



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103748465 B

(45) 授权公告日 2015. 12. 09

(21) 申请号 201280036515. 6

(22) 申请日 2012. 08. 03

(30) 优先权数据

61/515, 534 2011. 08. 05 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 01. 23

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/049543 2012. 08. 03

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/022760 EN 2013. 02. 14

(73) 专利权人 美艾利尔圣地亚哥公司

地址 美国加利福尼亚州圣地亚哥市夏山路
9975 号

(72) 发明人 K·库泊 R·C·散吉瑞 J·麦卡伦

K·克干 D·K·梁

(74) 专利代理机构 杭州金道专利代理有限公司

33246

代理人 黎双华

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101500628 A, 2009. 08. 05, 全文.

CN 101517415 A, 2009. 08. 26, 权利要求
28-42, 45-46, 说明书第 11、14-20、23-24 页.

CN 101568837 A, 2009. 10. 28, 全文.

CN 101636657 A, 2010. 01. 27, 全文.

US 2010/0316283 A1, 2010. 12. 16, 全文.

US 2011/0090086 A1, 2011. 04. 21, 全文.

WO 2007/130962 A2, 2007. 11. 15, 全文.

WO 2010/054810 A1, 2010. 05. 20, 全文.

审查员 许珊萍

权利要求书2页 说明书29页 附图19页

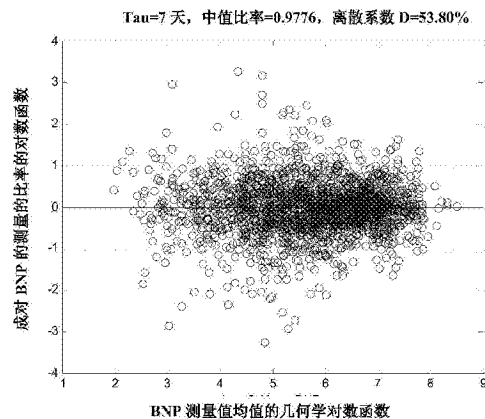
(54) 发明名称

监测心衰的方法和试剂

(57) 摘要

本发明对正在遭受心衰或正在发展为心衰的主体提供监测的方法和检测的试剂。过滤的尿钠肽值, 单独或和其他临床记录, 例如体增加, 可以被用于评估患者的风险(代谢失常的风险)。尿钠肽的累积积分可以被用于评估长时间暴露的累积风险, 例如 14 天或 30 天。

CN 103748465 B



1. 对于非住院的,被诊断为具有心力衰竭的个体提供具有心衰风险指示的计算机系统,该系统包括:

处理器;

非易失性的存储介质;

对于计算机系统的第一输入数据接口和第一输出数据接口;

其中,处理器通过第一输入数据接口接收多个尿钠肽浓度的测量值和把该测量值存储到非易失性的存储介质上,每一个测量值通过从所述个体的体液样本中检测以下一个或几个标记物质而获得:BNP, NT-proBNP, 和 proBNP;所述的值包括在不超过 14 天的期限内至少两个测量值,其中,所述的至少两个测量值是在不同天内获得的,从而提供系列的尿钠肽浓度值;其中,每天浓度的测量包括涉及个体心衰风险指示的第一个信号成分和涉及噪音的第二个信号成分,和

其中,所述的计算机系统用来:

(i) 把系列的尿钠肽浓度转换成系列的数据;

(ii) 对系列的数据进行处理并产生输出的数据,输出的数据包括来自第一信号成分所贡献的部分;其中输出的数据减少了实质由噪音成分所贡献的部分数据;

(iii) 使用输出的数据来确定心衰风险的指示;

(iv) 通过第一输出数据接口与外界的实体进行心衰风险的指示的交流。

2. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,所述的期限为不超过 10 天。

3. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,所述的期限为不超过 7 天。

4. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,所述的期限为不超过 6 天。

5. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,所述的期限为不超过 5 天。

6. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,所述的期限为不超过 4 天。

7. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,所述的期限为不超过 3 天。

8. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,所述的期限为不超过 2 天。

9. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中所述的第一输入数据接口包括一个或多个选自如下的设备:手动数据输入设备,可插拔的存储界面设备;无线通讯设备;显示器和有线界面设备。

10. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中所述的第一输出数据接口包括一个或多个选自如下的设备:可插拔的存储界面设备;无线通讯设备;显示器和有线界面设备。

11. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,所述的第一输出数据接口和第一输入数据接口包括具有共同界面的一个或多个的设备,所述的这些设备选自于:手动数据输入设备,可插拔的存储界面设备;无线通讯设备;显示器和有线界面设备。

12. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,所述的第一输入数据接口直接从检测系统上接收每天的尿钠肽浓度,所述的检测系统执行 BNP, NT-proBNP, 和 proBNP 中的一个或多个测试。

13. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,所述的第一输入数据接口包括与计算机系统连为一体的用来测试 BNP, NT-proBNP, 和 proBNP 中的一个或多个标记物质的检测系统。

14. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,处理器通过第二输入接口接收多个测量

的病人的体重并存储到非易失性的存储介质上,所述的计算机系统利用输出的数据和测量的体重来进行确定心衰风险的指示。

15. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,心衰风险的指示被显示在与计算机系统为一体的显示器界面上。

16. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,心衰风险的指示被显示在远离的终端上。

17. 根据权利要求 12 或 13 之一所述的计算机系统,其中,所述的检测系统为免疫监测系统。

18. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,心衰风险的指示是个体中的代谢失常或代谢失调的风险。

19. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,心衰风险的指示是个体中住院治疗的风险的指示。

20. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,处理步骤包括对转换的系列数据进行过滤,从而减少所述的第二信号成分。

21. 根据权利要求 20 所述的计算机系统,其中,处理步骤包括使用卡尔曼 (Kalman) 过滤器对转换的系列数据进行过滤。

22. 根据权利要求 20 所述的计算机系统,其中,处理步骤包括使用箱体过滤器 (boxcar filter) 对转换的系列数据进行过滤。

23. 根据权利要求 22 所述的计算机系统,其中,箱体过滤器具有 6-7 天的箱体长度。

24. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,处理步骤还包括确定一个危险函数。

25. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,处理步骤包括确定一个积累的危险函数。

26. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,处理步骤包括对转换的系列数据执行进一步的识别。

27. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,处理步骤包括转换的系列数据的滤波处理。

28. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,处理步骤包括对转换的系列数据进行平均处理。

29. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,处理步骤包括对系列尿钠肽浓度进行傅式转换处理。

30. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,处理步骤包括对系列尿钠肽浓度进行积分转换处理。

31. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,处理步骤包括对系列尿钠肽浓度进行二分法转换处理。

32. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,处理步骤包括采用后台转换的方式,并以尿钠肽浓度为单位的方式提供输出数据。

33. 根据权利要求 1 所述的计算机系统,其中,心衰风险指示为利用输出数据与下列另外的指示来确定,所述的另外的指示选自为:病人呼吸短促的报告,病人浮肿的报告,以及一个或多个对于个体体重测量值的报告。

监测心衰的方法和试剂

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请主张美国临时申请, 申请号 :61/515, 534, 申请日 :2011 年 8 月 5 日, 的优先权, 包括所有表格、图和权利要求的该申请的全部作为本发明的参考。

技术领域

[0003] 本发明涉及监测在前诊断的个体的心衰的方法和试剂。

背景技术

[0004] 接下去讨论的本发明的背景仅仅用来帮助读者理解, 而不是本发明的描述或组成本发明的现有技术。

[0005] 充血性心力衰竭(CHF)是一种致命的疾病, 它具有 5 年死亡率, 是死亡率最高的恶性疾病。例如, 在心脏研究的危险评分中, 心力衰竭发作后的生存中值是, 男人 1.7 年, 女人 3.2 年。总的来说, 第一年和第 5 年的存活率分别是男人 57% 和 25%, 女人 64% 和 38%。此外, 40 岁或更大年纪的人在 1/5 的生命时间内有机会患上充血性心力衰竭。心力衰竭典型的发生在其他损失心脏的情况发生后。冠状动脉疾病、特别是心肌梗死是最普遍的的心脏疾病, 也最常见的引起心力衰竭的疾病。

[0006] 对患有心力衰竭病人的适当的治疗方式是多种多样的。如 :利尿剂常用来监视心力衰竭增加的流体负载特性 ;血管紧张肽转化酶(ACE) 抑制剂是一类血管扩张药用来降低血压, 促进血液流动和减少心脏工作负荷 ;血管紧张素 II 受体阻断剂(ARBs)与 ACE 抑制剂一样有很多相同的作用 ; β 阻断剂可以减少心力衰竭症状并改善心脏功能。

[0007] 近些年, 利尿钠肽测定已经戏剧性的改变了心脏疾病的诊断和管理方式, 包括心力衰竭和急性冠状动脉综合症。特别是 B 型钠尿肽(BNP, 人类前体 Swiss-Prot P16S60), 各种起源于共同前体 ProBNP (如 NT-ProBNP) 相关多肽, 和 ProBNP 本身已经被用于诊断心力衰竭, 确诊严重程度, 预测病情。另外, BNP 和它的相关多肽也被用来展示对不稳定型心绞痛、非 ST 升高的心肌梗死和 ST- 升高的心肌梗死的诊断和预测。

[0008] BNP 和它的相关多肽也被用于其他心脏状态的检测, 如纽约心脏协会。然而很多具有慢性稳定无症状心力衰竭病人的钠尿肽水平会在正常诊断范围内(如 BNP 水平少于约 100pg/mL ;NT-proBNP 水平少于约 400pg/mL)。对这些标记有一个权衡选择诊断临界水平, 因为降低临界值虽然减少了假阴性率(如, 增加敏感性和减少漏诊率)但却增加了假阳性率(如减少特异性和增加误诊率)。

[0009] 这也需要一些标记物质来对患者的心衰进行监测。

发明内容

[0010] 本发明提供对主体遭受或者正在发展为心衰的一种监测方法和试剂。在多个方面, 本发明提供评估心衰恶化的方法以及采用该方法的一些试剂盒和一些装置。

[0011] 一方面, 过滤过的时间序列的尿钠肽可以被用来评估患者在相对短的时间内(6-7

天的最佳过滤)的风险(代谢失常)。该累积的尿钠肽浓度的积分可以被用来评估长时间的累积风险(风险暴露的时间),例如 14 天或 30 天的风险。这种为了监测患者疾病状态,随时间序列的尿钠肽也可以采用其他的方法进行分析(除了过滤或积分外)。在一个给定的足够时间内进行监测,特征可以从这些时间序列中提取出,相对于参考的人员,这些特征可以被用来对患者进行分类。这些特征可以被用来指示个体是否有改善,是否比预料的具有更快速度的恶化,或者是否表现出比预料的更具有波动性或更少的波动性。这些特征可以被用来调整患者个体的风险函数,因为,相对于尿钠肽浓度的风险比率,不同的患者具有不同的转换因子。

[0012] 在第一方面,本发明提供用于被诊断为具有心力衰竭的个体提供具有心衰风险指示的方法,该方法包括:

[0013] 获得被测量的尿钠肽浓度的多个值,每一个测量通过检测从所述个体的体液样本中检测以下一个或几个标记物质而获得:BNP, NT-proBNP, 和 proBNP;所述的多个值包括在不超过 14 天的期限内,不同天内获得的至少两个测量值,优选的为不超过 7 天,从而提供系列的尿钠肽浓度值;其中,每一个测量包括涉及个体心衰风险指示的第一个信号的成分和涉及噪音的第二个信号的成分;

[0014] 把系列的尿钠肽浓度值进行转换而提供系列的被转换的数据;

[0015] 对系列的数据进行处理并产生输出的数据,输出的数据包括来自第一信号成分所贡献的部分;

[0016] 其中输出的数据减少了实质由噪音成分所贡献的部分数据部分;

[0017] 使用输出的数据来确定心衰风险的指示。

[0018] 在一些方式中,多个被测量的尿钠肽浓度值是通过指导医药专家对所针对的个体患者进行有规律的,预先设定的计划进行测试获得的。正如这里的描述,在 7 天内获得的测量与另一个在测量中本身测量产生的噪音具有很好的相关性,这种相关性随着时间的推进而衰减,直到 14 天而不具有相关性。同时,正如这里的描述,可以在预设的时间内(例如 14 天,10 天,7 天,6 天,5 天,4 天,3 天,2 天)进行至少 2 个尿钠肽浓度值的测量,优选的方式中,测量为在至少 7 天内每隔一天进行测量。进行具有规律的测量可以改善患者的遵从性,可以避免患者的尿钠肽配置的取样。

[0019] 通过本发明的示范性说明,多个相关 BNP 测量的噪音源可以通过已知的数据处理方法被消除。通常,这些方法包括数据的转换,例如通过数据的转换消除数据中哪些不希望的成分。

[0020] 术语“转换”和“变换”在这里是指对已每一个数据值使用数学函数进行变换,那也就是,每一个数据点 z_i 被转换的值 $y_i=f(z_i)$ 所代替,其中 f 为函数。转换通常被使用,这样数据就与统计数据推断出来的假设值更接近,或改善对数据的解释。通常的数据的转换包括对数转换,平方根转换,分对数转换(logit transforms),富氏变换(Fourier transforms),积分变换(integral transforms),二分法转换(dichotomizing transforms),均值转换等等。这并不意味着对转换方式的限定。以这种方式被转换的数据仍然包含于数据归属到所需信号分量的贡献,以及归因于噪声成分的贡献。

[0021] 通过数据的转换处理,被转换的数据系列可以消除存在固有数据里的所有的或部分噪音。这些所说的“减少至少对于噪音贡献的实质部分”是指消除足够的不希望

音成分,从而可以提供一个优良质量的输出数据,依靠该数据可以确定心衰的指示。

[0022] 这些处理可以包括以下一个或多个步骤:数据的过滤,数据的滤波,数据的平均等等。这些方法不受限制。术语“过滤”和“过滤器”在这里是指对输入的所有时间内的取样值,他们带有噪音(无规则变化的)或其他一些错误信息,进行数据方法处理来产生一个接近真实测量值的数值。合适的过滤方法包括卡尔曼滤波器(Kalman filters),箱体式滤波器(Boxcar filters),高通滤波器(high-pass filters),低通滤波器(low-pass filters),带通滤波器(band-pass filters)。这些方式不受限制。

[0023] 处理还可以包括从这些数据中获得风险函数,风险率,累积的风险函数,和/或测定哪些在数据中可以指示风险的特征(从基线水平的偏移的程度或数量,例如时间系列的低通量过滤)。风险率(HR)指事件的危险或风险的变数的影响。通常,HR可以作为事件发生的相对风险的估计。瞬时危险率是每单位时间的事件的数目在风险划分为时间间隔减少的数量的限制。风险分析方法为已知的方法(参见 Gray, Biometrics46:93-102, 1990; Blumentstein et al., J.Urol. 161:57-60, 1999)。这些数据也可以被用来计算让步比(odds ratio),相对风险(a relative risk),或者其他可以被测量的风险评估。

[0024] 正如上面的描述,在7天内的测量与另一个在测量中本身测量产生的噪音具有很好的相关,这种相关性随着时间的推进而减少,直到14天而不具有相关性。这样,处理包括考虑14天或更少天数的窗口期,6-7天的窗口期为最佳的选择。例如,可以使用6至7天滚动框的长度来确定过滤的数据集,也包括考虑那具有很好相关性的数据。在一些优选的方式中,选择的窗口期长度可以在该窗口期内的数据具有至少0.85的斯皮尔曼相关系数(Spearman correlation coefficient)。

[0025] 在一些方式中,心衰风险的指示是个体代谢失常(decompensation)的风险,和/或个体临近住院治疗期限的风险(例如在考虑的14天内)。术语“代谢失常”在这里是指一种现象,在这种现象中,患者可以被定义为心衰症状或信号发生改变,这样需要紧急治疗或紧急住院的现象。因为,例如健康状况、体液保持力的变化、不足或药物的干扰,慢性的稳定的心衰可能更容易引起代谢失常。在紧急的代谢失调事件中,这就需要紧急的组织灌输或重新组织灌输,和组织的氧气供给。这就需要确保足够的通风、呼吸和循环系统。紧急治疗常常与其他血管扩舒相结合,例如硝化甘油,利尿试剂,如利尿磺胺,或者可能的无压力正向通气(NIPPV)。

[0026] 在某些实施例中,一个或多个BNP, NT-proBNP, 和 proBNP 的检测可以检测BNP。108个人类BNP前体 pro-BNP (BNP₁₋₁₀₈) 氨基酸序列如下,成熟的BNP (BNP₇₇₋₁₀₈) 用下划线画出。

[0027] HPLGSPGSAS DLETSGLQEQ RNHLQGKLSL LQVEQTSLEP LQESPRPTGV50WKSREVATEG

[0028] IRGHRKVMVLY TLRAPRSPKM VQSGGCFGRK MDRISSSSGL 100

[0029] GCKVLRH 108

[0030] (SEQ ID NO:1).

[0031] BNP₁₋₁₀₈作为具有如下序列的更大前体 pre-pro-BNP 被合成(“前”序列加粗表示):

[0032] MDPQTAPSRA LLLLLFLHLA FLGGRSHPLG SPGSASDLET SGLQEQRNHL50

[0033] QGKLSLQVE QTSLEPLQES PRPTGVWKS R EVATEGIRGH RKMVLYTLRA100

[0034] PRSPKMOVQS GCFGRKMDRI SSSSGLGCKV LRRH 134

[0035] (SEQ ID NO:2).

[0036] 成熟蛋白(如 BNP) 本身可以在本发明中作为标记, 各种相关标记无论作为目的成熟蛋白替代物或自身作为标记物都可以被检测。这样, 与 BNP 相关的多肽 pro-BNP, BNP₁₋₁₀₈ 和 BNP₁₋₇₆ 可以替代 BNP 作为心力衰竭标记。

[0037] 就这一点而言, 本领域的熟练技工知道获得免疫分析信号是复合物产生的直接结果, 复合物是由一种或多种抗体和靶标生物分子(如被测物) 和包含与抗体结合的必需表位的多肽形成的。当这种分析检测全长的生物标记物时, 测试结果表示为靶标生物标记物的浓度, 分析产生的信号实际上是样品中存在的所有这种“免疫活性”多肽作用的结果。例如, 检测 BNP 的免疫检测也可以检测 pro-BNP 和它的片段。除了免疫检测, 生物标记物也可以通过分析蛋白(如点杂交, 蛋白质印迹, 层析法, 质谱分析法等) 和分析核苷酸(mRNA) 的方法来测定。这里所用的技术包括但不限于所列技术。

[0038] 最优选的分析是“被配置来检测”一个特定的标记物。“被配置来检测”一种标记物的分析意味着分析过程中能够产生一种可检测的信号, 这种信号说明目标与目标标记物的生理类似物的存在或数量。在这个分析过程中可以特别检测分析一种特殊标记物, 但并不是一定的, (如检测一种标记物, 但不是部分或所有相关标记物)。因为一个抗体表位大约在 8 个氨基酸上, 一个免疫检测可以检测其他多肽(如相关标记物), 只要其他多肽包含与检测使用抗体相结合的必要表位。其他多肽就是指分析中“免疫可检测的”, 可以包括各种亚型(如剪接变异体)。在三明治免疫分析中, 相关标记物必须含有至少 2 个能与本检测过程中使用的抗体结合的表位, 才能被检测到。最优选的免疫检测片段包含至少 8 个标记物上相临近的残基或与其亲本的相临近的残基。

[0039] 如果从主体上获得被检测的样品是在时间 t 获得的, 那“短期风险”指 t 时间后的 14 天。因此, 这个风险是指在 t 时间开始至 14 天后结束的这段时间里, 主体将要遭受的一种或多种心功能指标的恶化, 或者要求住院治疗的可能性。合适的心功能指标包括一种或几种: 呼吸困难(在休息时或劳累时)、端坐呼吸、肺水肿、SaO₂水平、头晕或晕厥、胸疼、血压、灌注、水肿、补偿状态(即, 从补偿到代谢失调, 或相反过程)、末端舒张功能、末端收缩功能、心室充盈、二尖瓣流、左心室射血分数(LVEF)、压力测试值、图形研究结果如 CT, 超声波、或 MRI、NYHA, 或美国大学心脏病心脏衰竭分类等。这些特征和评估方法在业内是公知的。见, 例《哈里森的内科学》, 第 16 版. 麦格劳希尔集团, 005, 1361-1377 (Harrison's Principles of Internal Medicine, 16th ed., McGraw-Hill, 2005, pages1361-1377), 其被完整的列入参考文献中。本条例并不限于此。

[0040] 更优选的, 这个风险是主体在 t 时间后的 7 天内的这段时间里, 一种或多种心功能指标的恶化, 或者要求住院治疗的可能性, 或者, 最优选的是主体在 t 时间后的 24-72 小时的这段时间里, 一种或多种心功能指标的恶化, 甚至死亡的可能性。这里所用的术语“恶化”指, 相对于同一主体早期做的相同参数, 在后面的时间里参数向坏的方面变化, 和, 与“改善”具有相反的意思。例如, 这里所用的术语“心功能的恶化”指在主体在以后的时间里从无症状的状态到 NYHA 心力衰竭级别 I 或更高的级别; LVEF 恶化状态等。

[0041] 这里所用的“检测样本”指从目标主体例如一个病人获得的用于诊断、预测或评价的体液样本。在实施例中, 这个样本可以为了确定持续状态的结果或这种状态的治疗效果而获得。优选的检测样本包括血液、血清、血浆、脑脊液、尿液、唾液、痰和胸腔积液。另外, 使用本领域的分馏或提纯技术可以让一些检测样本更加容易被分析, 例如把全血分成血清

和血浆。

[0042] 这里所用“多数”指至少 2。优选的多数指至少 3,更优选的至少 5,更优选的至少 7,更优秀的至少 10,在一个特定实施例中至少 14。

[0043] 这里所用的术语“主体”指一个人类或非人类有机体。当然这里所述的方法和试剂都适用于人类和兽类疾病。更优选的,主体是活体机体,本发明所述的方法和试剂也可以用于尸检。最优选的主体是“病人”,如由于某种疾病或情况需要接受医治的活的人类。这包括那些正在被研究病里学的还没有被确定疾病的人群。

[0044] 这里所用的术语“相应的”或“相关的”或“明确……的迹象”在心力衰竭情况下是指病人中标记物的存在或存在的数量与那些已知具有给定情况的某个人中的标记物的存在或存在数量进行的比较,或与具有给定状况风险人的标记物的比较,或与不具有给定状况的人的比较。如上面所述,一个病人样本中的标记物水平可以与某种特定的诊断的已知水平进行比较。样本标记物水平也可以有选择的与已知好的结果的标记物水平进行比较(例如未患病的样本,等)。在优选的实施例中,标记物的水平也与总体概率或利用 ROC 曲线产生的特定结果有关。该术语还涉及到各种“风险”值的计算,如风险比率,风险比,比值比,相对风险,或其他本领域已知的风险评估,这给卫生保健专业人士提供了个体相对结果风险的指示。

[0045] 提供心力衰竭风险迹象时,不打算单独用利尿钠肽浓度作为决定风险的唯一指标。为了知道风险,其他临床标记也会和利尿钠肽浓度一起使用。举例来说,一个非住院病人可能会被要求提供自己呼吸急促或水肿(肿胀)的实例;或其他检测,包括如每日测量体重。如下文所述,利尿钠肽浓度和体重增加的组合尤其可提供额外的风险的信息。

[0046] 另一方面,本发明提供执行本发明方法的计算机系统。一般,所述的计算机系统包括:

[0047] 处理器;

[0048] 非易失性的存储介质;

[0049] 对于计算机系统的第一数据输入接口和第一输出数据接口;

[0050] 其中,处理器通过第一输入接口接收多个被测量的尿钠肽浓度并存储到非易失性的存储介质上,所述的每一个测量通过检测个体的体液样本中以下一个或几个标记物质而获得:BNP, NT-proBNP, 和 proBNP;所述的多个浓度包括在不超过 14 天的期限内进行至少两次测量,优选的为不超过 7 天,其中,所述的至少两个测量是在不同天内获得的,从而提供系列的尿钠肽浓度值;其中,每天浓度的测量包括涉及个体心衰风险指示的第一个信号成分和涉及噪音的第二个信号成分,和

