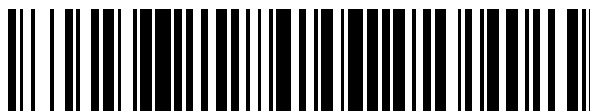


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 781 195**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/68** (2006.01)

**G01N 33/564** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.10.2015 PCT/ES2015/070717**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.04.2016 WO16051006**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.10.2015 E 15847971 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2019 EP 3236263**

54 Título: **Método para el diagnóstico de artrosis**

30 Prioridad:

**01.10.2014 ES 201431445**

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

**31.08.2020**

73 Titular/es:

**SERVIZO GALEGO DE SAÚDE (SERGAS) (33.3%)  
Edificio Administrativo de San Lazaro  
15703 Santiago de Compostela (A Coruña), ES;  
UNIVERSIDAD DE VIGO (33.3%) y  
FUNDACIÓN PROFESOR NOVOA SANTOS  
(33.3%)**

72 Inventor/es:

**BLANCO GARCÍA, FRANCISCO J.;;  
RUIZ ROMERO, CRISTINA;  
FERNÁNDEZ COSTA, CAROLINA;  
CAPELO MARTÍNEZ, JOSÉ LUÍS;  
FERNÁNDEZ RIVEROLA, FLORENTINO y  
REBOIRO JATO, MIGUEL**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 781 195 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

Método para el diagnóstico de artrosis

5 La presente invención se relaciona con un patrón de péptidos característico de sujetos que padecen artrosis para su uso en el diagnóstico de dicha enfermedad. Por lo tanto, la presente invención también se relaciona con un método *in vitro* de diagnóstico y el uso de un kit para la puesta en práctica de dicho método de diagnóstico. Por tanto, la invención pertenece al campo técnico del diagnóstico de enfermedades, en particular, el diagnóstico de artrosis.

10 **ESTADO DE LA TÉCNICA**

La artrosis es una patología reumática que lesiona el cartílago articular. Las articulaciones son los componentes del esqueleto que nos permiten el movimiento y, por tanto, nuestra autonomía funcional, y están formadas por la unión de dos huesos a través de la cápsula articular. En el interior de las mismas existe, generalmente, un fluido llamado líquido sinovial que es producido por la membrana sinovial. Los extremos óseos que se unen para formar la articulación están recubiertos por el cartílago articular.

20 Cuando este cartílago articular se lesiona, se produce dolor, rigidez e incapacidad funcional. Normalmente la artrosis se localiza en la columna cervical y lumbar, y en algunas articulaciones del hombro y de los dedos de las manos, la cadera, la rodilla y la articulación del comienzo del dedo gordo del pie.

Esta enfermedad reumática no es hereditaria en el sentido de que no hay un patrón de herencia fijo como puede ser el caso de la hemofilia, pero sí tiene un componente de riesgo genético que, junto con otros factores, puede hacer que aparezca con más facilidad en los sujetos que tienen una historia familiar. En España, la artrosis afecta al 10% de la población general, representando casi la cuarta parte del total de pacientes atendidos en las consultas de los reumatólogos.

30 Actualmente, el diagnóstico de la artrosis se basa en la evaluación de los síntomas y en la exploración física que realiza el médico al paciente. El médico valora qué síntomas tiene el enfermo, dónde se localizan, cómo es el dolor, en qué circunstancias mejora (con el reposo) o empeora (al subir o bajar escaleras, al abrir o cerrar grifos...), etc. También interroga sobre qué otras enfermedades padece el enfermo, qué tratamientos está recibiendo, y si él o algún familiar padecen o han padecido algún tipo de enfermedad reumática, traumatismo o lesión articular previos.

35 Las radiografías permiten confirmar el diagnóstico de artrosis, al poderse constatar en las articulaciones los cambios radiológicos típicos de los procesos artrósicos. Mediante los estudios radiológicos se puede determinar de una forma mucho más precisa la severidad de la artrosis.

40 Los análisis de sangre no tienen ninguna utilidad para diagnosticar la artrosis. Todos los resultados que se determinan son siempre normales, incluyendo las denominadas "pruebas reumáticas", es decir, no llevan a pensar que dichos sujetos padecen la enfermedad. La única ventaja para llevar a cabo dichos análisis es para confirmar, con su normalidad, el diagnóstico de artrosis, descartando otras enfermedades reumáticas que sí producen algunas alteraciones en los análisis de laboratorio. Por ejemplo, en las artritis están alteradas la velocidad de sedimentación de la sangre, el factor reumatoide y otras pruebas reumáticas; en la gota, el ácido úrico está alto, etc. Hasta la actualidad, no se ha identificado ningún marcador diagnóstico en el suero o en el líquido sinovial de los pacientes que permita hacer un diagnóstico o un seguimiento de la enfermedad.

50 En este sentido, el documento WO2010141469A2 se refiere a un método para caracterizar el riesgo de que un sujeto desarrolle una enfermedad autoinmune y/o aloinmune, preferiblemente una neumonía idiopática (IPS) después del trasplante de tejido, y para predecir la respuesta del paciente a un tratamiento anti-TNF, mediante el uso de niveles de expresión de marcadores que incluyen apolipoproteína A-IV, Zn-alfa-2-glicoproteína, apolipoproteína A-1 y alfa-2-antiplasmina.

55 Además, el documento WO2008021290A2 se refiere a proteínas específicas de órganos y los polinucleótidos que las codifican, juntos los paneles de diagnóstico y pronóstico, conjuntos y agentes individuales que comprenden reactivos o sondas para detectar las proteínas o polinucleótidos específicos de órganos mencionados y métodos para identificar y usar proteínas específicas de órganos. En particular, este documento describe paneles de proteínas que se han identificado como relacionadas con órganos específicos y, además, también relacionan estos órganos con enfermedades asociadas a órganos específicos, como las proteínas relacionadas con la vejiga que podrían estar supuestamente relacionadas con el cáncer de vejiga.

60 Además, el documento WO2011144934A1 describe el uso de un conjunto específico de biomarcadores, tales como el factor de complemento H, ApoAI, A2AP, ApoA4, ZA2G, etc., para el diagnóstico, el seguimiento terapéutico o la predisposición a la esquizofrenia y otros trastornos psicóticos.

Además, Nishioka T. *et al.* (Nishioka t. *et al.* Proteomics Clin Appl. 2008 Jan; 2 (1): 46-54) se refiere a un análisis proteómico para la identificación de biomarcadores de proteínas (APOA1, APOA4, ZA2G y A2AP) implicados en la exacerbación del asma.

5 Adicionalmente, Chen YT. *et al.* (Chen YT. *et al.* J Proteomics. 2012 Jun 27; 75 (12): 3529-45) se refiere a la identificación de 63 proteínas tales como, APOA1, APOA4, ZA2G y A2AP, entre otras, en una muestra de orina aislada de un sujeto, los cuales pueden ser útil como biomarcadores de diagnóstico para el cáncer de vejiga.

10 Estos documentos se refieren al uso de los niveles de expresión de biomarcadores en el diagnóstico de diferentes enfermedades, pero ninguno de ellos se refiere al diagnóstico de artrosis.

15 No obstante, se están realizando importantes avances en el estudio de los denominados marcadores biológicos de la artrosis. Son productos que se liberan desde el cartílago articular al líquido sinovial, orina o sangre durante la síntesis y destrucción del cartílago. Algunos de ellos son productos derivados del queratán-sulfato, del condroitín sulfato, del ácido hialurónico o la proteína oligomérica de la matriz cartilaginosa (COMP). El aumento de los conocimientos sobre los marcadores bioquímicos de la artrosis permitiría un mejor diagnóstico y una intervención más temprana en el tratamiento de la enfermedad, además de facilitar el desarrollo de fármacos, iniciar las terapias mejoradas, permitir mejores opciones de medicamentos, ofrecer opciones de dosificación seguras y finalmente disminuir los costos de atención de salud. Por lo tanto, existe en el estado de la técnica la necesidad de identificar marcadores de artrosis que permitan un diagnóstico temprano de la enfermedad de una forma más sencilla, fiable y segura.

### DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

25 Los autores de la presente invención han descubierto que los sujetos que padecen artrosis presentan un patrón peptídico no presente en sujetos sanos, ni en sujetos que padecen otro tipo de enfermedades reumáticas, como la artritis psoriásica (APS) y la artritis reumatoide (AR), lo que convierte a dicho patrón peptídico en una herramienta útil para el diagnóstico específico de la artrosis. Para obtener el mencionado patrón, los autores partieron de muestras de suero procedentes de pacientes diagnosticados con artrosis y sobre el mismo llevaron a cabo una depleción química con ditiotrietol (DTT) y acetonitrilo (ACN), para después digerir las proteínas con tripsina acelerada con ultrasonidos. A continuación, los péptidos resultantes fueron retenidos en una punta comercial C18 y eluidos con diferentes cantidades de ACN. Finalmente, cada fracción de elución se analizó por quintuplicado mediante espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF (Ejemplo 1), obteniendo las masas de los péptidos característicos del patrón peptídico presentes en sujetos que padecen artrosis. La posterior validación del patrón peptídico obtenido (Ejemplo 2), confirmó la utilidad de este patrón en el diagnóstico de la artrosis.

A continuación, se describen los diferentes aspectos inventivos desarrollados por los inventores.

40 En un primer aspecto, la presente invención se refiere al uso simultáneo *in vitro* del nivel y/o cantidad de expresión de los péptidos con las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11, como un marcador para el diagnóstico de artrosis en una muestra biológica aislada de un sujeto.

45 En una realización preferida, el uso *in vitro* simultáneo además comprende el nivel de expresión y/o cantidad de al menos uno de los péptidos seleccionados de la lista que consiste en: SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 79, o combinaciones de los mismos.

55 En otra realización preferida, el uso *in vitro* simultáneo se caracteriza porque la muestra biológica aislada es un fluido biológico, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en sangre, suero, plasma, líquido sinovial y orina.

60 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método *in vitro* para el diagnóstico de artrosis en una muestra aislada de un sujeto, que comprende:

(a) detectar simultáneamente, en la muestra biológica aislada del sujeto, el nivel de expresión y/o la cantidad de los péptidos con las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11, y

(b) comparar el nivel de expresión y/o la cantidad obtenida en la etapa (a) con una cantidad de referencia de una muestra biológica aislada obtenida de un sujeto control sano, en donde un nivel de expresión y/o cantidad de los péptidos significativamente mayor en la muestra biológica aislada del sujeto de la etapa (a) con respecto al nivel de expresión y/o cantidad de los péptidos en la muestra biológica aislada del sujeto control sano, es indicativo de artrosis.

En una realización preferida, el método *in vitro* de la invención, además comprende determinar, en la etapa (a), el nivel de expresión y/o la cantidad de al menos uno de los péptidos que se seleccionan de la lista que consiste en: SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, o combinaciones de los mismos, en donde un nivel de expresión y/o cantidad significativamente mayor de al menos uno de los péptidos seleccionados de la lista que consiste en: SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, o cualquier combinación de los mismos, y/o un nivel de expresión y/o cantidad significativamente menor de al menos uno de los péptidos seleccionados de la lista que consisten en: SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 74 , o cualquier combinación de los mismos, en la muestra biológica aislada del sujeto de la etapa (a) con respecto al nivel de expresión y/o cantidad de los péptidos en la muestra biológica aislada del sujeto control sano, es indicativo de artrosis.

En otra realización preferida, el método *in vitro* de la invención se caracteriza porque la muestra biológica aislada es un fluido biológico, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en sangre, suero, plasma, líquido sinovial y orina.

En otra realización preferida del método *in vitro* de la invención, se caracteriza porque la detección de los niveles de expresión y/o la cantidad de los péptidos se realiza mediante espectrometría de masas, ELISA, array, microarrays, citometría de flujo, espectrometría de masas, cromatografía de gases-espectrometría de masas o cromatografía de líquidos-espectrometría de masas.

En otro aspecto, la presente invención también se refiere al uso de un kit para el diagnóstico *in vitro* de artrosis en una muestra biológica aislada de un sujeto, en el que el kit comprende anticuerpos específicos contra los péptidos con las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11, u oligonucleótidos específicos capaces de hibridarse con la secuencia de nucleótidos que codifica los péptidos con las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11.

En una realización preferida, el uso del kit de la invención además comprende al menos un anticuerpo específico contra al menos uno de los péptidos con las secuencias SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 79, o combinaciones de los mismos, o al menos un oligonucleótido específico capaz de hibridarse con la secuencia de nucleótidos que codifica al menos uno de los péptidos con las secuencias SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, o combinaciones de los mismos.

NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 79, o combinaciones de los mismos.

En otra realización preferida, el uso del kit de la invención se caracteriza porque la muestra biológica aislada es un fluido biológico, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en sangre, suero, plasma, fluido sinovial y orina.

