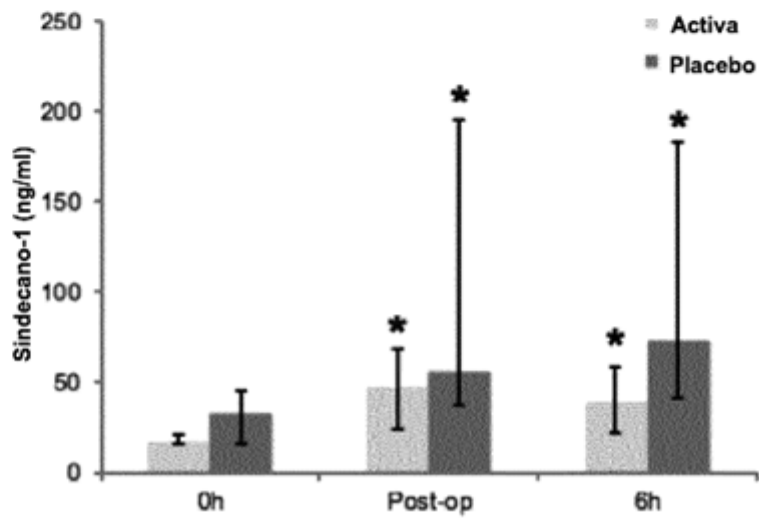


Fig. 5c



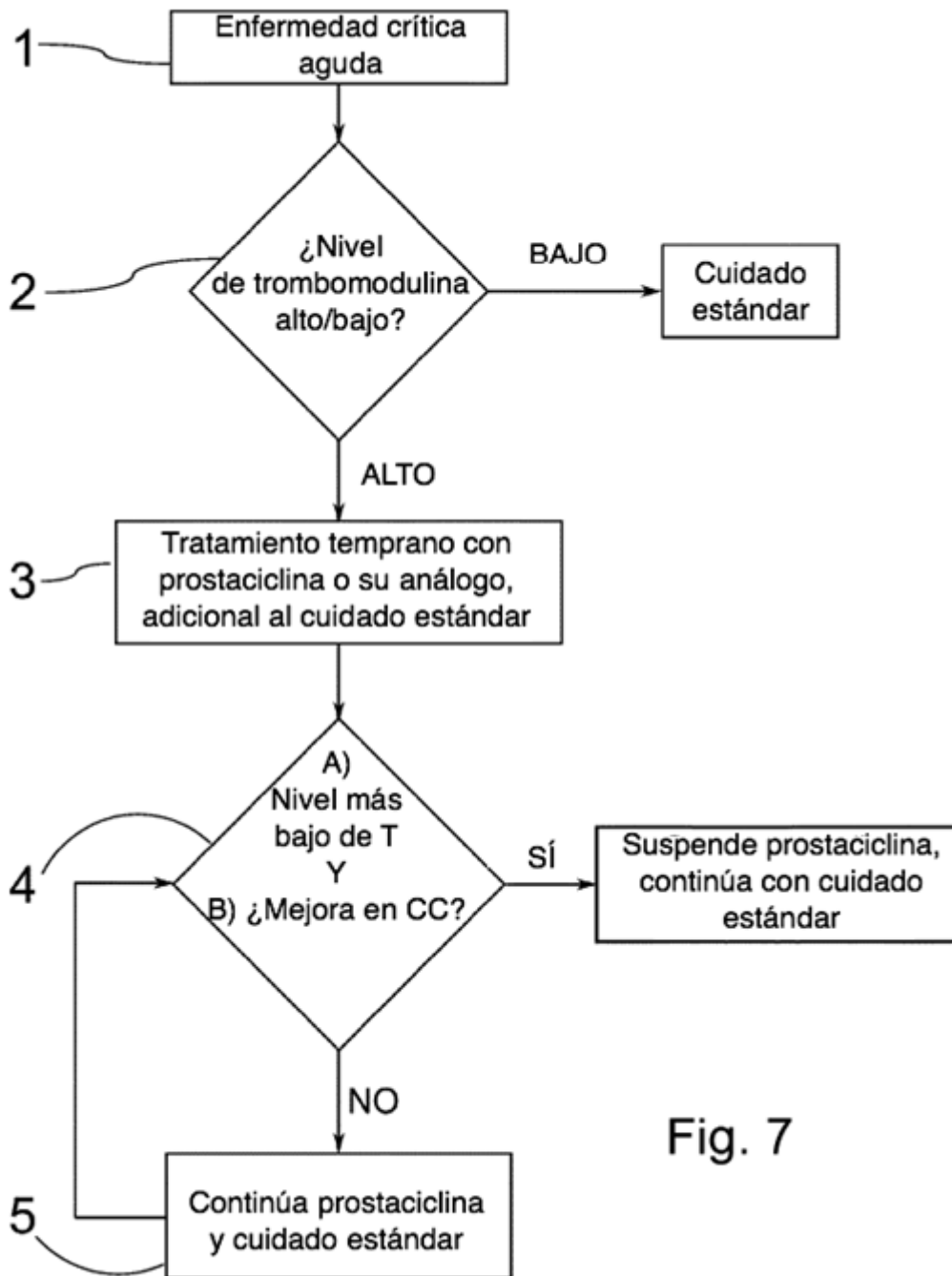


Fig. 7

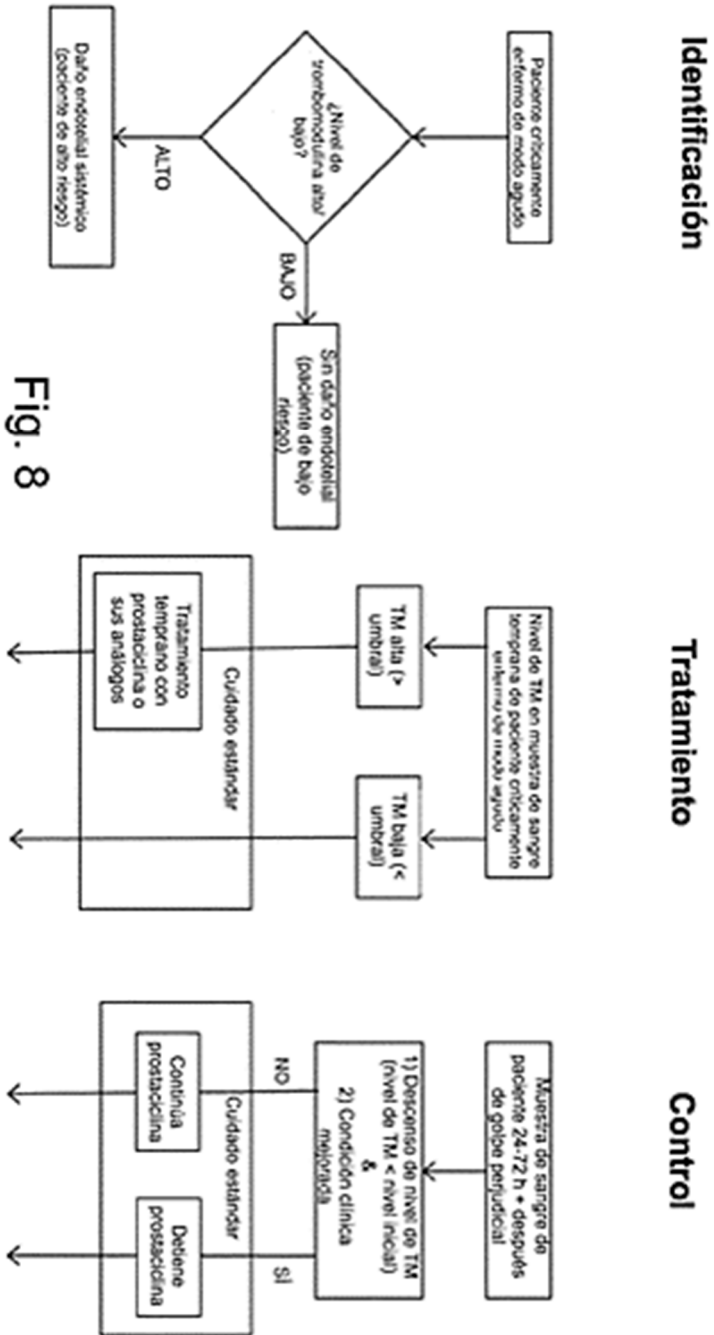


Fig. 8

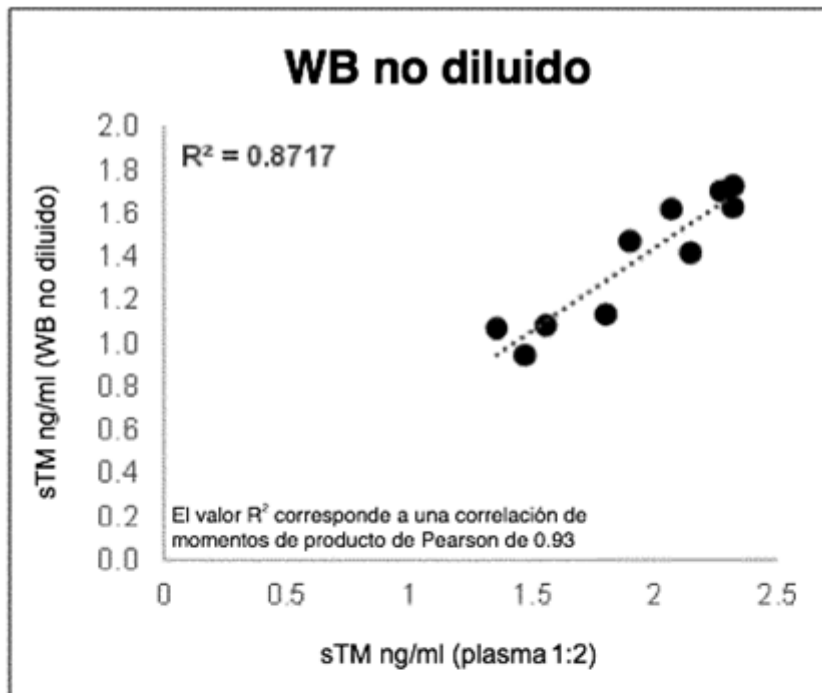


