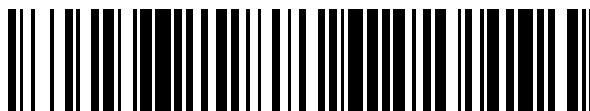


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 708 325**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.10.2015 PCT/EP2015/075012**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.05.2016 WO16066698**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2015 E 15790874 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.12.2018 EP 3213085**

54 Título: **Biomarcadores para la predicción del riesgo de progresión de insuficiencia cardiaca crónica y de la mortalidad**

30 Prioridad:

29.10.2014 EP 14190836
11.11.2014 EP 14192653

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.04.2019

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

LATINI, ROBERTO;
MASSON, SERGE;
BLOCK, DIRK;
ZAUGG, CHRISTIAN;
DIETERLE, THOMAS;
KAISER, EDELGARD;
KARL, JOHANN;
ROLNY, VINZENT y
WIENHUES-THELEN, URSULA-HENRIKE

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 708 325 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 para la predicción del riesgo de progresión de insuficiencia cardíaca crónica y de la mortalidad

- 5 La presente invención se refiere a un método para predecir el riesgo de que un sujeto progrese rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte. El método se basa en la determinación de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra de un sujeto. El método abarca además la
- 10 evaluación de la presencia o ausencia de (i) acortamiento fraccional de pared media anormal y (ii) ausencia de hipertrofia ventricular izquierda. Además se describen dispositivos adaptados para llevar a cabo la presente invención.
- 15 Un objetivo de la medicina moderna es proporcionar regímenes de tratamiento personalizados o individualizados. Esos son regímenes de tratamiento que tienen en cuenta las necesidades o riesgos individuales de un paciente. Incluso se deben tener en cuenta los regímenes de tratamiento personalizados o individuales para las medidas en las que se requiere decidir los regímenes de tratamiento potenciales.
- 20 La insuficiencia cardíaca (IC) es un problema de salud pública importante y en crecimiento. Se estima que aproximadamente 5 millones de pacientes en los EE. UU. tienen insuficiencia cardíaca, más de 500.000 pacientes son diagnosticados con insuficiencia cardíaca por primera vez cada año y más de 250.000 pacientes en los EE. UU. mueren cada año de insuficiencia cardíaca como causa primaria. La insuficiencia cardíaca (IC) es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en los países desarrollados. Debido al envejecimiento de la población
- 25 y la mayor longevidad de los pacientes con enfermedad cardiovascular, la incidencia y la prevalencia de la IC están aumentando.
- La insuficiencia cardíaca puede ser sintomática o asintomática. Se sabe que algunos sujetos con insuficiencia cardíaca asintomática progresan más rápidamente a la insuficiencia cardíaca crónica y, por lo tanto, tienen un riesgo
- 30 elevado de hospitalización debido a una insuficiencia cardíaca y/o muerte (Neeland et al., Diario Journal of the American College of Cardiology 2013; 61(2): 187-195). Es importante identificar a estos sujetos tan pronto como sea posible, ya que esto permitiría medidas terapéuticas que previenen o retrasan la progresión a insuficiencia cardíaca crónica. La identificación de los progresores rápidos de la enfermedad y la intervención terapéutica adecuada es, sin embargo, una importante necesidad médica no satisfecha (Neeland et al.).
- 35 Neeland et al. determina marcadores cardíacos en pacientes con hipertrofia ventricular izquierda. Sobre la base de la determinación de marcadores cardíacos, se puede identificar un grupo de alto riesgo en la población general.
- El documento WO 2014/040759 describe que pueden usarse marcadores cardíacos tales como NT-proBNP y una
- 40 troponina cardíaca para la identificación de sujetos que deben someterse a una evaluación diagnóstica basada en imágenes.
- Zapolski et al. describe la asociación de una MFS anormal (acortamiento fraccional de la pared media) y niveles elevados de NTproBNP en un estudio transversal realizado en pacientes hemodializados. Los pacientes
- 45 investigados están gravemente enfermos (Zapolski et al., BMC Cardiovasc Disord. 2012, 12: 100).
- Satyan et al. proporciona datos de NTproBNP elevado en combinación con MFS anormal para la identificación del riesgo de mortalidad en pacientes en hemodiálisis (Satyan S, Light RP, Agarwal R Am J Kidney Dis. 2007 Dec; 50 (6): 1009-19).
- 50 Masson et al. investiga la combinación de varios biomarcadores circulantes como el NT-proBNP con acortamiento fraccional de la pared media anormal (Circulation. 25 de noviembre de 2014; 130: A12358 Resumen 12358: Abnormal Left Ventricular Midwall Fractional Shortening and Elevated Circulating Biomarkers Predict High Mortality in Elderly Individuals in the General Population).
- 55 Ventajosamente, se ha demostrado en el contexto de los estudios que subyacen a la presente invención que la medición del nivel de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y
- 60 angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra de un sujeto, en combinación con la evaluación de si el sujeto sufre una MFS anormal, o no, en donde dicho sujeto no sufre de hipertrofia ventricular izquierda, permite una identificación confiable de los sujetos que están en riesgo de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o quienes están en riesgo de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un método para predecir el riesgo de que un sujeto progrese rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte, comprendiendo dicho método:

