

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 611 403**

51 Int. Cl.:

A61K 38/20 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.07.2012 PCT/US2012/047238**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.01.2013 WO13012945**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2012 E 12814331 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.10.2016 EP 2734222**

54 Título: **Procedimientos de tratamiento de enfermedades cardiovasculares y de predicción de la eficacia de terapia de ejercicio**

30 Prioridad:

18.07.2011 US 201161508923 P

19.07.2011 US 201161509359 P

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

08.05.2017

73 Titular/es:

CRITICAL CARE DIAGNOSTICS, INC. (100.0%)

3030 Bunker Hill St., Suite 115A

San Diego, California 92109, US

72 Inventor/es:

SNIDER, JAMES V. y

GERWIEN, ROBERT W.

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 611 403 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

Procedimientos de tratamiento de enfermedades cardiovasculares y de predicción de la eficacia de terapia de ejercicio

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a procedimientos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares que utilizan una terapia de ejercicio, y de predicción de la eficacia de una terapia de ejercicio.

Antecedentes

- 10 Los biomarcadores circulantes desempeñan un papel crítico en el diagnóstico y gestión de pacientes con insuficiencia cardíaca crónica (Braunwald, *N. Engl. J. Med.* 358:2148-2159, 2008). Los péptidos natriuréticos, tales como el péptido natriurético cerebral (PNC) y la N-terminal del pro-PNC (NT-proPNC), han demostrado ser herramientas poderosas para el diagnóstico, la estratificación del riesgo y la gestión de los pacientes con insuficiencia cardíaca (Felker y col.; *Canadian Med. Assoc. J.* 175:611-617, 2006). Además de ser útiles para la gestión clínica, los biomarcadores pueden proporcionar conocimientos sobre los mecanismos subyacentes de las relaciones fisiológicas importantes. La intolerancia al ejercicio, manifestada normalmente como disnea de esfuerzo,
- 15 es una morbilidad grave de la insuficiencia cardíaca crónica. Tanto la capacidad de ejercicio máxima (por ejemplo, medida por el consumo máximo de oxígeno [VO₂ pico]) (Aaronson y col., *Circulation* 95:2660-2667, 1997; Mancini y col., *Circulation* 83:778-786, 1991) como submáxima (por ejemplo, medida por la distancia en el ensayo de marcha de 6 minutos) (Bittner y col., *JAMA* 270:1702-1707, 1993) han demostrado ser de importancia pronóstica sustancial en la insuficiencia cardíaca crónica.
- 20 Se puede utilizar una variedad de terapias para tratar a pacientes diagnosticados con una enfermedad cardiovascular. Por ejemplo, la terapia de ejercicio se utiliza habitualmente para tratar a pacientes diagnosticados con una enfermedad cardiovascular (véase, por ejemplo, Korhonen y col., *J. Womens Health* 20:1051-1064, 2011).

Sumario

- 25 Los solicitantes han descubierto una correlación entre el nivel de ST2 soluble y la eficacia de una terapia de ejercicio para los sujetos que tienen una enfermedad cardiovascular, y una correlación entre el nivel de ST2 soluble, una terapia de ejercicio, y el riesgo de un resultado adverso (por ejemplo, muerte) en un sujeto con una enfermedad cardiovascular.

- 30 En la presente memoria se proporcionan procedimientos para el tratamiento de un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular que, en algunas realizaciones, incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, la identificación de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble disminuido en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble, y la selección del sujeto identificado para una terapia de ejercicio. Asimismo se proporcionan procedimientos para el tratamiento de un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, la identificación de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble elevado en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble; y la instrucción al sujeto
- 35 identificado de que no comience, interrumpa o evite una terapia de ejercicio.

- 40 Se proporcionan igualmente procedimientos para la selección de una terapia para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, y la comparación del nivel de ST2 soluble en la muestra biológica con un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble, en la que un nivel de ST2 soluble disminuido en la muestra biológica comparado con el nivel de referencia de riesgo indica que el sujeto debe comenzar o continuar una terapia de ejercicio, y un nivel de ST2 soluble elevado en la muestra biológica comparado con el nivel de referencia de riesgo indica que el sujeto no debe comenzar o debe interrumpir una terapia de ejercicio.

- 45 Se proporcionan también procedimientos para la identificación de un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular que se beneficiará de una terapia de ejercicio que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, y la selección de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble disminuido en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble, en el que el sujeto seleccionado es identificado como un sujeto que se beneficiará de una terapia de ejercicio. También se proporcionan procedimientos para la identificación de un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular que no se beneficiará de una terapia de ejercicio que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, y la selección de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble elevado en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble, en el que el sujeto seleccionado es
- 50 identificado como un sujeto que no se beneficiará de una terapia de ejercicio.

- 55 Se proporcionan asimismo procedimientos para determinar si un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular debe comenzar, continuar, no comenzar, o interrumpir una terapia de ejercicio que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, en el que un nivel de ST2 soluble disminuido

en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble indica que el sujeto debe comenzar o continuar una terapia de ejercicio, y un nivel de ST2 soluble elevado indica que el sujeto no debe comenzar o interrumpir una terapia de ejercicio.

5 También se proporcionan procedimientos para determinar si un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular debe interrumpir o continuar una terapia de ejercicio que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto en un primer punto temporal antes o después del inicio de una terapia de ejercicio, y la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto sometido a una terapia de ejercicio en un segundo punto temporal después del inicio de una terapia de ejercicio y después del primer punto temporal, en el que una elevación en el nivel de ST2 soluble en la muestra biológica en el segundo punto temporal comparado con el nivel de ST2 soluble en la muestra biológica en el primer punto temporal indica que el sujeto debe interrumpir una terapia de ejercicio, y una disminución en el nivel de ST2 soluble en la muestra biológica en el segundo punto temporal comparado con el nivel de ST2 soluble en la muestra biológica en el primer punto temporal indica que el sujeto debe continuar una terapia de ejercicio.

15 En algunas realizaciones de los procedimientos descritos en la presente memoria, los procedimientos incluyen la determinación de que el sujeto tiene un nivel de ST2 soluble por encima de un primer nivel de referencia (por ejemplo, un primer nivel que indica que el sujeto tiene una enfermedad cardiovascular, o corre el riesgo de un acontecimiento cardiovascular adverso, por ejemplo, como se describe en las patentes de Estados Unidos n.º 7.998.683; US2011/0262941; US2012/0040381; 8.090.562; US2012/0065897; 7.670.769; 7.655.415; 7.989.210; US2011/0250703; 7.432.060; 7.985.558; US2011/028088, y por debajo de un segundo nivel de referencia de riesgo (por ejemplo, por debajo de un nivel que indica que el sujeto corre el riesgo de un acontecimiento adverso si se comprometen con la realización de ejercicio, como se describe en la presente memoria), y el sujeto se selecciona para una terapia de ejercicio. Por consiguiente, en algunas realizaciones, los procedimientos incluyen la determinación de que el sujeto tiene un nivel de ST2 que se encuentra dentro de un intervalo que se asocia con la presencia de una enfermedad cardiovascular que se beneficia de una terapia de ejercicio y la ausencia de alto riesgo de un acontecimiento adverso asociado con una terapia de ejercicio.

30 Se proporcionan también procedimientos para la reducción del riesgo de un resultado adverso para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, la identificación de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble disminuido en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble, y la selección del sujeto identificado para una terapia de ejercicio. También se proporcionan procedimientos para la reducción del riesgo de un resultado adverso para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, la identificación de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble elevado en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble, y la instrucción al sujeto de que no comience o interrumpa una terapia de ejercicio. En algunas realizaciones de estos procedimientos, el riesgo de un resultado adverso es un riesgo de muerte.

40 Se proporcionan asimismo procedimientos para la previsión de la eficacia de una terapia de ejercicio para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, y la comparación del nivel de ST2 soluble en la muestra biológica con un nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble, en el que un nivel de ST2 soluble disminuido en la muestra biológica comparado con el nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble indica que una terapia de ejercicio será eficaz para el sujeto, y un nivel de ST2 soluble elevado en la muestra biológica comparado con el nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble indica que la terapia de ejercicio no será eficaz para el sujeto.

45 En cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, la muestra biológica contiene sangre o suero. En cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, la determinación se realiza utilizando un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que se une a ST2 soluble. En cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, el nivel de referencia de ST2 soluble es un valor umbral predeterminado. En cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, el nivel de referencia de ST2 soluble es un nivel de ST2 soluble en un sujeto sano. En cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, el sujeto es hipercolesterolémico, hipertrigliceridémico, hiperlipidémico, un fumador, hipertenso, o tiene un índice de masa corporal superior a 30. Algunas realizaciones de los procedimientos descritos en la presente memoria incluyen además la determinación de un nivel de troponina I cardíaca, péptido natriurético de tipo B, péptido natriurético auricular, o proteína C reactiva en la muestra biológica. Algunas realizaciones de los procedimientos descritos en la presente memoria incluyen además la determinación de un nivel de troponina I cardíaca, péptido natriurético de tipo B, péptido natriurético auricular, o proteína C reactiva en la muestra biológica en el primer punto temporal o la muestra biológica en el segundo punto temporal.

60 En algunas realizaciones de cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, la enfermedad cardiovascular se selecciona entre el grupo que consiste en: hipertrofia cardíaca, infarto de miocardio, apoplejía, arteriosclerosis, e insuficiencia cardíaca. En algunas realizaciones de cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, al sujeto se le administra al menos un agente terapéutico seleccionado entre el grupo que consiste en: agentes antiinflamatorios, agentes anti-trombóticos, anti-coagulantes, agentes antiplaquetarios, agentes reductores de lípidos (por ejemplo, una estatina), inhibidores directos de la trombina, inhibidores del receptor de la

glicoproteína IIb/IIIb, bloqueadores del canal de calcio, bloqueadores de los receptores beta-adrenérgicos, inhibidores de la ciclooxigenasa-2, e inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). En algunas realizaciones, el inhibidor del SRAA se selecciona entre el grupo que consiste en: un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina, un bloqueador del receptor de angiotensina II, y un antagonista de aldosterona.

- 5 Como se utiliza en la presente memoria, la expresión "enfermedad cardiovascular" hace referencia a un trastorno del corazón y de los vasos sanguíneos, e incluye trastornos de las arterias, venas, arteriolas, vénulas, y capilares. Los ejemplos no limitantes de enfermedades cardiovasculares incluyen hipertrofia cardíaca, infarto de miocardio, apoplejía, arteriosclerosis, e insuficiencia cardíaca. Se conocen en la materia ejemplos adicionales de enfermedades cardiovasculares.
- 10 La expresión "ST2 soluble" significa una proteína soluble que contiene una secuencia al menos 90 % idéntica (por ejemplo, al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % idéntica) al n.º de acceso del CNIB NP_003847.2 (SEQ ID NO: 1) o que contiene una secuencia al menos 90 % idéntica (por ejemplo, al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100% idéntica) a los aminoácidos 19-328 de la SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleico que contiene una secuencia al menos 90 % idéntica (por ejemplo, al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % idéntica) al n.º de acceso del CNIB NM_003856.2 (SEQ ID NO: 2) o que contiene una secuencia al menos 90 % idéntica (por ejemplo, al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % idéntica) a los nucleótidos 285 a 1.214 de la SEQ ID NO: 2.
- 15 La expresión "elevado" o "elevación" significa una diferencia, por ejemplo, la presencia de un aumento estadísticamente significativo o detectable en un nivel determinado o medido (por ejemplo, un nivel de la proteína ST2 soluble humano) comparado con un nivel de referencia (por ejemplo, un nivel de ST2 soluble humano en un sujeto que no tiene una enfermedad, un sujeto que no presenta dos o más síntomas de una enfermedad, o un sujeto no identificado en situación de riesgo de desarrollar una enfermedad, o un nivel umbral de ST2 soluble humano). En algunas realizaciones, la referencia es un nivel umbral, y cualquier nivel por encima de ello se considera "elevado". Los niveles de referencia adicionales de ST2 soluble humano se describen en la presente memoria y se conocen en la materia.
- 20 La expresión "nivel de referencia" significa un nivel umbral o un nivel en un sujeto de control o una población de pacientes de control. Un nivel de referencia dependerá del ensayo realizado y puede ser determinado por un experto en la materia. Los ejemplos no limitantes de niveles de referencia se describen en la presente memoria y se conocen en la materia. Los niveles de referencia de ST2 soluble humano pueden determinarse utilizando procedimientos conocidos en la materia.
- 25 En algunas realizaciones, el nivel de referencia es un nivel de referencia de riesgo, por ejemplo, un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble en un sujeto que ha sufrido o es más propenso a sufrir un resultado adverso y que realiza ejercicio, un nivel en una población de sujetos que han sufrido o eran más propensos a sufrir un resultado adverso y que realizan ejercicio, o un nivel umbral de ST2 soluble por encima del cual el riesgo de un resultado adverso se aumenta para aquellos que se comprometen con la realización de una terapia de ejercicio.
- 30 En algunas realizaciones, el nivel de referencia es un nivel de referencia de eficacia, por ejemplo, un nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble es un nivel para un sujeto que ha experimentado un beneficio terapéutico de una terapia de ejercicio, un nivel en una población de sujetos que han experimentado un beneficio terapéutico de una terapia de ejercicio, o un nivel umbral de ST2 soluble por debajo del cual es probable que el sujeto experimente un beneficio terapéutico de una terapia de ejercicio.
- 35 La expresión "marcador adicional" significa una proteína, ácido nucleico, lípido, o carbohidrato, o una combinación (por ejemplo, dos o más) de los mismos, es un indicador de la presencia de una enfermedad particular. Los procedimientos descritos en la presente memoria pueden incluir la detección del nivel de ST2 soluble humano y al menos un marcador adicional en una muestra biológica procedente de un sujeto. Los ejemplos no limitantes de marcadores adicionales que pueden detectarse incluyen: proPNA, NT-proPNA, PNA, proPNB, NT-proPNB, PNB, troponina, PCR, creatinina, nitrógeno ureico en sangre (NUS), enzimas de la función hepática, albúmina, y endotoxina bacteriana; y los marcadores descritos en las publicaciones de las solicitudes de patente de Estados Unidos n.º 2007/0248981; 2011/0053170; 2010/0009356; 2010/0055683; y 2009/0264779.
- 40 El término "hipertrigliceridemia" significa un nivel de triglicéridos superior o igual a 180 ng/ml (por ejemplo, superior o igual a 200 ng/ml).
- 45 El término "hipercolesterolemia" significa un nivel aumentado de al menos una forma de colesterol o colesterol total en un sujeto. Por ejemplo, un sujeto con hipercolesterolemia puede tener un nivel de lipoproteína de alta densidad (LAD) ≥ 40 mg/dl (por ejemplo, ≥ 50 mg/dl o ≥ 60 mg/ml), un nivel de lipoproteína de baja densidad (LBD) ≥ 130 mg/dl (por ejemplo, ≥ 160 mg/dl o ≥ 200 mg/dl), y/o un nivel de colesterol total ≥ 200 mg/dl (por ejemplo, 240 mg/dl).
- 50 El término "hipertensión" significa un nivel aumentado de la presión arterial sistólica y/o diastólica. Por ejemplo, un sujeto con hipertensión puede tener una presión arterial sistólica ≥ 120 mmHg (por ejemplo, ≥ 140 mmHg o ≥ 160 mmHg) y/o una presión arterial diastólica ≥ 80 mmHg (por ejemplo, ≥ 90 mmHg o ≥ 100 mmHg).
- 55

La expresión "sujeto sano" significa un sujeto que no tiene enfermedad alguna (por ejemplo, enfermedad cardiovascular). Por ejemplo, un sujeto sano no ha sido diagnosticado con una enfermedad y no presenta dos o más (por ejemplo, dos, tres, cuatro, o cinco) síntomas de un estado patológico.

5 "Riesgo de muerte" significa el riesgo de muerte en un sujeto por una enfermedad o complicaciones asociadas con una enfermedad (por ejemplo, una enfermedad cardiovascular) en comparación con una población de referencia. La expresión riesgo de muerte, como se utiliza en la presente memoria, excluye la muerte intencional o accidental, por ejemplo, muerte por traumatismo contundente o por aplastamiento, tal como un accidente automovilístico.

10 Como se utiliza en la presente memoria, una "muestra biológica" incluye uno o más elementos de sangre, suero, plasma, orina y tejidos corporales. Generalmente, una muestra biológica es una muestra que contiene suero, sangre o plasma.

