

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 687 401**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/50** (2006.01)

**C12Q 1/68** (2008.01)

**G01N 33/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.04.2009 E 16166093 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.06.2018 EP 3093663**

54 Título: **Predicción del riesgo a sufrir episodios cardíacos adversos graves**

30 Prioridad:

**18.04.2008 US 46158 P**

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

**25.10.2018**

73 Titular/es:

**CRITICAL CARE DIAGNOSTICS, INC. (100.0%)  
802 6th Avenue, Suite 63  
New York, NY 10001, US**

72 Inventor/es:

**SNIDER, JAMES V y  
HEYMAN, EUGENE R**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 687 401 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

Predicción del riesgo a sufrir episodios cardíacos adversos graves

**Reivindicación de prioridad**

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional estadounidense núm. 61/046,158, presentada el 18 de abril del 2008.

**Campo técnico**

La invención hace referencia a procedimientos para predecir el riesgo de padecer episodios cardíacos adversos graves y para detectar la presencia de enfermedades graves basadas en niveles de circulación de ST2 y en péptidos natriuréticos (NP), p.ej., NT-proBNP, solo o en combinación con otros biomarcadores.

**Antecedentes**

10 La evaluación clínica para determinar la gravedad de la enfermedad y el riesgo a sufrir episodios cardíacos adversos graves (MACE), p.ej., la mortalidad causada por un fallo cardíaco, pueden no ser siempre evidentes. La decisión sobre si tratar al sujeto de manera agresiva o conservadora, o de ingresar al sujeto como paciente hospitalizado o dejarlo ir a casa, en ocasiones puede tomarse únicamente basándose en la evaluación clínica del médico o en su  
15 "sentido clínico" en cuanto al estado actual del sujeto. Una fórmula para determinar la probabilidad de que un sujeto padezca un resultado adverso, p.ej., mortalidad, trasplante, y/o reingreso, mejoraría notablemente la capacidad del médico de tomar decisiones informadas sobre el tratamiento, mejoraría la atención al paciente y reduciría los costes totales de la sanidad.

20 El documento US 2007/0248981 desvela el uso de ST2 y NT-pro-BNP como marcadores para predecir la mortalidad o severidad de una enfermedad en pacientes que sufren de disnea o dolor de pecho. La publicación mantiene que ST2 es el indicador más fuerte, pero que la determinación de NT-pro-BNP tiene una importancia estadística marginal pequeña en combinación con el cambio en los niveles de ST2.

**Resumen**

25 La presente invención describe un procedimiento para determinar el riesgo de muerte para un sujeto con un fallo cardíaco, estando el método de acuerdo con la reivindicación independiente 1. Otras características adicionales de la invención se describen en las reivindicaciones dependientes.

30 La presente invención se basa, al menos en parte, en el uso de cambios en los niveles de suero del biomarcador ST2 (gen 2 expresado por estimulación del crecimiento, también conocido como receptor de tipo1 de la interleucina 1 (IL1RL-1)), en combinación con los niveles de un péptido natriurético (NP) como el fragmento del extremo N inactivo de un péptido natriurético cerebral (NT-pro-BNP), para predecir la probabilidad de sufrir un episodio cardíaco adverso grave (MACE), p.ej., la recurrencia del episodio cardíaco inicial (p.ej., un segundo IAM); angina; descompensación de insuficiencia cardíaca; hospitalización por una enfermedad cardiovascular (CVD); mortalidad causada por una enfermedad cardiovascular (CVD); o un trasplante, dentro de un periodo de tiempo específico, p.ej., 30 días, 3 o 6 meses, o un año o más, o para detectar la presencia de una enfermedad grave (p.ej., es más  
35 probable que una enfermedad grave necesite un trasplante u otro tratamiento agresivo). Estos procedimientos pueden utilizarse para predecir el resultado clínico, p.ej., en pacientes hospitalizados después de un episodio cardíaco agudo.

40 En algunas realizaciones, los procedimientos descritos en el presente documento incluyen la supervisión de cambios en los niveles de ST2 a lo largo del tiempo (p.ej., una relación ST2) y determinar un nivel NP, para proporcionar una evaluación de diagnóstico y pronóstico de pacientes, p.ej., pacientes con síntomas no específicos, p.ej., pacientes con disnea aguda y aquellos con dolor de pecho, o pacientes que han sido diagnosticados por una insuficiencia cardíaca. Los NP incluyen las formas de péptidos natriuréticos cerebrales, es decir, NT-proBNP, proBNP, y BNP, y los péptidos natriuréticos auriculares, es decir, NT-proANP, proANP, y ANP. En las realizaciones preferibles, el péptido natriurético es NT-proBNP.

45 En algunas realizaciones, la publicación describe procedimientos para evaluar el riesgo de sufrir un MACE dentro de un periodo de tiempo específico, p.ej., 30, 60, 90, o 180 días (p.ej., uno, dos, tres, o seis meses), o uno, dos, o cinco años, para un sujeto. Los procedimientos pueden incluir determinar las relaciones ST2 y un nivel de NP, p.ej., NT-proBNP, y utilizar esas relaciones y niveles para determinar el riesgo de sufrir un MACE, según se describe aquí. Determinar la relación ST2 puede incluir obtener al menos dos muestras, p.ej. muestras de sangre, suero, plasma,  
50 orina, o tejido corporal del sujeto (ambas muestras son del mismo fluido o tejido, tomadas en dos momentos diferentes); determinar los niveles de ST2 en las muestras; y dividir los niveles en biomarcadores de ST2 en las muestras anteriores en niveles de ST2 en la muestra posterior, alcanzando así la relación de ST2. Dicha relación proporciona una indicación de cómo cambian los niveles de ST2 en el sujeto a lo largo del tiempo. Así, en algunas realizaciones, los procedimientos incluyen determinar u obtener un primer nivel ST2, p.ej., un punto de referencia en  
55 una muestra tomada, p.ej., al ingresar o al comenzar el tratamiento, y un segundo nivel ST2, p.ej., en una muestra tomada un tiempo después, p.ej., uno, dos, tres, cuatro, o más días después. Además, los procedimientos incluirán generalmente determinar u obtener un nivel NP, p.ej. un nivel NT- proBNP al menos en el segundo momento, p.ej.,

en una muestra de sangre, suero, plasma, orina, o tejido corporal del sujeto.

En un aspecto, la invención proporciona procedimientos, p.ej., procedimientos implementados por ordenador, para evaluar el riesgo de un sujeto de sufrir un episodio cardíaco adverso grave (MACE) en el periodo de un año. Los procedimientos incluyen determinar la puntuación de riesgo de MACE (MACERS) para un sujeto basándose en, al menos en parte, la relación de un segundo nivel de gen 2 (ST2) expresado por estimulación del crecimiento en el sujeto una segunda vez (ST2 T1) hasta un primer nivel de ST2 en el sujeto una primera vez (ST2 T0), en combinación con un logaritmo ponderado de un nivel de péptido natriurético (NP) en el sujeto la segunda vez (NP T1), y comparando las puntuaciones de riesgo de MACE (MACERS) con una referencia de MACERS, en la que las puntuaciones MACERS en comparación con la referencia de MACERS indican el riesgo del sujeto a sufrir un MACE en el periodo de un año.

En algunas realizaciones, los procedimientos descritos en el presente documento incluyen el uso de la siguiente fórmula para determinar el riesgo de MACE del sujeto:

$$X = (ST2\ T1/ST2\ T0) + \alpha \ln(NP\ T1)$$

En realizaciones preferibles, las relaciones ST2 y los niveles NT-proBNP, se utilizan para determinar la puntuación de riesgo de MACE utilizando la siguiente fórmula:

$$X = (ST2\ T1/ST2\ T0) + \alpha \ln(NTproBNP\ T1)$$

En algunas realizaciones, el coeficiente alfa es 0,33.

En algunas realizaciones, la puntuación de riesgo de MACE se compara con una referencia de puntuación de riesgo de MACE (p.ej., un valor límite). Una comparación entre la puntuación de riesgo de MACE y la referencia de puntuación indica el riesgo del sujeto a padecer un MACE en un periodo de tiempo específico. En algunas realizaciones, el periodo de tiempo específico es un año.

En algunas realizaciones, la referencia de puntuación de riesgo de MACE representa la puntuación en un sujeto o en un grupo de sujetos con un riesgo muy bajo de morir en un año. En algunas realizaciones, una puntuación de riesgo de MACE del sujeto que sea mayor o igual a la referencia de puntuación de riesgo de MACE indica que el sujeto tiene un alto riesgo, es decir estadística y considerablemente alto, de morir en un año. En algunas realizaciones, el riesgo elevado de muerte es al menos un 20 % mayor, p.ej., un 30 %, 40 %, o 50 % mayor.

En algunas realizaciones, los procedimientos incluyen determinar la puntuación de riesgo de MACE, y opcionalmente seleccionar o modificar un tratamiento para el sujeto, basado en la puntuación de riesgo de MACE. Por ejemplo, si la puntuación de riesgo de MACE es mayor a la referencia seleccionada, entonces el sujeto tiene un riesgo alto y debería tratarse de manera más agresiva, si el sujeto ya está siendo tratado, entonces el sujeto no está respondiendo favorablemente al tratamiento actual y debería seleccionarse un nuevo tratamiento, p.ej., un tratamiento alternativo al que el paciente puede responder más favorablemente.

En algunas realizaciones, el sujeto muestra uno o más síntomas no específicos, p.ej., dolor o molestias en el pecho, dificultad al respirar (disnea), náuseas, vómitos, eructos, sudores, palpitaciones, mareos, fatiga, y desmayos. En algunas realizaciones, el síntoma es disnea o dolor de pecho.

En algunas realizaciones, el sujeto no tiene un trastorno cardiovascular. En varias realizaciones, el sujeto tiene un trastorno pulmonar, p.ej., una infección aguda (p.ej., neumonía), una enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), y un embolismo pulmonar.

En determinadas realizaciones, el sujeto tiene un trastorno hepático asociado a la quimioterapia, la toxicidad del alcohol, o toxicidad de los fármacos según se determina mediante las pruebas estándar de laboratorio de funcionamiento de hígado.

En algunas realizaciones, los procedimientos también incluyen determinar el nivel de un biomarcador complementario (no ST2, no IL-33, no NT-proBNP), p.ej., Troponina, CRP (Proteína C Reactiva), dímeros D, BUN, albúmina, enzimas de función hepática, medidas de función renal, p.ej., creatinina, índice de depuración de creatinina, o índice de filtrado glomerular, y/o endotoxina bacteriana, en la muestra; y comparando el nivel del biomarcador complementario en la muestra con un nivel de referencia del biomarcador complementario. El nivel del biomarcador complementario en la muestra, en comparación con la referencia, en combinación con la puntuación de riesgo de MACE en la muestra comparada con una referencia de puntuación de riesgo de MACE, indica si el sujeto tiene un riesgo elevado de morir en un periodo de tiempo específico, y/o tiene una enfermedad grave presente. En algunas realizaciones, los procedimientos incluyen determinar un cambio en los niveles a lo largo del tiempo (p.ej., una relación) para el biomarcador complementario, comparando un primer nivel, p.ej., un nivel de punto de referencia, con un segundo nivel, p.ej., un nivel tomado un tiempo después, p.ej., uno, dos, tres, cuatro, o más días después.

En algunas realizaciones, el sujeto tiene un IMC de 25-29, un IMC  $\geq$  30, o una insuficiencia renal, p.ej., el sujeto se selecciona partiendo de la base de que tiene un IMC de 25-29, un IMC  $\geq$  30, o una insuficiencia renal.

En otro aspecto, la invención incluye procedimientos para evaluar la afección del sujeto a lo largo del tiempo, p.ej., para evaluar la eficacia de un tratamiento en un sujeto. Los procedimientos incluyen determinar una primera puntuación de riesgo de MACE, basada en la relación de un primer nivel de punto de referencia del ST2 y un segundo nivel del ST2 tomado en un segundo momento en el tiempo, y un primer nivel de un NP, p.ej. NT-proBNP, tomado en el segundo momento en el tiempo, para determinar una primera puntuación de riesgo de MACE; y determinar una segunda puntuación de riesgo de MACE basada en la relación del primer nivel de punto de referencia del ST2 y un tercer nivel ST2 tomado en un tercer momento en el tiempo, y un nivel de un NP, p.ej., NT-proBNP, tomado en un tercer momento en el tiempo, donde el tercer momento es un tiempo después del segundo momento, p.ej., días, semanas, meses, o años después. Una comparación entre la primera y la segunda puntuación de riesgo de MACE indica si el estado del sujeto empeora, mejora, o se mantiene, p.ej., indica la eficacia del tratamiento en el sujeto. Por ejemplo, una segunda puntuación de riesgo de MACE que es menor que la primera puntuación de riesgo de MACE indica que el tratamiento es eficaz.