5 (a) evaluar en dicho sujeto

- (i) la presencia o la ausencia de acortamiento fraccional de pared media anormal (MFS anormal), y
- (ii) la ausencia de hipertrofia ventricular izquierda (HVI),

10 (b) la medición del nivel de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra del sujeto, y

15 (c) comparando los niveles de dicho al menos un biomarcador con un nivel de referencia (niveles de referencia).

Preferiblemente, el riesgo se predice al llevar a cabo el paso adicional d) de predecir el riesgo, o de proporcionar una predicción del riesgo de que el sujeto progrese rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debida a insuficiencia cardíaca crónica. y/o de la muerte. Dicho paso se basa en los resultados de los pasos a) b) y c).

El método de la presente invención, preferiblemente, es un método ex vivo o in vitro. Además, puede comprender pasos adicionales a los explícitamente mencionados anteriormente. Por ejemplo, pasos adicionales pueden relacionarse con los tratamientos previos de la muestra o la evaluación de los resultados obtenidos por el método. El método puede ser realizado manualmente o asistido por automatización. Preferiblemente, los pasos de medición, los pasos de cálculo y el paso de comparación pueden ser asistidos en su totalidad o en parte por la automatización, por ejemplo, por un equipo robótico y sensorial adecuado para la medición, un algoritmo de cálculo implementado por computadora en un dispositivo de procesamiento de datos en los pasos de cálculo, o algoritmo de comparación y/o diagnóstico en un dispositivo de procesamiento de datos en el paso de comparación.

De acuerdo con la presente invención, se debe predecir el riesgo de que un sujeto progrese rápidamente a una insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a una insuficiencia cardíaca crónica y/o de muerte. Por lo tanto, se puede identificar un sujeto que está en riesgo de eso, o que no está en riesgo de eso. El término "predecir el riesgo" como se usa en este documento, preferiblemente, se refiere a evaluar la probabilidad según la cual un sujeto progresará rápidamente a una insuficiencia cardíaca crónica y/o a evaluar la probabilidad de hospitalización debido a una insuficiencia cardíaca crónica y/o de muerte. Más preferiblemente, se predice el riesgo/probabilidad dentro de una cierta ventana de tiempo. En una realización preferida de la presente invención, la ventana predictiva, preferiblemente, es un intervalo de al menos 1 año, al menos 2 años, al menos 3 años, al menos 4 años, al menos 5 años o al menos 10 años, o cualquier intervalo de tiempo intermitente. En una realización particular preferida de la presente invención, la ventana predictiva, preferiblemente, es un intervalo de 5 años, más preferiblemente de 4 años, o más preferiblemente, de 3 años. En otra realización preferida de la presente invención, la ventana predictiva será la vida completa del sujeto. Preferiblemente, dicha ventana predictiva se calcula a partir del momento en el que se obtuvo la muestra a analizar.