[0051] 其中,所述的计算机系统用来:

[0052] (i) 把系列的尿钠肽浓度转换成系列的数据以提供系列的转换数据;

[0053] (ii) 对系列的数据进行处理并产生输出的数据,输出的数据包括来自第一信号成分所贡献的部分;其中输出的数据至少减少了实质由噪音成分所贡献的部分数据;

[0054] (iii) 使用该输出的数据来确定心衰风险的指示;

[0055] (iv) 通过第一数据输出界面与外界的实体进行心衰风险指示的交流。

[0056] 在一些方式中,本发明的计算机系统提供的第一数据输入接口和/或第一输出数据接口包括选自如下的一个或多个设备,手动数据输入设备,可插拔的存储界面设备;无线

通讯设备；显示器和有线界面设备。手动数据输入设备的例子包括键盘，键区，触摸屏、鼠标、扫描仪、数码相机等等，通过这些设备，使用者可以手动输入数据到计算机系统里。可插拔的存储界面设备的例子包括内存卡、USB 接口来 USB “存储条”等等。使用这类可插拔的存储界面设备，数据可以在计算机和这些存储设备之间传输，然后这些存储设备可以从一台计算机上移开然后插入另一台计算机上。无线通讯设备的例子包括接合在普通无线系统上的无线收发器，例如，基于 802. 11, 802. 15. 4, 段的无线系统，南牙 (802. 15. 4)，或者相关协议。这样的无线界面可以允许在两个元器件之间进行无线传输。另外，计算机系统可以包括双向声音交流的扩音器或麦克风，或者是基于协议的声讯设备 (VOIP) 等等。有线界面设备的例子包括任何两部分之间通过有线交流的设备。这样的界面可以包括系列串联的界面，LAN 或以太网等等。在一些方式中，第一数据输入设备和第一数据输出设备可以包括一个或多个共有的设备界面。例如，触摸屏、可移除存储设备、无线交流设备和 / 或有线交流设备都可以同时用在数据输入和数据输出设备上。

[0057] 显示器可以和处理器连接来显示从处理器接收的数据，或者对数据进行处理，或者对结果进行处理，例如需要药物的报警；和 / 或可以通过无线、有线让照看个体的医药人员可以和远端进行交流的警报或数据。

[0058] 来执行检测一个或多个 BNP, NT-proBNP, 和 proBNP 的测试分析系统可以与这里描述的计算机系统分开使用。测试分析系统也可以与计算机系统直接连接 (例如，这样数据的转换就可以直接发生，而不需要手动的进行数据的输入，或者手动地从分析系统播出存储设备然后在插入到计算机系统上)。在一些实施方式中，来执行检测一个或多个 BNP, NT-proBNP, 和 proBNP 的测试分析系统可以与计算机系统构成一个整体被提供，意味着计算机系统和分析系统被设置在一个箱体内二维一个整体。

[0059] 正如所说的，用来检测尿钠肽浓度的个体的体液样本可以是血液样本、血清、血浆、尿液或唾液。在一个方式中，样本是血液样本。血液样本可以被患者提供，例如通过刺穿设备来刺破皮肤来收集小于 1 毫升到几百毫升体积的血液样本。所说的生物标记物可以使用，例如免疫检测、传感器，离子电机或者其他合适的技术来进行测试或检测。

[0060] 举例来说，可以通过一步法三明治测定流体样本中的利尿钠肽的浓度。捕捉试剂 (例如，抗标记物抗体) 用于捕获所述标记。同时，一个直接或间接标记的检测试剂用于检测所捕获的标记。在一个实施方案中，检测试剂是抗体。通常，该测定系统的操作将包括插入一个包含一种或多种试剂的可活动检测元件，这些试剂可以引导检测进入仪器，仪器可逆的接收检测元件，并在其中进行测试产生检测结果。该测定系统可以随意的允许利尿钠肽的浓度相关检测结果所需要其他参数的手动或自动输入，如标准曲线。在本发明里也可选择通过的计算机系统来执行该步骤。当该测定系统是计算机系统的一个组成部分时是这一点尤其真实。

[0061] 提供的测试盒可以作为试剂盒的一部分提供给个人在家庭中使用。该试剂盒更包括如外科用的小刀，细管，移液管等设备用于样品收集和 / 或传输。

[0062] 其他的实施例子可以在下面的具体描述中可以发现，也可以在权利要求中被发现。

附图说明

[0063] 图 1 :图 1 表示在固定的 τ ,例如在所有的时间 T 和所有的患者,进行的所有的成对的测试。采用如下的公式绘制出的图表 :Let $X(t)=\text{Log}[\text{BNP}(t)]$ 和 $Y(t, \tau)=X(t+\tau) - X(t)$ 。图 1 的 y 轴为所有成对 BNP 的测量的比率的函数。例如它等于 $Y(t, \tau)$ 。图 1 的 X 轴为成对 BNP 测量值的均值的几何学对数函数。例如,它等于 $X(t)$ 和 $X(t+\tau)$ 。分散系数被定义为 $D(\tau)$,通过公式 $D=[\exp(\sigma^2)-1]^{1/2}$ 计算出来的,其中,对所有的患者和所有的时间 T 内, σ 是对 $Y(t, \tau)$ 的分布估算出来的 Y 轴(在固定的 τ)的平均绝对离差,其中,估算是通过公式 $\sigma =1.483x$ 计算获得的。BNP 对数函数的转换被要求来稳定 σ ,例如 Y 轴的分布状态接近稳定。该图表示了 $Y \pm 2\sigma$ (实线、虚线)的中间值(M),和 $\exp(M)$ 等同于成对 BNP 测量的中值的比率。对于图 1 来讲,离散系数 $D=53.80\%$ 和中值比率就是 $\exp(M)$ 为 0.9776 ($\exp(M)=0.9776$)。

[0064] 图 2 :图 1 中的结构在所有 τ 内从 1-40 天内被重复(受到本研究中观察时间的长度的限制),作为 τ 的函数,离散系数 $D(\tau)$ 被计算出来(蓝色的点值)。正常的最小平方衰退线显示为红色,衰减的系数(斜率,截距, R-平方和 P 值)显示在图 2 的题目中。

[0065] 图 3 :图 7 中的结构在所有 τ 内从 1-40 天内被重复(收到本研究中观察时间的长度的限制),作为 τ 的函数,斯皮尔曼相关系数(Spearman correlation coefficient)被计算出来(蓝色的点值)。正常的最小平方衰退线显示为红色,衰减的系数(斜率,截距, R-平方和 P 值)显示在图 3 的题目中。

[0066] 图 4 :随机模型($\beta =0.313$ 和 $\alpha =0.0825$, 每天的取样)被用来生成对于隐藏的状态变异 $X(t)$ 的时间序列,也是观察到的时间序列 $Z(t)$, $X(t)$ 和 $Z(t)$ 代表 BNP 的对数函数($\log \text{BNP}$)。对于 $Z(t)$ 的箱体过滤计算获得过滤的时间序列($X_f(t)$),重建误差通过 $X_f(t)$ 和 $X(t)$ 之间在大数量的时间步进(大于 1000 步进的数据中模拟出一个平滑的曲线)中的每一次时间步进之间不同分布的标准偏差来估算出来。标准偏差在 Y 轴上作为 X 轴上的箱体长度(以天为单位)的函数显示出来。最佳的箱体长度为 6-7 天之间。

[0067] 图 5 :作为 BNP 浓度函数的危险比率图。Y 轴为 X60 天的危险比率。X 轴为 BNP 浓度值(pg/ml)。危险比率与 BNP 浓度的函数关系为 : $\lambda =\exp(b_0+b_1*X)$,其中, $X=\text{Log}(\text{BNP})$ 。基于研究的 71 个患者(在观察的 14 天内,哪些没有执行至少 8 个 BNP 测试的患者被排除)的子集,系数通过泊松回归(Poisson Regression)模型来进行估计获得 $b_0=-7.38$ 和 $b_1=0.954$ 。在 60 天的观察时间内,具有 22 个代谢失常的事件出现。

[0068]

泊松回归	BETA	SE	p-值
截距 (Intercept)	-7.38	1.657	8.54E-06
BNP 的对数 (1 天) ($\text{LogBNP}(\text{day } 1)$)	0.954	0.235	4.91E-05

[0069] 图 6 :对于单个心力衰竭的患者每天进行 BNP 浓度测试的系列值。这些患者在住院后被登记,他们具有 ADHF(按照住院先后进行索引,在 0 天前)。这些患者的实验室 BNP

在住院索引的下的浓度位 931pg/ml.。在 45 天具有 ADHF 的这些患者被重新接纳进行住院(在住院期间没有心裂(Heart Check)被测试过)。

[0070] 图 7 :成对的 BNP 值的图。对于患者 j 在时间 t 的 NBP 的值与患者 j 在时间 $t + \tau$ 的 BNP 的值的配对。对于固定的不同时间 τ ，对于所有患者 j 在所有时间 t 进行配对。这样配对的值在图 7 中显示出来,其中, x 轴为在时间 t 的 BNP 值,和 y 轴为在时间 $t + \tau$ 的 BNP 值。对于例如在 $\tau = 7$ 天,将近有 2193 个患者的数据被收集分析,泊松相关系数(Pearson correlation coefficient)和斯皮尔曼相关系数(Spearman correlation coefficient)为 0.785 和 0.873。特征线显示为黑色。

[0071] 图 8-15 :作为被选择 8 个研究的对象的个体病人的监测。对于标示 (a) 表示 :BNP 的测试和过滤的 BNP 值,使用 7 天盒体的均值和对数函数转换,例如 7 天窗口作为几何平均数。对于标示 (b) 表示 :来自于时间累积的 BNP 的危险比率而计算出来的累积概率。图标的题目包括患者的 ID 号码,年龄,性别,在事件索引时的 NYHA,在事件索引时的 LVEF 和在事件索引时的 BNP 值。

[0072] 图 16 :具有阈值的 ROC 曲线图,该图是基于 $N=71$ 个患者在 14 天的观察期内至少测试了 8 次或更多次的数据绘制的。从开始到观察结束(60 天)或者至第一个代谢失常事件发生(在观察期间有 13 个事件发生),71 个患者的所有的 7 天的箱体过滤(boxcar filter)(7 天的几何平均)和累积的危险都被计算出来。图 16 (a)为箱体过滤(boxcar)过滤器(顶点平滑 BNP) (PeakSmoothBNP)的顶点 ROC 图 ;图 16 (b)为通过暴露(BNP 的均值) (MeanBNP)的累积风险通过单位为 pg/ml 的阈值来表现。

[0073] 图 17 :针对时间的 BNP 的对数指数(\log BNP)的回归方程被获得,通过二维空间点图实现所有时间下的群。 X 轴为残差的标准偏差, Y 轴是回归曲线的斜率。该图是针对 60 天观察窗口期的 52 个患者计算出来的。选择 52 个患者是因为他们在观察窗口期内至少有 50% 被测试,和在观察窗口期间有至少 90% 被覆盖。单个点(黑色的)表示 52 个患者的特征,这些特征是相对于背景特征(灰色的点),这些背景特征表示随机模型研究的群体也同时随着时间的测试。随机模型是建立在 60 天时间内每天的 1000 个同时测量的系列值的基础上的,其中 75% 的具有参数的患者受损的射血分数($LVEF < 40$, $\beta = 0.302$, $\alpha = 0.0782$),并且其中 25% 的参数病人与保藏射血分数($LVEF \geq 40$, $\beta = 0.373$, $\alpha = 0.0989$ 的特征特性)。

[0074] 图 18 :对于个体时间序列的随机模型的参数的识别(α , β , μ),该方法是基于 1000 个模拟的时间序列(每个为 60 天),该时间序列是通过规定模型参数($\alpha = 0.0825$, $\beta = 0.313$, $\mu = 0$)从研究中观察到的总人口估计出来的。图(a)显示为与 K (通过合适的滤波估算出卡尔曼增益(Kalman Gain))的被估算的线性漂移 $B = -(\mu + \alpha^2/2)$ 。图(b)显示,相对于估算的测量的 $CV = \beta$ (它包括每天的生物学的波动和分析的 CV),被估算的处理 $CV = \alpha$ (Process $CV = \alpha$)。

[0075] 图 19 :基于研究的数据,在具有 (a) $LVEF \leq 40$ 和 (b) $LVEF > 40$ 的患者中,针对时间的不同 (τ) 的 BNP 均值的比较图。

[0076] 图 20 :通过初始 BNP 值(横坐标)和时间均值风险率(纵坐标)表现的代谢失常的间隔(循环)图。

[0077] 图 21 :一分类每天病人的 ROC 曲线图。敏感性基于天数的 ADHF ($N=56$) 而被计算,特异性通过天数不具有 ADHF ($N=9979$) 而被计算。

[0078] 图 22 :在阳性 BNP 斜率 (N=39) 和阴性 BNP 斜率 (N=64) 或体重增加 (N=94) 间隔期间的风险变化。

[0079] 详细说明

[0080] 本发明涉及用于充血性心脏衰竭患者的监测方法和试剂。如本文所述,本发明,至少部分,基于对从主体获得的体液样品进行的一系列利尿钠肽测定获得的结果,部分涉及代谢失常风险和 / 或基于心力衰竭病人的短期住院治疗风险的识别。

[0081] 本发明演示了在典型心衰病人中 B 型利尿钠肽浓度的“轨迹”是随机的,遵照几何布朗运动(或几何随机活动)。这个过程固有的是不稳定的,有呼吸困难风险的个体不能通过与个体每天的利尿钠肽浓度与基线(或基线的偏离)的比较来简单描述。因此,本发明提供心衰的新的监测方法。

[0082] 利尿钠肽检测的斯皮尔曼相关分析(Spearman correlation analysis)说明单个个体的时间分布检测中最初是具有非常好的相关性的。例如,在 $\tau=2$ 天的不同时间的斯皮尔曼相关系数是 0.89。当不同时间小于 2 天时,在 $\tau=1$ 天时相关系数猛增到 0.92, $\tau=0$ 时甚至更猛烈的增加接近理论极限值 0.98 (这是用具有 15% 的变异系数(CV)的利尿钠肽的分析系统对连续瞬间检测 BNP 的斯皮尔曼相关系数)。

[0083] 对于 τ 在 2 天至 40 天的范围内,随着 τ 的增加,相关系数近似于线性进行衰减,任何两个隔开 14 天(或以上)的测量值的相关系数低于 0.85。这个相关系数的衰减意味着 BNP 轨迹是“混合”的,或表示患者人群中变化的状态。如果相关系数衰减到零,那么轨迹是与人群完全混合。因此,用 BNP 来区分,或在心衰人群中对不同的病人进行分类,斯皮尔曼相关系数低于 0.85 表示类别(诊断测试方法的比较通常需要相关系数大于 0.85 才有临床相关性)之间的显著混合。这意味着,需要至少每 14 天更新 BNP 来准确监测疾病状态。

[0084] 动力学特征 / 随机性模型

[0085] 为了量化混合的几率,两个 BNP 测量之间的基于 τ 时间的不同的离散系数(dispersion coefficient)可以被测定出来。离散系数 D 的结构通过图 1 和图 2 表示出来,其中图 1 表示在 τ 为 7 天的离散系数,图 2 表示所有 τ 时间的离散系数。离散系数以百分比(相对于第一次测量的第二次测量)的形式被测量和校准。这样,在直接连续的测试($\tau=0$)之间的离散等同于分析测试 15% 次数的 $CV \sqrt{2}$ (因为离散系数是通过两次测量之间计算出来的)。图 2 显示出处在范围为 2-40 天的时间内(受到研究时间的限制),离散系数(百分单位)随着时间的变化呈线性化提高,在目前的单位下,线性回归方程为: $D(\tau) = (46.5 + 0.89\tau)$ 。在不同的 $\tau=2$ 天的时间上, $D=48.3\%$ 。在少于两天的不同时间内,对于 $\tau=1$ 的情况下, D 急剧下降到 39.5%, 当 $\tau=0$ 的时候, D 急剧下降并接近理论值的 21.2%。

[0086] 对于固定的时间差(τ),离散系数 $D(\tau)$ 可能与个体内系数的变异相关。然后,个体内的变异系数用来描述患者是稳定的, $D(\tau)$ 用来评估哪些不稳定的患者和随着时间处于发展(状态变化的)患者。

[0087] 随着时间的不同,离散系数的增加也可以通过下列的随机模型来描述:基于时间的不同的自由波动遵循几何布朗运动(Geometric Brownian motion)(或者几何随机运动)。正如图 1 所示,通过 $Y(t, \tau) = \log[\text{BNP}(t + \tau)] - \log[\text{BNP}(t)]$,随着时间的变化, BNP 的波动

被规律化。通过随机模型,预测的 Y 的变化的方程为: $\sigma^2 = 2\beta^2 + \alpha^2 \tau$, 其中, β 为自由随机变化的标准偏差, α 是对于时间间隔 1 天的自由随机波动的标准偏差。 Σ 值与离散系数相关, 可以通过图 1 的数据得以估算。从图 2 中的 $D(\tau)$ 的线性回归系数, 随机模型的参数为: $\beta = 0.313$ 和 $\alpha = 0.0825$ 。

[0088] 在 1-2 天的时间范围内 (elax on a time-scale of about 1-2 days), BNP 的随机波动被建立起来。“每天”的波动 (与相对小的测量误差) 可以通过系数 β 得以描述。对于小的 τ , 正如离散系数的急剧下降可以说明, 对于少于两天的每天波动具有确定的结构。然而, 对于少于 1 天的时间, 波动的平率和振幅在本发明中没有被解决, 在这里, BNP 是每天的样本。对于时间大于 2 天, BNP 的轨道 (trajectories) 表现出几何的随机运动。尽管, 相对于每天的波动来讲, 随机运动的步长 (每天) 可能很小 (例如, 相对于 β 来讲, α 是小的)。变异随着时间呈直线形式变化: $\sigma^2 = 2\beta^2 + \alpha^2 \tau$ 。基于实施例子中使用的数据 ($\beta = 0.313$ 和 $\alpha = 0.0825$) 的估算而获得的系数, 随着时间为 $\tau = 14$ 天的时差, $\alpha^2 \tau$ 大约接近 β 值。

[0089] 在图 3 中, 相关系数测量了这样的离散对于整个人群的 BNP 的轨道的影响。至于 $\tau > 1$ 的时候, 随机运动是构成相关性的直线衰减的主要原因, 然后, 由于每天的波动, 相关系数在大约 0.90 的值上保持恒定 (图 3 中的回归线的截距)。下降到 0.85 以下的相关系数表示在患者人群中有巨大的 BNP 轨道的混合存在。这也暗示着对于取样来监测疾病状态, 14 天是最小的频率。

[0090] 最佳的连续取样 (过滤或滤波)

[0091] 多个 BNP 的测试可以被结合、过滤、平均或滤波来监测患者的疾病状态。本目的就是形成局部 (及时) 评估, 该评估对于单个 BNP 的值来讲具有更少的噪音, 但是具有足够的动态去捕获临床上与患者疾病状态相关的变化。

[0092] 在使用随机模型来量化尿钠肽测量的时候, 一个优选的处理方式为卡尔曼滤波。卡尔曼滤波可以这样被描述, 随着随机运动而隐藏的变态系数 (hidden state variable) $X(t)$, 它被观察的值 $Z(t)$ 包括一个随机的“量化的”的误差。这里, $X(t)$ 和 $Z(t)$ 涉及到在 t 时间的 BNP 的对数函数和“量化的”的错误包括日常波动。 $X(t)$ 和 $Z(t)$ 之间的差异通常分布在中间值 0 和标准偏差 β 之间。 $X(t)$ 和 $Z(t)$ 之间的差异常在分布在中间值 0 和标准偏差 $\alpha \tau^{1/2}$ 之间。以及系数 α 和 β , 卡尔曼滤波提供一个估计的 $X(t)$ 值, 该值可以最小化错误的出现, 例如在被过滤的时间序列 $X_f(t)$ 和真实 (隐藏的) 时间序列 $X(t)$ 之间的误差。表 1 计算出了在时间 $\tau = 1, 2, 3, 4, 7, 14,$ 和 28 天的再生误差:

[0093]

tau	B (Beta)	alpha*sqrt(tau)	K	误差 SD
28	0.313	0.4365	0.728	0.267
14	0.313	0.3087	0.613	0.245
7	0.313	0.2183	0.495	0.220
4	0.313	0.1650	0.406	0.199

3	0.313	0.1429	0.364	0.189
2	0.313	0.1167	0.310	0.174
1	0.313	0.0825	0.231	0.150

[0094] 上表显示出随着取样次数的增加,再生误差也随着增加。当取样时间达到足够大的时候 ($\alpha \tau 1/2 \gg \beta$),再生的误差(SD)接近 β 。在少量的取样时间 ($\alpha \tau 1/2 \ll \beta$)下,再生的误差接近最佳值 $\beta \alpha \tau 1/2$ 。表1没有考虑到取样时间小于1 ($\tau=1$)的情况,是因为在这样的时间段下,每天的波动具有确定的结构和随机模型也不再准确。

[0095] 同样的逻辑被运用到其他类型的滤波或过滤方式中。在这些情况下,再生误差可以通过蒙特卡罗模拟法(Monte Carlo simulation)进行估算。随机模型被用来产生对于时间序列的隐藏的变系数 $X(t)$,如同时间序列 $Z(t)$ 。过滤函数被运用 $Z(t)$ 来计算过滤过后的时间序列 $X_f(t)$ 和再生误差通过每一次时间步进的 $X_f(t)$ 和 $X(t)$ 之间的不同分部的标准误差被估算出来。图4显示了箱体过滤(或移动平均)进行过滤的结果图。对于随机模型中, $\beta=0.313$ 和 $\alpha=0.0825$ 以及每天取样 ($\tau=1$),最佳的箱体过滤的长度为6-7天。

[0096] 对于在单个一天的多次取样,日常的波动(在该模型中被处理为噪音)不再是随机的,也不能临近的值来进行有效的平均。在一天中的多次取样可以被用来确定波动的结构、频率,振幅(峰值到谷值),特征升高时间和特征降低时间。这些在一天内的一些特征可以帮助理解这样的动力学(例如,是什么引起这些每天的波动和随机运动),然而,因为动力学,在大约14天更长的时间,患者的疾病状态的发展在大约14天更长的时间才表现出来。

[0097] 基于系列尿钠肽测量来监测患者心衰风险

[0098] 按照事件顺序,在第一个60天内,具有心衰风险的患者具更大的机会成为代谢失常的。对于这样的人群,30%(超过60天)的风险为特有的。在一些文献中已经证实,随着事件的顺序,具有高水平的BNP的患者具有更显著高的事件发生的风险。尽管具有心衰风险的患者在任何给定的天内发生事件属于少数,但是对于长时间的期限内,这些患者却具有这样的风险。这中方法在统计学上可以用冒险函数(Hazard Function)得以说明。

[0099] 一个典型的模式将处理尿钠肽依赖的风险成正比,也就是说,BNP是一个常数。然而,提出的模型在此认为,风险函数的时间演化根据尿钠肽测定的时间变化而变化。在这种方式中,时间积分的风险函数(也称为累积风险函数)是基于连续地测定尿钠肽的值来监测患者的风险的一种改进的方法。尿钠肽浓度的移动平均数(或者其他的滤波方式)与固定的时间窗口内的累积风险相关,同时也是一种根据尿钠肽测量的一种监测患者风险的方法。

[0100] 测量风险函数

[0101] 风险函数是从心脏衰竭患者的人口随着时间的推移以下代谢失常决定的。最简单的风险函数是一个常数,与时间无关,因此,患者总是暴露于相同的风险下。例如,如本文所述,以下的71例患者中的HABIT(HABIT)研究(不包括这些病人,他们在观察的第一个个14天内没有进行至少8次的BNP测试)的一个子集,在观察的60天内的总共有22代谢失常事件(13个患者具有一个或多个事件)。这个人口的平均风险率通过总的事件(22)除以总的暴露(71患者 \times 60天)量进行估算,这样,估算的平均风险率为0.31/60天。