Según se utiliza en el presente documento, una "muestra" incluye cualquier fluido o tejido corporal, p.ej., uno o más de entre sangre, suero, plasma, orina, y tejido corporal. En determinadas realizaciones, una muestra es un suero, plasma, o muestra de sangre.

Un anticuerpo que "se une específicamente a" un antígeno, se une preferentemente con el antígeno en una muestra que contiene otras proteínas.

Los procedimientos y kits aquí descritos proporcionan numerosas ventajas. Por ejemplo, los procedimientos pueden utilizarse para determinar si un paciente debería ingresar o mantenerse hospitalizado para una mayor evaluación, aunque se haya realizado un diagnóstico definitivo. Por ejemplo, los procedimientos pueden utilizarse para una estratificación del riesgo de un sujeto dado, p.ej., para tomar decisiones respecto al nivel de agresividad del tratamiento que es apropiado para el sujeto, basándose en su puntuación de riesgo de MACE según se determina mediante el procedimiento aquí descrito. Mejores decisiones de tratamiento pueden llevar a una morbilidad y mortalidad reducidas, y a una mejor distribución de los escasos recursos sanitarios. Los procedimientos descritos en el presente documento pueden utilizarse para realizar valoraciones generales sobre si un paciente debería someterse a más pruebas para determinar un diagnóstico específico. Los procedimientos descritos en el presente documento también pueden utilizarse para la estratificación de riesgo de la población de pacientes, p.ej., para proporcionar información sobre la acción clínica o la respuesta esperada a una intervención terapéutica. Los procedimientos descritos en el presente documento pueden utilizarse independientemente de la causa subyacente o del diagnóstico final, por lo que no se limitan a indicaciones específicas.

Salvo que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente la persona experta en la técnica a la que pertenece esta invención. Los procedimientos y materiales se describen en el presente documento para su uso en la presente invención; o pueden utilizarse otros procedimientos y materiales adecuados y conocidos en la técnica también. Los materiales, procedimientos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden servir como limitación.

En caso de conflicto, tendrá preferencia la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y de las Figuras, y de las reivindicaciones.

### **Descripción de los dibujos**

La Figura 1 es un gráfico lineal del análisis de puntuación una curva de Característica Operativa del Receptor (ROC) del algoritmo que combina la relación ST2 y el valor de NT-proBNP de la segunda semana.  
 La Figura 2 es un gráfico lineal de sensibilidad, especialidad y riesgo relativo trazado como una función de la puntuación.  
 La Figura 3 es una curva ROC para una puntuación de riesgo de MACE y episodios en 1 año.  
 La Figura 4A es un gráfico de caja y bigotes de la puntuación de riesgo de MACE y una relación ST2 para los episodios cardíacos en un año.  
 La Figura 4B es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier de tener episodios utilizando una puntuación de riesgo de MACE en un límite de 3,2.  
 La Figura 5 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier de tener episodios utilizando la relación ST2.  
 La Figura 6 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier de tener episodios utilizando una relación de NT-proBNP en un límite de 0,75.  
 La Figura 7 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier de muerte o trasplante en un año utilizando una relación de ST2 en un límite de 0,85.  
 La Figura 8 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier de muerte o trasplante en un año utilizando una relación NT-proBNP en un límite de 0,70.  
 La Figura 9 es una curva ROC para una puntuación y muerte o trasplante en 1 año. Pese a que el análisis ROC identifica 3,5 como el límite óptimo, un análisis adicional confirma que el límite anteriormente identificado de 3,2 proporciona una mejor precisión del pronóstico.  
 La Figura 10 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier de muerte o trasplante en un año utilizando una puntuación de riesgo MACE en un límite de 3,2.  
 La Figura 11 es un gráfico de caja y bigotes que muestra la puntuación de riesgo MACE de sufrir episodios o no

(muerte o trasplante).

La Figura 12 es un gráfico de caja y bigotes que muestra la relación ST2 de sufrir episodios o no (muerte o trasplante).

5 La Figura 13 es un gráfico de caja y bigotes que muestra la relación NT-proBNP de sufrir episodios o no (muerte o trasplante).

La Figura 14 es un gráfico de bigotes y puntos mostrando valores ST2 por día.

La Figura 15 es un gráfico de bigotes y puntos mostrando valores NT-proBNP por día.

La Figura 16 es un trazado de bigote y punto mostrando valores BNP por día.

10 La Figura 17 es un gráfico lineal mostrando los resultados del análisis ROC de los valores de la relación de mortalidad en 90 días.

La Figura 18 es un gráfico lineal mostrando la fórmula ROC del riesgo de MACE de sufrir mortalidad en 90 días.

La Figura 19 es un gráfico de caja y bigotes mostrando la fórmula de la puntuación del riesgo MACE de mortalidad en 90 días.

La Figura 20 es un gráfico de caja y bigotes mostrando ST2 R L:F de mortalidad en 90 días.

## 15 **Descripción detallada**

La evaluación clínica de los pacientes, en particular pacientes con síntomas no específicos como la disnea o el dolor de pecho, supone a menudo un desafío. Los resultados aquí descritos proporcionan pruebas de que las puntuaciones de riesgo MACE basadas en ST2 y NT-proBNP son útiles en la evaluación del pronóstico de los pacientes, sin contar con la causa subyacente de su enfermedad. La puntuación de riesgo MACE es un indicador poderoso de enfermedad grave o muerte inminente, según se demuestra aquí en diferentes poblaciones.

20

### **Predicción del riesgo de MACE**

Las concentraciones elevadas de ST2 son pronóstico evidente de muerte en un año, con una divergencia drástica en las curvas de supervivencia para aquellos con un ST2 elevado poco después de su presentación, independientemente al diagnóstico subyacente. Como ejemplo, existe una relación dramática entre las elevaciones del ST2 y el riesgo de mortalidad en un año después de la presentación con disnea. La relación entre el ST2 y la muerte en pacientes con disnea era independiente a los diagnósticos, y reemplazaba el resto de biomarcadores indicadores de mortalidad en este nivel, incluyendo otros marcadores de inflamación, mionecrosis, disfunción renal, y más en particular NT-proBNP, un marcador recientemente descrito por tener un valor para predecir la muerte en esta población (Januzzi y col., Arch. Intern. Med. 166(3):315-20 (2006)). De hecho, la mayoría de la mortalidad en el estudio se concentraba entre sujetos con niveles ST2 elevados al presentarse; sin embargo, la combinación de un ST2 y NT-proBNP elevado se asociaba con los altos índices de muerte en un año.

30

Dicha aproximación del multi-marcador a la estratificación por riesgo se ha propuesto generalmente para pacientes con síndromes coronarios agudos (Sabatine y col., Circulation105(15):1760-3 (2002)), pero ninguna de estas estrategias ha sido propuesta aún para la evaluación del paciente con síntomas no específicos como disnea indiferenciada o queja general de dolor de pecho.

35

### **Determinación de la gravedad de la enfermedad**

Las puntuaciones elevadas de riesgo de MACE corresponden con la presencia de enfermedades graves en un sujeto, independientemente de la causa subyacente de la enfermedad. Como ejemplo, en una población de pacientes que presenta dolor de pecho, las puntuaciones más altas se asociaron con un riesgo aumentado de episodios adversos, incluyendo el trasplante, que generalmente se asocian con la presencia de una enfermedad grave.

40

Por lo tanto, para sujetos sin diagnosticar, los procedimientos aquí descritos pueden utilizarse para determinar cómo debería ser de agresiva la búsqueda de un diagnóstico; un alto nivel ST2 indicaría la presencia de una enfermedad grave, y sugiere que el sujeto debería tratarse como un caso de alto riesgo. Para sujetos con un diagnóstico conocido, los procedimientos aquí descritos pueden utilizarse para ayudar a determinar la gravedad de la patología subyacente; de nuevo, un nivel ST2 más alto se asocia con una enfermedad más grave.

45

### **Metodología general - Determinar la puntuación del riesgo MACE de un sujeto**

En general, los procedimientos aquí descritos incluyen evaluar los niveles de circulación (p.ej., niveles en sangre, suero, plasma, orina, o tejido corporal) de ST2 y NT-proBNP en un sujeto, p.ej., un mamífero, p.ej., un ser humano. Estos niveles proporcionan información en cuanto a la probabilidad de que el sujeto experimente un resultado adverso, p.ej., mortalidad, p.ej., en un periodo de tiempo específico, p.ej., 30 días, 60 días, 90 días, 6 meses, un año, dos años, tres años, o cinco años. Estos niveles también proporcionan información en cuanto a la gravedad de la enfermedad en el sujeto. En algunas realizaciones, un nivel ST2 se determina una primera vez (T0), p.ej., en la presentación, p.ej., 2, 4, 6, 8, 12, 18 y/o 24 horas, y/o 1-3 o 1-7 días, después de la aparición de los síntomas. Entonces se determinan los niveles ST2 y NT-proBNP una segunda vez (T1); el segundo momento en el tiempo puede ser, p.ej., al menos 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, o 24 horas, 1-7 días, o 2-14 días, p.ej., hasta 14 días, después del primer momento en el tiempo. Estos niveles se utilizan para determinar la puntuación de riesgo MACE utilizando la siguiente fórmula:

55

$$X = (ST2 T1/ST2 T0) + \alpha \ln(NTproBNP T1)$$

El coeficiente alfa es un factor de ponderación para la variable sobre la que actúa. En algunas realizaciones, el coeficiente alfa se encuentra entre 0,25 y 0,5, p.ej., aproximadamente 3, p.ej., 0,33.

5 Evaluando los niveles de circulación del ST2 y NTpro-BNP en un sujeto típicamente incluye obtener una muestra biológica, p.ej., suero, plasma o sangre, del sujeto. Los niveles de ST2 y NTpro-BNP en la muestra pueden determinarse midiendo los niveles del polipéptido en la muestra, utilizando procedimientos conocidos en la técnica y/o aquí descritos, p.ej., inmunoensayos como la prueba de enzoinmunoanálisis de adsorción (ELISA). Por ejemplo, en algunas realizaciones un anticuerpo monoclonal se pone en contacto con la prueba; se detecta entonces una combinación del anticuerpo y opcionalmente se cuantifica, y los niveles de la proteína se determinan basándose en niveles de combinación de anticuerpo. De manera alternativa, los niveles ST2 y NTpro-BNP ARNm pueden medirse, de nuevo utilizando los procedimientos conocidos en la técnica y/o aquí descritos, p.ej., por un análisis PCR o una transferencia Northern.

En algunas realizaciones, la puntuación de riesgo MACE se calcula utilizando un dispositivo informático, p.ej., un ordenador portátil.

15 Una vez que se ha determinado la puntuación de riesgo MACE, esta puede compararse con una puntuación de referencia. En algunas realizaciones, la puntuación de referencia representará un nivel límite, por encima del cual, el sujeto tiene un riesgo de muerte alto, y/o tiene una enfermedad grave. La puntuación de referencia elegida puede depender de la metodología utilizada para medir los niveles de ST2. Por ejemplo, en algunas realizaciones, donde los niveles de circulación de ST2 soluble se determinan utilizando un inmunoensayo, p.ej., según se describe aquí, la puntuación de referencia es aproximadamente 3, p.ej., 3,2 o 3,5, y una puntuación por encima de ese nivel de referencia indica que el sujeto tiene un riesgo de muerte alto, y/o tiene una enfermedad grave.

25 Donde se ha determinado más de una puntuación de riesgo MACE según se describe aquí, un cambio en la puntuación indica si ha aumentado o disminuido el riesgo de muerte del sujeto. Si la puntuación aumenta, significa que el sujeto tiene un riesgo alto de muerte inminente, p.ej., un mal pronóstico en aumento, y que el tratamiento no funciona o debería cambiarse o iniciarse. Las puntuaciones que disminuyen a lo largo del tiempo indican que ha disminuido el riesgo del sujeto de sufrir una muerte inminente, p.ej., un pronóstico positivo que va a mejor, y que puede ser indicativo de la eficacia del tratamiento, por ejemplo, y debe continuarse el tratamiento, o, si la puntuación se vuelve lo suficientemente baja, posiblemente retirarse. Como ejemplo, las puntuaciones en aumento pueden indicar la necesidad de un tratamiento más agresivo o la hospitalización (p.ej., el ingreso inicial u hospitalización en una instalación más adecuada, p.ej., en una unidad de cuidados intensivos, o el uso de telemetría u otros procedimientos para monitorizar el estado cardíaco del sujeto), mientras que las puntuaciones que disminuyen pueden indicar la posibilidad de un tratamiento menos agresivo, una breve hospitalización, o el alta. Esta información permite al médico al cargo tomar decisiones mucho más precisas; por ejemplo, el sujeto puede ingresar en el hospital como un paciente hospitalizado, p.ej., en una sala de cuidados críticos o intensivos.