Como entenderán los expertos en la técnica, tal predicción no pretende ser correcta para el 100% de los sujetos. El término, sin embargo, requiere que se pueda hacer una predicción para una parte estadísticamente significativa de los sujetos de una manera adecuada y correcta. El experto en la materia puede determinar si una parte es estadísticamente significativa sin más dilación, utilizando diversas herramientas de evaluación estadística bien conocidas, por ejemplo, determinación de intervalos de confianza, determinación del valor p, prueba t de Student, prueba de Mann-Whitney, etc. Los detalles se encuentran en Dowdy y Wearden, Statistics for Research, John Wiley & Sons, New York 1983. Los intervalos de confianza preferidos son al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 97%, al menos el 98%, o al menos el 99%. Los valores de p son, preferiblemente, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 o 0,0001. Preferiblemente, la probabilidad prevista por la presente invención permite que la predicción de un aumento, riesgo normal o disminuido sea correcta para al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80% o al menos el 90% de los sujetos de una cohorte o población determinada. El término, preferiblemente, se refiere a predecir si un sujeto tiene un riesgo elevado o un riesgo reducido en comparación con el riesgo promedio en una población de sujetos.

El término "predecir el riesgo" como se usa en este documento significa que el sujeto que se va a analizar por el método de la presente invención se asigna al grupo de sujetos que corren el riesgo de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a una insuficiencia cardíaca crónica y/o la muerte, o al grupo de sujetos que no están en riesgo de progresar rápidamente a una insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a una insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte. En el sujeto que está en riesgo, preferiblemente, es un sujeto que tiene un riesgo elevado de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte (en particular dentro de la ventana predictiva). Preferiblemente, dicho riesgo es elevado en comparación con el riesgo promedio en una cohorte de sujetos (es decir, un grupo de sujetos). En el sujeto que no está en riesgo, preferiblemente, es un sujeto que tiene un

riesgo reducido de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte (en particular dentro de la ventana predictiva). Preferiblemente, dicho riesgo se reduce en comparación con el riesgo promedio en una cohorte de sujetos (es decir, un grupo de sujetos). Por consiguiente, el método de la presente invención permite diferenciar entre un riesgo elevado o un riesgo reducido. Un sujeto que está en riesgo preferiblemente tiene un riesgo de 12% o más, o, más preferiblemente, de 15% o más, o más preferiblemente de 20% o más, de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte, preferiblemente, dentro de una ventana predictiva de 3 o 4 años. Un sujeto que no está en riesgo preferiblemente tiene un riesgo inferior al 10%, más preferiblemente menor que un 8%, o más preferiblemente menor al 7% de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte, preferiblemente, dentro de una ventana predictiva de 3 o 4 años.

En una realización, se predice el riesgo de hospitalización. La expresión "hospitalización" como se usa en este documento, preferiblemente, significa que el sujeto es admitido en un hospital, en particular es ingresado en un hospital. La hospitalización debe ser debida a insuficiencia cardíaca crónica. Así, la insuficiencia cardíaca crónica será la causa de la hospitalización. En una realización, se predice el riesgo de que el sujeto progrese rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica. La expresión "que progresa rápidamente hacia una insuficiencia cardíaca crónica" es bien conocida por las personas expertas. Un sujeto que progresa rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica, preferiblemente, es un sujeto que progresa a insuficiencia cardíaca crónica dentro de una ventana de tiempo como se describe en otro lugar en este documento. La insuficiencia cardíaca crónica preferiblemente significa insuficiencia cardíaca clasificada en el estadio C o D según la clasificación de ACC/AHA (para la clasificación de ACC/AHA, ver más adelante). Si el sujeto a valorar tiene insuficiencia cardíaca clasificada como estadio A según la clasificación de ACC/AHA (o si la persona no sufre insuficiencia cardíaca), el término "insuficiencia cardíaca crónica" puede significar insuficiencia cardíaca clasificada como estadio B, C o D.