#### Resumen de otros aspectos de la invención.

Los autores de la presente invención han descubierto que pacientes con artrosis presentan un patrón peptídico característico el cuál no está presente ni en sujetos con enfermedades reumatoides distintas de la artrosis (como artritis psoriásica o artritis reumatoide) ni en sujetos sanos.

Por lo tanto, en un aspecto, la invención se relaciona con un patrón peptídico, de aquí en adelante, patrón peptídico de la invención, que comprende los siguientes péptidos: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11.

En la presente invención se entiende por "patrón peptídico", al conjunto o grupo de péptidos que están presentes en una muestra biológica de un sujeto y que es característico de su estado fisiológico. En el contexto de la presente invención, el patrón peptídico aquí descrito es característico de sujetos que padecen artrosis.

En la presente invención se entiende por "péptido" a la molécula formada por la unión de varios aminoácidos mediante enlaces peptídicos y que presentan, aproximadamente, entre 2 y 100 aminoácidos. Orientativamente, si el péptido comprende entre aproximadamente 2 y 15 aminoácidos se denomina oligopéptido, y si comprende entre aproximadamente 16 y 100 aminoácidos se denomina polipéptido.

Tal como se muestra en los ejemplos incluidos en la presente descripción, el patrón peptídico de la invención ha sido obtenido mediante espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF, por lo que los péptidos de la invención, además de estar caracterizados por su secuencia específica de aminoácidos, también están caracterizados por su valor masa/carga y su peso molecular [ver **Tabla 1**], los cuáles son parámetros estándar de este tipo de técnica.

**Tabla 1.** Valores masa/carga y peso molecular obtenidos por espectrometría de masas para cada péptido comprendido dentro del patrón peptídico de la invención. En la Tabla 1 se muestra también la secuencia peptídica de los péptidos que comprenden el patrón de la invención.

	Masa/carga (m/z)	Peso molecular (Da)	SEQ ID NO:	Secuencia peptídica
Péptido 01	1392,7526	1391,7526	1	QLTPYAQRMER
Péptido 02	1532,8060	1531,806	2	QKWEAEPVYVQR
Péptido 03	1758,9790	1757,979	3	ELQQRLEPYADQLR
Péptido 04	1910,0176	1909,0176	4	LHELQEKLSPLGEEMR
Péptido 05	2165,1272	2164,1272	5	QKLHELQEKLSPLGEEMR
Péptido 06	2180,1445	2179,1445	6	LHELQEKLSPLGEEMRDR
Péptido 07	2280,1501	2279,1501	7	DSFHLDEQFTVPVEMMQAR
Péptido 08	2291,2260	2290,226	8	ARAHVDALRTHLAPYSDELRL
Péptido 09	2407,2880	2406,288	9	LHELQEKLSPLGEEMRDRAR
Péptido 10	2436,2922	2435,2922	10	QKLHELQEKLSPLGEEMRDR
Péptido 11	2663,4314	2662,4314	11	QKLHELQEKLSPLGEEMRDRAR

En un aspecto particular, el patrón peptídico de la invención comprende, además, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos que se muestran en la **Tabla 2**, que están caracterizados tanto por su secuencia específica de aminoácidos, como por su valor masa/carga y su peso molecular.

ES 2 781 195 T3

**Tabla 2.** Secuencias y valores masa/carga y peso molecular obtenidos por espectrometría de masas para cada péptido adicional que puede usarse en combinación con el patrón peptídico de la invención.

	<b>Masa/carga (m/z)</b>	<b>Peso molecular (Da)</b>	<b>SEQ ID NO:</b>	<b>Secuencia peptídica</b>
Péptido 12	871,502	870,502	12	VLNQELR
Péptido 13	896,490	895,490	13	YLTWASR
Péptido 14	961,627	960,627	14	GVTFLRR
Péptido 15	980,529	979,529	15	VGIVSGWGR
Péptido 16	1019,604	1018,604	16	AFKAWAVAR
Péptido 17	1108,588	1107,588	17	LQTDLSEFR
Péptido 18	1117,669	1116,669	18	GFSPKDLVR
Péptido 19	1148,634	1147,634	19	DAVSAAFKGLK
Péptido 20	1213,667	1212,667	20	WLQGSQELPR
Péptido 21	1237,674	1236,674	21	LETPDFQLFK
Péptido 22	1247,652	1246,652	22	LGMFNIQHCK
Péptido 23	1249,655	1248,655	23	LICQATGFSPR
Péptido 24	1255,716	1254,716	24	LRCLAPLEGAR
Péptido 25	1263,683	1262,683	25	LGMFNIQHCK
Péptido 26	1299,609	1298,609	26	WQEEMELYR
Péptido 27	1380,780	1379,780	27	VQPYLDDFQKK
Péptido 28	1403,749	1402,749	28	RLGMFNIQHCK
Péptido 29	1449,800	1448,800	29	VVAGVANALAHKYH
Péptido 30	1465,689	1464,689	30	DSGEGDFLAEGGGVR
Péptido 31	1467,852	1466,852	31	VEPLRAELQEGAR
Péptido 32	1470,813	1469,813	32	WLQGSQELPREK
Péptido 33	1502,810	1501,810	33	VCPFAGILENGAVR
Péptido 34	1518,710	1517,710	34	ADSGEGDFLAEGGGVR
Péptido 35	1519,750	1518,750	35	ALYLQYTDETFR
Péptido 36	1568,914	1567,914	36	LAARLEALKENGGAR
Péptido 37	1569,907	1568,907	37	LAARLEALKENGGAR
Péptido 38	1585,846	1584,846	38	THLAPYSDELRR
Péptido 39	1612,849	1611,849	39	LLDNWDSVTSTFSK
Péptido 40	1641,892	1640,892	40	ITPNLAEFASLYR
Péptido 41	1641,892	1640,892	41	AGDFLEANYMNLQR
Péptido 42	1669,862	1668,862	42	VLGAFSDGLAHLNLIK
Péptido 43	1706,931	1705,931	43	QKVEPLRAELQEGAR
Péptido 44	1707,875	1706,875	44	YVMLPVADQDQCIR
Péptido 45	1736,970	1735,970	45	LSQRFPKAEFAEVSK
Péptido 46	1743,882	1742,882	46	YAASSYLSLTPEQWK
Péptido 47	1745,901	1744,901	47	YVGGQEHFAHLILR
Péptido 48	1771,885	1770,885	48	SLAELGGHLDQQVEEF
Péptido 49	1786,909	1785,909	49	GLPGPPDVPDHAAYHPF
Péptido 50	1810,992	1809,992	50	SYFEKSKEQLTPLIK
Péptido 51	1815,922	1814,922	51	DSGRDYVSQFEGSALGK
Péptido 52	1825,005	1824,005	52	ILGGHLDKGSFPWQAK
Péptido 53	1834,946	1833,946	53	VMPICLPSKDIAEVGR
Péptido 54	1864,027	1863,027	54	EVQLVESGGGLVQPGGSLR

	Masa/carga (m/z)	Peso molecular (Da)	SEQ ID NO:	Secuencia peptídica
Péptido 55	1875,997	1874,997	55	VYACEVTHQGLSSPVTK
Péptido 56	1876,017	1875,017	56	VTLTCVAPLSGVDFQLR
Péptido 57	1884,000	1883,000	57	EIVLTQSPGTLSLSPGER
Péptido 58	1899,060	1898,060	58	FNKPFVFLMIEQNTK
Péptido 59	1906,873	1905,873	59	SEAEDASLLSFMQGYMK
Péptido 60	1922,877	1921,877	60	SEAEDASLLSFMQGYMK
Péptido 61	1932,038	1931,038	61	SLHTLFGDKLCTVATLR
Péptido 62	2012,011	2011,011	62	TFGSGEADCGLRPLFEKK
Péptido 63	2020,138	2019,138	63	VLDAVRGSPAINVAVHVFR
Péptido 64	2153,112	2152,112	64	SLEDKTERELLESYIDGR
Péptido 65	2186,092	2185,092	65	LYHSEAFTVNFVDTEEAKK
Péptido 66	2190,132	2189,132	66	CEGPIPDVTFELLREGETK
Péptido 67	2296,219	2295,219	67	TPGAAANLELIFVGPQHAGNYR
Péptido 68	2315,195	2314,195	68	QSNNKYAASSYLSLTPEQWK
Péptido 69	2344,169	2343,169	69	SEAEDASLLSFMQGYMKHATK
Péptido 70	2348,245	2347,245	70	AHVDALRTHLAPYSDELQR
Péptido 71	2394,298	2393,298	71	LTPYADEFKVKIDQTVHEELR
Péptido 72	2409,281	2408,281	72	GAHGPRPDTVGQRGGSRPSPGPIR
Péptido 73	2565,322	2564,322	73	GPPGLPGLKGDGPVPLPGAKGEVGDG V
Péptido 74	2602,358	2601,358	74	AVPPNNSNAAEDDLPTVELQGVVPR
Péptido 75	2652,448	2651,448	75	TVRTPGAAANLELIFVGPQHAGNYR
Péptido 76	2670,387	2669,387	76	DEPPQSPWDRVKDLATVYVDVLK
Péptido 77	2695,362	2694,362	77	QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR
Péptido 78	2790,425	2789,425	78	YRSWVPHTFESESDPVELLVAES
Péptido 79	2940,755	2939,755	79	SASLHLPKLSITGTYDLKSVLQGLGITK

En otro aspecto más particular, el patrón peptídico de la invención comprende, además, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos que se muestran en la **Tabla 3**, que están caracterizados tanto por su secuencia específica de aminoácidos, como por su valor masa/carga y su peso molecular. Los péptidos mostrados en la Tabla 3 pueden usarse en combinación con el patrón peptídico de la invención para diferenciar entre sujetos artrósicos y sujetos normales. En otro aspecto más preferido, los sujetos artrósicos muestran una presencia incrementada de los péptidos mostrados en la Tabla 3 respecto a los sujetos control sanos.

**Tabla 3.** Secuencias y valores masa/carga y peso molecular obtenidos por espectrometría de masas para cada péptido adicional que puede usarse en combinación con el patrón peptídico de la invención para diferenciar entre sujetos artrósicos y sujetos normales.

	Masa/carga (m/z)	Peso molecular (Da)	SEQ ID NO:	Secuencia peptídica
Péptido 13	896,490	895,490	13	YLTWASR
Péptido 14	961,627	960,627	14	GVTFLRR
Péptido 15	980,529	979,529	15	VGIVSGWGR
Péptido 16	1019,604	1018,604	16	AFKAWAVAR
Péptido 17	1108,588	1107,588	17	LQTDLSEFR
Péptido 18	1117,669	1116,669	18	GFSPKDLVLR
Péptido 19	1148,634	1147,634	19	DAVSAAFKGLK

	<b>Masa/carga (m/z)</b>	<b>Peso molecular (Da)</b>	<b>SEQ ID NO:</b>	<b>Secuencia peptídica</b>
Péptido 20	1213,667	1212,667	20	WLQGSQELPR
Péptido 21	1237,674	1236,674	21	LETPDFQLFK
Péptido 24	1255,716	1254,716	24	LRCLAPLEGAR
Péptido 28	1403,749	1402,749	28	RLGMFNIQHCK
Péptido 32	1470,813	1469,813	32	WLQGSQELPREK
Péptido 33	1502,810	1501,810	33	VCPFAGILENGAVR
Péptido 36	1568,914	1567,914	36	LAARLEALKENGGAR
Péptido 38	1585,846	1584,846	38	THLAPYSDELQR
Péptido 40	1641,892	1640,892	40	ITPNLAFAFSLYR
Péptido 41	1641,892	1640,892	41	AGDFLEANYMNLQR
Péptido 42	1669,862	1668,862	42	VLGAFSDGLAHLNLK
Péptido 43	1706,931	1705,931	43	QKVEPLRAELQEGAR
Péptido 51	1815,922	1814,922	51	DSGRDYVSQFEGSALGK
Péptido 52	1825,005	1824,005	52	ILGGHLDKGSFPWQAK
Péptido 53	1834,946	1833,946	53	VMPICLPSKDYAEVGR
Péptido 54	1864,027	1863,027	54	EVQLVESGGGLVQPGGSLR
Péptido 55	1875,997	1874,997	55	VYACEVTHQGLSSPVTK
Péptido 56	1876,017	1875,017	56	VTLTCVAPLSGVDFQLR
Péptido 57	1884,000	1883,000	57	EIVLTQSPGTLISLSPGER
Péptido 65	2186,092	2185,092	65	LYHSEAFTVNFVDTEEAKK
Péptido 67	2296,219	2295,219	67	TPGAAANLELIFVGPQHAGNYR
Péptido 68	2315,195	2314,195	68	QSNKYAASSYLSLTPEQWK
Péptido 70	2348,245	2347,245	70	AHVDALRTHLAPYSDELQR
Péptido 75	2652,448	2651,448	75	TVRTPGAAANLELIFVGPQHAGNYR
Péptido 76	2670,387	2669,387	76	DEPPQSPWDRVKDLATVYVDVLK
Péptido 77	2695,362	2694,362	77	QSNKYAASSYLSLTPEQWKSHR
Péptido 78	2790,425	2789,425	78	YRSWVPHTFESESDPVLLVAES

En otro aspecto más preferido, el patrón peptídico de la invención comprende, además, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos que se muestran en la **Tabla 4**, que están caracterizados tanto por su secuencia específica de aminoácidos, como por su valor masa/carga y su peso molecular. Los péptidos mostrados en la Tabla 4 pueden usarse en combinación con el patrón peptídico de la invención para diferenciar entre sujetos artrósicos y sujetos normales. En otro aspecto preferido, los sujetos artrósicos muestran una presencia disminuida de los péptidos mostrados en la Tabla 4 respecto a los sujetos control sanos.