35 Puede realizarse una prueba adicional, p.ej., para determinar el estado real del sujeto. Puede administrarse un tratamiento más agresivo ya sea antes o después de la prueba adicional. Por ejemplo, en caso de sospechar un infarto de miocardio (IM), puede someterse al sujeto a diagnósticos por imágenes más extensos y/o un cateterismo cardíaco.

40 En algunas realizaciones, los procedimientos incluyen el uso de procedimientos de diagnóstico adicionales para identificar la patología subyacente. Puede utilizarse cualquier procedimiento de diagnóstico conocido en la técnica, y alguien especialista en la materia será capaz de seleccionar los procedimientos de diagnóstico apropiados para los síntomas del sujeto. En algunas realizaciones, los procedimientos aquí descritos incluyen otros procedimientos de diagnóstico además de o como alternativa a la medición de otros biomarcadores, p.ej., mediciones físicas de la función del pulmón o la función cardíaca según se conocen en la técnica.

45 Por ejemplo, los procedimientos aquí descritos incluyen determinar una puntuación de riesgo MACE junto con la medición de uno o más biomarcadores que ayudan en el diagnóstico del sujeto. Como ejemplo, para un sujeto que tiene dolor de pecho o disnea, los biomarcadores indicadores de enfermedad cardíaca pueden medirse, p.ej., troponina cardíaca (cTn), p.ej., el cTnI, BNP, y/o ANP; alternativamente, o, además, pueden medirse los biomarcadores de enfermedad pulmonar, p.ej., dímeros D para una embolia pulmonar. Así, en sujetos que presentan síntomas que incluyen IM en sus diagnósticos diferenciales, los procedimientos pueden incluir la medición de los niveles de, p.ej., cTnI, BNP, o proBNP además de determinar una puntuación de riesgo MACE, para determinar si el sujeto sufre un IM. En sujetos que presentan los síntomas que incluyen insuficiencias cardíacas (IC) en sus diagnósticos diferenciales, los procedimientos pueden incluir niveles de medición de BNP o proBNP además de determinar una puntuación de riesgo MACE, para determinar si el sujeto sufre una IC. En sujetos que presentan los síntomas que incluyen EPOC en sus diagnósticos diferenciales, los procedimientos pueden incluir medir la función pulmonar además de determinar una puntuación de riesgo MACE, para determinar si el sujeto sufre una EPOC. Alguien experto en la técnica apreciará que existe un número de procedimientos de diagnóstico adicional que pueden aplicarse, dependiendo de la situación y el estado del sujeto. En algunas realizaciones, los procedimientos incluyen medir niveles de BUN, y la presencia de un BUN elevado y una puntuación alta de riesgo MACE sitúa al paciente en la categoría de máximo riesgo.

**ST2**

El gen ST2 es un miembro de la familia del receptor de la interleucina 1, cuyo producto de proteína existe tanto en forma de transmembrana, así como un receptor soluble que se detecta en el suero (Kieser y col., FEBS Lett. 372(2-3):189-93 (1995); Kumar y col., J. Biol. Chem. 270(46):27905-13 (1995); Yanagisawa y col., FEBS Lett. 302(1):51-3 (1992); Kuroiwa y col., Hybridoma 19(2):151-9 (2000)). Recientemente se describió que ST2 estaba sensiblemente regulado positivamente en un modelo experimental de insuficiencia cardíaca (Weinberg y col., Circulation 106(23):2961-6 (2002)), y los resultados preliminares sugieren que las concentraciones de ST2 pueden ser elevadas en aquellos pacientes con IC grave crónico (Weinberg y col., Circulation 107(5):721-6 (2003)) así como en aquellos con infarto de miocardio agudo (IMA) (Shimpo y col., Circulation 109(18):2186-90 (2004)).

Se cree que la forma transmembrana de ST2 juega un papel en la modulación de las respuestas de modulación de células T auxiliares Tipo 2 (Lohning y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 95(12):6930-5 (1998); Schmitz y col., Immunity 23(5):479-90 (2005)), y puede jugar su papel en el desarrollo de la tolerancia en estados de inflamación aguda o crónica (Brint y col., Nat. Immunol. 5(4): 373-9 (2004)), mientras que la forma soluble de ST2 está regulada positivamente en fibroblastos estimulados por el crecimiento (Yanagisawa y col., 1992, más arriba). Los datos experimentales sugieren que el gen ST2 está notablemente regulado en exceso positivamente de una forma sensible en estados de estiramiento de miocitos (Weinberg y col., 2002, más arriba) de manera análoga a la inducción del gen de BNP (Bruneau y col., Cardiovasc. Res. 28(10): 1519-25 (1994)).

Tominaga, FEBS Lett. 258:301-304 (1989), aislaron genes de murino que se expresaban específicamente por estimulación del crecimiento en células BALB/c-3T3; denominaron a uno de estos genes St2 (por Growth Stimulation-Expressed Gene 2 (gen 2 expresado para la estimulación del crecimiento)). El gen St2 codifica dos productos proteicos: ST2, que es una forma secretada soluble; y ST2L, una forma de receptor de transmembrana que es muy similar a los receptores de interleucina 1. El Comité de Nomenclatura HUGO denominó al homólogo humano, cuya clonación se describió en Tominaga y col., Biochim. Biophys. Acta. 1171: 215-218 (1992), receptor de interleucina-1 tipo 1 (IL1 RL1). Los dos términos se utilizan aquí indistintamente.

La secuencia del ARNm de la isoforma soluble más corta del ST2 humano puede encontrarse en GenBank, Número de Registro NM\_003856.2, y la secuencia del polipéptido está en el GenBank, Número de Registro NM\_003847.2; la secuencia de ARNm para la forma más larga de ST2 humano está en el GenBank, Número de Registro NM\_016232.4 la secuencia polipeptídica está en el GenBank, Número de Registro NP\_057316.3. Existe información adicional disponible en las bases de datos públicas de GenEID: 9173, MIM ID # 601203, y UniGene Núm. Hs.66. En general, en los procedimientos aquí descritos, se mide la forma soluble del polipéptido ST2.

En la técnica se conocen procedimientos para detectar y medir ST2, por ejemplo, como se describe en las Publicaciones de Patente de Estados Unidos N.º 2003/0124624, 2004/0048286 y 2005/0130136, cuyos contenidos al completo se incorporan en el presente documento por referencia. También están disponibles en el mercado kits para medir el polipéptido ST2, por ejemplo, el kit ELISA de ST2 fabricado por Medical & Biological Laboratories Co., Ltd. (MBL International Corp., Woburn, MA) N.º 7638. Además, en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2005/0250156 se describen dispositivos para medir ST2 y otros biomarcadores.

**Péptidos natriuréticos**

Los péptidos natriuréticos son una familia de hormonas de péptidos vasoactivos que actúan como vasodilatadores arteriales y venosos equilibrados, regulando la natriuresis y la diuresis. Los niveles de circulación de estas hormonas están bajo investigación para su uso en la mejora de la evaluación de diagnóstico y pronóstico de los pacientes con enfermedades cardiovasculares. Estudios anteriores han demostrado que los niveles de circulación del NT-proBNP aumentan en pacientes con un IM agudo y predicen la mortalidad (Talwar y col. Eur. Heart J. 21:1514-1521 (2000); Omland y col., Am. J. Cardiol. 76:230-235 (1995) Sabatine y col., J. Am. Coll. Cardiol. 44:1988-1995 (2004), demostrando una unión entre la gravedad de un insulto isquémico y los niveles de circulación de un BNP. Los procedimientos para medir NT-proBNP son conocidos en la técnica, véase, p.ej., Talwar y col., 2000, más arriba; Omland y col., 1995, más arriba; Sabatine y col., 2004, más arriba; Alehagen y Dahlström, "Can NT-proBNP predict risk of cardiovascular mortality within 10 years? Results from an epidemiological study of elderly patients with symptoms of heart failure," Int J Cardiol. 11 de abril de 2008 [publicación electrónica antes de la impresión]; y Kavsak y col., Clin Chem. 54(4):747-51 (2008).

Se cree que, pese a que los ejemplos aquí presentados se relacionan con NT-proBNP, cualquiera de las NP puede utilizarse en los procedimientos descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, puede medirse más de un NP.

**Otros Biomarcadores**

Los procedimientos descritos en el presente documento también pueden incluir la medición de niveles de otros biomarcadores además de ST2 y un NP. Los biomarcadores adecuados incluyen troponina, CRP, IL-6, dímeros D, BUN, enzimas de función hepática, albúmina, medidas de la función renal, p.ej., creatinina, tasa de aclaramiento de creatinina, tasa de filtración glomerular y/o endotoxina bacteriana. Los procedimientos para medir estos biomarcadores son conocidos en la técnica, véase, p.ej., las publicaciones de patente estadounidense Núms. 2004/0048286 y 2005/0130136 de Lee y col.; Dhalla y col., Mol. Cell. Biochem. 87:85-92 (1989); Moe y col., Am.

Heart. J. 139:587-95 (2000); Januzzi y col., Eur. Heart J. 27(3):330-7 (2006); Maisel y col., J. Am. Coll. Cardiol. 44(6):1328-33 (2004); y Maisel y col., N. Engl. J. Med. 347(3):161-7 (2002), cuyos contenidos al completo se incorporan en el presente documento por referencia. Las enzimas de la función hepática incluyen alanina transaminasa (ALT); aspartato transaminasa (AST); fosfatasa alcalina (ALP); y bilirrubina total (TBIL).

5 En estas realizaciones, se determina una puntuación de riesgo MACE y los niveles de uno o más biomarcadores, y la información de la puntuación y una comparación de los biomarcadores con sus respectivos niveles de referencia proporciona una información adicional en cuanto al riesgo de muerte del paciente y/o la presencia de una enfermedad grave en el sujeto, que puede proporcionar información más precisa y específica del riesgo al que se expone el sujeto. Los niveles pueden compararse entonces con una relación de referencia que representa un nivel de umbral por encima de la cual el sujeto tiene mayor riesgo de muerte y/o tiene una enfermedad grave.

#### **Seleccionar un Tratamiento - Agresivo vs. Conservador**

15 Una vez que se ha determinado que un sujeto tiene una puntuación de riesgo MACE por encima de una puntuación de referencia predeterminada, la información puede utilizarse de diferentes maneras. Por ejemplo, si el sujeto tiene una puntuación elevada, p.ej., comparado con el nivel de referencia, puede tomarse la decisión de tratar de manera agresiva, y el sujeto puede, p.ej., ingresar en un hospital para su tratamiento como paciente hospitalizado, p.ej., en una sala de cuidados críticos o intensivos. Los kits de ensayo portátiles pueden permitir al personal médico de emergencia evaluar a un sujeto en el campo, para determinar si deberían transportarlo al servicio de urgencias. Las decisiones médicas, p.ej., en el servicio de urgencias o en otra instalación clínica, también pueden basarse en la información provista por un procedimiento aquí descrito. Puede darse prioridad a los pacientes con puntuaciones elevadas con respecto a los que tienen puntuaciones más bajas.

20 Los procedimientos descritos en el presente documento también proporcionan información en relación con si un sujeto está mejorando, p.ej., respondiendo al tratamiento, p.ej., si un sujeto hospitalizado ha mejorado lo suficiente como para darle alta y continuar con su tratamiento en el ambulatorio. En general, estos procedimientos incluirán determinar una puntuación de riesgo MACE en el sujeto en varias ocasiones. Una disminución de la puntuación de riesgo MACE a lo largo del tiempo indica que es probable que el sujeto esté mejorando. La puntuación de riesgo MACE también puede compararse con una puntuación de referencia, según se describe aquí, para determinar si el sujeto ha mejorado lo suficiente para darle de alta.

25 El sujeto también puede considerarse para inclusión en un ensayo clínico, por ejemplo, de un tratamiento que conlleva un riesgo relativamente alto. El sujeto puede tratarse con un régimen que conlleva un riesgo relativamente mayor que el considerado apropiado para alguien que tenía un menor riesgo de MACE inminente, p.ej., un MACE 30 días o un 1 año después de su presentación.

30 Más allá de la instalación clínica, la información que concierne a la puntuación de riesgo MACE del sujeto puede utilizarse de otras maneras, p.ej., para las decisiones de pago por parte de terceros, o para el establecimiento de primas de seguros médicos o de vida por parte de las compañías aseguradoras. Por ejemplo, una puntuación alta de riesgo MACE, p.ej., una puntuación por encima de un umbral predeterminado, puede utilizarse para decidir aumentar las primas del seguro del sujeto.