[0102] 由于风险率取决于利钠肽浓度,危险率是针对该利钠肽浓度,或利钠肽浓度的某

些函数(例如,对数函数的转换)通过广义线性模型(泊松回归)被复原了。在模型中的第一次迭代中,风险率被假定为常数,利钠肽浓度近似(非常粗略地)为患者的初始钠尿肽值。风险率的结果函数的形式就是: $\lambda = \exp(b_0 + b_1 * X)$, 其中 $X = \text{Log}(\text{BNP})$ 。从习惯数据(通过泊松回归)的结果确定系数 b_0 和 b_1 从而获得危险率,如在图 5 中所表示,其中 b_0 为 -7.38 和 $b_1 = 0.954$ 。

[0103] 风险函数的及时更新

[0104] 由于采样的间隔,危险值不能再被视为常数,和 λ (λ)通过及时尿钠肽值的更新而更新,例如 $\lambda(t) = \exp[b_0 + b_1 * X(t)]$, 其中 $X(t) = \text{Log}[\text{BNP}(t)]$ 。通过初始迭代模型,系数 b_0 和 b_1 保持固定。

[0105] 累积风险函数(尿钠肽的积分)

[0106] 累积风险 $\Lambda(t)$ 是 λ 相对于时间的观察期开始到当前时间的积分:

$$[0107] \quad \Lambda(t) = \int_0^t \lambda(s) ds$$

[0108] 基于等式 $\lambda(t) = \exp[b_0 + b_1 * X(t)]$, 其中 $X(t) = \text{Log}[\text{BNP}(t)]$, 累积危险 $\Lambda(t)$ 的可以被看作是关于 BNP 浓度值使用特定的权重函数(BNP 对于系数 b_1 的幂)。

[0109] 累积风险函数与事件发生的可能性直接相关。基于泊松回归,在间隔时间 0 到 t , 至少一个事件的累积概率等于 $1 - \exp[-\Lambda(t)]$ 。当 $\Lambda(t) \ll 1$, 概率性接近 $\Lambda(t)$ 。

[0110] 风险函数的调整

[0111] 模型系数 b_0 和 b_1 初步通过单个(最初的)的尿钠肽值确定。然而,有关建议的时间依赖性的危险函数与依赖于时间的响应函数可以进行自相一致的分析。在这种分析中, $\lambda(t) = \exp[b_0 + b_1 * X(t)]$, 其中 $X(t) = \text{Log}[\text{BNP}(t)]$ 。模型系数 b_0 和 b_1 从单个的泊松回归中获得,表现为与所有数据 $X(t)$ 在整个曝光测定(所有患者 X 的所有时间点)的所有事件(每个时间点,每个患者)有关系。

[0112] 例如,这种分析表现在如下描述的 HABIT 数据。基于这些数据的泊松回归(事件 = 20, 暴露 = 3887 患者 x 天数),回归系数被确定为 $b_0 = -6.77$ 和 $b_1 = 0.893$, 这样,风险函数的图形与图 5 的图像相似。

[0113] 一个参数可以用来调整风险函数,以避免对同一患者进行过度加权多个事件。这种逻辑是很容易纳入泊松回归。如果患者没有事件发生,定义为 t_1 为任意一个观察结束的时间,或者,如果患者有至少一个事件发生,定义 t_1 为第一事件的时间。那么,对于每一个患者的暴露和相应的每天的尿钠肽值通过 t_1 来限定。基于这些数据的泊松回归(事件 = 13, 暴露 = 3500 患者 x 天数),回归系数被确定为 $b_0 = 6.52$ 和 $b_1 = 0.821$ 。

[0114] 除了尿钠肽的对数($\log(\text{Natriuretic peptide})$)(尽管考虑到长时间的随机模型和几何学布朗运动,尿钠肽的对数是符合逻辑的),泊松回归分析可以运用到尿钠肽浓度的不同的函数转换上,同时,迭代分析可以被用来优化函数转换的选择。

[0115] 尿钠肽值的过滤

[0116] $\Lambda(t) - \Lambda(t - \tau)$ 的差异是通过时间间隔 τ 的累积风险。对于 BNP 的累积风险的描述,这可以涉及到 BNP 转换函数的时间积分相关联(BNP 对于系数 b_1 的幂)。因此,BNP 浓度的合适的箱体过滤与临床相关,这是因为它在一个时间间隔等于所述箱体长度的累积危险相关。对于 BNP 的随机性模型,最佳的箱体过滤为 6 和 7 天之间。

[0117] 图 5 中的风险函数, 过滤的 BNP 的值如下计算: 提高 BNP 到幂 b_1 , 计算移动平均值, 然后提高移动平均值到幂 b_1 , 这样, 过滤的 BNP 的单位为 pg/ml 。

[0118] 这样的关系可以对于其他的转换方式(对数转换)和其他的过滤函数(例如卡尔曼)而无显著特征。一般, 过滤的 BNP 的值按照如下方式计算: 获得 BNP 的转换, 计算滤波的时间序列, 然后获得时间滤波的反转换值, 这样滤波的 BNP 的结果值的单位为 pg/ml 。

[0119] 一个感兴趣的例子就是用箱体过滤来实现对数转换(基于随机模型), 这样, 滤波的 BNP 值与箱体的移动的几何平均值相等。

[0120] 从 BNP 的时间序列提取特征

[0121] 一个从 BNP 时间序列获取特征的例子就是基于针对时间的 BNP 值的对数的线性回归曲线。假设观察的窗口(显著大于最佳的箱体移动过滤的长度), 线性回归曲线至少 3 个特征: 截距, 斜率和残差的标准偏差。截距带有患者的 BNP 的整体幅度信息, 并如下讨论的患者的风险相关。一个优选的方法去监测患者的风险就是使用 BNP 的滤波和积分。回归分析的截距也是一种替代的特征(相对优选的)。

[0122] 具有非正常特征的患者可以基于图 7 被鉴别出来。例如, 具有斜率(斜率 < -0.05)的最极端负值的患者可以容易地从人群中被识别或鉴别出来(来自图 17)。这些患者具有显著的下降趋势(与所有人群和统计模型的人群的比较)。这些患者具有高的 BNP 初始值, 因此也具有高的初始风险。但是, 风险函数却很快的下降, 增长的累积风险的减少, 在观察的期间, 这样的患者不具有事件的风险。以便更好地理解模式, 这可能是在医务人员讨论症状和用药剂量 / 合规性是时候特别被关注的病人或患者。这种患者也可以被撤掉利尿剂(在大约 40 或 50 天后)的使用, 以便减轻肾脏的风险。

[0123] 作为第二个例子, 具有高标准偏差($\text{std} > 1.0$)的患者可以容易地从人群中被识别或鉴别出来(来自图 17)。这些患者具有高度远离高峰值的反复的样式。这些病人具有非常低的初始 BNP 值, 而且 BNP 的值一直都很低, 但是, 在这些巨大的漂移中, 他们经历了巨大的风险。这被具有阶梯的风险所显示。尽管这些病人在观察期间也没有事件的发生, 但是他们的累积风险, 比通过日常以 BNP 值的 75-80% 所预测的风险要高得多。以便更好地理解模式, 这可能是在医务人员讨论症状和用药剂量 / 合规性的时候特别被关注的病人或患者。可能有非健康行为的特定周期, 或不遵守药物, 它驱动了这个模型。

[0124] 基于随机模型提取的特征

[0125] 随机模型描述了 $Y(t, \tau) = \log[\text{BNP}(t + \tau)] - \log[\text{BNP}(t)]$ 的时间进展。如上面图 1 所揭示的, 预期的 Y 值的变量值(在固定 τ 下的所有时间)为 $\sigma^2 = 2\beta^2 + \alpha^2 \tau$, 其中 β 为每日随机波动的标准偏差, α 为间隔 1 天时间的随机移动的标准偏差。

[0126] 更通俗的讲, 随机模型包括一个偏移项来描述 Y 的均值作为 $\text{Mean}(Y) = -(\mu + \alpha^2/2) \tau$, 其中 μ 可以为正或负的恒定值。正的 μ 值与患者 BNP 的均值系统性(指数)减少相一致, 相反, 负的 μ 值系统性的增加相关。注意, μ (一个确定性的影响)被加入到 $\alpha^2/2$ (随机性影响)来确定整体的漂移。随着变异的增加, 负的 $\alpha^2/2$ 的漂移可以被要求来保持 BNP 的对数正态分布, 这样, 尽管变异在增长, 当 $\mu = 0$, $\log(\text{BNP})$ 的均值以正确的速度向下漂移来保持 BNP 均值的恒定。 μ 该参数 μ 可以被解释为 BNP 产生的应力信号的耗散率。

[0127] 在信号处理和控制理论领域中, 下面这种类型的随机模型中, 观察的时间序列的

各参数的估计(α , β , μ)是一个众所周知的问题(关键词:系统辨识,状态估计;噪声方差估计;自适应滤波)。

[0128] 随着时间的过去来检测特征

[0129] 假设具有监测的足够时间,特征可以在分析范围内的滚动窗口中被提取。作为合适的箱体过滤器,滚动窗口的宽度可以不为 5 到 7 天,但是也可以基于需要提取的特征,滚动窗口的宽度可以更长些。例如,基于线性回归,想获得有意义的特征(在病人件找出不同处,或者单个病人疾病状态的变化),分析的窗口需要至少 30 天,然而,为了适应滤波分析,分析的窗口期至少需要 60 天。

[0130] 基于特征对患者的状态进行分级

[0131] 具有参数(α , β , μ)的广义模型适合 HABIT 患者的两类人群,他们打破了由左室射血分数 LVEF 为 ≤ 40 (71 例,2508BNP 值)和左室射血分数 LVEF >40 (24 例,830BNP 值)。LVEF ≤ 40 和 LVEF >40 的每一个群体的分散参数(α , β)分别为 (0.0782, 0.302) 和 (0.0989, 0.373)。LVEF ≤ 40 的人群,30 天时间差异的离散系数为 69.3%, LVEF >40 的人群的 30 天时间差异的离散系数为 90.9%。这表示,哪些 LVEF >40 的人群更具有不稳定性,他们具有更高的 α 和 β 值。

[0132] 感兴趣地,在两个群体之间存在 BNP 的数量级的显著差异,例如对于 LVEF ≤ 40 的人群,BNP 的平均值为 636pg/ml (所有的患者和所有的时间点内),而 LVEF >40 的人群的 BNP 的平均值为 409pg/ml (威尔克可斯 P 值小于 0.0001) (Wilcoxon p-value <0.0001),尽管巨大的离散差异具有如此的不同,但是,她,他们确不能对个体之间进行区分。

[0133] 对于一个群体,漂流参数 μ 值接近零,但是与估计值不同。图 19(a)-(b) 显示了在不同时间 T 的两个群体的 BNP 的均值比率之间的不同。对于两种情况,估计的斜率非常相似,而且为轻微负数(对于 LVEF ≤ 40 的人群稍微多些负值),这就表明负的漂移(正漂移)。在图 19 中不同的比较为截取值的比较,对于 LVEF ≤ 40 的人群的差异值为 1.18 (预期的值为 1.09),对于 LVEF >40 人群的差异值为 1.57(预期的值为 1.18),同时,对于对数正态分布的预期值为 $1+\beta^2$ 。这就表明对于 LVEF >40 的日常波动具有被夸大的尾部(并不是对数正态分布)。

[0134] 回到图 14,显然,患者的 BNP 的轨线是具有保留射血分数(LVEF >40),特别是整体震荡走高;较低的平均,和夸张的波动的心衰患者的一个极端的特征。

[0135] 检测测量

[0136] 本发明涉及对具有心衰风险患者的监测。这些患者的病情在程序监测期间可能有发展,同时对于监测的结果做出及时的反馈。

[0137] 基于这些例子的数据,特别是哪些用来监测的例子的数据,尤其是哪些 7 天时间滚动的均值和累积风险数据是最容易理解。在观察期间,基于 N=71 个患者的观察并且在第一个 14 天内测试至少 8 次或更多的分析上,图 16(a)-(b) 给出了两个例子(具有阈值的 ROC 曲线)。在这些患者结束观察期的时(60 天)或者第一个代谢失常事件发生(在观察期内具有 13 个事件的发生),7 天的箱式滤波处理下,所有 71 个患者的积累风险被计算出。

[0138] 通过(BNP 的均值)(MeanBNP)暴露,箱式平滑滤波的峰值和累积风险并带有阈值为 pg/ml 的单位的 ROC 曲线被显示出来(参见下面的单位)。哪些 BNP 的平滑峰值(PeakSmoothBNP)的浓度小于 500pg/ml 的患者没有事件发生。患者的 BNP 的均值小于

400pg/ml, 只有一个事件发生。ROC 曲线具有好的 AUC, 这表示规律与结果存在很好的关联性。在该程序中, 第一个 60 天内被登记入册的病人可以提供对已监测患者的一个开始的目标。

[0139] 因为患者的病情正在发展, 他们的 BNP 的动力学也在发生变化, 哪些使用静态阈值监测的规则对于正在发展的患者可能并不理想。例如, 初始风险很高的患者被纳入监测程序, 并且经过 60 天时间的管理。这个起始 60 天的目的可以是让累积风险处于 0.10 之下 (通过让 BNP 的均值保持小于 400pg/ml 以下, 和让平滑峰值 BNP 的浓度小于 500pg/ml 以下。)。由于患者改善, 该程序可以在接下来的 60 天时间寻找更合适的目标。目标可以是让增加的风险在 60-120 天内保持在 0.05 以下。患者的初始状态 (包括初始的 BNP 值) 和第二次观察期 (60-120 天) 也不同, 因此, 要求去管理这些患者的阈值 (决定的逻辑) 也不同的, 例如, BNP 的均值 <300pg/ml, 平滑峰值 BNP 小于 400pg/ml, 可能是对于第二阶段的观察时期是合适的。

[0140] 对于累积风险的合适的以 pg/ml 为单位的阈值可以按照如下的描述来进行设置。患者的间隔期间的平均风险率可以被设置为 $\Lambda(t_1)/t_1$, 例如, 通过暴露来划分累积风险, 其中, t_1 可以是观察结束的时期 (如果患者没有一个事件), 或者 t_1 可以是第一事件的时间 (如果患者具有一个或多个事件)。在计算均值风险后, 曲线 (图 5) 可以用来让均值风险 (在 Y 轴上) 和一个 BNP 值进行相关联 (在 X 轴上)。BNP 的值是与均值风险相关联的有效 BNP 加权均值。同样, 对于 7 天的平滑过滤的平滑 BNP 的值可以与 7 天间隔的患者的均值风险相互关联。

[0141] 诊断和或预后测试的灵明度和特异性并不是仅仅由所采用测试的“质量”所决定的, 他们也由什么是非正常结果的制定规则所决定的。在实践中, ROC 曲线通常是通过绘制一个变量与针对于该变量的在“正常”和“疾病”种群的相对频率的值而计算出来的。对于很多特异的生物标记物质, 对于主体具有或不具有疾病的标记物质的水平的贡献可能会重复或重叠。在这种情况下, 测试不能具有 100% 的准确性来完全区分疾病和正常, 在重叠区域上表示测试不能对正常和疾病进行区分。这个时候, 极端值被选择出来, 在阈值之上 (阈值之下, 这基于标记物如何与疾病之间的变化), 测试被认为是非正常的, 在阈值之下, 则认为测试是正常的。ROC 曲线下方的区域是可能性的测量, 这样认识到的测量可以允许对区分情况的校正。ROC 曲线甚至在测试不必要给出准确数量值的情况下被使用。只要具有一个划分等级的结果, 也可以获得 ROC 曲线。例如, 对于具有“疾病”样品的测试值可以根据程度被划分为等级 (例如, 1= 低, 2= 正常, 3= 高)。划分等级可以被“正常”的人群的结果来校正以及生成 ROC 曲线。这样的方法是现有技术已知的, 例如参见 Hanley et al., Radiology143:29-36 (1982)。

[0142] 对已给定的一个标记物质或多个标记物质的有效性的测试, 衡量测试的准确性也可以在文献中获得, 例如 Fischer et al., Intensive Care Med. 29:1043-51, 2003。这些测试包括特异性和灵敏度, 预测值, 比率的可能性, 诊断的让步比, 和 ROC 曲线区域。如上面所讨论的, 优选的测试盒分析表现出一个或多个如下的结果。

[0143] 更优选的, 基线水平被选择并表现出至少大约 70% 的敏感性, 更优选的, 至少大约 80% 的敏感性, 更优选的, 至少大约 85% 的敏感性, 更优选的, 至少大约 90% 的敏感性, 最优选的为至少大约 95% 的, 同时, 具有至少大约 70% 的特异性, 更优选的, 具有至少大约 80% 的特

异性,更优选的,具有至少大约 85% 的特异性,更优选的,具有至少大约 90% 的特异性,更优选的,具有至少大约 95% 的特异性。在一个优选的方式中,敏感性和特异至少都为大约 75%,更优选的,具有至少大约 80%,更优选的,具有至少大约 85%,更优选的,具有至少大约 95%。术语“大约”在上下文应该理解为 $\pm 5\%$ 。

[0144] 在另外的一些实施方式中,阳性可能性的几率,阴性可能性的几率,让步比或风险率是用来衡量一个测试是否可以预测风险或预后疾病的能力。阳性可能性的几率为 1 表示在“疾病”和“对照”人群中,具有阳性结果的几率是一样的;阳性可能性的几率大于 1,表示阳性结果更可能在“疾病”人群中;性可能性的几率小于 1,表示阳性结果更可能在“对照”人群中。阴性可能性的几率为 1 表示在“疾病”和“对照”人群中,具有阴性结果的几率是一样的;阴性可能性的几率大于 1,表示阴性结果更可能在“疾病”人群中;阴性可能性的率小于 1,表示阴性结果更可能在“对照”人群中。在一些优选的方式中,被选择的标记物质或者标记物质组表现出来的阳性可能性的几率或阴性可能性的几率分别是至少大约 1.5 或更多,或者至少大约 0.67 或更小;优选的,至少大约 2 或更多,或者至少大约 0.2 或更小;优选的,至少大约 10 或更多,或者至少大约 0.1 或更小。术语“大约”在上下文应该理解为 $\pm 5\%$ 。

[0145] 对于让步比,让步比为 1 表示在“疾病”和“对照”人群中,具有阳性结果的几率是一样的;让步比为大于 1,表示阳性结果更可能在“疾病”人群中;让步比为小于 1,表示阳性结果更可能在“对照”人群中。在一些优选的方式中,被选择的标记物质或者标记物质组表现出来的让步比至少大约 2 或更多,或者至少大约 0.5 或更小;优选的,至少大约 3 或更多,或者至少大约 0.33 或更小;优选的,至少大约 5 或更多,或者至少大约 0.2 或更小;优选的,至少大约 10 或更多,或者至少大约 0.1 或更小。术语“大约”在上下文应该理解为 $\pm 5\%$ 。

[0146] 对于风险比,风险比为 1 表示在“疾病”和“对照”人群中,具有终点(例如死亡)几率是一样的;风险比大于 1,表示具有终点(例如死亡)的几率更有可能在“疾病”人群中;风险比小于 1,表示具有终点(例如死亡)的几率更有可能在“对照”人群中发生。在一些优选的方式中,被选择的标记物质或者标记物质组表现出来的风险比至少大约 1.1 或更多,或者至少大约 0.91 或更小;优选的,至少大约 1.25 或更多,或者至少大约 0.67 或更小;优选的,至少大约 2 或更多,或者至少大约 0.5 或更小;优选的,至少大约 2.5 或更多,或者至少大约 0.4 或更小。术语“大约”在上下文应该理解为 $\pm 5\%$ 。

[0147] 分析系统

[0148] 很多方法和装置设备是本领域一般技术人员熟知的用来检测当前发明中的标记物。关于检测病人样本中的多肽或蛋白,免疫检测设备和方法是经常使用的,见美国专利 6,143,576;6,113,855;6,019,944;5,985,579;5,947,124;5,939,272;5,922,615;5,885,527;5,851,776;5,824,799;5,679,526;5,525,524;和 5,480,792,其中的每一个专利内容都被完整的列入参考文献中,包括所有的表格、图形和权利要求。这些设备和方法可以利用各种标签大分子在三明治检测,以竞争或非竞争检测形式产生与靶标被分析物存在或数量相关的信号。另外,某种方法和设备,例如生物传感器和光学免疫检测法可以不需要标签的大分子就可以检测靶标被分析物的存在或存在的数量。见美国专利 5,631,171;和 5,955,377,其中的每一个专利内容都被完整的列入参考文献中,包括所有的表格、图形和权利要求。本领域熟练技术人员认为机械仪器包括但不限于贝克曼,雅培 AxSym,罗氏

ElecSys, Dade Behring 层云系统的免疫检测系统可以进行这里所述的免疫检测。

[0149] 优选,免疫检测法分析标记物,虽然其他方法也是本领域技术人员熟知的(例如测量标记物 RNA 水平),但最优选的是三明治免疫检测法。通过对对应标记物的特异抗体及其检测特异性结合通常可以检测到标记物的存在或存在的数量。任何合适的免疫分析方法都可以采用,例如酶联免疫检测法(ELISA),放射免疫检测法(RIAs),竞争性结合检测,等等。标记物与特异抗体的免疫结合可以被直接检测或间接检测。例如免疫检测法,生物检测分析需要检测的方法,最常用的定量的方法是结合一种酶,荧光基团或其他大分子物质能形成抗体-标签物。可检测的标签物包括本身就可被检测的大分子物质(如荧光基团,电化学标签,金属螯合物等),也包括产生可检测反应产物的间接可检测分子(例如如酶像辣根过氧化物酶,碱性磷酸酶等)或被一个可检测的结合分子特异结合(例如生物素,地高辛,麦芽糖,oligohistidine,2,4-二硝基苯,苯基硼酸,ssDNA,dsDNA等)。特别优选的可检测标签是如美国专利 5,763,189,6,238,931,和 6,251,687 和国际出版物 W095/08772 中所述的荧光乳胶粒,上述的专利和出版物都被完整的列入参考文献中。颗粒中的示范共轭会在下文中提到。包括荧光或发冷光标签,金属,染料,放射性核素和类似物的直接标签被与抗体结合,间接标签包括各种本领域数值的酶,例如碱性磷酸酶,辣根过氧化物酶和类似物。

[0150] 利用被固定的抗体来特异检测标记物也属于本发明的一部分。这里所用的术语“固相”是一个广义物质,它包括固体,半固体,凝胶,胶片,薄膜,网状物,毛毡类,复合物,微粒,试纸和类似物等,本领域技术人员通常可用于吸附大分子的物质。固相物质可以无孔或有孔。适宜的固相包括那些成熟的和/或在固相结合检测中作为固相的物质。例如,《免疫分析》的全部作为本发明的参考或一部分(见:例 chapter9of Immunoassay, E. P. Dianianidis and T. K. Christopoulos eds., Academic Press: New York)。适宜的固相例子包括膜,滤器,纤维素纸,玻璃珠(包括聚合的,乳胶的和顺磁的颗粒),玻璃,硅片,微粒,纳米粒子,例如 Tenta 凝胶, Agro 凝胶, PEGA 凝胶, SPOCC 凝胶, 和 多孔盘(见, 例, Leon et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 8:2997, 1998; Kessler et al., Agnew. Chem. Int. Ed. 40:165, 2001; Smith et al., J. Comb. Med. 1:326, 1999; Orain et al., Tetrahedron Lett. 42:515, 2001; Papanikos et al., J. Am. Chem. Soc. 123:2176, 2001; Gottschling et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 11:2997, 2001)。抗体可以被固定在各种固体载体上,例如磁性或色谱级的基质颗粒,检测板表面(如微孔板),固体基片材料或膜(如塑料,尼龙,纸)等等。通过在固相载体上涂上一种抗体或多种矩阵式排列的抗体,形成测试条。这些测试条随后浸入检测样品中,然后通过快速冲洗和检测步骤产生可测量信号,例如色斑。当采用多种检测方式时,在单个固相载体上可以产生很多分开地可设定地址的位置,每一个位置都对应不同的标记物,每一个位置都包括与这些标记物结合的抗体。这里所述的术语“离散”指不连续的表面区域。那就是说,如果不属于任一个区域的边界完全围绕两个区域中的每一个区域,即两块表面区域是相互独立的,离散的。这里所用的术语“独立地址”指相互离散的表面区域,在这些区域上可以获得特异信号。