**Tabla 4.** Secuencias y valores masa/carga y peso molecular obtenidos por espectrometría de masas para cada péptido adicional que puede usarse en combinación con el patrón peptídico de la invención para diferenciar entre sujetos artrósicos y sujetos normales.

	<b>Masa/carga (m/z)</b>	<b>Peso molecular (Da)</b>	<b>SEQ ID NO:</b>	<b>Secuencia peptídica</b>
Péptido 12	871,502	870,502	12	VLNQELR
Péptido 34	1518,71	1517,71	34	ADSGEGDFLAEGGGVR



	Masa/carga (m/z)	Peso molecular (Da)	SEQ ID NO:	Secuencia peptídica
Péptido 50	1810,992	1809,992	50	SYFEKSKEQLTPLIK
Péptido 60	1922,877	1921,877	60	SEAEDASLLSFMQGYMK
Péptido 62	2012,011	2011,011	62	TFGSGEADCGLRPLFEKK
Péptido 64	2153,112	2152,112	64	SLEDKTERELLESYIDGR
Péptido 74	2602,358	2601,358	74	AVPPNNSNAEEDDLPTVELQGVVPR

5 En otro aspecto particular, el patrón peptídico de la invención comprende, además, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos que se muestran en la **Tabla 5**, que están caracterizados tanto por su secuencia específica de aminoácidos, como por su valor masa/carga y su peso molecular. Los péptidos mostrados en la Tabla 5 pueden usarse en combinación con el patrón peptídico de la invención para diferenciar entre sujetos artrósicos de sujetos que padecen artritis reumatoide.

10 **Tabla 5.** Secuencias y valores masa/carga y peso molecular obtenidos por espectrometría de masas para cada péptido adicional que puede usarse en combinación con el patrón peptídico de la invención para diferenciar entre sujetos artrósicos de sujetos que padecen artritis reumatoide.

	Masa/carga (m/z)	Peso molecular (Da)	SEQ ID NO:	Secuencia peptídica
Péptido 22	1247,652	1246,652	22	LGMFNIQHCK
Péptido 23	1249,655	1248,655	23	LICQATGFSPR
Péptido 26	1299,609	1298,609	26	WQEEMELYR
Péptido 30	1465,689	1464,689	30	DSGEGDFLAEGGGVR
Péptido 31	1467,852	1466,852	31	VEPLRAELQEGAR
Péptido 35	1519,75	1518,75	35	ALYLQYTDIFR
Péptido 39	1612,849	1611,849	39	LLDNWDSVTSTFSK
Péptido 45	1736,97	1735,97	45	LSQRFPKAEFAEVSK
Péptido 46	1743,882	1742,882	46	YAASSYLSLTPEQWK
Péptido 47	1745,901	1744,901	47	YVGGQEHFAHLLILR
Péptido 48	1771,885	1770,885	48	SLAELGGHLDQQVEEF
Péptido 58	1899,060	1898,060	58	FNKPFVFLMIEQNTK
Péptido 59	1906,873	1905,873	59	SEAEDASLLSFMQGYMK
Péptido 61	1932,038	1931,038	61	SLHTLFGDKLCTVATLR
Péptido 63	2020,138	2019,138	63	VLDVAVRGSPAINVAVHVFR
Péptido 66	2190,132	2189,132	66	CEGPIPDVTFELLREGETK
Péptido 69	2344,169	2343,169	69	SEAEDASLLSFMQGYMKHATK
Péptido 71	2394,298	2393,298	71	LTPYADEFKVKIDQTVIELR
Péptido 72	2409,281	2408,281	72	GAHGPRPDTVGQRGGSRPSPGPIR
Péptido 73	2565,322	2564,322	73	GPPGLPGLKGDVPGVPLPGAKGEVGADGV

15 En otro aspecto particular, el patrón peptídico de la invención comprende, además, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en los péptidos que se muestran en la **Tabla 6**, que están caracterizados tanto por su secuencia específica de aminoácidos, como por su valor masa/carga y su peso molecular. Los péptidos

mostrados en la Tabla 6 pueden usarse en combinación con el patrón peptídico de la invención para diferenciar entre sujetos artrósicos de sujetos que padecen artritis psoriásica.

5 **Tabla 6.** Secuencias y valores masa/carga y peso molecular obtenidos por espectrometría de masas para cada péptido adicional que puede usarse en combinación con el patrón peptídico de la invención para diferenciar entre sujetos artrósicos de sujetos que padecen artritis psoriásica.

	Masa/carga (m/z)	Peso molecular (Da)	SEQ ID NO:	Secuencia peptídica
Péptido 22	1247,652	1246,652	22	LGMFNIQHCK
Péptido 25	1263,683	1262,683	25	LGMFNIQHCK
Péptido 26	1299,609	1298,609	26	WQEEMELYR
Péptido 27	1380,78	1379,78	27	VQPYLDDFQKK
Péptido 29	1449,8	1448,8	29	VVAGVANALAHKYH
Péptido 30	1465,689	1464,689	30	DSGEGDFLAEGGGVR
Péptido 31	1467,852	1466,852	31	VEPLRAELQEGAR
Péptido 37	1569,907	1568,907	37	LAARLEALKENGGAR
Péptido 39	1612,849	1611,849	39	LLDNWDSVTSTFSK
Péptido 46	1743,882	1742,882	46	YAASSYLSLTPEQWK
Péptido 47	1745,901	1744,901	47	YVGGQEHFALLILR
Péptido 48	1771,885	1770,885	48	SLAELGGHLDQQVEEF
Péptido 49	1786,909	1785,909	49	GLPGPPDVPDHAAYHPF
Péptido 58	1899,060	1898,060	58	FNKPFVFLMIEQNTK
Péptido 59	1906,873	1905,873	59	SEAEDASLLSFMQGYMK
Péptido 66	2190,132	2189,132	66	CEGPIPDVTFELLREGETK
Péptido 69	2344,169	2343,169	69	SEAEDASLLSFMQGYMKHATK
Péptido 79	2940,755	2939,755	79	SASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITK

10 Los métodos y técnicas para obtener patrones peptídicos a partir de una muestra son ampliamente conocidos en el estado de la técnica, y serán explicados en detalle en la descripción del método de diagnóstico de la invención.

En otro aspecto, la invención también se relaciona con el uso del patrón peptídico de la invención como marcador de diagnóstico de artrosis en un sujeto.

15 Así, otro de los objetos descritos en la presente invención se refiere al uso *in vitro* simultáneo del nivel de expresión de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11, como marcador para la obtención de datos útiles para el diagnóstico y clasificación de enfermedades reumáticas en un individuo.

20 En un aspecto preferido, el uso *in vitro* del patrón peptídico de la invención se caracteriza por que comprende además la determinación del nivel de expresión de al menos uno de los péptidos seleccionados de la lista que consiste en: SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 79, o combinaciones de los mismos.

En otro aspecto preferido, el uso *in vitro* del patrón peptídico de la invención se caracteriza por que las enfermedades reumáticas se seleccionan de entre cualquiera de las siguientes: artrosis, artritis reumatoide y artritis psoriásica.

5 Otro de los aspectos descritos en la presente invención se refiere a un método de obtención de datos útiles, de ahora en adelante lo denominaremos primer método de la invención, para el diagnóstico y clasificación de enfermedades reumáticas que comprende:

(a) obtener una muestra biológica aislada de un individuo,

10 (b) detectar simultáneamente, en la muestra biológica aislada de (a), el nivel de expresión de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11.

En un aspecto preferido, el primer método de la invención, comprende además determinar en la etapa (b) el nivel de expresión y/o la cantidad de al menos uno de los péptidos seleccionados de la lista que consiste en: SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 79, o combinaciones de los mismos.

25 En otro aspecto preferido, el primer método de la invención se caracteriza porque las enfermedades reumáticas se seleccionan de entre cualquiera de las siguientes: artrosis, artritis reumatoide y artritis psoriásica.

30 Otro aspecto descrito en la presente invención se refiere a un método de diagnóstico y clasificación de enfermedades artrósicas, a partir de aquí se le denominará segundo método de la invención, que comprende las etapas (a) y (b) según el primer método de la invención, y que además comprende:

35 (c) comparar las cantidades obtenidas en la etapa (b) para los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 78, con una cantidad de referencia procedente de una muestra obtenida de un individuo control sano, y

(d) asignar al individuo de la etapa (a) al grupo de individuos que padece artrosis cuando presenta:

45 (i) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 78, detectados en (b), o

50 (ii) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, y un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente inferior de los péptidos de SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 74, detectados en (b); o

55 (iii) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, y un nivel de expresión

y/o una cantidad significativamente inferior de los péptidos de SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 74, detectados en (b),

5 en relación al nivel de expresión y/o a la cantidad de los mismos péptidos detectados en una muestra de referencia obtenida de un individuo control sano.

Otro objeto de la presente invención se refiere a un método de diagnóstico y clasificación de enfermedades artrósicas, a partir de aquí tercer método de la invención, que comprende las etapas (a) y (b) según el primer método de la invención y que además comprende:

10 (c) comparar las cantidades obtenidas en la etapa (b) para los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72 y SEQ ID NO:73, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 59 y SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 78, con una cantidad de referencia procedente de una muestra obtenida de un individuo que padece artrosis, y

25 (d) asignar al individuo de la etapa (a) al grupo de individuos que padece artritis reumatoide cuando presentan:

30 (i) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72 y SEQ ID NO:73, , detectados en (b); o

35 (ii) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, y un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente disminuida de los péptidos de SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 59 y SEQ ID NO: 69, , detectados en (b); o

40 (iii) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de la etapa (i), y de los péptidos de SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 78, detectados en (b); o

45 (iv) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de la etapa (i), y un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente disminuida de los péptidos de SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 74, detectados en (b); o

50 (v) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de la etapa (iii), y un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente disminuida de los péptidos de SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 74, detectados en (b); o

55 (vi) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 78, y un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente disminuida de los péptidos de SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 59 y SEQ ID NO: 69, detectados en (b); o

60 (vii) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, y un nivel de expresión y/o una cantidad

significativamente disminuida de los péptidos de SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 59 y SEQ ID NO: 69, detectados en (b); o

(viii) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 78, y un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente disminuida de los péptidos de SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 59 y SEQ ID NO: 69,

en relación al nivel de expresión y/o a la cantidad de los mismos péptidos detectados en una muestra de referencia obtenida de un individuo que padece artrosis.

Otro aspecto descrito en la presente invención se refiere a un método de diagnóstico y clasificación de enfermedades artrósicas, a partir de aquí lo denominaremos cuarto método de la invención, que comprende las etapas (a) y (b) según el primer método de la invención, y que además comprende:

(c) comparar las cantidades obtenidas en la etapa (b) para los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 66 y SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 59 y SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 74, con una cantidad de referencia procedente de una muestra obtenida de un individuo que padece artrosis, y

d) asignar al individuo de la etapa (a) al grupo de individuos que padece artritis psoriásica cuando presenta:

(i) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 66 y SEQ ID NO: 79, detectados en (b); o

(ii) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, y un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente disminuida de los péptidos de SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 59 y SEQ ID NO: 69, detectados en (b); o

(iii) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de la etapa (i) y de los péptidos de SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 78, detectados en (b); o

(iv) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de la etapa (i), y un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente disminuida de los péptidos de SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 74, detectados en (b); o

(v) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de la etapa (iii), y un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente disminuida de los péptidos de SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 74, detectados en (b); o

(vi) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID

NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 78, y un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente disminuida de los péptidos de SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 59 y SEQ ID NO: 69, detectados en (b); o

(vii) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, y un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente disminuida de los péptidos de SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 59 y SEQ ID NO: 69, detectados en (b); o

(viii) un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente superior de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 78, y un nivel de expresión y/o una cantidad significativamente disminuida de los péptidos de SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 59 y SEQ ID NO: 69, detectados en (b);

en relación al nivel de expresión y/o a la cantidad de los mismos péptidos detectados en una muestra de referencia procedente de un grupo de individuos que padecen artrosis.