Fig. 9a

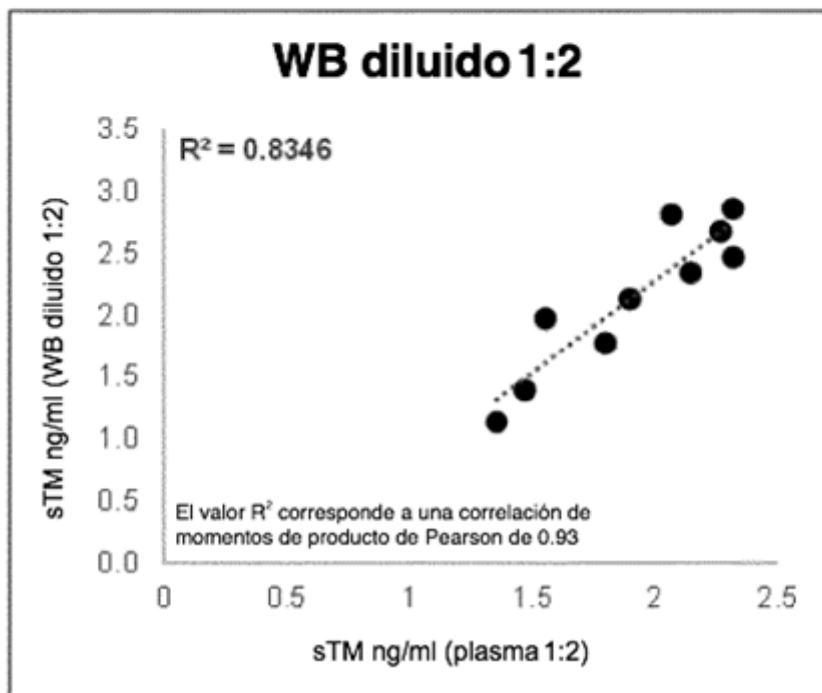


Fig. 9b

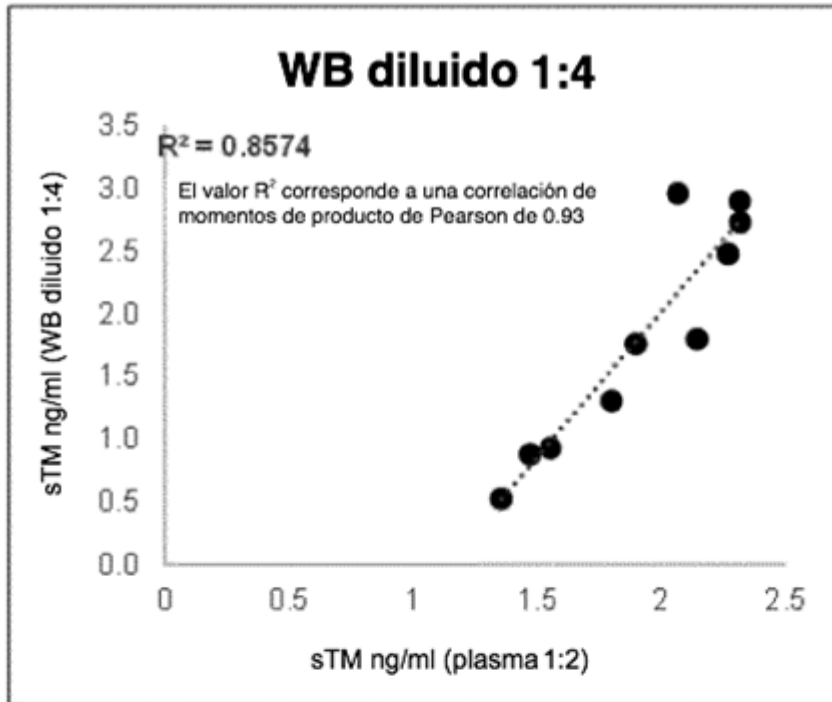


Fig. 9c

Sindecano-1 (ng/ml)	Sensibilidad	1-especificidad
25 ng/ml	0.647	0.530
30 ng/ml	0.595	0.475
35 ng/ml	0.586	0.385
40 ng/ml	0.569	0.354
50 ng/ml	0.474	0.281
60 ng/ml	0.431	0.236
70 ng/ml	0.379	0.216

Tabla 9

Adrenalina (pg/ml)	Sensibilidad	1-especificidad
150 ng/ml	0.721	0.565
175 ng/ml	0.703	0.520
200 ng/ml	0.667	0.480
225 pg/ml	0.658	0.435
250 ng/ml	0.622	0.410
300 ng/ml	0.532	0.335
400 ng/ml	0.441	0.249