#### **Poblaciones de pacientes**

35 Los procedimientos descritos en el presente documento son útiles en una gran variedad de contextos clínicos. Por ejemplo, los procedimientos pueden utilizarse para un cribado de población general, incluyendo los cribados por parte de los médicos, p.ej., en hospitales y clínicas externas, así como en los servicios de urgencia. Como ejemplo, puede determinarse una puntuación de riesgo MACE en cualquier momento, y si la puntuación de riesgo MACE es elevada, el médico puede actuar de manera acorde.

40 Pese a que los procedimientos aquí descritos pueden utilizarse para cualquier sujeto en cualquier momento, son particularmente útiles para aquellos sujetos para los que es difícil de determinar el diagnóstico o la gravedad de una afección. Por ejemplo, dichos sujetos pueden presentar síntomas no específicos, p.ej., síntomas que no indican un diagnóstico específico. Los síntomas no específicos incluyen, pero no se limitan a, dolor de pecho o molestia, falta de aliento, náuseas, vómitos, eructos, sudoración, palpitaciones, mareos, fatiga, y desmayos. Cada síntoma puede tener una etiología variada.

#### *Dolor de pecho*

45 El dolor de pecho es la queja principal en aproximadamente el 1 al 2 por ciento de las citas de pacientes externos, y pese a que la causa no suele ser cardíaca, las enfermedades cardíacas siguen siendo la causa principal de muerte en los Estados Unidos. Por lo tanto, distinguir entre causas graves y benignas del dolor de pecho es crucial. Los procedimientos aquí descritos son útiles para hacer esta determinación.

50 Un sujeto que se presenta en los servicios de urgencia con dolor en el pecho puede tener dolor esofágico, una úlcera, problemas pulmonares agudos tales como una embolia pulmonar (EP) (potencialmente fatal), rotura de un aneurisma o aneurisma disecante (muy letal), ataque de vesícula biliar, pericarditis (inflamación del saco que rodea el corazón), angina de pecho (dolor cardíaco sin lesión) o un IM (potencialmente fatal). Puede ser difícil realizar



inmediatamente un diagnóstico preciso, pero la decisión de si ingresar al sujeto o tratarlo de manera conservadora generalmente debe tomarse de manera inmediata. Si los procedimientos descritos en el presente documento indican que ha aumentado el riesgo del sujeto de sufrir un resultado clínico adverso, p.ej., un MACE inminente o una enfermedad grave, entonces puede tomarse la decisión de tratar el sujeto de manera agresiva, para prevenir potencialmente este resultado adverso.

5 Puede encontrarse información adicional sobre el tratamiento y diagnóstico del dolor de pecho, p.ej., en Cayley, Am. Fam. Phys. 72(10):2012-2028 (2005).

*Disnea*

10 La disnea, o falta de aliento (también definida como respiración anormal o molesta), es un síntoma común de los sujetos al presentarse en los servicios de urgencia. El diagnóstico diferencial para la disnea incluye cuatro categorías generales: (1) cardíaca, (2) pulmonar, (3) mezcla de cardíaca o pulmonar, y (4) no cardíaca o no pulmonar.

15 Las causas cardíacas de la disnea incluyen insuficiencia cardíaca congestiva biventricular, derecha o izquierda con disfunción sistólica resultante, arteriopatía coronaria, infarto de miocardio reciente o remoto, cardiomiopatía, disfunción valvular, hipertrofia del ventrículo izquierdo con disfunción diastólica resultante, hipertrofia septal asimétrica, pericarditis y arritmias.

20 Las causas pulmonares incluyen procedimientos obstructivos (por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y asma) y procedimientos restrictivos (por ejemplo, causas extrapulmonares tales como obesidad, deformidades de la columna vertebral o de la pared torácica y patología pulmonar intrínseca tal como fibrosis intersticial, neumoconiosis, enfermedad granulomatosa o enfermedad vascular del colágeno).

Los trastornos cardíacos y pulmonares incluyen trastornos EPOC con hipertensión pulmonar y enfermedad cardíaca pulmonar, mal estado físico, tromboembolismo pulmonar, y trauma.

25 Los trastornos no cardíacos o no pulmonares incluyen afecciones metabólicas como la anemia, cetoacidosis diabética y otros, causas menos comunes de acidosis metabólica, dolor en la pared torácica o en otras partes del cuerpo, y trastornos neuromusculares tales como esclerosis múltiple y distrofia muscular. Los problemas de obstrucción de rinolaringitis incluyen obstrucción nasal debido a pólipos o desviación septal, amígdalas dilatadas, y estrechamiento de las vías respiratorias supraglóticas o subglóticas.

También puede presentarse disnea como una manifestación somática de trastornos psiquiátricos, por ejemplo, un trastorno de ansiedad con hiperventilación resultante.

30 Puede encontrarse información adicional que concierne a la evaluación y tratamiento de la disnea, p.ej., en Morgan y Hodge, Am. Fam. Phys. 57(4):711-718 (1998).

*Poblaciones especiales*

35 Ciertas poblaciones de sujetos pueden beneficiarse particularmente de los procedimientos descritos en el presente documento. Estos sujetos incluyen a las personas para las que el BNP o NT-proBNP solo es menos útil, como para aquellos con la función renal dañada (Anwaruddin y col., J. Am. Coll. Cardiol. 47(1):91-7 (2006); McCullough y col., Am. J. Kidney Dis. 41(3):571-9 (2003)), o para aquellos con sobrepeso (Índice de Masa Corporal (IMC) de 25-29) o son obesas ((IMC  $\geq$  30) (Krauser y col., Am. Heart J. 149(4):744-50 (2005); McCord y col., Arch. Intern. Med. 164(20):2247-52 (2004)). Es conocido y aceptado en el campo de las patentes que los pacientes con un IMC alto suelen tener niveles de péptidos natriuréticos por debajo de lo esperado con respecto a un paciente con masa corporal normal para el mismo nivel de enfermedad; no se conoce el mecanismo exacto de este fenómeno. Se ha demostrado que los niveles de circulación del ST2 no están influenciados por el IMC, por lo tanto, la determinación de una puntuación de riesgo MACE es más útil que los niveles de péptido natriurético solo en sujetos con un IMC alto. De esta manera, los procedimientos aquí descritos pueden incluir determinar el IMC del sujeto, y si el sujeto tiene sobrepeso o es obeso, seleccionar el paciente para determinar la puntuación de riesgo MACE, según se describe en el presente documento.

**Ejemplos**

La invención se describe en detalle en los siguientes ejemplos, que no limitan el alcance de la invención descrito en las reivindicaciones.

50 **Ejemplo 1. Derivación de la fórmula combinando ST2 con NT-proBNP para determinar el riesgo de MACE en pacientes con una insuficiencia cardíaca (IC) aguda descompensada**

55 La medición tanto de ST2 como de NT-proBNP al presentarse o en momentos en el tiempo durante su tratamiento o seguimiento ha sido demostrada individualmente como valiosa para el pronóstico. También se ha determinado que la medición más fuerte para el pronóstico es el cambio en ST2 entre dos momentos en el tiempo. En este análisis se evaluaron cuarenta y ocho (48) pacientes con una IC sintomática establecida atendiendo a dos clínicas de IC con signos y síntomas de una IC empeorando. Se obtuvo el punto de partida (T0) y las mediciones de la semana 2 (T1)

del sST2 y las concentraciones de péptido natriurético de tipo pro-B cerebral amino terminal (NT-proBNP). Se declararon episodios cardíacos adversos (muerte, ingreso por una IC, y trasplante de corazón) en el 56 % de los pacientes durante un periodo de seguimiento de 1 año. El área bajo los valores de la curva ROC (ABC) mostrados en la Tabla 1 calculados para una serie de mediciones hechas en este conjunto de datos ilustra este punto cuando se utilizan todos los episodios cardíacos como resultado.

5

Tabla 1: Resumen de valores ROC ABC para cada medición individual y valores de relación para episodios en 1 año

	ABC	SE	95 % IC
ST2_T0	0,622	0,082	de 0,470 a 0,757
ST2_T1	0,583	0,0827	de 0,432 a 0,724
NTproBNP_T0	0,479	0,0845	de 0,333 a 0,628
NTproBNP_T1	0,619	0,081	de 0,4673 a 0,755
ST2_R	0,772	0,0675	de 0,628 a 0,880
NtproBNP_R	0,717	0,0737	de 0,568 a 0,837

Utilizando la relación ST2 en una simple aproximación de estratificación binaria obtenemos los resultados mostrados en la Tabla 2, en este caso utilizando el valor de umbral óptimo ROC de 0,75.

Tabla 2: Resumen de la estratificación de pacientes por riesgo de episodios cardíacos en 1 año utilizando un umbral de relación ST2 de 0,75.

10

	relación ST2		mediana	media
	<0,75	≥0,75	0,875	1,030
N	19	29		
Episodio N	6	20		
% Episodio	31,6 %	69,0 %		
PPV	69 %			
NPV	68 %			
RR	2,2			

Como puede verse en esta Tabla el umbral óptimo ROC es menor a la mediana o a la media. Sin embargo, si un umbral más alto, como el valor de mediana, se utiliza, el riesgo relativo disminuye a 1,9 así que con el propósito de este análisis utilizaremos un umbral de 0,75, lo que proporciona mayor precisión de pronóstico.

En otros estudios (Januzzi y col., J.Am.Coll. Cardiol. 50:607-613 (2007); Mueller y col., Clin. Chim. 54(4):752-756 (2008)) también se ha observado que existe una relación sinérgica entre ST2 y NT-proBNP cuando se utiliza para una estratificación de riesgo o un pronóstico. En un esfuerzo por confirmar esa relación en esta cohorte y para identificar el procedimiento más poderoso de utilizar ST2 y NT-proBNP juntos, se consideraron varias combinaciones matemáticas. La tabla 3 representa los mejores resultados obtenidos en un simple análisis binario donde el cambio en ST2 representado como una relación se combina con el valor NT-proBNP en el segundo momento en el tiempo. El umbral de 0,75 para el valor relación ST2 se determinó por el análisis ROC, y se verificó subjetivamente, para ser óptimo y un valor NT-proBNP de 1000 pg/ml se considera generalmente ideal para el pronóstico en 1 año de periodo de seguimiento.

15

20

Tabla 3: Resumen de la estratificación de pacientes utilizando la relación ST2 y el valor NT-proBNP de la semana 2, utilizando los umbrales de 0,75 para la relación ST2 y 1000 pg/ml para NT-proBNP

0,75, 1000	ST2 R & NTproBNP W2				ambos -	cualquiera +
	ST2-,NT-	ST2-,NT+	ST2+,NT-	ST2+,NT+		
N	4	15	4	25	4	44
Episodio N	0	6	2	18	0	26
% Episodio	0,0 %	40,0 %	50,0 %	72,0 %	0,0 %	59,1 %

25

Pese a que es efectivo para identificar tanto los pacientes con riesgo más alto como los pacientes con riesgo más bajo, la debilidad en esta aproximación es que existe un número muy pequeño de pacientes en el grupo de riesgo más bajo y un alto porcentaje de pacientes en el rango indeterminado.

Para definir mejor la utilidad funcional de la relación ST2 combinado con un valor NT-proBNP se desarrolló una

fórmula:

$$X = (ST2 T1/ST2 T0) + \alpha \ln(NTproBNP T1)$$

Esta fórmula se desarrolló evaluando el resultado como una función ROC ABC para un rango de coeficientes asociados con el término NT-proBNP. El resultado de esta serie de cálculos se muestra en la Figura 1.

- 5 El valor ABC máximo se consiguió con un coeficiente para  $\alpha$  de 0,33 resultando en que la ecuación final es:

$$X = (ST2 T1/ST2 T0) + 0,33 \ln(NTproBNP T1)$$

Utilizando este algoritmo en una serie de cálculos comparando la sensibilidad, especialidad y riesgo relativo (en la parte derecha del eje) obtenemos el gráfico de la Figura 2.

- 10 En este gráfico el valor de puntuación que resulta en el máximo valor de riesgo relativo es 3,2. El análisis ROC de estos datos confirma que el valor de umbral óptimo es 3,3, ilustrado en la Figura 3. Además, debe anotarse que el valor ABC utilizando esta puntuación es de 0,80 según se compara con el 0,77 para la relación ST2 y 0,72 para la relación NT-proBNP, que generó los siguientes valores ABC más altos.

- 15 Cuando se utiliza esta puntuación, en el valor de umbral de 3,2, para estratificar a los pacientes en esta cohorte que están en riesgo de sufrir un episodio adverso: un ingreso, un trasplante o la mortalidad, se consigue una clara distinción entre los pacientes con riesgo bajo y los pacientes con riesgo alto. Estos resultados se ilustran en la Tabla 4.