[0151] 为了单独或连续检测标记物,适宜的装置包括临床检验分析仪,例如 ElecSys (Roche), the AxSym (Abbott), the Access (Beckman), the ADVIA® CENTAUR® (Bayer) 免疫分析系统, NICHOLS ADVANTAGE® (Nichols Institute) 免疫分析系统等。优选的装置能用单个检测过程中同时进行多种标记物的检测。特别有用的物理形式包括具

有多个离散的表面,能在可寻地址的位置上检测多种不同被分析物。这些形式包括蛋白基因芯片,或“蛋白质芯片”(见,例,Ng and Ilag, J. Cell Mol. Med. 6:329-340 (2002) 和毛细管设备(见,例, U. S. Patent No. 6, 019, 944)。在这些实施例中,每一个离散的表面位置包括用来固定一种或多种被分析物(例如标记物)的抗体。离散的表面可有选择性地包含一种或多种离散粒子(例如微粒或纳米粒子),这些离散粒子被固定在表面的离散位置上,那些离散的表面位置上的微粒可以包括用来固定一种被分析物(例如标记物质)的抗体。

[0152] 为了一种或多种检测,本发明中优选的检测装置包括与固相结合的第一种抗体,与信号发生元件结合的第二抗体。这些检测设备配制在一起形成三明治式来检测一种或多种被分析物。更优选的这些检测设备可以进一步包含一个样本施加样区,和一个从样本施加区到第二设备区域的流动路径,流体路径中包含了与固相结合的第一种抗体。

[0153] 检测装置中样本可以沿着流动路径可以被动地(例如通过毛细管,流体静力学,或一旦样品进入设备不需要进一步操作就有的其他动力),积极地(例如机械泵产生的力作用下,电渗透驱动泵,离心力,增加的空气压力等),或通过一种积极的和被动的组合形成的驱动力来被驱动。最优选的,加入样品施加区的样本沿着流体路径既可以和与固相结合的第一种抗体接触,又可以和信号发生元件结合的第二抗体接触(三明治式检测形式)。另外的元件,例如把血液分成血清和血浆的过滤器,混合室等,如有需要可以让技术人员增加到以上的装置中。典型的装置如在免疫检测手册第二版第 41 章,题为“靠近病人的检测:Triage® Cardiac 系统”, David Wild 编辑,自然出版集团,2001 中有具体(“Near Patient Tests:Triage® Cardiac System,”in The Immunoassay Handbook, 2nd ed., David Wild, ed., Nature Publishing Group, 2001) 的描述,该内容已在参考文献中完整列出并作为本发明的一部分。

[0154] 这里所用的术语“抗体”指一个肽或多肽,源自一个或多个免疫球蛋白基因或具有特异结合抗原或表位能力的部分片段,大量编码或仿造获得。例如免疫学基本原理,第 3 版, W. E. Paul 编辑., 乌鸦出版社, 纽约 (1993); Wilson (1994) 免疫性方法, 175:267 - 273; Yarmush (1992) 生物化学与生物物理方法, 25:85 - 97 (见, 例 Fundamental Immunology, 3rd Edition, W. E. Paul, ed., Raven Press, N. Y. (1993); Wilson (1994) J. Immunol. Methods 175:267 - 273; Yarmush (1992) J. Biochem. Biophys. Methods 25:85 - 97)。术语抗体包括抗原结合部分,例如,保留与抗原结合能力的“抗原结合点”(例如,片段,子序列,互补决定区(CDRs)),它包括(i) Fab 片段,一个由 VL, VH, CL 和 CH1 域组成的单价片段;(ii) F(ab')₂ 片段,由一个二硫键链接的 2 个 Fab 片段组成的二价片段;(iii) Fd 片段,包括 VH 和 CH1 域的 Fd 片段;(iv) 由抗体一个单臂的 VL 和 VH 域组成的 Fv 片段;(v) 由 VH 域组成的 dAb 片段(Ward et al., (1989) Nature 341:544 - 546); 和(vi) 一个单独的互补决定域(CDR)。参考文献中“抗体”也包含单链抗体。

[0155] 优选的,抗体能特异的与靶标的标记物结合。术语“特异结合”不是为了说明抗体与它的预定的目标专一的结合,而是当抗体与它的预定目标结合的亲和力比非目标的亲和力大 5 倍时所指的“特异结合”的抗体。优选的抗体对目标分子的亲和力比非目标分子的亲和力至少约大 5 倍,更优选的为 10 倍,更优选的为 25 倍,更优选的为 50 倍,最优选的为 100 倍或更多。在优选的实施例中,抗体或其他结合物质与抗原的特异结合的亲和力至少为 10^6M^{-1} 。优选的,抗体的结合亲和力至少为 10^7M^{-1} ,更优选的,为 10^8M^{-1} 到 10^9M^{-1} ,更优选

的,为 10^9M^{-1} 到 10^{10}M^{-1} , 或 10^{10}M^{-1} 到 10^{11}M^{-1} 。

[0156] 亲和力的计算方法为 $K_d=k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ (k_{off} 是解离速率常数, k_{on} 是结合速率常数, k_d 是平衡常数。亲和力由平衡常数决定,平衡常数通过测量各种浓度(c)下标记物配合基的分数范围(r)得到。数据利用 Scatchard 方程作图 : $r/c=K(n-r)$)

[0157] 其中,

[0158] r = 平衡时,结合配体 / 平衡时受体的摩尔数

[0159] c = 平衡时自由的配合基的浓度

[0160] K = 平衡常数

[0161] n = 每个受体分子的配体结合位点数。通过图形分析, Y 轴绘制了 r/c , 对应的 X 轴绘制 r , 然后形成一个斯卡查德图。亲和力是线的负斜率。非标签的过量配体竞争结合贴有标签的配体决定 k_{off} 数值(见例美国专利第 6, 316, 409)。用于目标分子的目标试剂的亲和力优选的是至少 1×10^{-6} 摩尔 / 升, 更优选的至少是 1×10^{-7} 摩尔 / 升, 更优选的至少是 1×10^{-8} 摩尔 / 升, 更优选的至少是 1×10^{-9} 摩尔 / 升, 最优选的至少是 1×10^{-10} 摩尔 / 升。通过斯卡查德图形分析抗体亲和力在本领域是公知的。见《免疫测定杂志》和《生物化学的计算, 方法和程序》等(See, e. g., van Erp et al., J. Immunoassay 12:425 - 43, 1991; Nelson and Griswold, Comput. Methods Programs Biomed. 27:65 - 8, 1988)。University Press, Oxford; J. Immunol. 149, 3914-3920(1992))。

[0162] 可以用几种方法生产和选择抗体。例如一种是纯化目的多肽或用本领域熟知的如固相肽合成方法来合成目的多肽。见《蛋白质纯化指南》;《固相肽合成》; (See, e. g., Guide to Protein Purification, Murray P. Deutcher, ed., Meth. Enzymol. Vol182(1990); Solid Phase Peptide Synthesis, Greg B. Fields ed., Meth. Enzymol. Vol289(1997); Kiso et al., Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 38:1192 - 99, 1990; Mostafavi et al., Biomed. Pept. Proteins Nucleic Acids 1:255 - 60, 1995; Fujiwara et al., Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 44:1326 - 31, 1996)。选择的多肽随后被注射到例如小鼠或兔子, 来产生多克隆或单克隆抗体。本领域熟练技术人员知道许多方法可以用来生产抗体, 例如抗体, 实验室规程, Harlow and David Lane 编辑, 冷泉港实验室(1988), 冷泉港, 纽约中所述(Antibodies, A Laboratory Manual, Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory(1988), Cold Spring Harbor, N. Y)。本领域熟练技术人员也知道模拟抗体的结合片段或 Fab 片段可以用各种方法从基因信息中产生(Antibody Engineering: A Practical Approach (Borrebaeck, C., ed.), 1995, Oxford University Press, Oxford; J. Immunol. 149, 3914 - 3920(1992))。

[0163] 另外, 很多出版物都报道利用噬菌体展示技术来生产和筛选多肽文库用于结合选定的靶标(See, e. g., Cwirla et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 6378 - 82, 1990; Devlin et al., Science 249, 404 - 6, 1990, Scott and Smith, Science 249, 386 - 88, 1990; and Ladner et al., U. S. Pat. No. 5, 571, 698)。噬菌体展示技术的基本定义是筛选 DNA 编码的多肽和多肽间的物理关联。这种物理关联是噬菌体颗粒提供的, 展示了多肽作为包被编码多肽的噬菌体基因组的部分噬菌体衣壳蛋白。多肽与基因材料间的物理关联是通过同时大量筛选具有不同多肽的噬菌体建立的。噬菌体展示与靶标有亲和作用的多肽与靶标结合的过程, 这些噬菌体通过与靶标的亲和力富集起来。从这些富集的噬菌体中通过他们不同的

基因组鉴定多肽。用这些方法鉴定具有与预期靶标结合的多肽,并通过常规手段批量合成这些多肽。见例美国专利 6,057,098,该专利的所有表格、图形和权利要求都被完整的列在参考文献中并作为本发明的一部分。

[0164] 然后,通过噬菌体展示方法产生的抗体可以再次通过纯化的目的多肽进行亲和力和特异性的筛选,如果有必要,比较抗体与被排除不能结合的多肽的亲和力和特异性。筛选程序包括固定纯化多肽在微量滴定板的隔开的不同孔中。含有可能抗体或抗体组的溶液接着放入各自的微量滴定孔中,培养 30 分钟到 2 小时。然后冲洗微量滴定板的孔,在孔中加入标签物的第二抗体(例如,与碱性磷酸酶偶联的鼠抗抗体,如果培养的抗体是鼠抗体)然后培养 30 分钟并冲洗。碱性磷酸酶底物加入到孔中,接着结合有抗体的多肽的孔中就发生颜色反应。

[0165] 鉴定的抗体进一步在设计好的检测中进行亲和力和特异性分析。用免疫检测分析靶标蛋白,纯化的靶标蛋白作为标准来评断使用选定抗体的免疫检测的敏感性和特异性。因为各种抗体的结合亲和力可能不同;某些抗体对可能在空间上干扰其他的抗体(如在三明治检测中),抗体检测性能的衡量比其绝对亲和力和特异性的衡量更加重要。

[0166] 实施例子

[0167] 实施例子 1:研究参数

[0168] 离院病人出现心衰呼吸困难,或在门诊时被识别出具有心衰呼吸苦难症状和迹象的病人,用一次性检测元件和便携式仪表通过标准免疫检测方法每天检测 BNP 水平持续 60 天。BNP 检测完后,病人还有另外 15 天的随访期。病人和医生都不知道检测结果。对前 98 个完整随访病人的结果进行分析。共计记录了 98 个病人的 3451 个 BNP 值。

[0169] 该研究是一项多中心,单臂双盲前瞻性临床研究,每天监测 B 型利钠肽 BNP 的浓度,并确定这些浓度如何与临床心脏衰竭(HF)呼吸困难及与危险的心衰患者的相关不良临床结果相关联。该研究收纳的入受试者是被医院承认具有代偿失调心力衰竭,并在住院期间 BNP 水平 >400 皮克/毫升或 NT-proBNP 水平 >1,600 皮克/毫升,或者门诊时出现心衰恶化状况或代偿失调(即心脏衰竭门诊,普通全科或心脏科办公室,紧急监护病房)的迹象。他们既包括收缩功能障碍降低的患者以及具持续射血分数(HFPEF)的心衰患者。主体被排除,如果他们有末期肾脏疾病或预期心脏移植或在 3 个月内安装了左心室辅助装置(LVAD)。那些患有老年痴呆症,震颤,或失明的主体被排除在外,由于他们无法通过手指采集执行日常家庭 BNP 检测。最后,这些住所不能传输测试数据也不能进行每 5 天一次家访的地区的患者也被排除在外。

[0170] 潜在的主体被培训关于如何用心脏检查系统(Alere 科技有限公司,斯特灵,苏格兰)进行手指采血 BNP 自我检测。成功完成该培训的合格的主体就被登记。该心脏检查系统是专门为心衰患者在家里监控 BNP 水平设计的。它采用三明治夹心免疫测定产生电化学检测信号,(信号)与手指针刺新鲜毛细管全血样品中 BNP 的水平成正比。把测试条插入显示器,然后一滴指尖血(12 μ L)被施加到测试条,监视器分析该样品,确定 BNP 浓度,并通过无线连接机构把到 BNP 浓度发送目标位置。测定的范围为 5 至 5000 皮克/毫升。该系统还可以记录更多的患者信息,并通过无线 GPRS 功能传输所有数据到一个门户网站,给主治医生作观察使用。

[0171] 在医院/诊所出院之前 24 小时和出院后 7 天之间进行登记和基线评估。医院/

诊所出院和登记后,主体每天进行家庭手指采血 BNP 检测(直到 60 天后的办公室寻访)。记录结果,并以电子方式传送到研究数据库,主体、他们的医生和临床研究人员对结果完全不知情;BNP 自检结果不能用于病人评估或病害管理。主体还每天测量体重,通过输入这些值以电子方式直接传输这些数据到心脏检查监测处的数据库上报每日症状。在每个主体进行日常手指采血评估 BNP 5 ± 2 天后,由一个独立的家庭保健医生访问主体的家,对主体使用心脏检查的熟练程度和准确度进行了评估。此外,在 30 日和 60 日时,主体在门诊进行体格检查,临床评估,医疗状况审查,和使用心脏检查系统的效果演示。在 75 ± 3 天后进行病历回顾和 / 或电话回访来收集最后的结果数据。

[0172] 研究主要终点是测试后 5 天下列任何发生情况的综合:心血管死亡,因失代偿调心衰住院,或临床失代偿调心衰不住院(但需要肠外心衰治疗或改变口服心衰药物)。对不同时间 τ 划分(图 3)的所有测量(所有患者)之间进行斯皮尔曼相关系数的计算。对覆盖 BNP 范围的所有心衰患者测量这种相关系数,而不要与单一的时间序列的自相关系数相混淆。该结构如图 7 所示为 $\tau=7$ 的具体实例。

[0173] 为了量化混合的几率,计算不同时间 τ 的两个 BNP 测量值的分散系数。图 1 是 $\tau=7$ 的分散系数 D 构形的具体实例,图 2 是所有的 τ 分散系数 D 构形的示例。分散系数以百分比为单位(第 2 天检测结果相对于第 1 日)检测和校准,因此瞬间连贯测量值间($\tau=0$)的分散度等于 $\sqrt{2}$ 时间内所选择测定系统的变异系数(CV)(测定变异系数为 15%) (因为色散系数的计算是两次测量之间)。

[0174] 实施例子 2:临床研究结果

[0175] 图 6 示例了单个患者的连续的 BNP 测定值。7 天内不同时间(τ)的一对 BNP 测量值之间的皮尔森和斯皮尔曼相关系数分别为 0.785 和 0.873 (图 7)。在 $\tau=7$ 天时个体内在变异系数为 35.0%。不同 τ 时间的所有测量值之间的斯皮尔曼相关系数随着 τ 近似线性衰减,因此任何单个 BNP 测量值与 14 天后患者的状态没有很好的相关性(图 3)。这些数据显示了 BNP 时间序列的丰富构成,包括具有良好的趋势的表现好的病人,具有较差趋势的病人(如图 6),和具有大量频繁 / 重复游离特点的舒张性心衰患者。

[0176] 当连续检测值间的相关系数随不同时间衰减时,BNP 轨迹表现出人群间的混合。由于随机生物波动(日常波动)造成相关性的初始亏损后,相关系数的衰减是由一个随机游走(几何布朗运动)引起的。由于随机游动引起的混合速率说明,需要至少每 14 天更新 BNP 值来监测患者的疾病状态。因为每天的波动是随机的,时间序列中相邻值的平均值可以提高用 BNP 监测患者疾病状态的评估。随机模型适用于该数据,为了滤波或使 BNP 时间序列变平滑,随机模型被用来模拟最佳采样。小于 14 天的更频繁的取样,例如从 1-3 天(取样),显著提高了估计。

[0177] 图 2 显示了离散系数在 2 天到 40 天(由于研究的观察时间的限制)的范围内,随 τ 近似线性地增加,回归曲线以百分比为单位,为 $D(\tau) = (46.5 + 0.89\tau)$ 。在 $\tau=2$ 天不同时间里, $D=48.3\%$ 。当时间差异不到 2 天,在 $\tau=1$ 天时, D 值急剧下降到 39.5%,在 $\tau=0$ 天时,甚至更强烈的接近 21.2%的理论极限值(这是具有 15%的变异系数的连续瞬间 BNP 检测值的斯皮尔曼相关系数)。

[0178] 下面随机模型来说明不同时间的分散系数的增加:时间依赖的随机波动过程遵循几何布朗运动(或几何随机游走)。正如图 1 所示,考虑到时间演变曲线 $Y(T, \tau) = \log[\text{BNP}$

$(T+\tau)]-\log[\text{BNP}(T)]$, BNP 的波动被标准化。根据随机模型, Y 的方差(固定 τ 的所有时间 t) 的期望值是 $\sigma^2=2\beta^2+\alpha^2\tau$, 其中 β 是时间间隔 1 天的随机波动的标准偏差, α 是时间间隔 1 天的随机游走的标准偏差。 σ 的值与离散系数相关并且可以如图 1 中说明所示用数据来估计。图 2 中 $D(\tau)$ 的线性回归系数, 随机模型中的参数是 $\beta=0.313$ 和 $\alpha=0.0825$ 。

[0179] 1-2 天时间内 BNP 的随机波动出现上升和平缓。用系数 β 说明这些“日常”的波动(连同小部分的测量误差)。在时间短于 2 天时, 每天的波动有一个确定性的结构, 即小 τ 的分散系数的大幅下滑。然而, 时间小于 1 天(由于目前的研究每日取样的限制)时, 波动的频率和振幅没有获得。当时间超过 2 天以上, BNP 表现出了几何随机游走的轨迹。虽然相比于每天的波动(即, α 比 β 小)比例, 随机游走的步长(每天)是相对小的, 方差随时间线性增长 $\sigma^2=2\beta^2+\alpha^2\tau$ 。基于研究($\beta=0.313$, $\alpha=0.0825$)所估计的系数, $\tau=14$ 天的不同时间 $\alpha^2\tau$ 大约等于 β 值。

[0180] 图 3 中的相关系数测量了整个人群 BNP 轨迹的分散效应。 $\tau>1$ 时随机游动与相关系数的线性衰减对应, 否则由于每天的波动(图 3 中回归直线的截距), 相关系数值在约 0.90 时将保持恒定。在 $\tau=2$ 天不同时间时, 相关系数为 0.89。对于少于 2 天的不同时间时, 相关系数急剧上升至 $\tau=1$ 天时的 0.92, 甚至上升到 $\tau=0$ 时的近理论极限值 0.98(这是具有 15% 的变异系数的选定系统来检测连续瞬间 BNP 检测值的斯皮尔曼相关系数)。对于 τ 在 2 天至 40 天的范围内(受研究的观察期的限制), 相关系数随时间 τ 近似线性衰减, 相隔 14 天(或以上)的任何两个检测值的相关系数低于 0.85。相关系数下降至 0.85 以下表示患者人群的 BNP 轨迹显著混合。这意味着, 为了监测疾病状态 14 天是取样的最小频率。数据标示的一个特征是 BNP 持续低于 400 皮克/毫升的阈值的患者在观察期内不容易发生急性失代偿心衰(ADHF)事件。

[0181] 实施例子 3: 个别患者心脏衰竭风险的了解

[0182] 图 8-15 显示本发明应用于该研究人群的患者个体的例子。每个图有两个分图, (a) 和 (b)。分图 (a) 显示了测得的 BNP 值(蓝色)和过滤的 BNP 值(红色), 用 7 天箱式窗口检测平均值和对数变换, 如 7 天内的几何平均值。图 (b) 显示了从 BNP 时间序列的累积风险函数中计算一个事件的累积概率, 该概率是 $1-\text{EXP}[-\Lambda(t)]$ 。

[0183] 图 8 显示了在 45 天时由于呼吸困难住院的患者。病人的最初 BNP 测量值约为 500 皮克/毫升, 在 35 和 45 天间急剧上升。不同于日常大的波动, 过滤后的 BNP 捕获到了这种急剧上升。最初一个事件的累积概率值低, 随着事件的暴露概率值增加。1-35 天增长了约一个斜率, 随后的 35-45 天以更陡峭的斜率增长。当累积概率增大到约 19% 时, 在 45 天的窗口期这个病人有一个事件, 这并不令人惊奇。并且, 在 35 至 45 天给定一个更急剧的概率增长(即大约 6% 的增量), 这就不奇怪, 这种间隔会终止于入院。

[0184] 图 9 显示了一个低 BNP 的患者在 60 天的大部分时间里情况改善(的例子)。该患者的累积概率随暴露而增长, 但增速比线性增长要慢。由观察末期的累积概率只有约 5%, 这就不奇怪该患者没有一个事件。

[0185] 图 10 显示了病人的 BNP 最初是低的, 但从第 2 天的约 75 皮克/毫升急剧上升到第 5 天的约 500 皮克/毫升。此峰在 10 日时转变, 在观察期的剩余时间里患者均为低 BNP 值。该累积概率从来没有高于 5% (尽管 2-10 天时由于高的 BNP 值(产生的累积概率)显著增量)。病人在观察期间没有一个事件。

[0186] 图 11 显示患者的 BNP 最初非常高,并且整个观察期仍然很高。由于高 BNP 患者的日常危险高,并且由于长时间暴露,病人的累积概率急剧上升。到 40 日,该患者的累积概率超过 40%。然而,由于危险和事件之间的概率关系,事件还没有在 40 天内发生。从 40 天到 52 天,患者的 BNP 戏剧性下降(但仍高于 500 皮克 / 毫升),其累积概率变得不那么陡。但是,即使在该时间间隔内(40 天至 52 天),患者仍病的相对较重(与图 9 或 10 相比)。

[0187] 图 12 和图 13 显示了出现了一个显著下降的趋势(相对于整体人群)的 2 种异常患者,并且随机模型似乎并不适用。患者具有非常高的初始 BNP 值,因此具有显著的初始危险。但危险函数迅速下降,削减了累积概率的增长。

[0188] 图 14 和图 15 显示具有显著高峰的振幅重复模式(相对于整体人群)的 2 种异常患者,并且随机模型似乎并不适用。病人有非常低的初始 BNP 值和整体的低 BNP 值,但在大振幅期间,但经历了高风险。这表现出阶梯状的累积概率的特性。

[0189] 实施例子 4:ROC 曲线

[0190] 设想本发明正应用于监控高风险心衰患者。在监控程序中这些患者的病情被期望会变化,会对作为监视结果的有效反馈作出积极的回应。基于目前的研究数据,图 8-15 显示了用于监测的指标的特异实例,尤其是滚动的 7 天几何平均值和累积风险。

[0191] 这些指标适用于目前的研究数据,来确定可能的管理患者的决策逻辑。基于对 N=71 个患者的分析,他们在观察期的最初 14 天测试至少 8 次或更多,图 16 (a)-(b)给出两个例子(具有截止值的 ROC 曲线)。对所有 71 个患者计算 7 天的箱式过滤器(滚动的 7 天几何平均值)和累积风险,直到观察期结束(60 天),或直到第一个失代偿事件出现为止(观察期共有 13 个这样的事件)。箱式过滤器(BNP 平滑峰 (PeakSmoothBNP))的峰值和累积风险除以暴露(BNP 均值 (MeanBNP))的 ROC 曲线用 pg/ml 的截止值显示(见下文对单位的附注)。BNP 平滑峰低于 500 皮克 / 毫升的患者,没有事件发生。BNP 均值低于 400 皮克 / 毫升的患者,只有 1 个事件发生。这两个 ROC 曲线的曲线下面积(AUC),都显示了度量和结果之间的良好关系。为了监控最初 60 天内登记于程序的患者,开始的值显示了特殊的目标。