Tabla 10

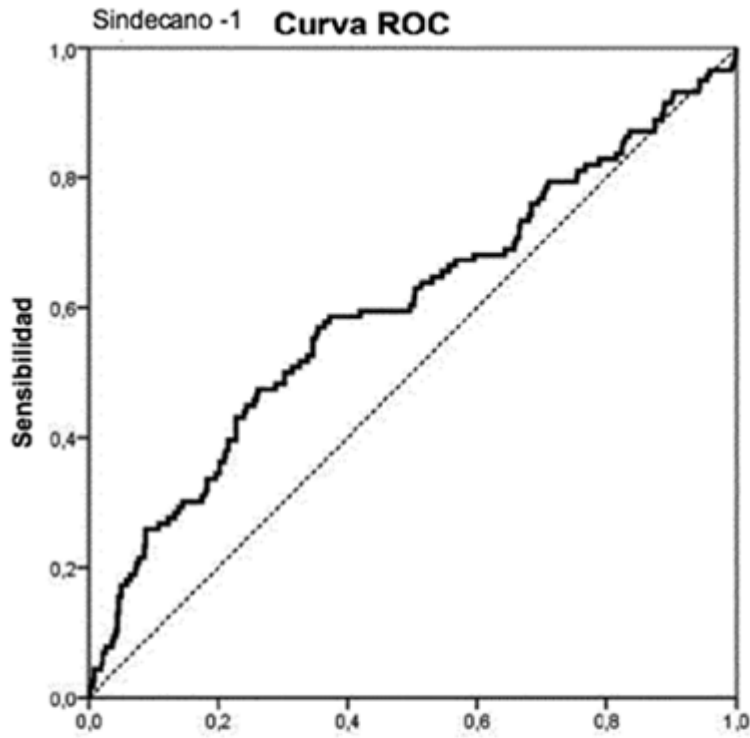


Fig. 10

Los segmentos de diagonal son producidos por lazos 1 - especificidad

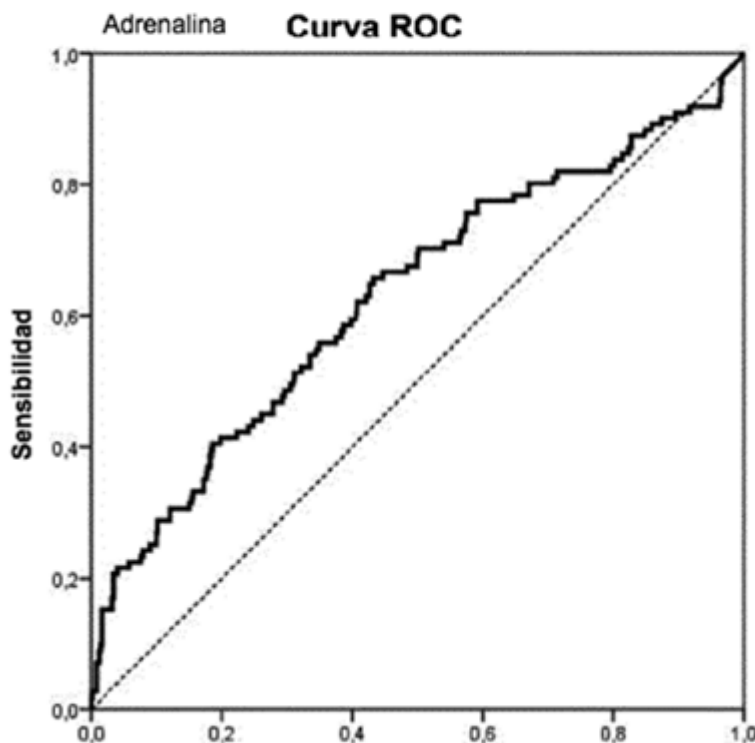


Fig. 11

Los segmentos de diagonal son producidos por lazos 1 - especificidad

	Tratado con prostaciclina	Tratado con heparina
Pacientes	n=24	n=70
Admisión en UCI		
Puntaje APACHE II	26	28
Durante estadía en la UCI		
Choque séptico	88% (n=21)	67% (n=47)
DIC	58% (n=14)	26% (n=18)
Trombocitopenia severa	71% (n=17)	44% (n=31)
Recuento de plaquetas al inicio de CRRT (*10 ⁹ /l)	39	93
Recuento de plaquetas al final de CRRT (*10 ⁹ /l)	53	76
Diferencia en el recuento de plaquetas de antes a después de CRRT (*10 ⁹ /l)	+14	-17
Resultado		
Mortalidad al día 30	21%	39%

