

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 672 255**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.12.2013 PCT/EP2013/075491**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.06.2014 WO14086833**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2013 E 13799310 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.04.2018 EP 2929354**

54 Título: **Biomarcadores en la selección de tratamiento para la insuficiencia cardíaca**

30 Prioridad:

04.12.2012 EP 12195491

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

13.06.2018

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**ZAUGG, CHRISTIAN;
BLOCK, DIRK;
WIENHUES-THELEN, URSULA-HENRIKE;
BRUNNER, HANS-PETER;
KRAUSE, FRIEDEMANN;
MODEL, FABIAN y
ROLNY, VINCENT**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 672 255 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

Biomarcadores en la selección de tratamiento para la insuficiencia cardíaca

5 A efectos de la presente descripción, el término "invención" ha de leerse como "divulgación" hasta el capítulo "LA INVENCIÓN" presentado más adelante.

10 La presente invención se refiere a un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento seleccionado entre el grupo que consiste en un bloqueante de receptor beta-adrenérgico (beta bloqueante), un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) o un bloqueante del receptor de angiotensina (ARB), denominándose colectivamente estos dos últimos inhibidores del sistema renina-angiotensina. El método se basa en la determinación de la cantidad de al menos un biomarcador seleccionado entre el grupo que consiste en GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mímecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, un péptido de tipo BNP, 15 ácido úrico, Galectina-3 (Gal-3), ST2 soluble (sST2), P1GF, sFlit-1, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardíaca. Además, el método comprende la etapa de comparar la cantidad determinada de esta manera con una cantidad de referencia. La presente invención también prevé kits y dispositivos adaptados para llevar a cabo el método de la presente invención. La presente invención también se refiere a un sistema para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento 20 como se desvela en el presente documento y a reactivos y kits usados para realizar los métodos desvelados en el presente documento.

25 Un objetivo de la medicina moderna es proporcionar regímenes de tratamiento personalizados o individualizados. Estos son regímenes de tratamiento que tienen en cuenta los riesgos o necesidades individuales de un paciente. Deberán tenerse en cuenta los regímenes de tratamiento personalizados o individuales para medidas en las que sea necesario tomar decisiones sobre los posibles regímenes de tratamiento.

30 La insuficiencia cardíaca (IC) es un problema importante y cada vez mayor para la salud pública. Se estima que aproximadamente 5 millones de pacientes en los Estados Unidos tienen IC, más de 500.000 pacientes reciben un diagnóstico de IC por primera vez cada año y más de 250.000 pacientes en los Estados Unidos mueren cada año de IC como causa primaria. La insuficiencia cardíaca (IC) es una de las causas principales de morbilidad y mortalidad en los países desarrollados. Debido al envejecimiento de la población y a la mayor longevidad de los pacientes con enfermedad cardiovascular, están aumentando la incidencia y la prevalencia de IC.

35 La insuficiencia cardíaca es un síndrome clínico complejo que puede ser el resultado de cualquier trastorno cardíaco estructural o funcional que perjudique a la capacidad del ventrículo de rellenarse con o expulsar sangre y de garantizar las necesidades metabólicas del cuerpo de suministro de sangre/oxígeno. En estos casos, el cuerpo trata de compensar la falta de suministro por cambios estructurales del miocardio (por ejemplo, hipertrofia que conduce finalmente a fibrosis, apoptosis, necrosis) y estimulación neurohumoral (activación del sistema nervioso simpático y del sistema renina angiotensina aldosterona) con el objetivo de mantener el suministro requerido. La IC se clasifica 40 en diversos niveles de gravedad.

45 Una clasificación es la denominada clasificación de la NYHA (New York Heart Association). Los pacientes con insuficiencia cardíaca se clasifican según la NYHA en clases I, II, III y IV o según el American College of Cardiology y la American Heart Association (ACC/AHA) en estadios A, B, C y D. No podrá recuperar completamente su salud y necesita un tratamiento terapéutico. Los pacientes de clase I según la NYHA no tienen síntomas evidentes de enfermedad cardiovascular pero ya tienen pruebas objetivas de deterioro funcional. Los pacientes de clase II según la NYHA tienen una ligera limitación de actividad física. Los pacientes de clase III según la NYHA muestran una marcada limitación de actividad física. Los pacientes de clase IV según la NYHA no pueden realizar ninguna 50 actividad física sin molestias. Muestran síntomas de insuficiencia cardíaca en reposo.

55 Esta clasificación funcional se complementa por la clasificación más reciente del American College of Cardiology y la American Heart Association (véase J. Am. Coll. Cardiol. 2001;38;2101-2113, actualizado en 2005, véase J. Am. Coll. Cardiol. 2005;46;e1-e82). Se definen 4 estadios A, B, C y D. Un paciente que tiene insuficiencia cardíaca en estadio B, C o D ya ha experimentado cambios estructurales y funcionales en el corazón. No podrá recuperar completamente su salud y necesita un tratamiento terapéutico.

60 En la guía de la ESC para el diagnóstico y tratamiento de la insuficiencia cardíaca aguda y crónica (European Heart Journal (2008) 29, 2388-2442) se describen directrices de medicación y tratamiento de la insuficiencia cardíaca aguda y crónica. Aunque las opciones de tratamiento disponibles pueden reducir la morbilidad y la mortalidad en pacientes con insuficiencia cardíaca (IC), el número relativo de pacientes elegibles que reciben estos tratamientos sigue siendo lamentablemente bajo (O'Donoghue M. & Braunwald E., Nat. Rev. Cardiol. 2010; 7: 13-20). Además, en los pacientes elegibles para el tratamiento, la terapia se ha ajustado y guiado principalmente por la enfermedad subyacente así como por signos y síntomas de HF hasta la máxima tolerancia de fármacos (por ejemplo, por 65 estadios según la NYHA, estadios según ACC/AHA o puntuaciones de congestión).

La medición de marcadores de péptidos natriuréticos, tales como el péptido natriurético de tipo B (BNP) o su fragmento amino terminal proBNP N-terminal (NT-proBNP), ha surgido como una herramienta importante para guiar la terapia en pacientes con IC sistólica (O'Donoghue M. & Braunwald E., *Nat. Rev. Cardiol.* 2010; 7: 13-20). La terapia de IC guiada por BNP/NT-proBNP puede identificar a pacientes con necesidad de intensificación de la terapia e indicar el momento de dicha intensificación. Sin embargo, La terapia de IC guiada por BNP/NT-proBNP no indica el tipo de terapia farmacéutica con el que probablemente se beneficiarán los pacientes.

Por ejemplo, se conocen bien los efectos beneficiosos de la espironolactona sobre el tratamiento de enfermedades cardiovasculares en pacientes con IC sintomática grave de clase II, III o IV según la NYHA, sin embargo, también se conocen efectos secundarios graves de estos fármacos (por ejemplo, hiperpotasemia, arritmias, muerte súbita, hipotensión, impotencia, debilidad muscular, ginecomastia y gastritis) Williams et al. 2006 *Clin. Cardiol.* 29, 149-153. Especialmente, es una amenaza el riesgo de desarrollar hiperpotasemia (D.N. Juurlink et al. *NEJM* 2004; 351 543).

En otras palabras, las enfermedades subyacentes, el criterio clínico y la terapia de la IC guiada por BNP/NT-proBNP no proporcionan información suficiente sobre la selección del o de los tratamientos o la intensificación de la terapia. Se necesitan nuevos biomarcadores adicionales y, en particular, aquellos que puedan predecir la respuesta a la terapia o ayudar a seleccionar una terapia apropiada, para intensificar una terapia particular o, por el contrario, para evitar una terapia particular o su intensificación.

Por lo tanto, existe la necesidad de biomarcadores que permitan identificar sujetos que se beneficiarían de ciertas terapias de insuficiencia cardíaca o, por el contrario, que resultarían perjudicados por ciertas terapias de insuficiencia cardíaca.

El sistema IGFBP juega un papel importante en el crecimiento y la diferenciación celular. La proteína de unión a IGF 7 (=IGFBP-7) es una glicoproteína modular de 30 kDa que se sabe que se secreta por células endoteliales, células del músculo liso vascular, fibroblastos y células epiteliales (Ono, Y., et al., *Biochem Biophys Res Comm* 202 (1994) 1490-1496). Esta molécula también se ha denominado en la bibliografía FSTL2; IBP 7; proteína I relacionada con la proteína de unión a IGF; IGFBP 7; IGFBP 7v; IGFBP rP1; IGFBP7; IGFBPRP1; proteína 7 de unión a factor de crecimiento insulínico; precursor de proteína 7 de unión a factor de crecimiento insulínico; MAC25; proteína MAC25; factor estimulador de PGI2; y PSF o factor estimulante de prostaciclina. Se detectaron bajos niveles de IGFB-7 en sueros humanos aleatorios y se han observado niveles séricos aumentados en asociación con la resistencia a la insulina (Lopez-Bermejo, A., et al., *J. Clinical Endocrinology and Metabolism* 88 (2003) 3401-3408, Lopez-Bermejo, A., et al., *Diabetes* 55 (2006) 2333-2339).

El documento US20100285491 desvela el uso de IGFBP-7 en la evaluación de la insuficiencia cardíaca. Además, desvela que el marcador IGFBP-7 puede usarse para seleccionar un régimen de tratamiento para un paciente que padece IC. Además, se afirma que en el seguimiento de pacientes con IC, un nivel elevado de IGFBP-7 es un indicador positivo de un tratamiento eficaz de la IC.

El documento WO2008/015254 desvela un método basado en la detección de GDF-15 para identificar a un sujeto que es elegible para una terapia de insuficiencia cardíaca, preferentemente, una terapia basada en fármacos que usa un medicamento como un antagonista de aldosterona, incluyendo espironolactona. Preferentemente, hay detección adicional de TnT o NTproBNP. Además, preferentemente una cantidad de GDF-15 (preferentemente 1200 pg/ml) mayor que la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto elegible para una terapia de insuficiencia cardíaca. Sin embargo, el documento no desvela la terapia farmacéutica que debe considerarse o si debe considerarse un ajuste de la medicación o intensificación de la terapia.

El mimecan (también denominado osteoglicina) es un componente multifuncional de la matriz extracelular. Se ha demostrado que el mimecan está implicado en la regulación de la fibrillogénesis del colágeno, un proceso esencial en el desarrollo, reparación de tejidos y metástasis (Tasheva et al., *Mol. Vis.* 8 (2002) 407-415). Interviene en la formación del hueso junto con el TGF-beta-1 o TGF-beta-2. Los análisis del transcriptoma en tejido cardíaco de rata y humano revelaron una alta correlación del mimecan con la masa ventricular izquierda así como con la remodelación extracelular en la cardiomiopatía dilatada (Petretto, E. et al., *Nature Genetics* 40 (2008) 546-552).

El documento WO2011/01226 desvela el uso de mimecan en una muestra de fluido corporal procedente de un individuo para evaluar la insuficiencia cardíaca. Además, se refiere al uso del marcador mimecan en la selección de un régimen de tratamiento para un paciente que padece IC. Además, se desvela que en el seguimiento de pacientes con IC, un nivel elevado de mimecan es un indicador positivo de un tratamiento eficaz de la IC. Sin embargo, el documento no desvela la terapia farmacéutica que debe considerarse o si debe considerarse un ajuste de la medicación o intensificación de la terapia.

La endostatina se aisló originalmente del hemangioendotelioma murino como un fragmento proteolítico de 20 kDa de colágeno de tipo XVIII (O'Reilly, M.S. et al., *Cell* 88 (1997) 277-285). Los colágenos representan una familia de proteínas de la matriz extracelular con una conformación de triple hélice característica que forma agregados supra-moleculares que juegan un papel dominante en el mantenimiento de la integridad estructural de los tejidos. Una deposición excesiva de colágeno conduce a fibrosis, que altera el funcionamiento normal de los tejidos circundantes.

La endostatina se libera de la cadena alfa 1 del colágeno XVIII por la acción de diversas enzimas proteolíticas (Ortega, N. y Werb, Z., Journal of Cell Science 115 (2002) 4201-4214). La endostatina es un potente inhibidor de la angiogénesis y del desarrollo de vasos sanguíneos. Sin embargo, el documento no desvela la terapia farmacéutica que debe considerarse o si debe considerarse un ajuste de la medicación o intensificación de la terapia.

El documento WO2010/124821 desvela que se mide Endostatina para evaluar la insuficiencia cardiaca. Además, se refiere al uso del marcador endostatina en la selección de un régimen de tratamiento para un paciente que padece IC. Además, se afirma que en el seguimiento de pacientes con IC, un nivel elevado de Endostatina es un indicador positivo de un tratamiento eficaz de la IC.

El factor de diferenciación del crecimiento-15 (GDF-15) es un miembro de la superfamilia de citocinas del factor de crecimiento transformante β y primero se identificó como citocina inhibidora de macrófagos-1 (MIC-1) y posteriormente también se denominó factor de crecimiento transformante placentario β (Bootcov 1997, Proc Natl Acad Sci 94:11514-11519; Tan 2000, Proc Natl Acad Sci 97:109-114). GDF-15 se ha descrito como un fuerte pronosticador de acontecimientos cardiovasculares y un indicador de complicaciones cardiovasculares, (Brown, D. A. et al., 2002 The Lancet, 359: 2159-2163; documento US2003/0232385; Kempf 2006, Circ Res 98: 351-360;) Kempf et al. mostraron que los niveles circulantes de GDF-15 están relacionados con la gravedad de la ICC y predicen el riesgo de muerte en pacientes con insuficiencia cardiaca crónica (Clinical Chemistry 53:2; 284-291 (2007); Am Coll Cardiol, 2007; 50:1054-1060).

El documento WO2012/025355 no solo desvela métodos para el diagnóstico o supervisión de anomalías funcionales y/o estructurales del corazón previas a la IC, sino también la pauta para seleccionar un fármaco apropiado para tratar dichas afecciones. El marcador puede ser IGFBP7. El documento WO2010/007041 desvela un método basado en la detección de GDF-15, NT-proANP, NT-proBNP y troponina cardiaca para supervisar a un sujeto aparentemente estable que padece insuficiencia cardiaca. Además, desvela un método para diagnosticar y/o decidir la terapia/medicación a aplicar en un sujeto aparentemente estable que padece insuficiencia cardiaca y que experimenta un cambio en su estado fisiológico.

El documento WO2009/047283 describe un método para diagnosticar el tratamiento o combinaciones de tratamientos a aplicar en el proceso de remodelación de un sujeto después de un infarto de miocardio mediante la determinación de BNP, cTnT y al menos un marcador inflamatorio osteopontina (OPN), GDF-15, CRP. Describe que un nivel de osteopontina ≥ 500 pg/ml es indicativo de inhibidores de ACE, antagonistas del receptor de angiotensina y antagonistas de aldosterona.

Kubo et al. 2011 (Circulation J, 75, 919-926) desvela la predicción basada en BNP y Troponina del riesgo de deterioro clínico en pacientes que padecen cardiomiopatía hipertrófica. Muchos de los pacientes evaluados padecen insuficiencia cardiaca. Se especula que las mediciones combinadas de los dos marcadores pueden ser útiles para supervisar pacientes con cardiomiopatía hipertrófica.

Fonarow et al. 2008 (Am J Cardiol, 101, 231-237) desvela la predicción basada en la detección de BNP y Troponina del riesgo de mortalidad en pacientes que padecen insuficiencia cardiaca.

Mentz et al. 2011 (Circ J, 75(9):2031-7) desvela un método basado en la detección de NTproBNP para las pautas de terapia y la supervisión en un paciente con insuficiencia cardiaca, en donde la terapia se selecciona entre tratamiento con diuréticos, inhibidor de ACE, beta bloqueante, espironolactona, nitratos o digoxina.

Böhm et al. 2011 (Clin Res Cardiol, 100:973-981) revisa un método basado en la detección de NTproBNP para las pautas de terapia y la supervisión en un paciente con insuficiencia cardiaca. También menciona la posibilidad de combinar BNP con troponina para pautar la terapia de insuficiencia cardiaca.

El documento US 2009/155827 desvela un método que comprende la determinación de P1GF y sFlt-1 en una muestra para el diagnóstico, estratificación del riesgo y/o supervisión de una enfermedad vascular con etiología aterosclerótica, en particular, una enfermedad cardiaca coronaria tal como una angina de pecho o un infarto de miocardio, y/o para la estimación de la probabilidad de desarrollar dicha enfermedad, así como para la identificación de un paciente que supuestamente se beneficiaría de una terapia con agentes que reducen el riesgo de una enfermedad cardiovascular.

El documento WO 2009/138451 desvela un método para diagnosticar si un sujeto que padece cardiomiopatía dilatada está padeciendo cardiomiopatía dilatada isquémica o no isquémica. Entre otras cosas, se determina un marcador angiogénico, que puede ser P1GF y/o sFlt-1.

IRIS Z. JAFFE ET AL., JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, vol. 120, n.º 11, noviembre de 2010, p. 3891-3900 enseña que P1GF media la lesión vascular dependiente de aldosterona en ratones. los hallazgos sugieren un mecanismo no renal para los efectos protectores vasculares de antagonistas de aldosterona en seres humanos y apoyan el establecimiento como diana de la ruta vascular aldosterona/MR/PGF/Flt1 como estrategia terapéutica para la enfermedad cardiovascular isquémica.

En el contexto de los estudios que subyacen a la presente invención, se demostró ventajosamente que la determinación de GDF-15, endostatina, mimecan, IGFBP7, una troponina cardíaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, galectina-3, ST2 soluble, PIGF, sFlt-1, P1NP, cistatina C, prealbúmina y/o transferrina permite identificar sujetos que se beneficiarían de ciertas terapias para la insuficiencia cardíaca. Se demostró que solo ciertos grupos de pacientes se beneficiarían de la administración de, por ejemplo, beta bloqueantes y antagonistas de aldosterona, sin que otros grupos se beneficien de la administración. Mediante la determinación de las cantidades de los biomarcadores mencionados anteriormente, es posible diferenciar entre sujetos que se beneficiarían de la terapia y sujetos que no se beneficiarían de la terapia o que incluso experimentarían efectos secundarios o resultarían perjudicados por la terapia debido a una intensificación/ajuste hacia arriba de la dosis, innecesarios, sin obtener un efecto beneficioso.

El problema técnico subyacente a la presente invención puede verse como la provisión de medios y métodos para satisfacer las necesidades mencionadas anteriormente.

El problema técnico se resuelve por las realizaciones caracterizadas en las reivindicaciones y más adelante en el presente documento.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento para la terapia de insuficiencia cardíaca, que comprende

- a) determinar la cantidad de al menos un biomarcador en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardíaca y
- b) comparar la cantidad (o cantidades) de dicho al menos un biomarcador determinada en la etapa a) con una cantidad de referencia (o con cantidades de referencia), con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento.

Preferentemente, dicho al menos un medicamento se selecciona del grupo que consiste en un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina.

Preferentemente, dicho al menos un biomarcador se selecciona del grupo que consiste en IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), mimecan, osteopontina, endostatina, sFlt-1 (tirosina quinasa 1 tipo fms), PIGF (factor de crecimiento placentario), una troponina cardíaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), sST2 (ST2 soluble), Gal3 (galectina-3), P1NP (propéptido N-terminal del procolágeno tipo 1), cistatina C, prealbúmina y transferrina.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento seleccionado entre el grupo que consiste en un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina, que comprende

- a) determinar la cantidad de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), mimecan, osteopontina, endostatina, sFlt-1 (tirosina quinasa 1 tipo fms), PIGF (factor de crecimiento placentario), una troponina cardíaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), sST2 (ST2 soluble), Gal3 (galectina-3), P1NP (propéptido N-terminal del procolágeno tipo 1), cistatina C, prealbúmina y transferrina en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardíaca y
- b) comparar la cantidad (o cantidades) determinada en la etapa a) con una cantidad de referencia (o con cantidades de referencia), con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento.

En una realización preferida del método de la presente invención, dicho al menos un medicamento es un antagonista de aldosterona. En este caso, dicho al menos un biomarcador se selecciona entre IGFBP7, endostatina, ácido úrico, un péptido de tipo BNP, una troponina cardíaca, sFlt-1, PIGF, sST2, Gal-3 y cistatina C. Preferentemente, se determina la cantidad de solo uno de los biomarcadores mencionados anteriormente. Sin embargo, también se contempla determinar la cantidad de más de un biomarcador en combinación. Son combinaciones preferidas sFlt-1 y IGFBP7; sFlt-1 y una troponina cardíaca; sFlt-1 y Gal-3; una troponina cardíaca y Gal-3; una troponina cardíaca e IGFBP7; IGFBP7 y Gal-3; y combinaciones de estos marcadores con un péptido de tipo BNP. Una combinación particularmente preferida es IGFBP7 y mimecan. Otra combinación preferida es una combinación de PIGF y sFlt-1. Además, se prevé calcular la relación entre la cantidad de PIGF y la cantidad de sFlt-1 (o la relación entre la cantidad de sFlt-1 y PIGF). En este caso, la relación calculada se compara con una relación de referencia.

En otra realización preferida del método de la presente invención, dicho al menos un medicamento es un beta bloqueante. En este caso, dicho al menos un biomarcador, preferentemente, se selecciona del grupo que consiste en IGFBP7, GDF-15, endostatina, mimecan, un péptido de tipo BNP, una troponina cardíaca, osteopontina, sFlt-1 y P1NP. Preferentemente, se determina la cantidad de solo un biomarcador. Sin embargo, también se contempla determinar la cantidad de más de un biomarcador en combinación. Son combinaciones preferidas GDF-15 y endostatina; GDF-15 y una troponina cardíaca; GDF-15 y mimecan; GDF-15 y sST2; endostatina y una troponina

cardiaca; endostatina y mimecan; endostatina e IGFBP7; mimecan y una troponina cardiaca; mimecan e IGFBP7; una troponina cardiaca e IGFBP7. Una combinación particularmente preferida es endostatina y sFlt-1. Otra combinación preferida es endostatina y PIGF.

5 En otra realización preferida del método de la presente invención, dicho al menos un medicamento es un inhibidor del sistema renina-angiotensina. En este caso, dicho al menos un biomarcador, preferentemente, osteopontina, GDF-15, un péptido de tipo BNP, sFlt-1, una troponina cardiaca, Gal-3, ácido úrico o IGFBP7. Preferentemente, se determina la cantidad de un biomarcador. Sin embargo, también se contempla determinar la cantidad de más de un biomarcador en combinación. Son combinaciones preferidas: una troponina cardiaca y Gal-3, una troponina cardiaca y ácido úrico y Gal-3 y ácido úrico. Son combinaciones adicionales preferidas: osteopontina y sFlt-1, sFlt-1 y una troponina cardiaca y osteopontina y una troponina cardiaca.

15 En otra realización preferida del método de la presente invención, dicho al menos un medicamento es un diurético. En este caso, dicho al menos un biomarcador, preferentemente, se selecciona del grupo que consiste en GDF-15, endostatina, mimecan, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, osteopontina, IGFBP-7, Gal-3, transferrina o prealbúmina. Preferentemente, se determina la cantidad de solo un biomarcador. Sin embargo, también se contempla determinar la cantidad de más de un biomarcador en combinación. Son combinaciones preferidas GDF-15 y endostatina; GDF-15 y un péptido de tipo BNP; GDF-15 y mimecan; GDF-15 y Gal-3; endostatina y un péptido de tipo BNP; endostatina y mimecan; endostatina y Gal-3; mimecan y un péptido de tipo BNP; mimecan y Gal-3; un péptido de tipo BNP y Gal-3; péptido de tipo BNP y ácido úrico; un péptido de tipo BNP e IGFBP-7; un péptido de tipo BNP y osteopontina. En particular, se prevé una combinación de ácido úrico y GDF-15.

Por consiguiente, La presente invención, en particular, prevé los siguientes métodos:

25 Se contempla un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración (es decir, para la administración inicial o la intensificación, en particular, la administración a una dosificación superior) de un antagonista de aldosterona, que comprende

- 30 a) determinar la cantidad de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en IGFBP7, endostatina, ácido úrico, un péptido de tipo BNP, una troponina cardiaca, sFlt-1, P1GF, sST-2, Gal-3 y cistatina C en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca y
 b) comparar la cantidad (o cantidades) determinada en la etapa a) con una cantidad de referencia (o con cantidades de referencia), con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona.

35 En una realización, las cantidades de PIGF y sFlt-1 se determinan en la etapa a), en una etapa a1) adicional se calcula la relación entre la cantidad de PIGF y la cantidad de sFlt-1 (o entre la cantidad de sFlt-1 y PIGF) y la relación comparada de esta manera se compara con una relación de referencia en la etapa b).

40 Por consiguiente, el método puede comprender las etapas de:

- a) determinar las cantidades de PIGF y sFlt-1 en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca, a1) calcular la relación entre la cantidad de PIGF y la cantidad de sFlt-1 (o viceversa) y
 45 b) comparar la relación calculada en la etapa a1) con una relación de referencia, con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona.