La cantidad de referencia se obtiene a partir de los valores de expresión y/o cantidad constitutiva del/los péptidos descritos en la presente invención, en un grupo de sujetos o individuos sanos o, preferentemente, que no presentan enfermedad artrósica, o en un grupo de individuos que presentan enfermedad artrósica, según se describa para cada uno de los métodos descritos previamente, y a lo largo del presente documento. La muestra de referencia puede ser analizada, por ejemplo, simultánea o consecutivamente, junto con la muestra biológica problema. La comparación descrita en los métodos de la presente invención o de la presente descripción puede ser realizada manualmente o asistida por ordenador.

En un aspecto más preferido de todos los métodos descritos en el presente documento, estos se caracterizan por que las etapas (b) y/o (c), pueden ser total o parcialmente automatizadas, por ejemplo, por medio de un equipo robótico sensor para la detección de la cantidad en el paso (b) o la comparación computerizada en el paso (c).

En otro aspecto más preferido de todos los métodos descritos en el presente documento, estos se caracterizan por que la muestra es un fluido biológico.

En la presente invención se entiende por "diagnóstico" al procedimiento por el cual se identifica una determinada enfermedad, entidad nosológica, síndrome, o cualquier condición de salud-enfermedad, mediante el análisis de una serie de parámetros clínicos o síntomas característicos de dicha enfermedad, y que la distinguen de otras enfermedades con cuadros clínicos semejantes. En la presente invención la enfermedad, entidad nosológica o síndrome a detectar es la artrosis, y los parámetros clínicos es el patrón peptídico de la invención.

En la presente invención, se entiende por enfermedad reumática a aquellos trastornos que por lo general afectan al aparato locomotor y musculo-esquelético, preferentemente a las articulaciones, los tendones, los ligamentos, los huesos y los músculos. A efectos de la presente invención las enfermedades reumáticas se seleccionan de entre cualquiera de las siguientes: artrosis, artritis reumatoide y artritis psoriásica.

A efectos de la presente invención el término "artrosis" o "osteoartritis" se refiere a una enfermedad articular crónica ocasionada por el deterioro del cartílago hialino e hiperreactividad osteoblástica del hueso subcondral. En la presente invención los términos "artrosis" y "osteoartritis" son equivalentes y pueden emplearse indistintamente a lo largo de la misma. Como sabe el experto en la materia, la artrosis puede clasificarse en artrosis idiopática y en artrosis secundaria (Modificada de Altman RC, *Semin Arthritis Rheum* 1991; 20:40-47). La artrosis idiopática (se desconoce el origen de la enfermedad) puede ser, localizada, por ejemplo, en manos, pies, caderas, columna, etc., o generalizada, en la que están afectadas tres o más áreas articulares, tales como las articulaciones pequeñas y la columna, las articulaciones grandes y columna, o mixta, que es una combinación de las anteriores. La artrosis secundaria se clasifica en enfermedades congénitas o del desarrollo (entre las que se incluyen, sin limitar a, la enfermedad de Gaucher, la enfermedad de legg-calve, displasias óseas, etc.), enfermedades por depósito de calcio (entre las que se incluyen sin limitar artropatía por hidroxapatita, artropatía destructiva y depósito de pirofosfato cálcico), en enfermedades postraumáticas, en enfermedades del hueso y articulares (entre las que se incluyen, sin

limitar a necrosis avascular, artritis reumatoide, artritis gotosa, artritis séptica, enfermedad de Paget, osteopetrosis, osteocondritis), y enfermedades varias que tienen su origen en la artritis (entre las que se incluyen, sin limitar a, articulación de Charcot, diabetes mellitus, acromegalia, hipotiroidismo, hiperparatiroidismo, enfermedad de Kashin-Beck, enfermedad de Caisson, etc.). Por otro lado, la artrosis también puede clasificarse utilizando la escala KELLGREN Y LAWRENCE (K/L) radiológica, que clasifica a la artrosis en 5 grados radiológicos: Grado 0, I, II, III, y IV.

Cualquiera de las enfermedades incluidas dentro de la clasificación de enfermedades artrósicas, incluyendo la artrosis, artritis reumatoide y artritis psoriásica, puede ser diagnosticada y clasificada mediante el empleo del patrón peptídico de la invención.

A efectos de la presente invención, el término "artritis reumatoide (AR)" se refiere a una enfermedad inflamatoria de etiología desconocida que se caracteriza por la afectación de las articulaciones diartrodiales y por el desarrollo de una sinovitis crónica que va a conducir de forma progresiva a la destrucción articular, a la incapacidad funcional y a un importante deterioro de la calidad de vida de los pacientes. Además de la afectación articular, la AR se va a caracterizar también por un proceso inflamatorio sistémico mantenido y por la posibilidad de desarrollar manifestaciones extra-articulares graves que a menudo van a condicionar el pronóstico de la enfermedad.

A efectos de la presente invención, el término "artritis psoriásica (APS)" se refiere a una enfermedad de las articulaciones que se presenta en algunos enfermos (aproximadamente un 10%) que padecen psoriasis en la piel, lo que le confiere unas características peculiares en cuanto a evolución y pronóstico. La lesión articular es inflamatoria, es decir, con dolor, hinchazón, calor, dificultad de movimiento de la articulación inflamada y a la larga posibilidad de deformación. Es una enfermedad crónica, que evoluciona irregularmente a lo largo de la vida, con épocas de inactividad y épocas de inflamación y dolor.

En la presente invención se entiende por "sujeto" o "individuo" a cualquier animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un primate, en particular, un ser humano, de cualquier raza, sexo, edad o condición física. No obstante, en un aspecto particular, el sujeto es una mujer, más en particular, es una mujer con una edad superior a 50 años.

La puesta en práctica de los métodos de la invención aquí descritos comprende determinar el nivel de expresión y/o la concentración o cantidad de los péptidos de la invención, preferentemente, comprende determinar la presencia o ausencia de los péptidos que comprenden el patrón peptídico de la invención en una muestra biológica procedente de dicho sujeto o individuo.

En la presente invención se entiende por "muestra biológica" a cualquier material de origen animal, en particular, humano, que incluye excretas (heces y orina), secreciones (genitales, respiratorias,...), sangre o sus componentes, tejidos y fluidos orgánicos (biopsias, líquidos: cefalorraquídeo, sinovial, articular, ascítico,...), etc. En un aspecto particular de los métodos de la invención, la muestra procedente del sujeto es un fluido biológico que, en otro aspecto todavía más particular, se selecciona del grupo que consiste en sangre, suero, plasma, líquido sinovial y orina, más preferentemente, suero, plasma y líquido sinovial.

Una vez que se ha obtenido la muestra biológica del sujeto, ésta debe ser procesada para obtener los péptidos descritos en la presente invención. Así, la muestra biológica se puede tratar para disgregar de forma física o mecánica la estructura del tejido o la célula, liberando los componentes intracelulares en una solución acuosa u orgánica. Una vez hecho esto, las proteínas son aisladas de la muestra. Cualquiera de las técnicas que existen en el estado de la técnica para aislar proteínas puede ser empleada en la presente invención como por ejemplo, centrifugación, depleción, etc. Una vez aisladas las proteínas, se procede a la digestión de las mismas para obtener el perfil péptido de la invención.

Una vez obtenida la fracción peptídica, dependiendo de la técnica utilizada para el análisis de su expresión, se puede o no digerir la fracción proteica obtenida con tripsina, llevando a cabo la digestión enzimática de las proteínas y obteniendo péptidos. La tripsina es una enzima peptidasa, que rompe los enlaces peptídicos de las proteínas mediante hidrólisis para formar péptidos de menor tamaño y aminoácidos. La tripsina es producida en el páncreas y secretada en el duodeno (parte del intestino), donde es esencial para la digestión. El pH óptimo es 8 y la temperatura óptima es 37 °C. A efectos de la presente invención, cualquier técnica conocida y utilizada en el estado de la técnica para aislar la fracción peptídica a partir de una muestra biológica, puede ser utilizada en la presente invención.

En otro aspecto más preferido de la invención, los métodos aquí descritos se caracterizan por que la detección de los niveles de expresión y/o cantidad o concentración de los péptidos se realiza mediante técnicas ampliamente conocidas en el estado de técnica. Ejemplos de dichas técnicas incluyen, sin limitar a, espectrometría de masas, cromatografía de gases-espectrometría de masas o cromatografía líquida-espectrometría de masas, citometría de flujo, Western-blot o transferencia Western, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima), RIA

(radioinmunoensayo), EIA competitivo (inmunoensayo enzimático competitivo), DAS-ELISA (ELISA sandwich con doble anticuerpo) y técnicas inmunocitoquímicas e inmunohistoquímicas.

La espectrometría de masas es una técnica analítica que permite elucidar estructuras químicas, basada en la medición de la relación masa/carga de especies moleculares. Las determinaciones requieren de la generación de especies cargadas eléctricamente, lo cual se logra por diferentes metodologías como pueden ser el impacto electrónico, el bombardeo de átomos rápidos (FAB), y la generación de iones enlazados. La medición de la relación masa/carga permite conocer el peso molecular exacto de la molécula. Técnicas derivadas de la espectrometría de masas que también pueden emplearse en el contexto de la presente invención incluyen, sin limitarse a, la cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) y cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS).

La técnica ELISA (acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, Ensayo por inmovilización ligada a enzimas) es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable como cambio de color o algún otro tipo.

En la presente invención, el término "anticuerpo" es interpretado de forma amplia e incluye anticuerpos policlonales, monoclonales, multiespecíficos y fragmentos de los mismos [F(ab')<sub>2</sub>, Fab, scFv, etc.], siempre que sean capaces de reconocer al antígeno de interés, es decir, que sean capaces de unirse a los péptidos comprendidos dentro del patrón peptídico de la invención. Ejemplos de anticuerpos que pueden emplearse en el contexto de la presente invención incluyen, sin limitarse a, anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, anticuerpos recombinantes, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos totalmente humanos, etc. Los anticuerpos que se emplean en estos ensayos pueden estar marcados o no. Ejemplos ilustrativos de marcadores que se pueden utilizar incluyen isótopos radiactivos, enzimas, fluoróforos, reactivos quimioluminiscentes, sustratos enzimáticos o cofactores, inhibidores enzimáticos, partículas, colorantes, etc.

La citometría de flujo es una tecnología biofísica basada en la utilización de luz láser, en la que las proteínas unidas a un anticuerpo marcado y suspendidas en un fluido, atraviesan un finísimo tubo transparente sobre el que incide un delgado rayo de luz láser, la luz transmitida y dispersada por el paso de las proteínas a través del tubo se recoge por medio de unos dispositivos de detección, permitiendo detectar y separar las proteínas unidas a los anticuerpos marcados.

La detección de la cantidad de los péptidos descritos a lo largo del presente documento puede realizarse por cualquier medio conocido en el estado de la técnica. Así, la detección de los niveles o cantidad de dichos péptidos puede llevarse a cabo de manera semi-cuantitativa o cuantitativa, permitiendo así diferenciar entre los diferentes tipos de individuos, sanos o sujetos que padecen artrosis, artritis reumatoide o artritis psoriásica. De esta manera, se puede establecer un diagnóstico diferencial en individuos afectados por las enfermedades mencionadas, que permite subclasificarlos.

La medida de la cantidad o la concentración de estos péptidos, preferiblemente de manera semi-cuantitativa o cuantitativa, puede ser llevada a cabo de manera directa o indirecta. La medida directa se refiere a la medida de la cantidad o la concentración del producto de expresión de los mismos, basada en una señal que se obtiene directamente de la expresión de dichos péptidos, y que está correlacionada directamente con el número de proteínas presentes en las muestras analizadas. Dicha señal - a la que también podemos referirnos como señal de intensidad - puede obtenerse, por ejemplo, midiendo un valor de intensidad de una propiedad química o física de dichos productos. La medida indirecta incluye la medida obtenida de un componente secundario o un sistema de medida biológica (por ejemplo la medida de respuestas celulares, ligandos, "etiquetas" o productos de reacción enzimática).