En una realización, se predice el riesgo de muerte. El término "muerte", como se usa en el presente documento, se refiere preferiblemente a la muerte por cualquier causa y, más preferiblemente, a la muerte por causa cardíaca, y más preferiblemente a la muerte por insuficiencia cardíaca.

La frase "proporcionar una predicción" como se usa en este documento se refiere a usar la información o los datos generados en relación con el nivel de un biomarcador como se menciona en este documento en una muestra de un sujeto, y en relación con la presencia o ausencia de (i) MFS anormal y (ii) ausencia de HVI para predecir un riesgo como se menciona aquí.

La información o los datos pueden estar en cualquier forma, escrita, oral o electrónica. En algunas realizaciones, el uso de la información o los datos generados incluye la comunicación, presentación, informe, almacenamiento, envío, transferencia, suministro, transmisión, dispensación o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la comunicación, presentación, informe, almacenamiento, envío, transferencia, suministro, transmisión, dispensación o combinaciones de los mismos se realizan mediante un dispositivo informático, una unidad de análisis o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones adicionales, la comunicación, la presentación, el informe, el almacenamiento, el envío, la transferencia, el suministro, la transmisión, la dispensación o las combinaciones de los mismos son realizados por un laboratorio o profesional médico. En algunas realizaciones, la información o los datos incluyen una comparación del nivel de los biomarcadores con un nivel (o niveles) de referencia. En algunas realizaciones, la información o los datos incluyen una indicación de que se diagnostica que el sujeto está en riesgo.

El "sujeto" como se menciona aquí es, preferiblemente, un mamífero. Los mamíferos incluyen, entre otros, animales domesticados (por ejemplo, vacas, ovejas, gatos, perros y caballos), primates (por ejemplo, humanos y primates no humanos como monos), conejos y roedores (por ejemplo, ratones y ratas). Preferiblemente, el sujeto es un sujeto humano. Preferiblemente, el sujeto tiene 65 años o más, más preferiblemente, el sujeto tiene 75 años o más, lo más preferiblemente, el sujeto tiene 80 años o más. Los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente en este documento.

En una realización preferida de la presente invención, el sujeto está aparentemente sano con respecto a la insuficiencia cardíaca. Un sujeto que aparentemente está sano con respecto a la insuficiencia cardíaca preferiblemente no muestra síntomas de insuficiencia cardíaca (y, por lo tanto, es asintomático con respecto a la insuficiencia cardíaca). Un sujeto que no muestra síntomas de insuficiencia cardíaca preferiblemente no tiene limitación de la actividad física, y la actividad física ordinaria resulta en falta de aliento, fatiga o palpitaciones indebidas. Sin embargo, se prevé que el sujeto tenga una insuficiencia cardíaca clasificada como estadio A o B según la clasificación de ACC/AHA, en particular la insuficiencia cardíaca clasificada como estadio A, o estadio temprano B de acuerdo con la clasificación ACC/AHA.

La clasificación de ACC/AHA es una clasificación para la insuficiencia cardíaca desarrollada por el Colegio Americano de Cardiología y la Asociación Americana del Corazón (para la clasificación, ver J. Am. Coll. Cardiol. 2001; 38; 2101-2113, actualizada en 2005, ver J. Am. Coll. Cardiol. 2005; 46; e1-e82. La clasificación también se describe en Mureddu et al., European Journal of Heart Failure (2012) 14, 718-729. Se definen 4 estadios, A, B, C y D. Los estadios A y B no son IC (insuficiencia cardíaca), pero se considera que ayudan a identificar a los pacientes

antes de desarrollar una IC "verdadera". Los pacientes en los estadios A y B se definen mejor como aquellos con factores de riesgo para el desarrollo de IC. Por ejemplo, los pacientes con enfermedad arterial coronaria, hipertensión o diabetes mellitus que aún no muestran una función alterada del ventrículo izquierdo (LV), hipertrofia o distorsión de la cámara geométrica se considerarán en el estadio A, mientras que los pacientes son asintomáticos pero presentan una función LV deficiente, se designaría como estadio B. El estadio C designa a pacientes con síntomas actuales o pasados de insuficiencia cardíaca asociada con una cardiopatía estructural subyacente (la mayoría de los pacientes con insuficiencia cardíaca), y el estadio D designa a los pacientes con insuficiencia cardíaca refractaria verdadera. La clasificación de ACC/AHA y el término "insuficiencia cardíaca" también se explican en el documento WO 2012/025355.