También se contempla un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración (es decir, para la administración inicial o la intensificación de la administración, en particular, la administración a una dosificación superior) de un beta bloqueante, que comprende

- 50 a) determinar la cantidad de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en IGFBP7, GDF-15, endostatina, mimecan, un péptido de tipo BNP, una troponina cardiaca, osteopontina, sFlt-1 y P1NP en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca y
 55 b) comparar la cantidad (o cantidades) determinada en la etapa a) con una cantidad de referencia (o con cantidades de referencia), con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho beta bloqueante.

También se prevé un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración (es decir, para la administración inicial o la intensificación de la administración, en particular, la administración a una dosificación superior) de un inhibidor del sistema renina-angiotensina, que comprende

- 60 a) determinar la cantidad del biomarcador seleccionado del grupo que consiste en osteopontina, GDF-15, un péptido de tipo BNP, sFlt-1, una troponina cardiaca, Gal-3, ácido úrico e IGFBP7 en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca y

b) comparar la cantidad (o cantidades) determinada en la etapa a) con una cantidad de referencia (o con cantidades de referencia), con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho inhibidor del sistema renina-angiotensina.

5 La presente invención también contempla un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración (es decir, para la administración inicial o la intensificación de la administración) de un diurético, que comprende

10 a) determinar la cantidad de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en IGFBP7, una troponina cardiaca, endostatina, mimecan, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, osteopontina, Gal-3, prealbúmina y transferrina en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca y

b) comparar la cantidad (o cantidades) determinada en la etapa a) con una cantidad de referencia (o con cantidades de referencia), con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho diurético.

15 Preferentemente, se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento, realizando la etapa c) adicional de identificar a un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento.

20 En una realización, la cantidad de dicho al menos un biomarcador se mide poniendo en contacto la muestra con un agente que se une específicamente al marcador respectivo, formando de esta manera un complejo entre el agente y dicho marcador, detectando la cantidad de complejo formado y midiendo de esta forma la cantidad de dicho marcador. Si el biomarcador es ácido úrico, el nivel de dicho biomarcador puede medirse poniendo en contacto la muestra con una enzima o compuesto que permite la conversión de dicho biomarcador, por ejemplo, que permite la oxidación de ácido úrico. La enzima puede ser una uricasa (EC 1.7.3.3) que cataliza la oxidación de ácido úrico para dar 5-hidroxiisourato. El compuesto puede ser ácido fosfotúngstico.

25 Las siguientes combinaciones de biomarcador-medicamento son las combinaciones más preferidas:

30 En una realización preferida de los métodos, usos, kits, sistemas y dispositivos de la presente invención, el biomarcador es IGFBP-7 y el medicamento es un beta bloqueante.

En otra realización preferida, el biomarcador es mimecan y el medicamento es un beta bloqueante.

35 En otra realización preferida, el biomarcador es osteopontina y el medicamento es un inhibidor del sistema renina-angiotensina. También se prevé que el medicamento es un beta bloqueante.

En otra realización preferida, el biomarcador es endostatina y el medicamento es un antagonista de aldosterona.

40 En otra realización preferida, el biomarcador es sFlt-1 y el medicamento es un antagonista de aldosterona. También se prefiere que el biomarcador sea sFlt-1 y que el medicamento sea un inhibidor del sistema renina-angiotensina. Además, se prevé que el medicamento sea un beta bloqueante.

45 En otra realización preferida, el biomarcador es PIGF y el medicamento es un antagonista de aldosterona.

En otra realización preferida, el biomarcador es una troponina cardiaca y el medicamento es un inhibidor del sistema renina-angiotensina

50 En otra realización preferida, el biomarcador es un péptido de tipo BNP y el medicamento es un inhibidor del sistema renina-angiotensina. También se prefiere que el biomarcador sea un péptido de tipo BNP y que el medicamento sea un beta bloqueante.

55 En otra realización preferida, el biomarcador es ácido úrico y el medicamento es un diurético. También se prefiere que el biomarcador sea ácido úrico y que el medicamento sea un inhibidor del sistema renina-angiotensina.

En otra realización preferida, el biomarcador es GDF-15 y el medicamento es un diurético. También se prefiere que el biomarcador sea GDF-15 y que el medicamento sea un inhibidor del sistema renina-angiotensina.

60 En otra realización preferida, el biomarcador es sST2 y el medicamento es un antagonista de aldosterona. También se prefiere que el biomarcador sea sST2 y que el medicamento sea un beta bloqueante.

En otra realización preferida, el biomarcador es P1NP y el medicamento es un beta bloqueante.

65 En otra realización preferida, el biomarcador es cistatina C y el medicamento es un antagonista de aldosterona.

En otra realización preferida, el biomarcador es prealbúmina y el medicamento es un diurético de asa.

En otra realización preferida, el biomarcador es IGFBP7 y el medicamento es un inhibidor del sistema renina-angiotensina.

En los ejemplos se desvelan otras combinaciones preferidas de biomarcador/medicamento.

El método de la presente invención, preferentemente, es un método *ex vivo* o *in vitro*. Además, puede comprender etapas además de las mencionadas explícitamente con anterioridad. Por ejemplo, las etapas adicionales pueden estar relacionadas con pretratamientos de las muestras o evaluación de los resultados obtenidos por el método. El método puede llevarse a cabo manualmente o de manera asistida por automatización. Preferentemente, las etapas (a) y/o (b) pueden estar asistidas por automatización en su totalidad o en parte, por ejemplo, por un equipo robótico y sensorial adecuado para la determinación en la etapa (a) o una comparación implementada en ordenador y/o evaluación basada en dicha comparación en la etapa (b).

Por consiguiente, la presente invención preferentemente también se refiere a un sistema de identificación de un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento seleccionado entre el grupo que consiste en un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina, que comprende

a) una unidad analizadora configurada para poner en contacto, *in vitro*, una parte de una muestra del sujeto con un ligando (o ligandos si se determina la cantidad de más de un biomarcador) que comprende afinidad de unión específica por al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardiaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Galectina-3 (Gal-3), ST2 soluble (sST2), PIGF, sFlt-1, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina,

b) una unidad analizadora configurada para detectar una señal de la parte de la muestra del sujeto que se ha puesto en contacto con el ligando (o ligandos),

c) un dispositivo de cálculo que tiene un procesador y en comunicación operativa con dichas unidades de análisis, y

d) un medio legible por máquina no transitorio que incluye una pluralidad de instrucciones ejecutables por un procesador, calculándose, cuando se ejecutan las instrucciones, una cantidad de dicho al menos un biomarcador y comparándose la cantidad de dicho al menos un biomarcador con una cantidad de referencia (o cantidades de referencia si se determina la cantidad de más de un marcador), identificándose de esta manera un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento.

El término "identificar", como se usa en el presente documento, significa evaluar si un sujeto será elegible para la administración de dicho al menos un medicamento o no lo será. Debe entenderse que un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento se beneficiará de la administración de dicho al menos un medicamento, mientras que un sujeto que no es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento puede experimentar efectos secundarios adversos o resultar perjudicado por la administración de dicho al menos un medicamento. En particular, un sujeto se beneficia de la administración de dicho al menos un medicamento, si la administración de dicho al menos un medicamento reduce el riesgo de mortalidad de dicho sujeto y/o reduce el riesgo de hospitalización de dicho sujeto, en particular, dentro de un periodo de ventana de 18 meses o 3 años después de haber obtenido la muestra. Preferentemente, El riesgo (o riesgos) mencionado(s) anteriormente se reduce (reducen) un 5%, más preferentemente un 10%, incluso más preferentemente un 15% y, aún más preferentemente, un 20%. Preferentemente, la hospitalización a la que se hace referencia en el presente documento será debida a insuficiencia cardiaca.

Por el contrario, un sujeto que no es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento no se beneficiará (en particular, no se beneficiará de forma significativa) por la administración de dicho al menos un medicamento. En particular, un sujeto no se beneficia de la administración de dicho al menos un medicamento, si la administración de dicho al menos un medicamento no reduce (en particular, no reduce significativamente) el riesgo de mortalidad de dicho sujeto y/o no reduce (en particular, no reduce significativamente) el riesgo de hospitalización de dicho sujeto y/o aumenta el riesgo de efectos indeseados, en particular, dentro de un periodo de ventana de 18 meses o 3 años después de haber obtenido la muestra. En este caso, pueden evitarse costes sanitarios innecesarios, si no se administra el medicamento. Además, pueden evitarse efectos secundarios adversos que pueden producirse como resultado de la administración.

Por lo tanto, mediante la identificación de un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento, puede evaluarse si un sujeto se beneficiará de la administración (es decir, de la administración inicial o de la intensificación de la administración, en particular, la administración a una dosificación superior) o no. Por consiguiente, la presente invención también se refiere a un método para identificar a un sujeto que se beneficiará de la administración de dicho al menos un medicamento, basado en las etapas expuestas en otras partes del presente documento.

Como entenderán los expertos en la materia, normalmente no se pretende que la evaluación de si un sujeto es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento sea correcta para el 100% de los sujetos a

evaluar. La expresión, sin embargo, requiere que la evaluación sea correcta para una parte estadísticamente significativa de los sujetos (por ejemplo, una cohorte en un estudio de cohortes). El experto en la materia puede determinar sin más preámbulos si una parte es estadísticamente significativa usando diversas herramientas de evaluación estadísticas bien conocidas, por ejemplo, determinación de intervalos de confianza, determinación del valor de p, prueba de la t de Student, prueba de Mann-Whitney etc. Se encuentran detalles en Dowdy y Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, Nueva York 1983. Los intervalos de confianza preferidos son de al menos el 90 %, al menos un 95%, al menos un 97%, al menos el 98 % o al menos el 99 %. Los valores de p son, preferentemente, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 o 0,0001. Más preferentemente, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos el 80% o al menos el 90% de los sujetos de una población pueden identificarse de manera apropiada por el método de la presente invención.

En el contexto de la presente invención, se identificará un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento seleccionado entre el grupo que consiste en un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina.

Por "administración" en el contexto del método de la presente invención se entiende que (i) la administración de dicho al menos un medicamento se iniciará (y, por lo tanto, se añadirá a la terapia) o que (ii) dicho al menos un medicamento se administrará a una dosificación superior (y, por lo tanto, se ajustará hacia arriba).

El término "dosificación", como se usa en el presente documento, preferentemente se refiere a la dosificación diaria.

En el primer caso (i), el sujeto no habrá tomado dicho al menos un medicamento previamente. Por lo tanto, dicho al menos un medicamento no se habrá administrado a dicho sujeto antes de haber obtenido la muestra a ensayar. Preferentemente, dicho al menos un medicamento no se ha administrado al sujeto durante al menos tres meses, más preferentemente, durante al menos seis meses antes de obtener la muestra a ensayar.

En el último caso (ii), ya se habrá tratado al sujeto con dicho al menos un medicamento (antes de obtener la muestra). Preferentemente, el sujeto se ha tratado con dicho al menos un medicamento durante al menos dos semanas, más preferentemente, durante al menos dos meses, incluso más preferentemente durante al menos seis meses y, aún más preferentemente, durante al menos un año antes de obtener la muestra a ensayar. Preferentemente, la dosificación de dicho al menos un medicamento no se alteró en este periodo.

Se prefiere particularmente que el sujeto a ensayar ya se haya tratado con dicho al menos un medicamento y que se haya evaluado si el sujeto es elegible (o no) para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior, es decir, si la terapia se continuará con una dosificación superior de dicho al menos un medicamento. Por lo tanto, puede evaluarse si se debe ajustar hacia arriba la dosificación de dicho al menos un medicamento.

En resumen, un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento es elegible para la iniciación de la administración de dicho al menos un medicamento o para la administración de dicho al menos un medicamento a una dosificación superior, mientras que un sujeto que no es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento no es elegible para la iniciación de la administración de dicho al menos un medicamento (en caso de que el sujeto no se tratara con dicho medicamento antes de obtener la muestra a ensayar) o no es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior (en caso de que el sujeto se tratara con dicho medicamento antes de obtener la muestra a ensayar). Por consiguiente, si un sujeto es elegible para la administración del medicamento, puede iniciarse la administración de dicho medicamento o puede aumentarse la dosificación de dicho medicamento. Si un sujeto, sin embargo, no es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento, no se iniciará la administración de dicho medicamento o no se ajustará hacia arriba una dosificación superior. Por consiguiente, si el sujeto se trató con dicho medicamento antes de obtener la muestra a ensayar, la terapia se continuará sin alterar la dosificación, en particular, sin aumentar la dosificación, si el sujeto no es elegible para la administración de dicho medicamento. También preferentemente, un sujeto que no es elegible para la administración de un medicamento puede recibir una dosis menor de dicho medicamento.

Los medicamentos a los que se hace referencia en el contexto de la presente invención son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, descrita en, véase, por ejemplo, *Heart Disease*, 2008, 8ª Edición, Eds. Braunwald, Elsevier Saunders, capítulo 24 o la guía de la ESC para el diagnóstico y tratamiento de la insuficiencia cardiaca aguda y crónica (*European Heart Journal* (2008) 29, 2388-2442).

Los beta bloqueantes (también denominados con frecuencia bloqueantes beta adrenérgicos) bloquean la acción de las catecolaminas endógenas epinefrina (adrenalina) y norepinefrina (noradrenalina), en particular, en receptores β adrenérgicos. Preferentemente, el beta bloqueante se selecciona entre el grupo que consiste en cebutolol, alprenolol, atenolol, betaxolol, bisoprolol, bupranolol, carazolol, carteolol, carvedilol, celiprolol, metipranolol, metoprolol, nadolol, nebivolol, oxprenolol, penbutolol, pindolol, pro-panolol, sotalol, tanilolol y timolol. Los beta bloqueantes más preferidos son atenolol, carvedilol, metoprolol y bisoprolol.

Los antagonistas de aldosterona pertenecen a una clase de fármacos diuréticos que antagonizan la acción de aldosterona en receptores mineralocorticoides. Se usan a menudo como terapia coadyuvante, en combinación con

otros fármacos, para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca crónica. Preferentemente, el antagonista de aldosterona se selecciona entre el grupo que consiste en eplerona, espironolactona, canrenona, mexrenona, prorenona. Un antagonista de aldosterona particularmente preferido es la espironolactona (7 α -acetiltio-3-oxo-17 α -pregn-4-eno-21,17-carbolactona) o eplerenona.

5 Los diuréticos son diuréticos que aumentan la eliminación de sodio y agua a través de la orina. Un diurético particularmente preferido es un diurético de asa o un diurético de tiazida.

10 Preferentemente, se usan diuréticos de asa debido a su eficacia y rápido inicio de acción. Actúan sobre la parte ascendente del asa de Henle en el riñón. Preferentemente, el diurético de asa se selecciona entre el grupo de: furosemida, azosemida, bumetanida, piretanida, torasemida, ácido etacrínico, etozolina. En particular, el diurético de asa es furosemida.

15 Preferentemente, el diurético de tiazida se selecciona entre el grupo de: hidroclorotiazida y clortalidona. Un diurético de tiazida particularmente preferido es hidroclorotiazida.

20 El inhibidor del sistema renina-angiotensina (RAS) incluye inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), bloqueantes del receptor de angiotensina II (ARB, antagonistas del receptor de angiotensina II) e inhibidores de renina directos. Preferentemente, el inhibidor es un inhibidor de ACE. También preferentemente, el inhibidor es un bloqueante del receptor de angiotensina II.

25 Preferentemente, el inhibidor de ACE se selecciona entre el grupo que consiste en benazepril, captopril, cilazapril, enalapril, fosinopril, lisinopril, moexipril, perindopril, quinapril, ramipril, espirapril y trandolapril. Un inhibidor de ACE particularmente preferido es captopril, enalapril, lisinopril, ramipril o trandolapril.

30 Preferentemente, el antagonista del receptor de angiotensina II se selecciona entre el grupo que consiste en losartán, valsartán, irbesartán, candesartán, olmesartán, telmisartán y eprosartán. Un ARB particularmente preferido es valsartán, losartán, candesartán o telmisartán.

30 Un inhibidor directo de renina preferido es aliskiren.

35 Tal como se han expuesto en el presente documento anteriormente, el sujeto a ensayar puede haberse tratado ya con dicho al menos un medicamento en el momento en el que se obtiene la muestra a ensayar. Por lo tanto, al realizar el método de la presente invención, se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento a una dosificación superior, es decir, a una dosificación que es superior a la dosificación de dicho medicamento que se administró antes de obtener la muestra a ensayar. Preferentemente, la dosificación diaria será superior. En el contexto de la presente invención se contempla aumentar la dosificación hasta en un 500 % o más. Preferentemente, dicha dosificación será al menos un 30%, más preferentemente, al menos un 50%, incluso más preferentemente, al menos un 100% o, aún más preferentemente, al menos un 200% mayor que la dosificación que se administró antes de obtener la muestra a ensayar.

40 El término "sujeto", como se usa en el presente documento en el contexto del método mencionado anteriormente, se refiere a animales, preferentemente mamíferos y, más preferentemente, seres humanos. Se prevé que, en el contexto de la presente invención, el sujeto padece insuficiencia cardíaca (IC).

45 La expresión "insuficiencia cardíaca", como se usa en el presente documento, se refiere a una función sistólica y/o diastólica alterada del corazón que va acompañada de signos evidentes de insuficiencia cardíaca conocidos por los expertos en la materia. Preferentemente, la insuficiencia cardíaca a la que se hace referencia en el presente documento también es insuficiencia cardíaca crónica. La insuficiencia cardíaca de acuerdo con la presente invención incluye insuficiencia cardíaca manifiesta y/o avanzada. En la insuficiencia cardíaca manifiesta, el sujeto muestra síntomas de insuficiencia cardíaca conocidos por el experto en la materia.

La IC se puede clasificar en diversos niveles de gravedad.

55 De acuerdo con la clasificación de la NYHA (New York Heart Association), los pacientes con insuficiencia cardíaca se clasifican como pacientes pertenecientes a las clases I, II, III y IV. Un paciente que tiene insuficiencia cardíaca ya ha experimentado cambios estructurales y funcionales en su pericardio, miocardio, circulación coronaria o válvulas cardíacas. No podrá recuperar completamente su salud y necesita un tratamiento terapéutico. Los pacientes de clase I según la NYHA no tienen síntomas evidentes de enfermedad cardiovascular pero ya tienen pruebas objetivas de deterioro funcional. Los pacientes de clase II según la NYHA tienen una ligera limitación de actividad física. Los pacientes de clase III según la NYHA muestran una marcada limitación de actividad física. Los pacientes de clase IV según la NYHA no pueden realizar ninguna actividad física sin molestias. Muestran síntomas de insuficiencia cardíaca en reposo.

65 Esta clasificación funcional se complementa por la clasificación más reciente del American College of Cardiology y la American Heart Association (véase J. Am. Coll. Cardiol. 2001;38:2101-2113, actualizado en 2005, véase J. Am. Coll.

Cardiol. 2005;46:e1-e82). Se definen 4 estadios A, B, C y D. Los estadios A y B no son IC, pero se considera que ayudan a identificar a pacientes prematuramente antes de desarrollar una "verdadera" IC. Los pacientes en estadio A y B son los que mejor se definen como los que tienen factores de riesgo para desarrollar IC. Por ejemplo, los pacientes con arteriopatía coronaria, hipertensión o diabetes mellitus que aún no demuestran una función alterada del ventrículo izquierdo (VI), hipertrofia o distorsión geométrica de cámaras se considerarían en estadio A, mientras que los pacientes que son asintomáticos pero demuestran hipertrofia del VI y/o función alterada en el VI se considerarían en estadio B. El estadio C entonces denota pacientes con síntomas actuales o pasados de IC asociada con una enfermedad cardiaca estructural subyacente (la mayor parte de pacientes con IC) y el estadio D designa pacientes con IC verdaderamente refractaria.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "insuficiencia cardiaca", en particular, se refiere a los estadios B, C y D de la clasificación del ACC/AHA mencionada anteriormente. En estos estadios, el sujeto muestra síntomas típicos de insuficiencia cardiaca. Por consiguiente, un sujeto que padece insuficiencia cardiaca, padece insuficiencia cardiaca en estadio B, C o D de acuerdo con la clasificación del ACC/AHA, en particular en estadio C o D. También preferentemente, el sujeto puede clasificarse como perteneciente a la clase, según la NYHA, II; III o IV, en particular, de la clase III o IV.

Preferentemente, el sujeto en el contexto de la presente invención no tiene alterada la función renal. Preferentemente, el sujeto no padecerá insuficiencia renal, en particular, el sujeto no padecerá insuficiencia renal aguda, crónica y/o en fase terminal. Además, el sujeto, preferentemente, no padecerá hipertensión renal. Se conoce bien en la técnica cómo evaluar si un sujeto presenta la función renal alterada. Los trastornos renales se pueden diagnosticar por cualquier medio conocido y considerado apropiado. En particular, la función renal puede evaluarse por medio del índice de filtración glomerular (GFR). Por ejemplo, el GFR puede calcularse por la fórmula de Cockcroft-Gault o MDRD (Levey 1999, Annals of Internal Medicine, 461-470). El GFR es el volumen de fluido filtrado desde los capilares de los glomérulos renales al interior de la cápsula de Bowman por unidad de tiempo. Clínicamente, se usa con frecuencia para determinar la función renal. Todos los cálculos derivados de fórmulas tales como la fórmula de Cockcroft Gault o la fórmula MDRD proporcionan estimaciones y no el GFR "real") por inyección de inulina en el plasma. Como la inulina no se reabsorbe por el riñón después de la filtración glomerular, su velocidad de excreción es directamente proporcional a la velocidad de filtración del agua y los solutos a través del filtro glomerular. Sin embargo, en la práctica clínica, se usa el aclaramiento de creatinina para medir el GFR. La creatinina es una molécula endógena, sintetizada en el cuerpo, que se filtra libremente por el glomérulo (pero también se secreta por los túbulos renales en cantidades muy pequeñas). Por lo tanto, el aclaramiento de creatinina (CrCl) es una aproximación bastante ajustada del GFR. El GFR se registra típicamente en mililitros por minuto (ml/min). El intervalo normal de GFR para el sexo masculino es de 97 a 137 ml/min, el intervalo normal de GFR para el sexo femenino es de 88 a 128 ml/min. Por lo tanto, se contempla particularmente que el GFR de un sujeto que no presenta alteración de la función renal está dentro de este intervalo. Además, dicho sujeto, preferentemente, tiene un nivel de creatinina en sangre (en particular, un nivel de creatinina en suero) menor de 0,9 mg/dl, más preferentemente menor de 1,1 mg/dl y, aún más preferentemente, menor de 1,3 mg/dl.

Preferentemente, el sujeto no padece SCA (síndrome coronario agudo). El término "SCA", como se usa en el presente documento, incluye STEMI (infarto de miocardio con elevación del segmento ST); NSTEMI (infarto de miocardio sin elevación del segmento ST) y angina de pecho inestable. También se prevé que el sujeto a ensayar no tiene una historia de SCA. En particular, el sujeto no habrá padecido SCA dentro del mes previo a la realización del método de la presente invención (para ser más precisos, dentro del mes previo a la obtención de la muestra).

Tal como se ha expuesto anteriormente, el sujeto a ensayar puede tratarse con los medicamentos expuestos en el contexto del método de la presente invención. Preferentemente, el sujeto se trata con un diurético, beta bloqueante, un antagonista de aldosterona y/o un inhibidor del sistema renina-angiotensina. En este caso, el método de la presente invención permite identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un medicamento a una dosificación superior o identificar a un sujeto que no es elegible para la administración de un medicamento a una dosificación superior (que preferentemente puede continuar la terapia sin alterar la dosificación).