[0192] 实施例子 5:根据特征判断患者疾病状态

[0193] 具有参数(α , β , μ)的广义随机模型适用于两组患者的研究,患者被左心室射血分数打乱分为左心室射血分数(LVEF) ≤ 40 (71 例,2508BNP 值)和左室射血分数(LVEF) >40 (24 例,830BNP 值)两组。LVEF ≤ 40 和 LVEF >40 的每个组的分散参数(α , β)分别为(0.0782,0.302)和(0.0989,0.373)。与 LVEF >40 的 90.9%相比, LVEF ≤ 40 的 30 天的分散系数为 69.3%。这表明,具有较高的 α 和高 β 的 LVEF >40 的患者更不稳定。

[0194] 这是值得注意的,即在两个组的 BNP 总量级间有一个显著差异,即 LVEF ≤ 40 的 BNP 均值(在所有患者中,所有的时间点)为 636 皮克 / 毫升, LVEF >40 (的威尔科克森 (Wilcoxon) 的 p 值 <0.0001) 的 BNP 均值为 409 皮克 / 毫升,虽然对于单个患者,大分散值区分不清这种差异。

[0195] 每个组的漂移参数 μ 接近于零,难以估计。图 19 (a)-(b)比较了两组所有时间 tau 的 BNP 平均比率。在这两种情况下斜率估值非常小,出现轻微的负值(LVEF ≤ 40 负的更多一点)说明负漂移(正耗散)。图 19 中截距有比较显著的差异, LVEF ≤ 40 时(截距)为 1.18 (预期值 1.09), LVEF >40 时(截距)为 1.57 (预期值 1.18),其中波动的对数正态分布的期望值是 $1+\beta^2$ 。这表明, LVEF >40 的每天波动有一个夸大的尾部(非对数正态分布)。

[0196] 回到图 14, 现在很明显, 即该患者的 BNP 轨迹是具有保守的射血分数(LVEF>40)的心衰患者特征的一个极端的例子, 尤其整体变动性更高, 均值更低, 和夸张的波动。

[0197] 实施例子 6 : 测量体重的内涵

[0198] 作为上述的研究的后续, 进一步登记了 65 个患者(共 163 个患者), 通过中间值为 65 (50, 69) 天的监测期, 记录了对每个患者进行了中间值为 46 (33, 54) 的总共 6934 个日常 BNP 测量值。监测期间共记录有 8084 个日常体重值。在监测期间 40 例患者有 56 例急性失代偿性心衰(ADHF)事件: 22 例住院治疗, 33 例无需入院的临床失代偿性心衰(HF) (其中 7 例所需要肠外心衰治疗), 以及 1 例心血管死亡。

[0199] 随时间变化的预测变量(BNP, 体重增加, 以及自我报告症状)的泊松回归用于在监测期内的发生的失代偿性心力衰竭(ADHF)相关事件。预测值随时间变化, 但基线风险被假定为恒量。泊松模型还可用于一个患者发生的多个事件。因为失代偿性心力衰竭住院, 仅入院的那一天算作一个事件和住院的剩余期间被视为非暴露事件(non-exposure)。因其他原因住院的日子被视为非暴露事件(non-exposure)。BNP 被视为一个连续变量(浓度自然对数), 体重增加被视为一个二分变量(在前 3 天内增加 ≥ 5 磅)。预测变量的缺失值用线性距离最近的值替换。最后一个预测的测量值后到监测期结束的时间被推断为转移最后一个值。如果患者的单日记记录的多个值, 那么只有在每天的第一个值被认为是可评估的。

[0200] 泊松模型适宜 $\ln(\lambda) = \beta_0 + \beta_1 \ln(\text{BNP}) + \beta_2 \text{WG}$, 其中 λ 是每天的危险率, BNP 是日常的浓度, WG (体重增加)是二分的日增重, 和 β 是计算系数。一旦系数被适宜的人群确定, 个别病人的风险变化被评价为 λ 的改变, λ 的改变是由于监测期内 BNP 和体重的变化。

[0201] 采用斯皮尔曼相关系数评估 BNP 随着时间的推移(自回归)的相关性。用公式 $CV_i = (0.5D^2 - CV_a^2)^{1/2}$ 计算个体内的相关系数, 其中 CV_a 是检测的分析变异系数(作为 0.15), D 为分散系数($D = [\exp(\sigma^2) - 1]^{1/2}$, 其中 σ 等于 1.483 乘以 \ln 两个 BNP 测量的绝对中位差)。

[0202] 如在上述研究中, 当(入院至)出院间的时间增加或从门诊病人的入账金额增加时, 相关系数减弱(1, 2, 3, 14 和 42 天的检测之间的斯皮尔曼相关系数分别为 0.936, 0.915, 0.896, 0.865, 和 0.791)。1-3 天的短时间间隔的相关系数衰减迅速。时间的差异超过 3 天的衰变速率没有那么快但稳定。相关系数的衰减与个体内变异系数的增加相对应(1, 2, 3, 14 和 42 天的检测之间的变异系数分别为 20.7%, 24.6%, 28.5%, 35.6%)。

[0203] 10, 035 个病人日中, 有 494(4.9%)天体重增加(在以前的 3 天 ≥ 5 磅), 710(7.1%)天急性 BNP 上升(增加超过 3 天的一倍以上)。泊松回归模型如下表所示。BNP 基线和每日 BNP 是连续变量(用 pg/ml 表示浓度的自然对数)。急性 BNP 升高, 体重增加, 水肿, 气短都是二分变量。

[0204]

单变量模型 (Univariate Models)				
变量 (Variable)	BETA	SE	P-值	风险比 (Hazard Ratio)
BNP 基线	0.521	0.129	0.0001	1.68 (1.31, 2.17)
日 BNP 值	0.625	0.131	0.0000	1.87 (1.44, 2.42)
急性 BNP 升高	0.010	0.519	0.9843	1.01 (0.37, 2.79)

[0205]

体重增加	1.435	0.349	0.0000	4.20 (2.12, 8.32)
水肿	1.541	0.286	0.0000	4.67 (2.67, 8.18)
气短	1.216	0.286	0.0000	3.37 (1.92, 5.91)
日 BNP 值和 BNP 基线				
日 BNP 值	0.563	0.210	0.0073	1.76 (1.16, 2.65)
BNP 基线	0.079	0.209	0.7060	1.08 (0.72, 1.63)
日 BNP 值和体重增加				
日 BNP 值	0.610	0.133	0.0000	1.84 (1.42, 2.39)
体重增加	1.290	0.349	0.0002	3.63 (1.83, 7.20)
多变量模型(Multivariate Model)				
日 BNP 值	0.507	0.131	0.0001	1.66 (1.28, 2.15)
体重增加	1.039	0.357	0.0036	2.83 (1.40, 5.69)
水肿	0.873	0.336	0.0093	2.39 (1.24, 4.62)
气短	0.578	0.328	0.0781	1.78 (0.94, 3.39)

[0206] 在日常 BNP 和体重增加两因素预测模型, lnBNP 每增加一个单位, 危险比增加 1.84 (95% CI 为 1.42-2.39), 体重增加一天的危险比为 3.63 (1.83-7.20)。在多因素模型中, 当日常自我报告症状受控制时, BNP 和体重增加的风险比保持显著差异。在两因素模型中,

当调整 BNP 基线后,日 BNP 值保持显著差异。在随时间变化的 Cox 模型中,把日 BNP 值与时间初始事件关联在一起(40 个失代偿性心衰事件,共计 8584 个暴露病人日),lnBNP 的危险比为 1.79 (1.33-2.41),当调整日常 BNP 后,lnBNP 的危险比也保持显著差异。无论在单因素或多因素模型中,急性 BNP 上升不是失代偿性心衰事件的显著因素。急性 BNP 上升是不能预测失代偿性心衰事件(ADHF),因为在大多数情况下这种波动不会持续很长时间。这是风险函数和它对监测期内 BNP 变化的依赖相一致,与单个 BNP 的剧烈变化相反。由于短期暴露,单个波动的迅速衰减(几天内)不能显著改变失代偿性心衰(ADHF)患者的累积风险。

[0207] 监测期间,基于产生失代偿性心衰(ADHF)事件的时间间隔,每个主体分为 212 个时间间隔,包括终止于事件的 56 区间(患者可以变现为多个间隔,如果他们在事件后重新开始自我测试)。图 20 中每一个圆圈表示一个间隔,代表初始 BNP 值(横坐标)和泊松模式的时间平均风险率(纵坐标)。每个圆圈的大小与时间间隔的长度成比例;以失代偿性心衰(ADHF)事件终止的间隔是红色的,而那些没有事件终止的间隔是蓝色的。

[0208] 如图所示在无体重增加(黑色实线)日,与体重增加(黑色虚线)日,瞬时的危险率是 BNP 和体重增加的函数。由于 BNP 是可变的,瞬时危险沿着黑色实线移动,从实线跳跃到体重增加日的虚线。每圈相对于实线的总位移上升或下降表示随时间间隔风险的均值变化;实线的下面圆圈是改善的预测,而实线上面的圆圈是恶化的预测。较短的时间间隔(通常为红色)往往倾向于较高的初始 BNP 值或恶化的预测(实线的上面),而较长的时间间隔(通常为蓝色)往往倾向于较低的初始 BNP 值,或者具有改善的预测(实线的下面)。初始 BNP 值低于 100 皮克/毫升的两个圆是非典型的。一个圆代表了 53 天间隔,在事件前 3 天患有失代偿性心衰门诊病人的 BNP 值从最初的 64 皮克/毫升上至最高点 544 皮克/毫升。其他圆代表 6 天的时间间隔,其最高点在失代偿性心衰住院。病人具有射血分数保留性心衰(HFPEF),该间隔是 BNP 振幅的一个特征模式的一部分,约 4 至 6 天的过程中,(具有)约 5-10 倍的大 BNP 振幅,没有体重增加。

[0209] 图 21 显示了用日常风险模型的灵敏度和特异性,ROC 曲线对每个病人每天进行分类。灵敏度用 ADHF 的天数(N=56)计算和特异性用没有 ADHF 的天数(N=9979)计算。值得注意的是,ADHF 的天数已经由从最初到门诊或 ED 就诊就被明确界定了,结果是治疗医生对 ADHF 的评估和治疗干预;但是,这里观察到的每日的 BNP 模式表明,这些就诊所定义的传统事件可能低估 ADHF 的所有实例,恶化了需要治疗干预的环境。如图 22 显示了正斜率 BNP (N=39),负斜率 BNP (N=64),或体重增加(N=94)时间间隔的风险变化。

[0210] 为了表现与 BNP 趋势相关风险的变化特征,lnBNP 水平随时间变化的普通线性回归计算每个时间间隔的斜率。至少间隔 5 个 BNP 检测值被归类为正斜率(每天的斜率大于 1%以上),负斜率(每天的斜率小于 -1%),或无趋势。有 39 个(18.4%)BNP 趋势向上的时间间隔和 64 个(30.2%)BNP 趋势向下的时间间隔。泊根据松模型向上趋势的时间间隔的中间值为 40 天,期间风险中值增加至 59.8%,向下趋势的时间间隔中间值为 52 天,相应的风险中值减少至 39.0%。类似的,1 日或更多体重增加日(平均体重增加 4 天,平均长 55 天)的时间间隔有 94 个(44.3%),对应于中位风险增加 26.1%。

[0211] 这些结果表明,心脏衰竭患者在家里每天检测他们的 BNP 水平是可行的,每天的 BNP 检测模式包含丰富的信息,这些信息和病人和他们的心脏疾病一样是各种各样的不均匀的。这些模式表明恶化和改善 2 种情况,并且可以被用来识别那些治疗方案好需要严密

观察和管理的患者,也包括那些情况稳定朝着改善状况方向的患者。每日 BNP 检测模式也特别适用于个别的患者,他们的情况可能需要考虑个别定制治疗方法。这种可能性特别吸引 HFPEF 患者,在许多情况下,其展示了与众不同的日常 BNP 模式,包括 BNP 水平频繁的出现高峰。

[0212] 这些研究结果也表明,BNP 水平有时在一天里波动迅速,在 2 周左右相关性均非常弱。由于 BNP 水平通常检测得很少,卫生保健提供者可能错过了这些测量之间发生重要变化。事实上,目前的分析说明 BNP 的日常水平比固定(基线)的 BNP 更能说明患者的病情和预后。

[0213] 实施例子 7:参考文献

[0214] 1. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al. Heart disease and stroke statistics—2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2010 Feb 23; 121(7): e46–e215.

[0215] 2. Gheorghiade M, Abraham WT, Albert NM, et al. Systolic blood pressure at admission, clinical characteristics, and outcomes in patients hospitalized with acute heart failure. *JAMA*. 2006; 296(18): 2217–2226

[0216] 3. Pang PS, Komajda M, Gheorghiade M. The current and future management of acute heart failure syndromes. *Eur Heart J*. 2010; 31(7): 784–793

[0217] 4. Keenan PS, Normand SL, Lin Z, Drye EE, Bhat KR, Ross JS, Schuur JD, Stauffer BD, Bernheim SM, Epstein AJ, Wang Y, Herrin J, Chen J, Federer JJ, Mattera JA, Wang Y, Krumholz HM. An administrative claims measure suitable for profiling hospital performance on the basis of 30-day all-cause readmission rates among patients with heart failure. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2008 Sep; 1(1): 29–37.

[0218] 5. Chen J, Normand SL, Wang Y, Krumholz HM. National and regional trends in heart failure hospitalization and mortality rates for Medicare beneficiaries, 1998–2008. *JAMA*. 2011 Oct 19; 306(15): 1669–78.

[0219] 6. Setoguchi S, Stevenson LW, Schneeweiss S. Repeated hospitalizations predict mortality in the community population with heart failure. *Am Heart J*. 2007 Aug; 154(2): 260–6

[0220] 7. Ross JS, Chen J, Lin Z, Bueno H, Curtis JP, Keenan PS, Normand SL, Schreiner G, Spertus JA, Vidán MT, Wang Y, Wang Y, Krumholz HM. Recent national trends in readmission rates after heart failure hospitalization. *Circ Heart Fail*. 2010 Jan; 3(1): 97–103

[0221] 8. Bueno H, Ross JS, Wang Y, Chen J, Vidán MT, Normand SL, Curtis JP, Drye EE, Lichtman JH, Keenan PS, Kosiborod M, Krumholz HM. Trends in length of stay and short-term outcomes among Medicare patients hospitalized for heart failure, 1993–2006. *JAMA*. 2010 Jun 2; 303(21): 2141–7.

[0222] 9. Greenberg B. Acute decompensated heart failure—treatments and challenges—. *Circ J*. 2012; 76(3): 532–43.

[0223] 10. Ashton CM, Kuykendall DH, Johnson ML, Wray NP, Wu L. The association

between the quality of inpatient care and early readmission. *Ann Intern Med.* 1995Mar15;122(6):415-21.

[0224] 11. Haldeman GA, Croft JB, Giles WH, et al. Hospitalization of Patients with heart failure: National Hospital Discharge Survey, 1985 to 1995. *Am Heart J.* 1999;137:352-360

[0225] 12. Youn YJ, Yoo BS, Lee JW, Kim JY, Han SW, Jeon ES, Cho MC, Kim JJ, Kang SM, Chae SC, Oh BH, Choi DJ, Lee MM, Ryu KH; on behalf of the KorHF Registry. Treatment Performance Measures Affect Clinical Outcomes in Patients With Acute Systolic Heart Failure. *Circ J.* 2012Feb17.

[0226] 13. Hernandez AF, Greiner MA, Fonarow GC, Hammill BG, Heidenreich PA, Yancy CW, Peterson ED, Curtis LH. Relationship between early physician follow-up and 30-day readmission among Medicare beneficiaries hospitalized for heart failure. *JAMA.* 2010May5;303(17):1716-22

[0227] 14. Schiff GD, Fung S, Speroff T, McNutt RA. Decompensated heart failure: symptoms, patterns of onset, and contributing factors. *Am J Med.* 2003Jun1;114(8):625-30.

[0228] 15. Bui AL, Fonarow GC. Home monitoring for heart failure management. *J Am Coll Cardiol.* 2012Jan10;59(2):97-104.

[0229] 16. Dendale P, De Keulenaer G, Troisfontaines P, Weytjens C, Mullens W, Elegeert I, Ector B, Houbrechts M, Willekens K, Hansen D. Effect of a telemonitoring-facilitated collaboration between general practitioner and heart failure clinic on mortality and rehospitalization rates in severe heart failure: the TEMA-HF1 (TElemonitoring in the MAnagement of Heart Failure) study. *Eur J Heart Fail.* 2012Mar;14(3):333-40.

[0230] 17. McCullough PA, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Herrmann HC, Steg PG, Duc P, Westheim A, Omland T, Knudsen CW, Storrow AB, Abraham WT, Lamba S, Wu AH, Perez A, Clopton P, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Maisel AS. B-type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: analysis from Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study. *Circulation.* 2002Jul23;106(4):416-22.

[0231] 18. Januzzi JL Jr, Camargo CA, Anwaruddin S, et al. The N-terminal Pro-BNP investigation of dyspnea in the emergency department (PRIDE) study. *Am J Cardiol.* 2005Apr15;95(8):948-54.

[0232] 19. Kazanegra R, Cheng V, Garcia A, Krishnaswamy P, Gardetto N, Clopton P, Maisel A. A rapid test for B-type natriuretic peptide correlates with falling wedge pressures in patients treated for decompensated heart failure: a pilot study. *J Card Fail.* 2001Mar;7(1):21-9.

[0233] 20. HeartCheck BNP Test Strip Product Insert, 0017SPEC-0363 Rev. 12010/09, Alere Technologies Limited, Stirling, Scotland FKP4NF

[0234] 21. Heart Failure Society of America, Lindenfeld J, Albert NM, Boehmer JP, Collins SP, Ezekowitz JA, Givertz MM, Katz SD, Klapholz M, Moser DK, Rogers JG, Starling RC, Stevenson WG, Tang WH, Teerlink JR, Walsh MN. HFSA2010 Comprehensive Heart Failure Practice Guideline. J Card Fail. 2010 Jun; 16(6):e1-194.

[0235] 22. Xue Y, Taub PR, Fard A, Maisel AS. Hypervolemic and optivolemic natriuretic peptides in acute heart failure. Contrib Nephrol. 2011; 171:74-9.

[0236] 23. Silver MA, Maisel A, Yancy CW, McCullough PA, Burnett JC Jr, Francis GS, Mehra MR, Peacock WF 4th, Fonarow G, Gibler WB, Morrow DA, Hollander J; BNP Consensus Panel. BNP Consensus Panel 2004: A clinical approach for the diagnostic, prognostic, screening, treatment monitoring, and therapeutic roles of natriuretic peptides in cardiovascular diseases. Congest Heart Fail. 2004 Sep-Oct; 10(5 Suppl 3):1-30.

[0237] 本领域的一般技术人员应该认识到,很多方法可以被用来生产本发明的抗体或结合片段,和对于各种多肽的亲力和特异性筛选和选择,这些方法并不改变本发明的精髓。

[0238] 本领域技术人员将很容易理解,本发明适用于执行对象并获得提到的,也包括固有的结果和优点。这里所提到的例子是优选的实施例,具有示范性,但本发明对本发明的范围做任何限制。

[0239] 显然本领域技术人员可以在不违背本发明范围和精神的情况下,本发明所公开的是可以做出不同的替换和修改的。

[0240] 本发明说明书中提到的所有专利和出版物都表示这些是本领域的公开技术,本发明可以使用。这里所引用的所有专利和出版物都被同样列在参考文献中,跟每一个出版物具体的单独被参考引用一样。

[0241] 这里所述的本发明可以在缺乏任何一种元素或多种元素,一种限制或多种限制的情况下实现,这里这种限制没有特别说明。例如这里每一个实例中术语“包含”,“实质由……组成”和“由……组成”可以用两者之一的其余 2 个术语代替。这里采用的术语和表达方式所描述方式,而不受其限制,这里也没有任何意图来指明此书描述的这些术语和解释排除了任何等同的特征,但是可以知道,可以在本发明和权利要求的范围内做任何合适的改变或修改。可以理解,本发明所描述的实施例都是一些优选的实施例和特点,任何本领域的一般技术人员都可以根据本发明描述的精髓下做一些更改和变化,这些更改和变化也被认为属于本发明的范围和独立权利要求以及附属权利要求所限制的范围内。