El término "cantidad", tal y como se utiliza en la descripción, se refiere pero no se limita, a la cantidad absoluta o relativa de los péptidos o de las moléculas capaces de detectarlos, así como a cualquier otro valor o parámetro relacionado con los mismos o que pueda derivarse de éstos. Dichos valores o parámetros comprenden valores de intensidad de la señal obtenidos a partir de cualquiera de las propiedades físicas o químicas de dichos productos de expresión obtenidos mediante medida directa. Adicionalmente, dichos valores o parámetros incluyen todos aquellos obtenidos mediante medida indirecta, por ejemplo, cualquiera de los sistemas de medida descritos en otra parte del presente documento.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un kit o dispositivo, de aquí en adelante "kit de la invención", que comprende las herramientas moleculares necesarias para detectar el nivel de expresión y/o cuantificación de los péptidos descritos en la presente invención, o cualquiera de sus combinaciones, para el diagnóstico y clasificación de enfermedades reumáticas.

En un aspecto realización más preferido, el kit de la invención comprende las herramientas moleculares necesarias para detectar el nivel de expresión y/o cuantificación de los péptidos de SEQ ID NO: 1 a 11.



En otro aspecto más preferido aún, el kit de la invención comprende además, las herramientas moleculares necesarias para detectar el nivel de expresión y/o cuantificación de al menos uno de los péptidos de secuencias: SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 79, o combinaciones de los mismos.

En un aspecto más preferido del kit, dichas moléculas capaces de detectar los niveles de expresión y/o cuantificación de los péptidos descritos en la presente invención, se seleccionan preferentemente de entre cualquiera de los siguientes: anticuerpos específicos contra los péptidos que comprenden el patrón peptídico de la invención o fragmentos de los mismos y oligonucleótidos capaces de hibridar con la secuencia nucleotídica que codifica para los péptidos descritos en la presente invención.

En un aspecto preferido, dichos oligonucleótidos están diseñados a partir de una secuencia nucleotídica que codifica para los péptidos descritos en el presente documento.

En un aspecto preferido, el kit de la invención es útil para el diagnóstico y clasificación de enfermedades reumáticas en un sujeto o individuo, donde dichas enfermedades reumáticas se seleccionan de entre cualquiera de las siguientes: artrosis, artritis reumatoide y artritis psoriásica.

Los términos "patrón peptídico", "péptidos" y "anticuerpo" ya han sido descritos y explicados en la sección anterior y son aplicables al presente aspecto inventivo.

En otro aspecto preferido, el kit de la invención comprende anticuerpos secundarios o controles positivos y/o negativos. El kit además puede incluir, sin ningún tipo de limitación, tampones, soluciones de extracción de proteínas, agentes para prevenir la contaminación, inhibidores de la degradación de las proteínas, etc. Por otro lado el kit puede incluir todos los soportes y recipientes necesarios para su puesta en marcha y optimización. Preferiblemente, el kit comprende además las instrucciones para llevar a cabo los métodos de la invención.

Por "kit" se entiende, en el contexto de la presente invención, un producto que contiene los diferentes reactivos para poner en práctica el método de la invención, empaquetados para permitir su transporte y almacenamiento. Materiales adecuados para el empaquetamiento de los componentes del kit incluyen, sin limitar a, cristal, plástico (polietileno, polipropileno, policarbonato y similares), botellas, viales, papel, sobres y similares.

Adicionalmente, los kits pueden contener instrucciones para el empleo de los distintos componentes que se encuentran en el kit. Dichas instrucciones pueden encontrarse en forma de material impreso o en forma de un soporte electrónico capaz de almacenar instrucciones de forma que puedan ser leídas por un sujeto, tales como medios de almacenamientos electrónicos (discos magnéticos, cintas y similares), medios ópticos (CD-ROM, DVD) y similares. Adicional o alternativamente, los medios pueden contener direcciones de internet que proporcionen dichas instrucciones.

Otro aspecto descrito en la presente invención se refiere al uso del kit de la invención para la obtención de datos útiles en el diagnóstico y clasificación de enfermedades reumáticas, preferentemente, artrosis, artritis reumatoide y artritis psoriásica, en una muestra biológica. En un aspecto más preferido, la muestra biológica es un fluido biológico, preferentemente que se selecciona del grupo que consiste en sangre, suero, plasma, líquido sinovial y orina.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

**Figura 1:** Diagramas de los análisis de componentes principales (PCA) realizados con los péptidos de la invención obtenidos mediante la técnica de MALDI-TOF, para el grupo de pacientes artrósicos (gris) y para el grupo de pacientes control (negro), en cada porcentaje de elución. Los PCAs muestran que en todas las condiciones de extracción la clasificación de las muestras se consigue en al menos dos planos.

**EJEMPLOS**

Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

5

**Ejemplo 1. MATERIAL Y MÉTODOS****1.1 Reactivos**

DL-ditiotreitol (DTT  $\geq 99\%$ )

10 Iodoacetamida (IAA  $\geq 99\%$ )

Ácido trifluoroacético (TFA  $\geq 99\%$ , para LC-MS)

Acetonitrilo (ACN, LC-MS CHROMASOLV)

Agua (LC-MS CHROMASOLV)

Bicarbonato amónico ( $\geq 99\%$ )

15 Tripsina (grado de secuenciación, Roche)

NuTips large 10-200  $\mu\text{l}$ , C-18 (Glygen, Columbia, EE.UU.)

$\alpha$ -Cyano-4-hydroxycinnamic acid puriss., para MALDI-MS (Fluka, Alemania)

Mezcla de calibración 1, 4700 Proteomics Analyzer (ABSciex, Framingham, MA, EE.UU.)

20 **1.2. Muestras de suero**

Las muestras de suero humano se obtuvieron de donantes anónimos en el Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña, España. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el comité de ética local en Galicia (España). Se escogieron 40 muestras de suero de donantes artrósicos (OA), 40 muestras de suero de donantes diagnosticados con artritis reumatoide (AR), 40 muestras de donantes diagnosticados con artritis psoriásica (APS) y 40 muestras de suero de donantes sin ninguna de las anteriores patologías, es decir, son sujetos que no presentan ningún tipo de patología reumática. Este último grupo es el grupo control (N). Se emplearon 20 sueros de cada grupo de pacientes para la búsqueda del patrón peptídico característico de cada patología. Posteriormente, se emplean los otros 20 sueros restantes de cada grupo de pacientes como muestras ciegas para comprobar la validez del patrón peptídico de la invención. Las muestras de suero se almacenaron a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

25

30

**1.3. Depleción secuencial de proteínas en suero**

La depleción de proteínas se realizó de acuerdo con el protocolo desarrollado previamente en nuestro laboratorio (Fernández-Costa et al., *Proteome Sci* 2012; 55). Cada uno de los sueros fueron sometidos a un protocolo de depleción secuencial que implica dos etapas de precipitación: primero con DTT y a continuación con ACN, de acuerdo con el protocolo descrito por Kay et al. (*Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22: 3255-60), con pequeñas modificaciones. Brevemente, 2,2  $\mu\text{l}$  de DTT 500 mM se añadieron a 20  $\mu\text{l}$  de suero y se agitaron en vórtex. A continuación, la muestra se incubó 1 hora hasta la formación de un precipitado blanco viscoso persistente, que se sedimentó por centrifugación a 14,000 xg durante 2 x 20 minutos. El sobrenadante se transfirió a un tubo limpio (LoBind, Eppendorf) y se deplecionó de nuevo mediante la adición de 57 % (v/v) acetonitrilo, seguido de dos ciclos de vórtex breve y 10 minutos de ultrasonidos en un baño de ultrasonidos (SONOREX, Bandelin). El precipitado de proteína formado se sedimentó por centrifugación a 14,000 xg durante 10 minutos, y el sobrenadante se transfirió a un tubo limpio LoBind y se evaporó a sequedad empleando una centrífuga de vacío.

35

40

45

**1.4. Digestión en solución**

La digestión ultrasónica en solución se realizó de acuerdo con el protocolo de digestión proteolítica ultrarrápida desarrollado previamente (HM Santos et al. *J Proteome Res* 2007,6:3393-9). La muestra evaporada se resuspendió en 20  $\mu\text{l}$  de bicarbonato amónico 25mM (AmBi), se añadieron 10  $\mu\text{l}$  de acetonitrilo y se mezcló mediante vórtex y sonicación durante 1 minuto (50% de amplitud) en baño de ultrasonidos (SONOPULS HD 2200 con accesorio BB6, Bandelin). Los residuos de cisteína de las proteínas se redujeron con 2  $\mu\text{l}$  de DTT 110 mM seguido de vórtex y 1 minuto de sonicación, y a continuación se bloqueó con 2  $\mu\text{l}$  de IAA 600 mM, vórtex y 1 minuto sonicación. Para inactivar la IAA se añadieron a la muestra 10  $\mu\text{l}$  de DTT 110 mM. Después, la muestra se diluyó hasta un volumen final de 200  $\mu\text{l}$  con AmBi 12,5 mM, y se añadió tripsina de acuerdo con un ratio 1:20 (p/p) de tripsina:proteína. La digestión se llevó a cabo en el aparato de ultrasonidos durante 5 minutos a un 50% amplitud. Finalmente, se añadieron 2  $\mu\text{l}$  de ácido fórmico al 50% (v/v) para parar la reacción enzimática. El suero digerido se evaporó a sequedad en una centrífuga de vacío.

50

55

60

**1.5. Elución secuencial mediante NuTips (separación de péptidos)**

Las muestras digeridas se reconstituyeron en 30  $\mu\text{l}$  de TFA al 0,1 % (v/v), y 20  $\mu\text{g}$  de digerido se cargaron en una punta de tipo NuTip C18 (large). La separación de los péptidos se realizó de acuerdo con el siguiente protocolo:

Acondicionado: se aspiró y expulsó 5 veces 30  $\mu$ l de una solución de ACN al 60-80% (v/v) y TFA al 0,1% (v/v), y se lavó 3 veces con TFA al 0,1%.

Unión: se aspiró y expulsó la muestra 50 veces, para permitir que los péptidos se adsorbieran al material de fase reversa empaquetado en la punta.

Elución secuencial: se aspiró y expulsó (20 veces cada uno) 30  $\mu$ l de diferentes porcentajes de ACN, de baja a alta concentración de ACN. La elución secuencial se realizó con 4, 7, 10 y 14% (v/v) de ACN. Los eluidos se evaporaron a sequedad.

## 1.6. Análisis mediante espectrometría de masas

Las muestras evaporadas se resuspendieron en 6  $\mu$ l de TFA al 0,1 % (v/v), y 1  $\mu$ l de cada muestra se depositó por quintuplicado en una placa para MALDI (placa de 384 puntos recubierta de Teflón®), y se dejó secar al aire a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadieron a las muestras secas de péptidos 1  $\mu$ l de una solución de 3 mg/ml de ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinámico en TFA al 0,1% (v/v) y 50% (v/v) ACN, y se dejó secar de nuevo.

Las muestras se analizaron en modo de ion positivo usando un espectrómetro de masas MALDI-TOF/TOF 4800 Proteomics Analyzer (ABSciex, Framingham, MA, EE.UU.), equipado con un láser Nd:YAG ( $\lambda=355$  nm) y el programa 4000 Series Explorer™ (ABSciex). La calibración interna, adquisición de datos, procesamiento e interpretación se llevaron a cabo según lo recomendado por el fabricante. Todos los espectros de masas deben ser calibrados externamente empleando una mezcla de péptidos estándar (ABSciex). Los datos de masas se exportaron de acuerdo con las siguientes características: a) rango de masas: 500 – 4000 (Da); b) densidad de picos: máximo 50 picos por 200 Da; c) relación señal/ruido: mínimo 20; d) área mínima: 100; e) picos máximos/spot: 500.

El análisis del espectro de masas para cada muestra corresponde a un promedio de 1.500 disparos de láser. Los espectros de fragmentación se adquieren mediante la selección de los precursores de interés en cada mapa de masas MALDI-TOF, con un promedio de 2.000 disparos de láser por espectro. Para la fragmentación (MS/MS), todos los picos con un ratio señal/ruido (S/N)>10 se incluyeron en la búsqueda en bases de datos.

La secuenciación de péptidos se realizó mediante el software ProteinPilot™ (ABSciex), con los siguientes parámetros: (i) Versión UniProt: 2013\_09, que contiene 540,958 entradas de secuencia, (ii) Taxonomía: Homo sapiens, (iii) Enzima: tripsina o sin enzima; (v) Modificaciones fijas: iodoacetamida. Sólo se informó de los péptidos identificados con al menos un 70 % de confianza.

## 1.7. Análisis bioinformático

Cada espectro se pre-procesó empleando los siguientes parámetros: rango de masas de 500 a 4000 Da, densidad de picos máxima: 10 picos por 200 Da, relación señal/ruido mínimo (S/N) de 10, área mínima de 100, número máximo de picos por espectro: 120. Los picos se alinearon con una tolerancia de la masa del péptido de 150 ppm y, finalmente, se creó un espectro representativo para cada muestra con aquellos picos presentes en al menos 4 de las 5 réplicas espectrales de la muestra. De cada pico sólo se tuvo en cuenta su presencia o ausencia en cada espectro, descartándose el uso de su intensidad más allá del pre-procesamiento.