Preferiblemente, el sujeto en el contexto de la presente invención no tiene una función renal alterada. Preferiblemente, el sujeto no debe sufrir insuficiencia renal, en particular el sujeto no debe sufrir insuficiencia renal aguda, crónica y/o terminal. Por lo tanto, el sujeto preferiblemente no es un sujeto hemodializado.

La forma de evaluar si un sujeto presenta una función renal deteriorada es bien conocida en la técnica. Los trastornos renales pueden ser diagnosticados por cualquier medio conocido y considerado apropiado. Particularmente, la función renal se puede evaluar por medio de la tasa de filtración glomerular (TFG). Por ejemplo, el TFG puede calcularse mediante la fórmula de Cockcroft-Gault o MDRD (Levey 1999, Annals of Internal Medicine, 461-470). TFG es el volumen de líquido filtrado desde los capilares glomerulares renales hacia la cápsula de Bowman por unidad de tiempo. Clínicamente, esto se utiliza a menudo para determinar la función renal. Todos los cálculos derivados de fórmulas como la fórmula de Cockcroft Gault de la fórmula MDRD proporcionan estimaciones y no el TFG "real" al inyectar inulina en el plasma. Dado que la inulina no es reabsorbida por el riñón después de la filtración glomerular, su tasa de excreción es directamente proporcional a la tasa de filtración de agua y solutos a través del filtro glomerular. Sin embargo, en la práctica clínica, el aclaramiento de creatinina se utiliza para medir la TFG. La creatinina es una molécula endógena, sintetizada en el cuerpo, que se filtra libremente por el glomérulo (pero también es secretada por los túbulos renales en cantidades muy pequeñas). El aclaramiento de creatinina (CrCl) es, por lo tanto, una aproximación cercana de la TFG. El TFG se registra normalmente en mililitros por minuto (mL/min). El rango normal de TFG para los hombres es de 97 a 137 mL/min, el rango normal de TFG para las mujeres es de 88 a 128 mL/min. Por lo tanto, se contempla particularmente que el TFG de un sujeto que no presenta una función renal deteriorada está dentro de este rango. Además, dicho sujeto preferiblemente, tiene un nivel de creatinina en sangre (en particular un nivel de creatinina sérica) inferior a 0,9 mg/dl, más preferiblemente inferior a 1,1 mg/dl y lo más preferiblemente inferior a 1,3 mg/dl.

El paso (a) del método mencionado anteriormente de la presente invención comprende dos realizaciones: (i) y (ii). De acuerdo con (i), se evalúa la presencia o la ausencia de acortamiento fraccional de pared media anormal (MFS anormal). Según la alternativa (ii), se evalúa la ausencia de hipertrofia ventricular izquierda (HVI). Se ha demostrado en el contexto de los métodos de la presente invención, que el riesgo del sujeto se puede predecir incluso antes de que el sujeto sufra hipertrofia ventricular izquierda.