El término "muestra" se refiere a una muestra de un fluido corporal, a una muestra de células separadas o a una muestra de un tejido o un órgano. Pueden obtenerse muestras de fluidos corporales mediante técnicas bien conocidas e incluyen, preferentemente, muestras de sangre, plasma, suero u orina, más preferentemente, muestras de sangre, plasma o suero. Pueden obtenerse muestras de tejidos u órganos a partir de cualquier tejido u órgano mediante, por ejemplo, biopsia. Pueden obtenerse células separadas a partir de los fluidos corporales o de los tejidos u órganos mediante técnicas de separación, tales como centrifugación o clasificación de células. Preferentemente, las muestras de células, tejidos u órganos se obtienen a partir de las células, tejidos u órganos que expresan o producen los péptidos mencionados en el presente documento.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "péptidos de tipo BNP" comprende pre-proBNP, proBNP, NT-proBNP y BNP. El prepropéptido (134 aminoácidos en el caso de pre-proBNP) comprende un péptido señal corto, que se escinde enzimáticamente para liberar el propéptido (108 aminoácidos en el caso de proBNP). El propéptido se escinde adicionalmente en un propéptido N-terminal (NT-propéptido, 76 aminoácidos en el caso de NT-proBNP) y la hormona activa (32 aminoácidos en el caso de BNP). Preferentemente, Los péptidos de tipo BNP

de acuerdo con la presente invención son NT-proBNP, BNP y variantes de los mismos. BNP es la hormona activa y tiene una semivida más corta que el NT-proBNP homólogo inactivo respectivo. BNP se metaboliza en la sangre, mientras que NT-proBNP circula en la sangre como una molécula intacta y se elimina tal cual por vía renal. La semivida *in vivo* de NT-proBNP es 120 min mayor que la de BNP, que es de 20 min (Smith 2000, J Endocrinol. 167: 239-46.). La preanalítica es más sólida con NT-proBNP, lo que facilita el transporte de la muestra al laboratorio central (Mueller 2004, Clin Chem Lab Med 42: 942-4.). Las muestras de sangre pueden conservarse a temperatura ambiente durante varios días o pueden enviarse por correo o de otra forma sin pérdida de recuperación. Por el contrario, el almacenamiento de BNP durante 48 horas a temperatura ambiente o a 4° centígrados conduce a una pérdida de concentración de al menos un 20 % (Mueller, citado anteriormente; Wu 2004, Clin Chem 50: 867-73.). Por lo tanto, dependiendo del transcurso de tiempo o de las propiedades de interés, puede ser ventajosa la medición de la forma activa o inactiva del péptido natriurético. Los péptidos natriuréticos más preferidos de acuerdo con la presente invención son NT-proBNP o variantes del mismo. Como se ha analizado de manera breve anteriormente, el NT-proBNP humano, cuando se hace referencia al mismo de acuerdo con la presente invención, es un polipéptido que comprende, preferentemente, 76 aminoácidos de longitud correspondientes a la parte N-terminal de la molécula de NT-proBNP humano. La estructura del BNP y NT-proBNP humanos ya se ha descrito con detalle en la técnica anterior, por ejemplo, documento WO 02/089657, documento WO 02/083913 o Bonow, citado anteriormente. Preferentemente, el NT-proBNP humano como se usa en el presente documento es NT-proBNP humano como se desvela en el documento EP 0 648 228 B1. Estos documentos de la técnica anterior se incorporan en el presente documento por referencia con respecto a las secuencias específicas de NT-proBNP y variantes del mismo desveladas en el presente documento. El NT-proBNP al que se hace referencia de acuerdo con la presente invención incluye además variantes alélicas y otras variantes de dicha secuencia específica de NT-proBNP humano analizada anteriormente. Específicamente, se prevén polipéptidos variantes que son, a nivel de los aminoácidos, preferentemente, al menos un 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98% o 99% idénticos a NT-proBNP humano, preferentemente a lo largo de toda la longitud de NT-proBNP humano. El grado de identidad entre dos secuencias de aminoácidos puede determinarse como se ha descrito anteriormente. También se incluyen polipéptidos variantes que tienen deleciones, sustituciones y/o adicionales en comparación con la secuencia de aminoácidos de NT-proBNP humano siempre que dichos polipéptidos tengan propiedades de NT-proBNP. Las propiedades de NT-proBNP tal como se citan en el presente documento son propiedades inmunológicas y/o biológicas. Preferentemente, las variantes de NT-proBNP tienen propiedades inmunológicas (es decir, composición de epítipo) comparables a las de NT-proBNP humano. Por lo tanto, las variantes serán reconocibles por los medios o ligandos mencionados anteriormente usados para la determinación de la cantidad de los péptidos natriuréticos. Las propiedades biológicas y/o inmunológicas de NT-proBNP pueden detectarse por el ensayo descrito en Karl et al. (Karl 1999, Scand J Clin Lab Invest 230:177-181), Yeo et al. (Yeo 2003, Clinica Chimica Acta 338:107-115).

La expresión "factor de diferenciación del crecimiento-15" o "GDF-15" se refiere a un polipéptido que es un miembro de la superfamilia de citocinas del factor de crecimiento transformante (TGF). Los términos polipéptido, péptido y proteína se usan indistintamente a lo largo de esta memoria descriptiva. GDF-15 se clonó originalmente como citocina inhibidora de macrófagos 1 y también se identificó posteriormente como factor de crecimiento transformante placentario-15, proteína morfogenética ósea placentaria, gen 1 activado por antiinflamatorios no esteroideos y factor derivado de próstata (Bootcov, citado anteriormente; Hromas, 1997 Biochim Biophys Acta 1354:40-44; Lawton 1997, Gene 203:17-26; Yokoyama-Kobayashi 1997, J Biochem (Tokio), 122:622-626; Paralkar 1998, J Biol Chem 273:13760-13767). De forma similar a otras citocinas relacionadas con TGF, GDF-15 se sintetiza como una proteína precursora inactiva, que experimenta homodimerización con puentes disulfuro. Tras la escisión proteolítica del propéptido N terminal, GDF-15 se secreta como una proteína dimérica de ~28 kDa (Bauskin 2000, Embo J 19:2212-2220). Se desvelan secuencias de aminoácidos de GDF-15 en los documentos WO99/06445, WO00/70051, WO2005/113585, Bottner 1999, Gene 237: 105-111, Bootcov, citado anteriormente, Tan, citado anteriormente, Baek 2001, Mol Pharmacol 59: 901-908, Hromas, citado anteriormente, Paralkar, citado anteriormente, Morrish 1996, Placenta 17:431-441 o Yokoyama-Kobayashi, citado anteriormente. GDF-15, tal como se usa en el presente documento, también incluye variantes de los polipéptidos GDF-15 específicos mencionados anteriormente. Estas variantes tienen al menos las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales que los polipéptidos GDF-15 específicos. En particular, comparten las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales si se pueden detectar por los mismos ensayos específicos citados en esta memoria descriptiva, por ejemplo, mediante ensayos ELISA usando anticuerpos policlonales o monoclonales que reconocen específicamente dichos polipéptidos GDF-15. En los ejemplos adjuntos se describe un ensayo preferido. Además, debe tenerse en cuenta que una variante tal como se cita de acuerdo con la presente invención tendrá una secuencia de aminoácidos que difiere debido a al menos una sustitución, deleción y/o adición de aminoácidos, siendo aún la secuencia de aminoácidos de la variante, preferentemente, al menos aproximadamente un 50%, al menos aproximadamente un 60%, al menos aproximadamente un 70%, al menos aproximadamente un 80%, al menos aproximadamente un 85%, al menos aproximadamente un 90%, al menos aproximadamente un 92%, al menos aproximadamente un 95%, al menos aproximadamente un 97%, al menos aproximadamente un 98% o al menos aproximadamente un 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de los polipéptidos GDF-15 específicos, preferentemente a la secuencia de aminoácidos de GDF-15 humano, más preferentemente a lo largo de toda la longitud del GDF-15 específico, por ejemplo, de GDF-15 humano. El grado de identidad entre dos secuencias de aminoácidos puede determinarse como se ha descrito anteriormente. Las variantes citadas anteriormente pueden ser variantes alélicas o cualquier otro homólogo, parálogo u ortólogo específico de especie. Además, las variantes citadas en el presente documento incluyen fragmentos de los polipéptidos GDF-15 específicos o los tipos mencionados anteriormente de variantes, siempre que

estos fragmentos tengan las propiedades inmunológicas y biológicas esenciales citadas anteriormente. Estos fragmentos pueden ser, por ejemplo, productos de degradación de los polipéptidos GDF-15. También se incluyen variantes que difieren debido a modificaciones postraduccionales tales como fosforilación o miristilación.

5 El sistema de proteína de unión al factor de crecimiento insulínico (IGFBP) juega un papel importante en el crecimiento y la diferenciación celular. Comprende dos ligandos, IGF-I e IGF-II, dos receptores, receptores de IGF tipo 1 y tipo 2 y, a partir de 1995, seis proteínas de unión a IGF (IGFBP), IGFBP-1 a -6 (Jones, J.I., et al., *Endocr. Rev.* 16 (1995) 3-34). Recientemente, la familia de IGFBP se ha ampliado incluyendo las proteínas relacionadas con IGFBP (IGFBP-rP), que tienen similitudes estructurales significativas con las IGFBP (Hwa, V., et al., *Endocr. Rev.* 20 (1999) 761-787). Por lo tanto, la superfamilia de IGFBP incluye las seis IGFBP convencionales, que tienen alta afinidad por IGF y al menos 10 IGFBP-rP, que no solo comparten el dominio amino-terminal conservado de las IGFBP, sino que también muestran algún grado de afinidad por IGF e insulina. Las IGFBP-rP son un grupo de proteínas ricas en cisteína que controlan diversas funciones celulares, tales como el crecimiento celular, la adhesión celular y la migración y la síntesis de la matriz extracelular. Además, estas proteínas podrían estar implicadas en procesos biológicos tales como la proliferación y diferenciación celular, reproducción, angiogénesis, reparación de heridas, inflamación, fibrosis y tumorigénesis (Hwa, V., et al., *Endocr. Rev.* 20 (1999)761-787).

La proteína de unión a IGF 7 (= IGFBP7) es una glicoproteína modular de 30 kDa que se sabe que se secreta por células endoteliales, células del músculo liso vascular, fibroblastos y células epiteliales (Ono, Y., et al., *Biochem Biophys Res Comm* 202 (1994) 1490-1496). Esta molécula también se ha denominado en la bibliografía FSTL2; IBP 7; proteína I relacionada con la proteína de unión a IGF; IGFBP 7; IGFBP 7v; IGFBP rPI; IGFBP7; IGFBPRP1; proteína 7 de unión a factor de crecimiento insulínico; precursor de proteína 7 de unión a factor de crecimiento insulínico; MAC25; proteína MAC25; factor estimulador de PGI2; y PSF o factor estimulante de prostaciclina. Ciertos estudios de Northern revelaron una amplia expresión de este gen en tejidos humanos, incluyendo corazón, cerebro, placenta, hígado, músculo esquelético y páncreas (Oh, Y., et al., *J. Biol. Chem.* 271 (1996) 30322-30325).

IGFBP7 se identificó inicialmente como un gen expresado de manera diferencial en células epiteliales mamarias y leptomeníngicas normales, en comparación con sus células tumorales homólogas y se denominó ADNc asociado con meningioma (MAC25) (Burger, A.M., et al., *Oncogene* 16 (1998) 2459-2467). La proteína expresada se purificó independientemente como un factor de adhesión derivado de tumor (redenominado posteriormente angiomodulina) (Sprenger, C.C., et al., *Cancer Res* 59 (1999) 2370-2375) y como un factor estimulante de prostaciclina (Akaogi, K., et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 93 (1996) 8384-8389). Se ha presentado adicionalmente como T1AI2, un gen regulado negativamente en carcinomas de mama (StCroix, B., et al., *Science* 289 (2000) 1197-1202).

35 Se midió la expresión diferencial del ARNm de IGFBP7 en pacientes que padecían diversas enfermedades, incluyendo enfermedad cardíaca, enfermedad renal, enfermedades inflamatorias (documento US 6.709.855 de Scios Inc.) y enfermedad vascular de injerto (documento US 2006/0.003.338).

Se han descrito y usado varios ensayos diferentes para ensayar las propiedades de unión a hormonas de IGFBP7. La unión de IGF de baja afinidad se analizó mediante ensayos de afinidad de unión cruzada competitivos. La proteína mac25 humana recombinante se une específicamente a IGF-I y a IGF-II (Oh, Y., et al., *J. Biol. Chem.* 271 (1996) 20322-20325; Kim, H.S., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 94 (1997) 12981-12986.) La actividad de IGFBP también puede detectarse midiendo la capacidad de la proteína de unirse a IGF radiomarcado en transferencia de Western de ligando.

Preferentemente, el término "IGFBP7" se refiere a IGFBP7 humano. La secuencia de la proteína es bien conocida en la técnica y está accesible, por ejemplo, a través del GenBank (NP_001240764.1). IGFBP7, tal como se usa en el presente documento, preferentemente, incluye también variantes de los polipéptidos IGFBP7 específicos. Como explicación del término "variantes", véase anteriormente.

Recientemente se ha realizado la determinación inmunológica de IGFBP7 circulante. Se detectaron bajos niveles de este analito en sueros humanos aleatorios y se han observado niveles séricos aumentados en asociación con la resistencia a la insulina (Lopez-Bermejo, A., et al., *J. Clinical Endocrinology and Metabolism* 88 (2003) 3401-3408, Lopez-Bermejo, A., et al., *Diabetes* 55 (2006) 2333-2339).

La expresión "troponina cardíaca" incluye también variantes de las troponinas específicas mencionadas anteriormente, es decir, preferentemente, de la troponina I y, más preferentemente, de la troponina T. Estas variantes tienen al menos las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales que las troponinas cardíacas específicas. En particular, comparten las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales si se pueden detectar por los mismos ensayos específicos citados en esta memoria descriptiva, por ejemplo, mediante ensayos ELISA usando anticuerpos policlonales o monoclonales que reconocen específicamente dichas troponinas cardíacas. Además, debe tenerse en cuenta que una variante tal como se cita de acuerdo con la presente invención tendrá una secuencia de aminoácidos que difiere debido a al menos una sustitución, delección y/o adición de aminoácidos, siendo aún la secuencia de aminoácidos de la variante, preferentemente, al menos aproximadamente un 50%, al menos aproximadamente un 60%, al menos aproximadamente un 70%, al menos aproximadamente un 80%, al menos aproximadamente un 85%, al menos aproximadamente un 90%, al menos aproximadamente un 92%,

al menos aproximadamente un 95%, al menos aproximadamente un 97%, al menos aproximadamente un 98% o al menos aproximadamente un 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la troponina específica. Las variantes pueden ser variantes alélicas o cualquier otro homólogo, parólogo u ortólogo específico de especie. Además, las variantes citadas en el presente documento incluyen fragmentos de las troponinas cardíacas específicas o los tipos mencionados anteriormente de variantes, siempre que estos fragmentos tengan las propiedades inmunológicas y biológicas esenciales citadas anteriormente. Preferentemente, las variantes de troponina cardíaca tienen propiedades inmunológicas (es decir, composición de epítipo) comparables a las de la troponina I o troponina T humana. Por lo tanto, las variantes serán reconocibles por los medios o ligandos mencionados anteriormente usados para la determinación de la concentración de las troponinas cardíacas. Por lo tanto, las variantes serán reconocibles por los medios o ligandos mencionados anteriormente usados para la determinación de la concentración de las troponinas cardíacas. Estos fragmentos pueden ser, por ejemplo, productos de degradación de troponinas. También se incluyen variantes que difieren debido a modificaciones postraduccionales tales como fosforilación o miristilación. Preferentemente, la propiedad biológica de la troponina I y su variante es la capacidad de inhibir la ATPasa de la actomiosina o de inhibir la angiogénesis *in vivo* e *in vitro*, que puede detectarse, por ejemplo, basándose en el ensayo descrito por Moses et al. 1999 PNAS USA 96 (6): 2645-2650). Preferentemente, la propiedad biológica de la troponina T y su variante es la capacidad de formar un complejo con la troponina C e I, para unirse a iones de calcio o para unirse a tropomiosina, preferentemente si está presente como un complejo de troponina C, I y T o un complejo formado por troponina C, troponina I y una variante de troponina T. Se sabe que pueden detectarse bajas concentraciones de troponina cardíaca circulante en sujetos en diversas condiciones, pero se necesitan estudios adicionales para entender su papel e índice respectivos (Masson et al., Curr Heart Fail Rep (2010) 7:15-21).

El marcador endostatina es bien conocido en la técnica. La endostatina se aisló originalmente del hemangioendotelioma murino como un fragmento proteolítico de 20 kDa de colágeno de tipo XVIII (O'Reilly, M.S. et al., Cell 88 (1997) 277-285). Los colágenos representan una familia de proteínas de la matriz extracelular con una conformación de triple hélice característica que forma agregados supra-moleculares que juegan un papel dominante en el mantenimiento de la integridad estructural de los tejidos. Una deposición excesiva de colágeno conduce a fibrosis, que altera el funcionamiento normal de los tejidos circundantes. El colágeno XVIII es un miembro de la familia Multiplexin de colágenos con múltiples interrupciones en el dominio central de triple hélice y un solo dominio sin triple hélice en el extremo C principalmente en membranas basales. La secuencia de la isoforma corta de la cadena alfa 1 de tipo humano del colágeno XVIII (SwissProt: P39060) se desvela, por ejemplo, en el documento WO2010/124821 que se incorpora en el presente documento por referencia con respecto a todo el contenido de la divulgación.

La endostatina se libera de la cadena alfa 1 del colágeno XVIII por la acción de diversas enzimas proteolíticas (véanse los detalles en Ortega, N. y Werb, Z., Journal of Cell Science 115 (2002) 4201-4214 - la divulgación completa de este documento se incorpora en el presente documento por referencia). La endostatina como se usa en el presente documento se representa por el fragmento de colágeno XVIII que abarca desde la posición de aminoácido 1337 hasta la posición de aminoácido 1519 del colágeno XVIII, como se desvela en el documento WO2010/124821. La región de bisagra en el extremo C de la cadena alfa del colágeno XVIII contiene varios sitios sensibles a proteasas y se sabe que varias enzimas, incluyendo la elastasa de neutrófilos, catepsinas y metaloproteinasas de matriz generan endostatina al escindir la cadena de colágeno en esta región. Estas proteasas no liberan exclusivamente endostatina, sino que también pueden liberar otros fragmentos de mayor tamaño que contienen la secuencia de endostatina. Como será evidente para el experto en la materia, dichos fragmentos de mayor tamaño también se medirán por un inmunoensayo para endostatina.

La osteopontina (también denominada en el presente documento "OPN"), también conocida como sialoproteína ósea I (BSP-1 o BNSP), activación temprana de los linfocitos T (ETA-1), fosfoproteína secretada 1 (SPP1), 2ar y resistencia a Rickettsia (Ric), es un polipéptido que es una proteína de la matriz extracelular con alta carga negativa que carece de una estructura secundaria extensa. Está compuesta por aproximadamente 300 aminoácidos (297 en ratón; 314 en seres humanos) y se expresa como una proteína naciente de 33 kDa; también hay sitios de escisión funcionalmente importantes. La OPN puede experimentar modificaciones postraduccionales que aumentan su peso molecular aparente a aproximadamente 44 kDa. La secuencia de la osteopontina es bien conocida en la técnica (osteopontina humana: UniProt P10451, GenBank NP_000573.1) La osteopontina se encuentra en el plasma normal, orina, leche y bilis (documentos US 6.414.219; US 5.695.761; Denhardt, D.T. y Guo, X., FASEB J. 7 (1993) 1475-1482; Oldberg, A., et al., PNAS 83 (1986) 8819-8823; Oldberg, A., et al., J. Biol. Chem. 263 (1988) 19433-19436; Giachelli, CM., et al., Trends Cardiovasc. Med. 5 (1995) 88-95). La proteína OPN humana y el ADNc se han aislado y secuenciado (Kiefer M. C, et al., Nucl. Acids Res. 17 (1989) 3306). La OPN funciona en la adhesión celular, quimiotaxis, e interleucina-10 dirigida a macrófagos. Se sabe que la OPN interacciona con varios receptores de integrina. Se ha notificado una expresión aumentada de OPN en varios cánceres humanos y se han identificado sus receptores afines (integrinas av-b3, av-b5 y av-b1 y CD44). Ciertos estudios *in vitro* de Irby, R.B., et al., Clin. Exp. Metastasis 21 (2004) 515-523 indican que tanto la expresión endógena de OPN (mediante transfección estable) como la OPN exógena (añadida el medio de cultivo) aumentaban la motilidad y capacidad invasiva de células cancerosas de colon humano *in vitro*.

La endostatina es un potente inhibidor de la angiogénesis y del desarrollo de vasos sanguíneos. No se ha determinado la relación entre las redes de endostatina y citocina, pero se sabe que la endostatina puede alterar la expresión de una amplia serie de genes (Abdollahi, A. et al., Mol. Cell 13 (2004) 649-663).

5 La endostatina, tal como se usa en el presente documento, preferentemente, incluye también variantes de los polipéptidos de endostatina específicos. Como explicación del término "variantes", véase anteriormente.

Mimecan es un pequeño proteoglicano con repeticiones ricas en leucina y un precursor que comprende 298 aminoácidos. Otros nombres de mimecan son OGN, osteoglicina, OG, OIF, SLRR3A.

10 Mimecan es un miembro de la familia de proteoglicanos ricos en leucina pequeños secretados (SLRP) con proteínas nucleares relacionadas estructuralmente. La característica común compartida por todos los SLRP son las unidades de repetición ricas en leucina en tándem (LRR) en la mitad C-terminal de la proteína nuclear. En la región N-terminal, sin embargo, cada clase de SLRP tiene un dominio único que contiene un agrupamiento de cisteína con separación conservada denominado dominio N de LRR. Los SLRP de clase III contienen seis carboxil LRR e incluyen mimecan, 15 epifican y opticina.

Ciertos estudios funcionales de knockouts de ratón para miembros de clase I y II, tales como decorina, biglicano, lumecan y fibromodulina, mostraron que los ratones con deficiencia de SLRP presentaban una serie de defectos atribuibles a una fibrillogénesis anómala del colágeno, lo que sugiere que estos SLRP juegan papeles importantes 20 en el establecimiento y mantenimiento de la matriz de colágeno (Ameys, L. y Young, M.F., Glycobiology 12 (2002) 107R-116R). La deficiencia de mimecan de clase III también producía anomalías en las fibrillas de colágeno (Tasheva, E.S. et al., Mol. Vis. 8 (2002) 407-415).

El mimecan es un componente multifuncional de la matriz extracelular. Se une a una diversidad de proteínas distintas (IGF2, IKBKG, IFNBI, INSR, CHUK, IKBKB, NFKBIA, ILI 5, Cd3, ácido retinoico, APP, TNF, lipopolisacárido, 25 oncogén c-abl 1, tirosina quinasa receptora, oncogén v-src del virus del sarcoma). Estas diversas actividades de unión pueden explicar la capacidad del mimecan de ejercer diversas funciones en muchos tejidos.

Se ha encontrado mimecan en la córnea, hueso, piel y otros tejidos. Su patrón de expresión está alterado en 30 diferentes situaciones patológicas. A pesar de la creciente cantidad de datos sobre el papel biológico del mimecan, aún no está clara su función. Se ha demostrado que el mimecan está implicado en la regulación de la fibrillogénesis del colágeno, un proceso esencial en el desarrollo, reparación de tejidos y metástasis (Tasheva et al., Mol. Vis. 8 (2002) 407-415). Interviene en la formación del hueso junto con el TGF-beta-1 o TGF-beta-2.

35 La secuencia del polipéptido mimecan humano es bien conocida en la técnica y puede evaluarse, por ejemplo, mediante el número de registro del GenBank NP_054776.1 GI:7661704. Además, la secuencia se desvela en el documento WO2011/012268. El mimecan, tal como se usa en el presente documento, preferentemente, incluye también variantes de los polipéptidos de mimecan específicos. Como explicación del término "variantes", véase 40 anteriormente. En el contexto de la presente invención, el mimecan se determina preferentemente como se describe en el documento WO2011/012268.

La expresión "Flt-1 soluble" o "sFlt-1" (tirosina quinasa-1 tipo fms soluble), tal como se usa en el presente documento, se refiere a un polipéptido que es una forma soluble del receptor de VEGF Flt1. Se identificó en medio 45 de cultivo acondicionado de células endoteliales de vena umbilical humana. El receptor Flt1 soluble (sFlt1) endógeno es cromatográficamente e inmunológicamente similar a sFlt1 humano recombinante y se une a [125I] VEGF con una alta afinidad comparable. Se ha mostrado que sFlt1 humano forma un complejo estabilizado por VEGF con el dominio extracelular de KDR/Fik-1 *in vitro*. Preferentemente, sFlt1 se refiere a sFlt1 humano. Más preferentemente, el sFlt1 humano puede deducirse a partir de la secuencia de aminoácidos de Flt-1 como se muestra en el número de referencia de GenBank P17948, GI: 125361. La secuencia de aminoácidos de sFlt1 de ratón se muestra en el 50 número de referencia de GenBank BAA24499.1, GI: 2809071.

El término "sFlt-1" usado en el presente documento también incluye variantes del polipéptido sFlt-1 específico mencionado anteriormente. Estas variantes tienen al menos las mismas propiedades biológicas e inmunológicas 55 esenciales que el polipéptido sFlt-1 específico. En particular, comparten las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales si se pueden detectar por los mismos ensayos específicos citados en esta memoria descriptiva, por ejemplo, mediante ensayos ELISA usando anticuerpos policlonales o monoclonales que reconocen específicamente dichos polipéptidos sFlt-1. Como explicación más detallada del término "variantes", véase anteriormente.

60 El término "PlGF" (Factor de Crecimiento Placentario), tal como se usa en el presente documento, se refiere a un factor de crecimiento derivado de placenta que es un polipéptido de 149 aminoácidos de longitud y tiene una alta homología (53% de identidad) con la región similar al factor de crecimiento derivado de plaquetas del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Al igual que VEGF, PlGF tiene actividad angiogénica *in vitro* e *in vivo*. Por ejemplo, la caracterización bioquímica y funcional de PlGF derivado de células COS-1 transfectadas reveló que es 65 una proteína dimérica glicosilada secretada capaz de estimular el crecimiento de células endoteliales *in vitro* (Maqilone1993, Oncogene 8(4):925-31). Preferentemente, PlGF se refiere a PlGF humano, más preferentemente, a

PIGF humano que tiene una secuencia de aminoácidos como la mostrada en el número de referencia del GenBank P49763, GI: 17380553 (GenBank está disponible en el NCBI, Estados Unidos en www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez).