Con el objetivo de identificar picos diferencialmente expresados en los distintos grupos se aplicó el test de independencia de Fisher para comparaciones entre dos grupos y el test de independencia  $X^2$  para comparaciones entre los cuatro grupos analizados. Dado que estos tests se realizaron sobre todos los picos detectados, se aplicó posteriormente la corrección False Discovery Rate (FDR) de Benjamini-Hochberg con el fin de reducir el número de falsos positivos.

Mediante el uso de Análisis de Componentes Principales (Principal Component Analysis, PCA) se analizó gráficamente la separación entre las muestras de distintas condiciones.

Por último, con el objetivo de comprobar la utilidad de los péptidos que comprenden el patrón peptídico descrito en la presente invención para su uso en el diagnóstico de artritis, se evaluó el rendimiento de clasificadores automáticos entrenados únicamente con la información de estos péptidos sobre un conjunto de muestras ciegas.

## Ejemplo 2. RESULTADOS

### 2.1. Obtención del patrón peptídico característico de la artrosis

Para la obtención del patrón peptídico descrito en la presente invención se utilizaron 20 muestras de suero de cada uno de los grupos de pacientes incluidos en el presente estudio (OA: artrosis, AR: artritis reumatoide, APS: artritis psoriásica y N; control) y mediante las técnicas descritas en el Ejemplo 1 se detectaron los péptidos característicos de cada uno de los grupos de estudio analizados. Brevemente, primero se seleccionaron los péptidos que se

detectan de forma significativa en una patología con respecto a las otras en base al valor  $q < 0,05$  del test de Fisher corregido aplicado por parejas. Y después se seleccionaron los péptidos que se detectan de forma significativa en dos o más condiciones de acuerdo con un valor  $q < 0,05$  del test de independencia  $X^2$  corregido, como se ha indicado anteriormente.

Mediante dicha metodología se identificaron un total de 11 péptidos que se expresaban de forma significativa en el grupo de pacientes artrósicos respecto al resto de grupos incluidos en el estudio. Este patrón peptídico específico permite distinguir las muestras de los sujetos con artrosis (OA) de las muestras de sujetos control (N), e incluso de las muestras de los sujetos que padecen otras enfermedades reumáticas, como la artritis psoriásica (APS) y la artritis reumatoide (AR).

Dicho conjunto de 11 péptidos que forman el patrón peptídico de la invención, se muestran en la **Tabla 7**.

**Tabla 7:** Masas de los péptidos característicos que comprenden el patrón peptídico para el diagnóstico de pacientes que padecen artrosis (OA). Los porcentajes indican la presencia de cada péptido en el total de las muestras analizadas para cada grupo de pacientes, APS: grupo de pacientes que padecen artritis psoriásica; AR: grupo de pacientes que padecen artritis reumatoide; N: grupo de sujetos control.

m/z	SEQ ID No.	APS (n=20)	AR (n= 20)	OA (n=20)	N (n=20)
1392,7517	1	0%	5%	50%	10%
1532,796	2	5%	15%	40%	0%
1758,979	3	5%	5%	40%	0%
1909,9498	4	0%	5%	40%	0%
2165,146	5	10%	5%	45%	0%
2180,1414	6	15%	10%	70%	20%
2280,1501	7	5%	5%	40%	5%
2291,227	8	5%	10%	60%	20%
2407,3042	9	5%	0%	45%	0%
2436,3015	10	35%	25%	90%	40%
2663,4382	11	5%	5%	60%	15%

Los péptidos escogidos como característicos de artrosis aparecen significativamente más en los sueros de donantes artrósicos que en los sueros de los pacientes control o de los pacientes que padecen APS o AR.

## 2.2. Péptidos adicionales específicos para el diagnóstico de otras patologías como AR y APS

Además de la detección del patrón peptídico descrito en la invención, mediante los métodos descritos previamente se seleccionaron un conjunto de péptidos adicionales a los 11 péptidos que comprenden el patrón peptídico de la invención para su uso en el diagnóstico de la artrosis, para mejorar la clasificación de las muestras, preferentemente muestras de suero, de donantes artrósicos. Dichos péptidos adicionales se seleccionaron de los datos procedentes del análisis de las 80 muestras de suero analizadas. En este caso, al tratarse de comparaciones entre parejas de condiciones, los péptidos seleccionados fueron aquellos para los que se obtuvo un valor  $q < 0,05$  para el test de Fisher corregido.

En la **Tabla 8** se muestran los péptidos adicionales que pueden utilizarse junto con el patrón peptídico de la invención y que son capaces de diferenciar entre sujetos artrósicos y sujetos normales, que no padecen ninguna patología artrósica.

**Tabla 8.** Masas de los péptidos adicionales al patrón peptídico de la invención, útiles para clasificar y diagnosticar a pacientes que padecen artrosis (OA) de sujetos que no padecen ninguna patología artrósica. Los porcentajes indican la presencia de cada péptido en el total de las muestras analizadas para cada grupo de pacientes.

m/z	SEQ ID No.	OA (n=20)	N (n=20)
896,490	13	65%	5%
961,627	14	70%	15%

m/z	SEQ ID No.	OA (n=20)	N (n=20)
980,529	15	70%	20%
1019,604	16	65%	10%
1108,588	17	50%	0%
1117,669	18	55%	5%
1148,634	19	75%	15%
1213,667	20	60%	5%
1237,674	21	50%	0%
1255,716	24	50%	0%
1403,749	28	45%	0%
1470,813	32	70%	5%
1502,810	33	65%	5%
1568,914	36	75%	20%
1585,846	38	50%	10%
1641,892	40	85%	35%
1641,892	41	85%	35%
1669,862	42	80%	45%
1706,931	43	70%	5%
1815,922	51	60%	10%
1825,005	52	80%	30%
1834,946	53	45%	5%
1864,027	54	75%	25%
1875,997	55	75%	20%
1876,017	56	75%	20%
1884,000	57	65%	20%
2186,092	65	60%	10%
2296,219	67	80%	20%
2315,195	68	75%	30%
2348,245	70	95%	30%
2652,448	75	70%	5%
2670,387	76	50%	15%
2695,362	77	95%	40%
2790,425	78	55%	15%

Alternativamente, en la **Tabla 9** se muestran los péptidos adicionales que pueden utilizarse junto con el patrón peptídico de la invención y que también, son capaces de diferenciar entre sujetos artrósicos y sujetos normales, que no padecen ninguna patología artrósica. La diferencia entre los datos mostrados en la Tabla 8 y la Tabla 9 radica en que en la Tabla 8 los sujetos artrósicos muestran una mayor presencia de dichos péptidos, mientras que los datos mostrados en la Tabla 9 ponen de manifiesto que los sujetos artrósicos muestran una menor presencia de dichos péptidos respecto a los sujetos control, sanos.

5

**Tabla 9.** Masas de los péptidos adicionales al patrón peptídico de la invención, útiles para clasificar y diagnosticar a pacientes que padecen artrosis (OA) de sujetos que no padecen ninguna patología artrósica. Los porcentajes indican la presencia de cada péptido en el total de las muestras analizadas para cada grupo de pacientes,

10

m/z	SEQ ID No.	OA (n=20)	N (n=20)
871,502	12	0%	30%
1518,710	34	15%	55%
1810,992	50	5%	40%
1922,877	60	5%	50%
2012,011	62	40%	80%
2153,112	64	30%	90%
2602,358	74	35%	65%

En la **Tabla 10** se muestran los péptidos adicionales que pueden utilizarse junto con el patrón peptídico de la invención y que son capaces de diferenciar entre sujetos artrósicos de sujetos que padecen artritis reumatoide. Es interesante destacar que, como se puede apreciar en dicha Tabla 10, los sujetos que padecen OA presentan una mayor presencia de los péptidos SEQ ID NO: 30, 59 y 69, respecto a los pacientes que padecen AR. En cambio, los sujetos artrósicos presentan una menor presencia de los péptidos SEQ ID NO: 22, 23, 26, 31, 35, 39, 45, 46, 47, 48, 58, 61, 63, 66, 71, 72 y 73, respecto a los sujetos que padecen AR.

5

10

**Tabla 10.** Masas de los péptidos adicionales al patrón peptídico de la invención, útiles para clasificar y diagnosticar a pacientes que padecen artrosis (OA) de sujetos que padecen artritis reumatoide (AR). Los porcentajes indican la presencia de cada péptido en el total de las muestras analizadas para cada grupo de pacientes.

m/z	SEQ ID No.	AR (n=20)	OA (n=20)
1247,652	22	50%	25%
1249,655	23	30%	0%
1299,609	26	90%	20%
1465,689	30	30%	80%
1467,852	31	90%	45%
1519,750	35	30%	0%
1612,849	39	55%	20%
1736,970	45	35%	0%
1743,882	46	45%	10%
1745,901	47	45%	5%
1771,885	48	90%	25%
1899,060	58	55%	15%
1906,873	59	5%	80%
1932,038	61	45%	0%
2020,138	63	60%	15%
2190,112	66	85%	20%
2344,169	69	5%	80%
2394,298	71	60%	10%
2409,281	72	50%	0%
2565,322	73	70%	20%

En la **Tabla 11** se muestran los péptidos adicionales que pueden utilizarse junto con el patrón peptídico de la invención y que son capaces de diferenciar entre sujetos artrósicos de sujetos que padecen artritis psoriásica. Es interesante destacar que, como se puede apreciar en dicha Tabla 11, los sujetos que padecen OA presentan una mayor presencia de los péptidos SEQ ID NO: 25, 29, 30, 59 y 69, respecto a los pacientes que padecen APS. En

15

cambio, los sujetos artrósicos presentan una menor presencia de los péptidos SEQ ID NO: 22, 26, 27, 31, 37, 39, 46, 47, 48, 49, 58, 66 y 79 respecto a los sujetos que padecen APS.

5 **Tabla 11.** Masas de los péptidos adicionales al patrón peptídico de la invención útiles para clasificar y diagnosticar a pacientes que padecen artrosis (OA) de sujetos que padecen artritis psoriásica (APS). Los porcentajes indican la presencia de cada péptido en el total de las muestras analizadas para cada grupo de pacientes.

m/z	SEQ ID No.	APS (n=20)	OA (n=20)
1247,652	22	55%	25%
1263,683	25	10%	60%
1299,609	26	90%	20%
1380,780	27	30%	0%
1449,800	29	25%	75%
1465,689	30	5%	80%
1467,852	31	95%	45%
1569,907	37	50%	0%
1612,849	39	75%	20%
1743,882	46	55%	10%
1745,901	47	25%	5%
1771,885	48	95%	25%
1786,909	49	65%	20%
1899,060	58	50%	15%
1906,873	59	0%	80%
2190,132	66	70%	20%
2344,169	69	0%	80%
2940,755	79	60%	20%

### 2.3. Análisis de componentes principales (PCA).

10 Con los péptidos seleccionados en el perfil peptídico descrito en la invención obtenidos de las muestras de sueros del grupo de pacientes artrósicos y de las muestras del grupo control se realizó un análisis de componentes principales (PCA), comprobando que las muestras se separan en al menos dos planos para todas las condiciones de elución, con lo que los péptidos son capaces de diferenciar entre muestras de donantes artrósicos y sujetos control.

15 Antes de realizar el PCA, se creó un grupo de datos único para cada porcentaje de elución (4%, 7%, 10% y 14%), con el espectro representativo de cada muestra. Los espectros de cada grupo de datos se convirtieron en vectores 1s y 0s, donde 1 significa presencia de pico y 0 significa ausencia de pico.

20 El análisis PCA y su visualización se realizaron usando el programa RapidMiner v5.3 (<http://rapid-i.com/content/view/181/190/>), que configura el algoritmo PCA para reducir la dimensionalidad de los grupos de datos hasta 3 componentes principales.

Estos resultados se muestran en la **Figura 1**.

### 25 2.4. Comprobación del clasificador con muestras ciegas

Se comprobó la utilidad de los péptidos que comprenden el patrón peptídico descrito en la presente invención para su uso en el diagnóstico de artrosis en un grupo de pacientes del que no se conocía la patología que padecían (muestras ciegas). Las muestras de dichos pacientes (n=79) se procesaron de la misma manera que se ha descrito anteriormente en materiales y métodos.