El término "estatina" significa una molécula terapéutica que inhibe la enzima HMG-CoA reductasa. Los ejemplos no limitantes de estatinas incluyen: atorvastatina, fluvastatina, lovastatina, pitavastatina, pravastatina, rosuvastatina, y simvastatina. Los ejemplos adicionales de estatinas se conocen en la materia.

15 "Resultado adverso" significa cualquier acontecimiento perjudicial que se produce en un sujeto como resultado de una enfermedad (por ejemplo, una enfermedad cardiovascular). Los ejemplos no limitantes de resultados adversos en un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular incluyen: insuficiencia orgánica, trasplante de órganos, hospitalización o rehospitalización, recurrencia de uno o más síntomas de una enfermedad cardiovascular, desarrollo de uno o más síntomas adicionales de una enfermedad cardiovascular, aumento de la frecuencia, intensidad o duración de uno o más síntomas de una enfermedad cardiovascular experimentados por el sujeto, un primer infarto de miocardio o infarto de miocardio posterior, o muerte (mortalidad). En realizaciones preferentes, el resultado adverso es la mortalidad.

25 Salvo que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado entendido habitualmente por un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. Los procedimientos y materiales se describen en la presente memoria para su uso en la presente invención; otros procedimientos y materiales adecuados conocidos en la materia también pueden utilizarse. Los materiales, procedimientos, y ejemplos son meramente ilustrativos y no pretenden ser limitantes. Todas las publicaciones, solicitudes de patentes, patentes, secuencias, entradas de base de datos, y otras referencias mencionadas en la presente memoria se incorporan por referencia en su totalidad. En caso de conflicto, la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones, prevalecerá.

30 Los detalles de una o más realizaciones de la invención se exponen en los dibujos adjuntos y en la siguiente descripción. Otras características, objetivos, y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la descripción y los dibujos, y a partir de las reivindicaciones.

Descripción de los dibujos

35 La Figura 1 es una gráfica de Kaplan-Meier que muestra el porcentaje de supervivencia de los sujetos que padecen insuficiencia cardíaca con el tiempo en los grupos identificados. Se muestran los datos de supervivencia de los sujetos que tienen un nivel de ST2 soluble inferior o igual a 20,4 ng/ml (línea superior); superior a 20,4 ng/ml, pero inferior o igual a 28,6 ng/ml (línea media); y superior a 28,6 ng/ml (línea inferior) (prueba de rango logarítmico, $p < 0,001$).

40 La Figura 2 es una gráfica y una tabla que muestran el porcentaje de mortalidad en sujetos que padecen insuficiencia cardíaca con el tiempo. Se muestra el porcentaje de los datos de mortalidad de sujetos que padecen insuficiencia cardíaca que tienen un nivel de ST2 soluble igual o inferior a 35 ng/ml (barra izquierda para cada punto temporal), o superior a 35 ng/ml (barra derecha para cada punto temporal). La tabla también muestra el riesgo de mortalidad relativo en cada punto temporal para sujetos que tienen un nivel de ST2 soluble mayor a 35 ng/ml en comparación con sujetos que tienen un nivel de ST2 soluble inferior o igual a 35 ng/ml.

45 La Figura 3 es una gráfica de Kaplan-Meier que muestra la proporción de supervivencia de sujetos que padecen insuficiencia cardíaca con el tiempo en los grupos identificados. Se muestran los datos de supervivencia de los sujetos que tienen un nivel de ST2 soluble igual o inferior a 35 ng/ml y realizan un régimen de tratamiento de ejercicio (línea superior), los sujetos que tienen un nivel de ST2 soluble superior a 35 ng/ml y no realizan un régimen de tratamiento de ejercicio (segunda línea desde la parte superior), los sujetos que tienen un nivel de ST2 soluble superior a 35 ng/ml y no realizan un régimen de tratamiento de ejercicio (segunda línea desde la parte inferior), y los sujetos que tienen un nivel de ST2 soluble igual o inferior a 35 ng/ml y realizan un régimen de tratamiento de ejercicio (línea inferior).

50 La Figura 4 es una gráfica del cociente de riesgo de mortalidad en 1 año en sujetos que padecen insuficiencia cardíaca que realizan un régimen de tratamiento de ejercicio en comparación con sujetos que padecen insuficiencia cardíaca que no realizan un régimen de tratamiento de ejercicio que tienen los diferentes niveles de ST2 solubles mostrados.

55 La Figura 5 muestra la secuencia de la proteína de ST2 soluble humano. Aminoácidos 1-18 del péptido señal (subrayados); péptido maduro después de la eliminación de los aminoácidos de la secuencia señal (19-328).

La Figura 6 muestra la secuencia de ARNm de ST2 soluble humano. Los nucleótidos 285 a 1.214 codifican la

secuencia de aminoácidos (sin la secuencia señal) de ST2 soluble humano.

Las Figuras 7A-B muestran la secuencia proteica de la forma larga de ST2 humano (unido a la membrana). Los aminoácidos 1-18 del péptido señal (subrayados); el péptido maduro después de la eliminación de los aminoácidos de la secuencia señal (19-556).

5 La Figura 8 muestra la secuencia de ARNm de ST2 humano. Los nucleótidos 326 a 1.939 codifican la secuencia de aminoácidos (sin la secuencia señal) de la forma larga de ST2 humano.

Descripción detallada

10 En la presente memoria se proporcionan procedimientos para el tratamiento de un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular; la selección de una terapia para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular; la identificación de un sujeto que se beneficiará o no se beneficiará de una terapia de ejercicio; determinar si un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular debe comenzar, continuar o interrumpir una terapia de ejercicio; y la previsión de la eficacia de una terapia de ejercicio para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular. También se proporcionan procedimientos de reducción del riesgo de un resultado adverso (por ejemplo, muerte) en un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular. Estos procedimientos requieren la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto.

Enfermedades cardiovasculares

20 Una enfermedad cardiovascular es un trastorno del corazón y de los vasos sanguíneos (por ejemplo, trastornos de las arterias, venas, arteriolas, vénulas, y capilares). Las enfermedades cardiovasculares pueden diagnosticarse utilizando procedimientos conocidos en la materia. Los ejemplos no limitantes de enfermedad cardiovascular incluyen insuficiencia cardíaca congestiva, apoplejía, enfermedad de la arteria coronaria aguda, arritmias, hipertrofia septal asimétrica (por ejemplo, hipertrofia ventricular izquierda con disfunción diastólica resultante), cardiomiopatía, disfunción valvular, pericarditis, aterosclerosis, e infarto de miocardio. Un profesional médico (por ejemplo, un médico, un médico asistente, una enfermera, un auxiliar de enfermería, o un técnico de laboratorio) puede diagnosticar a un sujeto que padece una enfermedad cardiovascular utilizando procedimientos ejemplares descritos en la presente memoria. Se conocen en la materia procedimientos adicionales para el diagnóstico de una enfermedad cardiovascular.

30 La insuficiencia cardíaca es un síndrome clínico de diversas etiologías vinculadas por la característica común de bombeo cardíaco deficiente y se caracteriza por la insuficiencia del corazón para bombear la sangre en relación con las necesidades de los tejidos metabolizantes. La insuficiencia cardíaca puede diagnosticarse en un sujeto mediante la observación de uno o más de los siguientes síntomas no limitantes: disnea, fatiga y debilidad, edema en las piernas, tobillos y pies, latidos rápidos o irregulares, capacidad reducida para hacer ejercicio, tos persistente o sibilancias, flemas blancas o teñidas con sangre rosada, hinchazón abdominal (ascitis), aumento repentino de peso por retención de líquidos, falta de apetito, náuseas, dificultad para concentrarse o disminución del estado de alerta, y dolor en el pecho. Procedimientos adicionales no limitantes para el diagnóstico de la insuficiencia cardíaca en un sujeto incluyen el uso de ensayos de diagnóstico disponibles comercialmente (por ejemplo, ensayos por inmunoabsorción ligados a enzimas) conocidos en la materia.

40 Un infarto de miocardio es un foco de necrosis resultante de perfusión inadecuada del tejido cardíaco. El infarto de miocardio se produce generalmente por una disminución abrupta del flujo sanguíneo coronario al que sigue una oclusión trombótica de una arteria coronaria estrechada previamente por aterosclerosis. En general, un infarto de miocardio se produce cuando se fisura, se rompe, o se ulcera una placa aterosclerótica y se forma un trombo mural que produce una oclusión de la arteria coronaria. Los procedimientos no limitativos de diagnóstico de un infarto de miocardio incluyen el uso de una serie de ensayos de diagnóstico disponibles comercialmente conocidos en la materia. Generalmente, estos ensayos de diagnóstico pueden dividirse en cuatro categorías principales: (1) índices no específicos de necrosis e inflamación tisular; (2) electrocardiogramas; (3) cambios enzimáticos en suero (por ejemplo, niveles de creatina fosfoquinasa); y (4) formación de imágenes cardíacas. Un infarto de miocardio también puede ser diagnosticado en un sujeto por medio de la observación de uno o más de los siguientes síntomas: dolor en el pecho (normalmente en el lado izquierdo del cuerpo), dolor en el cuello o en la mandíbula, dolor en el hombro o en el brazo, piel fría y húmeda, disnea, náuseas, y vómitos. Se conocen en la materia los procedimientos adicionales de diagnóstico de un infarto de miocardio.

50 Una apoplejía puede diagnosticarse en un sujeto mediante la observación de uno o más síntomas y/o mediante un examen físico (por ejemplo, herramientas de diagnóstico intervencionista y no intervencionista, tales como tomografía computarizada y resonancia magnética). Los síntomas no limitantes de una apoplejía incluyen: parálisis, debilidad, disminución de la sensibilidad y/o visión, entumecimiento, hormigueo, afasia (por ejemplo, incapacidad para hablar o dificultad para hablar, o dificultad para leer o escribir), agnosia (es decir, incapacidad de reconocer o identificar estímulos sensoriales), pérdida de memoria, dificultades de coordinación, letargo, somnolencia o pérdida del conocimiento, falta de control de esfínteres, y deterioro cognitivo (por ejemplo, demencia, capacidad de atención limitada, e incapacidad para concentrarse). En algunos ejemplos, las técnicas de formación de imágenes médicas pueden utilizarse para identificar un sujeto que tiene un infarto o una hemorragia en el cerebro.

La hipertrofia cardíaca se caracteriza normalmente por la hipertrofia ventricular izquierda, por lo general de una cámara no dilatada, que se produce sin una causa precedente obvia. La hipertrofia cardíaca puede diagnosticarse mediante el uso de una electrocardiografía o ecocardiografía.

5 La arteriosclerosis es una enfermedad cardiovascular caracterizada por un endurecimiento o pérdida de la elasticidad. La arteriosclerosis puede diagnosticarse mediante la detección de uno o más de los siguientes síntomas físicos: un pulso débil o ausente por debajo de la zona estrecha de una arteria, disminución de la presión arterial en una extremidad afectada, soplos causados por el flujo turbulento en una arteria, un aneurisma en el abdomen o detrás de la rodilla, mala cicatrización, y aumento de los niveles de colesterol. La aterosclerosis también se puede detectar utilizando técnicas de formación de imágenes, incluyendo, entre otros: ultrasonido Doppler, electrocardiografía, angiografía, tomografía computarizada, o resonancia magnética (por ejemplo, angiografía por resonancia magnética).

10 Un sujeto puede ser diagnosticado con una enfermedad cardiovascular después de un ingreso hospitalario o después de la presentación en una clínica médica. El tratamiento terapéutico eficaz de una enfermedad cardiovascular puede determinarse en un sujeto mediante la observación en un sujeto de una disminución en el número de síntomas de una enfermedad cardiovascular o una disminución en la frecuencia, intensidad y/o duración de uno o más síntomas de una enfermedad cardiovascular (por ejemplo, cualquiera de los síntomas descritos en la presente memoria). El tratamiento terapéutico eficaz de una enfermedad cardiovascular también puede determinarse mediante la detección de una disminución en los niveles de uno o más marcadores de una enfermedad cardiovascular (por ejemplo, cualquiera de los marcadores de enfermedad cardiovascular conocida en la materia o descrita en la presente memoria) en una muestra biológica procedente de un sujeto con el tiempo (por ejemplo, una disminución significativa en el nivel de al menos un marcador en un segundo punto temporal comparado con el nivel del biomarcador en un primer punto temporal antes del inicio del tratamiento o en un punto temporal anterior durante el periodo de tratamiento). El éxito del tratamiento de una enfermedad cardiovascular puede determinarse asimismo por una disminución del riesgo de un acontecimiento adverso (por ejemplo, una disminución del riesgo de muerte, hospitalización o rehospitalización, insuficiencia orgánica, trasplante de órganos, o un primer infarto de miocardio o infarto de miocardio posterior) (por ejemplo, en comparación con el riesgo de un acontecimiento adverso en la población de pacientes diagnosticados con la misma enfermedad cardiovascular pero que no reciben tratamiento alguno o que reciben un tratamiento diferente).

Terapia de ejercicio

30 Los sujetos diagnosticados con una enfermedad cardiovascular son a menudo dirigidos/instruidos por un profesional médico para realizar un régimen de terapia de ejercicio. La terapia de ejercicio es un régimen de tratamiento que implica la realización periódica de actividad física por un sujeto (por ejemplo, un sujeto diagnosticado con una enfermedad cardiovascular). La actividad física realizada durante este tipo de terapia puede ser un ejercicio aeróbico (por ejemplo, caminar, trotar/correr, nadar, montar en bicicleta o remar) o anaeróbico (por ejemplo, levantamiento de pesas o entrenamiento de resistencia). La actividad física puede realizarse en presencia de un profesional de la salud (por ejemplo, un fisioterapeuta, una enfermera, un auxiliar de enfermería, un médico asistente, o un médico). La actividad física puede realizarse al menos una vez a la semana (por ejemplo, al menos una vez al día, dos veces al día, dos veces a la semana, tres veces a la semana, cuatro veces a la semana, cinco veces a la semana, o seis veces a la semana). En algunas realizaciones, un solo episodio de actividad física en el régimen de terapia de ejercicio puede durar entre 5 minutos y 3 horas, entre 5 minutos y 2 horas, entre 5 minutos y 1 hora, o entre 10 minutos y 1 hora. La intensidad y/o el tipo de actividad física realizada por el sujeto pueden variar con la condición física del sujeto (por ejemplo, edad, gravedad de la enfermedad cardiovascular, estados patológicos adicionales, peso y presión arterial). Un sujeto puede continuar realizando un régimen de terapia de ejercicio durante un periodo de tiempo prolongado (por ejemplo, durante un periodo de 1 mes a 1 año, 1 mes a 2 años, 1 año a 3 años, 2 años a 5 años, o 4 años a 10 años). En algunas realizaciones, un sujeto puede ser controlado por un profesional de la salud para ajustar uno o más parámetros del régimen de terapia de ejercicio, incluyendo la frecuencia, intensidad, duración de los episodios individuales de la actividad física, y el tipo de actividad física realizada. La eficacia de la terapia de ejercicio para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular puede determinarse utilizando cualquiera de los procedimientos para determinar el éxito del tratamiento de una enfermedad cardiovascular (por ejemplo, los procedimientos descritos en la presente memoria o conocidos en la materia). Un sujeto puede continuar realizando un régimen de terapia de ejercicio hasta que sea instruido por un profesional de la salud para que interrumpa la terapia de ejercicio o hasta que se haya logrado un resultado terapéutico específico (por ejemplo, hasta alcanzar una disminución en el número de síntomas de una enfermedad cardiovascular, hasta alcanzar una disminución en la gravedad, intensidad, o frecuencia de uno o más síntomas de una enfermedad cardiovascular, o hasta alcanzar una disminución en los niveles de uno o más marcadores de una enfermedad cardiovascular en el sujeto).

ST2

60 El gen ST2 es un miembro de la familia de receptores de la interleucina-1, cuyo producto proteico existe tanto como una forma transmembranal así como un receptor soluble que es detectable en el suero (Kieser y col., *FEBS Lett.* 372(2-3):189-193, 1995; Kumar y col., *J. Biol. Chem.* 270(46):27905-27913, 1995; Yanagisawa y col., *FEBS Lett.* 302(1):51-53, 1992; Kuroiwa y col., *Hybridoma* 19(2):151-159, 2000). ST2 soluble se describió como un aumento notable de la expresión en un modelo experimental de insuficiencia cardíaca (Weinberg y col., *Circulation*

106(23):2961-2966, 2002), y los datos sugieren que las concentraciones de ST2 soluble humano también son elevadas en aquellos con insuficiencia cardíaca grave crónica (Weinberg y col., *Circulation* 107(5):721-726, 2003), así como en aquellos con infarto agudo de miocardio (Shimpo y col., *Circulation* 109(18):2186-2190, 2004).