5 En el contexto del método de la presente invención, en particular, se prevé que se determinan las cantidades de péptidos o polipéptidos humanos.

10 El ácido úrico es el producto final del metabolismo de purina en el organismo de un sujeto. El nombre de la IUPAC es 7,9-dihidro-3H-purina-2,6,8-triona. El compuesto también se denomina con frecuencia urato, ácido lítico, 2,6,8-trioxipurina, 2,6,8-trihidroxipurina, 2,6,8-trioxipurina, 1H-purina-2,6,8-triol (compuesto de fórmula $C_5H_4N_4O_3$, PubChem CID 1175, Número de CAS 69-93-2).

15 Se usan mediciones de ácido úrico en el diagnóstico y tratamiento de numerosos trastornos renales y metabólicos, incluyendo la insuficiencia renal, gota, leucemia, psoriasis, inanición u otras situaciones de desgaste y de pacientes que reciben fármacos citotóxicos. La oxidación del ácido úrico proporciona la base de dos enfoques para la determinación cuantitativa de este metabolito de purina. Un enfoque es la reducción de ácido fosfotúngstico en una solución alcalina produciendo azul de tungsteno, que se mide fotométricamente. Un segundo enfoque, descrito por Praetorius y Poulson, utiliza la enzima uricasa para oxidar ácido úrico; este método elimina las interferencias intrínsecas a la oxidación química (Praetorius E, Poulsen H. *Enzymatic Determination of Uric Acid with Detailed Directions*. *Scandinav J Clin Lab Investigation* 1953;3:273-280). La uricasa puede emplearse en métodos que implican la medición UV del consumo de ácido úrico o en combinación con otras enzimas para proporcionar un ensayo colorimétrico. Otro método es el método colorimétrico desarrollado por Town et al. (Town MH, Gehm S, Hammer B, Ziegenhorn J. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985;23:591). La muestra se incuba inicialmente con una mezcla reactiva que contiene ascorbato oxidasa y un sistema de eliminación. En este sistema de ensayo, es importante que en la reacción preliminar se elimine todo el ácido ascórbico presente en la muestra; esto impide cualquier interferencia del ácido ascórbico con la posterior reacción de indicador POD. Tras la adición del reactivo iniciador, comienza la oxidación de ácido úrico por uricasa.

20 En el contexto de la presente invención, el ácido úrico puede determinarse por cualquier método considerado apropiado. Preferentemente, el biomarcador se determina por los métodos mencionados anteriormente. Más preferentemente, el ácido úrico se determina aplicando una ligera modificación del método colorimétrico descrito anteriormente. En la presente reacción, el peróxido reacciona en presencia de peroxidasa (POD), N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilnilina (TOOS) y 4-aminofenazona formando un colorante de quinona-diimina. La intensidad del color rojo formado es proporcional a la concentración de ácido úrico y se determina fotométricamente.

30 La Galectina-3 (Gal-3) es un miembro estructuralmente único de una familia de lectinas de unión a beta-galactósido. La expresión de galectina-3 se ha asociado con el epitelio y células inflamatorias entre las que se incluyen macrófagos, neutrófilos y mastocitos. La galectina-3 se ha implicado en una diversidad de procesos biológicos importantes en la insuficiencia cardíaca, entre los que se incluyen la proliferación de fibroblastos, fibrogénesis, reparación de tejidos, remodelación cardíaca e inflamación. La galectina-3 tiene aproximadamente 30 kDa y, al igual que todas las galectinas, contiene un dominio de unión de reconocimiento de carbohidratos (CRD) de aproximadamente 130 aminoácidos que permite la unión específica de β -galactósidos. La galectina-3 se codifica por un solo gen, LGALS3. Comprende un dominio N-terminal con repeticiones en tándem de segmentos de aminoácidos cortos (un total de 110-130 aminoácidos) unidos a un solo CRD C-terminal de aproximadamente 130 aminoácidos. Se expresa en el núcleo, citoplasma, mitocondrias, superficie celular y espacio extracelular. Se ha demostrado que esta proteína está implicada en los siguientes procesos biológicos: adhesión celular, activación celular y quimioatracción, crecimiento y diferenciación celular, ciclo celular y apoptosis. Se han observado niveles elevados de galectina-3 asociados significativamente con un mayor riesgo de muerte tanto en poblaciones con insuficiencia cardíaca crónica como con insuficiencia cardíaca descompensada aguda (véase, por ejemplo, DeFilippi C, Christenson R, Shah R, et al. (2009). *Clinical validation of a novel assay for galectin-3 for risk assessment in acutely destabilized heart failure*).

50 La secuencia proteica de la Galectina-3 es bien conocida en la técnica, véase, por ejemplo, el número de referencia de UniProt P17931 (versión 5, 25 de noviembre de 2008), número de referencia de GenBank NP_002297.2 NM_002306.3.

55 ST2 es un miembro de la familia de receptores de IL-1 que se produce por fibroblastos cardíacos y cardiomiocitos en condiciones de estrés mecánico. ST2 es un miembro de la familia de receptores de interleucina-1 y existe tanto en una isoforma unida a la membrana como en una isoforma soluble (sST2). En el contexto de la presente invención, se determinará la cantidad de ST2 soluble (véase Dieplinger et al. (*Clinical Biochemistry*, 43, 2010: 1169 a 1170). ST2 también se conoce como receptor de interleucina 1 tipo 1 o IL1RL1, está codificado en seres humanos por el gen IL1RL1. La secuencia del polipéptido ST2 humano es bien conocida en la técnica y está accesible, por ejemplo, a través del GenBank, véase NP_003847.2 GI:27894328. Se cree que ST2 soluble (sST2) actúa como un receptor señuelo por unión a IL-33 y supresión del efecto cardioprotector de otra manera de la señalización de IL-33 a través de la forma de ST2 unida a la membrana celular.

65

El marcador cistatina C es bien conocido en la técnica. La cistatina C se codifica por el gen CST3 y se produce por todas las células nucleadas a un índice constante y el índice de producción en seres humanos es destacadamente constante a lo largo de toda la vida. La eliminación de la circulación es casi completamente a través de filtración glomerular. Por esta razón, la concentración sérica de cistatina C es independiente de la masa muscular y del sexo en el intervalo de edades de 1 a 50 años. Por lo tanto, se ha propuesto la cistatina C en plasma y suero como un marcador más sensible para GFR. La secuencia del polipéptido de cistatina C humano puede evaluarse mediante el GenBank (véase, por ejemplo, el número de referencia NP_000090.1). El biomarcador puede determinarse por un ensayo inmunturbidimétrico mejorado con partículas. La cistatina C humana se aglutina con partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-cistatina C. El agregado se determina turbidimétricamente.

El marcador prealbúmina es bien conocido por el experto en la materia. Es una proteína rica en triptófano que se sintetiza en los hepatocitos y tiene una masa molar de 55000 Dalton. A un pH de 8,6, aparece una banda electroforética antes de la albúmina en una cantidad relativa de < 2,5 % debido a su mayor índice de difusión al ánodo. Su función es unirse y transportar proteínas de unión a retinol de bajo peso molecular (masa molar menor de 21000 Dalton), impidiendo su filtración glomerular. el 30-50 % de la prealbúmina circulante forma complejos con la proteína de unión al retinol. Además, se une a y transporta tiroxina (T4), aunque su afinidad por esta hormona es menor que la de la globulina de unión a tiroxina. La secuencia del polipéptido de prealbúmina humano puede evaluarse mediante el GenBank (véase, por ejemplo, el número de referencia NP_000362.1). Se dispone de varios métodos para la determinación de prealbúmina, tales como inmunodifusión radial (RID), nefelometría y turbidimetría.

la transferrina (también denominada con frecuencia serotransferrina o globulina Beta-1 de unión a metales) es una glicoproteína con un peso molecular de aproximadamente 79570 Dalton. Consiste en una cadena polipeptídica con dos cadenas de oligosacárido unidas por enlaces N-glucosídicos. Las transferrinas son proteínas de transporte de unión al hierro que pueden unirse a dos iones de Fe³⁺ en asociación con la unión de un anión, normalmente bicarbonato. Se dispone de una diversidad de métodos para determinar la transferrina, incluyendo inmunodifusión radial, nefelometría y turbidimetría. La secuencia de la transferrina es bien conocida en la técnica, véase, por ejemplo, Schaeffer et al. Gene 56:109-116(1987) o el número de referencia de UniProt P02787, en particular, la versión 178).

P1NP (propéptido N-terminal de procolágeno tipo 1) es un marcador para la formación de hueso. Es un indicador específico de la deposición de colágeno de tipo 1. Se libera como una estructura trimérica, pero se degrada a un monómero. Preferentemente, se mide la cantidad total de P1NP (propéptido N-terminal de procolágeno tipo 1 total).

La determinación de la cantidad de un péptido o propéptido citado en esta memoria descriptiva, en particular de GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, un péptido de tipo BNP, Gal3 (Galectina-3), sST2 (ST2 soluble), sFlt-1, PIGF, P1NP, cistatina C o prealbúmina, se refiere a la medición de la cantidad o concentración, preferentemente, semicuantitativa o cuantitativamente. La medición puede realizarse directa o indirectamente.

En el presente documento se ha descrito anteriormente cómo determinar la cantidad de ácido úrico. Si el biomarcador es un péptido o un polipéptido tal como GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Gal3 (Galectina-3), sST2 (ST2 soluble), sFlt-1, P1GF, P1NP, cistatina C o prealbúmina, se aplica lo siguiente:

La medición directa se refiere a la medición de la cantidad o concentración del péptido o polipéptido basada en una señal que se obtiene del propio péptido o polipéptido y cuya intensidad se correlaciona directamente con el número de moléculas del péptido presentes en la muestra. Dicha señal, citada algunas veces en el presente documento como señal de identidad, puede obtenerse, por ejemplo, midiendo un valor de intensidad de una propiedad física o química específica del péptido o polipéptido. La medición indirecta incluye la medición de una señal obtenida a partir de un componente secundario (es decir, un componente que no es el propio péptido o polipéptido) o un sistema de lectura biológico, por ejemplo, respuestas celulares medibles, ligandos, marcadores o productos de reacciones enzimáticas.

De acuerdo con la presente invención, la determinación de la cantidad de un péptido o polipéptido puede conseguirse por todos los medios conocidos para determinar la cantidad de un péptido en una muestra. Dichos medios comprenden inmunoensayos y métodos que pueden utilizar moléculas marcadas en diversos formatos de ensayos de sándwich, competición u otros ensayos. Dichos ensayos, preferentemente, se basan en la detección de agentes tales como anticuerpos que reconocen específicamente el péptido o polipéptido a determinar. Los agentes de detección serán capaces directa o indirectamente de generar una señal que indique la presencia o ausencia del péptido o polipéptido. Además, la fuerza de la señal, preferentemente, puede correlacionarse directa o indirectamente (por ejemplo, de forma inversamente proporcional) con la cantidad del polipéptido presente en una muestra. Otros métodos adecuados comprenden medir una propiedad física o química específica para el péptido o polipéptido tal como su masa molecular precisa o espectro de RMN. Dichos métodos comprenden, preferentemente, biosensores, dispositivos ópticos acoplados a inmunoensayos, biochips, dispositivos analíticos tales como espectrómetros de masas, analizadores de RMN o dispositivos de cromatografía. Además, los métodos incluyen métodos basados en ELISA de microplaca, inmunoensayos completamente automáticos o robóticos (disponibles,

por ejemplo, en analizadores Elecsys™), CBA (un ensayo enzimático de unión a cobalto, disponible, por ejemplo, en analizadores Roche-Hitachi™) y ensayos de aglutinación de látex (disponibles, por ejemplo, en analizadores Roche-Hitachi™).

5 Preferentemente, la determinación de la cantidad de un péptido o propéptido comprende las etapas de (a) poner en contacto una célula capaz de inducir una respuesta celular cuya intensidad es indicativa de la cantidad del péptido o polipéptido, con dicho péptido o polipéptido durante un periodo de tiempo adecuado, (b) medir la respuesta celular. Para medir las respuestas celulares, la muestra o muestra procesada, preferentemente, se añade a un cultivo celular y se mide una respuesta celular interna o externa. La respuesta celular puede incluir la expresión medible de un gen
10 indicador o la secreción de una sustancia, por ejemplo, un péptido, polipéptido o una molécula pequeña. La expresión o sustancia generará una señal de intensidad que se correlaciona con la cantidad del péptido o polipéptido.

15 También preferentemente, la determinación de la cantidad de un péptido o polipéptido comprende la etapa de medir una señal de intensidad específica obtenible a partir del péptido o polipéptido en la muestra. Tal como se ha descrito anteriormente, dicha señal puede ser la intensidad de la señal observada a una variable m/z específica para el péptido o polipéptido observado en espectros de masas o un espectro de RMN específico para el péptido o polipéptido.

20 La determinación de la cantidad de un péptido o polipéptido, preferentemente, puede comprender las etapas de (a) poner en contacto el péptido con un ligando específico, (b) (opcionalmente) retirar el ligando no unido, (c) medir la cantidad de ligando unido.

De acuerdo con una realización preferida, dichas etapas de puesta en contacto, retirada y medición pueden realizarse por una unidad analizadora del sistema desvelado en el presente documento. De acuerdo con algunas realizaciones, dichas etapas pueden realizarse por una sola unidad analizadora de dicho sistema o por más de una unidad analizadora en comunicación operativa entre sí. Por ejemplo, de acuerdo con una realización específica, dicho sistema desvelado en el presente documento puede incluir una primera unidad analizadora para realizar dichas etapas de puesta en contacto y retirada y una segunda unidad analizadora, conectada operativamente a dicha primera unidad analizadora por una unidad de transporte (por ejemplo, un brazo robótico), que realiza dicha etapa de medición.

El ligando unido, en particular el ligando o el complejo de péptido/ligando, generará una señal de intensidad. La unión de acuerdo con la presente invención incluye tanto unión covalente como no covalente. Un ligando de acuerdo con la presente invención puede ser cualquier compuesto, por ejemplo, un péptido, polipéptido, ácido nucleico o molécula pequeña, que se une al péptido o polipéptido descrito en el presente documento. Los ligandos preferidos incluyen anticuerpos, ácidos nucleicos, péptidos o polipéptidos tales como receptores o compañeros de unión para el péptido o polipéptido y fragmentos de los mismos que comprenden los dominios de unión para los péptidos y aptámeros, por ejemplo, aptámeros de péptido o ácido nucleico. En la técnica son bien conocidos métodos para preparar dichos ligandos. Por ejemplo, también se ofrece por proveedores comerciales la identificación y producción de anticuerpos o aptámeros adecuados. El experto en la materia estará familiarizado con métodos para desarrollar derivados de dichos ligandos con mayor afinidad o especificidad. Por ejemplo, pueden introducirse mutaciones aleatorias en los ácidos nucleicos, péptidos o polipéptidos. Estos derivados después pueden ensayarse con respecto a la unión de acuerdo con procedimientos de exploración conocidos en la técnica, por ejemplo, presentación en fagos. Los anticuerpos citados en el presente documento incluyen anticuerpos tanto policlonales como monoclonales, así como fragmentos de los mismos, tales como fragmentos Fv, Fab y F(ab)₂ que son capaces de unirse a un antígeno o hapteno. La presente invención también incluye anticuerpos monocatenarios y anticuerpos híbridos humanizados en donde las secuencias de aminoácidos de un anticuerpo donador no humano que presenta una especificidad de antígeno deseada se combinan con secuencias de un anticuerpo aceptor humano. Las secuencias donadoras normalmente incluirán al menos los restos de aminoácido de unión a antígeno del donador, pero también pueden comprender otros restos de aminoácido estructural y/o funcionalmente relevantes del anticuerpo donador. Dichos híbridos pueden prepararse por varios métodos bien conocidos en la técnica. Preferentemente, el ligando o agente se une específicamente al péptido o polipéptido. La unión específica de acuerdo con la presente invención significa que el ligando o agente no se une sustancialmente a ("presenta reacción cruzada" con) otro péptido, polipéptido o sustancia presente en la muestra a analizar. Preferentemente, el péptido o polipéptido unido específicamente se unirá con una afinidad al menos 3 veces mayor, más preferentemente al menos 10 veces mayor e incluso más preferentemente al menos 50 veces mayor que cualquier otro péptido o polipéptido relevante. La unión no específica puede ser tolerable, si aún puede distinguirse y medirse de manera inequívoca, por ejemplo, de acuerdo con su tamaño en una transferencia de Western o por su abundancia relativamente mayor en la muestra. La unión del ligando puede medirse mediante cualquier método conocido en la técnica. Preferentemente, dicho método es semicuantitativo o cuantitativo. A continuación se describen otras técnicas adecuadas para la determinación de un polipéptido o péptido.

En primer lugar, la unión de un ligando puede medirse directamente, por ejemplo, mediante RMN o resonancia de plasmón superficial. La medición de la unión de un ligando, de acuerdo con realizaciones preferidas, se realiza por una unidad analizadora de un sistema desvelado en el presente documento. Posteriormente, puede calcularse la

cantidad de la unión medida mediante un dispositivo informático de un sistema desvelado en el presente documento. En segundo lugar, si el ligando también sirve como sustrato de una actividad enzimática del péptido o polipéptido de interés, puede medirse un producto de reacción enzimática (por ejemplo, puede medirse la cantidad de una proteasa midiendo la cantidad de sustrato escindido, por ejemplo, en una transferencia de Western). Como alternativa, el

 5 ligando puede presentar propiedades enzimáticas por sí mismo y el complejo de "ligando/péptido o polipéptido" o el ligando que se unió al péptido o polipéptido, respectivamente, puede ponerse en contacto con un sustrato adecuado permitiendo la detección por la generación de una señal de intensidad. Para la medición de productos de reacción enzimática, preferentemente la cantidad de sustrato es saturante. El sustrato también puede marcarse con un

 10 marcador detectable antes de la reacción. Preferentemente, la muestra se pone en contacto con el sustrato durante un periodo de tiempo adecuado. Un periodo de tiempo adecuado se refiere al tiempo necesario para producir una cantidad detectable, preferentemente medible, de producto. En lugar de medir la cantidad de producto, puede medirse el tiempo necesario para la aparición de una cantidad de producto dada (por ejemplo, detectable). En tercer

 15 lugar, el ligando puede acoplarse covalente o no covalentemente a un marcador que permita la detección y medición del ligando. El marcaje puede realizarse por métodos directos o indirectos. El marcaje directo implica el acoplamiento del marcador directamente (covalente o no covalentemente) al ligando. El marcaje indirecto implica la unión (covalente o no covalentemente) de un ligando secundario al primer ligando. El ligando secundario se uniría

 20 específicamente al primer ligando. Dicho ligando secundario puede acoplarse con un marcador adecuado y/o ser la diana (receptor) del ligando terciario que se une al ligando secundario. El uso de ligandos secundarios, terciarios o incluso de orden superior se usa con frecuencia para aumentar la señal. Los ligandos secundarios y de orden superior adecuados pueden incluir anticuerpos, anticuerpos secundarios y el sistema estreptavidina-biotina bien conocido (Vector Laboratories, Inc.). El ligando o sustrato también puede "etiquetarse" con una o más etiquetas

 25 como se conoce en la técnica. Dichas etiquetas pueden ser dianas para ligandos de orden superior. Las etiquetas adecuadas incluyen biotina, digoxigenina, His-Tag, glutatión-S-transferasa, FLAG, GFP, myc-tag, hemaglutinina del virus de la gripe A (HA), proteína de unión a maltosa y similares. En el caso de un péptido o polipéptido, la etiqueta preferentemente está en el extremo N y/o el extremo C. Los marcadores adecuados son cualquier marcador detectable por un método de detección apropiado. Los marcadores típicos incluyen partículas de oro, perlas de látex,

 30 éster de acridano, luminol, rutenio, marcadores activos enzimáticamente, marcadores radiactivos, marcadores magnéticos ("por ejemplo, perlas magnéticas", incluyendo marcadores paramagnéticos y superparamagnéticos) y marcadores fluorescentes. Los marcadores activos enzimáticamente incluyen, por ejemplo, peroxidasa de rábano

 35 picante, fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa, luciferasa y derivados de los mismos. Los sustratos adecuados para la detección incluyen di-amino-bencidina (DAB), 3,3'-5,5'-tetrametilbenzidina, NBT-BCIP (cloruro de 4-nitro azul tetrazolio y 5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato, disponible como una solución madre lista para el uso en Roche Diagnostics), CDP-Star™ (Amersham Biosciences), ECF™ (Amersham Biosciences). Una combinación adecuada de enzima-sustrato puede dar como resultado un producto de reacción coloreado, fluorescencia o luminiscencia, que

 40 pueden medirse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica (por ejemplo, usando una película sensible a la luz o un sistema de cámara adecuado). En cuanto a la medición de la reacción enzimática, se aplican de manera análoga los criterios proporcionados anteriormente. Los marcadores fluorescentes típicos incluyen proteínas fluorescentes (tales como GFP y sus derivados), Cy3, Cy5, Rojo Texas, fluoresceína y colorantes Alexa (por ejemplo, Alexa 568). Otros marcadores fluorescentes están disponibles, por ejemplo, en Molecular Probes (Oregon).

 45 También se contempla el uso de puntos cuánticos como marcadores de fluorescencia. Los marcadores radiactivos típicos incluyen ³⁵S, ¹²⁵I, ³²P, ³³P y similares. Un marcador radiactivo puede detectarse por cualquier método conocido y apropiado, por ejemplo, una película sensible a la luz o un Phosphorimager. Los métodos de medición adecuados de acuerdo con la presente invención también incluyen precipitación (particularmente

 50 inmunoprecipitación), electroquimioluminiscencia (quimioluminiscencia generada eléctricamente), RIA (radioinmunoensayo), ELISA (ensayo inmunoabsorbente asociado a enzimas), ensayos inmunoenzimáticos de tipo sándwich, inmunoensayos de tipo sándwich de electroquimioluminiscencia (ECLIA), fluoroinmunoensayo de disociación aumentada por lantánidos (DELFLIA), ensayo de centelleo por proximidad (SPA), turbidimetría, nefelometría, nefelometría o turbidimetría aumentada por látex o pruebas inmunológicas en fase sólida. Pueden usarse otros métodos conocidos en la técnica (tales como electroforesis en gel, electroforesis en gel 2D, electroforesis en gel de SDS poliacrilamida (SDS-PAGE), transferencia de Western y espectrometría de masas), solos o en combinación con el marcaje u otros métodos de detección como se ha descrito anteriormente.

La cantidad de un péptido o polipéptido también puede determinarse, preferentemente, como se indica a continuación: (a) poniendo en contacto un soporte sólido que comprende un ligando para el péptido o polipéptido

 55 como se ha especificado anteriormente con una muestra que comprende el péptido o polipéptido y (b) midiendo la cantidad de péptido o polipéptido que se une al soporte. El ligando, preferentemente elegido del grupo que consiste en ácidos nucleicos, péptidos, polipéptidos, anticuerpos y aptámeros, está presente preferentemente en un soporte sólido en forma inmovilizada. Los materiales para la fabricación de soportes sólidos son bien conocidos en la técnica e incluyen, entre otros, materiales de columna disponibles en el mercado, perlas de poliestireno, perlas de látex,

 60 perlas magnéticas, partículas metálicas coloidales, chips y superficies de vidrio y/o silicio, tiras de nitrocelulosa, membranas, chapas, duracitos, pocillos y paredes de bandejas de reacción, tubos de plástico, etc. El ligando o agente puede unirse a muchos vehículos diferentes. Los ejemplos de vehículos bien conocidos incluyen vidrio, poliestireno, poli(cloruro de vinilo), polipropileno, polietileno, policarbonato, dextrano, nailon, amilosas, celulosas naturales y modificadas, poliacrilamidas, agarosas y magnetita. La naturaleza del vehículo puede ser soluble o

 65 insoluble para los fines de la invención. Los métodos adecuados para fijar/inmovilizar dicho ligando son bien conocidos e incluyen, pero sin limitación, interacciones iónicas, hidrófobas, covalentes y similares. También se

contempla el uso de "matrices de suspensión" como matrices de acuerdo con la presente invención (Nolan 2002, Trends Biotechnol. 20(1):9-12). En estas matrices de suspensión, el vehículo, por ejemplo, una microperla o microesfera, está presente en suspensión. La matriz consiste en diferentes microperlas o microesferas, posiblemente marcadas, que llevan diferentes ligandos. Se conocen métodos para producir tales matrices, por ejemplo, basados en química de fase sólida y grupos protectores fotolábiles (documento US 5.744.305).