Tabla 4: Resumen de la estratificación de pacientes por el riesgo de sufrir episodios cardíacos en 1 año utilizando un punto de corte de la puntuación de 3,2.

	Puntuación		mediana	media
	<3,2	≥3,2		
N	17	31	3,55	3,71
Episodio N	3	23		
% Episodio	17,6 %	74,2 %		
PPV	74,2 %			
NPV	82,4 %			
RR	4,2			

- 20 Comparando directamente estos resultados con los resultados que utilizan solo la relación ST2, mostrados en la Tabla 2, se ilustra que combinando la relación ST2 con un valor NT-proBNP todos los parámetros relevantes que representan la evaluación de predicción del riesgo son más fuertes; PPV, NPV y RR.

Para comparar los resultados de estratificación para el siguiente valor más fuerte, la relación NT-proBNP se resume en la Tabla 5. Los valores que utilizan la relación NT-proBNP son mucho más bajos que cuando se utiliza la relación ST2 o desde la fórmula que combina ST2 con NT-proBNP

- 25 Tabla 5: Resumen de la estratificación de pacientes por el riesgo de sufrir episodios adversos en 1 año utilizando una relación NT-proBNP

	Relación NT-proBNP		mediana	media
	<0,75	≥0,75	0,74	0,83
N	24	24		
Episodio N	10	16		
% Episodio	41,7 %	66,7 %		
PPV	66,7 %			
NPV	58,3 %			
RR	1,1			

Tabla 6: Comparación de los valores de relación y puntuación ST2

	Relación NT-proBNP	relación ST2	Puntuación
PPV	67 %	69 %	74 %
NPV	58 %	68 %	82 %
RR	1,1	2,2	4,2

5 Las diferencias relativas entre los valores de puntuación y relación ST2 también pueden representarse de manera gráfica utilizando gráficos de caja y bigotes, según se muestra en la Figura 4A. Según lo previsto, ambos grupos tenían una resolución significativa estadísticamente entre los grupos de episodio y de no episodio, P=0,0004 para la Puntuación y P=0,0013 para la relación ST2.

10 La distinción entre la puntuación generada por esta fórmula y el radio de valores ST2 también se observa cuando se analizan las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier. La Figura 4B muestra los resultados de la curva de supervivencia para la puntuación con una relación de riesgo calculado de 5,93. Acorde con los cálculos anteriores, la Figura 5 muestra que este mismo análisis para la relación ST2 tuvo una relación de riesgo de 2,72, que es similar al valor calculado para la relación NT-proBNP de 2,39, según se muestra en la Figura 6.

15 Los índices de riesgo calculados a partir de las curvas de Kaplan-Meier eran consistentes con el análisis multivariable de Riesgo Proporcional de Cox La Tabla 7 resume los valores de relación de riesgo (HR) de ambos cálculos para las tres medidas más informativas.

Tabla 7: Resumen de los valores de relación de riesgo (HR) para el riesgo de sufrir un episodio durante un periodo de seguimiento de 1 año

	Puntuación CCD		Relación ST2		Relación NT-proBNP	
	HR	p	HR	p	HR	p
curva K-M	5,93	0,0009	2,72	0,025	2,39	0,025
cox	6,07	0,003	2,73	0,03	2,12	0,059

20 Esta fórmula también se evaluó en cuanto a la precisión al predecir los puntos finales más definitivos de muerte y/o trasplante, según se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8: Resumen de valores ROC ABC para cada medición individual y valores de la relación de muertes o trasplantes en un año

	ABC	SE	95 % CI
ST2_S0	0,625	0,0813	de 0,474 a 0,761
ST2_S2	0,521	0,0858	de 0,372 a 0,667
NTPROBNP_S0	0,564	0,086	de 0,414 a 0,707
NTPROBNPS2	0,679	0,0813	de 0,528 a 0,806
ST2_R	0,706	0,0793	de 0,557 a 0,828
NTPROBNP_R	0,672	0,0818	de 0,521 a 0,800

25 En este análisis, la única variable que tuvo un ABC mayor a 0,7 es la relación ST2. Se determinó para el resultado

de muerte o trasplante un valor de umbral de 0,85 para la relación ST2 mediante el análisis ROC para ser óptimo, según se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9: Valores ROC de relación ST2

Criterio	Sensibilidad	95 % IC	Especialidad	95 % IC	+LR	-LR
>0,85	68,42	43,5 - 87,3	58,62	38,9 - 76,5.	1,65	0,54

5 Cuando estos resultados se compararon con un valor de umbral generalmente aceptado para un cambio en NT-proBNP de 0,7 (el valor óptimo de ROC para la relación NT-proBNP es 0,58), se generaron los resultados mostrados en la Tabla 10. Observe que el valor de umbral óptimo para la relación ST2 y el riesgo de muerte o trasplante en 1 año era mayor en 0,85 que el valor de umbral óptimo de 0,75 para cualquier episodio cardíaco adverso en 1 año.

10 Tabla 10: Resumen de la estratificación de pacientes por el riesgo de sufrir muerte o trasplante en 1 año comparando la relación ST2 y la relación NT-proBNP

	relación ST2		relación NT-proBNP	
	<0,85	≥0,85	<0,7	≥0,7
N	22	26	22	26
Episodio N	5	14	5	14
% Episodio	22,7 %	53,8 %	23 %	54 %
PPV	53,8 %		53,8 %	
NPV	77,3 %		77,3 %	
RR	2,4		2,4	

Pese a que cada biomarcador tenía una fuerza de predicción similar, de los cinco pacientes identificados por debajo del umbral, solo uno fue predicho por ambos biomarcadores.

15 El análisis de la curva de supervivencia de Kaplan-Meier también mostró que, cuando se considera individualmente en esta población, la relación ST2 y la relación NT-proBNP eran funcionalmente indistinguibles en cuanto a la predicción resultante, pese a que la curva para la relación NT-proBNP diverge pronto y se mantiene divergente, mientras que la curva para la relación ST2 diverge mucho después. Para la relación ST2 la razón de riesgo (HR) es 2,66 (p=0,0506), mientras que para la relación NT-proBNP la HR es 2,60 (P=0,0201).

20 Los resultados obtenidos por el análisis multivariable de Riesgo Proporcional de Cox son parcialmente diferentes. Cuando se analizaron individualmente los valores HR eran 1,94 para la relación ST2 y 0,55 para la relación NT-proBNP, y eran casi el mismo cuando se analizaron juntos en 2,03 para la relación ST2 y 0,53 para la relación NT-proBNP. El valor p no era significativo para ninguna variable, en 0,176 y 0,168 respectivamente.

25 Sin embargo, según se observó cuando se evaluaron los episodios como el parámetro resultante, si la relación de ST2 se combinaba con el segundo valor NT-proBNP los resultados del análisis ROC ilustran una mayor precisión en la predicción utilizando esta fórmula, como se muestra en la Figura 9.

Pese a que el análisis ROC identifica 3,5 como el umbral óptimo, un análisis adicional confirma que el umbral anteriormente identificado de 3,2 proporciona una mejor precisión de pronóstico. La HR del análisis de supervivencia Kaplan-Meier (Figura 10) fue 6,02 (p=0,0060). La HR calculada por el análisis multivariable de Riesgo Proporcional de Cox fue muy similar a 6,08 (p=0,016).

30 La Tabla 11 proporciona un resumen de los cálculos de riesgo relativo comparando los valores previamente determinados para las relaciones ST2 y NT-proBNP así como la puntuación de riesgo MACE.

Tabla 11: El resumen de la estratificación de paciente por riesgo a la muerte o trasplante en 1 año.

Muerte o trasplante en 1 año			
	relación ST2	relación NT-proBNP	Puntuación de riesgo MACE

(continuación)

Muerte o trasplante en 1 año						
	relación ST2		relación NT-proBNP		Puntuación de riesgo MACE	
	<0,85	≥0,85	<0,7	≥0,7	<3,2	≥3,2
N	22	26	22	26	17	31
Episodio N	5	14	5	14	2	17
% Episodio	22,7 %	53,8 %	23 %	54 %	11,8 %	54,8 %
PPV	53,8 %		53,8 %		54,8 %	
NPV	77,3 %		77,3 %		88,2 %	
RR	2,4		2,4		4,7	

5 Una ilustración de gráfico simple de caja (Fig.11) confirma la distinción entre el grupo de episodio y el de no episodio para los valores de puntuación de riesgo MACE. Para este gráfico  $p=0,002$ . Nótese que los valores de mediana no se superponen con el límite 25-75 %. Esta misma comparación para la relación ST2 y la relación NT-proBNP se muestra en las Figuras 12 y 13. Los valores p para estos gráficos son 0,017 y 0,046 respectivamente y la distinción entre el grupo de episodio y el de no episodio no es definitiva como lo es para la puntuación de riesgo MACE.

Conclusión

10 Según se deriva de este conjunto de datos, la fórmula descrita combinando los valores de la relación de ST2 entre dos momentos en el tiempo y un valor NT-proBNP medido en el segundo momento proporciona la medida de riesgo más precisa y fuerte de que un paciente podrá sufrir un episodio cardíaco adverso como el ingreso, trasplante o muerte.

**Ejemplo 2. Análisis de validación de la fórmula que combina ST2 con NT-proBNP para la predicción de riesgo MACE**

15 En el estudio descrito en este ejemplo, se hizo un seguimiento a 150 pacientes hospitalizados con razones de riesgo gravemente desestabilizados en el Hospital de Atención a Veteranos en San Diego, California. Se midieron múltiples parámetros relacionados con el corazón, incluyendo ST2, BNP, NT-proBNP, y nitrógeno ureico en sangre (BUN). Las muestras de plasma se recogieron en seis momentos en el tiempo entre el ingreso y el alta. Las concentraciones de biomarcadores se correlacionan con la supervivencia en 90 días. Estos 150 pacientes se clasificaron más  
20 mediante los siguientes criterios para optimizar la coordinación entre las diferentes mediciones que se llevaron a cabo y los momentos en los que se hicieron estas mediciones:

1. Valor de ST2 en el día 1
2. Valor de ST2 en el día 3 o después para un mínimo de tiempo recorrido de 2 días
3. Valor NT-proBNP el mismo último día que el último valor ST2
- 25 4. Vivo al darle el alta

Esta clasificación resultó en un número (N) de pacientes restantes de 107 en total, con 35 episodios, reingresos o muertes, en 90 días y 13 de esos episodios fueron muertes en 90 días. Los siguientes análisis comparan varias medidas individuales para predecir con precisión la mortalidad en 90 días y valida la fórmula que combina ST2 con NT-proBNP.

30 Si los biomarcadores se comunican día a día como una función de si el paciente sobrevivió o murió, existe una clara distinción a lo largo del tiempo. En pacientes que no sobrevivieron los valores para ST2, así como el BNP y NT-proBNP aumentaron, mientras que en aquellos pacientes que sobrevivieron estos valores descendieron y permanecieron bajos. En las Figuras 14-16, la mediana se traza con barras de error que representan los percentiles 25-75.

35 En este análisis, el día cuatro (tres días de retraso), los tres biomarcadores alcanzaron una separación máxima en los valores de mediana entre los supervivientes y los fallecidos, pero solo el ST2 y NT-proBNP también fueron capaces de alcanzar y mantener una resolución significativa no solo entre los valores de mediana sino también entre los valores percentiles de 25-75.

El análisis ROC, resumido en la Tabla 13, afirmó esta observación con un máximo de valores ABC para cada biomarcador ya sea en la medición individual del día 4 o del cambio, comunicado como una relación, entre un punto de referencia y el día 4. Sin embargo, la fuerza funcional para utilizar las mediciones del día 4 se limitó en este caso porque a partir de esta cohorte de 107 pacientes solo hubo 60 valores comunicados para el día 4. Para maximizar el número de pacientes que se incluyeron en el análisis, se obtuvo un valor para el último (L) tomando el último valor disponible para cada paciente desde el día 3 o después. Se observa que los valores ABC para el último valor no eran significativamente diferentes a los valores para el valor del día 4 desde cada biomarcador, ni eran valores ABC para la relación de 4:1 mediciones o de L:F mediciones. Por consiguiente, para el resto de este análisis los valores usados fueron el primero (1), el último (L) y la relación del último al primero (L:F).

5

10

Tabla 13: Valores individuales ABC a partir del análisis ROC para la mortalidad en 90 días

	ABC
	Muerte 90
BNP 1	0,602
BNP 4	0,739
BNP L	0,729
BNP R 4:1	0,684
BNP R L:F	0,684
NTproBNP 1	0,735
NTproBNP 4	0,836
NTproBNP L	0,824
NTproBNP R 4:1	0,820
NTproBNP R L:F	0,776
ST2 1	0,530
ST2 4	0,889
ST2 L	0,773
ST2 R 4:1	0,816
ST2 R L:F	0,838
BUN	0,830

La Figura 17 y la Tabla 14 resume el análisis ROC para los valores de relación L:F para cada biomarcador. En una comparación similar ninguna de las curvas consigue una resolución estadísticamente significativa.