30 Utilizando el conjunto de datos descrito en la sección 2.1 se evaluaron una serie de clasificadores automáticos mediante la herramienta de aprendizaje automático Weka 3.7 (<http://www.cs.waikato.ac.nz/ml/weka/>). Estos clasificadores fueron entrenados con las distintas combinaciones posibles de los datos de cada elución. Esta

5 evaluación se hizo utilizando el esquema de validación cruzada conocido como Leave-One-Out sobre dos problemas distintos: *i*) clasificación de muestras de todas las condiciones y *ii*) clasificación de las muestras que presentan una condición relacionada con una patológica (grupos AR, APS y OA). Como resultado de esta evaluación se seleccionó como mejor clasificador para el problema de clasificar todas las condiciones a la implementación LibSVM del algoritmo Support Vector Machine (SVM) con *kernel* Radial Basis Function (RBF) entrenado con los datos de los porcentajes de elución 7% y 10% y combinado con un optimizador de parámetros basado en una búsqueda en rejilla (algoritmo GridSearch) configurado para buscar el valor óptimo del parámetro "cost" entre los valores  $2^{-5}$ ,  $2^{-3}$ ,  $2^{-1}$ ,  $2^1$ ,  $2^3$ ,  $2^5$ ,  $2^7$ ,  $2^9$ ,  $2^{11}$ ,  $2^{13}$  y  $2^{15}$ , y del parámetro "gamma" entre los valores  $2^{-15}$ ,  $2^{-13}$ ,  $2^{-11}$ ,  $2^{-9}$ ,  $2^{-7}$ ,  $2^{-5}$ ,  $2^{-3}$ ,  $2^{-1}$ ,  $2^1$  y  $2^3$ . Por otro lado, se seleccionó como mejor clasificador para el problema de clasificar las condiciones patológicas al clasificador Artificial Neural Network (ANN) entrenado con los datos del porcentaje 10%.

15 Con estos clasificadores entrenados con el conjunto de datos descrito en la sección 2.1 se realizó la clasificación del conjunto de datos de muestras ciegas. En el caso del clasificador SVM-RBF para el problema de todas las condiciones, el poder de clasificación fue moderado, al presentar un porcentaje de aciertos ligeramente superior al 60% y un valor del estadístico Kappa de Cohen (kappa) aproximado de 0,48. Por otro lado, el clasificador ANN para el problema de las condiciones patológicas mostró unos resultados superiores, con un porcentaje de aciertos próximo al 75% y un valor de kappa de 0,619. Los resultados de la clasificación se muestran en la **Tabla 12**.

20 **Tabla 12:** Clasificadores automáticos creados mediante el uso del patrón peptídico descrito en la presente invención obtenido a partir de muestras de suero analizadas de cada grupo de pacientes (n= 20 para cada grupo de pacientes). Conds.: condiciones, Clas.: clasificador, Elu.: porcentajes de elución, %Ac.: porcentaje de aciertos, K: kappa global, Cond.: condición, Sen.: sensibilidad por condición, Esp.: especificidad por condición, n: muestras por condición, N: total de muestras, DC: diagnóstico correcto, DCP: diagnóstico correcto por patología.

Conds.	Clas.	Elu.	%Ac.	K	Cond.	Sen.	Esp.	n	N	DC	DCP
Todas	SVM-RBF-OPT	7% 10%	60,76	0,477	APS	0,80	0,93	20	79	48	16
					AR	1,00	0,92	19			19
					OA	0,45	0,75	20			9
					N	0,20	0,88	20			4
Patologías	ANN	10%	74,58	0,619	APS	0,55	0,90	20	59	44	11
					AR	0,89	0,38	19			17
					OA	0,80	0,23	20			16

25 LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> Fundación Profesor Novoa Santos
- 30 <120> Método para el diagnóstico de Artrosis
- <130> PCT2010.2
- <150> P201431445
- 35 <151> 2014-10-01
- <160> 79
- <170> BiSSAP 1.2
- 40 <210> 1
- <211> 11
- <212> PRT
- 45 <213> Homo sapiens
- <400> 1
- Gln Leu Thr Pro Tyr Ala Gln Arg Met Glu Arg
- 1 5 10
- 50 <210> 2



# ES 2 781 195 T3

```

<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

5
<400> 2
Gln Lys Trp Glu Ala Glu Pro Val Tyr Val Gln Arg
1          5          10

10
<210> 3
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15
<400> 3
Glu Leu Gln Gln Arg Leu Glu Pro Tyr Ala Asp Gln Leu Arg
1          5          10

20
<210> 4
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25
<400> 4
Leu His Glu Leu Gln Glu Lys Leu Ser Pro Leu Gly Glu Glu Met Arg
1          5          10          15

30
<210> 5
<211> 18
<212> PRT
35 <213> Homo sapiens

<400> 5
40 Gln Lys Leu His Glu Leu Gln Glu Lys Leu Ser Pro Leu Gly Glu Glu
1          5          10          15
Met Arg

<210> 6
45 <211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

50 <400> 6
Leu His Glu Leu Gln Glu Lys Leu Ser Pro Leu Gly Glu Glu Met Arg
1          5          10          15
Asp Arg

55
<210> 7
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

60
<400> 7
Asp Ser Phe His Leu Asp Glu Gln Phe Thr Val Pro Val Glu Met Met
1          5          10          15
65 Gln Ala Arg

```

ES 2 781 195 T3

<210> 8  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens

<400> 8  
 Ala Arg Ala His Val Asp Ala Leu Arg Thr His Leu Ala Pro Tyr Ser  
 1 5 10 15  
 Asp Glu Leu Arg  
 20

<210> 9  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 9  
 Leu His Glu Leu Gln Glu Lys Leu Ser Pro Leu Gly Glu Glu Met Arg  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Ala Arg  
 20

<210> 10  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 10  
 Gln Lys Leu His Glu Leu Gln Glu Lys Leu Ser Pro Leu Gly Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Met Arg Asp Arg  
 20

<210> 11  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 11  
 Gln Lys Leu His Glu Leu Gln Glu Lys Leu Ser Pro Leu Gly Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Met Arg Asp Arg Ala Arg  
 20

<210> 12  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 12  
 Val Leu Asn Gln Glu Leu Arg  
 1 5

<210> 13  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 13

ES 2 781 195 T3

Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg  
 1 5  
  
 <210> 14  
 5 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 10 <400> 14  
 Gly Val Thr Phe Leu Leu Arg Arg  
 1 5  
  
 <210> 15  
 15 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 20 <400> 15  
 Val Gly Tyr Val Ser Gly Trp Gly Arg  
 1 5  
  
 <210> 16  
 25 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 30 <400> 16  
 Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg  
 1 5  
  
 <210> 17  
 35 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 40 <400> 17  
 Leu Gln Thr Asp Leu Ser Glu Phe Arg  
 1 5  
  
 <210> 18  
 45 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 50 <400> 18  
 Gly Phe Ser Pro Lys Asp Val Leu Val Arg  
 1 5 10  
  
 <210> 19  
 55 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 60 <400> 19  
 Asp Ala Val Ser Ala Ala Phe Lys Gly Leu Lys  
 1 5 10  
  
 <210> 20  
 65 <211> 10  
 <212> PRT

ES 2 781 195 T3

<213> Homo sapiens

<400> 20  
5 Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro Arg  
1 5 10

<210> 21  
<211> 10  
10 <212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 21  
15 Leu Glu Thr Pro Asp Phe Gln Leu Phe Lys  
1 5 10

<210> 22  
<211> 10  
20 <212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 22  
25 Leu Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys  
1 5 10

<210> 23  
<211> 11  
30 <212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 23  
35 Leu Ile Cys Gln Ala Thr Gly Phe Ser Pro Arg  
1 5 10

<210> 24  
<211> 11  
40 <212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 24  
45 Leu Arg Cys Leu Ala Pro Leu Glu Gly Ala Arg  
1 5 10

<210> 25  
<211> 10  
50 <212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 25  
55 Leu Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys  
1 5 10

<210> 26  
<211> 9  
60 <212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 26  
65 Trp Gln Glu Glu Met Glu Leu Tyr Arg  
1 5

# ES 2 781 195 T3

```

5  <210> 27
    <211> 11
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens

    <400> 27
    Val Gln Pro Tyr Leu Asp Asp Phe Gln Lys Lys
10  1                5                10

    <210> 28
    <211> 11
    <212> PRT
15  <213> Homo sapiens

    <400> 28
    Arg Leu Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys
20  1                5                10

    <210> 29
    <211> 14
    <212> PRT
25  <213> Homo sapiens

    <400> 29
    Val Val Ala Gly Val Ala Asn Ala Leu Ala His Lys Tyr His
30  1                5                10

    <210> 30
    <211> 15
    <212> PRT
35  <213> Homo sapiens

    <400> 30
    Asp Ser Gly Glu Gly Asp Phe Leu Ala Glu Gly Gly Gly Val Arg
40  1                5                10                15

    <210> 31
    <211> 13
    <212> PRT
45  <213> Homo sapiens

    <400> 31
    Val Glu Pro Leu Arg Ala Glu Leu Gln Glu Gly Ala Arg
50  1                5                10

    <210> 32
    <211> 12
    <212> PRT
55  <213> Homo sapiens

    <400> 32
    Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro Arg Glu Lys
60  1                5                10

    <210> 33
    <211> 14
    <212> PRT
65  <213> Homo sapiens

```

ES 2 781 195 T3

<400> 33  
Val Cys Pro Phe Ala Gly Ile Leu Glu Asn Gly Ala Val Arg  
1 5 10  
5  
<210> 34  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
10  
<400> 34  
Ala Asp Ser Gly Glu Gly Asp Phe Leu Ala Glu Gly Gly Gly Val Arg  
1 5 10 15  
15  
<210> 35  
<211> 12  
20 <212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 35  
25 Ala Leu Tyr Leu Gln Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Arg  
1 5 10  
<210> 36  
<211> 15  
30 <212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 36  
35 Leu Ala Ala Arg Leu Glu Ala Leu Lys Glu Asn Gly Gly Ala Arg  
1 5 10 15  
<210> 37  
<211> 15  
40 <212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 37  
45 Leu Ala Ala Arg Leu Glu Ala Leu Lys Glu Asn Gly Gly Ala Arg  
1 5 10 15  
<210> 38  
<211> 13  
50 <212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 38  
55 Thr His Leu Ala Pro Tyr Ser Asp Glu Leu Arg Gln Arg  
1 5 10  
<210> 39  
<211> 14  
60 <212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 39  
65 Leu Leu Asp Asn Trp Asp Ser Val Thr Ser Thr Phe Ser Lys  
1 5 10

ES 2 781 195 T3

<210> 40  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens

<400> 40  
 Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg  
 10 1 5 10

<210> 41  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 15 <213> Homo sapiens

<400> 41  
 Ala Gly Asp Phe Leu Glu Ala Asn Tyr Met Asn Leu Gln Arg  
 20 1 5 10

<210> 42  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 25 <213> Homo sapiens

<400> 42  
 Val Leu Gly Ala Phe Ser Asp Gly Leu Ala His Leu Asp Asn Leu Lys  
 30 1 5 10 15

<210> 43  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 35 <213> Homo sapiens

<400> 43  
 Gln Lys Val Glu Pro Leu Arg Ala Glu Leu Gln Glu Gly Ala Arg  
 40 1 5 10 15

<210> 44  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 45 <213> Homo sapiens

<400> 44  
 Tyr Val Met Leu Pro Val Ala Asp Gln Asp Gln Cys Ile Arg  
 50 1 5 10

<210> 45  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 55 <213> Homo sapiens

<400> 45  
 Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys  
 60 1 5 10 15

<210> 46  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 65

# ES 2 781 195 T3

<213> Homo sapiens

<400> 46  
 5 Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
 1 5 10 15

<210> 47  
 <211> 15  
 10 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 47  
 15 Tyr Val Gly Gly Gln Glu His Phe Ala His Leu Leu Ile Leu Arg  
 1 5 10 15

<210> 48  
 <211> 16  
 20 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 48  
 25 Ser Leu Ala Glu Leu Gly Gly His Leu Asp Gln Gln Val Glu Glu Phe  
 1 5 10 15

<210> 49  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 49  
 Gly Leu Pro Gly Pro Asp Val Pro Asp His Ala Ala Tyr His Pro  
 1 5 10 15  
 Phe

<210> 50  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 45 <213> Homo sapiens

<400> 50  
 50 Ser Tyr Phe Glu Lys Ser Lys Glu Gln Leu Thr Pro Leu Ile Lys  
 1 5 10 15

<210> 51  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 55 <213> Homo sapiens

<400> 51  
 60 Asp Ser Gly Arg Asp Tyr Val Ser Gln Phe Glu Gly Ser Ala Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Lys