Preferentemente, las cantidades de los biomarcadores individuales citados en el presente documento se determinan como se describe en la sección Ejemplos.

El término "cantidad", tal como se usa en el presente documento, incluye la cantidad absoluta de un biomarcador, la cantidad relativa o la concentración de dicho biomarcador, así como cualquier valor o parámetro que se correlacione con el mismo o que pueda derivarse a partir del mismo. Estos valores o parámetros comprenden valores de intensidad de señal de todas las propiedades físicas o químicas específicas obtenidas de dichos péptidos por mediciones directas, por ejemplo, valores de intensidad en espectros de masas o espectros de RMN. Además, se incluyen todos los valores o parámetros que se obtienen por mediciones indirectas especificadas en otras partes de esta descripción, por ejemplo, niveles de respuesta determinados a partir de sistemas de lectura biológica en respuesta a los péptidos o señales de intensidad obtenidos a partir de ligandos unidos específicamente. Debe entenderse que también pueden obtenerse valores correlacionados con las cantidades o parámetros mencionados anteriormente por todas las operaciones matemáticas convencionales. De acuerdo con realizaciones preferidas de la presente invención, la determinación de una "cantidad" se realiza por el sistema desvelado, con lo que un dispositivo informático determina la "cantidad" basándose en las etapas de puesta en contacto y medición realizadas por una o más unidades analizadoras de dicho sistema.

El término "comparación", tal como se usa en el presente documento, incluye comparar la cantidad del biomarcador, en particular el péptido o polipéptido, incluido en la muestra a analizar con una cantidad de una fuente de referencia adecuada especificada en otras partes de esta descripción. Debe entenderse que comparar, tal como se usa en el presente documento, se refiere a una comparación de parámetros o valores correspondientes, por ejemplo, una cantidad absoluta se compara con una cantidad absoluta de referencia mientras que una concentración se compara con una concentración de referencia o una señal de intensidad obtenida a partir de una muestra de ensayo se compara con el mismo tipo de señal de intensidad de una muestra de referencia. La comparación citada en la etapa (b) del método de la presente invención puede realizarse de forma anual o asistida por ordenador. Por lo tanto, La comparación citada en la etapa (b) del método de la presente invención puede realizarse mediante un dispositivo informático (por ejemplo, de un sistema desvelado en el presente documento). El valor de la cantidad y la referencia, por ejemplo, pueden compararse entre sí y dicha comparación puede llevarse a cabo automáticamente mediante un programa informático que ejecuta un algoritmo para la comparación. El programa informático que lleva a cabo dicha evaluación proporcionará la evaluación deseada en un formato de salida adecuado. Para una comparación asistida por ordenador, el valor de la cantidad determinada puede compararse con valores correspondientes a referencias adecuadas que se almacenan en una base de datos por un programa informático. El programa informático puede evaluar además el resultado de la comparación, es decir, proporcionar automáticamente la evaluación deseada en un formato de salida adecuado. Para una comparación asistida por ordenador, el valor de la cantidad determinada puede compararse con valores correspondientes a referencias adecuadas que se almacenan en una base de datos por un programa informático. El programa informático puede evaluar además el resultado de la comparación, es decir, proporciona automáticamente la evaluación deseada en un formato de salida adecuado. Dicho resultado puede servir, preferentemente, como ayuda para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento como se expone en otras partes del presente documento.

La expresión "cantidad de referencia" (o relación de referencia) tal como se usa en el presente documento, preferentemente, se refiere a una cantidad (o relación) que permite la asignación de un sujeto en el grupo de sujetos que son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento como se expone en el contexto del método de la presente invención o en el grupo de sujetos que no son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento. Por consiguiente, la cantidad de referencia (o la relación de referencia) permitirá identificar a un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento.

Dicha cantidad (o relación) de referencia puede ser una cantidad umbral que separa esos grupos entre sí. La identificación puede proporcionarse por el dispositivo informático de un sistema desvelado en el presente documento basándose en dicha comparación de la "cantidad" (o relación) calculada con una referencia o un umbral. Por ejemplo, un dispositivo informático de un sistema puede proporcionar un indicador, en forma de una palabra, símbolo o valor numérico que es indicativo de la identificación del sujeto.

La cantidad de referencia (o valor de referencia) aplicable para un sujeto individual puede variar dependiendo de diversos parámetros fisiológicos tales como la edad, el género o la subpoblación, así como de los medios usados para la determinación del polipéptido o péptido citado en el presente documento. Una cantidad de referencia adecuada puede determinarse a partir de una muestra de referencia a analizar conjuntamente, es decir, simultáneamente o posteriormente, con la muestra de ensayo.

En principio, pueden calcularse cantidades (o relaciones) de referencia para una cohorte de sujetos como se ha especificado anteriormente basándose en los valores medios o promedio para un biomarcador dado mediante la aplicación de métodos estadísticos convencionales. En particular, la exactitud de un ensayo tal como un método que pretende diagnosticar un acontecimiento o no, se describe mejor por sus características operativas del receptor (ROC) (véase especialmente Zweig 1993, Clin. Chem. 39:561-577). El gráfico ROC es un gráfico de todos los pares de sensibilidad frente a especificidad resultantes de la variación continua del umbral de decisión a lo largo del intervalo entero de datos observados. El rendimiento clínico de un método de diagnóstico depende de su exactitud, es decir, de su capacidad de asignar correctamente sujetos a un cierto pronóstico diagnóstico. El gráfico ROC indica el solapamiento entre las dos distribuciones representando la sensibilidad frente a 1-especificidad para el intervalo completo de umbrales adecuados para realizar una distinción. En el eje y está la sensibilidad o la fracción de verdaderos positivos, que se define como la relación del número de resultados verdaderos positivos del ensayo con respecto al producto del número de verdaderos positivos y el número de resultados falsos negativos del ensayo. Esto también se ha denominado positividad en presencia de una enfermedad o afección. Se calcula únicamente a partir del subgrupo afectado. En el eje x está la fracción de falsos positivos o 1-especificidad, que se define como la relación del número de resultados falsos positivos con respecto al producto del número de verdaderos negativos y el número de resultados falsos positivos. Es un índice de especificidad y se calcula totalmente a partir del subgrupo no afectado. Como las fracciones de verdaderos y falsos positivos se calculan completamente por separado, al usar los resultados de ensayo de dos subgrupos diferentes, el gráfico ROC es independiente de la prevalencia del acontecimiento en la cohorte. Cada punto en el gráfico ROC representa un par de sensibilidad/especificidad correspondiente a un umbral de decisión particular. Un ensayo con discriminación perfecta (sin solapamiento en las dos distribuciones de resultados) tiene un gráfico ROC que pasa a través de la esquina superior izquierda, donde la fracción de verdaderos positivos es 1,0 o 100% (sensibilidad perfecta) y la fracción de falsos positivos es 0 (especificidad perfecta). El gráfico teórico para un ensayo sin discriminación (distribuciones idénticas de resultados de los dos grupos) es una línea diagonal de 45° desde la esquina inferior izquierda a la esquina superior derecha. La mayoría de los gráficos caen entre estos dos extremos. Si el gráfico ROC cae completamente por debajo de la diagonal de 45°, esto se remedia fácilmente invirtiendo el criterio de "positividad" desde "mayor que" a "menor que" o viceversa. Cualitativamente, cuanto más próximo está el gráfico a la esquina superior izquierda, más alta es la exactitud general del ensayo. Dependiendo de un intervalo de confianza deseado, puede obtenerse un umbral a partir de la curva ROC que permite la identificación de un sujeto que es elegible para la administración, tal como se cita en el presente documento, con un equilibrio apropiado de sensibilidad y especificidad, respectivamente. Por consiguiente, puede generarse la referencia a usar para el método mencionado anteriormente de la presente invención, es decir, un umbral que permite discriminar entre sujetos que son elegibles para la administración, tal como se cita en el presente documento o los que no son elegibles para dicha administración, preferentemente, estableciendo un ROC para dicha cohorte como se ha descrito anteriormente y obteniendo una cantidad umbral a partir del mismo. Dependiendo de la sensibilidad y especificidad deseadas para un método de diagnóstico, el gráfico ROC permite obtener umbrales adecuados.

Los algoritmos de diagnóstico, es decir, si se iniciará la administración de un medicamento o si se aumentará la dosificación de un medicamento ("se ajustará hacia arriba") o no, se desvelan en la sección Ejemplos. A continuación se resumen los siguientes algoritmos de diagnóstico preferidos:

Si dicho al menos un medicamento es un beta bloqueante y si dicho al menos un biomarcador es endostatina, mímecan, GDF-15, una troponina cardiaca y/o un péptido de tipo BNP, preferentemente, se aplica lo siguiente:

Preferentemente, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o los biomarcadores) que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento.

Más preferentemente, el sujeto a ensayar ya se ha tratado con un beta bloqueante. En este caso, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o los biomarcadores) que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior.

Si el medicamento es un beta bloqueante y si el biomarcador es IGFBP7, P1NP, sFlt-1 u osteopontina, preferentemente, se aplica lo siguiente:

Preferentemente, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (biomarcadores) en la muestra de ensayo que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad (cantidades) de referencia es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho beta bloqueante, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (biomarcadores) que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad (cantidades) de

referencia es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho beta bloqueante. En particular, una cantidad (o cantidades) del biomarcador(s) en la muestra de ensayo que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad (cantidades) de referencia es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho beta bloqueante.

5 Más preferentemente, el sujeto a ensayar ya se ha tratado con un beta bloqueante. En este caso, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (biomarcadores) en la muestra de ensayo que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad (cantidades) de referencia es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (biomarcadores) que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad (cantidades) de referencia es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior. En particular, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (s) en la muestra de ensayo que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad (cantidades) de referencia es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho beta bloqueante a una dosificación superior.

15 Si dicho al menos un medicamento es un antagonista de aldosterona y si dicho al menos un biomarcador es IGFBP7, una troponina cardiaca, Gal-3, cistatina C, PIGF, GDF-15 y/o sST2, preferentemente, se aplica lo siguiente:

20 Preferentemente, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o los biomarcadores) que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento.

25 Más preferentemente, el sujeto a ensayar ya se ha tratado con un antagonista de aldosterona. En este caso, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho(s) medicamento(s) a una dosificación superior, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o los biomarcadores) que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho(s) medicamento(s) a una dosificación superior.

35 Si se determina la relación entre la cantidad de PIGF y la cantidad de sFlt-1, se aplica lo siguiente como algoritmo de diagnóstico.

40 Preferentemente, una relación entre la cantidad de PIGF y la cantidad de sFlt-1 en la muestra de ensayo que está aumentada en comparación con la relación de referencia es indicativa de un sujeto que es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona y/o una relación que está disminuida en comparación con la relación de referencia es indicativa de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona.

45 Más preferentemente, el sujeto a ensayar ya se ha tratado con un antagonista de aldosterona. En este caso, una relación entre la cantidad de PIGF y la cantidad de sFlt-1 en la muestra de ensayo que está aumentada en comparación con la relación de referencia es indicativa de un sujeto que es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona a una dosificación superior y/o una relación que está disminuida en comparación con la relación de referencia es indicativa de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona a una dosificación superior.

50 Si dicho al menos un medicamento es un antagonista de aldosterona y si dicho al menos un biomarcador es endostatina, ácido úrico y/o sFlt-1, preferentemente, se aplica lo siguiente:

55 Preferentemente, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o los biomarcadores) que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento.

60 Más preferentemente, el sujeto a ensayar ya se ha tratado con un antagonista de aldosterona. En este caso, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) que está (o están) disminuidas en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o los biomarcadores) que está (o están) aumentadas en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior.

Si dicho al menos un medicamento es un inhibidor del sistema renina-angiotensina y si dicho al menos un biomarcador es GDF-15, una troponina cardiaca, ácido úrico, un péptido de tipo BNP y/u osteopontina, preferentemente, se aplica lo siguiente:

5 Preferentemente, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o los biomarcadores) que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un
10 sujeto que no es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento.

Más preferentemente, el sujeto a ensayar ya se ha tratado con un inhibidor del sistema renina-angiotensina. En este caso, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto
15 que es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o los biomarcadores) que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior.

20 Dicho al menos un medicamento es un diurético y dicho al menos un biomarcador se selecciona entre el grupo que consiste en IGFBP-7, endostatina, mimecan, GDF-15, prealbúmina, transferrina, un péptido de tipo BNP y ácido úrico, preferentemente, se aplica lo siguiente:

25 Preferentemente, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o los biomarcadores) que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es
30 elegible para la administración de dicho medicamento.

Más preferentemente, el sujeto a ensayar ya se ha tratado con un diurético. En este caso, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o los biomarcadores) que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación inferior.
35
40

Se aplica lo siguiente si dicho al menos un medicamento es un inhibidor del sistema renina-angiotensina y si dicho al menos un biomarcador es sFlt-1 y/o IGFBP7.

45 Preferentemente, una cantidad del biomarcador en la muestra de ensayo que está aumentada en comparación con la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento, y/o una cantidad del biomarcador que está disminuida en comparación con la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que es elegible para la administración de dicho medicamento. Más preferentemente, el sujeto a ensayar ya se ha tratado con un inhibidor del sistema renina angiotensina. En este caso, una cantidad del biomarcador que está
50 aumentada en comparación con la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior, y/o una cantidad del biomarcador que está disminuida en comparación con la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior.

55 También se prefiere que la cantidad de referencia derive de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento, y/o de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que no son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento.

60 En este caso, los algoritmos de diagnóstico preferidos son los siguientes:

Si dicho al menos un medicamento es un beta bloqueante y si dicho al menos un biomarcador es endostatina, mimecan, GDF-15, una troponina cardiaca y/o un péptido de tipo BNP, preferentemente, se aplica lo siguiente:

65 Preferentemente, la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento, en donde una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que es (o son) esencialmente iguales o que está

(o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento, y/o la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que no son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento, en donde una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que es (o son) esencialmente iguales o que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento.

Si el medicamento es un beta bloqueante y si el biomarcador es IGFBP7, P1NP, sFlt-1 y/u osteopontina, preferentemente, se aplica lo siguiente:

Preferentemente, la cantidad de referencia para IGPBP7, P1NP, sFlt-1 y/u osteopontina deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que son elegibles para la administración de dicho beta bloqueante, en donde una cantidad de IGFBP7, P1NP, sFlt-1 y/u osteopontina en la muestra de ensayo que es esencialmente igual o que está disminuida en comparación con la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que es elegible para la administración de dicho beta bloqueante, y/o la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que no son elegibles para la administración de dicho beta bloqueante, en donde una cantidad de IGFBP7, P1NP, sFlt-1 y/u osteopontina en la muestra de ensayo que es esencialmente igual o que está aumentada en comparación con la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho beta bloqueante.

Si dicho al menos un medicamento es un antagonista de aldosterona y si dicho al menos un biomarcador es IGFBP7, cistatina C, una troponina cardiaca, Gal-3, P1GF, GDF-15 y/o sST2, preferentemente, se aplica lo siguiente:

Preferentemente, la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento, en donde una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que es (o son) esencialmente iguales o que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento, y/o la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que no son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento, en donde una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que es (o son) esencialmente iguales o que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento.

Si dicho al menos un medicamento es un antagonista de aldosterona y si dicho al menos un biomarcador es endostatina, ácido úrico y/o sFlt-1, preferentemente, se aplica lo siguiente:

Preferentemente, la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento (es decir, el antagonista de aldosterona), en donde una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que es (o son) esencialmente iguales o que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento; y/o la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que no son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento, en donde una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que es (o son) esencialmente iguales o que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento.

Más preferentemente, el sujeto a ensayar ya se ha tratado con un antagonista de aldosterona. En este caso, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o los biomarcadores) que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior.

Si dicho al menos un medicamento es un inhibidor del sistema renina-angiotensina y si dicho al menos un biomarcador es GDF-15, una troponina cardiaca, ácido úrico, un péptido de tipo BNP y/u osteopontina, preferentemente, se aplica lo siguiente:

Preferentemente, la cantidad (cantidades) de referencia para el biomarcador (biomarcadores) deriva(n) de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que son elegibles para la administración de dicho inhibidor del sistema renina-angiotensina, en donde unas cantidades de los dos biomarcadores en la muestra de ensayo que son

esencialmente iguales, y/o que están aumentadas en comparación con las cantidades de referencia son indicativas de un sujeto que es elegible para la administración de dicho inhibidor del sistema renina-angiotensina, y/o la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que no son elegibles para la administración de dicho inhibidor del sistema renina-angiotensina, en donde i) una cantidad del biomarcador troponina cardiaca en la muestra de ensayo que es esencialmente igual o que está disminuida en comparación con la cantidad de referencia para la troponina cardiaca o ii) en donde unas cantidades de los dos biomarcadores en la muestra de ensayo que son esencialmente iguales, y/o que están disminuidas en comparación con las cantidades de referencia son indicativas de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho inhibidor del sistema renina-angiotensina.

Si dicho al menos un medicamento es un diurético y dicho al menos un biomarcador se selecciona entre el grupo que consiste en endostatina, mímecan, GDF-15, prealbúmina, transferrina, un péptido de tipo BNP y ácido úrico, preferentemente, se aplica lo siguiente:

Preferentemente, la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento (es decir, el diurético), en donde una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que es (o son) esencialmente iguales o que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento, y/o la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que no son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento, en donde una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que es (o son) esencialmente iguales o que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento.

También preferentemente, la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que no son elegibles para la administración de dicho al menos un medicamento, en donde una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) en la muestra de ensayo que es (o son) esencialmente iguales o que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación inferior.

Más preferentemente, el sujeto a ensayar ya se ha tratado con un diurético. En este caso, una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o biomarcadores) que está (o están) aumentada(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior, y/o una cantidad (o cantidades) del biomarcador (o los biomarcadores) que está (o están) disminuida(s) en comparación con la cantidad de referencia (o con las cantidades de referencia) es (o son) indicativa(s) de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho medicamento a una dosificación superior.

Se aplica lo siguiente si dicho al menos un medicamento es un inhibidor del sistema renina-angiotensina y si dicho al menos un biomarcador es sFlt-1 y/o IGFBP7.

Preferentemente, la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que son elegibles para la administración de dicho inhibidor del sistema renina-angiotensina, en donde una cantidad de sFlt-1 y/o IGFBP7 en la muestra de ensayo que es esencialmente igual o que está disminuida en comparación con la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que es elegible para la administración de dicho inhibidor del sistema renina-angiotensina, y/o la cantidad de referencia deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que no son elegibles para la administración de dicho inhibidor del sistema renina-angiotensina, en donde una cantidad de sFlt-1 y/o IGFBP7, en la muestra de ensayo que es esencialmente igual o que está aumentada en comparación con la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho inhibidor del sistema renina-angiotensina.

Las cantidades de referencia preferidas a aplicar en el contexto de la presente invención son las descritas en los ejemplos. Son otras cantidades de referencia preferidas las siguientes:

- GDF-15: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 3000 y aproximadamente 5000 ng/ml, en particular, aproximadamente 4000 ng/ml
- endostatina: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 230 y aproximadamente 270 ng/ml, en particular, aproximadamente 250 ng/ml
- mímecan: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 30 y aproximadamente 70 ng/ml, en particular, aproximadamente 50 ng/ml
- IGFBP7: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 70 y aproximadamente 130 ng/ml, en particular, aproximadamente 100 ng/ml
- NT-proBNP: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 2500 y aproximadamente 3500 pg/ml, en particular, aproximadamente 3000 pg/ml

- Troponina: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 22 y aproximadamente 30 ng/ml, en particular, aproximadamente 26 ng/ml
- ácido úrico: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 5 y aproximadamente 10 ng/ml, en particular, aproximadamente 7,3 ng/ml
- 5 • Gal3 (galectina-3): dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 26 y aproximadamente 38 ng/ml, en particular, aproximadamente 31,6 ng/ml
- osteopontina: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 80 y aproximadamente 120 ng/ml, en particular, aproximadamente 100 ng/ml
- 10 • sST2 (ST2 soluble): dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 30 y aproximadamente 38 ng/ml, en particular, aproximadamente 34,0 ng/ml
- sFLT-1: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 85 y aproximadamente 111 ng/ml, en particular, aproximadamente 98 ng/ml
- PIGF: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 15 y aproximadamente 31 ng/ml, en particular, aproximadamente 20,7 ng/ml
- 15 • P1NP: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 29,0 ng/ml y aproximadamente 43,5 ng/ml, en particular, aproximadamente 36,72 ng/ml
- Cistatina C: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 1,20 mg/l y aproximadamente 2,3 mg/l, en particular, aproximadamente 1,76 mg/l
- 20 • Prealbúmina: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 0,11 g/l y aproximadamente 0,27 g/l, en particular, aproximadamente 0,19 g/l
- Transferrina: dentro de un intervalo comprendido entre aproximadamente 2,15 g/l y aproximadamente 2,80 g/l, en particular, aproximadamente 2,48 g/l

25 Si se calcula la relación entre PIGF y sFlt-1, la relación de referencia está, en particular, en el intervalo comprendido entre aproximadamente 0,17 y aproximadamente 0,29. En una realización, la relación de referencia es 0,23.

Preferentemente, las cantidades (relaciones) de referencia mencionadas anteriormente son cantidades (relaciones) umbral que separan esos grupos citados en el presente documento entre sí.

30 Si en el contexto de la presente invención se determina más de un biomarcador para evaluar si un sujeto es susceptible a la administración de un medicamento, se prevé en particular comparar las cantidades determinadas de los biomarcadores individuales con cantidades de referencia para los biomarcadores individuales. Por ejemplo, la cantidad del biomarcador IGFBP7 se comparará con una cantidad de referencia para IGFB7, la cantidad del biomarcador mimecan con una cantidad de referencia para mimecan, la cantidad del biomarcador endostatina con una cantidad de referencia de endostatina, la cantidad del biomarcador sFlt-1 con una cantidad de referencia de sFlt-1 etc. En este caso, el diagnóstico. Además, si se determina más de un biomarcador, Preferentemente se combinan los algoritmos de diagnóstico para los biomarcadores individuales expuestos en el presente documento.

40 Además, la presente invención se refiere a un método para tratar a un sujeto con al menos un medicamento para la terapia de insuficiencia cardíaca, que comprende

- a) determinar la cantidad de al menos un biomarcador como se ha expuesto anteriormente en relación con el método de la presente invención en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardíaca, y
- 45 b) comparar la cantidad (o cantidades) de dicho al menos un biomarcador determinada en la etapa a) con una cantidad de referencia (o con cantidades de referencia), con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento,
- c) identificar a un sujeto como elegible para la administración de al menos un medicamento,
- d) administrar dicho al menos un medicamento a dicho sujeto.

50 Los medicamento se han desvelado anteriormente. La administración puede ser la iniciación de la administración de dicho al menos un medicamento o la administración de dicho al menos un medicamento a una dosificación superior.

La etapa c) se basa en los resultados de la etapa de comparación b). En otras partes del presente documento se desvelan algoritmos de diagnóstico.

55 En el contexto de los estudios que subyacen a la presente invención, se demostró que es posible tomar decisiones con respecto a la administración de varias clases de medicamentos mediante el uso de un solo biomarcador. Por lo tanto, se prevé por el método de la presente invención evaluar si un sujeto es elegible para la administración de más de un medicamento, en particular mediante el uso de un solo marcador.

60 Por lo tanto, en una realización preferida del método de la presente invención se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de más de un medicamento, en particular, para la administración de dos o tres medicamentos. Son combinaciones preferidas las siguientes:

65

Si el biomarcador es GDF-5, los medicamentos son preferentemente:

- 5 i. un beta bloqueante y un inhibidor del sistema renina-angiotensina
- ii. un beta bloqueante y un diurético,
- iii. un inhibidor del sistema renina-angiotensina y un diurético, o
- iv. un beta bloqueante, un inhibidor del sistema renina-angiotensina y un diurético.

10 Si el biomarcador es IGFBP7, los medicamentos son preferentemente: un beta bloqueante y un antagonista de aldosterona. Además, los medicamentos son preferentemente: un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona y un diurético. Además, se prevé que los medicamentos son un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina.

Si el biomarcador es mimecan, los medicamentos son preferentemente: un beta bloqueante y un diurético.

15 Si el biomarcador es endostatina, los medicamentos son preferentemente:

- 20 i. un beta bloqueante y un antagonista de aldosterona
- ii. un beta bloqueante y un diurético,
- iii. un antagonista de aldosterona y un diurético, o
- iv. un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona y diurético.

Si el biomarcador es una troponina cardiaca, los medicamentos son preferentemente:

- 25 i. un beta bloqueante y un antagonista de aldosterona
- ii. un beta bloqueante y un inhibidor del sistema renina-angiotensina,
- iii. un antagonista de aldosterona y un inhibidor del sistema renina-angiotensina, o
- iv. un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona y un inhibidor del sistema renina-angiotensina.