Tabla 14: Resultados de los análisis ROC de relaciones de mortalidad en 90 días

	ABC	SE	95 % CI
ST2_RL_F	0,838	0,0708	de 0,754 a 0,902
NT_RL_F	0,776	0,079	de 0,685 a 0,851
BNP_RL_F	0,684	0,0859	de 0,587 a 0,770

15

Según se determinó utilizando los datos de la cohorte de péptidos para la derivación, el resultado de la fórmula de puntuación de riesgo por mortalidad produjo unos valores ABC del análisis ROC aún mayores que cualquiera de las mediciones individuales de los valores relación. El análisis ROC para esta fórmula se muestra en la Figura 18 y los datos del análisis ROC se resumen en la Tabla 15.

Tabla 15: datos de la fórmula ROC de la puntuación de riesgo MACE para mortalidad en 90 días.

Grupo positivo	
Muerte90	=1
Tamaño de la muestra	13
Grupo negativo	
Muerte90	=0
Tamaño de la muestra	94
Área bajo la curva ROC (ABC)	0,876
Error estándar	0,0639
Intervalo de confianza del 95 %	0,798 a 0,931

(continuación)

Grupo positivo						
Nivel de significancia P (Área=0,5)					0,0001	
Valores y coordenadas de criterio de la curva ROC						
Criterio	Sensibilidad	95 % de CI	Especificidad	95 % de CI	+LR	-LR
>=1,67	100,00	75,1-100,0	0,00	0,0-3,9	1,00	
>3,1	100,00	75,1-100,0	42,55	32,4-53,2	1,71	0,00
>3,12	92,31	63,9-98,7	42,55	32,4-53,2	1,61	0,18
>3,52*	92,31	63,9-98,7	72,34	62,2-81,1	3,34	0,11
>3,59	84,62	54,5-97,6	73,40	63,3-82,0	3,18	0,21
>3,61	84,62	54,5-97,6	75,53	65,6-83,8	3,46	0,20
>3,62	76,92	46,2-94,7	84,04	75,0-90,8	4,82	0,27

El valor óptimo ROC a partir de este análisis fue 3,52. Como observamos utilizando los datos de la cohorte de péptidos (véase el **Ejemplo 1**), la fórmula óptima ROC de la puntuación de riesgo MACE también fue 3,5 pero la mejor precisión de pronóstico (mortalidad) se alcanzó con un valor 3,2 en esa cohorte. Un gráfico de caja y bigotes básico (Figura 19) muestra una resolución clara entre el grupo de supervivientes y de fallecidos,  $p < 0,0001$ . A fines comparativos, un análisis de gráfico de caja y bigotes de ST2 R L:F es similar, con un  $p = 0,0001$  (Figura 20). Y también se observó utilizando los datos de la cohorte de péptidos que un análisis de matriz básico y un cálculo de riesgo relativo confirman que la puntuación de riesgo MACE proporciona una predicción de mortalidad más precisa.

5

10

Tabla 16: Análisis de matriz y riesgo relativo de las variables de predicción de mortalidad más fuertes

	ST2 R L:F		NTproBNP R L:F		Puntuación de riesgo MACE	
	<0,85	≥0,85	<0,7	≥0,7	<3,5	≥3,5
N	76	31	49	58	65	42
N mortalidad	3	10	2	11	1	12
% mortalidad	3,9 %	32,3 %	4,1 %	19,0 %	1,5 %	28,6 %
PPV	32,3 %		19,0 %		28,6 %	
NPV	96,1 %		95,9 %		98,5 %	
RR	8,2		4,6		18,6	

Pese a que tanto la relación ST2 como la relación NTproBNP produjo buenos valores de riesgo relativo, el riesgo relativo utilizando la puntuación de riesgo MACE fue mucho mayor.

### Conclusión

15 Según se determinó utilizando los datos de la cohorte de péptidos (**Ejemplo 1**) la fórmula de puntuación de riesgo MACE aquí descrita proporciona la mayor precisión de pronóstico, específicamente cuando el parámetro resultante es la mortalidad, según se determina por el ROC, la relación de riesgo y el cálculo de riesgo relativo. Existe una pequeña pero significativa diferencia entre los valores de umbral en estas dos cohortes. La cohorte de péptidos descrita en el **Ejemplo 1** es un grupo de pacientes no ingresados con una umbral de relación ST2 de 0,75 y un umbral de fórmula de puntuación de riesgo MACE de 3,2, mientras que la cohorte VET descrita en este Ejemplo 2 es un grupo de pacientes no ingresados, y los valores de umbral respectivos son 0,85 y 3,5. Esta diferencia en valores de umbral puede ser debida a la diferencia en la gravedad de la enfermedad entre el estado de un paciente ingresado y uno no ingresado o puede ser debida a la diferencia temporal entre mediciones, ya que hubo un periodo de 2 semanas entre las mediciones en la cohorte de pacientes no ingresados en comparación con un periodo de 3-5 días en el cohorte de pacientes ingresados. Shimp y col., *Circulation* 109(18):2186-90 (2004), afirmó que los valores ST2 aumentan rápidamente en las primeras 12 horas que siguen al infarto de miocardio. Los resultados descritos en estos dos ejemplos ilustran claramente que existe también una dinámica de cambio en los niveles ST2 en pacientes con un fallo cardíaco pero los parámetros cinéticos todavía están por determinar.

20

25

### Otras realizaciones

30 Debe entenderse que, aunque la invención se ha descrito en relación con la descripción detallada de la misma, la anterior descripción pretende ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que se define por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones entran dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.



## REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para determinar el riesgo de muerte de un sujeto con fallo cardiaco, comprendiendo el procedimiento:

5 (a) determinar una primera puntuación de riesgo de episodio cardíaco adverso grave (MACERS) para un sujeto con fallo cardiaco basándose, al menos en parte, en la relación de un segundo nivel de gen 2 soluble expresado para estimulación del crecimiento (ST2) en el sujeto en un segundo punto temporal (ST2 T1) con un primer nivel de ST2 soluble en el sujeto en un primer punto temporal (ST2 T0), además de un logaritmo neperiano ponderado de un nivel de N-terminal proBNP (NP) en el sujeto en el segundo punto temporal (NP T1) de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$10 \quad \text{Primer MACERS} = (\text{ST2 T1}/\text{ST2 T0}) + \alpha \ln(\text{NP T1}),$$

en la que  $\alpha$  es un factor de ponderación;

15 (b) determinar un segundo MACERS para un sujeto basándose, al menos en parte, en la relación de un tercer nivel de ST2 soluble en el sujeto en un tercer punto temporal (ST2 T2) con ST2 T0, además de un logaritmo neperiano ponderado de un nivel del NP en el sujeto en el tercer punto temporal (NP T2) de acuerdo con la siguiente fórmula

$$\text{Segundo MACERS} = (\text{ST2 T2}/\text{ST2 T0}) + \alpha \ln(\text{NP T2}),$$

en la que  $\alpha$  es un factor de ponderación;

20 (c) comparar el segundo MACERS con el primer MACERS; y  
(d) determinar el riesgo de muerte del sujeto basándose en la comparación del segundo MACERS con el primer MACERS.

2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que (d) comprende determinar que un sujeto con fallo cardiaco y un segundo MACERS elevado en comparación con el primer MACERS tiene un riesgo incrementado de muerte en comparación con un sujeto con fallo cardiaco y que no tiene un segundo MACERS elevado en comparación con el primer MACERS.

25 3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que (d) comprende determinar que un sujeto con fallo cardiaco y un segundo MACERS disminuido en comparación con el primer MACERS tiene un riesgo disminuido de muerte en comparación con un sujeto con fallo cardiaco y que no tiene un segundo MACERS disminuido en comparación con el primer MACERS.

4. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el factor de ponderación  $\alpha$  es aproximadamente 0,33.

30 5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el primer punto temporal está comprendido en un lapso de 1-7 días del inicio de los síntomas en el sujeto.

6. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el segundo punto temporal está comprendido en un lapso de 2-14 días después del primer punto temporal.

7. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el sujeto tiene un IMC de 25-29.

35 8. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el sujeto tiene un IMC > 30.

9. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el sujeto tiene insuficiencia renal.

10. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el procedimiento comprende además:

40 realizar un inmunoensayo para determinar el primer nivel de ST2 soluble en una muestra biológica obtenida del sujeto en el primer punto temporal (ST2 T0);

realizar un inmunoensayo para determinar el segundo nivel de ST2 soluble en una muestra biológica obtenida del sujeto en el segundo punto temporal (ST2 T1);

realizar un inmunoensayo para determinar el tercer nivel de ST2 soluble en una muestra biológica obtenida del sujeto en el tercer punto temporal (ST2 T2);

45 realizar un inmunoensayo para determinar el segundo nivel del NP en una muestra biológica obtenida del sujeto en el segundo punto temporal (NP T1); y

realizar un inmunoensayo para determinar el tercer nivel del NP en una muestra biológica obtenida del sujeto en el tercer punto temporal (NP T2).

11. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que las muestras biológicas obtenidas del sujeto en el primer punto temporal, el segundo punto temporal y el tercer punto temporal comprenden suero, sangre o plasma.

50 12. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que las muestras biológicas obtenidas del sujeto en el primer punto temporal, el segundo punto temporal y el tercer punto temporal comprenden suero.

Figura 1

Puntuación = relación ST2 semana 2/semana 0 + Alfa + log (Semana 2NTproBNP)

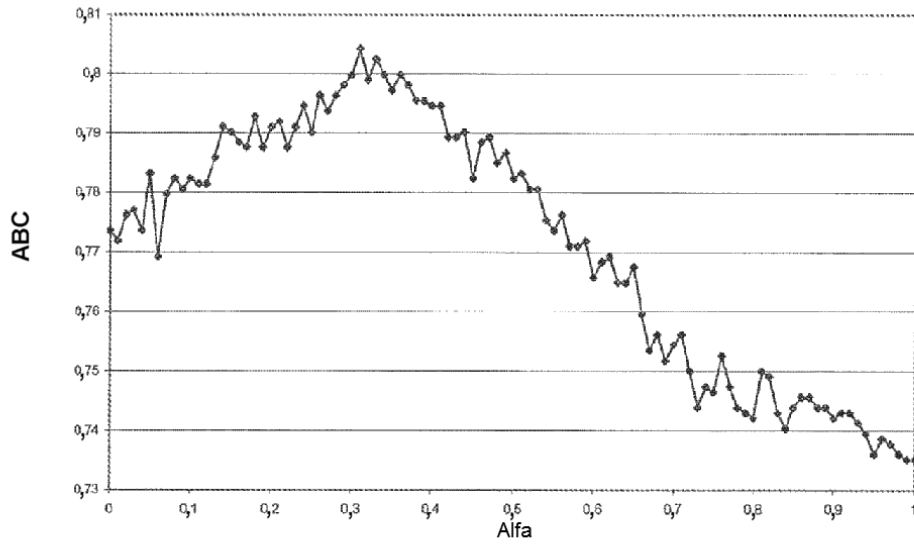


Figura 2

Sensibilidad, especificidad, y riesgo relativo en diferentes puntos de corte para la relación + log(NTproBNP)/3