5 Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se cree que la forma transmembranal de ST2 desempeña un papel en la modulación de las respuestas de los linfocitos T auxiliares de tipo 2 (Lohning y col., *Proc Natl Acad Sci EE. UU.* 95(12):6930-6935, 1998; Schmitz y col., *Immunity* 23(5):479-490, 2005), y puede desempeñar un papel en el desarrollo de tolerancia en los estados de inflamación grave o crónica (Brint y col., *Nat. Immunol.* 5(4):373-379, 2004), mientras que la forma de ST2 soluble está aumentada en los fibroblastos estimulados por crecimiento (Yanagisawa y col., 1992, *supra*). Los datos experimentales sugieren que el gen ST2 se aumenta notablemente en
10 estados de estiramiento de los cardiomiocitos (Weinberg y col., 2002, *supra*) de manera análoga a la inducción del gen de PNB (Bruneau y col., *Cardiovasc. Res.* 28(10):1519-1525, 1994).

15 Tominaga y col. (*FEBS Lett.* 258:301-304, 1989) aislaron genes murinos que se expresaron específicamente por la estimulación del crecimiento en células BALB/c-3T3. Haga y col. (*Eur. J. Biochem.* 270:163-170, 2003) describen que el gen ST2 se nombró en función de su inducción por la estimulación del crecimiento. El gen ST2 codifica dos productos proteicos: ST2 o sST2, que es una forma secretada soluble, y ST2L, una forma transmembranal del receptor que es muy similar a los receptores de la interleucina-1. El Comité de Nomenclatura HUGO designó el homólogo humano de ST2, cuya clonación se describió en Tominaga y col., *Biochim. Biophys. Acta.* 1171:215-218, 1992, como receptor similar 1 a la interleucina-1 (IL1RL1). Los dos términos se utilizan indistintamente en la materia.

20 La secuencia de ARNm de la isoforma más corta de ST2 soluble humano puede encontrarse en el n.º de acceso a GenBank NM_003856.2 (SEQ ID NO: 2), y la secuencia del polipéptido se encuentra en el n.º de acceso a GenBank NP_003847.2 (SEQ ID NO: 1). La secuencia de ARNm de la forma más larga de ST2 humano se encuentra en el n.º de acceso a GenBank NM_016232.4 (SEQ ID NO: 4), y la secuencia del polipéptido se encuentra en el n.º de acceso a GenBank NP_057316.3 (SEQ ID NO: 3). Información adicional está disponible en las bases de datos públicas en GenID: 9173, n.º ID del MIM 601203, y n.º UniGene Hs.66.

25 Los procedimientos para la detección y medición de ST2 soluble se conocen en la materia, por ejemplo, como se describen en las publicaciones de las solicitudes de patentes de Estados Unidos n.º 2003/0124624, 2004/0048286, y 2005/0130136, y en la solicitud de patente de Estados Unidos número de serie 13/083.333 y la solicitud PCT n.º PCT/US2011/031801. Estas publicaciones de solicitud de patentes de Estados Unidos describen procedimientos para la determinación del nivel de ST2 soluble utilizando un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a ST2
30 soluble. Los kits para medir ST2 soluble también están disponibles comercialmente, por ejemplo, el kit de ELISA ST2 fabricado por Medical & Biological Laboratories Co., Ltd. (MBL International Corp., Woburn, MA), n.º 7638. Además, los dispositivos para medir ST2 y otros biomarcadores se describen en la publicación de la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 2005/0250156.

35 Como se describe con detalle en la presente memoria, los niveles de ST2 soluble pueden determinarse en cualquier muestra biológica procedente de un sujeto, incluyendo sangre, suero, plasma, orina, y tejidos corporales. En general, el nivel de ST2 soluble se determina en una muestra que contiene suero, sangre o plasma. El nivel de ST2 soluble puede determinarse en una muestra biológica que se ha almacenado durante un periodo de tiempo (por ejemplo, durante al menos 1 hora, 1 día, 1 semana, o 1 mes) a una temperatura igual o inferior a 10 °C (por ejemplo, inferior a 0 °C, inferior a -20 °C, o aproximadamente a -196 °C).

40 Las concentraciones elevadas de ST2 soluble son pronósticos marcados de muerte en pacientes con insuficiencia cardíaca, con una divergencia dramática en las curvas de supervivencia para aquellos con ST2 soluble elevado poco después de la presentación (Weinberg y col., *Circulation* 107:721-726, 2003; Mueller y col., *Clin Chem.* 54(4):752-756, 2008; Daniels y col., *Am. Heart. J.* 160:721-728, 2010; Ky y col., *Circ. Heart Fail.* 4(2):180-187, 2011; y Manzano-Fernandez y col., *Am. J. Cardiol.* 107:259-267, 2011). La relación entre ST2 soluble y la muerte en
45 pacientes que padecen insuficiencia cardíaca ha demostrado ser independiente de la etiología, y ha sido reemplazada por todos los demás indicadores de biomarcadores de la mortalidad en este contexto, incluyendo otros marcadores de inflamación, mionecrosis, disfunción renal, y más notablemente NT-proPNB, un marcador bien conocido por tener un valor para predecir la mortalidad en pacientes con insuficiencia cardíaca.

Niveles de referencia de ST2

50 Como se describe en la presente memoria, el nivel de ST2 soluble en un sujeto indica si un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular debe ser seleccionado para una terapia de ejercicio, si un sujeto se beneficiará o no se beneficiará de una terapia de ejercicio, o si un sujeto debe comenzar, continuar, o interrumpir una terapia de ejercicio. Además, el nivel de ST2 soluble en un sujeto puede utilizarse para seleccionar una terapia que incluye
55 ejercicio para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular. Los usos clínicos y terapéuticos adicionales de la detección de un nivel de ST2 soluble se describen en la presente memoria y se conocen en la materia. Los niveles de referencia de ST2 soluble humano pueden determinarse utilizando procedimientos conocidos en la materia (por ejemplo, utilizando los anticuerpos descritos en la solicitud de patente de Estados Unidos n.º de serie 13/083.333 y la solicitud PCT n.º PCT/US2011/031801). En general, será conveniente utilizar un nivel de referencia de ST2 soluble determinado utilizando el mismo procedimiento que se utiliza para determinar el nivel de ST2 soluble en el

sujeto.

Niveles de referencia de riesgo

Los procedimientos descritos en la presente memoria pueden incluir la comparación del nivel de ST2 soluble en una muestra biológica con un nivel de referencia de ST2 soluble. Un nivel de referencia de ST2 soluble puede ser o representar un nivel de ST2 soluble encontrado en una muestra biológica procedente de un sujeto (por ejemplo, un sujeto de control que ha sufrido o era más propenso a sufrir un resultado adverso y que realiza ejercicio) o de una población (por ejemplo, una población de sujetos que han sufrido o eran más propensos a sufrir un resultado adverso y que realizan ejercicio), o puede ser o representar un nivel umbral de ST2 soluble por encima del cual el riesgo de un resultado adverso se aumenta para aquellos que se comprometen en una terapia de ejercicio. Estos niveles de referencia hacen referencia en la presente memoria como el "nivel de referencia de riesgo". En general, la presencia de un nivel de ST2 por debajo del nivel de referencia de riesgo indica que el sujeto no tiene un riesgo elevado de un resultado adverso si se comprometen a realizar una terapia de ejercicio, mientras que la presencia de un nivel de ST2 por encima del nivel de referencia de riesgo indica que el sujeto tiene un riesgo elevado de un resultado adverso si se comprometen a realizar una terapia de ejercicio.

En algunas realizaciones, el nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble es un nivel umbral de ST2 soluble o un percentil (por ejemplo, percentil 75, 80, 85, 90, o 95) de los niveles de ST2 soluble en una población de sujetos que han sufrido un resultado adverso y que realizan ejercicio.

En algunas realizaciones, el nivel de referencia de eficacia es de aproximadamente 55 ng/ml, se determina utilizando el kit Presage ST2, o su equivalente.

Niveles de referencia de eficacia

Alternativamente, o además, los procedimientos descritos en la presente memoria pueden incluir la comparación del nivel de ST2 soluble en una muestra biológica con un nivel de referencia de ST2 soluble que es o representa un nivel de ST2 soluble encontrado en una muestra biológica procedente de un sujeto (por ejemplo, un sujeto de control que ha experimentado un beneficio terapéutico de una terapia de ejercicio, es decir, no era o era menos propenso a sufrir un resultado adverso y que realiza ejercicio) o de una población (por ejemplo, una población de sujetos que han experimentado un beneficio terapéutico de una terapia de ejercicio, es decir, no sufrieron o eran menos propensos a sufrir un resultado adverso y que realizan ejercicio), o puede ser o representar un nivel umbral de ST2 soluble por debajo del cual es probable que el sujeto experimente un beneficio terapéutico de la terapia de ejercicio, es decir, un nivel umbral de ST2 soluble por debajo del cual la probabilidad de un resultado adverso se reduce para aquellos que se comprometen con la realización de una terapia de ejercicio. Estos niveles de referencia se refieren en la presente memoria como "nivel de referencia de eficacia". En general, la presencia de un nivel de ST2 por debajo del nivel de referencia de eficacia indica que el sujeto tiene una mayor probabilidad de no sufrir un resultado adverso si se compromete a realizar una terapia de ejercicio, mientras que la presencia de un nivel de ST2 por encima del nivel de referencia de eficacia indica que el sujeto tiene un riesgo elevado de un resultado adverso si se compromete a realizar una terapia de ejercicio.

En algunas realizaciones, el nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble es un nivel umbral de ST2 soluble o un percentil (por ejemplo, percentil 75, 80, 85, 90, o 95) de los niveles de ST2 soluble en una población de sujetos que ha sufrido un resultado adverso y que realizan ejercicio.

En algunas realizaciones, el nivel de referencia de eficacia es de aproximadamente 35 ng/ml, se determina utilizando el kit Presage ST2, o su equivalente.

Controles sanos y otros niveles de referencia

En algunas realizaciones, los procedimientos descritos en la presente memoria también pueden incluir la comparación del nivel de ST2 soluble en una muestra biológica con un nivel de referencia de ST2 soluble que representa el nivel de ST2 soluble medio presente en una población de sujetos: una población de sujetos diagnosticados con una enfermedad cardiovascular específica, una población de sujetos sanos no diagnosticados con una enfermedad (por ejemplo, una población de pacientes de sexo masculino sanos o una población de pacientes de sexo femenino sanos), una población de sujetos que no corren el riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular, o una población de sujetos que no presentan dos o más síntomas de una enfermedad cardiovascular. Un nivel de referencia puede ser también un nivel basal o un nivel del mismo paciente medido en un momento determinado anterior o posterior. Los ejemplos no limitantes adicionales de los niveles de referencia de ST2 soluble humano incluyen el nivel de ST2 soluble humano en un sujeto o una población de pacientes que: no tienen riesgo elevado de enfermedad cardiovascular; no tienen insuficiencia renal; no tienen hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, hipertensión, y/o un índice de masa corporal < 30 (por ejemplo, un IMC inferior a 25); y/o no padecen enfermedad pulmonar, sepsis, o enfermedad de Kawasaki.

En algunas realizaciones, el nivel de referencia de ST2 soluble es un nivel umbral de ST2 soluble. En algunas realizaciones, el nivel umbral de ST2 soluble es un nivel de ST2 soluble medio o un percentil (por ejemplo, percentil 75, 80, 85, 90, o 95) de los niveles de ST2 soluble en una población de pacientes sanos, por ejemplo, una población

de pacientes de sexo masculino sanos o una población de pacientes de sexo femenino sanos (por ejemplo, cualquiera de los valores o intervalos enumerados en la Tabla 1).

Tabla 1: Concentraciones de sST2 en umbrales específicos - Cohorte sana indicada en Estados Unidos¹

| Percentiles | Cohorte completa | | Varón | | Hembra | |
|--------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | ST2 (ng/ml) | 95 % CI | ST2 (ng/ml) | 95 % CI | ST2 (ng/ml) | 95 % CI |
| 2,5 | 8,0 | 7,1 a 8,6 | 8,6 | 7,7 a 11,8 | 7,3 | 5,5 a 8,4 |
| 5 | 9,3 | 8,4 a 10,2 | 11,8 | 8,6 a 12,7 | 8,5 | 7,3 a 9,4 |
| 10 | 11,5 | 10,3 a 11,9 | 13,7 | 12,2 a 14,8 | 10,2 | 9,0 a 11,2 |
| 25 | 14,5 | 13,7 a 15,2 | 17,6 | 16,8 a 18,7 | 12,4 | 11,9 a 13,5 |
| media | 18,8 | 18,2 a 19,9 | 23,6 | 21,3 a 25,1 | 16,2 | 15,4 a 17,4 |
| 75 | 25,3 | 23,8 a 26,9 | 30,6 | 28,7 a 33,3 | 19,9 | 18,8 a 20,8 |
| 90 | 34,3 | 32,4 a 35,6 | 37,2 | 35,5 a 40,9 | 23,7 | 22,2 a 25,8 |
| 95 | 37,9 | 35,9 a 41,3 | 45,4 | 39,4 a 48,6 | 29,0 | 24,6 a 33,2 |
| 97,5 | 45,6 | 40,1 a 48,7 | 48,5 | 45,8 a 58,5 | 33,1 | 29,6 a 39,9 |

¹Estos niveles se determinaron utilizando los anticuerpos descritos en la solicitud de patente de Estados Unidos n.º de serie 13/083.333 y la solicitud PCT n.º PCT/US2011/031801.

- 5 En algunas realizaciones, el nivel umbral es 28,6 ng/ml, aproximadamente 28 ng/ml a aproximadamente 35 ng/ml, 35 ng/ml, aproximadamente 35 ng/ml a aproximadamente 45 ng/ml, aproximadamente 45 ng/ml a aproximadamente 55 ng/ml, o el intervalo de 55 a 60 ng/ml (por ejemplo, el intervalo completo o cualquier nivel comprendido entre 55 y 60 ng/ml) (por ejemplo, utilizando los anticuerpos descritos en la solicitud de patente de Estados Unidos n.º de serie 13/083.333 y la solicitud PCT n.º PCT/US2011/031801). Los niveles de referencia de ST2 soluble humano pueden determinarse utilizando procedimientos conocidos en la materia (por ejemplo, utilizando los anticuerpos descritos en la solicitud de patente de Estados Unidos n.º de serie 13/083.333 y la solicitud PCT n.º PCT/US2011/031801). Los niveles de referencia adicionales de ST2 soluble son conocidos en la materia. Como se sabe en la materia, el nivel de referencia de ST2 soluble puede variar en base al ensayo utilizado para determinar los niveles de ST2 soluble.

Sujetos

- 15 Los procedimientos descritos en la presente memoria pueden realizarse en una variedad de sujetos que tienen una enfermedad cardiovascular (por ejemplo, cualquiera de los sujetos descritos en la presente memoria). En algunas realizaciones de cualquiera de los procedimientos, el sujeto ha sido diagnosticado previamente con una enfermedad cardiovascular. En algunas realizaciones de cualquiera de los procedimientos, el sujeto es hipercolesterolémico, hipertriglicéridémico, hiperlipidémico, un fumador, hipertenso, o tiene un índice de masa corporal superior a 25 (por ejemplo, entre 25 y 30, o superior a 30). En algunas realizaciones de cualquiera de los procedimientos, el sujeto ya puede estar recibiendo un agente terapéutico (por ejemplo, uno o más de los agentes terapéuticos adicionales descritos en la presente memoria o conocidos en la materia para tratar una enfermedad cardiovascular). En algunas realizaciones, el sujeto tiene insuficiencia cardíaca.

- 25 En algunas formas de realización de cualquiera de los procedimientos, el sujeto puede haber sido ingresado previamente en un hospital o puede recibir tratamiento de manera ambulatoria. En algunas realizaciones de cualquiera de los procedimientos, el paciente puede comprender entre 20 a 40 años de edad, 40 a 50 años de edad, 50 a 60 años de edad, 60 a 70 años de edad, 70 a 80 años de edad, 80 a 90 años de edad, o 90 a 100 años de edad.