30 Si el biomarcador es ácido úrico, los medicamentos son preferentemente:

- 35 i. un diurético y un antagonista de aldosterona
- ii. un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina,
- iii. un antagonista de aldosterona y un inhibidor del sistema renina-angiotensina, o
- iv. un diurético, un antagonista de aldosterona y un inhibidor del sistema renina-angiotensina.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de dos o tres medicamentos, que comprende

- 40 a) determinar la cantidad de GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15) en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca y
- b) comparar la cantidad determinada en la etapa a) con una cantidad de referencia, con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dichos medicamentos, en donde los dos o tres medicamentos son

- 45 i. un beta bloqueante y un inhibidor del sistema renina-angiotensina
- ii. un beta bloqueante y un diurético,
- iii. un inhibidor del sistema renina-angiotensina y un diurético, o
- iv. un beta bloqueante, un inhibidor del sistema renina-angiotensina y un diurético.

50 Además, la presente invención se refiere a un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de dos medicamentos, que comprende

- 55 a) determinar la cantidad de IGFBP7 en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca y
- b) comparar la cantidad determinada en la etapa a) con una cantidad de referencia (o con cantidades de referencia), con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dichos medicamentos,

en donde los dos medicamentos son un beta bloqueante y un antagonista de aldosterona.

60 Además, la presente invención se refiere a un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de dos medicamentos, que comprende

- 65 a) determinar la cantidad de mimecan en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca y
- b) comparar la cantidad determinada en la etapa a) con una cantidad de referencia (o con cantidades de referencia), con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dichos medicamentos, en donde los dos medicamentos son un beta bloqueante y un diurético.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de dos o tres medicamentos, que comprende

- 5 a) determinar la cantidad de una troponina cardiaca en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca y
- b) comparar la cantidad determinada en la etapa a) con una cantidad de referencia (o con cantidades de referencia), con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dichos medicamentos, en donde los dos o tres medicamentos son
 - 10 i. un beta bloqueante y un antagonista de aldosterona
 - ii. un beta bloqueante y un inhibidor del sistema renina-angiotensina,
 - iii. un antagonista de aldosterona y un inhibidor del sistema renina-angiotensina, o
 - iv. un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona y un inhibidor del sistema renina-angiotensina.

15 Por consiguiente, la presente invención se refiere a un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de dos o tres medicamentos, que comprende

- 20 a) determinar la cantidad de una endostatina en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca y
- b) comparar la cantidad determinada en la etapa a) con una cantidad de referencia, (o con cantidades de referencia), con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dichos medicamentos, en donde los dos o tres medicamentos son
 - 25 i. un beta bloqueante y un antagonista de aldosterona
 - ii. un beta bloqueante y un diurético,
 - iii. un antagonista de aldosterona y un diurético, o
 - iv. un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona y diurético.

30 Si se va a identificar a un sujeto que es susceptible a la administración de dos o más medicamentos basándose en la determinación de la cantidad de un solo biomarcador, se aplicará lo siguiente con respecto a la cantidad de referencia:

Preferentemente, la cantidad de referencia expuesta en la etapa b) para los diversos medicamentos puede ser la misma para el marcador respectivo. Por consiguiente, la cantidad del biomarcador determinada en la etapa a) del método de la presente invención, preferentemente, se compara con una sola cantidad de referencia y, por lo tanto, una cantidad de referencia para el marcador individual que permite evaluar si el sujeto es elegible para la administración de dichos dos o tres medicamentos o no (es decir, una cantidad de referencia que se aplica para todos los medicamentos. También preferentemente, la cantidad de referencia para el biomarcador individual con respecto a los diversos medicamentos puede diferir, es decir, puede ser específica de medicamento. Por consiguiente, la cantidad del biomarcador determinada en la etapa a) del método de la presente invención, preferentemente, se compara con dos o tres cantidades de referencia. Por lo tanto, si se va a identificar a un sujeto que es elegible para la administración dos medicamentos, la cantidad del biomarcador se comparará con dos cantidades de referencia. Además, si se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de tres medicamentos, la cantidad de referencia del biomarcador será tres cantidades de referencia. Las cantidades de referencia individuales serán específicas de medicamento. Por consiguiente, pueden aplicarse cantidades de referencia individuales para los diversos medicamentos (con respecto a un solo marcador). Por ejemplo, si se va a identificar a un sujeto que es susceptible a la administración de un beta bloqueante y un antagonista de aldosterona, la cantidad del biomarcador determinada en la etapa a) se comparará con i) una cantidad de referencia de dicho biomarcador para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un beta bloqueante y ii) una cantidad de referencia para dicho biomarcador para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un antagonista de aldosterona (esto se aplica, por ejemplo, si el biomarcador es IGFBP7). Por ejemplo, si se va a identificar a un sujeto que es susceptible a la administración de un beta bloqueante y un diurético, la cantidad del biomarcador determinada en la etapa a) se comparará con i) una cantidad de referencia de dicho biomarcador para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un beta bloqueante y ii) una cantidad de referencia para dicho biomarcador para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un diurético (esto se aplica, por ejemplo, si el biomarcador es mimecan).

Los algoritmos de diagnóstico para biomarcadores individuales en combinación con los medicamentos individuales se han expuesto en otras partes del presente documento. Además, se han descrito anteriormente las cantidades de referencia preferidas. Los algoritmos de diagnóstico, así como las cantidades de referencia preferidas, preferentemente, también se aplican si se va a identificar a un sujeto que es susceptible a la administración de dos o más medicamentos basándose en la determinación de la cantidad de un solo biomarcador. Si se va a identificar a un sujeto que es elegible para la administración de dos o tres medicamentos, se combinan los algoritmos de diagnóstico expuestos anteriormente en el presente documento para el biomarcador respectivo en combinación con los medicamentos.

65

Por ejemplo, Con respecto al biomarcador IGFBP7, se aplica lo siguiente:

5 Preferentemente, una cantidad del biomarcador en la muestra de ensayo que está disminuida en comparación con la cantidad de referencia (en particular, una cantidad de referencia para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un beta bloqueante) es indicativa de un sujeto que es elegible para la administración de dicho beta bloqueante, y/o una cantidad del biomarcador que está aumentada en comparación con dicha cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho beta bloqueante, mientras que una cantidad del biomarcador en la muestra de ensayo que está aumentada en comparación con la cantidad de referencia (en particular, una cantidad de referencia para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un antagonista de aldosterona) es indicativa de un sujeto que es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona, y/o una cantidad del biomarcador que está disminuida en comparación con dicha cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona.

15 Como alternativa, la cantidad de referencia para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un beta bloqueante con respecto al biomarcador IGFBP7 deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que son elegibles para la administración de dicho beta bloqueante, en donde una cantidad de IGFBP7 en la muestra de ensayo que es esencialmente igual o que está disminuida en comparación con la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que es elegible para la administración de dicho beta bloqueante, y/o la cantidad de referencia para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un beta bloqueante deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que no son elegibles para la administración de dicho beta bloqueante, en donde una cantidad de IGFBP7 en la muestra de ensayo que es esencialmente igual o que está aumentada en comparación con la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho beta bloqueante, mientras que la cantidad de referencia para IGFBP7 para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un antagonista de aldosterona deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que son elegibles para la administración de dicho antagonista de aldosterona, en donde una cantidad de IGFBP7 en la muestra de ensayo que es esencialmente igual o que está aumentada en comparación con la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona, y/o la cantidad de referencia para IGFBP7 para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un antagonista de aldosterona deriva de un sujeto o grupo de sujetos que se sabe que no son elegibles para la administración de antagonista de aldosterona, en donde una cantidad de IGFBP7 en la muestra de ensayo que es esencialmente igual o que está disminuida en comparación con la cantidad de referencia es indicativa de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona.

35 En un aspecto de la invención, se contempla un método para establecer una ayuda para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento seleccionado entre el grupo que consiste en un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina, comprendiendo dicho método:

- 40 a) determinar la cantidad de al menos un marcador seleccionado del grupo que consiste en GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardiaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Gal3 (galectina-3), osteopontina, sST2 (ST2 soluble), sFit-1, PIGF, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina (i) poniendo la muestra en contacto con un agente de detección (agentes de detección) que se une(n) específicamente a dicho al menos un marcador durante un periodo de tiempo suficiente para la formación de un complejo de dicho agente de detección y dicho al menos un marcador de la muestra, (ii) midiendo la cantidad del complejo formado, en donde dicha cantidad del complejo formado es proporcional a la cantidad de dicho al menos un marcador presente en la muestra y (iii) transformando la cantidad del complejo formado en una cantidad de dicho al menos un marcador que refleja la cantidad de dicho al menos un marcador presente en la muestra;
- 50 b) comparar dicha cantidad con una referencia; y
- c) establecer una ayuda para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento basándose en el resultado de la comparación realizada en la etapa b).

55 En otro aspecto de la invención, se contempla un sistema para establecer una ayuda para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento seleccionado entre el grupo que consiste en un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina, que comprende:

- 60 a) una unidad analizadora configurada para poner en contacto la muestra con un agente de detección (agentes de detección) que se une(n) específicamente a dicho al menos un marcador seleccionado del grupo que consiste en GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardiaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Gal3 (galectina-3), osteopontina, sST2 (ST2 soluble) sFit-1, PIGF, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina durante un periodo suficiente para permitir la formación de un complejo de dicho agente de detección y dicho al menos un marcador de la muestra,
- 65 b) una unidad analizadora configurada para medir la cantidad del complejo formado, en donde dicha cantidad del complejo formado es proporcional a la cantidad de dicho al menos un marcador presente en la muestra,

c) un dispositivo de cálculo que tiene un procesador y en comunicación operativa con dichas unidades de análisis, y

5 d) un medio legible por máquina no transitorio que incluye una pluralidad de instrucciones ejecutables por el procesador, en donde las instrucciones, cuando se ejecutan, transforman la cantidad del complejo formado en una cantidad de dicho al menos un marcador que refleja la cantidad de dicho al menos un marcador presente en la muestra, comparan dicha cantidad con una referencia y establecen una ayuda para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento basándose en el resultado de dicha comparación con dicha referencia.

10 Un agente de detección adecuado puede ser, en un aspecto, un anticuerpo que se une específicamente a al menos un marcador, es decir, un agente de detección que se une a GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Gal3 (galectina-3), osteopontina, sST2 (ST2 soluble), sFlt-1, PIGF, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina en una muestra de un sujeto a investigar por el método de la invención. Otro agente de detección que
15 puede aplicarse, en un aspecto, puede ser un aptámero que se une específicamente a dicho al menos un marcador en la muestra. En otro aspecto más, la muestra se retira del complejo formado entre el agente de detección y dicho al menos un marcador antes de la medición de la cantidad de complejo formado. Por consiguiente, en un aspecto, el agente de detección puede inmovilizarse en un soporte sólido. En otro aspecto más, la muestra puede retirarse del complejo formado sobre el soporte sólido aplicando una solución de lavado. El complejo formado será proporcional a la cantidad de dicho al menos un marcador presente en la muestra. Se entenderá que la especificidad y/o
20 sensibilidad del agente de detección a aplicar define el grado de proporción de al menos un marcador comprendido en la muestra que es capaz de unirse específicamente. En otras partes del presente documento se encuentran detalles adicionales sobre cómo puede realizarse la determinación. La cantidad de complejo formado se transformará en una cantidad de al menos un marcador que refleja la cantidad presente realmente en la muestra.
25 Dicha cantidad, en un aspecto, puede ser esencialmente la cantidad presente en la muestra o puede ser, en otro aspecto, una cantidad que es una cierta proporción de la misma debido a la relación entre el complejo formado y la cantidad presente en la muestra original.

30 En otro aspecto del método mencionado anteriormente, la etapa a) puede realizarse por una unidad analizadora, en un aspecto, una unidad analizadora como se define en otras partes del presente documento.

En un aspecto del método de la invención, la(s) cantidad(es) determinada(s) en la etapa a) se compara(n) con una referencia. En un aspecto, la referencia es una referencia como se define en otras partes del presente documento.
35 En otro aspecto más, la referencia tiene en cuenta la relación proporcional entre la cantidad medida de complejo y la cantidad presente en la muestra original. Por lo tanto, las referencias aplicadas en un aspecto del método de la invención son referencias artificiales que se adoptan para reflejar las limitaciones del agente de detección que se ha usado. En otro aspecto, dicha relación también puede tenerse en cuenta cuando se lleva a cabo la comparación, por ejemplo, incluyendo una etapa de normalización y/o de cálculo de corrección para la cantidad determinada antes de
40 comparar realmente el valor de la cantidad determinada y la referencia. De nuevo, la etapa de normalización y/o de cálculo de corrección para la cantidad determinada adopta la etapa de comparación de tal forma que se reflejen de manera apropiada las limitaciones del agente de detección que se ha usado. En un aspecto, la comparación se realiza automáticamente, por ejemplo, asistida por un sistema informático o similar.

45 La ayuda para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de dicho al menos un medicamento se establece basándose en la comparación realizada en la etapa b) asignando al sujeto a un grupo de sujetos que son elegibles para la administración o que no son elegibles para dicha administración como se expone en otras partes del presente documento. Como ya se ha analizado en otras partes del presente documento, la asignación del sujeto investigado no tiene que ser correcta en el 100% de los casos investigados. Además, los grupos de sujetos en los que se asigna el sujeto investigado son grupos artificiales ya que se establecen basándose en consideraciones estadísticas, es decir, un cierto grado preseleccionado de probabilidad basado en el cual operará el método de la invención. En un aspecto de la invención, la ayuda para identificar a un sujeto que es elegible para la administración
50 de dicho al menos un medicamento se establece automáticamente, por ejemplo, asistida por un dispositivo informático o similar, como se describe y desvela en el presente documento.

55 En un aspecto del método de la invención, dicho método comprende además una etapa de recomendación y/o gestión del sujeto de acuerdo con el resultado establecido en la etapa c) como se expone en otras partes del presente documento en detalle, y/o adaptación de la intensidad de supervisión de la enfermedad.

60 En un aspecto del método mencionado anteriormente, las etapas b) y/o c) se realizan por una o más unidades analizadoras como se expone en otras partes del presente documento.

65 La presente invención también se refiere al uso de i) al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Gal3 (galectina-3), osteopontina, sST2 (ST2 soluble), sFlt-1, PIGF, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina o ii) y/o de un agente de detección que se une específicamente a un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en GDF-15 (factor de diferenciación del

crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardiaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Gal3 (galectina-3), osteopontina, sST2 (ST2 soluble), sFlt-1, PIGF, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento seleccionado entre el grupo que consiste en un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina

La presente invención también se refiere al uso de i) al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardiaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Gal3 (galectina-3), osteopontina, sST2 (ST2 soluble), sFlt-1, PIGF, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina o ii) y/o de un agente de detección que se une específicamente a un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardiaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Gal3 (galectina-3), osteopontina, sST2 (ST2 soluble), sFlt-1, PIGF, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina para la fabricación de una composición farmacéutica o de diagnóstico para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento seleccionado entre el grupo que consiste en un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina.

Además, la presente invención se refiere a al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardiaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Gal3 (galectina-3), osteopontina, sST2 (ST2 soluble), sFlt-1, PIGF, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina o ii) y/o de un agente de detección que se une específicamente a un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardiaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Gal3 (galectina-3), osteopontina, sST2 (ST2 soluble), sFlt-1, PIGF, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento seleccionado entre el grupo que consiste en un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina. Dicho al menos un biomarcador o dicho al menos un agente de detección pueden estar incluidos en un kit.

La expresión "agente de detección", como se usa en el presente documento, se refiere a un agente que es capaz de reconocer específicamente y unirse al polipéptido o polipéptidos biomarcadores presentes en una muestra. Además, dicho agente permitirá la detección directa o indirecta del complejo formado por dicho agente y el biomarcador. La detección directa puede conseguirse incluyendo en el agente un marcador detectable. El marcaje indirecto puede conseguirse por un agente adicional que se une específicamente al complejo que comprende el biomarcador y el agente de detección, en donde dicho agente adicional es capaz de generar una señal detectable. Los compuestos adecuados que pueden usarse como agentes de detección son bien conocidos en la técnica. Preferentemente, el agente de detección es un anticuerpo o aptámero que se une específicamente al biomarcador. El término "anticuerpo" se ha descrito en otras partes del presente documento.

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, se proporciona un dispositivo adaptado para realizar un método de la invención, que comprende

a) una unidad analizadora que comprende un agente (o agentes) de detección que se une(n) específicamente a un marcador seleccionado del grupo que consiste en GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardiaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Gal3 (galectina-3), osteopontina, sST2 (ST2 soluble), sFlt-1, PIGF, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina, estando adaptada dicha unidad para determinar la cantidad o cantidades del marcador o marcadores en una muestra de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca, y

b) una unidad analizadora para comparar la cantidad o cantidades determinadas con una o más cantidades de referencia, con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento seleccionado entre el grupo que consiste en un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina, comprendiendo dicha unidad una base de datos con una cantidad (o cantidades) de referencia y un algoritmo implementado por ordenador que realiza la comparación.

En otras partes del presente documento se desvelan cantidades de referencia y algoritmos preferidos.

Una realización preferida de la presente divulgación incluye un sistema para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de al menos un medicamento seleccionado entre el grupo que consiste en un beta bloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y un inhibidor del sistema renina-angiotensina. Los ejemplos de sistemas incluyen analizadores de química clínica, analizadores de química de la coagulación, analizadores de inmunohistoquímica, analizadores de orina, analizadores de ácido nucleico, usados para detectar el resultado de reacciones químicas o biológicas o para supervisar el progreso de reacciones químicas o biológicas. Más específicamente, los sistemas ejemplares de la presente divulgación pueden incluir sistemas Roche Elecsys™ y analizadores de inmunoensayo Cobas® e, analizadores Abbott Architect™ y AxSYM™, analizadores Siemens Centaur™ e Immulite™ y analizadores Beckman Coulter UniCel™ y Access™ o similares.

Las realizaciones del sistema pueden incluir una o más unidades analizadoras utilizadas para poner en práctica la presente divulgación. Las unidades analizadoras del sistema desvelado en el presente documento están en comunicación operativa con el dispositivo informático desvelado en el presente documento a través de cualquiera de los siguientes: una conexión por cable, Bluetooth, LANS o señal inalámbrica, que son conocidos. Adicionalmente, de acuerdo con la presente divulgación, una unidad analizadora puede comprender un aparato independiente o un módulo dentro de un instrumento de mayor tamaño, que realiza una o las dos detecciones, por ejemplo, la evaluación cualitativa y/o cuantitativa de muestras con fines diagnósticos. Por ejemplo, una unidad analizadora puede realizar o ayudar al pipeteo, dosificación, mezcla de muestras y/o reactivos. Una unidad analizadora puede comprender una unidad de soporte de reactivo para realizar los ensayos. Los reactivos pueden disponerse, por ejemplo, en forma de recipientes o casetes que contienen reactivos individuales o un grupo de reactivos, situados en receptáculos o posiciones apropiadas dentro de un compartimento de almacenamiento o transportador. Los reactivos de detección también pueden estar en forma inmovilizada en un soporte sólido que entra en contacto con la muestra. Además, una unidad analizadora puede incluir un componente del proceso y/o de detección que sea optimizable para análisis específicos.

De acuerdo con algunas realizaciones, una unidad analizadora puede configurarse para la detección óptica de un analito, por ejemplo un marcador, con una muestra. Una unidad analizadora ejemplar configurada para la detección óptica comprende un dispositivo configurado para convertir la energía electromagnética en una señal eléctrica, que incluye detectores ópticos de un solo o múltiples elementos o de matriz. De acuerdo con la presente divulgación, un detector óptico es capaz de supervisar una señal óptica electromagnética y proporcionar una señal eléctrica de salida o señal de respuesta con respecto a una señal basal indicativa de la presente y/o concentración de un analito en una muestra que está localizada en una trayectoria óptica. Estos dispositivos también pueden incluir, por ejemplo, fotodiodos, incluyendo fotodiodos de avalancha, fototransistores, detectores fotoconductores, matrices de sensores lineales, detectores CCD, detectores CMOS, incluyendo detectores de matriz CMOS, fotomultiplicadores y matrices de fotomultiplicadores. De acuerdo con ciertas realizaciones, un detector óptico, tal como un fotodiodo o fotomultiplicador, puede contener otros componentes electrónicos para el procesamiento o acondicionamiento de señales. Por ejemplo, un detector óptico puede incluir al menos un preamplificador, filtro electrónico o circuito integrado. Los preamplificadores adecuados incluyen, por ejemplo, preamplificadores de integración, transimpedancia y ganancia de corriente (espejo de corriente).

Adicionalmente, una o más unidades analizadoras de acuerdo con la presente invención pueden comprender una fuente luminosa para emitir luz. Por ejemplo, una fuente luminosa de una unidad analizadora puede consistir en al menos un elemento emisor de luz (tal como un diodo emisor de luz, una fuente de radiación alimentada por electricidad tal como una lámpara incandescente, una lámpara electroluminiscente, una lámpara de descarga de gas, una lámpara de descarga de alta intensidad, un láser) para medir concentraciones de analitos con una muestra a ensayar o para permitir una transferencia de energía (por ejemplo, mediante transferencia de energía de resonancia fluorescente o catálisis de una enzima).

Además, una unidad analizadora del sistema puede incluir una o más unidades de incubación (por ejemplo, para mantener una muestra o un reactivo a una temperatura o intervalo de temperaturas especificado). En algunas realizaciones, una unidad analizadora puede incluir un termociclador, incluyendo un termociclador de tiempo real, para someter una muestra a ciclos repetidos de temperatura y supervisar un cambio en la cantidad de un producto de amplificación con la muestra.

Adicionalmente, una unidad analizadora del sistema desvelado en el presente documento puede comprender o estar conectada operativamente a, una unidad de alimentación de un recipiente de reacción o cubeta. Los ejemplos de unidades de alimentación incluyen unidades de procesamiento de líquidos, tales como una unidad de pipeteo, para suministrar muestras y/o reactivos a los recipientes de reacción. La unidad de pipeteo puede comprender una aguja lavable reutilizable, por ejemplo, una aguja de acero o puntas de pipeta desechables. La unidad analizadora puede comprender además una o más unidades de mezcla, por ejemplo, un agitador para agitar una cubeta que comprende un líquido o una paleta de mezcla para mezclar líquidos en una cubeta o recipiente de reactivos.

De lo anterior se deduce que de acuerdo con algunas realizaciones de la presente divulgación, partes de algunas etapas de los métodos desvelados y descritos en el presente documento pueden realizarse por un dispositivo informático. Un dispositivo informático puede ser un ordenador normal o un dispositivo informático portátil, por ejemplo. También debe entenderse que pueden usarse conjuntamente múltiples dispositivos informáticos, tal como en una red u otros métodos de transferencia de datos, para realizar una o más etapas de los métodos desvelados en el presente documento. Los dispositivos informáticos ejemplares incluyen ordenadores de sobremesa, ordenadores portátiles, asistentes de datos personales ("PDA"), tales como dispositivos de la marca BLACKBERRY, dispositivos celulares, tabletas, servidores y similares. En general, un dispositivo informático comprende un procesador capaz de ejecutar una pluralidad de instrucciones (tales como un programa de software).

Un dispositivo informático tiene acceso a una memoria. Una memoria es un medio legible por ordenador y puede comprender un solo dispositivo de almacenamiento o múltiples dispositivos de almacenamiento, localizados localmente con el dispositivo informático o que pueden acceder al dispositivo informático a través de una red, por ejemplo. Los medios legibles por ordenador pueden ser cualquier medio disponible al que puede acceder el

dispositivo informático e incluye medios tanto volátiles como no volátiles. Además, los medios legibles por ordenador pueden ser extraíbles o no extraíbles. A modo de ejemplo y sin limitación, los medios legibles por ordenador pueden comprender medios de almacenamiento informáticos. Los medios de almacenamiento informáticos ejemplares incluyen, pero sin limitación, RAM, ROM, EEPROM, memoria flash o cualquier otra tecnología de memoria, CD-ROM, Disco Versátil Digital (DVD) u otro dispositivo de almacenamiento óptico, casetes magnéticos, cintas magnéticas, almacenamiento en discos magnéticos u otros dispositivos de almacenamiento magnéticos o cualquier otro medio que pueda usarse para almacenar una pluralidad de instrucciones a las que puede acceder el dispositivo informático y ejecutarse por el procesador del dispositivo informático.

De acuerdo con realizaciones de la presente divulgación, el software puede incluir instrucciones que, cuando se ejecutan por un procesador del dispositivo informático, pueden realizar una o más etapas de los métodos desvelados en el presente documento. Algunas de las instrucciones pueden adaptarse para producir señales que controlan el funcionamiento de otras máquinas y de esta manera pueden operar a través de esas señales de control para transformar materiales que están muy lejos del propio ordenador. Estas descripciones y representaciones son los medios usados por los expertos en la materia del procesamiento de datos, por ejemplo, para transportar de la manera más eficaz la sustancia de su trabajo a otros expertos en la materia.