[0242] 其他的实施方式被包括在如下的权利要求中。

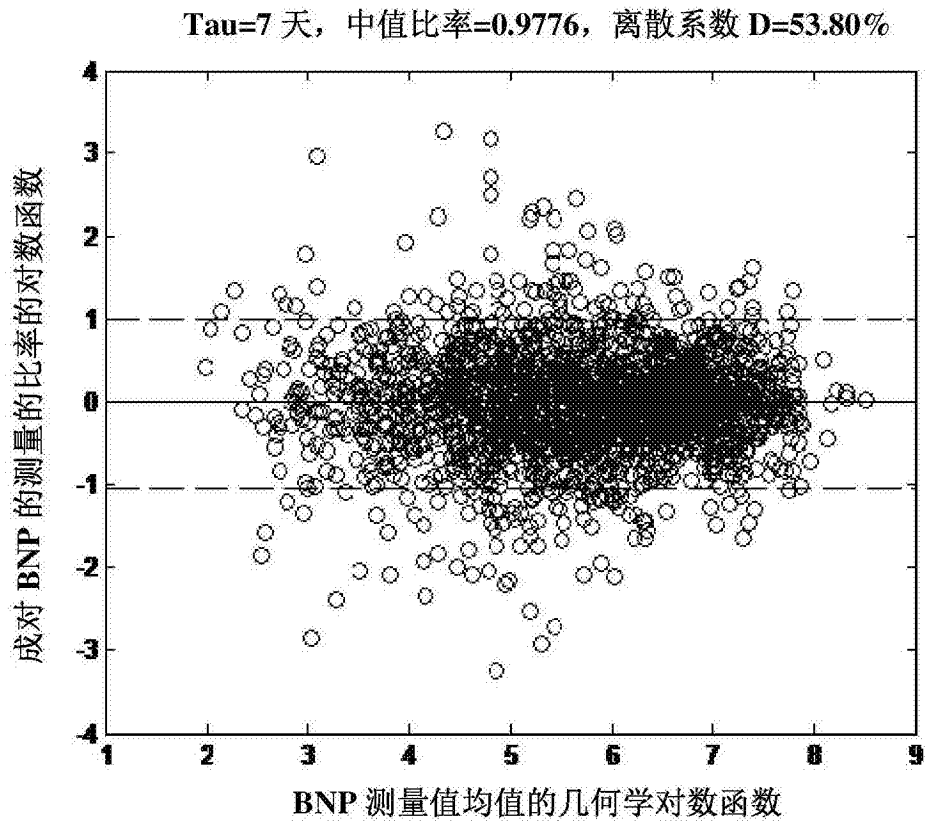


图 1

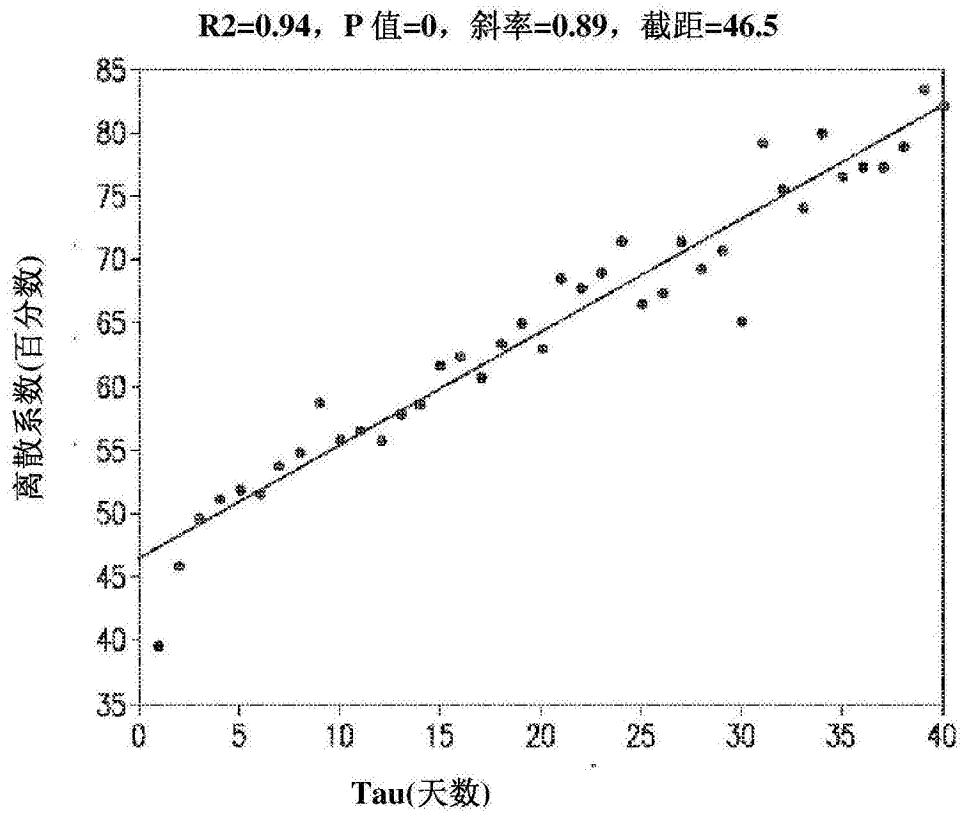


图 2

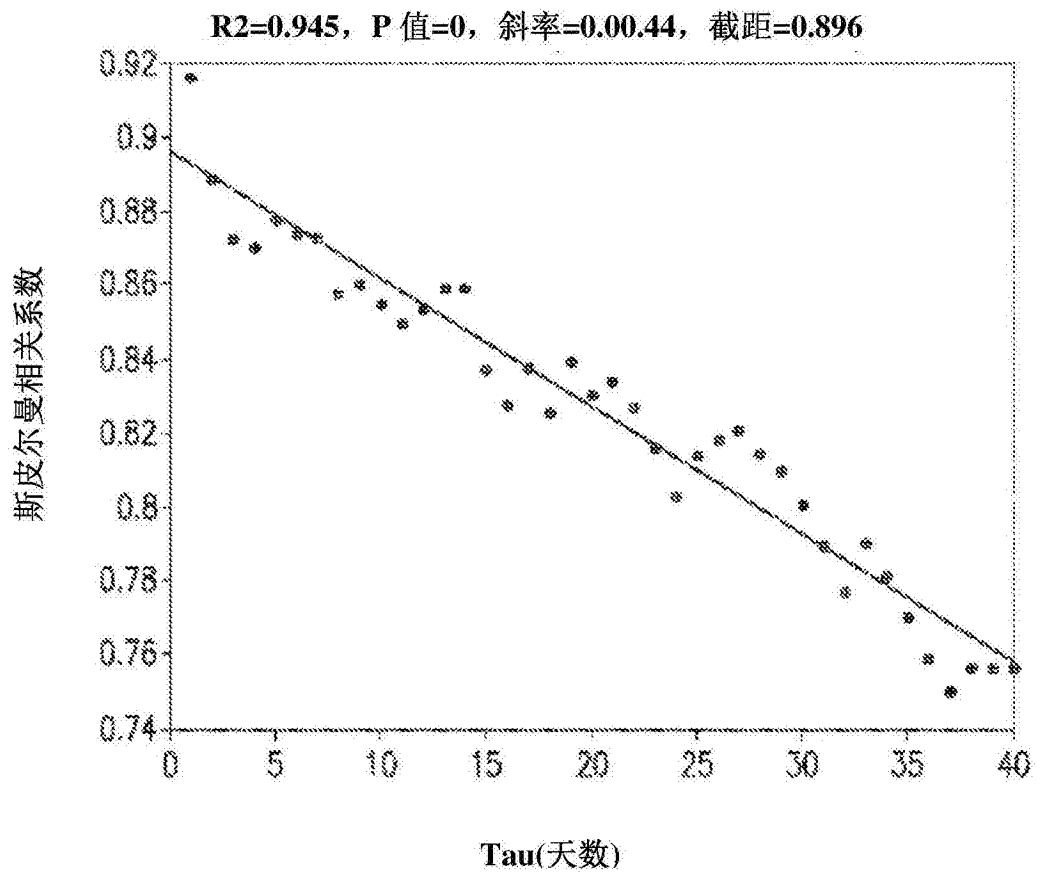


图 3

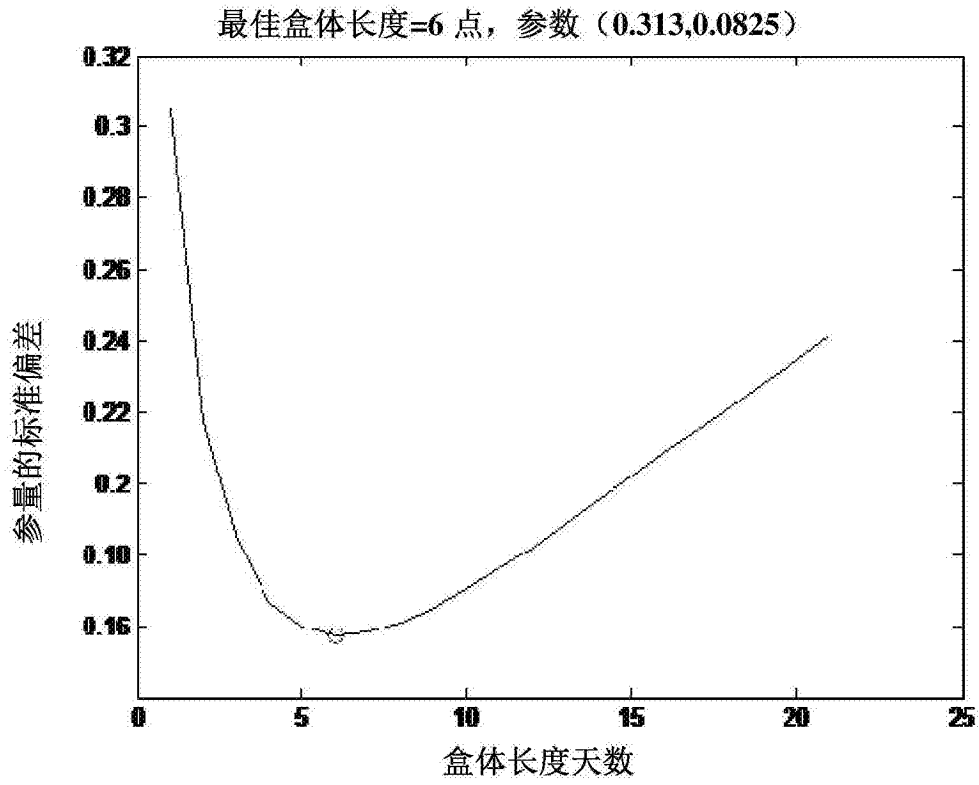


图 4

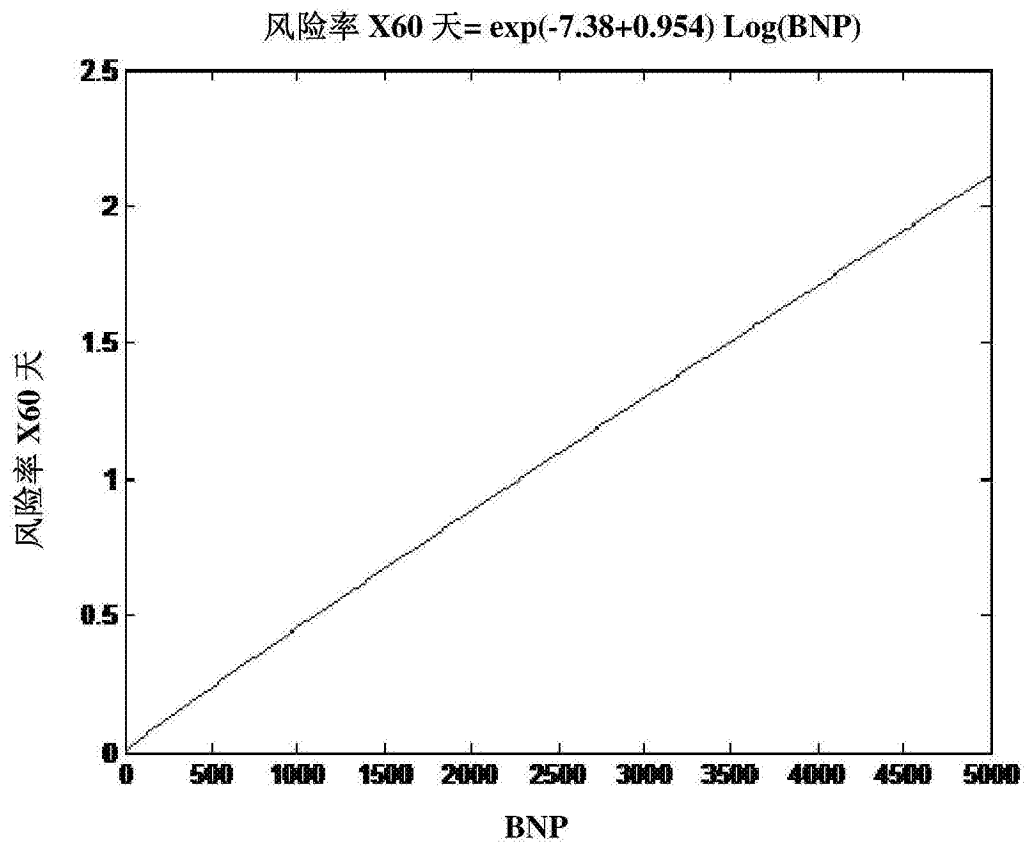


图 5

PID=0060-006, 年龄=83, 性别=男, NYHA=III, LVEF=62, BNP=931

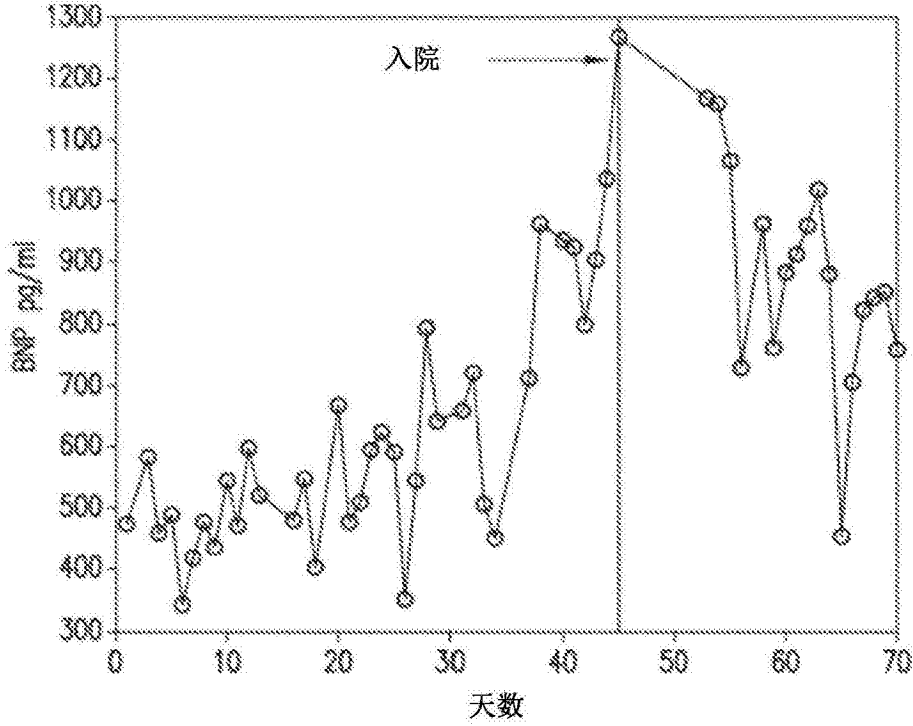


图 6

N=2193, 泊松系数 $R=0.785$, 斯皮尔曼相关系数 $R=0.873$

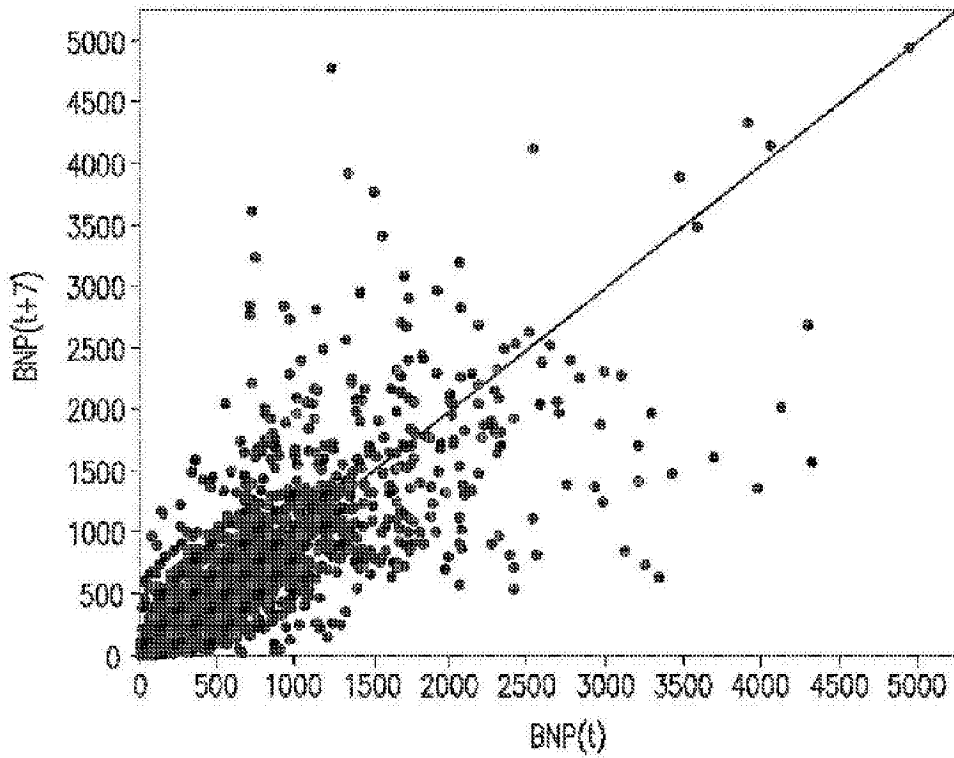


图 7

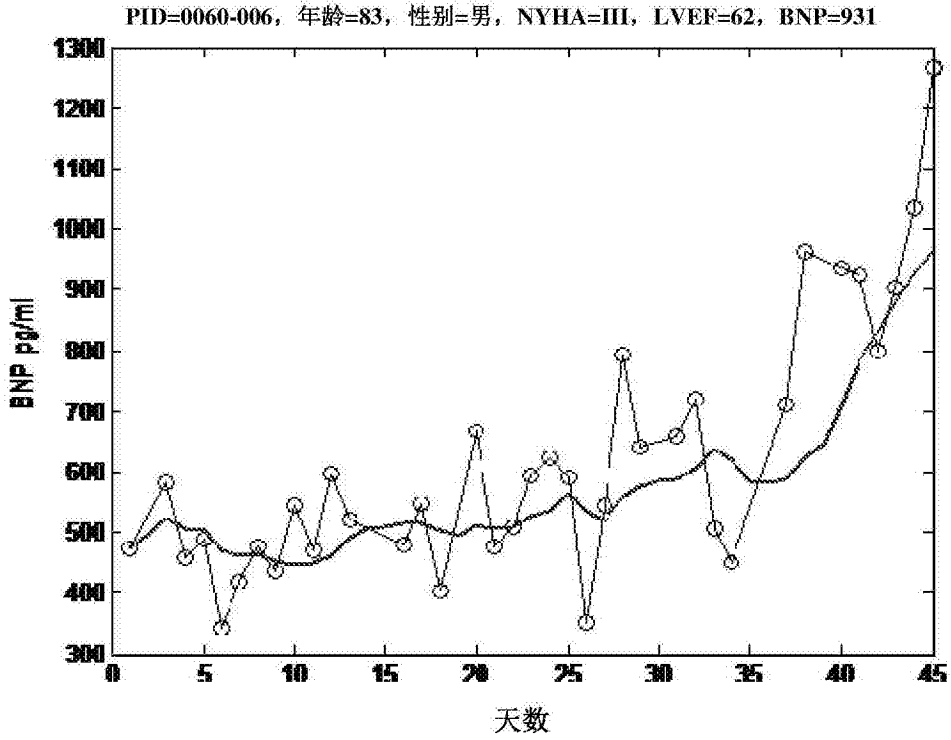


图 8(a)

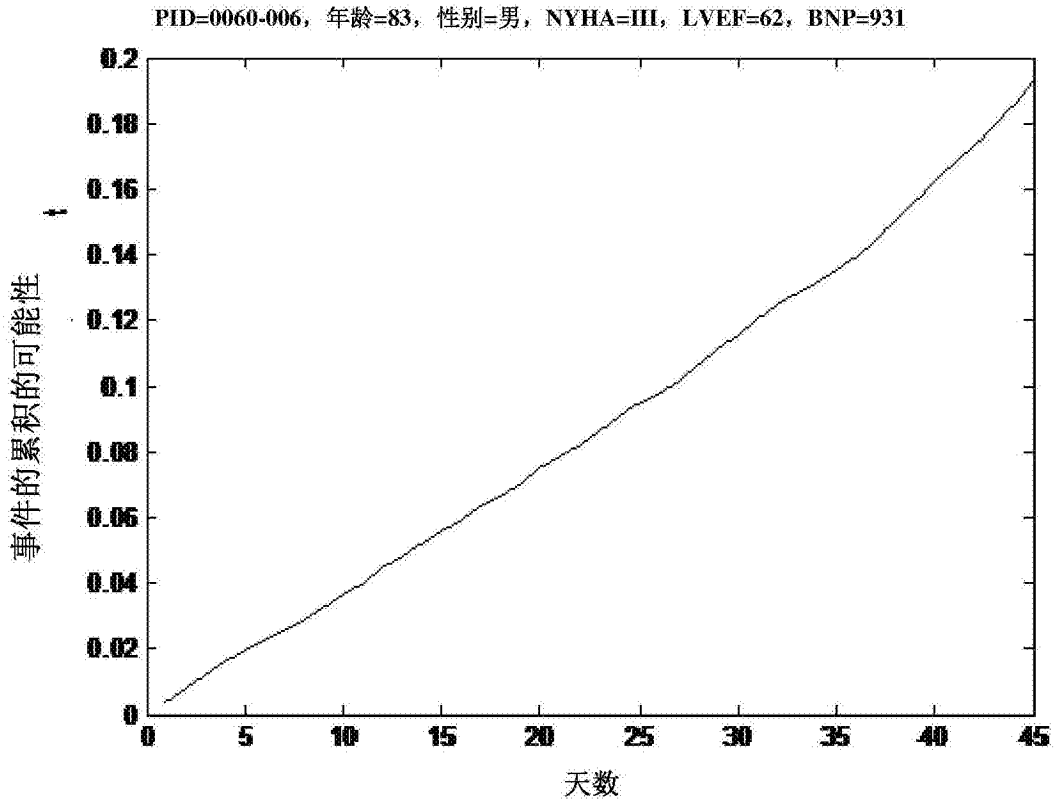


图 8(b)

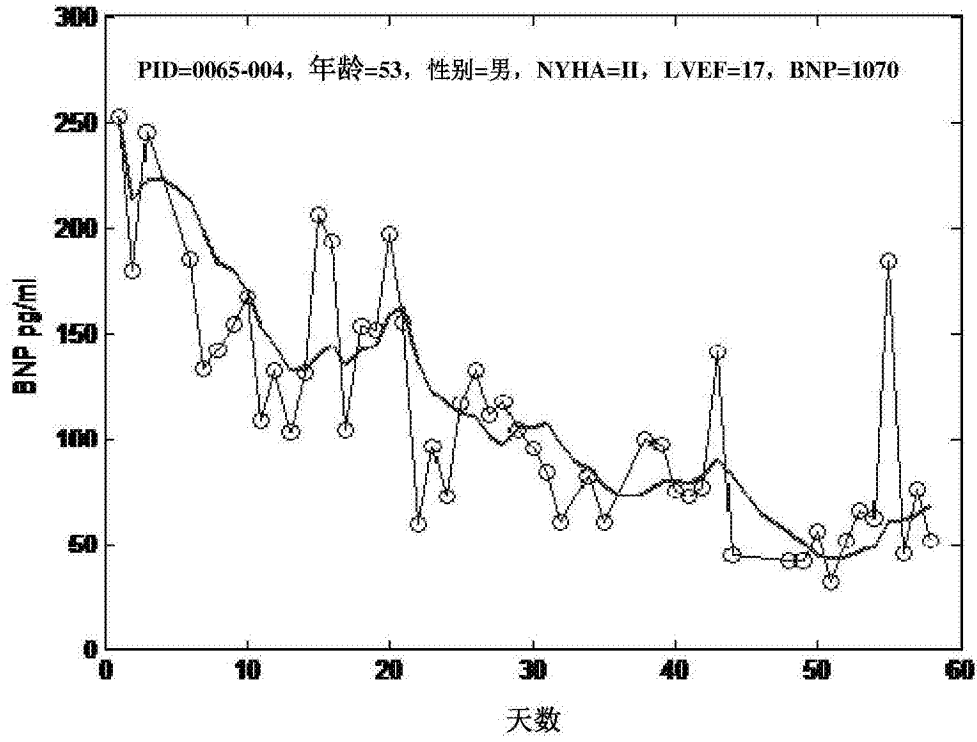


图 9(a)

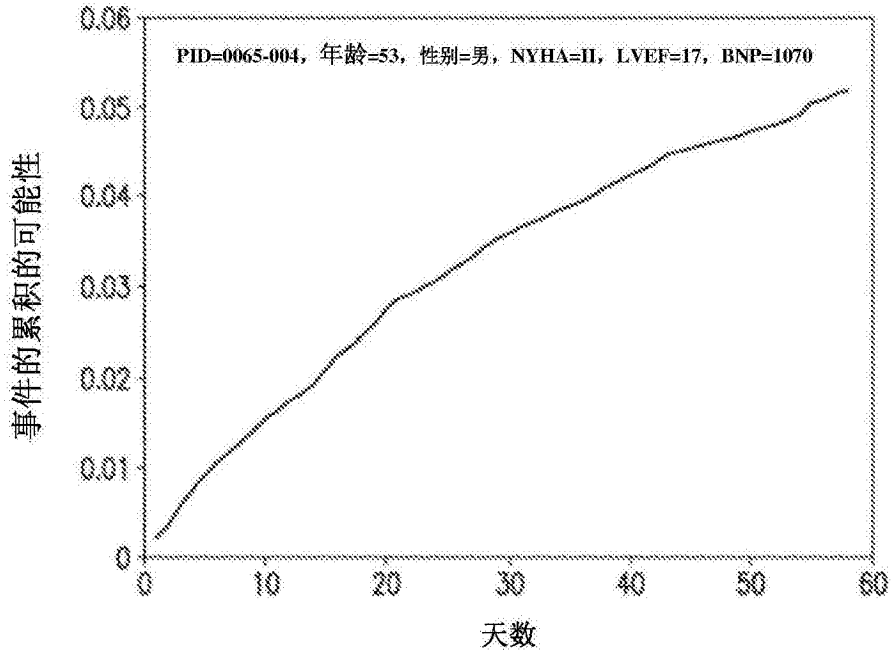


图 9(b)