Tabla 1

Enfermedad	n	Género	Morte %		demortalidad		Sobrevivientes	
			(día 28)	(día 28)	(día 28)	(día 28)		
Trauma	635	Todos	4.65	5.27	18%	4.47		
		Masculino	4.68	5.30		4.60		
		Femenino	4.38	5.14		3.93		
Infarto de miocardio	571	Todos	2.17	3.23	6%	2.09		
		Masculino	2.06	2.54		2.03		
Arresto cardíaco	163	Femenino	2.56	3.86		2.43		
		Todos	6.97	7.78	33%	6.56		
		Masculino	7.33	8.12		6.73		
Sepsis/sepsis severa/choque séptico	749	Femenino	5.21	6.08		5.02		
		Todos	9.22	10.96	35%	8.52		
Todos los pacientes	2,118	Masculino	9.57	12.57		8.87		
		Femenino	8.35	9.91		7.82		
		Todos	4.93	8.31	22%	4.20		
		Masculino	4.87	8.52		4.04		
		Femenino	5.05	7.65		4.42		

Tabla 2

Nivel de corte de trombomodulina en plasma	de Sensibilidad en (rata de verdad-positivo)	1 - especificidad (rata de falso-positivo)	Indice de Youden (parámetro estadístico que captura el desempeño de una prueba diagnóstica)
2.5 ng/ml	0.907	0.666	0.241
3.0 ng/ml	0.885	0.568	0.317
3.5 ng/ml	0.848	0.491	0.357
4.0 ng/ml*	0.781	0.407	0.375
4.5 ng/ml	0.719	0.355	0.363
5.0 ng/ml	0.667	0.304	0.363
5.5 ng/ml	0.581	0.240	0.342

* el nivel elegido en esta memoria basado en el índice de Youden

Tabla 3

Nivel de sTM	Admisión de pacientes severamente lesionados	Admisión de pacientes moderadamente lesionados	24h	72h
> 2.5 ng/ml	84.9%	45.2%	68.5%	80.0%
> 3.0 ng/ml	79.3%	31.9%	48.3%	67.3%
> 3.5 ng/ml	71.2%	25.2%	42.7%	52.7%
> 4.0 ng/ml	60.8%	16.3%	29.2%	45.5%
> 4.5 ng/ml	51.9%	10.0%	21.3%	32.7%
> 5.0 ng/ml	44.2%	6.3%	15.7%	21.8%
> 5.5 ng/ml	33.8%	3.7%	12.4%	18.2%

Tabla 4a

Intervalo de tiempo	Cambio absoluto	Cambio proporcional
Admisión a 24h	+0.59 ng/ml	+23%
Admisión a 72h	+0.72 ng/ml	+34%
24 h a 72 h	+0.31 ng/ml	+12%

Tabla 4b

Nivel de sTM	Admisión	24h	48h	72h
> 2.5 ng/ml	98.1%	100.0%	100.0%	100.0%
> 3.0 ng/ml	98.1%	98.7%	99.3%	98.6%
> 3.5 ng/ml	96.3%	97.4%	98.7%	93.9%
> 4.0 ng/ml	92.0%	93.5%	96.0%	90.5%
> 4.5 ng/ml	88.9%	90.3%	94.0%	87.8%
> 5.0 ng/ml	84.6%	83.8%	90.1%	83.1%
> 5.5 ng/ml	71.6%	76.6%	82.8%	75.0%

Tabla 5a

Intervalo de tiempo	Sobrevivientes		No sobrevivientes	
	Cambio absoluto	Cambio proporcional	Cambio absoluto	Cambio proporcional
Admisión a 24h	-0.03	0%	+0.67	+16%
Admisión a 48h	+1.04	+19%	+1.31	+28%
Admisión a 72h	+0.87	+10%	+0.4	+9%

Tabla 5b

Nivel de sTM	CPC 3-5 [(AUC(95%CI),valor p)]	mRS 4-6 [(AUC(95%CI),valor p)]
Admisión	0.663 (0.577-0.748), p<0.001	0.651 (0.564-0.738), p<0.001
24h	0.628 (0.533-0.723), p=0.009	0.632 (0.538-0.725), p=0.008
48h	0.619 (0.524-0.714), p=0.016	0.629 (0.535-0.722), p=0.010
72h	0.601 (0.500-0.703), p=0.044	0.609 (0.508-0.709), p=0.032