Procedimientos de tratamiento de un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular

- 30 En la presente memoria se proporcionan procedimientos de tratamiento para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular (por ejemplo, cualquiera de las enfermedades cardiovasculares descritas en la presente memoria o conocidas en la materia, por ejemplo, insuficiencia cardíaca). Estos procedimientos incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, la identificación de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble disminuido (por ejemplo, una disminución significativa o detectable) en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo o de eficacia de ST2 soluble (por ejemplo, como se describe en la presente memoria), y la selección del sujeto identificado para una terapia de ejercicio (por ejemplo, cualquier forma de terapia de ejercicio descrita en la presente memoria o conocida en la materia). También se proporcionan procedimientos de tratamiento de un sujeto que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, la identificación de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble aumentado (por ejemplo, un aumento significativo o detectable) en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de

riesgo o de eficacia de ST2 soluble (por ejemplo, como se describe en la presente memoria), y la instrucción al sujeto identificado de que no comience, interrumpa, o evite una terapia de ejercicio. El nivel de ST2 soluble en la muestra biológica puede determinarse utilizando cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria (por ejemplo, procedimientos que utilizan un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a ST2 soluble). La muestra biológica puede ser cualquiera de las muestras biológicas descritas en la presente memoria. En algunas realizaciones, la muestra biológica se obtiene de un sujeto con una enfermedad cardiovascular, un infarto de miocardio, o insuficiencia cardíaca a los 2 o 4 años del diagnóstico.

El sujeto seleccionado puede comenzar a realizar cualquiera de los regímenes de una terapia de ejercicio descritos en la presente memoria. Algunas realizaciones de estos procedimientos incluyen además el control del sujeto para determinar si el régimen de terapia de ejercicio se debe continuar o alterar en uno o más aspectos (por ejemplo, cualquiera de los aspectos de los regímenes de una terapia de ejercicio descritos en la presente memoria). Se describen en la presente memoria los procedimientos para controlar el sujeto para determinar si la terapia de ejercicio se debe continuar o interrumpir. Estos procedimientos pueden ser realizados por cualquier profesional de la salud (por ejemplo, un médico, un fisioterapeuta, una enfermera, un médico asistente, un técnico de laboratorio, o un auxiliar de enfermería).

En algunas realizaciones, el tratamiento da como resultado una reducción (por ejemplo, una disminución significativa) en el riesgo de un resultado adverso (por ejemplo, cualquiera de los resultados adversos descritos en la presente memoria) en el sujeto. En algunas realizaciones, el tratamiento da como resultado una disminución en el número de síntomas de una enfermedad cardiovascular, una disminución (por ejemplo, una disminución significativa o detectable) en la intensidad, frecuencia, o duración de uno o más síntomas de una enfermedad cardiovascular, o una disminución en el nivel de al menos un marcador de una enfermedad cardiovascular en una muestra biológica procedente del sujeto.

Procedimientos de selección de una terapia para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular

También se proporcionan procedimientos para la selección de una terapia para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular. Estos procedimientos incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto y la comparación del nivel de ST2 soluble en la muestra biológica con un nivel de referencia de riesgo o de eficacia de ST2 soluble (por ejemplo, cualquiera de los niveles de referencia de ST2 soluble descritos en la presente memoria o conocidos en la materia), en el que un nivel de ST2 soluble disminuido (por ejemplo, una disminución significativa o detectable) en la muestra biológica comparado con el nivel de referencia de riesgo o de eficacia de ST2 soluble indica que el sujeto debe comenzar o continuar una terapia de ejercicio (por ejemplo, cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria), y un nivel de ST2 soluble elevado (por ejemplo, un aumento significativo o detectable) en la muestra biológica comparado con el nivel de referencia de riesgo o de eficacia de ST2 soluble indica que el sujeto no debe comenzar o debe interrumpir una terapia de ejercicio. El nivel de ST2 soluble en la muestra biológica puede determinarse utilizando cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, y la muestra biológica puede ser cualquiera de las muestras biológicas descritas en la presente memoria. En algunas realizaciones, la muestra biológica se obtiene de un sujeto con una enfermedad cardiovascular, un infarto de miocardio, o insuficiencia cardíaca a los 2 o 4 años del diagnóstico. Estos procedimientos pueden ser realizados por cualquier profesional de la salud (por ejemplo, un médico, un fisioterapeuta, una enfermera, un médico asistente, un técnico de laboratorio, o un auxiliar de enfermería). En algunas realizaciones, el sujeto ya puede realizar un régimen de terapia de ejercicio.

Procedimientos de identificación de un sujeto que se beneficiará/no se beneficiará de una terapia de ejercicio

Se proporcionan asimismo en la presente memoria procedimientos para la identificación de un sujeto que se beneficiará de una terapia de ejercicio (beneficio de la realización de cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria). Los procedimientos incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, y la selección de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble disminuido (por ejemplo, una disminución significativa o detectable) en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble (por ejemplo, cualquiera de los niveles de referencia de ST2 soluble descritos en la presente memoria o conocidos en la materia), en el que el sujeto seleccionado es identificado como un sujeto que se beneficiará de una terapia de ejercicio (por ejemplo, cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria). También se proporcionan procedimientos para la identificación de un sujeto que no se beneficiará de una terapia de ejercicio (no se beneficiará de la realización de cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria) que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, y la selección un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble elevado (por ejemplo, un aumento significativo o detectable) en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble (por ejemplo, cualquiera de los niveles de referencia de ST2 soluble descritos en la presente memoria o conocidos en la materia), en el que el sujeto seleccionado es identificado como un sujeto que no se beneficiará de una terapia de ejercicio (por ejemplo, cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria).

En algunas realizaciones, la muestra biológica se obtiene de un sujeto con una enfermedad cardiovascular, un infarto de miocardio, o insuficiencia cardíaca a los 2 o 4 años del diagnóstico. En algunas realizaciones, el nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble es un nivel umbral de ST2 soluble inferior o igual a 35 ng/ml o un intervalo de 55 a 60 ng/ml (por ejemplo, el intervalo completo o cualquier nivel comprendido entre 55 y 60 ng/ml). El nivel de ST2 soluble en la muestra biológica puede determinarse utilizando cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria (por ejemplo, procedimientos que utilizan un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a ST2 soluble), y la muestra biológica puede ser cualquiera de las muestras biológicas descritas en la presente memoria.

En algunas realizaciones de estos procedimientos, el sujeto ha sido diagnosticado previamente con una enfermedad cardiovascular (por ejemplo, diagnosticado previamente con insuficiencia cardíaca). En algunas realizaciones, el sujeto es hipercolesterolémico, hipertriglicéridémico, hiperlipidémico, un fumador, hipertenso, o tiene un índice de masa corporal superior a 25 (por ejemplo, entre 25 y 30, o superior a 30). En algunas realizaciones, el sujeto ya puede estar recibiendo un agente terapéutico (por ejemplo, uno o más de los agentes terapéuticos adicionales descritos en la presente memoria o conocidos en la materia para tratar una enfermedad cardiovascular). En algunas realizaciones, el sujeto puede haber sido ingresado previamente en un hospital o puede recibir tratamiento de manera ambulatoria. En algunas realizaciones, el paciente puede comprender entre 20 a 40 años de edad, 40 a 50 años de edad, 50 a 60 años de edad, 60 a 70 años de edad, 70 a 80 años de edad, 80 a 90 años de edad, o 90 a 100 años de edad.

En algunas realizaciones, el beneficio de una terapia de ejercicio puede ser uno o más de los siguientes: una reducción (por ejemplo, una disminución significativa) en el riesgo de un resultado adverso (por ejemplo, cualquiera de los resultados adversos descritos en la presente memoria) en el sujeto, una reducción en el número de síntomas de una enfermedad cardiovascular, una reducción (por ejemplo, una disminución detectable u observable) en la intensidad, frecuencia, o duración de uno o más síntomas de una enfermedad cardiovascular, o una reducción (por ejemplo, disminución detectable) en los niveles de al menos un marcador de una enfermedad cardiovascular en una muestra biológica procedente del sujeto (por ejemplo, en comparación con un sujeto o población de sujetos que tienen la misma enfermedad cardiovascular pero que no reciben una terapia o reciben una terapia diferente). El beneficio de la terapia de ejercicio puede determinarse en diversos puntos temporales en un sujeto (por ejemplo, después de al menos 6 meses de terapia de ejercicio, después de 1 año de terapia de ejercicio, o después de 2 años de terapia de ejercicio).

30 Procedimientos de determinación si un sujeto debe comenzar, continuar, o interrumpir la terapia de ejercicio

También se proporcionan procedimientos para determinar si un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular debe comenzar o continuar la terapia de ejercicio (por ejemplo, cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria) que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, en el que un nivel de ST2 soluble disminuido (por ejemplo, una disminución significativa o detectable) en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo o de eficacia de ST2 soluble (por ejemplo, cualquiera de los niveles de referencia descritos en la presente memoria) indica que el sujeto debe comenzar o continuar una terapia de ejercicio. También se proporcionan procedimientos para determinar si un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular no debe comenzar o interrumpir una terapia de ejercicio (por ejemplo, cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria) que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, en el que un nivel de ST2 soluble elevado (por ejemplo, un aumento significativo o detectable) en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo o de eficacia de ST2 soluble (por ejemplo, cualquiera de los niveles de referencia de ST2 soluble descritos en la presente memoria) indica que el sujeto no debe comenzar o interrumpir una terapia de ejercicio.

Del mismo modo se proporcionan procedimientos para determinar si un sujeto que tiene un trastorno cardiovascular debe interrumpir o evitar una terapia de ejercicio (por ejemplo, cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria) que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto en un primer punto temporal antes o después del inicio de una terapia de ejercicio, y la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto que se somete (realiza) a una terapia de ejercicio en un segundo punto temporal después del inicio de una terapia de ejercicio y después del primer punto temporal, en el que un aumento (por ejemplo, un aumento significativo o detectable) en el nivel de ST2 soluble en la muestra biológica del segundo punto temporal comparado con el nivel de ST2 soluble en la muestra biológica en el primer punto temporal indica que el sujeto debe interrumpir o evitar una terapia de ejercicio. También se proporcionan procedimientos para determinar si un sujeto que tiene un trastorno cardiovascular debe continuar una terapia de ejercicio (por ejemplo, cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria) que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto en un primer punto temporal antes o después del inicio de una terapia de ejercicio, y la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto que se somete (realiza) a una terapia de ejercicio en un segundo punto temporal después del inicio de una terapia de ejercicio y después del primer punto temporal, en el que una disminución (por ejemplo, una disminución significativa o detectable) o ningún cambio (por ejemplo, ningún cambio significativo) en el nivel de ST2 soluble en la muestra biológica del segundo punto temporal comparado con el nivel de ST2 soluble en la muestra biológica en el primer punto temporal indica que el sujeto debe continuar una

terapia de ejercicio.

Asimismo se proporcionan procedimientos para determinar si un sujeto que tiene un trastorno cardiovascular debe continuar una terapia de ejercicio (por ejemplo, cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria) que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto en un primer punto temporal antes o después del inicio de una terapia de ejercicio, y la instrucción al sujeto de que comience o continúe una terapia de ejercicio si el nivel de ST2 soluble es inferior a un nivel de referencia de riesgo o de eficacia; y la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto que se somete (realiza) a una terapia de ejercicio en un segundo punto temporal después del inicio de una terapia de ejercicio y después del primer punto temporal, y la instrucción al sujeto de que continúe con una terapia de ejercicio si el nivel en el segundo punto temporal se encuentra aún por debajo del nivel de referencia de riesgo o de eficacia, o de que detenga la terapia de ejercicio si el nivel en el segundo punto temporal se encuentra por encima del nivel de referencia de riesgo o de eficacia.

En algunas realizaciones, uno o más niveles de ST2 soluble adicionales pueden determinarse en el sujeto (por ejemplo, se determinan en las muestras biológicas obtenidas en uno o más puntos temporales después del segundo punto temporal). En algunas realizaciones, el nivel de ST2 soluble se determinó en una muestra biológica obtenida del sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular al menos cada mes (por ejemplo, al menos cada dos meses, al menos cada tres meses, al menos cada cuatro meses, al menos cada cinco meses, o al menos cada seis meses) durante la realización de un régimen de terapia de ejercicio. En dichas realizaciones, un aumento (por ejemplo, un aumento significativo o detectable) en el nivel de ST2 soluble en una muestra biológica tomada en un punto temporal posterior comparado con el nivel de ST2 soluble en una muestra biológica tomada en un punto temporal anterior (por ejemplo, inmediatamente antes de una muestra biológica), o la presencia de un nivel por encima de un nivel de referencia de riesgo o de eficacia, indica que el sujeto debe interrumpir una terapia de ejercicio, y una disminución (por ejemplo, una disminución significativa o detectable) o ningún cambio (por ejemplo, ningún cambio significativo) en el nivel de ST2 soluble en una muestra biológica tomada en un punto temporal posterior comparado con el nivel de ST2 soluble en una muestra biológica tomada en un punto temporal anterior (por ejemplo, inmediatamente antes de una muestra biológica), o la presencia de un nivel por debajo de un nivel de referencia de riesgo o de eficacia, indica que el sujeto debe continuar una terapia de ejercicio. En algunas realizaciones de estos procedimientos, los sujetos son controlados por un profesional de la salud (por ejemplo, un médico, un fisioterapeuta, una enfermera, un auxiliar de enfermería, un médico asistente, o un técnico de laboratorio).

En algunas realizaciones, la muestra biológica se obtiene de un sujeto con una enfermedad cardiovascular un infarto de miocardio, o insuficiencia cardíaca a los 2 años del diagnóstico. El nivel de ST2 soluble en la muestra biológica puede determinarse utilizando cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, y la muestra biológica puede ser cualquiera de las muestras biológicas descritas en la presente memoria. Estos procedimientos pueden reducir (por ejemplo, una reducción significativa) el riesgo de muerte o un resultado adverso (por ejemplo, cualquiera de los resultados adversos descritos en la presente memoria) en el sujeto, reducir el número de síntomas de una enfermedad cardiovascular, reducir (por ejemplo, una reducción detectable u observable) en la intensidad, frecuencia, o duración en uno o más síntomas de una enfermedad cardiovascular, o reducir (por ejemplo, reducción detectable) en el nivel de al menos un marcador (por ejemplo, cualquiera de los marcadores descritos en la presente memoria) de una enfermedad cardiovascular en una muestra biológica procedente del sujeto (por ejemplo, en comparación con un sujeto o población de sujetos que tienen la misma enfermedad cardiovascular pero que no reciben una terapia o reciben una terapia diferente).

Procedimientos de reducción del riesgo de un resultado adverso en un sujeto

En la presente memoria también se proporcionan procedimientos para la reducción (por ejemplo, una reducción significativa) del riesgo de un resultado adverso (por ejemplo, riesgo de muerte) en un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular que incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, la identificación de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble disminuido (por ejemplo, una disminución significativa o detectable) en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble (por ejemplo, como se describe en la presente memoria), y la selección del sujeto identificado para una terapia de ejercicio (por ejemplo, cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria). También se proporcionan procedimientos para la reducción (por ejemplo, una reducción significativa) del riesgo de un resultado adverso (por ejemplo, riesgo de muerte) en un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular que incluye la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, la identificación de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble elevado (por ejemplo, un aumento significativo o detectable) en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble (por ejemplo, como se describe en la presente memoria), y la instrucción al sujeto identificado de que evite o interrumpa una terapia de ejercicio (por ejemplo, cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria).

En algunas realizaciones, el resultado adverso puede ser uno o más de: muerte, insuficiencia orgánica, trasplante de órganos, hospitalización o rehospitalización, recurrencia de uno o más síntomas de una enfermedad cardiovascular, desarrollo de uno o más síntomas de una enfermedad cardiovascular, un aumento de la frecuencia, intensidad, o duración de uno o más síntomas de una enfermedad cardiovascular experimentados por el sujeto, o un primer

infarto de miocardio o infarto de miocardio posterior. En algunas realizaciones, la muestra biológica se obtiene de un sujeto con una enfermedad cardiovascular, un infarto de miocardio, o insuficiencia cardíaca a los 2 años del diagnóstico. Cualquiera de estos procedimientos puede ser realizado por un profesional de la salud (por ejemplo, un médico, un fisioterapeuta, una enfermera, un auxiliar de enfermería, un médico asistente, o un técnico de laboratorio).