Si se lleva a cabo la realización (i) del paso (a) del método mencionado anteriormente, el sujeto no sufre de HVI. El término "hipertrofia ventricular izquierda" es bien conocido en la técnica. Un resumen detallado sobre la hipertrofia ventricular izquierda puede ser, por ejemplo, encontrado en los libros de texto estándar (ver Swamy Curr Cardiol Rep (2010) 12: 277-282). La HVI puede detectarse mediante electrocardiografía, ecocardiografía o imágenes de resonancia magnética cardíaca (IRM). Preferiblemente, la HVI se detecta por ecocardiografía. Además, los criterios para el diagnóstico de HVI son bien conocidos en la técnica (Mancia et al., European Heart J. 2007, 28: 1462, Die Innere Medizin: Referenzwerk für den Facharzt - Wolfgang Gerok - 2007, página 293. Swamy Curr Cardiol Rep (2010) 12: 277-282). El término "hipertrofia ventricular izquierda" (abreviado "HVI") como se usa en este documento, preferiblemente, se refiere a un engrosamiento de las paredes de los ventrículos. La HVI es, preferiblemente, una respuesta a un aumento crónico de la carga de trabajo en el corazón. La HVI se encuentra en pacientes que padecen hipertensión arterial y es una enfermedad que requiere tratamiento. En el contexto de la presente invención, el riesgo se predice antes de que el sujeto sufra HVI. En consecuencia, el sujeto a probar no sufre de HVI. Un sujeto que no sufre de HVI, preferiblemente, tiene una masa ventricular izquierda normal.

El diagnóstico de HVI y, por lo tanto, la evaluación de la masa del ventrículo izquierdo, preferiblemente, incluye mediciones del diámetro del tabique, el grosor de la pared posterior del ventrículo izquierdo y el diámetro diastólico final, con el cálculo de la masa del ventrículo izquierdo de acuerdo con las fórmulas conocidas en la técnica. Los criterios particularmente preferidos para diagnosticar la HVI se describen por ejemplo en las directrices (Mancia et al., European Heart J. 2007, 28: 1462). Preferiblemente, los criterios de voltaje de Cornell, los criterios de producto de Cornell, los criterios de voltaje de Sokolow-Lyon o el sistema de puntuación de puntos de Romhilt-Estes se utilizan para el diagnóstico de HVI y, por lo tanto, para la evaluación de la masa del ventrículo izquierdo (ver, por ejemplo, Mancia et al., European Heart J. 2007, 28: 1462).

Si el sujeto es un hombre, se aplica lo siguiente: se considera que un sujeto tiene una masa ventricular izquierda normal (y, por lo tanto, no sufre de HVI), si el índice de masa ventricular izquierda del sujeto masculino es, preferiblemente, igual a o inferior a 105 g/m², o, más preferiblemente, es igual o inferior a 110 g/m², o, más preferiblemente, es igual o inferior a 115 g/m². Si el sujeto es femenino, se aplica lo siguiente: se considera que un

sujeto tiene una masa ventricular izquierda normal, si el índice de masa ventricular izquierda del sujeto es, preferiblemente, igual o inferior a 85 g/m², o, más preferiblemente, es igual o inferior a 90 g/m², o, más preferiblemente, es igual o inferior a 96 g/m². Debe entenderse que un sujeto que tiene una masa ventricular izquierda normal no sufre de HVI (véase, por ejemplo, Drazner MH, Dries DL, Peshock RM, Cooper RS, Klassen C, Kazi F, Willett D, Victor RG. Left ventricular hypertrophy is more prevalent in blacks than whites in the general population: the Dallas Heart Study. Hypertension. 2005; 46: 124 -129).

En el paso (a), realización (i), del método de la presente invención, se evaluará la presencia o la ausencia de acortamiento fraccional de pared media anormal (MFS anormal). Por lo tanto, se evalúa si el sujeto sufre de MFS anormal, o no. Un sujeto que no sufre de MFS anormal tiene un MFS normal.

La expresión "acortamiento fraccional de pared media" es bien conocida en la técnica (abreviada en el presente documento como "MFS"). El MFS es un signo temprano de disfunción del VI que se reduce el acortamiento fraccional del muro medio del VI. Preferiblemente, el acortamiento fraccional de la pared media se considera anormal, si es inferior al 15%. Este punto de corte se ha utilizado como valor de referencia en el establecimiento de la IC y ha demostrado relevancia pronóstica en sujetos hipertensos (ver Murredu et al., European Journal of Heart Failure (2012) 14, 718-729). También preferiblemente, el acortamiento fraccional de la pared media se considera anormal, si es inferior al 14%, o 13%. Además, el acortamiento fraccional de la pared media se considera normal, si es mayor que (o igual a) el 15%. También preferiblemente, el acortamiento fraccional de pared media se considera normal, si es mayor que 16%, o 17%.