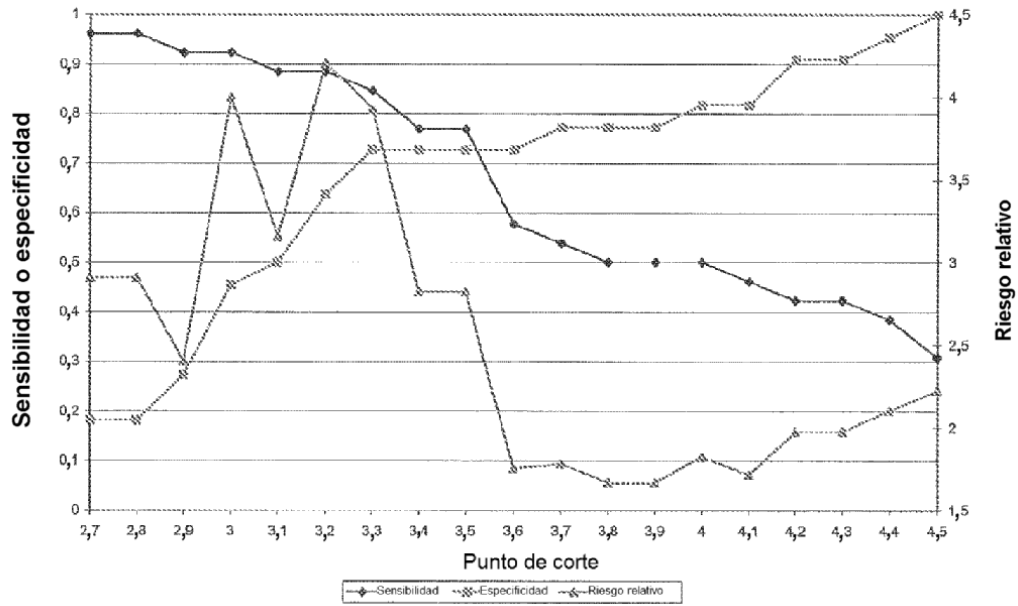
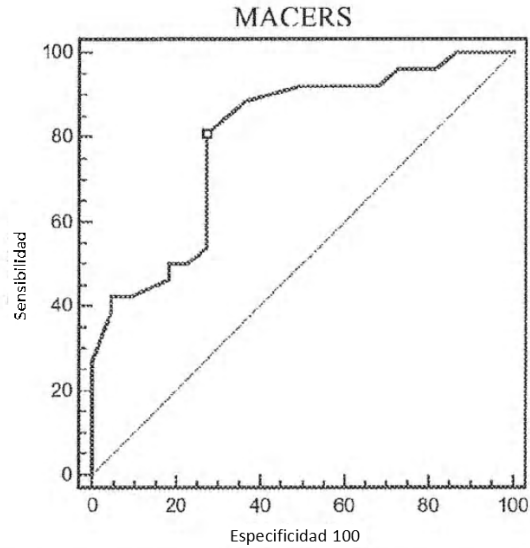


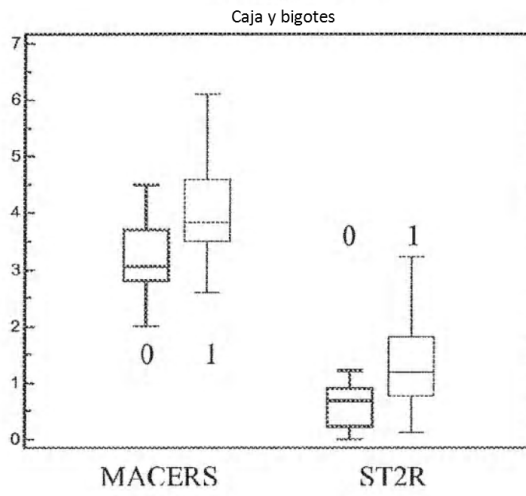
Figura 3



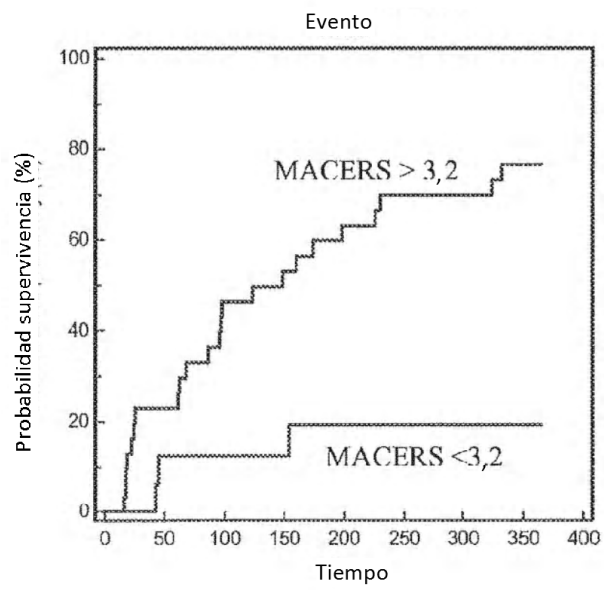
Área bajo la curva (ABC)	0,800
Error estándar	0,0637
Intervalo confianza 95%	0,659 a 0,901
Nivel significancia (Área 0,5)	0,0001

Valores de criterio y coordenadas de la curva ROC						
Criterio	Sensibilidad	CI 95%	Especificidad	CI 95%	+LR	-LR
>=2	100,00	86,7 - 100,0	0,00	0,0 - 15,6	1,00	
>2,5	100,00	86,7 - 100,0	13,64	3,1 - 34,9	1,16	0,00
>2,6	96,15	80,3 - 99,4	18,18	5,3 - 40,3	1,18	0,21
>2,8	96,15	80,3 - 99,4	27,27	10,8 - 50,2	1,32	0,14
>2,9	92,31	74,8 - 98,8	31,82	13,9 - 54,9	1,35	0,24
>3	92,31	74,8 - 98,8	50,00	28,2 - 71,8	1,85	0,15
>3,1	88,46	69,8 - 97,4	63,64	40,7 - 82,8	2,43	0,18
>3,2	84,62	65,1 - 95,5	68,18	45,1 - 86,1	2,66	0,23
>3,3 ^	80,77	60,6 - 93,4	72,73	49,8 - 89,2	2,96	0,26
>3,6	53,85	33,4 - 73,4	72,73	49,8 - 89,2	1,97	0,63
>3,7	50,00	29,9 - 70,1	77,27	54,6 - 92,1	2,20	0,65
>3,9	50,00	29,9 - 70,1	81,82	59,7 - 94,7	2,75	0,61
>4	46,15	26,6 - 66,6	81,82	59,7 - 94,7	2,54	0,66
>4,1	42,31	23,4 - 63,1	90,91	70,8 - 98,6	4,65	0,63

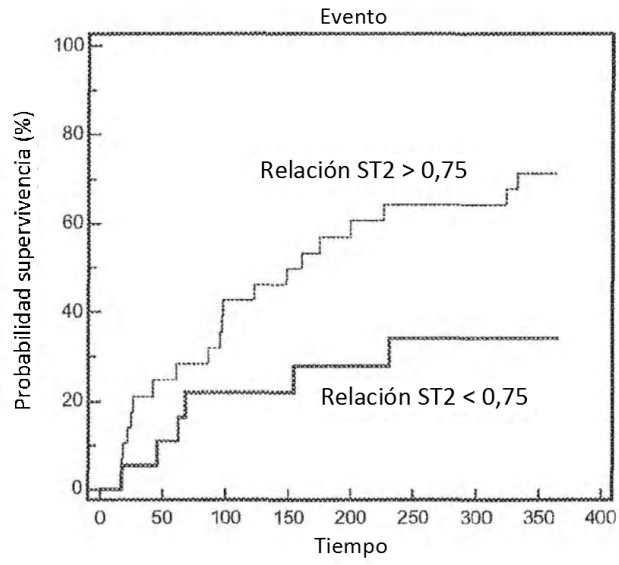
**Figura 4A**



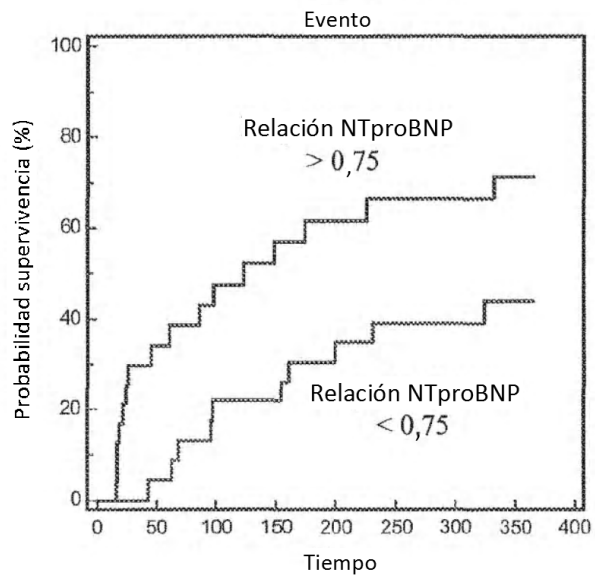
**Figura 4B**



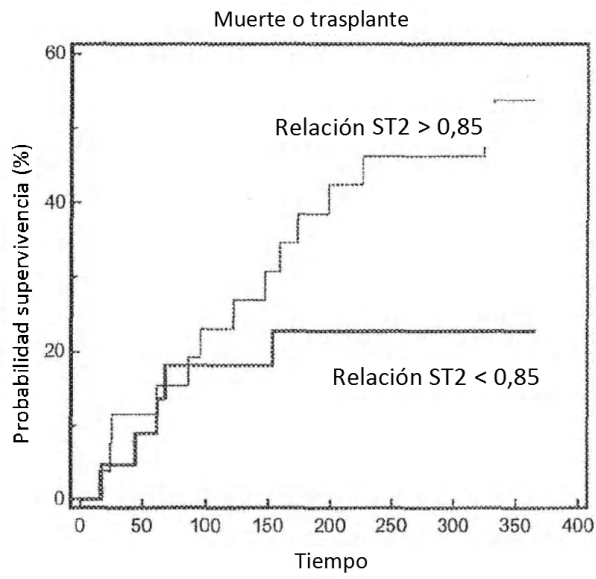
**Figura 5**



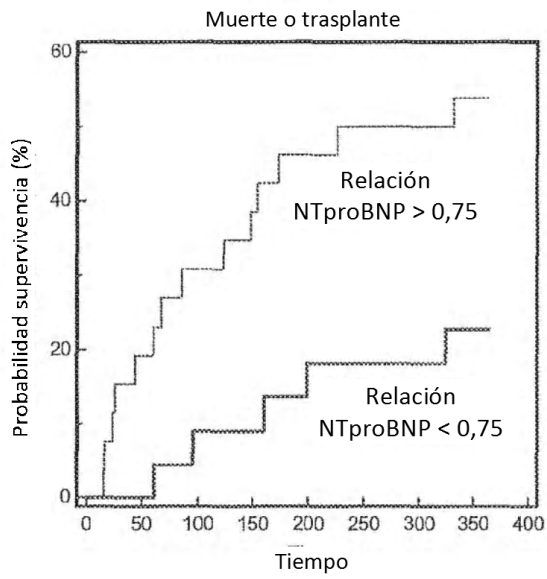
**Figura 6**



**Figura 7**

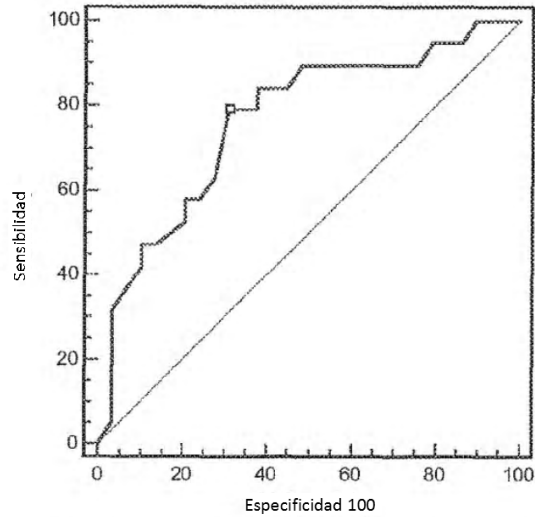


**Figura 8**



**Figura 9**

MACERS

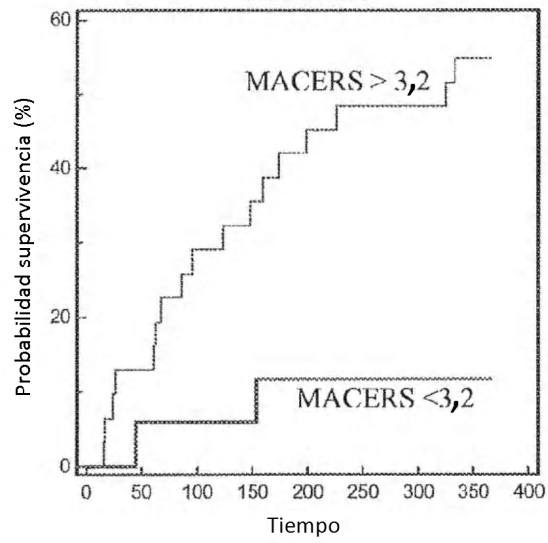


Área bajo la curva (ABC)	0,766
Error estándar	0,0734
Intervalo confianza 95%	0,621 a 0,876
Nivel significancia (Área 0,5)	0,0003

Valores de criterio y coordenadas de la curva ROC						
>3,1	89,47	66,8 - 98,4	51,72	32,5 - 70,5	1,85	0,20
>3,2	84,21	60,4 - 96,4	55,17	35,7 - 73,5	1,88	0,29
>3,3	84,21	60,4 - 96,4	62,07	42,3 - 79,3	2,22	0,25
>3,4	78,95	54,4 - 93,8	62,07	42,3 - 79,3	2,08	0,34
>3,5 *	78,95	54,4 - 93,8	68,97	49,2 - 84,7	2,54	0,31
>3,6	63,16	38,4 - 83,6	72,41	52,8 - 87,2	2,29	0,51
>3,7	57,89	33,5 - 79,7	75,86	56,5 - 89,7	2,40	0,56
>3,9	57,89	33,5 - 79,7	79,31	60,3 - 92,0	2,80	0,53
>4	52,63	28,9 - 75,5	79,31	60,3 - 92,0	2,54	0,60