Procedimientos de predicción de la eficacia de una terapia de ejercicio

También se proporcionan procedimientos de predicción de la eficacia de una terapia de ejercicio (por ejemplo, cualquiera de los regímenes de terapia de ejercicio descritos en la presente memoria) para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular. Estos procedimientos incluyen la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedimiento del sujeto, y la comparación del nivel de ST2 soluble en la muestra biológica con un nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble (por ejemplo, cualquiera de los niveles de referencia de ST2 soluble descritos en la presente memoria), en el que un nivel de ST2 soluble disminuido (por ejemplo, una disminución significativa o detectable) en la muestra biológica comparado con el nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble (por ejemplo, como se describe en la presente memoria) indica que una terapia de ejercicio será eficaz en el sujeto, y un nivel de ST2 soluble elevado (por ejemplo, un aumento significativo o detectable) en la muestra biológica comparado con el nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble (por ejemplo, como se describe en la presente memoria) indica que una terapia de ejercicio no será eficaz en el sujeto. En algunas realizaciones, el nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble es un nivel umbral de ST2 soluble de 28,6 ng/ml, inferior o igual a 35 ng/ml, aproximadamente 28 ng/ml a aproximadamente 35 ng/ml (por ejemplo, el intervalo completo o cualquier nivel comprendido entre 28 y 35 ng/ml), 35 ng/ml, aproximadamente 35 ng/ml a aproximadamente 45 ng/ml (por ejemplo, el intervalo completo o cualquier nivel comprendido entre 35 a 45 ng/ml), aproximadamente 45 ng/ml a aproximadamente 55 ng/ml (por ejemplo, el intervalo completo o cualquier nivel comprendido entre 45 y 55 ng/ml), aproximadamente 35 ng/ml a aproximadamente 55 ng/ml (por ejemplo, el intervalo completo o cualquier nivel comprendido entre 35 a 55 ng/ml), o el intervalo de 55 a 60 ng/ml (por ejemplo, el intervalo completo o cualquier nivel comprendido entre 55 a 60 ng/ml) (por ejemplo, determinado utilizando los anticuerpos descritos en la solicitud de patente de Estados Unidos n.º de serie 13/083.333 y la solicitud PCT n.º PCT/US2011/031801). En algunas realizaciones, la muestra biológica se obtiene de un sujeto con una enfermedad cardiovascular, un infarto de miocardio, o insuficiencia cardíaca a los 2 años del diagnóstico. El nivel de ST2 soluble en la muestra biológica se puede determinar utilizando cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, y la muestra biológica puede ser cualquiera de las muestras biológicas descritas en la presente memoria.

En algunas realizaciones, la eficacia de una terapia de ejercicio puede ser uno o más de los siguientes: una reducción (por ejemplo, una disminución significativa) en el riesgo de un resultado adverso (por ejemplo, cualquiera de los resultados adversos descritos en la presente memoria) en el sujeto, una reducción en el número de síntomas de una enfermedad cardiovascular, una reducción (por ejemplo, una disminución detectable u observable) en la intensidad, frecuencia, o duración de uno o más síntomas de una enfermedad cardiovascular, o una reducción (por ejemplo, disminución detectable) en los niveles de al menos un marcador de una enfermedad cardiovascular (por ejemplo, cualquiera de los marcadores descritos en la presente memoria o conocidos en la materia) en una muestra biológica procedente del sujeto (por ejemplo, en comparación con un sujeto o población de sujetos que tienen la misma enfermedad cardiovascular pero que no reciben terapia o reciben una terapia diferente). La eficacia de una terapia de ejercicio puede determinarse en diversos puntos temporales en un sujeto (por ejemplo, después de al menos 6 meses de terapia de ejercicio, después de 1 año de terapia de ejercicio, o después de 2 años de terapia de ejercicio).

Marcadores terapéuticos adicionales

Cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria puede incluir además la determinación del nivel de al menos un marcador adicional (por ejemplo, al menos un marcador adicional de una enfermedad cardiovascular) en una muestra biológica procedente de un sujeto. En algunas realizaciones, la muestra biológica utilizada para determinar el nivel de al menos un marcador adicional puede ser la misma muestra o muestras que se utilizan para determinar un nivel de ST2 soluble en un sujeto. En algunas realizaciones, la muestra biológica utilizada para determinar el nivel de al menos un marcador adicional es una muestra diferente de la muestra o muestras utilizadas para determinar un nivel de ST2 soluble en un sujeto. La muestra biológica puede ser cualquiera de las muestras biológicas descritas en la presente memoria.

El marcador adicional puede ser cualquier proteína, ácido nucleico, lípido, o carbohidratos, o una combinación (por ejemplo, dos o más) de los mismos, es diagnóstico de la presencia de una enfermedad particular (por ejemplo, diagnóstico de una enfermedad cardiovascular). Varios marcadores adicionales útiles para el diagnóstico de una enfermedad cardiovascular son conocidos en la materia, e incluyen, entre otros, troponina I cardíaca, péptido natriurético de tipo B (por ejemplo, proPNB, NT-proPNB y PNB), péptido natriurético auricular (por ejemplo, proPNA, NT-proPNA y PNA), troponina, o proteína C reactiva, creatinina, nitrógeno ureico en sangre (NUS), enzimas de la función hepática, albúmina, y endotoxina bacteriana. Los marcadores no limitantes adicionales se describen en las publicaciones de las solicitudes de patente de Estados Unidos n.º 2007/0248981; 2011/0053170; 2010/0009356; 2010/0055683; y 2009/0264779. Se conocen en la materia marcadores adicionales de una enfermedad cardiovascular.

Los procedimientos para la determinación del nivel de los marcadores descritos previamente de una enfermedad cardiovascular son conocidos en la materia. Los ensayos de diagnóstico para determinar el nivel de varios de estos marcadores están disponibles comercialmente. Por ejemplo, los ensayos de diagnóstico para determinar el nivel de la proteína C reactiva (por ejemplo, Exocell), péptido natriurético de tipo B (por ejemplo, Alpco Immunoassays), péptido natriurético auricular (por ejemplo, Cusabio Biotech Co., Ltd.), y troponina I cardíaca (por ejemplo, Calbiotech Inc.) están disponibles comercialmente.

Tratamientos terapéuticos adicionales

En cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria, al sujeto se le puede administrar además un tratamiento terapéutico adicional (por ejemplo, al menos un tratamiento terapéutico además de una terapia de ejercicio). En algunas realizaciones de los procedimientos descritos en la presente memoria, el sujeto puede estar recibiendo al menos un tratamiento terapéutico en el momento en el que comienza una terapia de ejercicio. En algunas realizaciones, un profesional de la salud puede ajustar (por ejemplo, aumentar o disminuir) la dosificación o la frecuencia de administración de al menos un agente terapéutico administrado al sujeto antes del inicio de una terapia de ejercicio o en un punto temporal durante una terapia de ejercicio. En algunas realizaciones de los procedimientos descritos en la presente memoria, la eficacia de una terapia de ejercicio permite una disminución en el número de agentes terapéuticos o permite una disminución de la dosis o la frecuencia de administración de uno o más agentes terapéuticos a un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular.

Los ejemplos no limitantes de tratamiento terapéutico de una enfermedad cardiovascular (además de una terapia de ejercicio) incluyen la administración de uno o más de los siguientes agentes: estatinas, agentes antiinflamatorios, agentes anti-trombóticos, anti-coagulantes, agentes antiplaquetarios, agentes reductores de lípidos, inhibidores directos de la trombina, inhibidores del receptor de la glicoproteína IIb/IIIb, bloqueadores del canal de calcio, bloqueadores de los receptores beta-adrenérgicos, inhibidores de la ciclooxigenasa-2, e inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA).

Los ejemplos no limitantes de agentes reductores de lípidos que pueden utilizarse para tratar una enfermedad cardiovascular en un sujeto (solos o en combinación con cualquier otra terapia, incluyendo terapia de ejercicio) incluyen: una estatina, gemfibrozil, colistiramina, colestipol, ácido nicotínico, y probucol. Las estatinas son moléculas capaces de inhibir la actividad de la HMG-CoA reductasa. Los ejemplos no limitantes de las estatinas que pueden administrarse a un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular (solas o en combinación con cualquier otra terapia, incluyendo terapia de ejercicio) incluyen: atorvastatina, cirivastatina, fluvastatina, lovastatina, pitavastatina, pravastatina, rosuvastatina, y simvastatina. Los ejemplos adicionales de estatinas y otros agentes reductores de lípidos son conocidos en la materia.

Los ejemplos no limitantes de agentes antiinflamatorios que pueden utilizarse para tratar una enfermedad cardiovascular en un sujeto (solos o en combinación con cualquier otra terapia, incluyendo terapia de ejercicio) incluyen: alclofenaco, dipropionato de alclometasona, acetónido de algestona, alfa-amilasa, amcinafal, amcinafida, amfenac-sodio, clorhidrato de amiprilosa, anakinra, anirolac, anitrazafeno, apazona, balsalazida disodio; bendazac, benoxaprofeno, clorhidrato de bencidamina, bromelaína, broperamol, budesonida, carprofeno, cicloprofeno, cintazona, cliprofeno, propionato de clobetasol, butirato de clobetasona, clopirac, propionato de cloticasona, acetato de cormetasona, cortodoxona, deflazacort, desonida, desoximetasona, dipropionato de dexametasona, diclofenaco potásico, diclofenaco sódico, diacetato de diflorasona, diflumidona sodio, diflunisal, difluprednato, diftalona, dimetilsulfóxido, drocisonida, endrisona, enlimomab, sodio de enolicam, eprizol, etodolaco, etofenamato, felbinac, fenamol, fenbufeno, fenclofenac, fenclorac, fendosal, fempipalona, fentiazac, flazalona, fluazacort, ácido flufenámico, flumizol, acetato de flunisolida, flunixina, meglumina de flunixina, fluocortina-butilo, acetato de fluormetolona, flucuzona, flurbiprofeno, fluretofeno, propionato de fluticasona, furaprofeno, furobufeno, halcinonida, propionato de halobetasol, acetato de halopredona, ibufenaco, ibuprofeno, ibuprofeno aluminio, ibuprofeno-piconol, ilonidap, indometacina, indometacina sodio, indoprofeno, indoxol, intrazol, acetato de isoflupredona, isoxepaco, isoxicam, ketoprofeno, clorhidrato de lofemizol, lornoxicam, etabonato de loteprednol, meclofenamato sodio, ácido meclofenámico, dibutirato de meclorisona, ácido mefenámico, mesalamina, meseclazona, suleptanato de metilprednisolona; morniflumato, nabumetona, naproxeno, naproxeno sodio, naproxol, nimazona, olsalazina sodio, orgoteína, orpanoxina, oxaprozina, oxifenbutazona, clorhidrato de paranilina, polisulfato de pentosano sodio, glicerato sódico de fenbutazona, pifrenidona, piroxicam, cinamato de piroxicam, olamina de piroxicam, pirprofeno, prednazato, prifelona, ácido prodrólico, procuazona, proxazol, citrato de proxazol, rimexolona, romazarita, salcolex, salnacedina, salsalato, salicilato, cloruro de sanguíario, seclazona, sermetacina, sudoxicam, sulindaco, suprofeno, talmetacina, talniflumato, talosalato, tebufelona, tenidap, tenidap sodio, tenoxicam, tescicam, tesimida, tetridamina, tiopinaco, pivalato de tixocortol, tolmetina, tolmetina sodio, triclónida, triflumidato, zidometacina, glucocorticoides, y zomepirac sódico. Un agente antiinflamatorio preferente es la aspirina. Ejemplos adicionales de agentes antiinflamatorios son conocidos en la materia.

Los ejemplos no limitantes de agentes anti-trombóticos que pueden utilizarse para tratar una enfermedad cardiovascular en un sujeto (solos o en combinación con cualquier otra terapia, incluyendo terapia de ejercicio) incluyen: proactivador de plasminógeno, activador de plasminógeno tisular, complejo de activador de plasminógeno-estreptoquinasa anisoilado, pro-uroquinasa (Pro-UK); rTPA (alteplasa o activasa recombinante); rPro-UK recombinante; aboquinasa; eminas; clorhidrato de esreptasa anagrelida, bivalirudina, dalteparina sodio,

danaparoide sodio, clorhidrato de dazoxibeno, sulfato de efegatran, enoxaparina sodio, ifetrobano, ifetrobano sodio, tinzaparina sodio, retaplaza, trifenagrel, warfarina, y dextranos. Ejemplos adicionales de agentes anti-trombóticos son conocidos en la materia.

5 Los ejemplos no limitantes de los anticoagulantes que pueden utilizarse para tratar una enfermedad cardiovascular en un sujeto (solos o en combinación con cualquier otra terapia, incluyendo terapia de ejercicio) incluyen: Ancrod, solución anticoagulante de citrato dextrosa, solución anticoagulante de citrato fosfato adenina dextrosa, solución anticoagulante de dextrosa citrato fosfato, solución anticoagulante de heparina, solución anticoagulante de citrato de sodio, ardeparina de sodio, bivalirudina, bromindiona, dalteparina sódica, desirudina, dicumarol, heparina de calcio, heparina de sodio, liapolato de sodio, nafamostat mesilato, fenprocumón, tinzaparin de sodio, y warfarina sódica. Ejemplos adicionales de anti-coagulantes son conocidos en la materia.

15 Los ejemplos no limitantes de agentes antiplaquetarios que pueden utilizarse para tratar una enfermedad cardiovascular en un sujeto (solos o en combinación con cualquier otra terapia, incluyendo terapia de ejercicio) incluyen: clopidogrel, sulfpirazona, aspirina, dipiridamol, clofibrato, piridinol carbamato, prostaglandina E, glucagón, fármaco de antiserotonina, cafeína, teofilina pentoxifilina, ticlopidina, y anagrelida. Ejemplos adicionales de agentes anti-plaquetarios son conocidos en la materia.

Los ejemplos no limitantes de inhibidores directos de la trombina que pueden utilizarse para tratar una enfermedad cardiovascular en un sujeto (solos o en combinación con cualquier otra terapia, incluyendo terapia de ejercicio) incluyen: hirudina, hirúgeno, hirulog, agatroban, PPACK, y aptámeros de trombina. Ejemplos adicionales de inhibidores de la trombina se conocen en la materia.

20 Los ejemplos no limitantes de inhibidores del receptor de la glicoproteína IIb/IIIb que pueden utilizarse para tratar una enfermedad cardiovascular en un sujeto (solos o en combinación con cualquier otra terapia, incluyendo terapia de ejercicio) incluyen: ReoPro (abcixamab), lamifibán, y tirofiban. Ejemplos adicionales de inhibidores del receptor de la glicoproteína IIb/IIIb se conocen en la materia.

25 Los ejemplos no limitantes de bloqueadores de los canales de calcio que pueden utilizarse para tratar una enfermedad cardiovascular en un sujeto (solos o en combinación con cualquier otra terapia, incluyendo terapia de ejercicio) incluyen: dihidropiridinas, tales como nifedipino; aminas de fenil alquilo, tales como verapamilo; y las benzotiazepinas, tales como diltiazem. Los ejemplos adicionales no limitantes de bloqueadores de los canales de calcio incluyen aminona, amlodipino, benciclano, felodipino, fendilina, flunarizina, isradipino, nicardipino, nimodipino, perhexileno, galopamil, tiapamil, análogos de tiapamil (tales como 1993RO-11-2933), fenitoína, barbitúricos, y los péptidos dinorfina, omega-conotoxina, y omega-agatoxina, y similares y/o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Ejemplos adicionales de bloqueadores de los canales de calcio son conocidos en la materia.

30 Los ejemplos no limitantes de bloqueadores de los receptores beta-adrenérgicos que pueden utilizarse para tratar una enfermedad cardiovascular en un sujeto (solos o en combinación con cualquier otra terapia, incluyendo terapia de ejercicio) incluyen: atenolol, acebutolol, alprenolol, befunolol, betaxolol, bunitrolol, carteolol, celiprolol, hedroxalol, indenolol, labetalol, levobunolol, mepindolol, metipranolol, metindol, metoprolol, metrizoranolol, oxprenolol, pindolol, propranolol, practolol, sotalolnadolol, tiprenolol, tomalolol, timolol, bupranolol, penbutolol, trimepranol, 2-(3-(1,1-dimetiletil)-amino-2-hidroxipropoxi)-3-piridencarbonitrilo HCl, 1-butilamino-3-(2,5-diclorofenoxi)-2-propanol, 1-isopropilamino-3-(4-(2-ciclopropilmetoxietil)fenoxi)-2-propanol, 3-isopropilamino-1-(7-metilindan-4-iloxi)-2-butanol, 2-(3-t-butilamino-2-hidroxi-propiltio)-4-(5-carbamoil-2-tienil)tiazol, y 7-(2-hidroxi-3-t-butilaminopropoxi)ftalida. Los bloqueadores de los receptores beta-adrenérgicos anteriores se pueden utilizar en forma de mezclas isoméricas o en sus respectivas formas levógira o dextrógira. Ejemplos adicionales de bloqueadores de los receptores beta-adrenérgicos son conocidos en la materia.