La pluralidad de instrucciones también puede comprender un algoritmo que generalmente se concibe como una secuencia autoconsistente de etapas que conduce a un resultado deseado. Estas etapas son las que requieren manipulaciones físicas de cantidades físicas. Normalmente, aunque no necesariamente, estas cantidades adoptan la forma de pulsos eléctricos o magnéticos o señales capaces de almacenarse, transferirse, transformarse, combinarse, compararse y manipularse de otra forma. En ocasiones resulta conveniente, principalmente por razones de uso común, hacer referencia a estas señales como valores, caracteres, datos de visualización, números o similares como referencia a los puntos o manifestaciones físicas en las que se incorporan o expresan dichas señales. Debe tenerse en cuenta, sin embargo, que todos estos términos y términos similares deben asociarse con las cantidades físicas apropiadas y se usan meramente como etiquetas convenientes aplicadas a esas cantidades. De acuerdo con algunas realizaciones de la presente divulgación, se incorpora un algoritmo para realizar una comparación entre una cantidad determinada de uno o más marcadores desvelados en el presente documento y una referencia adecuada y se realiza ejecutante las instrucciones. Los resultados pueden proporcionarse como resultados de datos de partida paramétricos de diagnóstico o como cantidades absolutas o relativas. De acuerdo con diversas realizaciones del sistema desvelado en el presente documento, puede proporcionarse un "diagnóstico" por el dispositivo informático de un sistema desvelado en el presente documento basándose en dicha comparación de la "cantidad" calculada con una referencia o un umbral. Por ejemplo, un dispositivo informático de un sistema puede proporcionar un indicador, en forma de una palabra, símbolo o valor numérico que es indicativo de un diagnóstico particular.

El dispositivo informático también puede tener acceso a un dispositivo de salida. Los dispositivos de salida ejemplares incluyen máquinas de fax, pantallas, impresoras y archivos, por ejemplo. De acuerdo con algunas realizaciones de la presente divulgación, un dispositivo informático puede realizar una o más etapas de un método desvelado en el presente documento y posteriormente proporcionar una salida, a través de un dispositivo de salida, en relación con un resultado, indicación, relación u otro factor del método.

Para finalizar, la invención se refiere a un kit adaptado para realizar un método de la presente invención que comprende al menos un agente de detección que se une específicamente a un marcador seleccionado del grupo que consiste en GDF-15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), endostatina, mimecan, IGF1R (proteína de unión a IGF 1), una troponina cardiaca, un péptido de tipo BNP, ácido úrico, Gal3 (galectina-3), osteopontina, sST2 (ST2 soluble), sFlt-1, PlGF, P1NP, cistatina C, prealbúmina y transferrina, patrones de referencia así como instrucciones para realizar dicho método.

El término "kit", como se usa en el presente documento, se refiere a una colección de los componentes mencionados anteriormente, preferentemente, proporcionados por separado o dentro de un solo recipiente. El recipiente comprende opcionalmente instrucciones para llevar a cabo el método de la presente divulgación. Estas instrucciones pueden estar en forma de un manual o pueden proporcionarse por un código de programa informático que es capaz de realizar las comparaciones a las que se hace referencia en los métodos de la presente invención y establecer un diagnóstico de acuerdo con esto cuando se implementa en un ordenador o un dispositivo de procesamiento de datos. El código de programa informático puede proporcionarse en un dispositivo o medio de almacenamiento de datos tal como un medio de almacenamiento óptico (por ejemplo, un disco compacto) o directamente en un ordenador o dispositivo de procesamiento de datos. Además, el kit comprenderá al menos un patrón para una referencia como se ha definido anteriormente en el presente documento, es decir, una solución con una cantidad predefinida para el biomarcador como se cita en el presente documento que representa una cantidad de referencia.

En algunas realizaciones, un kit desvelado en el presente documento incluye al menos un componente o una combinación envasada de componentes para poner en práctica el método desvelado. Por "combinación envasada" se entiende que los kits proporcionan un solo envase que contiene una combinación de uno o más componentes, tales como sondas (por ejemplo, un anticuerpo), controles, tampones, instrucciones de reactivos (por ejemplo, conjugado y/o sustrato) y similares, como se desvela en el presente documento. Dentro de la definición de

"combinación envasada" también se incluye un kit que contiene un solo recipiente. En algunas realizaciones, los kits incluyen al menos una sonda, por ejemplo, un anticuerpo (que tiene afinidad específica por un epítipo de un biomarcador como se desvela en el presente documento). Por ejemplo, los kits pueden incluir un anticuerpo que está marcado con un fluoróforo o un anticuerpo que es un miembro de una proteína de fusión. En el kit, la sonda puede estar inmovilizada y puede estar inmovilizada en una conformación específica. Por ejemplo, una sonda inmovilizada puede proporcionarse en un kit para unirse específicamente a una proteína diana, para detectar la proteína diana en una muestra y/o para retirar una proteína diana de una muestra.

De acuerdo con algunas realizaciones, los kits incluyen al menos una sonda, que puede estar inmovilizada, en menos en un recipiente. Los kits también pueden incluir múltiples sondas, opcionalmente inmovilizadas, en uno o más recipientes. Por ejemplo, las múltiples sondas pueden estar presentes en un solo recipiente o en recipientes separados, por ejemplo, en donde cada recipiente contiene una única sonda.

En algunas realizaciones, un kit puede incluir una o más sondas no inmovilizadas y uno o más soportes sólidos que incluyen o no una sonda inmovilizada. Algunas de estas realizaciones pueden comprender todos o algunos de los reactivos y suministros necesarios para inmovilizar una o más sondas en el soporte sólido o algunos o todos los reactivos y suministros necesarios para unir sondas inmovilizadas a proteínas específicas dentro de una muestra.

En determinadas realizaciones, una sola sonda (incluyendo múltiples copias de la misma sonda) pueden inmovilizarse en un solo soporte sólido y proporcionarse en un solo recipiente. En otras realizaciones, en un solo recipiente se proporcionan dos o más sondas, cada una específica para una proteína diana diferente o una forma diferente de una sola proteína diana (tal como un epítipo específico). En algunas de dichas realizaciones, una sonda inmovilizada puede proporcionarse en múltiples recipientes diferentes (por ejemplo, en forma de un solo uso) o múltiples sondas inmovilizadas pueden proporcionarse en múltiples recipientes diferentes. En realizaciones adicionales, las sondas pueden inmovilizarse en múltiples tipos diferentes de soportes sólidos. Para los kits desvelados en el presente documento se contempla cualquier combinación de sonda(s) inmovilizada(s) y puede seleccionarse cualquier combinación de los mismos para conseguir un kit adecuado para un uso deseado.

Un recipiente de los kits puede ser cualquier recipiente que es adecuado para envasar y/u contener uno o más componentes desvelados en el presente documento, incluyendo, por ejemplo, sondas (por ejemplo, un anticuerpo), controles, tampones y reactivos (por ejemplo, conjugado y/o sustrato). Los materiales adecuados incluyen, pero sin limitación, vidrio, plástico, cartón u otro producto del papel, madera, metal o cualquier aleación del mismo. En algunas realizaciones, el recipiente puede encerrar completamente a una o más sondas inmovilizadas o simplemente puede cubrir la sonda para minimizar la contaminación por polvo, aceites, etc. y exposición a la luz. En algunas realizaciones adicionales, los kits pueden comprender un solo recipiente o múltiples recipientes y cuando están presentes múltiples recipientes, cada recipiente puede ser igual a todos los demás recipientes, diferente a los otros o diferente de algunos pero no todos los demás recipientes.

LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a:

1. Un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un medicamento, siendo dicho medicamento un antagonista de aldosterona, que comprende:

- a) determinar la cantidad de los biomarcadores PIGF y sFlt-1 en una muestra de sangre, suero o plasma de un sujeto que padece insuficiencia cardíaca y
- b1) calcular una relación entre la cantidad de PIGF y la cantidad de sFlt-1 (o viceversa) y comparar la relación calculada con una relación de referencia, con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona, o
- b2) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia, con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona.

2. El método de la cláusula 1, en donde la administración es la iniciación de la administración del antagonista de aldosterona o la administración del antagonista de aldosterona a una dosificación superior.

3. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 o 2, en donde el sujeto es un ser humano.

4. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 3, en donde una relación entre la cantidad de PIGF y la cantidad de sFlt-1 en la muestra de ensayo que está aumentada en comparación con la relación de referencia es indicativa de un sujeto que es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona, y/o en donde una relación que está disminuida en comparación con la relación de referencia es indicativa de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona.

5. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 4, en donde el sujeto padece insuficiencia cardíaca en estadio B, C o D de acuerdo con la clasificación del ACC/AHA.

6. Uso de i) los biomarcadores sFlt-1 y PIGF o de ii) un agente de detección que se une específicamente a PIGF y un agente de detección que se une específicamente a sFlt-1, en una muestra de sangre, suero o plasma, de un sujeto que padece insuficiencia cardíaca para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un antagonista de aldosterona.

Las Figuras muestran:

Fig. 1: Efecto de adición/ajuste hacia arriba de un antagonista de aldosterona basado en niveles de marcadores.

Fig. 2: Efecto de adición/ajuste hacia arriba de un β -bloqueante basado en niveles de marcadores.

Fig. 3: Efecto de adición/ajuste hacia arriba de diuréticos basado en niveles de marcadores.

Fig. 4: Efecto de adición/ajuste hacia arriba de un inhibidor del sistema renina-angiotensina (RAS) basado en niveles de marcadores.

Ejemplos

(No todos relacionados con la invención)

Ejemplo 1: Ensayos

Se determinaron los siguientes marcadores en plasma sanguíneo.

La troponina T se determinó usando la prueba de ELISA sándwich de electroquimioluminiscencia de Roche, el ensayo Elecsys Troponin T hs (altamente sensible) STAT (corto tiempo de procesamiento). La prueba emplea dos anticuerpos monoclonales dirigidos específicamente contra la troponina T cardíaca humana. Los anticuerpos reconocen dos epítomos (posiciones de aminoácidos 125-131 y 136-147) ubicadas en la parte central de la proteína de troponina T cardíaca, que consta de 288 aminoácidos. El ensayo hs-TnT permite la medida de los niveles de troponina T en el intervalo de 3 a 10000 pg/ml.

La NT-proBNP se determinó usando la prueba de ELISA sándwich de electroquimioluminiscencia de Roche, el ensayo Elecsys proBNP II STAT (corto tiempo de procesamiento). La prueba emplea dos anticuerpos monoclonales que reconocen epítomos ubicados en la parte N-terminal (1-76) de proBNP (1-108).

Para determinar la concentración de GDF-15 en muestras de suero y de plasma, se empleó un prototipo de prueba Elecsys, que usa un anticuerpo para GDF-15 de IgG de cabra anti-GDF-15 de humano purificado por cromatografía de afinidad de R&D Systems (AF957). En cada experimento, se generó una curva patrón con GDF-15 de humano recombinante de R&D Systems (957-GD/CF). Los resultados con nuevos lotes o con proteína GDF-15 recombinante se probaron en muestras de plasma estándar y se corrigió cualquier desviación por encima del 10% introduciendo un factor de ajuste para este ensayo. Las mediciones de GDF-15 en muestras de suero y plasma del mismo paciente proporcionaron resultados prácticamente idénticos después de corregirlos respecto de eventuales factores de dilución. El límite de detección para el ensayo era de 200 pg/ml.

Para la detección de IGFBP7 en suero o plasma humano, se usó un ELISA sándwich. Para la captura y detección del antígeno, se conjugaron alícuotas de un anticuerpo policlonal anti-IGFBP7 de R&D Systems (número de catálogo: AF 1334) con biotina y digoxigenina, respectivamente.

Se incubaron placas de microtitulación de 96 pocillos recubiertas con estreptavidina con 100 μ l de anticuerpo policlonal anti-IGFBP7 biotinilado durante 60 min a razón de 1 pg/ml en solución de PBS 1x. Después de la incubación, se lavaron las placas tres veces con PBS 1x + Tween-20 al 0,02%, se bloquearon con PBS + BSA (seroalbúmina bovina) al 1% y después se lavaron nuevamente tres veces con PBS 1x + Tween-20 al 0,02%. Después, los pocillos se incubaron durante 1,5 h con una dilución seriada de IGFBP7 recombinante como antígeno patrón o con muestras de suero o plasma diluidas (1:50) de pacientes o individuos de control, respectivamente. Después de la unión de IGFBP7, se lavaron las placas tres veces con PBS 1x + Tween-20 al 0,02%. Para la detección específica de IGFBP7 unida, se incubaron los pocillos con 100 μ l de anticuerpo policlonal anti-IGFBP7 biotinilado durante 60 min a razón de 1 μ g/ml en PBS 1x + BSA al 1%. Posteriormente, se lavaron las placas tres veces para eliminar el anticuerpo no unido. En una etapa posterior, los pocillos se incubaron con 75 mU/ml de conjugados anti-digoxigenina-POD (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania, n.º de catálogo 1633716) durante 60 min en PBS 1x + BSA al 1%. Posteriormente, se lavaron las placas seis veces con el mismo tampón. Para la detección de complejos de antígeno-anticuerpo, los pocillos se incubaron con 100 μ l de solución ABTS (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania, n.º de catálogo 11685767) y se midió la densidad óptica (DO) después de 15 min a 405 y 492 nm con un lector de ELISA.

Gal-3 se determinó usando el ensayo BGM Galectin-3 (BG medicine, Waltham, MA, EE. UU.). Este mide cuantitativamente la galectina-3 en suero o EDTA-plasma mediante un ensayo inmunosorbente ligado a enzimas (ELISA) en un formato de placa de microtitulación. Emplea dos anticuerpos monoclonales contra galectina-3. La superficie de los pocillos de una placa de microtitulación se recubre con un anticuerpo monoclonal de rata anti-galectina-3 de ratón y este sirve como anticuerpo de captura para unirse a las moléculas de galectina-3 en las muestras, mientras que el otro anticuerpo monoclonal anti-galectina-3 humana se proporciona en solución y funciona como anticuerpo trazador para detectar las moléculas de galectina-3 unidas al anticuerpo de captura.

Para la detección de mimecan en suero o plasma humano, se usó un ELISA sándwich. Para la captura y detección del antígeno, se conjugaron alícuotas de un anticuerpo policlonal anti-mimecan de R&D Systems (número de catálogo AF 2660) con biotina y digoxigenina, respectivamente. Se incubaron placas de microtitulación de 96 pocillos recubiertas con estreptavidina con 100 µl de anticuerpo policlonal anti-mimecan biotinilado durante 60 min a razón de 0,2 µg/ml en solución de PBS 1x. Después de la incubación, se lavaron las placas tres veces con PBS 1x + Tween-20 al 0,02%, se bloquearon con PBS + BSA (seroalbúmina bovina) al 2% durante 45 min y después se lavaron nuevamente tres veces con PBS 1x + Tween-20 al 0,02%. Después, se incubaron los pocillos durante 1 h con 100 µl de una dilución seriada de mimecan recombinante como antígeno patrón o con muestras de suero o plasma diluidas (1:5 en PBS 1x + BSA al 1%) de pacientes o individuos de control, respectivamente. Después de la unión de mimecan, se lavaron las placas tres veces con PBS 1x + Tween-20 al 0,02%. Para la detección específica de mimecan unido, se incubaron los pocillos con 100 µl de anticuerpo policlonal anti-mimecan biotinilado durante 45 min a razón de 0,2 µg/ml en PBS 1x + BSA al 1%. Posteriormente, se lavaron las placas tres veces para eliminar el anticuerpo no unido. En una etapa posterior, los pocillos se incubaron con 100 µl de 75 mU/ml de conjugados anti-digoxigenina-POD (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania, n.º de catálogo 1633716) durante 30 min en PBS 1x + BSA al 1%. Posteriormente, se lavaron las placas seis veces con el mismo tampón de lavado anterior. Para la detección de complejos de antígeno-anticuerpo, los pocillos se incubaron con 100 µl de solución ABTS (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania, n.º de catálogo 11685767) y se midió la densidad óptica (DO) después de 15 min a 405 y 492 nm con un lector de ELISA.

Para la medición de endostatina en suero o plasma humano, se usó un ELISA sándwich disponible comercialmente (inmunoensayo para endostatina humana Quantikine, número de catálogo DNSTO, R&D Systems). Las mediciones se efectúan de acuerdo con las instrucciones proporcionadas por el fabricante.

Se determinó sST2 usando el ensayo Presage™ ST2 de Critical Diagnostics (San Diego, CA, EE. UU.). El ensayo es un ELISA sándwich cuantitativo con anticuerpo monoclonal en un formato de placa de 96 pocillos para medir ST2 en suero o plasma. Se cargó plasma diluido en los pocillos adecuados en la placa recubierta con anticuerpo anti-ST2 y se incubó durante el tiempo indicado. Después de una serie de etapas en las que se lavaron los reactivos de la placa y se añadieron reactivos adicionales y posteriormente se eliminaron por lavado, el analito se detectó finalmente mediante la adición de un reactivo colorimétrico y la señal resultante se midió espectroscópicamente a 450 nm.

El biomarcador, mimecan, se determinó tal como se describe en el documento WO2011/012268.

Se ensayaron PIGF y sFlt1 usando un inmunoensayo ELECSYS que emplea dos anticuerpos que son específicos para PIGF y sFlt1, respectivamente. La prueba puede llevarse a cabo de manera automática usando diferentes analizadores de Roche, incluyendo ELECSYS 2010 y cobra e411 y cobra e601. La prueba tiene una sensibilidad de 3 pg/ml respecto de PIGF. La cantidad de sFlt-1 es de entre 10 a 85.000 pg/ml.

La prealbúmina se ensayó usando una prueba *in vitro* para la determinación cuantitativa de prealbúmina en suero humano en sistemas cobas c de Roche/Hitachi (ACN 710 para los analizadores c 311/501; ACN 8710 para los analizadores c 520; n.º de cat. 20764655 322). El ensayo es un ensayo inmunoturbidimétrico. La prealbúmina humana forma un precipitado con un antisuero específico, que se determina por turbidimetría.

Se analizó la cistatina C usando un ensayo inmunoturbidimétrico para la determinación cuantitativa *in vitro* de cistatina C en suero y plasma humano en analizadores de química clínica automatizados de Roche (para Roche/Hitachi 917, analizadores MODULAR P: ACN 431, n.º de cat. 04975774 190). La cistatina C humana se aglutina con partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-cistatina C. El agregado se determina por turbidimetría a 546 nm.

Ejemplo 2: Cohorte de pacientes/resultados

Ejemplos del estudio TIME-CHF: Se determinaron los niveles de GDF-15, TnT-hs, ácido úrico, endostatina, IGFBP-7, mimecan, sST2, galectina-3 y osteopontina en muestras de n= 450 pacientes del ensayo aleatorizado TIME-CHF (con edades de 60 años o superiores con IC sistólica (fracción de eyección ≤ 45%), NYHA de clase II o mayor antes de su hospitalización por IC durante 1 año antes y nivel de NTproBNP de 2 o más veces el límite superior de la normalidad). El estudio TIME-CHF se describe en BNP-Guided vs Symptom-Guided Heart Failure Therapy JAMA, 2009; 301 (4):383-392.

En la evaluación inicial, la mayoría de los pacientes estaban recibiendo la terapia para la IC recomendada de inhibidores de ACE o bloqueantes del receptor de angiotensina II, β -bloqueante, diuréticos.

5 Los biomarcadores se midieron en la evaluación inicial y a los 6 meses. Los números proporcionados en la tabla más adelante es el % de pacientes con "mal resultado" (fallecimiento, hospitalización repetida). Se analizó si los biomarcadores medidos podrían permitir identificar pacientes que se beneficiarían de un aumento de la dosis o de una reducción del intervalo de dosificación de betabloqueante, un antagonista de aldosterona, un diurético y/o un inhibidor del sistema de renina-angiotensina y/o de la adición de ciertos medicamentos a la terapia. Para este análisis, se dividió a los pacientes en i) un grupo de sujetos que recibió una dosis aumentada de los medicamentos y/o que recibió un medicamento adicional y ii) un grupo de sujetos en los que no se modificó el régimen de tratamiento. En una etapa posterior, se dividieron los dos grupos en grupos basándose en el nivel de biomarcador respectivo (por debajo de la mediana/por encima de un umbral). Los resultados se muestran en la tabla 1:

10

Tabla 1: Efecto de selección de la terapia basada en nivel de marcador (RAS: Inhibidores del sistema renina-angiotensina, por ejemplo, ACEi, ARBs, BB: β-bloqueante, Espiro: espirolactona, antagonistas de aldosterona)

	RAS		BB		Diurético		Espiro	
	Sin aumento	Aumento	Sin aumento	Aumento	Sin aumento	Aumento	Sin aumento	Aumento
Endostatina 250	Por debajo	18,8%	22,0%	20,8%	13,2%	33,3%***	20,0%	21,9%
	Por encima	39,2%	39,3%	49,1%	29,6%***	28,3%	50,0%***	37,2%
Mimecan 50	Por debajo	18,9%	19,2%	18,9%	19,2%	11,9%	31,6%***	22,2%
	Por encima	40,0%	39,7%	50,0%	30,4%***	29,6%	50,0%***	38,4%
IGFBP7 100	Por debajo	34,8%	36,5%	42,3%	29,8%*	25,4%	48,0%***	50,0%**
	Por encima	23,1%	23,1%	26,4%	19,6%	14,5%	35,7%***	26,0%
GDF-15 4000	Por debajo	15,7%	24,2%	20,3%	20,4%	11,8%	33,3%***	33,3%
	Por encima	50,0%	50,0%	58,1%	41,0%*	37,5%	61,9%***	40,0%
NT-BNP 3000	Por debajo	13,6%	20,4%	20,8%	13,3%	17,7%	16,1%	20,8%
	Por encima	40,7%	39,7%	49,2%	31,8%***	22,6%	56,9%***	40,6%
hs-TnT med	Por debajo	19,3%	25,9%	23,4%	21,6%	12,5%	39,5%***	25,0%
	Por encima	50,0%	43,5%	56,8%	37,2%**	38,9%	52,3%	44,4%
sST-2 34	Por debajo	16,3%	16,7%	15,7%	17,4%	12,3%	25,0%	20,8%
	Por encima	48,4%	52,4%	62,9%	39,5%	39,4%	60,0%	56,2%
Gal-3 31.6	Por debajo	34,4%	22,7%	32,4%	23,1%	16,3%	42,4%	40,0%
	Por encima	27,9%	45,7%	37,2%	34,3%	27,1%	50,0%	26,7%
OPN 99.8	Por debajo	15,8%	21,3%	22,5%	15,6%	13,0%	29,0%	26,1%
	Por encima	42,9%	47,6%	50,0%	40,0%	31,8%	60,0%	47,1%
Ácido úrico	Por debajo	17,4%	30,0%*	28,1%	20,4%	18,2%	35,0%**	30,0%
	Por encima	50,0%	44,4%	50,0%	44,4%	27,8%	65,0%**	58,3%

Explicación de la presentación de los resultados en la tabla 1: Por ejemplo, los pacientes con un valor de endostatina en la evaluación inicial de menos de 250 que recibieron un aumento de betabloqueante (BB) durante los 6 primeros meses tienen una tasa de eventos del 20,4% en comparación con un 20,8% sin aumento. Por el contrario, las tasas de eventos difirieron de manera significativa (p<0,05) en aquellos con niveles de endostatina por encima de 250, donde en pacientes con un aumento de BB fue del 29,6%, pero en aquellos sin un aumento de BB fue del 49,1%. Valores de p:

*0,1 - 0,2
 **0,05 - 0,1
 ***0,01 - 0,05
 ****<0,01

Los datos se analizaron posteriormente usando análisis de componentes principales funcionales (fPCA). El fPCA reduce la dimensionalidad de los complejos datos de dosificación de fármacos para posibilitar el análisis de interacción con los niveles de marcador y los resultados en diversos puntos de tiempo (posteriores a la evaluación inicial). En este caso, se usaron tres componentes principales que representan 1) el nivel de dosis general de un fármaco durante el estudio (componente más importante), 2) la tendencia a aumentar o reducir la dosis de un fármaco durante el estudio y 3) la tendencia a en primer lugar aumentar y después reducir la dosis de un fármaco o primero reducirla y después aumentarla. La ventaja y la información complementaria del fPCA en comparación con el análisis de estratificación en la evaluación inicial (análisis previo) es que revela la interacción entre los marcadores y los fármacos en puntos de tiempo posteriores a la evaluación inicial. Por lo tanto, pueden evaluarse interacciones adicionales y predicciones de respuesta. Después, se evaluaron los componentes del fPCA respecto de la interacción y la predicción de respuesta a la terapia con la mediana de niveles de marcador y los resultados usando el mismo criterio de valoración descrito anteriormente. El resultado y la fuerza de la interacción se representan en la tabla a continuación. Estos resultados confirman muchas de las interacciones halladas con anterioridad y sugieren combinaciones de marcador-fármaco adicionales.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 2: Análisis de componentes principales funcionales

Componentes de clase de fármacos	Diuréticos			del asa			RAS			BB			Espiro			
	*1	*2	*3	*1	*2	*3	*1	*2	*3	*1	*2	*3	*1	*2	*3	
IGFBP7				1				3			4	1	1		1	4
Endostatina		1			1			1						1		2
Mimecan								3			3	2			2	
sST2													3	2	1	
Gal-3			3	1		2			3					3	1	
Hs-cTnT		3	1		3	2	1	1								
sFlit-1			2				4	3			2			2		3
PLGF		1			1				4				3	4		
P1NP										3	3					
Cistatina C														4		
Prealbúmina	3			2												
Transferrina	2				2											
Osteopontina			2				3	1								3
GDF-15				3	1		3									1
Ácido úrico	2			2			1				2		1	2		
NT-proBNP			1		1		3	1		2	3		1			

Nivel de significado de término de interacción
 1 0,1 - 0,2
 2 0,05 - 0,1
 3 0,01 - 0,05
 4 <0,01

Resultados para IGFBP7: La evaluación de los datos mostró que los pacientes con niveles de IGFBP-7 (independientes de otro biomarcador) por debajo de un valor de referencia en la evaluación inicial (en el estudio, < 100 ng/ml) no se benefician de la adición o del ajuste hacia arriba de espironolactona. En caso de que los niveles de IGFBP-7 se encuentren por encima de un valor de referencia (en el estudio, > 100 ng/ml, corte aún por definir; dependiente de la edad, en la población más joven se suelen encontrar niveles más bajos), se deben añadir o ajustar hacia arriba antagonistas de aldosterona (por ejemplo, espironolactona) y/o beta bloqueantes. La supervivencia a los 18 meses mejoró en el segundo grupo, mientras que para el primer grupo, no cambia la tasa de supervivencia.