**Figura 10**

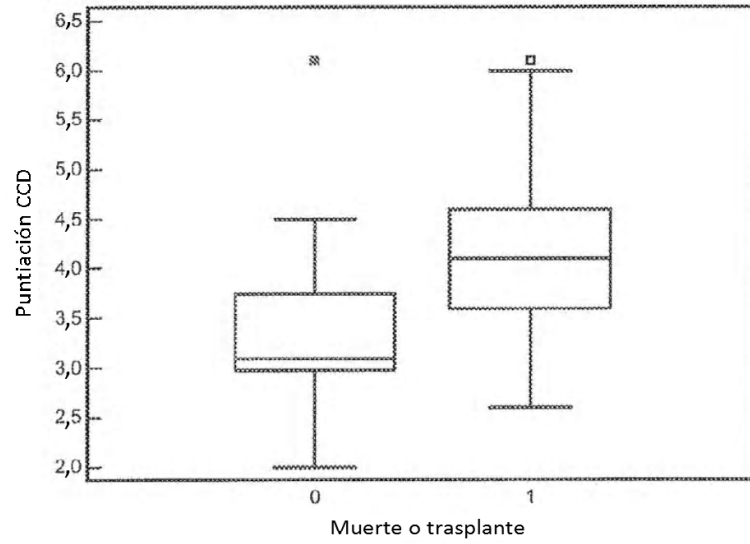
Muerte o trasplante





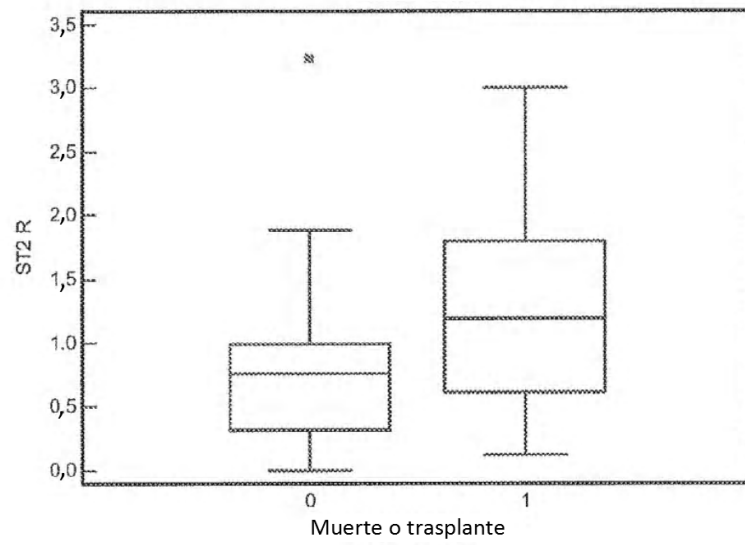
**Figura 11**

Caja y bigotes

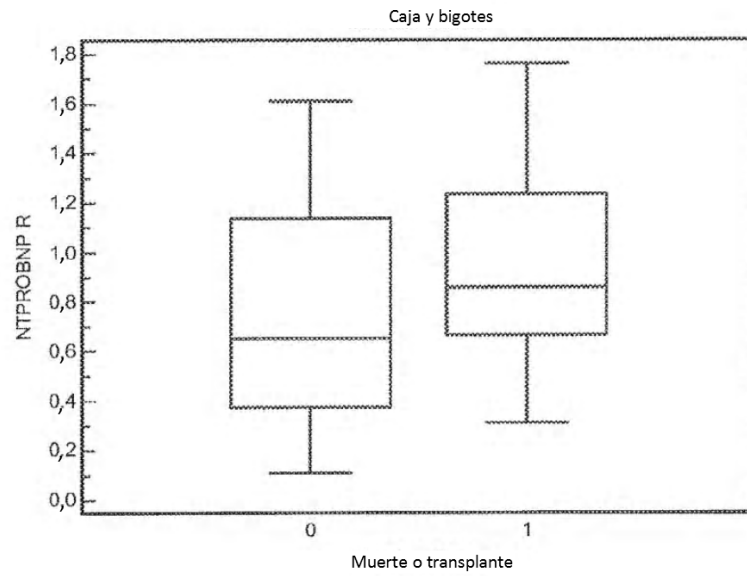


**Figura 12**

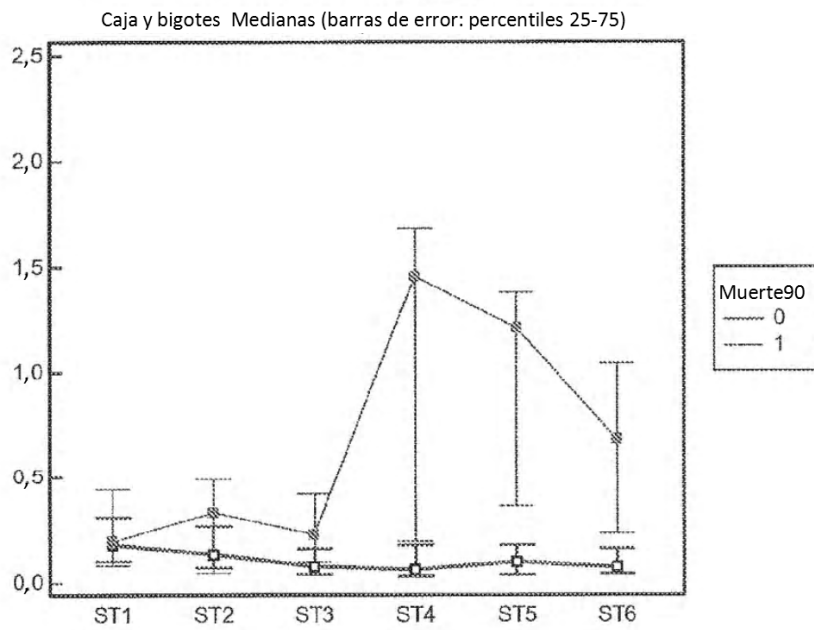
Caja y bigotes



**Figura 13**

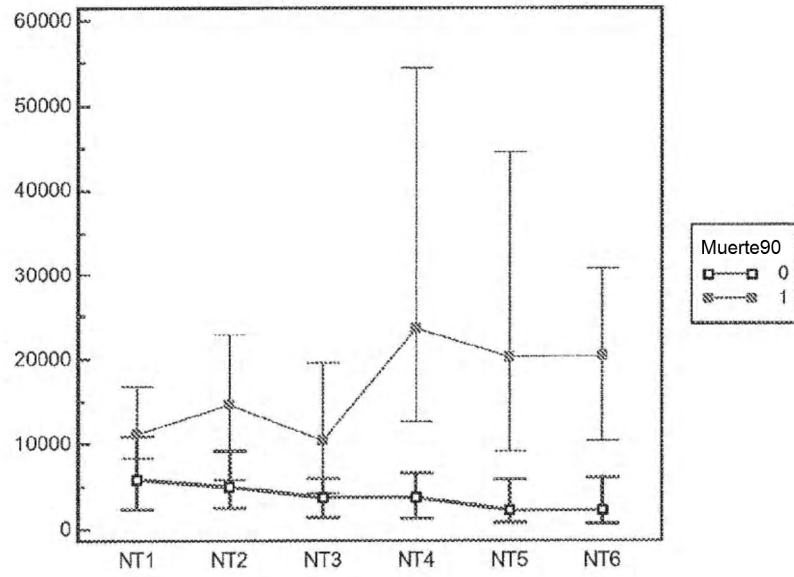


**Figura 14**

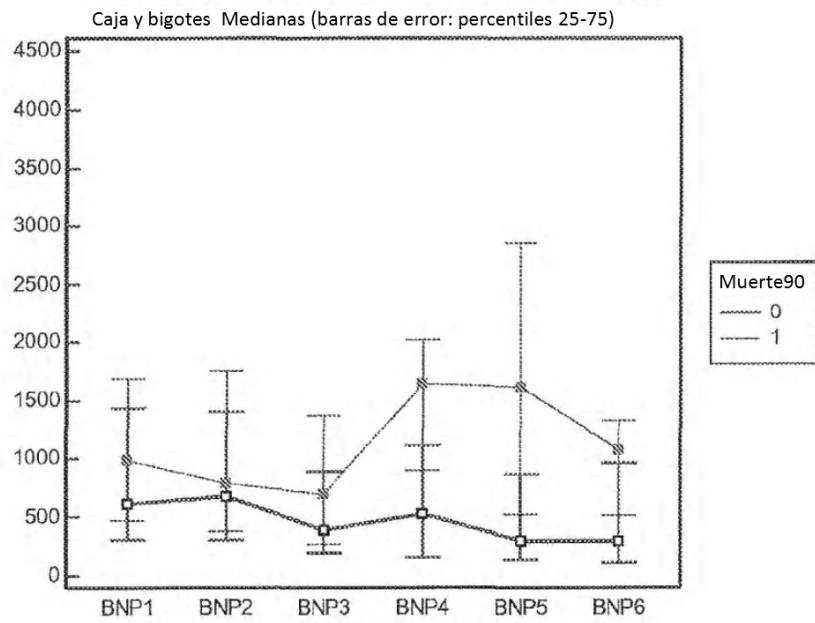


**Figura 15**

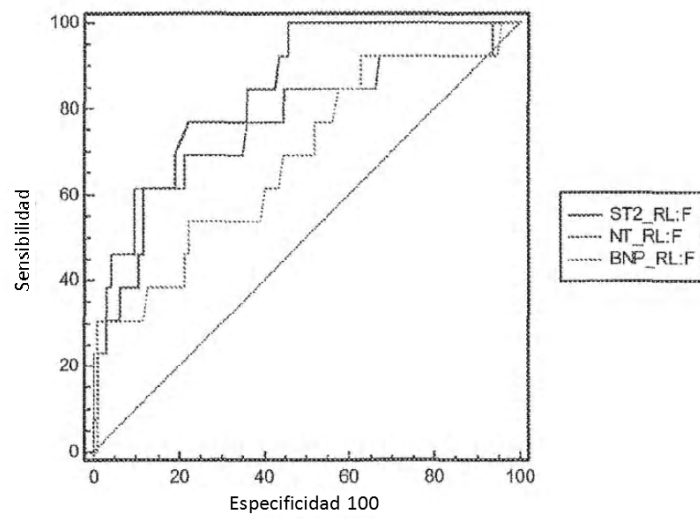
Medianas (barras de error: percentiles 75-75)



**Figura 16**

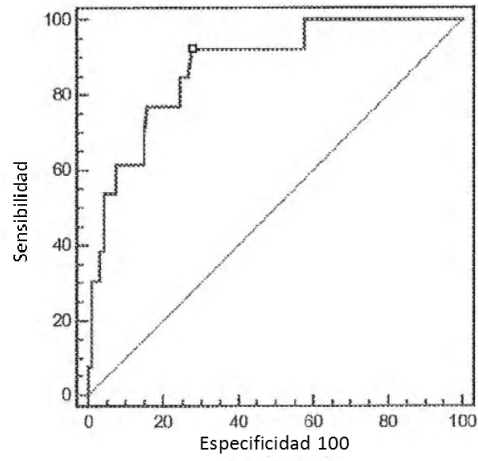


**Figura 17**



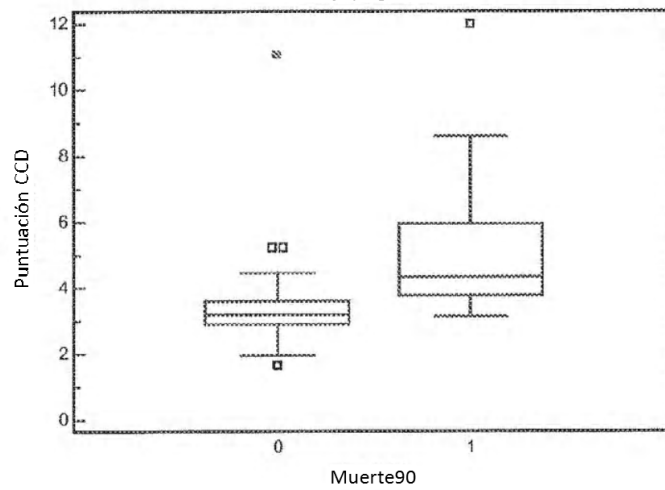
**Figura 18**

MACERS



**Figura 19**

Caja y bigotes



**Figura 20**