Tabla 5c

Nivel de sTM	Admisión
> 2.5 ng/ml	41.3%
> 3.0 ng/ml	26.3%
> 3.5 ng/ml	17.3%
> 4.0 ng/ml	10.2%
> 4.5 ng/ml	6.5%
> 5.0 ng/ml	3.5%
> 5.5 ng/ml	1.9%

Tabla 6

Nivel de sTM	Admisión
> 2.5 ng/ml	90-94%
> 3.0 ng/ml	90-93%
> 3.5 ng/ml	87-91%
> 4.0 ng/ml	84-90%
> 4.5 ng/ml	80-87%
> 5.0 ng/ml	77-84%
> 5.5 ng/ml	73-81%

Tabla 7

Tabla 1. Datos demográficos y niveles de trombomodulina en plasma y sangre entera de 10 voluntarios saludables.

ID	Sexo	Edad	Hct	Plasma diluido 1:2		Sangre entera no diluida		Sangre entera diluida 1:2		Sangre entera diluida 1:4											
				Promedio de cas.	SD	Promedio de cas.	SD	Promedio de cas.	SD	Promedio de cas.	SD	Promedio de cas.	SD								
1	F	57	0.42	1.56	0.02	1.4%	0.63	0.04	6.0%	1.08	69.4%	1.15	0.06	5.1%	1.97	126.8%	0.54	0.03	4.7%	0.93	59.6%
2	F	37	0.42	2.07	0.11	5.1%	0.94	0.14	15.4%	1.62	78.1%	1.63	0.04	2.6%	2.81	135.9%	1.72	0.27	15.6%	2.96	143.1%
3	M	55	0.47	2.32	0.16	6.8%	0.86	0.08	9.2%	1.63	70.1%	1.52	0.15	9.9%	2.86	123.3%	1.54	0.26	16.9%	2.90	125.0%
4	M	60	0.47	1.90	0.21	11.2%	0.78	0.01	1.4%	1.47	77.3%	1.13	0.06	4.9%	2.13	112.1%	0.93	0.14	14.8%	1.76	92.7%
5	F	58	0.42	1.80	0.01	0.4%	0.66	0.06	9.6%	1.13	62.7%	1.03	0.11	10.2%	1.77	98.3%	0.76	0.15	19.8%	1.31	72.5%
6	F	32	0.42	2.15	0.07	3.3%	0.82	0.04	4.3%	1.42	65.9%	1.36	0.10	7.6%	2.34	109.1%	1.04	0.26	24.4%	1.80	83.8%
7	F	37	0.42	1.36	0.16	12.0%	0.62	0.05	7.9%	1.07	78.6%	0.66	0.11	16.5%	1.14	84.0%	0.30			0.52	38.6%
8	F	36	0.42	2.27	0.10	4.5%	0.99	0.01	1.1%	1.70	74.9%	1.55	0.06	3.6%	2.68	117.9%	1.44	0.20	13.6%	2.48	109.2%
9	F	47	0.42	1.47	0.33	22.1%	0.55	0.15	27.3%	0.94	64.1%	0.81	0.19	23.3%	1.39	94.8%	0.51	0.29	57.1%	0.88	59.7%
10	F	52	0.42	2.32	0.06	2.4%	1.00	0.06	6.2%	1.72	74.3%	1.43	0.28	19.8%	2.47	106.4%	1.58	0.36	22.9%	2.73	117.7%
Promedio				1.92	0.12	6.9%	0.78	0.06	8.8%	1.38	71.5%	1.23	0.12	10.4%	2.16	110.9%	1.04	0.22	21.1%	1.83	90.2%
SD				0.36		0.16				0.30	5.9%	0.33		0.59	15.8%	0.51				0.90	33.4%

Hct, hematocrito. Promedio de concentración de un duplicado de muestra en ng/ml. SD, desviación estándar. CV%, coeficiente de variación (SD/promedio*100). Concentración corregida por hct, = promedio de concentración / (1-hct). Recuperación, proporción de trombomodulina detectada en sangre entera, respecto a la cantidad detectada en plasma = (concentración en sangre entera/concentración en plasma) * 100.

Tabla 8