Resultados para GDF-15: La evaluación de los datos mostró que los pacientes con niveles de GDF-15 (independientes de otro biomarcador) por debajo de un valor de referencia en la evaluación inicial (en el estudio, < 4000 pg/ml) no se benefician de la administración adicional o del ajuste hacia arriba de β -bloqueante o de antagonistas de aldosterona (por ejemplo, espironolactona), mientras que los pacientes con niveles de GDF-15 por encima de un valor de referencia (en el estudio, > 4000 pg/ml) tienen probabilidades de beneficiarse de la adición o del ajuste hacia arriba de β -bloqueantes o antagonistas de aldosterona. La supervivencia a los 18 meses mejoró en el segundo grupo, mientras que para el primer grupo, no cambia la tasa de supervivencia.

Resultados para endostatina: La evaluación de los datos mostró que los pacientes con niveles de endostatina (independientes de otro biomarcador) por debajo de un valor de referencia en la evaluación inicial (en el estudio, < 250 ng/ml) no se benefician de la administración adicional o del ajuste hacia arriba de β -bloqueante. Los pacientes que ya se encuentran en tratamiento con un β -bloqueante han de continuar tomándolo, pero no se necesita aumentar la dosis. Los pacientes con niveles de endostatina por encima de un valor de referencia (en el estudio, > 250 ng/ml) tienen probabilidades de beneficiarse de la administración adicional de β -bloqueante. Adicionalmente, debe evitarse ajustar hacia arriba diuréticos. La supervivencia a los 18 meses mejoró en el segundo grupo, mientras que para el primer grupo, no cambia la tasa de supervivencia.

Resultados para mimecan: La evaluación de los datos mostró que los pacientes con niveles de mimecan (independientes de otro biomarcador) por debajo de un valor de referencia en la evaluación inicial (en el estudio, < 50 ng/ml) no se benefician de la administración adicional o del ajuste hacia arriba de un β -bloqueante. En caso de que los niveles de mimecan se encuentren por encima de un valor de referencia (en el estudio, > 50 ng/ml, debe añadirse un β -bloqueante o debe ajustarse hacia arriba la dosis de un β -bloqueante. Adicionalmente, debe evitarse ajustar hacia arriba diuréticos.

Resultados para NTproBNP: La evaluación de los datos mostró que los pacientes con niveles de NTproBNP por encima de un valor de referencia (en el estudio, > 3000 pg/ml), no se benefician de la adición o del ajuste hacia arriba de diuréticos.

Resultados para sST2: La evaluación de los datos mostró que los pacientes con niveles de sST2 por encima de un valor de referencia (en el estudio, >34,0 g/ml), se benefician de la adición o del ajuste hacia arriba de un β -bloqueante.

Resultados para Gal-3: La evaluación de los datos mostró que los pacientes con niveles de gal-3 por debajo de un valor de referencia (en el estudio, <31,6 g/ml), se benefician de la adición o del ajuste hacia arriba de un inhibidor del sistema de renina-angiotensina.

Resultados para sFlt-1: La evaluación de los datos mostró que los pacientes con niveles de sFlt-1 por debajo de un valor de referencia (en el estudio, <98 g/ml), se benefician de la adición o del ajuste hacia arriba de inhibidores de RAS y/o de antagonistas de aldosterona.

Resultado para PIGF: La evaluación de los datos mostró que los pacientes con niveles de sFlt-1 por encima de un valor de referencia (en el estudio, >20,7 g/ml), se benefician de la adición o del ajuste hacia arriba de antagonista de aldosterona.

Resultados para osteopontina: La evaluación de los datos mostró que los pacientes con niveles de osteopontina por encima de un valor de referencia (en el estudio, > 100g/ml), no se benefician de la adición o del ajuste hacia arriba del tratamiento con diuréticos.

Pueden extraerse las siguientes conclusiones:

- Si la endostatina se encuentra por encima de la cantidad de referencia, debe añadirse un BB y/o debe ajustarse hacia arriba su dosis. Adicionalmente, debe evitarse el ajuste hacia arriba de antagonistas de aldosterona y/o de diuréticos.
- Si el mimecan se encuentra por encima de la cantidad de referencia, debe añadirse un BB y/o debe ajustarse hacia arriba la dosis del BB. Adicionalmente, debe evitarse ajustar hacia arriba diuréticos.
- Si IGFBP7 se encuentra por debajo de la cantidad de referencia, deben añadirse o ajustarse hacia arriba BB. Si IGFBP7 se encuentra por encima del valor de referencia, debe añadirse o ajustarse hacia arriba un antagonista de aldosterona.
- Si IGFBP7 se encuentra por debajo de la cantidad de referencia, NO deben añadirse o ajustarse hacia arriba antagonistas de aldosterona e inhibidores de RAS.
- Si GDF-15 se encuentra por encima de la cantidad de referencia, deben añadirse o ajustarse hacia arriba un BB, un inhibidor de RAS y antagonistas de aldosterona. Por el contrario, no debería añadirse un diurético o aumentar la dosis de un diurético.
- En caso de que cTnT-hs se encuentre por encima de la mediana, pueden ajustarse hacia arriba inhibidores de RAS, compuestos BB o antagonistas de aldosterona, mientras que esto no debe hacerse cuando cTnT-hs se encuentra por debajo de la mediana.

- En caso de que el ácido úrico se encuentre por encima de la mediana, pueden ajustarse hacia arriba compuestos inhibidores de RAS. Adicionalmente, debe evitarse el ajuste hacia arriba de diuréticos y/o antagonistas de aldosterona.
- 5 • Los pacientes con niveles de NTproBNP por encima de una cantidad de referencia (en este estudio, > 3000 pg/ml) no se benefician del ajuste hacia arriba de diuréticos, pero deberían ajustarse hacia arriba inhibidores de RAS y BB. Los pacientes con niveles de NTproBNP por debajo de una cantidad de referencia (en este estudio, < 3000 pg/ml) no se benefician del ajuste hacia arriba de inhibidores de RAS.
- 10 • En caso de que gal-3 se encuentre por encima de la mediana, deben añadirse y/o ajustarse hacia arriba antagonistas de aldosterona.
- 15 • En caso de que la osteopontina se encuentre por encima de la mediana, deben añadirse y/o ajustarse hacia arriba inhibidores de RAS. En caso de que la osteopontina se encuentre por debajo de la mediana, deben añadirse y/o ajustarse hacia arriba compuestos BB.
- 20 • En caso de que sFlt-1 se encuentre por debajo de la cantidad de referencia (en este estudio, se usó la mediana), deben añadirse y/o ajustarse hacia arriba inhibidores de RAS, compuestos BB y/o antagonistas de aldosterona.
- 25 • En caso de que PLGF se encuentre por encima de la cantidad de referencia (por ejemplo, la mediana), deben añadirse y/o ajustarse hacia arriba antagonistas de aldosterona.
- 30 • En caso de que sST2 se encuentre por encima de la cantidad de referencia (por ejemplo, la mediana), se deben añadir y/o ajustar hacia arriba antagonistas de aldosterona y/o beta bloqueantes.
- 35 • En caso de que P1NP se encuentre por debajo de la cantidad de referencia (por ejemplo, la mediana), deben añadirse y/o ajustarse hacia arriba beta bloqueantes.
- En caso de que la prealbúmina se encuentre por encima de la cantidad de referencia (por ejemplo, la mediana), no se deben añadir diuréticos, debe reducirse la dosis o no debe ajustarse hacia arriba.
- En caso de que la transferrina se encuentre por encima de la cantidad de referencia (por ejemplo, la mediana), no se deben añadir diuréticos, debe reducirse la dosis o no debe ajustarse hacia arriba.
- En caso de que la cistatina C se encuentre por debajo de la cantidad de referencia (por ejemplo, la mediana), no se deben añadir o ajustar hacia arriba antagonistas de aldosterona, deben reducirse las dosis elevadas.
- En caso de que la relación PIGF/sFlt-1 C se encuentre por encima de la relación de referencia (por ejemplo, mediana), debe añadirse o ajustarse hacia arriba la dosis de antagonistas de aldosterona.
- 40 Por lo tanto, mediante la aplicación de los algoritmos diagnósticos resumidos anteriormente, puede identificarse a un sujeto que sea elegible para la administración (es decir, la administración inicial o la administración de una dosis mayor, "ajuste hacia arriba") de los medicamentos citados anteriormente. Las cantidades de referencia adecuadas pueden determinarse como se describe en la memoria descriptiva.
- 45 Ejemplo 3: Estudios de casos individuales
- Un paciente varón de 89 años con insuficiencia cardíaca de clase C recibe bajas dosis de clortalidona (25 mg/d), enalapril (5 mg/d) y metoprolol (25 mg/d). El paciente muestra signos de progresión de la insuficiencia cardíaca, con niveles elevados de NT-proBNP. El paciente también tiene asma y el médico a cargo de su tratamiento duda de si debería ajustarse hacia arriba el BB. Se determina mimecan en una muestra de plasma obtenida del paciente. El valor de mimecan se encuentra por encima de 80 pg/ml. Se intensifica la terapia mediante el ajuste hacia arriba secuencial de enalapril (hasta 20 mg/d) y de metoprolol (100 mg/d). Por el contrario, no se aumenta la dosis de clortalidona. El paciente permanece estable, con un buen resultado hasta el final del estudio (sin fallecimiento u hospitalización).
- 50
- 55 Una paciente mujer de 90 años con insuficiencia cardíaca de clase C recibe una combinación de dosis fija combinada de hidroclorotiazida (12,5 mg/d) y valsartán (80 mg/d), así como atenolol (100 mg/d). La paciente ha tenido un episodio de descompensación y hospitalización en el pasado. En su última visita, empeoró la tolerancia al ejercicio de la paciente y en la prueba de caminar durante 6 minutos logró una menor distancia caminada en comparación con su última visita, 3 meses antes. Se determinan NT-proBNP e IGFBP-7 en una muestra de plasma obtenida de la paciente. El valor de NT-pro-BNP se encuentra por encima de 1000 pg/ml y el valor de IGFBP-7 se encuentra por encima de 100 pg/ml. El médico a cargo de su tratamiento no duda de si añadir de manera segura espironolactona, ya que la paciente ha presentado ocasionalmente niveles de potasio elevados. Se intensifica la terapia y se añade espironolactona, comenzando a 25 mg/d y posteriormente se ajusta hacia arriba hasta 100 mg/d, mientras que se controla exhaustivamente el nivel de potasio en suero. Como consecuencia, el valor de NT-proBNP
- 60
- 65

se reduce a menos de 1000 pg/ml. La paciente permanece estable, con un buen resultado hasta el final del estudio (sin fallecimiento ni hospitalización).

5 Un paciente varón de 93 años con insuficiencia cardíaca de clase D recibe hidroclorotiazida (25 mg/d) y valsartán (160 mg/d), así como bisoprolol (2,5 mg/d). La paciente ha tenido un episodio de descompensación y hospitalización prolongada en el pasado. Durante su última visita, se determinan NT-proBNP e IGFBP-7 en una muestra de plasma obtenida de la paciente. El valor de NT-pro-BNP se encuentra por encima de 1000 pg/ml y el valor de IGFBP-7 se encuentra por debajo de 100 pg/ml. El médico a cargo del tratamiento no añade espironolactona. En su lugar, se intensifica la terapia ajustando hacia arriba el bisoprolol hasta 10 mg/d. El paciente permanece estable, con un buen resultado hasta el final del estudio (sin fallecimiento ni hospitalización).

15 Un paciente mujer de 70 años con insuficiencia cardíaca de clase B recibe captopril (2 x 6,25 mg/d). La paciente ha permanecido estable durante 10 meses, pero ha sido hospitalizada a causa de una insuficiencia cardíaca aguda tras haber consumido una bolsa de aperitivos de patata mientras veía la televisión. Se determinan GDF-15 y cTnT_{hs} en una muestra de plasma obtenida de la paciente en una visita programada previamente. El valor de GDF-15 se encuentra por encima de 4000 pg/ml y el de cTnT_{hs} se encuentra por encima del valor de la mediana. Para intensificar la terapia, se elige la adición del betabloqueante, metoprolol y del antagonista de aldosterona, espironolactona. La paciente experimentó solo un episodio más de hospitalización a causa de mareos e hipotensión.

20 Un paciente varón, vegetariano, de 77 años con insuficiencia cardíaca de clase C recibe valsartán (160 mg/d), así como carvedilol (12,5 mg/d). El paciente ha permanecido estable durante los 5 últimos meses, pero ingresa en el departamento de urgencias en estado descompensado con disnea aguda, estertores y taquicardia. Se determinan el ácido úrico y Gal-3 en una muestra de plasma obtenida del paciente. Los valores de ácido úrico y de Gal-3 se encuentran por debajo de la mediana. El médico a cargo del tratamiento intensifica la terapia ajustando hacia arriba el carvedilol a 50 mg/d. Además, se añade espironolactona, comenzando a 25 mg/d y después se ajusta hacia arriba a 50 mg/d. El paciente permanece estable durante 1 mes, pero después desarrolla edema, fibrilación auricular, disnea y tos. De camino al hospital, el paciente fallece a causa de muerte súbita.

30 CONCLUSIONES:

La presente divulgación proporciona un método para la selección de terapias farmacológicas que serán beneficiosas en pacientes que padecen insuficiencia cardíaca. El método predice las respuestas a la terapia y/o ayudan a seleccionar una terapia adecuada o la intensificación de la terapia. En comparación con la técnica anterior y con las estrategias para la insuficiencia cardíaca guiadas por biomarcadores, el método proporciona niveles diana específicos de diversos marcadores e indicaciones específicas para la selección y la dosis de la terapia. El método también mejora la identificación y la utilización de terapias farmacológicas para el beneficio de los pacientes y por el contrario, evitar terapias que son potencialmente perjudiciales para los pacientes. Por lo tanto, el método tiene como objetivo reducir la mortalidad y la morbilidad en pacientes con insuficiencia cardíaca.

40

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un medicamento, siendo dicho medicamento un antagonista de aldosterona, que comprende
- 10 a) determinar la cantidad de los biomarcadores PIGF y sFlt-1 en una muestra de sangre, suero o plasma de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca y
b1) calcular una relación entre la cantidad de PIGF y la cantidad de sFlt-1 (o viceversa) y comparar la relación calculada con una relación de referencia, con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona, o
15 b2) comparar las cantidades determinadas en la etapa a) con cantidades de referencia, con lo que se identifica a un sujeto que es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona.
2. El método de la reivindicación 1, en donde la administración es la iniciación de la administración del antagonista de aldosterona o la administración del antagonista de aldosterona a una dosificación superior.
3. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en donde el sujeto es un ser humano.
- 20 4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3, en donde una relación entre la cantidad de PIGF y la cantidad de sFlt-1 en la muestra de ensayo que está aumentada en comparación con la relación de referencia es indicativa de un sujeto que es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona, y/o en donde una relación que está disminuida en comparación con la relación de referencia es indicativa de un sujeto que no es elegible para la administración de dicho antagonista de aldosterona.
- 25 5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4, en donde el sujeto padece insuficiencia cardiaca en estadio B, C o D de acuerdo con la clasificación del ACC/AHA.
- 30 6. Uso de i) los biomarcadores sFlt-1 y PIGF o de ii) un agente de detección que se une específicamente a PIGF y un agente de detección que se une específicamente a sFlt1, en una muestra de sangre, suero o plasma de un sujeto que padece insuficiencia cardiaca, para identificar a un sujeto que es elegible para la administración de un antagonista de aldosterona.

Fig. 1

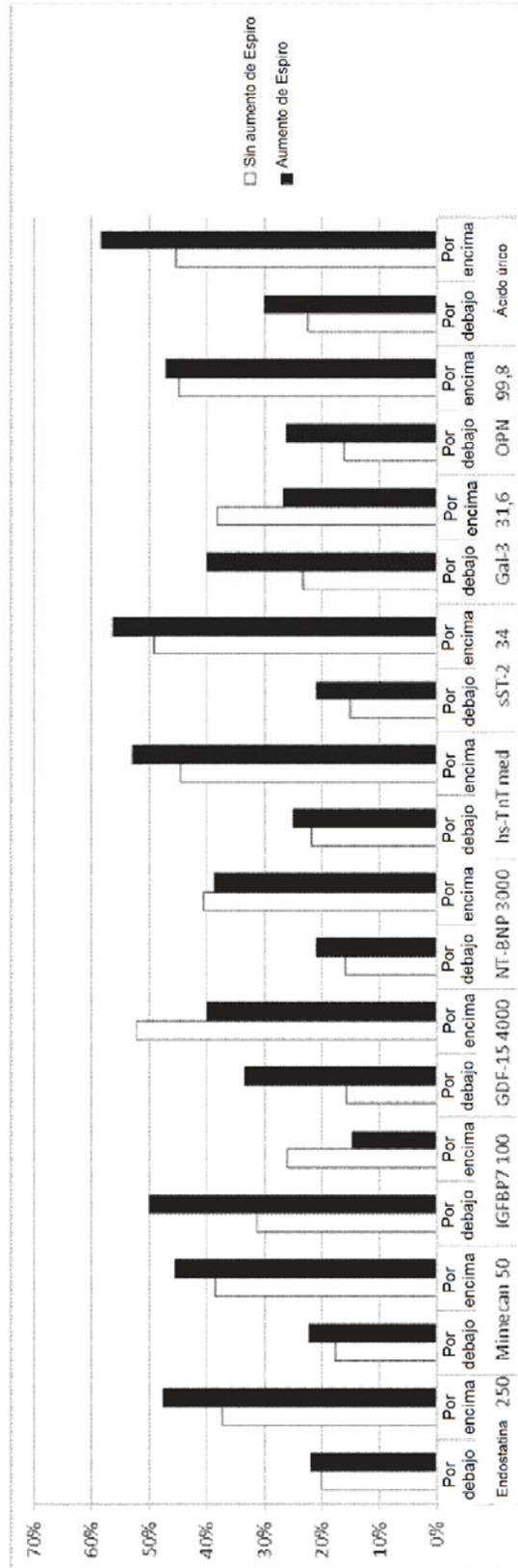


Fig. 2

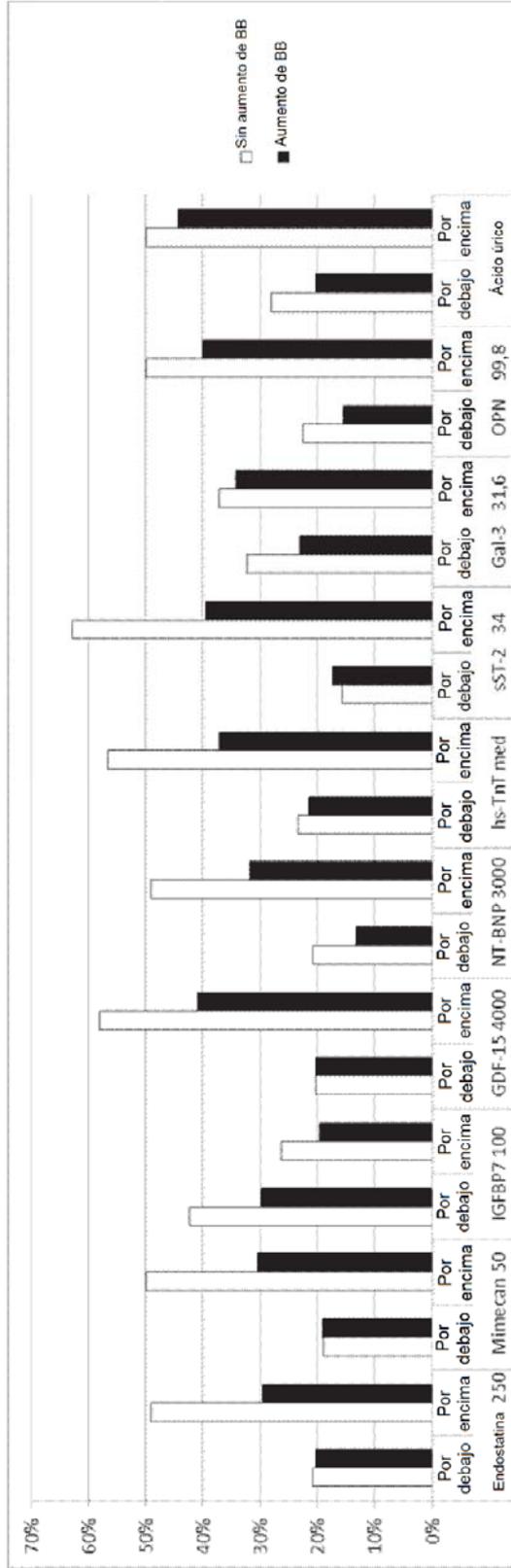


Fig. 3

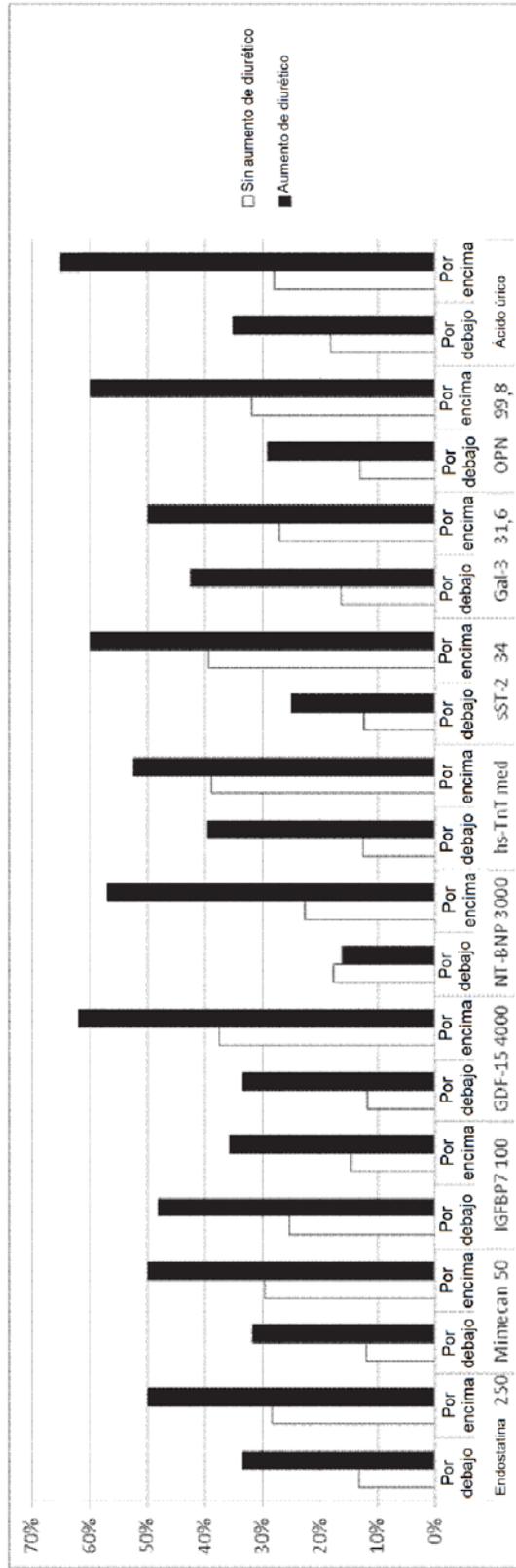


Fig. 4