35 Los ejemplos no limitantes de inhibidores de la ciclooxigenasa-2 que pueden utilizarse para tratar una enfermedad cardiovascular en un sujeto (solos o en combinación con cualquier otra terapia, incluyendo terapia de ejercicio) incluyen los descritos en las patentes de Estados Unidos n.º 5.474.995; 5.521.213; 5.536.752; 5.550.142; 5.552.422; 5.604.253; 5.604.260; 5.639.780; 5.677.318; 5.691.374; 5.698.584; 5.710.140; 5.733.909; 5.789.413; 5.817.700; 5.849.943; 5.861.419; 5.922.742; 5.925.631; 5.643.933; 5.474.995; y 5.543.297; y los documentos WO 95/00501 y WO 95/18799. Ejemplos adicionales de inhibidores de la ciclooxigenasa-2 son conocidos en la materia.

45 Los inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) pueden utilizarse para tratar una enfermedad cardiovascular en un sujeto (solos o en combinación con cualquier otra terapia, tal como terapia de ejercicio). Los inhibidores del SRAA incluyen agentes que interfieren con la función y la síntesis o catabolismo de la angiotensina II. Los agentes del SRAA incluyen, entre otros, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), bloqueadores del receptor de la angiotensina II, agentes que activan el catabolismo de la angiotensina II, agentes que impiden la síntesis de la angiotensina I (de la que la angiotensina II se deriva en última instancia), y antagonistas de la aldosterona. El SRAA está implicado en la regulación de la hemodinámica y el equilibrio hidroelectrolítico. Los factores que disminuyen el volumen de sangre, presión de perfusión renal o la concentración de Na⁺ en el plasma tienden a activar el sistema, mientras que los factores que aumentan estos parámetros tienden a suprimir su función. Los inhibidores del SRAA son compuestos que actúan para interferir con la producción de angiotensina II a partir de angiotensinógeno o angiotensina I o interferir con la actividad de angiotensina II. Dichos inhibidores se conocen

adecuadamente en la materia e incluyen compuestos que actúan para inhibir las enzimas implicadas en la producción final de la angiotensina II, incluyendo renina y ECA. También incluyen compuestos que interfieren con la actividad de angiotensina II, una vez producidos.

5 Los bloqueadores del receptor de la angiotensina II incluyen antagonistas de la angiotensina II que interfieren con la actividad de la angiotensina II mediante la unión a receptores de la angiotensina II y que interfieren con su actividad. Los bloqueadores del receptor de la angiotensina II son adecuadamente conocidos e incluyen compuestos peptídicos y compuestos no peptídicos. La mayoría de los bloqueadores del receptor de la angiotensina II son congéneres modificados ligeramente en el que la actividad agonista es atenuada por el reemplazo de fenilalanina en la posición 8 con algún otro aminoácido. Ejemplos de bloqueadores del receptor de la angiotensina II incluyen: compuestos peptídicos (por ejemplo, saralasin, [(San1)(Va15)(Ala8)] angiotensina-(1-8) octapéptido, y análogos relacionados); imidazol-2-ona N-sustituido (patente de Estados Unidos n.º 5.087.634); derivados de acetato de imidazol, incluyendo 2-N-butil-4-cloro-1-(2-clorobencilo), ácido imidazol-5-acético (véase, Long y col., *J. Pharmacol Exp Ther.* 247:1-7, 1988); ácido 4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo [4,5-c] piridina-6-carboxílico, y derivados análogos de los mismos (patente de Estados Unidos n.º 4.816.463); análogos N2-tetrazol beta-glucurónida (patente de Estados Unidos n.º 5.085.992); pirroles, pirazoles, y triazoles sustituidos, (patente de Estados Unidos n.º 5.081.127); derivados de fenol y heterocíclicos, tales como 1,3-imidazoles (patente de Estados Unidos n.º 5.073.566.); heterociclos de anillos de 7 miembros fusionados con imidazo (patente de Estados Unidos n.º 5.064.825); péptidos (por ejemplo, patente de Estados Unidos n.º 4.772.684); anticuerpos contra la angiotensina II (por ejemplo, patente de Estados Unidos n.º 4.302.386.); y compuestos de imidazol aralquilo, tales como imidazoles sustituidos con bifenilmetilo (por ejemplo, documento EP 253.310); N-morfolinoacetil-(-1-naftil)-L-alanil (4, tiazolil)-L-alanil (35,45)-4-amino-3-hidroxi-5-ciclo-hexapentanoil-N-hexilamida; SKF108566 (ácido E-alfa-2-[2-butil-1-(carboxifenil)metil] 1H-imidazol-5-il-[metilano]-2-tiofenopropanoico); losartán; Remikiren; y agonistas A2.

15 Los ejemplos no limitantes de inhibidores de la ECA incluyen acilmercaptop y mercaptoalcanoil prolinas, tales como captopril (patente de Estados Unidos n.º 4.105.776) y zofenopril (patente de Estados Unidos n.º 4.316.906); dipéptidos carboxialquilo, tales como enalapril (patente de Estados Unidos n.º 4.374.829), lisinopril (patente de Estados Unidos n.º 4.374.829), quinapril (patente de Estados Unidos n.º 4.344.949), ramipril (patente de Estados Unidos n.º 4.587.258), y perindopril (patente de Estados Unidos n.º 4.508.729); dipéptidos miméticos carboxialquilo, tales como cilazapril (patente de Estados Unidos n.º 4.512.924) y benazepril (patente de Estados Unidos n.º 4.410.520); y fosfinilalcanoil prolinas como fosinopril (patente de Estados Unidos n.º 4.337.201) y trandolopril.

25 Los ejemplos adicionales no limitantes de inhibidores del SRAA incluyen: derivados de péptidos; (patente de Estados Unidos n.º 5.116.835). aminoácidos unidos por enlaces peptídicos (patente de Estados Unidos n.º 5.114.937); derivados de di- y tripéptidos (patente de Estados Unidos n.º 5.106.835); aminoácidos y derivados de los mismos (patentes de Estados Unidos n.º 5.104.869 y 5.095.119); diol sulfonamidas y sulfinilos (patente de Estados Unidos n.º 5.098.924); péptidos modificados (patente de Estados Unidos n.º 5.095.006); carbamatos aminodiol beta-aminoacil peptidilo (patente de Estados Unidos n.º 5.089.471); (pirolimidazolonas (patente de Estados Unidos n.º 5.075.451); péptidos que contienen estatina de flúor y de cloro o estatona (patente de Estados Unidos n.º 5.066.643); peptidil amino dioles (patentes de Estados Unidos n.º 5.063.208 y 4.845.079); derivados de N-morfolino (patente de Estados Unidos n.º 5.055.466); derivados de pepstatina (patente de Estados Unidos n.º 4.980.283); alcoholes N-heterocíclicos (patente de Estados Unidos n.º 4.885.292); anticuerpos monoclonales contra renina (patente de Estados Unidos n.º 4.780.401); y una variedad de otros péptidos y análogos de los mismos (patentes de Estados Unidos n.º 5.071.837, 5.064.965, 5.063.207, 5.036.054, 5.036.053, 5.034.512, y 4.894.437).

Otros ejemplos de inhibidores del SRAA incluyen antagonistas de la aldosterona. Los ejemplos no limitantes de antagonistas de la aldosterona incluyen: espironolactona, eplerenona, canrenona (canrenoato de potasio), prorenona (prorenoato de potasio), y mexrenona (mexrenoato de potasio).

45 Ejemplos

La invención se describe adicionalmente en los siguientes ejemplos, que no limitan el ámbito de la invención descrita en las reivindicaciones.

Ejemplo 1. Los niveles de ST2 soluble son predictivos de la mortalidad y de acontecimientos adversos en pacientes que padecen insuficiencia cardíaca

50 El análisis se realizó sobre las muestras y los datos recogidos de 2.331 pacientes que padecen insuficiencia cardíaca inscritos en el estudio HF-ACTION. Un total de 2.329 de los pacientes fueron sometidos a un ensayo de ejercicio basal y se asignaron al azar para una terapia de ejercicio o terapia clínica normal. De estos pacientes, se obtuvieron muestras sanguíneas de 912 pacientes que representan a ambos agrupamientos del estudio, 453 pertenecían al agrupamiento de ejercicio y 459 pertenecían al agrupamiento de tratamiento normal. Novecientos diez de estos pacientes tenían un tamaño de muestra suficiente para la medición de ST2 soluble. El nivel de ST2 soluble medio en esta cohorte era de 23,7 ng/ml, con un intervalo de 2,2 ng/ml a 344,2 ng/ml. Al igual que en las cohortes de insuficiencia cardíaca publicadas previamente, los niveles de ST2 soluble eran predictivos de la muerte durante toda la duración del periodo de seguimiento (hasta 1.460 días). El valor pronóstico de los niveles de ST2 soluble para el riesgo de muerte en pacientes con insuficiencia cardíaca durante todo el periodo de seguimiento

(hasta 1.460 días) se ilustra en la Figura 1. Los pacientes en el grupo de nivel de ST2 soluble más alto (niveles de ST2 soluble superiores a 28,6 ng/ml) tienen el mayor riesgo de mortalidad, presentándose el riesgo al comienzo del periodo de seguimiento. El mayor riesgo de mortalidad para los pacientes en el grupo de nivel de ST2 soluble más alto se mantiene durante todo el periodo de seguimiento.

5 La seguridad de predicción de los niveles de ST2 soluble también se evaluó mediante el análisis de riesgos proporcionales de Cox, utilizando el nivel de ST2 soluble tanto como una variable continua transformada por un logaritmo (ln), (HR 3,38, $p < 0,0001$), así como una variable dicotómica a una concentración de 35 ng/ml (HR 2,59, $p < 0,0001$). La Figura 2 muestra la parte de pacientes con insuficiencia cardíaca supervivientes con el tiempo de los sujetos que tienen concentraciones de ST2 superiores o inferiores a un nivel de 35 ng/ml.

10 **Ejemplo 2. Los sujetos con niveles de ST2 soluble elevados que realizan un régimen de terapia de ejercicio tienen un mayor riesgo de muerte**

Como se informó en O'Connor y col. (*JAMA* 301(14):1439-1450, 2009) hubo una disminución modesta, pero significativa, de la tasa de mortalidad en pacientes con insuficiencia cardíaca que se sometieron a una terapia de ejercicio con respecto a los que recibieron la atención convencional. Una evaluación de los niveles de ST2 soluble en esta cohorte muestra que la eficacia terapéutica de una terapia de ejercicio es diferente en pacientes que tienen un nivel de ST2 soluble alto frente a los que tienen un nivel bajo, con más beneficios, por ejemplo, una menor tasa de mortalidad observada en pacientes con insuficiencia cardíaca con bajos niveles de ST2 soluble. Esta correlación se ilustra en un análisis de Kaplan-Meier de los datos de los siguientes grupos de pacientes con insuficiencia cardíaca: pacientes que tienen un nivel de ST2 soluble inferior o igual a 35 ng/ml y realizan un régimen de terapia de ejercicio (línea 1, línea superior); pacientes que tienen un nivel de ST2 soluble inferior o igual a 35 ng/ml y no realizan un régimen de terapia de ejercicio (línea 2, segunda línea desde la parte superior); pacientes que tienen un nivel de ST2 soluble superior a 35 ng/ml y no realizan un régimen de terapia de ejercicio (línea 3, segunda línea desde la parte inferior); y pacientes que tienen un nivel de ST2 soluble superior a 35 ng/ml y realizan un régimen de terapia de ejercicio (línea 4, línea inferior) (Figura 3). En ambas agrupaciones de tratamiento (es decir, aquellos que realizan un régimen de terapia de ejercicio o los que reciben la atención convencional (no realizan un régimen de terapia de ejercicio)), pacientes con insuficiencia cardíaca con bajos niveles de ST2 soluble tienen una mejor supervivencia durante el periodo de seguimiento de 4 años que los pacientes con niveles de ST2 soluble elevados. En 1 año, los pacientes con bajos niveles de ST2 soluble que realizaron un régimen de terapia de ejercicio tuvieron una tasa de mortalidad significativamente más baja (~3 %) en comparación con el grupo de tratamiento con la atención habitual (no realizan un régimen de terapia de ejercicio), y este beneficio persistió durante el periodo de seguimiento de 4 años completos. Por el contrario, los datos de los pacientes con insuficiencia cardíaca con niveles de ST2 soluble elevados no muestran beneficio alguno en la supervivencia con la realización de un régimen de terapia de ejercicio a los 2 años de seguimiento. Después de 2 años, hubo un aparente efecto adverso (aumento de la mortalidad) en pacientes con insuficiencia cardíaca que realizan un régimen de tratamiento de ejercicio con niveles de ST2 soluble elevados en comparación con los pacientes con atención habitual (no realizan un régimen de terapia de ejercicio).

El valor del punto de corte del análisis de ST2 de 35 ng/ml se seleccionó al elegir un valor de concentración del ensayo Presage ST2 anterior, percentil 90 y por debajo del 95, del grupo. Estos valores de referencia fueron confirmados posteriormente para ser compatibles con 3.450 sujetos adicionales medidos en un gran estudio observacional de población, *Framingham Offspring Cohort* (hijos del primer grupo) (Wang y col., 2004), al mostrar que los valores de ST2 son 32,9 ng/ml y 37,3 ng/ml en los percentiles 90 y 95, respectivamente, asociando y confirmando el valor seleccionado de 35 ng/ml.

La relación entre el riesgo de mortalidad en realizar un régimen de terapia de ejercicio y los niveles de ST2 soluble en pacientes con insuficiencia cardíaca también se ilustra en la Figura 4. Los datos de la Figura 4 muestran el cociente de riesgos calculado para la mortalidad en 1 año en sujetos con insuficiencia cardíaca que realizan un régimen de tratamiento de ejercicio y los sujetos con insuficiencia cardíaca que no realizan un régimen de tratamiento de ejercicio que tienen diferentes niveles de ST2 soluble. Estos datos muestran que, a medida que los niveles de ST2 soluble aumentan, se produce un aumento constante en el cociente de riesgos, lo que refleja una peor supervivencia, y que un nivel de ST2 soluble comprendido entre 55 y 60 ng/ml tiene un cocientes de riesgos de 1,0. Estos datos indicaron que los pacientes con insuficiencia cardíaca con niveles de ST2 soluble inferiores a 55-60 ng/ml pueden beneficiarse de la realización de un régimen de terapia de ejercicio, con un mayor beneficio logrado en los niveles de ST2 soluble inferiores. Los pacientes con insuficiencia cardíaca con niveles de ST2 soluble superiores a 55-60 ng/ml no tienen posibilidades de lograr un beneficio terapéutico con la realización de un régimen de terapia de ejercicio y tienen un mayor riesgo de sufrir un resultado adverso (por ejemplo, mortalidad).

Otras realizaciones

55 Queda entendido que aunque la invención se ha descrito junto con la descripción detallada de la misma, la descripción anterior pretende ilustrar y no limitar el ámbito de la invención, que se define por el ámbito de las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones están dentro del ámbito de las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de selección de una terapia para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular, comprendiendo el procedimiento:

- 5 a) la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, y
- b) la comparación del nivel de ST2 soluble en la muestra biológica con un nivel de referencia de riesgo o de eficacia de ST2 soluble,

10 en el que un nivel de ST2 soluble disminuido en la muestra biológica comparado con el nivel de referencia de riesgo o de eficacia indica que el sujeto debe comenzar o continuar una terapia de ejercicio y un nivel de ST2 soluble elevado en la muestra biológica comparado con el nivel de referencia de riesgo o de eficacia indica que el sujeto no debe comenzar o debe interrumpir una terapia de ejercicio.

2. Un procedimiento de selección de una terapia para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular, comprendiendo el procedimiento:

a) la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto; y

i)

- 15 b) la identificación de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble disminuido en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo o de eficacia de ST2 soluble; y
- c) la selección del sujeto identificado para una terapia de ejercicio;

o ii)

- 20 b) la identificación de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble elevado en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo o de eficacia de ST2 soluble; y
- c) la instrucción al sujeto identificado para que no comience, interrumpa o evite una terapia de ejercicio.