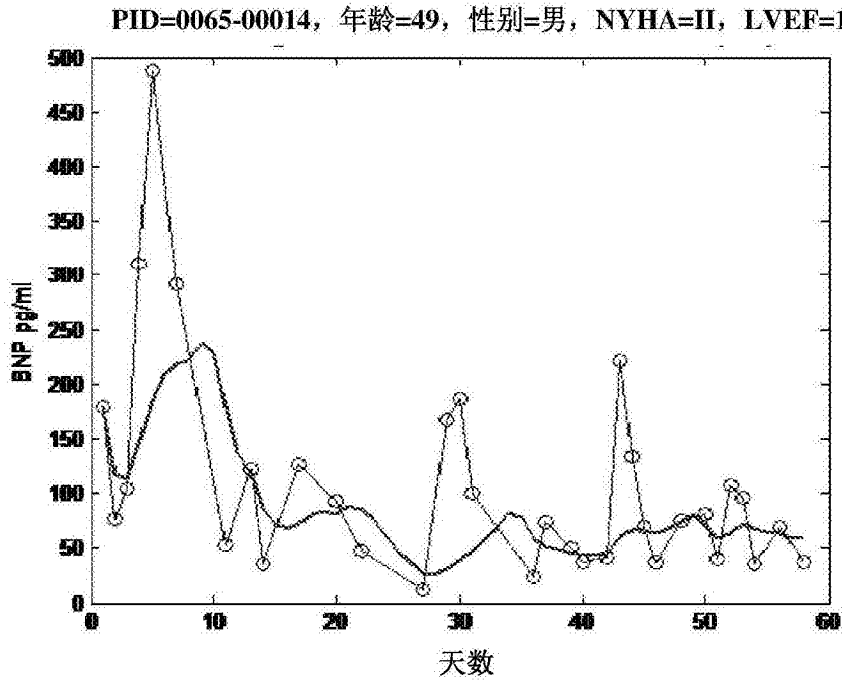


图 10(a)

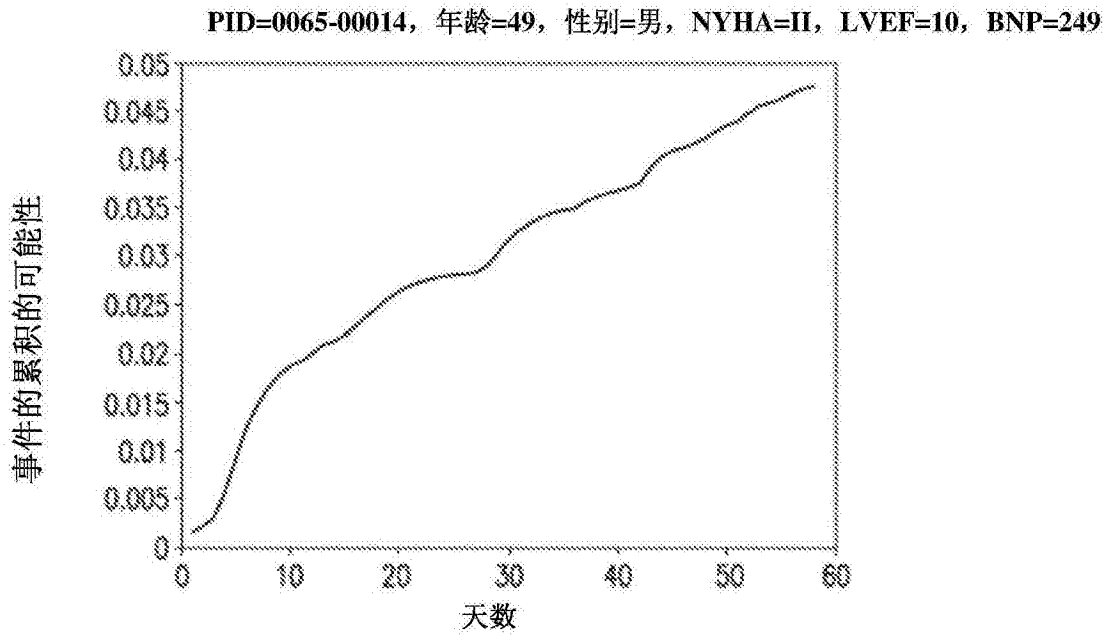


图 10(b)

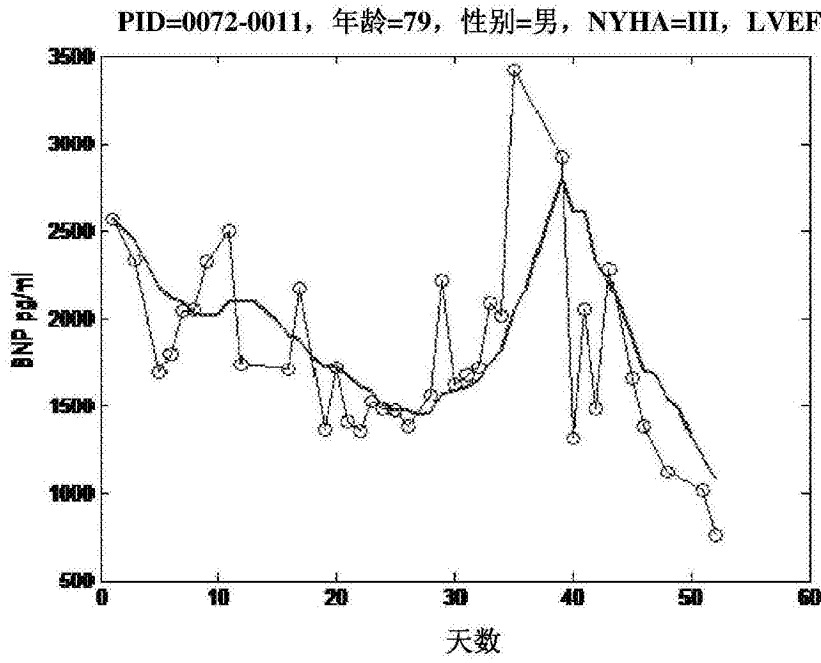


图 11(a)

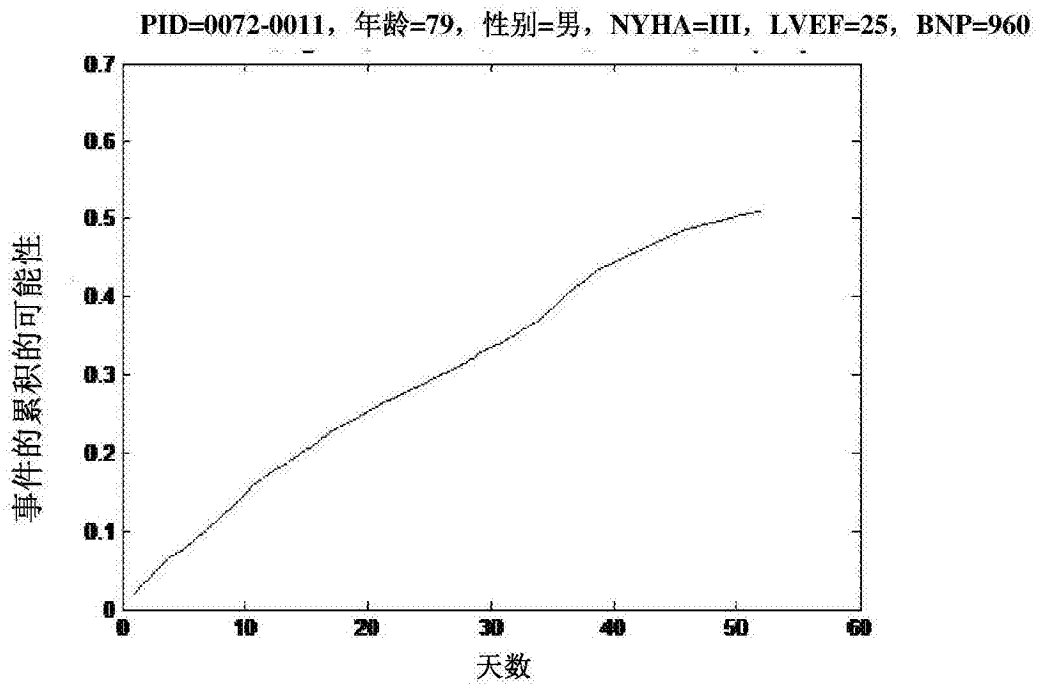


图 11(b)

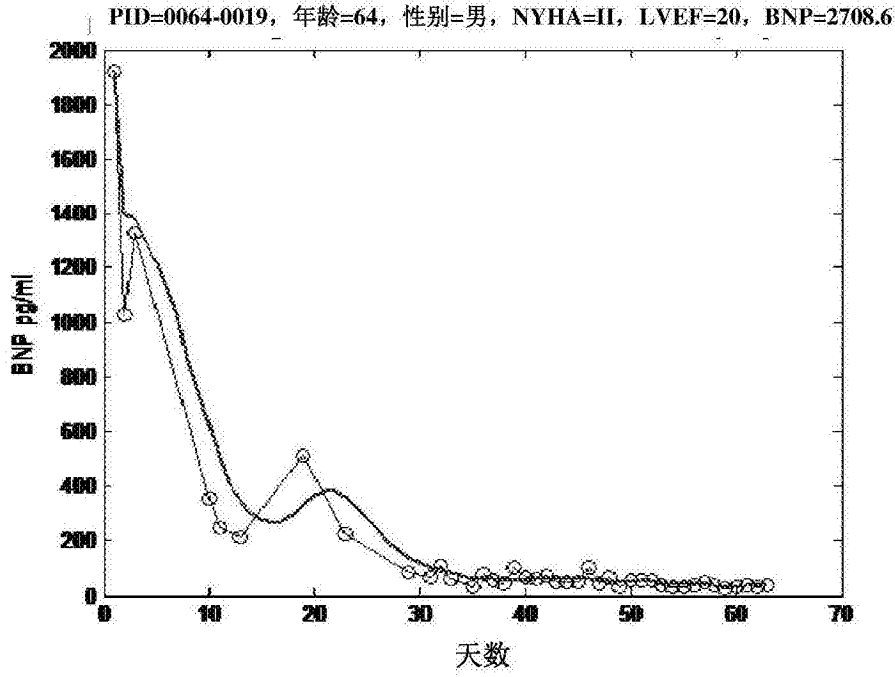


图 12(a)

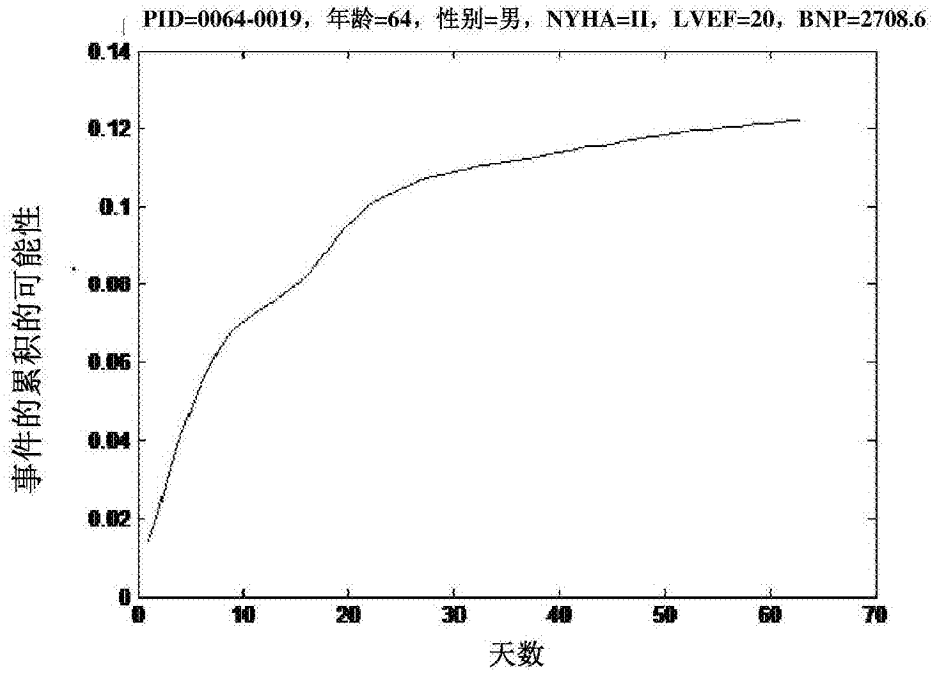


图 12(b)

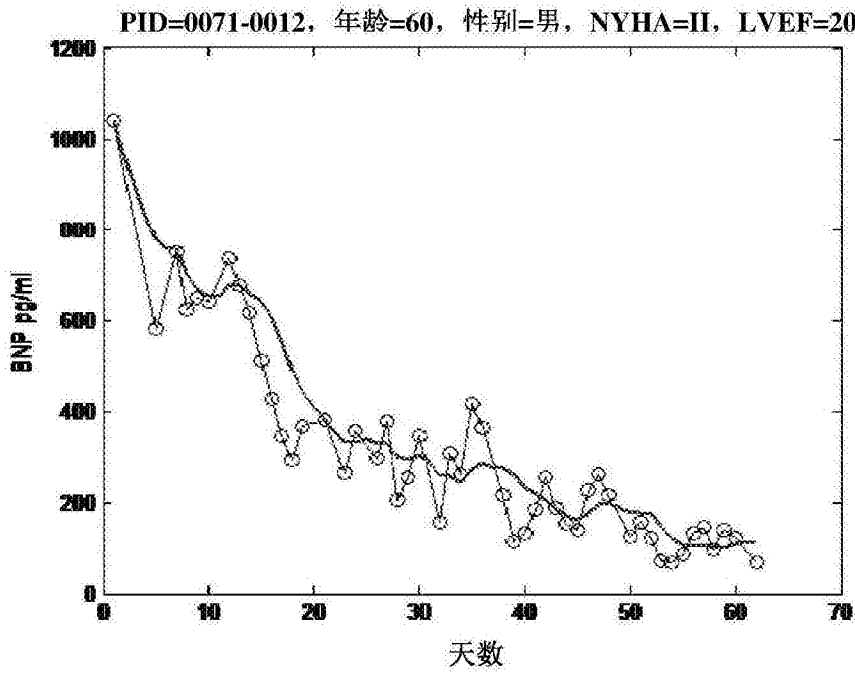


图 13(a)

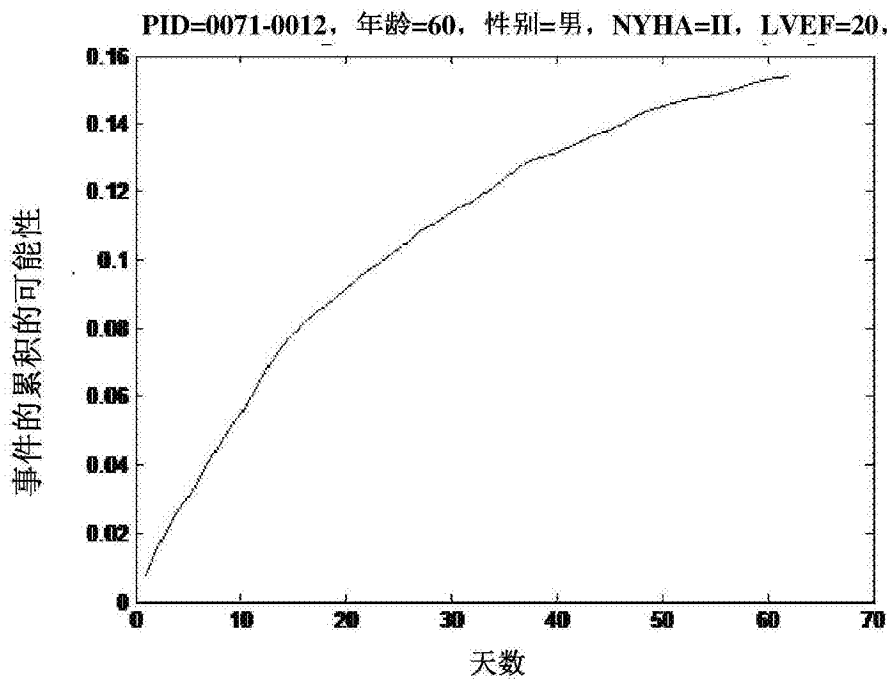


图 13(b)

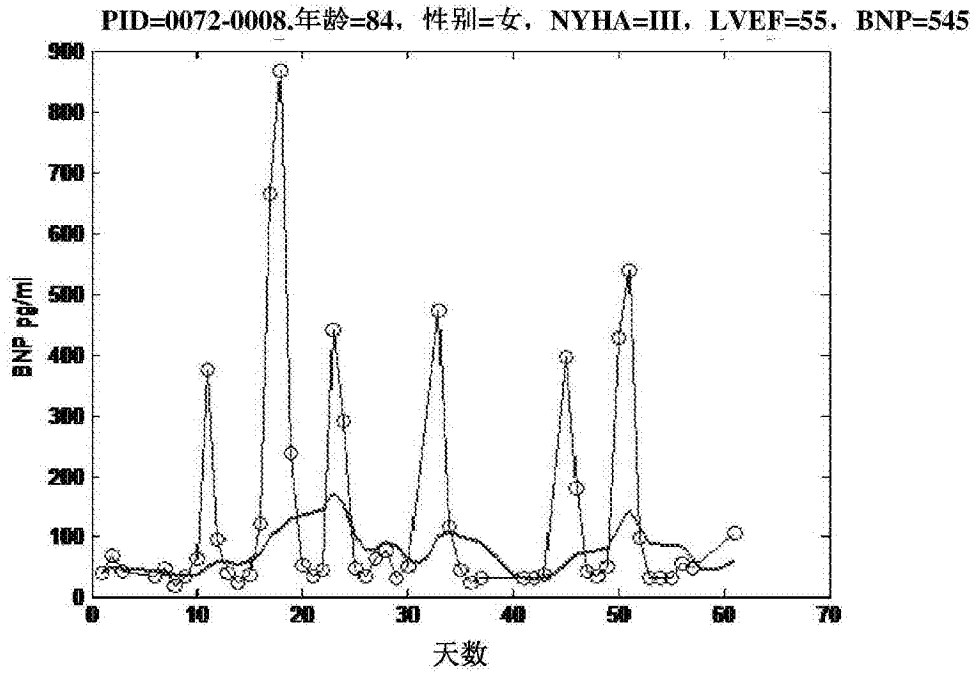


图 14(a)

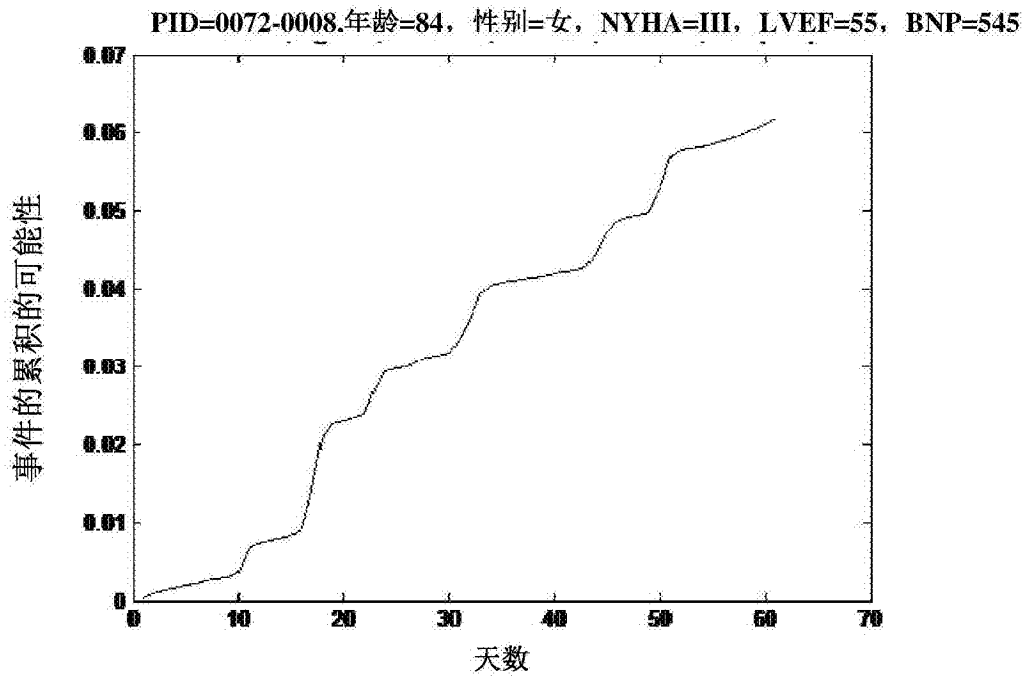


图 14(b)

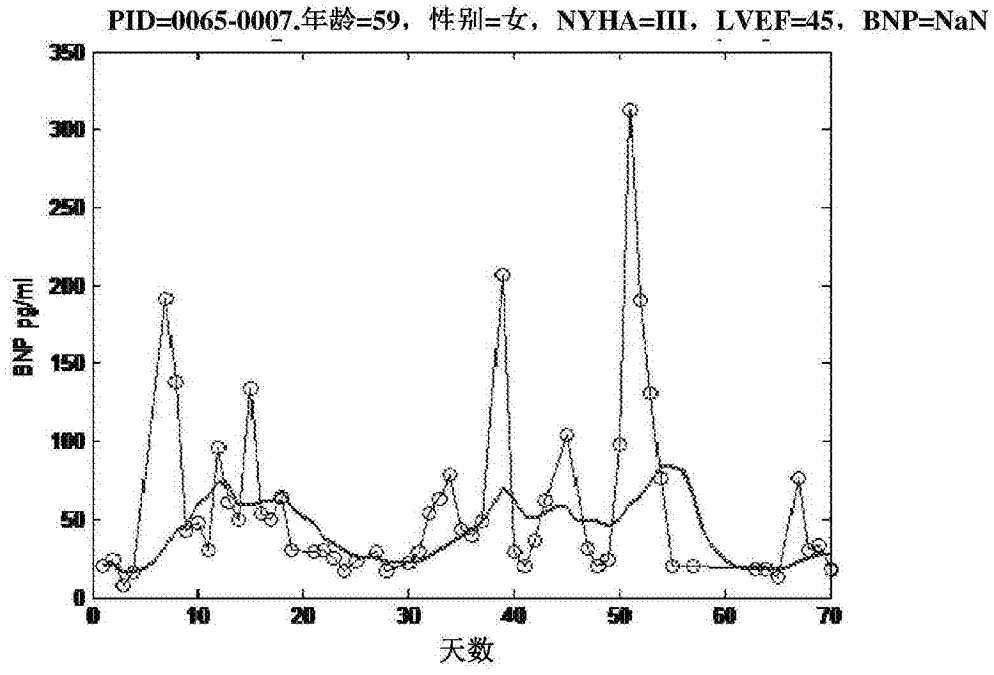


图 15(a)

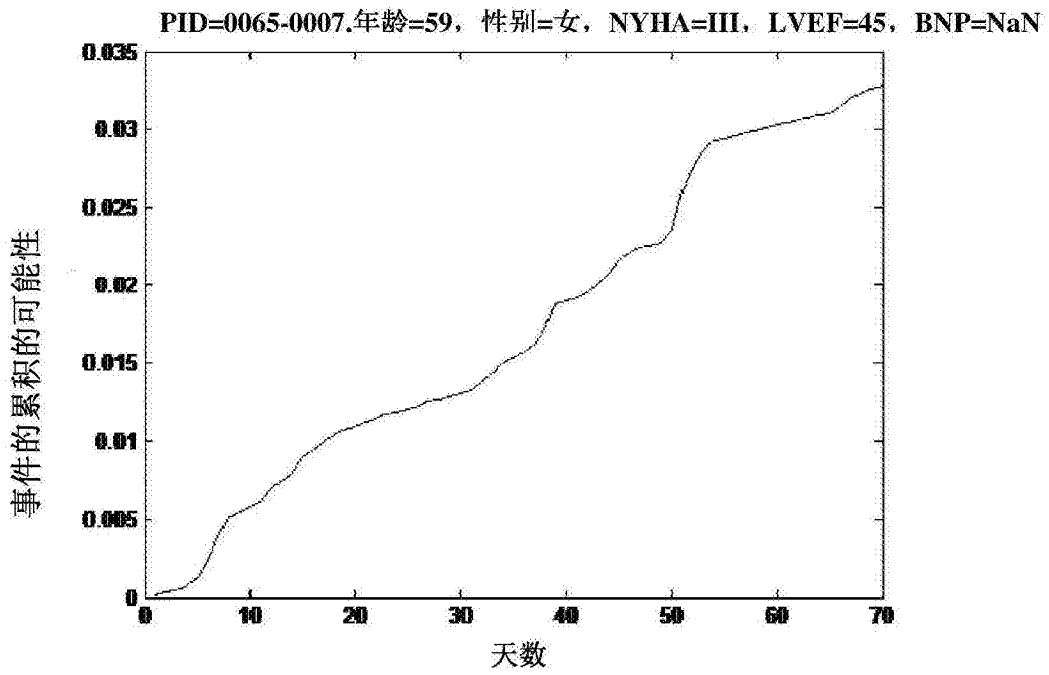


图 15(b)