<210> 52  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 65



# ES 2 781 195 T3

```

<213> Homo sapiens

<400> 52
5  Ile Leu Gly Gly His Leu Asp Ala Lys Gly Ser Phe Pro Trp Gln Ala
   1                               5           10           15
   Lys

10  <210> 53
    <211> 16
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens

15  <400> 53
    Val Met Pro Ile Cys Leu Pro Ser Lys Asp Tyr Ala Glu Val Gly Arg
    1                               5           10           15

20

    <210> 54
    <211> 19
    <212> PRT
25  <213> Homo sapiens

    <400> 54
30  Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
    1                               5           10           15
    Ser Leu Arg

    <210> 55
35  <211> 17
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens

40  <400> 55
    Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
    1                               5           10           15
    Lys

45

    <210> 56
    <211> 17
    <212> PRT
50  <213> Homo sapiens

    <400> 56
    Val Thr Leu Thr Cys Val Ala Pro Leu Ser Gly Val Asp Phe Gln Leu
    1                               5           10           15
55  Arg

    <210> 57
    <211> 18
60  <212> PRT
    <213> Homo sapiens

    <400> 57
65  Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    1                               5           10           15

```

ES 2 781 195 T3

Glu Arg

5 <210> 58  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10 <400> 58  
 Phe Asn Lys Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys  
 1 5 10 15

15 <210> 59  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

20 <400> 59  
 Ser Glu Ala Glu Asp Ala Ser Leu Leu Ser Phe Met Gln Gly Tyr Met  
 1 5 10 15  
 Lys

25 <210> 60  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

30 <400> 60  
 Ser Glu Ala Glu Asp Ala Ser Leu Leu Ser Phe Met Gln Gly Tyr Met  
 1 5 10 15  
 35 Lys

40 <210> 61  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

45 <400> 61  
 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu  
 1 5 10 15  
 Arg

50 <210> 62  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

55 <400> 62  
 Thr Phe Gly Ser Gly Glu Ala Asp Cys Gly Leu Arg Pro Leu Phe Glu  
 1 5 10 15  
 Lys Lys

60 <210> 63  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 65 <213> Homo sapiens

# ES 2 781 195 T3

```

<400> 63
Val Leu Asp Ala Val Arg Gly Ser Pro Ala Ile Asn Val Ala Val His
1           5           10           15
5 Val Phe Arg

<210> 64
<211> 18
10 <212> PRT
    <213> Homo sapiens

<400> 64
15 Ser Leu Glu Asp Lys Thr Glu Arg Glu Leu Leu Glu Ser Tyr Ile Asp
    1           5           10           15
    Gly Arg

20 <210> 65
    <211> 19
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens

25 <400> 65
    Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu
    1           5           10           15
    Ala Lys Lys

30 <210> 66
    <211> 19
    <212> PRT
35 <213> Homo sapiens

<400> 66
40 Cys Glu Gly Pro Ile Pro Asp Val Thr Phe Glu Leu Leu Arg Glu Gly
    1           5           10           15
    Glu Thr Lys

45 <210> 67
    <211> 22
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens

50 <400> 67
    Thr Pro Gly Ala Ala Ala Asn Leu Glu Leu Ile Phe Val Gly Pro Gln
    1           5           10           15
    His Ala Gly Asn Tyr Arg
                20

55 <210> 68
    <211> 20
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens

60 <400> 68
    Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro
    1           5           10           15
65 Glu Gln Trp Lys
                20

```

ES 2 781 195 T3

<210> 69  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens

<400> 69  
 Ser Glu Ala Glu Asp Ala Ser Leu Leu Ser Phe Met Gln Gly Tyr Met  
 1 5 10 15  
 Lys His Ala Thr Lys  
 20

<210> 70  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 70  
 Ala His Val Asp Ala Leu Arg Thr His Leu Ala Pro Tyr Ser Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Arg Gln Arg  
 20

<210> 71  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 71  
 Leu Thr Pro Tyr Ala Asp Glu Phe Lys Val Lys Ile Asp Gln Thr Val  
 1 5 10 15  
 Glu Glu Leu Arg  
 20

<210> 72  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 72  
 Gly Ala His Gly Pro Arg Pro Asp Thr Val Gly Gln Arg Gly Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Arg Pro Ser Pro Gly Pro Ile Arg  
 20

<210> 73  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 73  
 Gly Pro Pro Gly Leu Pro Gly Leu Lys Gly Asp Pro Gly Val Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Leu Pro Gly Ala Lys Gly Glu Val Gly Ala Asp Gly Val  
 20 25

<210> 74  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

ES 2 781 195 T3

<400> 74  
 Ala Val Pro Pro Asn Asn Ser Asn Ala Ala Glu Asp Asp Leu Pro Thr  
 1 5 10 15  
 5 Val Glu Leu Gln Gly Val Val Pro Arg  
 20 25

<210> 75  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 75  
 Thr Val Arg Thr Pro Gly Ala Ala Ala Asn Leu Glu Leu Ile Phe Val  
 1 5 10 15  
 Gly Pro Gln His Ala Gly Asn Tyr Arg  
 20 25

20 <210> 76  
 <211> 23  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

25 <400> 76  
 Asp Glu Pro Pro Gln Ser Pro Trp Asp Arg Val Lys Asp Leu Ala Thr  
 1 5 10 15  
 Val Tyr Val Asp Val Leu Lys  
 20

30 <210> 77  
 <211> 23  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 77  
 Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro  
 1 5 10 15  
 Glu Gln Trp Lys Ser His Arg  
 20

45 <210> 78  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

50 <400> 78  
 Tyr Arg Ser Trp Val Pro His Thr Phe Glu Ser Glu Leu Ser Asp Pro  
 1 5 10 15  
 Val Glu Leu Leu Val Ala Glu Ser  
 20

55 <210> 79  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

60 <400> 79  
 Ser Ala Ser Leu His Leu Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp  
 1 5 10 15  
 65 Leu Lys Ser Val Leu Gly Gln Leu Gly Ile Thr Lys  
 20 25

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso *in vitro* simultáneo del nivel de expresión y/o de la cantidad de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11, como un marcador para el diagnóstico de artrosis en una muestra biológica aislada de un individuo.
- 10 2. Uso *in vitro* según la reivindicación 1 caracterizado por que comprende además el nivel de expresión y/o cantidad de al menos uno de los péptidos seleccionados de la lista que consiste en: SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 79, o combinaciones de los mismos.
- 15 3. Uso *in vitro* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, donde la muestra biológica aislada es un fluido biológico, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en sangre, suero, plasma, líquido sinovial y orina.
- 20 4. Método *in vitro* para el diagnóstico de artrosis en una muestra aislada de un individuo que comprende:
- 25 (a) detectar simultáneamente, en la muestra biológica aislada del individuo, el nivel de expresión y/o la cantidad de los péptidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11, y,
- 30 (b) comparar el nivel de expresión y/o la cantidad obtenida en la etapa (a) con una cantidad de referencia de una muestra biológica aislada obtenida de un sujeto control sano,
- 35 en donde un nivel de expresión y/o cantidad de los péptidos significativamente mayor en la muestra biológica aislada del sujeto de la etapa (a) con respecto al nivel de expresión y/o cantidad de los péptidos en la muestra biológica aislada del sujeto control sano, es indicativo de artrosis.
- 40 5. Método según la reivindicación 4, que además comprende determinar en la etapa (a) el nivel de expresión y/o la cantidad de al menos uno de los péptidos seleccionados de la lista que consiste en: SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, o combinaciones de los mismos,
- 45 en donde un nivel de expresión y/o cantidad significativamente mayor de al menos uno de los péptidos seleccionados de la lista que consiste en: SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, o cualquier combinación de los mismos, y/o un nivel de expresión y/o cantidad significativamente menor de al menos uno de los péptidos seleccionados de la lista que consisten en: SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 74, o cualquier combinación de los mismos, en la muestra biológica aislada del sujeto de
- 50 55 60

la etapa (a) con respecto al nivel de expresión y/o cantidad de los péptidos en la muestra biológica aislada del sujeto control sano, es indicativo de artrosis.

- 5 6. Método *in vitro* según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5, donde la muestra biológica aislada es un fluido biológico, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en sangre, suero, plasma, líquido sinovial y orina.
- 10 7. Método *in vitro* según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6 donde la detección de los niveles de expresión y/o cuantificación de los péptidos se realiza mediante espectrometría de masas, ELISA, array, microarray, citometría de flujo, espectrometría de masas, cromatografía de gases-espectrometría de masas o cromatografía líquida-espectrometría de masas.
- 15 8. Uso de un kit para el diagnóstico *in vitro* de artrosis en una muestra biológica aislada de un individuo, en donde el kit comprende anticuerpos específicos contra los péptidos con las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11, u oligonucleótidos específicos capaces de hibridarse con la secuencia de nucleótidos que codifica los péptidos con las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11.
- 20 9. Uso del kit según la reivindicación 8 donde además comprende al menos un anticuerpo específico contra al menos uno de los péptidos con las secuencias SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 79, o combinaciones de los mismos, o al menos un oligonucleótido específico capaz de hibridarse con la secuencia de nucleótidos que codifica al menos uno de los péptidos con las secuencias SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 79, o combinaciones de los mismos.
- 35 10. Uso del kit según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9 en donde la muestra biológica aislada es un fluido biológico, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en sangre, suero, plasma, líquido sinovial y orina.
- 40
- 45
- 50

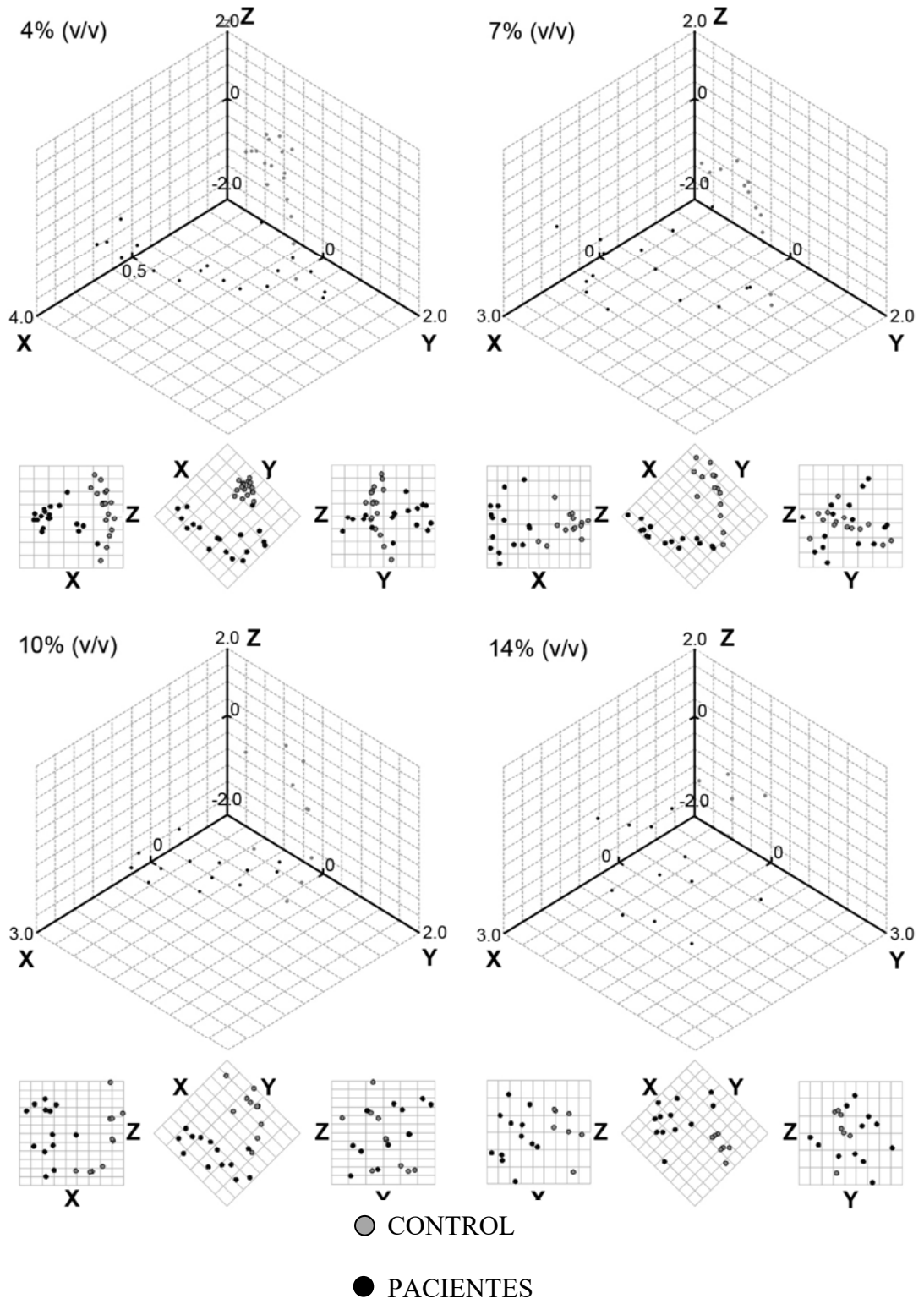


FIG. 1