3. Un procedimiento de identificación de un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular que i) se beneficiará de una terapia de ejercicio, o ii) no se beneficiará de una terapia de ejercicio, comprendiendo el procedimiento:

a) la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, y

- 25 i) b) la selección de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble disminuido en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble, en el que el sujeto seleccionado se identifica como un sujeto que se beneficiará de una terapia de ejercicio; o
- 30 ii) b) la selección de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble elevado en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble, en el que el sujeto seleccionado se identifica como un sujeto que no se beneficiará de una terapia de ejercicio.

4. Un procedimiento para determinar si un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular debe comenzar, continuar, no comenzar o interrumpir una terapia de ejercicio, comprendiendo el procedimiento la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto, en el que un nivel de ST2 soluble disminuido en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo o de eficacia de ST2 soluble indica que el sujeto debe comenzar o continuar una terapia de ejercicio, y un nivel de ST2 soluble elevado en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo o de eficacia de ST2 soluble indica que el sujeto no debe comenzar o interrumpir una terapia de ejercicio.

5. Un procedimiento para determinar si un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular debe interrumpir o continuar una terapia de ejercicio, comprendiendo el procedimiento:

a) la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto en un primer punto temporal antes o después del inicio de una terapia de ejercicio; y

- 45 b) la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto sometido a una terapia de ejercicio en un segundo punto temporal después del inicio de la terapia de ejercicio y después del primer punto temporal,

50 en el que una elevación en el nivel de ST2 soluble en la muestra biológica en el segundo punto temporal comparado con el nivel de ST2 soluble en la muestra biológica en el primer punto temporal indica que el sujeto debe interrumpir la terapia de ejercicio y una disminución en el nivel de ST2 soluble en la muestra biológica en el segundo punto temporal comparado con el nivel de ST2 soluble en la muestra biológica en el primer punto temporal indica que el sujeto debe continuar la terapia de ejercicio.

6. Un procedimiento de reducción del riesgo de un resultado adverso para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular, comprendiendo el procedimiento:

a) la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto; y

i)

5 b) la identificación de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble disminuido en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble; y
c) la selección del sujeto identificado para la terapia de ejercicio; o

ii)

10 b) la identificación de un sujeto que tiene un nivel de ST2 soluble elevado en la muestra biológica comparado con un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble; y
c) la instrucción al sujeto identificado para que no comience o interrumpa una terapia de ejercicio;

opcionalmente en el que el riesgo de un resultado adverso es un riesgo de muerte.

7. Un procedimiento de previsión de la eficacia de una terapia de ejercicio para un sujeto que tiene una enfermedad cardiovascular, comprendiendo el procedimiento:

15 a) la determinación de un nivel de ST2 soluble en una muestra biológica procedente del sujeto; y
b) la comparación del nivel de ST2 soluble en la muestra biológica con un nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble,

20 en el que un nivel de ST2 soluble disminuido en la muestra biológica comparado con el nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble indica que la terapia de ejercicio será eficaz para el sujeto, y un nivel de ST2 soluble elevado en la muestra biológica comparado con el nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble indica que la terapia de ejercicio no será eficaz para el sujeto.

8. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que la muestra biológica comprende sangre o suero.

25 9. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que la determinación se realiza utilizando un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que se une a ST2 soluble.

10. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el nivel de referencia de riesgo o de eficacia de ST2 soluble es un valor umbral predeterminado.

30 11. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que a) el nivel de referencia es un nivel de referencia de riesgo, opcionalmente en el que el nivel de referencia es un nivel de referencia de riesgo de ST2 soluble para un sujeto que ha sufrido o era más propenso a sufrir un resultado adverso y que realiza ejercicio, un nivel en una población de sujetos que han sufrido o eran más propensos a sufrir un resultado adverso y que realizan ejercicio, o un nivel umbral de ST2 soluble por encima del cual el riesgo de un resultado adverso aumenta para aquellos que realizan una terapia de ejercicio; o b) en el que el nivel de referencia es un nivel de referencia de eficacia, opcionalmente en el que el nivel de referencia de eficacia de ST2 soluble es un nivel para un sujeto que ha experimentado un beneficio terapéutico de una terapia de ejercicio, un nivel en una población de sujetos que han experimentado un beneficio terapéutico de una terapia de ejercicio, o un nivel umbral de ST2 soluble por debajo del cual es probable que el sujeto experimente un beneficio terapéutico de una terapia de ejercicio.

12. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el sujeto es hipercolesterolémico, hipertriglicéridémico, hiperlipidémico, un fumador, hipertenso o tiene un índice de masa corporal superior a 30.

40 13. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, 6 y 7, que comprende además la determinación de un nivel de troponina I cardíaca, péptido natriurético de tipo B, péptido natriurético auricular, o proteína C reactiva en la muestra biológica, o el procedimiento de la reivindicación 5, que comprende además la determinación de un nivel de troponina I cardíaca, péptido natriurético de tipo B, péptido natriurético auricular, o proteína C reactiva en la muestra biológica en el primer punto temporal o la muestra biológica en el segundo punto temporal.

45 14. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que la enfermedad cardiovascular se selecciona entre el grupo que consiste en: hipertrofia cardíaca, infarto de miocardio, apoplejía, arteriosclerosis e insuficiencia cardíaca.

50 15. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que se le administra al sujeto al menos un agente terapéutico seleccionado entre el grupo que consiste en: agentes antiinflamatorios, agentes anti-trombóticos, anti-coagulantes, agentes antiplaquetarios, agentes reductores de lípidos, inhibidores directos de la trombina, inhibidores del receptor de la glicoproteína IIb/IIIb, bloqueadores del canal de calcio, bloqueadores de los receptores beta-adrenérgicos, inhibidores de la ciclooxigenasa-2 e inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona

ES 2 611 403 T3

(SRAA); opcionalmente en el que el inhibidor del SRAA se selecciona entre el grupo que consiste en: un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina, un bloqueador del receptor de angiotensina II y un antagonista de aldosterona; u opcionalmente en el que el agente reductor de lípidos es una estatina.