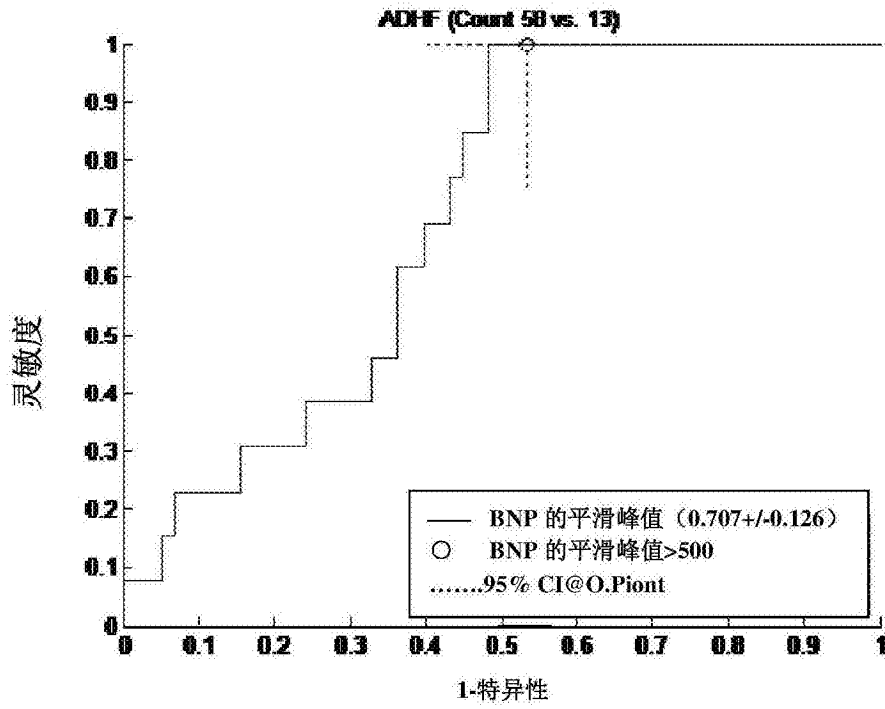


图 16(a)

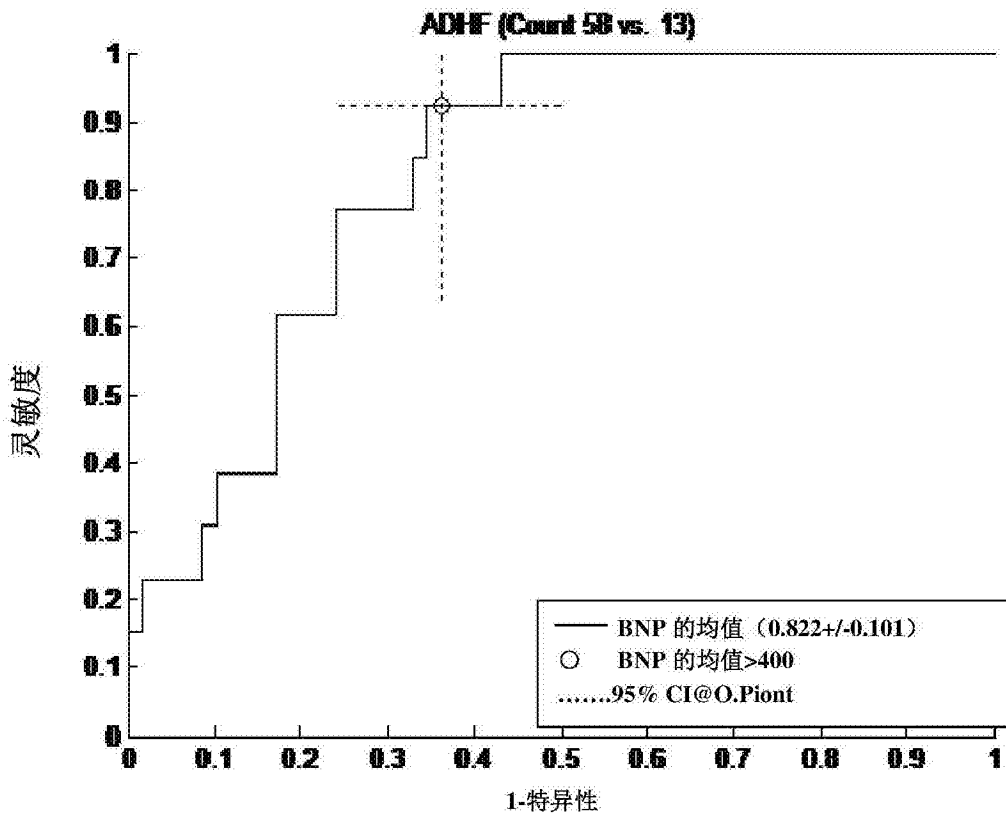


图 16(b)

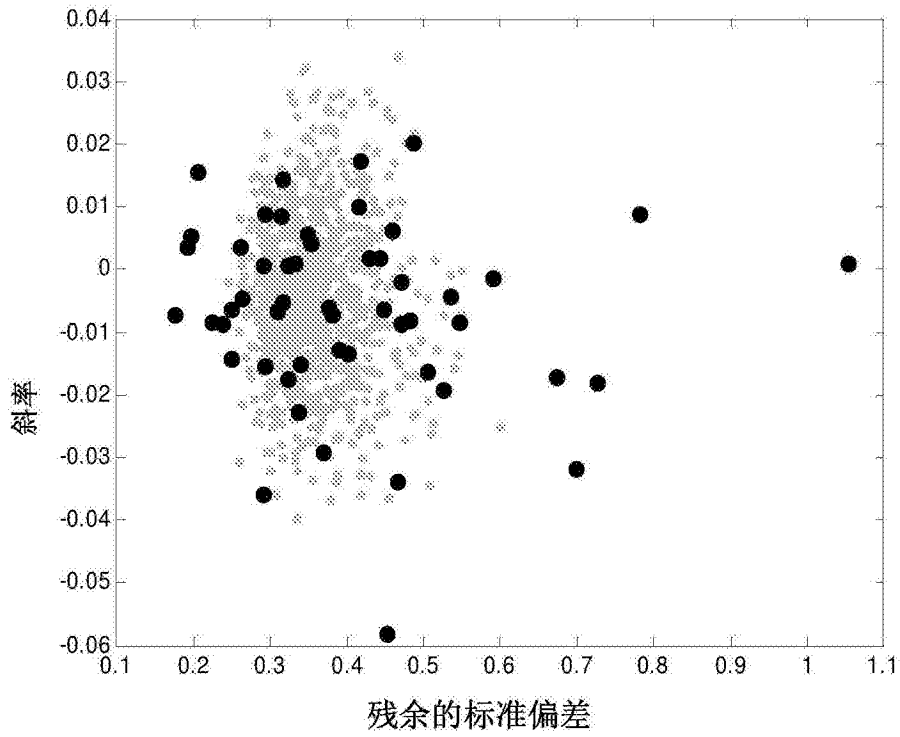


图 17

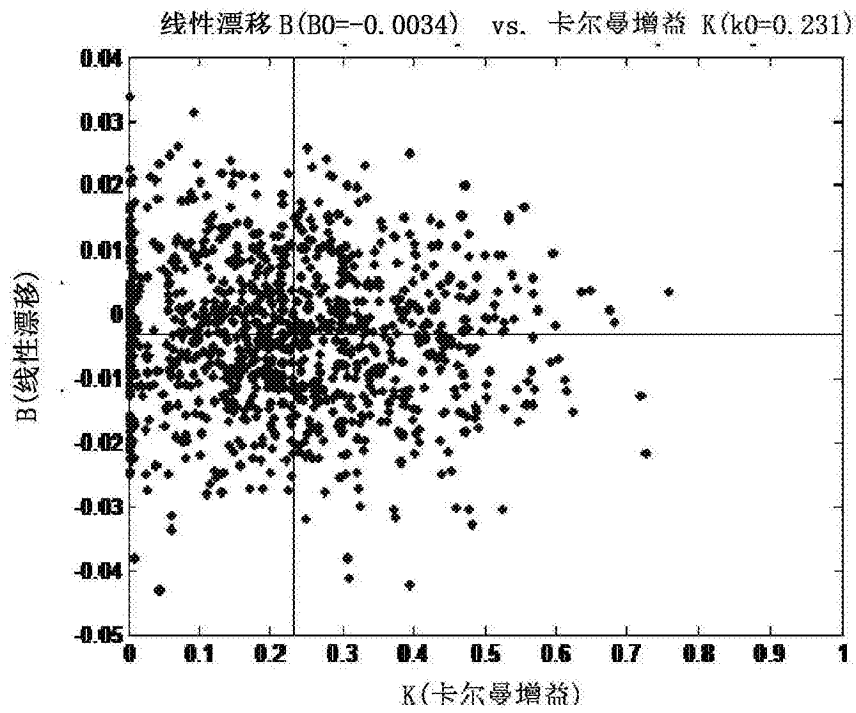


图 18(a)

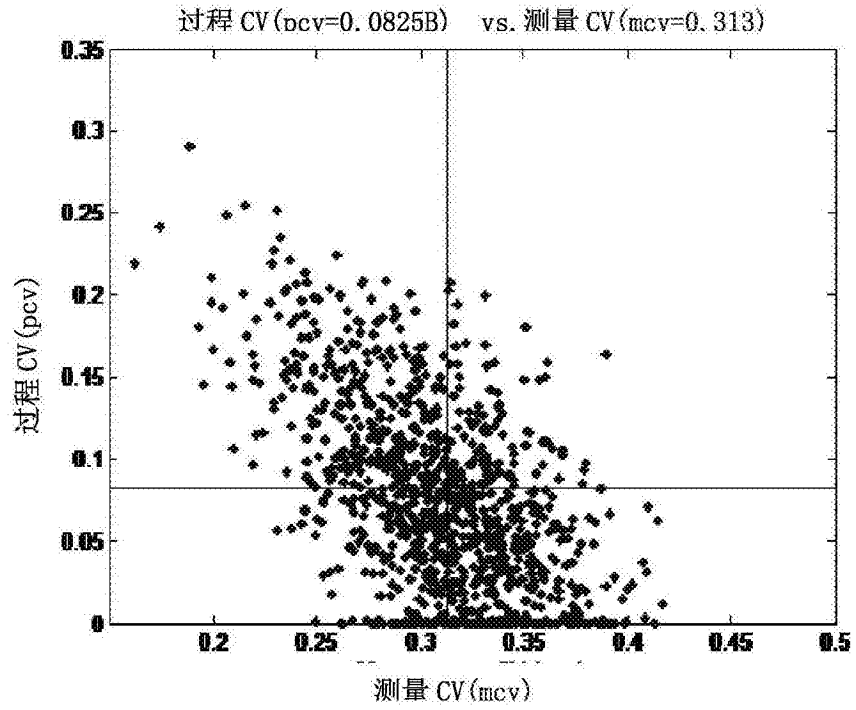


图 18(b)

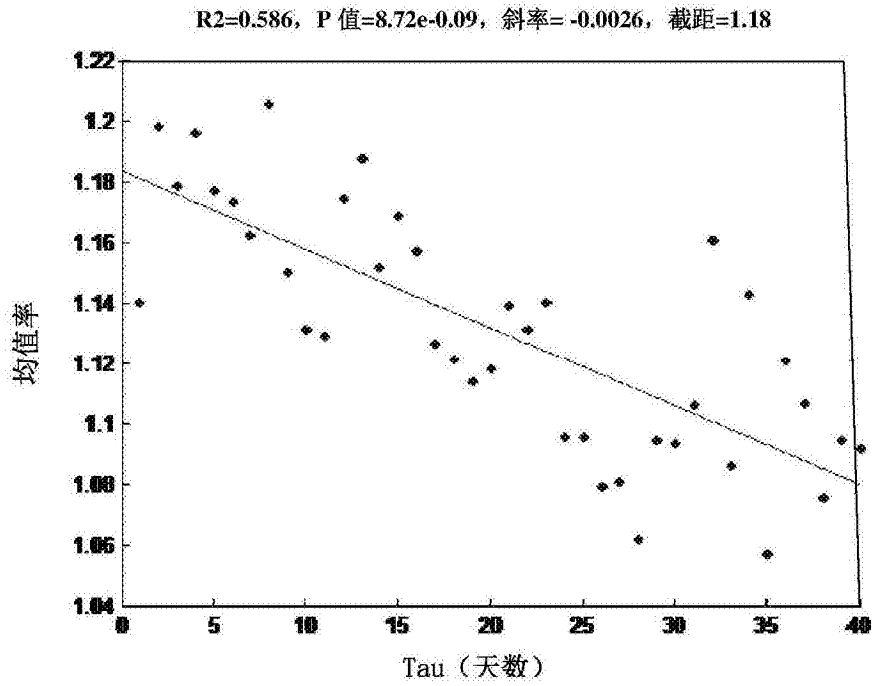


图 19(a)

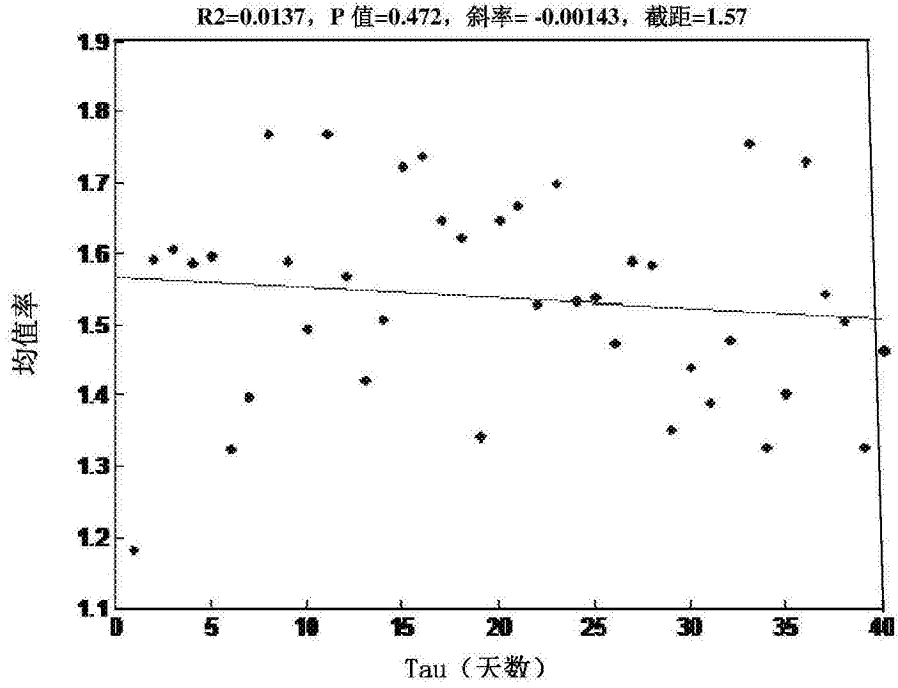


图 19(b)

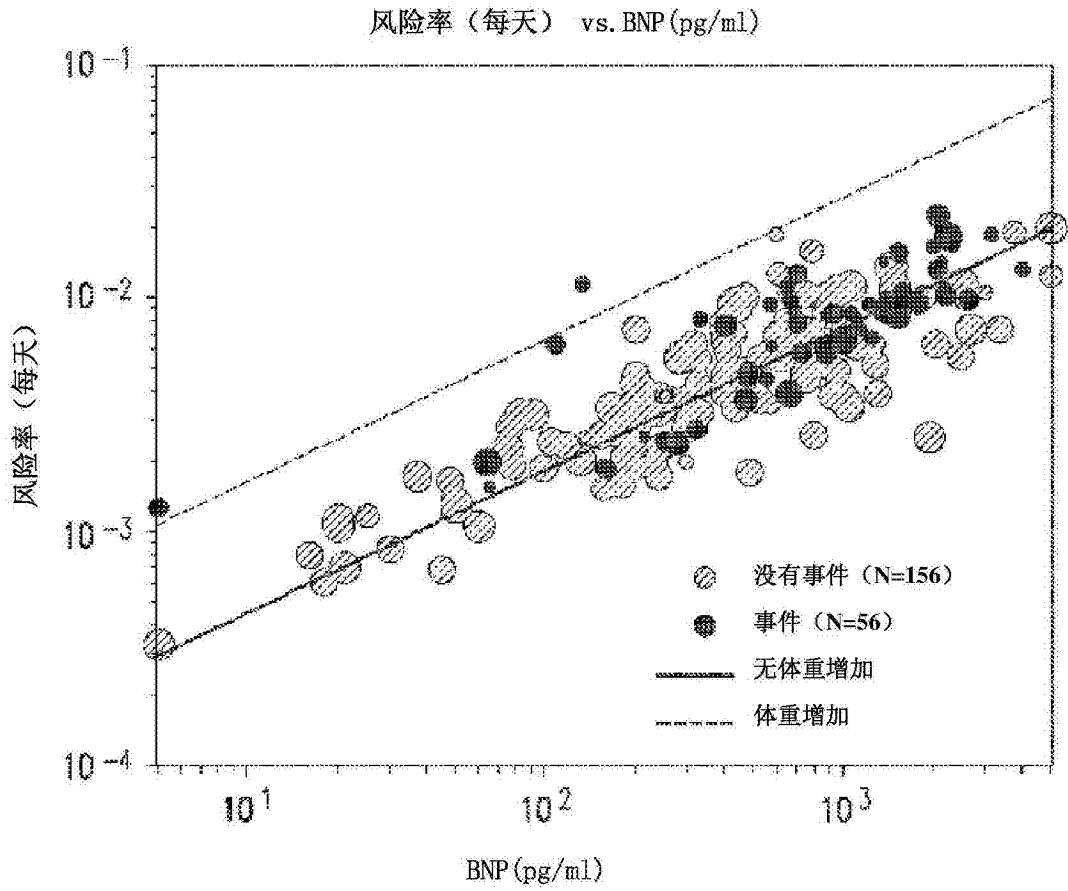


图 20

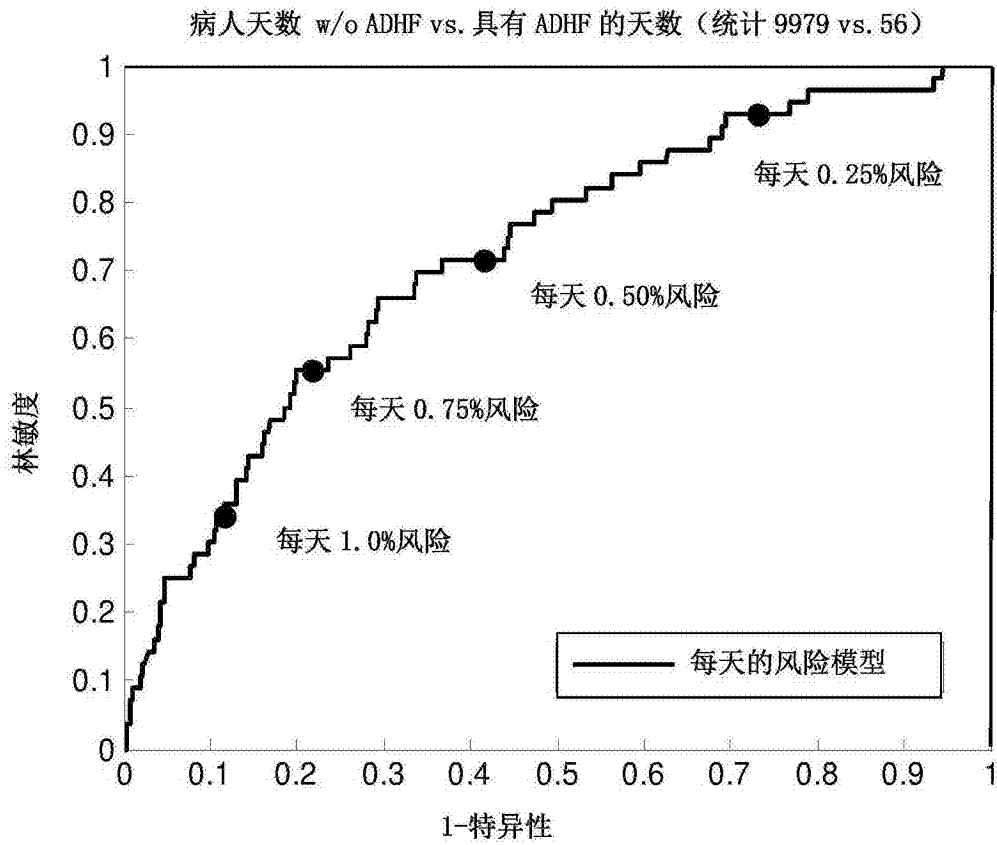


图 21

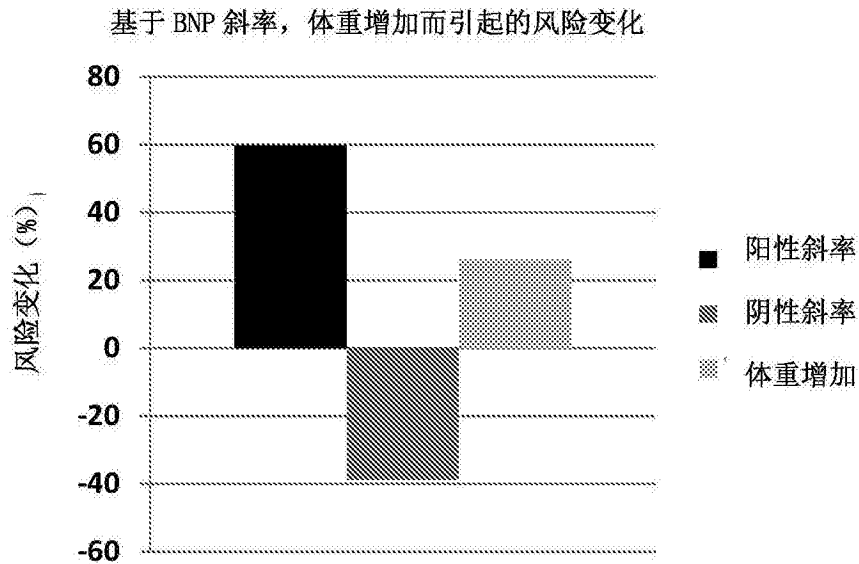


图 22

专利名称(译)	监测心衰的方法和试剂		
公开(公告)号	CN103748465B	公开(公告)日	2015-12-09
申请号	CN201280036515.6	申请日	2012-08-03
[标]申请(专利权)人(译)	美艾利尔圣地亚哥有限公司		
申请(专利权)人(译)	美艾利尔圣地亚哥公司		
当前申请(专利权)人(译)	美艾利尔圣地亚哥公司		
[标]发明人	K库泊 RC散吉瑞 J麦卡伦 K克干 DK梁		
发明人	K·库泊 R·C·散吉瑞 J·麦卡伦 K·克干 D·K·梁		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G06F19/3431 A61B5/02 G01N33/53 G01N33/6893 G01N33/74 G01N2333/58 G01N2800/325 G01N2800/52 G06F19/18 G06F19/24 G16H50/30 G01N33/6887 G01N2800/50 G16B20/00 G16B40/00 G16H40/63		
优先权	61/515534 2011-08-05 US		
其他公开文献	CN103748465A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明对正在遭受心衰或正在发展为心衰的主体提供监测的方法和检测的试剂。过滤的尿钠肽值，单独或和其他临床记录，例如体增加，可以被用于评估患者的风险（代谢失常的风险）。尿钠肽的累积分可以被用于评估长时间暴露的累积风险，例如14天或30天。