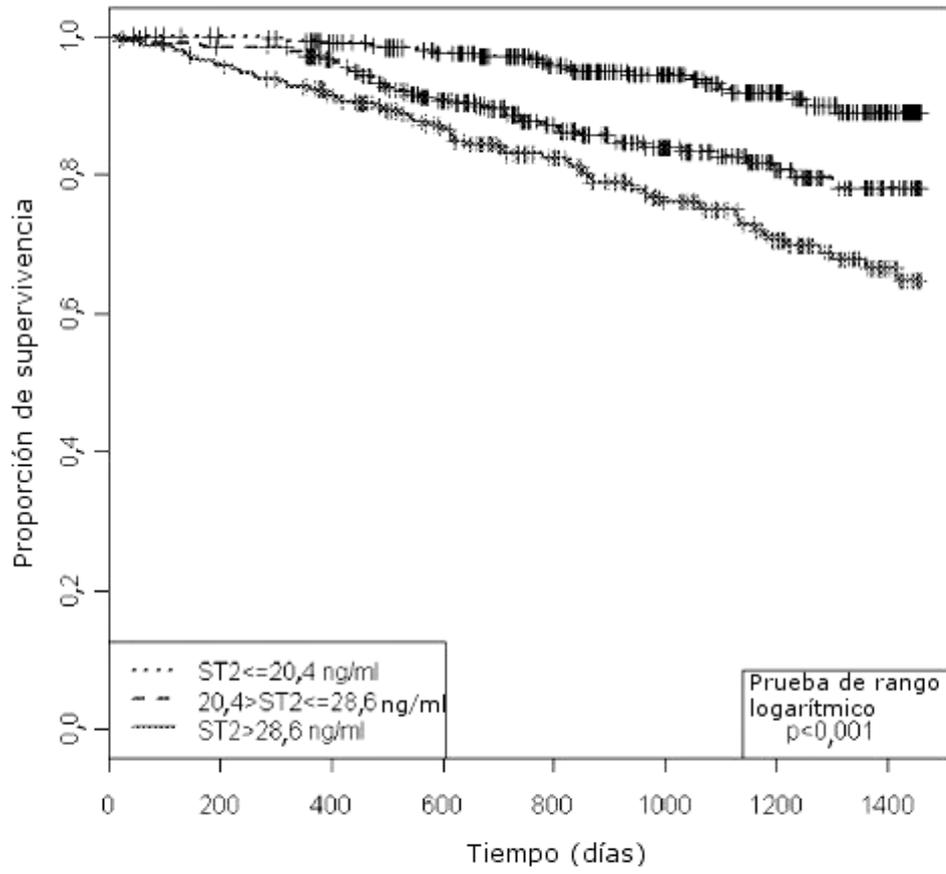


Fig. 1

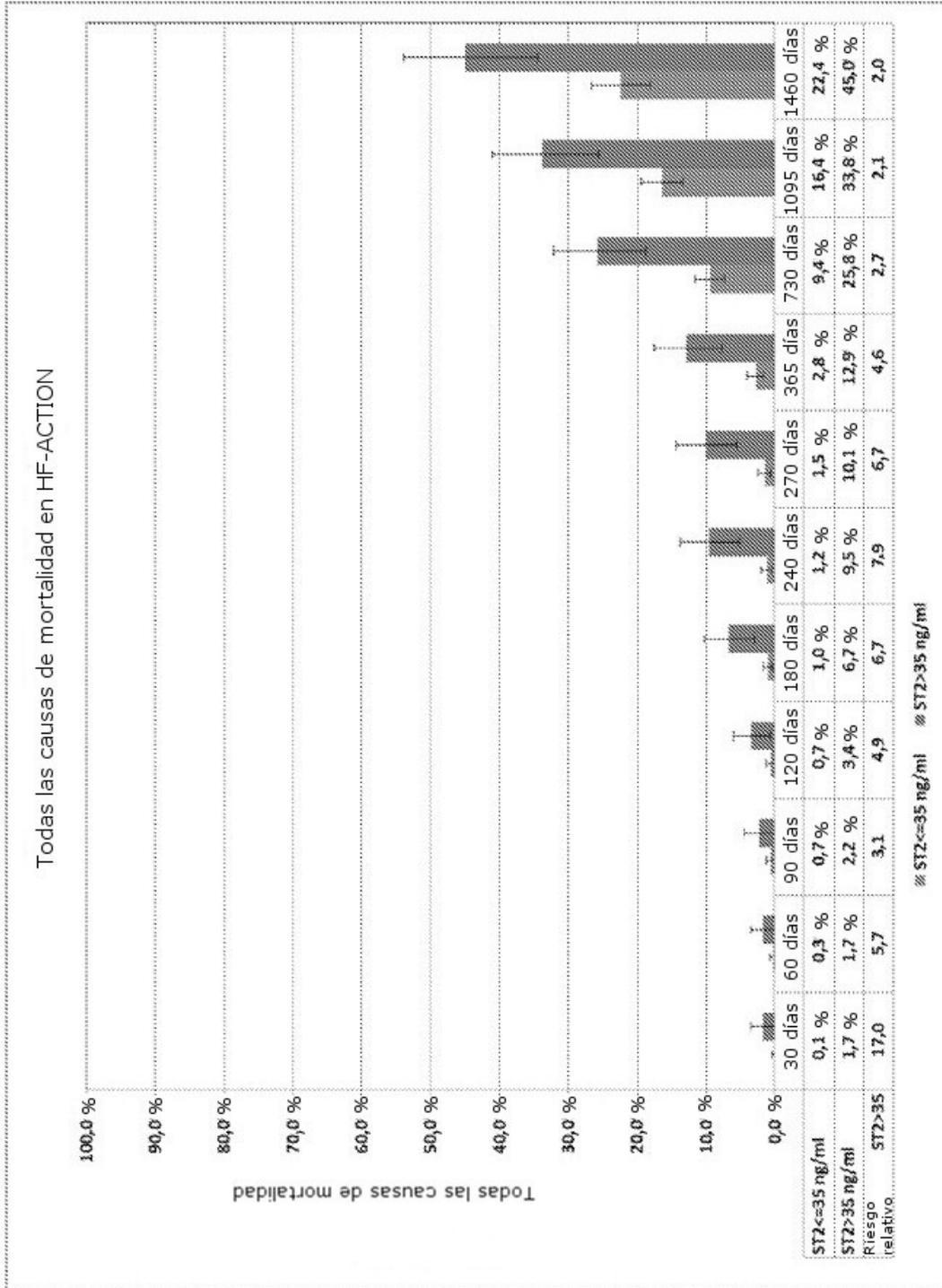


Fig. 2

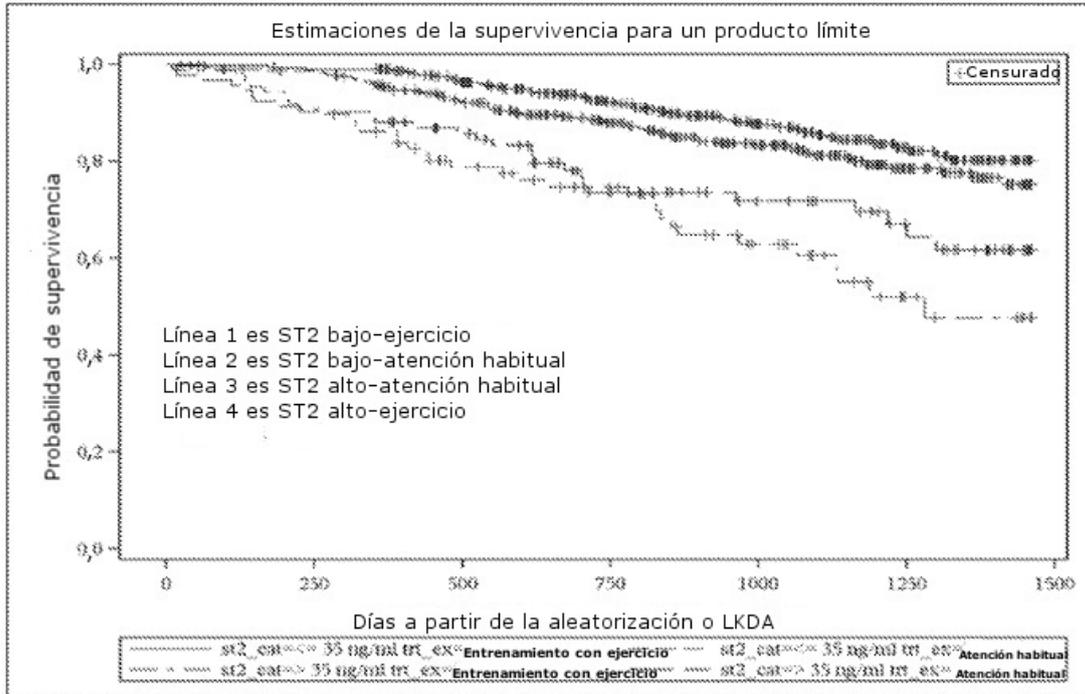


Fig. 3

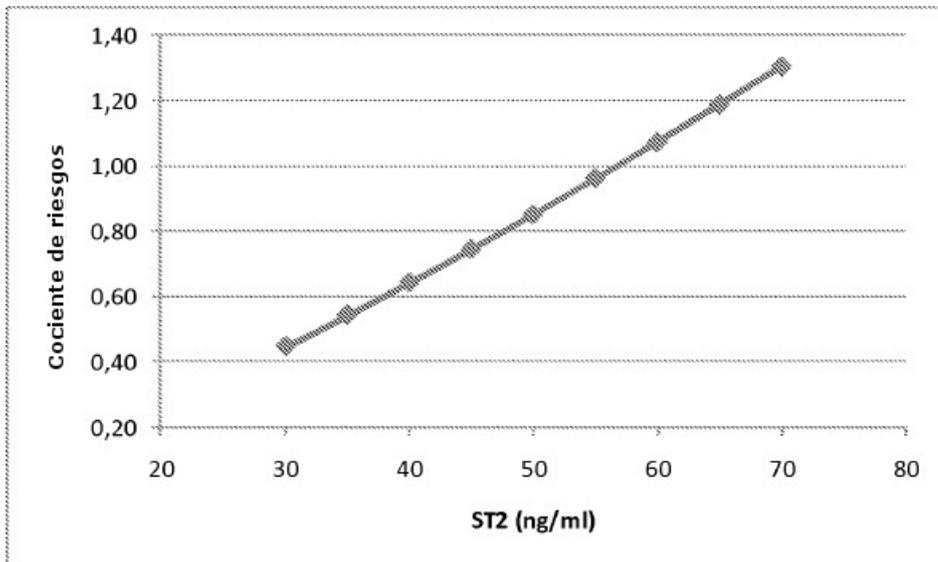


Fig. 4

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Phe | Trp | Ile | Leu | Ala | Ile | Leu | Thr | Ile | Leu | Met | Tyr | Ser | Thr |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |
| Ala | Ala | Lys | Phe | Ser | Lys | Gln | Ser | Trp | Gly | Leu | Glu | Asn | Glu | Ala | Leu |
| | | 20 | | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Ile | Val | Arg | Cys | Pro | Arg | Gln | Gly | Lys | Pro | Ser | Tyr | Thr | Val | Asp | Trp |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Tyr | Tyr | Ser | Gln | Thr | Asn | Lys | Ser | Ile | Pro | Thr | Gln | Glu | Arg | Asn | Arg |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Val | Phe | Ala | Ser | Gly | Gln | Leu | Leu | Lys | Phe | Leu | Pro | Ala | Ala | Val | Ala |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Asp | Ser | Gly | Ile | Tyr | Thr | Cys | Ile | Val | Arg | Ser | Pro | Thr | Phe | Asn | Arg |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Thr | Gly | Tyr | Ala | Asn | Val | Thr | Ile | Tyr | Lys | Lys | Gln | Ser | Asp | Cys | Asn |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Val | Pro | Asp | Tyr | Leu | Met | Tyr | Ser | Thr | Val | Ser | Gly | Ser | Glu | Lys | Asn |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Ser | Lys | Ile | Tyr | Cys | Pro | Thr | Ile | Asp | Leu | Tyr | Asn | Trp | Thr | Ala | Pro |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Leu | Glu | Trp | Phe | Lys | Asn | Cys | Gln | Ala | Leu | Gln | Gly | Ser | Arg | Tyr | Arg |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Ala | His | Lys | Ser | Phe | Leu | Val | Ile | Asp | Asn | Val | Met | Thr | Glu | Asp | Ala |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Gly | Asp | Tyr | Thr | Cys | Lys | Phe | Ile | His | Asn | Glu | Asn | Gly | Ala | Asn | Tyr |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Ser | Val | Thr | Ala | Thr | Arg | Ser | Phe | Thr | Val | Lys | Asp | Glu | Gln | Gly | Phe |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Ser | Leu | Phe | Pro | Val | Ile | Gly | Ala | Pro | Ala | Gln | Asn | Glu | Ile | Lys | Glu |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Val | Glu | Ile | Gly | Lys | Asn | Ala | Asn | Leu | Thr | Cys | Ser | Ala | Cys | Phe | Gly |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Lys | Gly | Thr | Gln | Phe | Leu | Ala | Ala | Val | Leu | Trp | Gln | Leu | Asn | Gly | Thr |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| Lys | Ile | Thr | Asp | Phe | Gly | Glu | Pro | Arg | Ile | Gln | Gln | Glu | Glu | Gly | Gln |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| Asn | Gln | Ser | Phe | Ser | Asn | Gly | Leu | Ala | Cys | Leu | Asp | Met | Val | Leu | Arg |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| Ile | Ala | Asp | Val | Lys | Glu | Glu | Asp | Leu | Leu | Leu | Gln | Tyr | Asp | Cys | Leu |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| Ala | Leu | Asn | Leu | His | Gly | Leu | Arg | Arg | His | Thr | Val | Arg | Leu | Ser | Arg |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| Lys | Asn | Pro | Ser | Lys | Glu | Cys | Phe | | | | | | | | |
| | | | | 325 | | | | | | | | | | | |

(SEQ ID NO:1)

Fig. 5

```

gaggagggac ctacaaagac tggaaactat tcttagctcc gtcactgact ccaagttcat 60
cccctctgtc tttcagtttg gttgagatat aggctactct tcccaactca gtcttgaaga 120
gtatcaccaa ctgcctcatg tgtggtgacc ttcactgtcg tatgccagtg actcatctgg 180
agtaatctca acaacgagtt accaataactt gctcttgatt gataaacaga atggggtttt 240
ggatcttagc aattctcaca attctcatgt attccacagc agcaaagttt agtaacaat 300
catggggcct ggaaaatgag gctttaattg taagatgtcc tagacaagga aaacctagtt 360
acaccgtgga ttggtattac tcacaaacaa acaaaagtat tcccactcag gaaagaaatc 420
gtgtgtttgc ctcaggccaa cttctgaagt ttctaccagc tgcagttgct gattctggta 480
tttataacctg tattgtcaga agtcccacat tcaataggac tggatatgcg aatgtcacca 540
tatataaaaa acaatcagat tgcaatgttc cagattattt gatgtattca acagtatctg 600
gatcagaaaa aaattccaaa atttattgtc ctaccattga cctctacaac tggcagcac 660
ctcttgagtg gtttaagaat tgtcaggctc ttcaaggatc aaggtacagg ggcacaagt 720
catttttggc cattgataat gtgatgactg aggacgcagg tgattacacc tgtaaattta 780
tacacaatga aatggagcc aattatagtg tgacggcgac caggtccttc acggtcaagg 840
atgagcaagg cttttctctg tttccagtaa tcggagcccc tgcacaaaat gaaataaagg 900
aagtggaaat tggaaaaaac gcaaacctaa cttgctctgc ttgttttggg aaaggcactc 960
agttcttggc tgccgtcctg tggcagctta atggaacaaa aattacagac tttggtgaac 1020
caagaattca acaagaggaa gggcaaaatc aaagtctcag caatgggctg gcttgtctag 1080
acatggtttt aagaatagct gacgtgaagg aagaggattt attgctgcag tacgactgtc 1140
tggccctgaa tttgcatggc ttgagaaggc acaccgtaag actaagtagg aaaaatccaa 1200
gtaaggagtg tttctgagac tttgatcacc tgaactttct ctagcaagtg taagcagaat 1260
ggagtgtggg tccaagagat ccatcaagac aatgggaatg gctgtgcca taaaatgtgc 1320
ttctcttctt cgggatgttg tttgctgtct gatctttgta gactgttccct gtttctctgg 1380
agcttctctg ctgcttaaat tgttctctct cccccactcc ctctatcgt tggtttctct 1440
agaacactca gctgcttctt tggctatcct tgttttctaa ctttatgaac tccctctgtg 1500
tcaactgtatg tgaaggaaa tgcaccaaca accgtaaact gaactgttc ttttctctc 1560
ttttataact tgcattacat gttgtaagca tggctcgttc tatacctttt tctggtcata 1620
atgaacactc attttgttag cgagggtggg aaagtgaaca aaaaggggaa gtatcaaact 1680
actgccattt cagtgagaaa atcctagggt ctactttata ataagacatt tgttaggcca 1740
ttcttgcatt gatataaaga aatacctgag actgggtgat ttatatgaaa agaggtttaa 1800
ttggctcaca gttctgcagg ctgtatggga agcatggcgg catctgcttc tggggacacc 1860
tcaggagctt tactcatggc agaaggcaaa gcaaaggcag gcacttcaca cagtaaaagc 1920
aggagcgaga gagaggtgcc aactgaaac agccagatct catgagaagt cactcactat 1980
tgcaaggaca gcatcaaaga gatggtgcta aaccattcat gatgaactca ccccatgat 2040
ccaatcacct cccaccaggc tccacctcga atactgggga ttaccattca gcatgagatt 2100
tgggcaggaa cacagaccca aaccatacca cacacattat cattgttaaa ctttgtaaag 2160
tatttaaggt acatggaaca cacgggaagt ctggtagctc agcccatttc tttattgcat 2220
ctgttattca ccatgtaatt caggtaccac gtattccagg gagcctttct tggccctcag 2280
tttgcagtat acacacttc caagtactct tgtagcatcc tgtttgtatc atagcactgg 2340
tcacattgcc ttacctaaat ctgtttgaca gtctgtctca cagactgca agctccatga 2400
gggcagggac atcatctctt ccatctttgg gtcttagtg caatacctgg cagctagcca 2460
gtgctcagct aaatatttgt tgactgaata aatgaatgca caacaaaaaa aaaaaaaaaa 2520
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 2542
(SEQ ID NO:2)

```

Fig. 6

ES 2 611 403 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Phe | Trp | Ile | Leu | Ala | Ile | Leu | Thr | Ile | Leu | Met | Tyr | Ser | Thr |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |
| Ala | Ala | Lys | Phe | Ser | Lys | Gln | Ser | Trp | Gly | Leu | Glu | Asn | Glu | Ala | Leu |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Ile | Val | Arg | Cys | Pro | Arg | Gln | Gly | Lys | Pro | Ser | Tyr | Thr | Val | Asp | Trp |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Tyr | Tyr | Ser | Gln | Thr | Asn | Lys | Ser | Ile | Pro | Thr | Gln | Glu | Arg | Asn | Arg |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Val | Phe | Ala | Ser | Gly | Gln | Leu | Leu | Lys | Phe | Leu | Pro | Ala | Ala | Val | Ala |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Asp | Ser | Gly | Ile | Tyr | Thr | Cys | Ile | Val | Arg | Ser | Pro | Thr | Phe | Asn | Arg |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Thr | Gly | Tyr | Ala | Asn | Val | Thr | Ile | Tyr | Lys | Lys | Gln | Ser | Asp | Cys | Asn |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Val | Pro | Asp | Tyr | Leu | Met | Tyr | Ser | Thr | Val | Ser | Gly | Ser | Glu | Lys | Asn |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Ser | Lys | Ile | Tyr | Cys | Pro | Thr | Ile | Asp | Leu | Tyr | Asn | Trp | Thr | Ala | Pro |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Leu | Glu | Trp | Phe | Lys | Asn | Cys | Gln | Ala | Leu | Gln | Gly | Ser | Arg | Tyr | Arg |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Ala | His | Lys | Ser | Phe | Leu | Val | Ile | Asp | Asn | Val | Met | Thr | Glu | Asp | Ala |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Gly | Asp | Tyr | Thr | Cys | Lys | Phe | Ile | His | Asn | Glu | Asn | Gly | Ala | Asn | Tyr |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Ser | Val | Thr | Ala | Thr | Arg | Ser | Phe | Thr | Val | Lys | Asp | Glu | Gln | Gly | Phe |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Ser | Leu | Phe | Pro | Val | Ile | Gly | Ala | Pro | Ala | Gln | Asn | Glu | Ile | Lys | Glu |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Val | Glu | Ile | Gly | Lys | Asn | Ala | Asn | Leu | Thr | Cys | Ser | Ala | Cys | Phe | Gly |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Lys | Gly | Thr | Gln | Phe | Leu | Ala | Ala | Val | Leu | Trp | Gln | Leu | Asn | Gly | Thr |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| Lys | Ile | Thr | Asp | Phe | Gly | Glu | Pro | Arg | Ile | Gln | Gln | Glu | Glu | Gly | Gln |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| Asn | Gln | Ser | Phe | Ser | Asn | Gly | Leu | Ala | Cys | Leu | Asp | Met | Val | Leu | Arg |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| Ile | Ala | Asp | Val | Lys | Glu | Glu | Asp | Leu | Leu | Leu | Gln | Tyr | Asp | Cys | Leu |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| Ala | Leu | Asn | Leu | His | Gly | Leu | Arg | Arg | His | Thr | Val | Arg | Leu | Ser | Arg |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| Lys | Asn | Pro | Ile | Asp | His | His | Ser | Ile | Tyr | Cys | Ile | Ile | Ala | Val | Cys |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| Ser | Val | Phe | Leu | Met | Leu | Ile | Asn | Val | Leu | Val | Ile | Ile | Leu | Lys | Met |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| Phe | Trp | Ile | Glu | Ala | Thr | Leu | Leu | Trp | Arg | Asp | Ile | Ala | Lys | Pro | Tyr |
| | | 355 | | | | | | 360 | | | | 365 | | | |
| Lys | Thr | Arg | Asn | Asp | Gly | Lys | Leu | Tyr | Asp | Ala | Tyr | Val | Val | Tyr | Pro |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |
| Arg | Asn | Tyr | Lys | Ser | Ser | Thr | Asp | Gly | Ala | Ser | Arg | Val | Glu | His | Phe |
| 385 | | | | | 390 | | | | | | 395 | | | | 400 |

Fig. 7A

ES 2 611 403 T3

```

Val His Gln Ile Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Cys Gly Tyr Thr
      405                      410                      415
Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Met Leu Pro Gly Glu Asp Val Val Thr
      420                      425                      430
Ala Val Glu Thr Asn Ile Arg Lys Ser Arg Arg His Ile Phe Ile Leu
      435                      440                      445
Thr Pro Gln Ile Thr His Asn Lys Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val
      450                      455                      460
Ala Leu His Cys Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ala Lys Val Ile Leu Ile
465                      470                      475                      480
Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu
      485                      490                      495
Gln Asp Ser Leu Gln His Leu Met Lys Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp
      500                      505
Arg Glu Asp His Ile Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp
      515                      520                      525
Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Ile Pro Arg Lys
      530                      535                      540
Ala Ser Ser Leu Thr Pro Leu Ala Ala Gln Lys Gln (SEQ ID NO:3)
545                      550                      555

```

Fig. 7B

ES 2 611 403 T3

```

aaagagagggc tggctgttgt atttagtaaa gctataaagc tgtaagagaa attggccttc 60
tgagttgtga aactgtgggc agaaagtga ggaagaaaga actcaagtac aacccaatga 120
ggttgagata taggctactc ttcccaactc agtcttgaag agtatcacca actgcctcat 180
gtgtggtgac ctactactgc gtatgccagt gactcatctg gagtaatctc aacaacgagt 240
taccaatact tgctcttgat tgataaacag aatggggttt tggatcttag caattctcac 300
aattctcatg tattccacag cagcaaagtt tagtaaaca tcatggggcc tggaaaatga 360
ggctttaatt gtaagatgct ctagacaagg aaaacctagt tacaccgtgg attggtatta 420
ctcaciaaaca aacaaaagta ttcccactca ggaaagaaat cgtgtgtttg cctcaggcca 480
acttctgaag tttctaccag ctgcagttgc tgattctggt atttatacct gtattgtcag 540
aagtcccaca ttcaatagga ctggatatgc gaatgtcacc atatataaaa aacaatcaga 600
ttgcaatggt ccagattatt tgatgtatct aacagtatct ggatcagaaa aaaattccaa 660
aatttattgt cctaccattg acctctacaa ctggacagca cctcttgagt ggtttaagaa 720
ttgtcaggct cttcaaggat caaggtacag ggcgcacaag tcatttttgg tcattgataa 780
tgtgatgact gaggacgcag gtgattacac ctgtaaattt atacacaatg aaaatggagc 840
caattatagt gtgacggcga ccaggtcctt cacgggtcaag gatgagcaag gcttttctct 900
gtttccagta atcggagccc ctgcacaaaa tgaataaaag gaagtggaaa ttggaaaaaa 960
cgcaaaccta acttgctctg cttgttttgg aaaaggcact cagttcttgg ctgccgtcct 1020
gtggcagctt aatggaacaa aaattacaga ctttggtgaa ccaagaattc aacaagagga 1080
agggcaaaat caaagtttca gcaatgggct ggcttgtcta gacatggttt taagaatagc 1140
tgacgtgaag gaagaggatt tattgctgca gtaacgactg ctggccctga atttgcattg 1200
cttgagaagg cacaccgtaa gactaagtag gaaaaatcca attgatcatc atagcatcta 1260
ctgcataatt gcagtatgta gtgtattttt aatgctaatac aatgtcctgg ttatcatcct 1320
aaaaatgttc tggattgagg ccactctgct ctggagagac atagctaaac cttacaagac 1380
taggaatgat ggaaagctct atgatgctta tgttgtctac ccacggaact acaaatccag 1440
tacagatggg gccagtcgtg tagagcactt tgttcaccag attctgcctg atgttcttga 1500
aaataaatgt ggctatacct tatgcattta tgggagagat atgctacctg gagaagatgt 1560
agtcaactgca gtggaaacca acatacgaaa gagcaggcgg cacattttca tctgacccc 1620
tcagatcaact cacaataagg agtttgctta cgagcaggag gttgcctgct actgtgcct 1680
catccagaac gacgccaagg tgatacttat tgagatggag gctctgagcg agctggacat 1740
gctgcaggct gaggcgcttc aggactccct ccagcatctt atgaaagtac aggggaccat 1800
caagtggagg gaggaccaca ttgccaataa aaggctcctg aattctaaat tctggaagca 1860
cgtgaggtac caaatgcctg tgccaagcaa aattcccaga aaggccteta gtttgactcc 1920
cttggtgcc cagaagcaat agtgctgct gtgatgtgca aaggcatctg agtttgaagc 1980
tttctgact tctcctagct ggcttatgcc cctgcactga agtgtgagga gcaggaatat 2040
taaagggatt caggcctc
(SEQ ID NO:4)

```

Fig. 8