En la técnica es bien conocido cómo determinar el acortamiento fraccional de pared media (o HVI) y, por lo tanto, cómo evaluar la presencia o la ausencia de acortamiento fraccional de pared media anormal (o HVI) en un sujeto. Preferiblemente, la evaluación se basa en imágenes ecocardiográficas del corazón obtenidas del sujeto que se va a examinar. Las imágenes deben permitir evaluar la presencia o ausencia de acortamiento fraccional de pared media anormal (o HVI). Pueden obtenerse mediante cualquier técnica de ecocardiografía que se considere apropiada, en particular la ecocardiografía en modo M, la ecocardiografía con seguimiento de manchas 2D, la ecocardiografía Doppler o la ecocardiografía bidimensional (2D).

En una realización, el acortamiento fraccional de la pared media se puede calcular a partir del modelo cilíndrico de dos armazones, tal como lo describen Shimizu et al. (Shimizu G, Hirota Y, Kita Y, Kawamura K, Saito T, Gaasch WH. Left ventricular midway mechanics in systemic arterial hypertension. Circulation 1991; 83: 1676-84)). Este método es un refinamiento del método de pared intermedia convencional y proporciona datos que reflejan el acortamiento de una fibra de pared intermedia circunferencial teórica o anillo de miocardio. Asume una masa ventricular izquierda constante a lo largo del ciclo cardíaco y no requiere el supuesto de que las fracciones de engrosamiento de la pared interna y externa sean iguales. La determinación de MFS también está descrita por Mayet et al. o en trabajos anteriores de Shimizu et al. (ver, por ejemplo, Mayet et al., Hypertension. 2000; 36: 755-759; Shimizu G, Zile MR, Blaustein AS, Gaasch WH. Left ventricular chamber filling and midwall fiber lengthening in patients with left ventricular hypertrophy: overestimation of fiber velocities by conventional midwall measurements. Circulation 1985; 71: 266-272, o Shimizu G, Conrad CH, Gaasch WH. Phase-plane analysis of left ventricular chamber filling and midwall fiber lengthening in patients with left ventricular hypertrophy. Circulation. 1987; 75 (supl. I): I-34-I-39). Además, la determinación de MFS ha sido descrita por de Simone et al. (JACC, 1994, Vol. 23 (6): 1444-51). En otra realización, MFS se evalúa como se describe por Murredu et al. (European Journal of Heart Failure (2012) 14, 718-729). Preferiblemente, el MFS como se usa en este documento se determina de acuerdo con el método descrito por Shimizu en 1987 o 1985, más preferiblemente el MFS, se determina de acuerdo con Mayet et al., Incluso más preferiblemente, el MFS se determina de acuerdo con Simone, y lo más preferiblemente, MFS se determina según lo descrito por Murredu.

Como se describe adicionalmente en la sección de Ejemplos, la medición del nivel de al menos un biomarcador como se menciona aquí es particularmente ventajosa en sujetos que sufren de MFS anormal (ver también las Figuras). En sujetos con MFS anormal, la medición de al menos un biomarcador permite una diferenciación muy confiable entre un sujeto que está en riesgo y quien no está en riesgo. Los resultados en la sección de ejemplos muestran que un sujeto puede tener un riesgo muy bajo, aunque sufre un acortamiento fraccional de pared media anormal. Sin embargo, también hay sujetos que sufren de MFS anormal y que tienen un riesgo muy alto. La determinación de al menos un biomarcador como se menciona en este documento permite identificar a aquellos sujetos que tienen un alto riesgo y un bajo riesgo.

El poder discriminatorio de algunos biomarcadores como se menciona aquí (en particular de un péptido de tipo BNP, en particular NT-proBNP, sST2, IGFBP7, una troponina cardíaca, en particular cTnT, y/o FGF23 es particularmente ventajoso en sujetos que tienen una masa ventricular normal pero una MFS anormal. Por lo tanto, si se realiza la realización (i) del paso (a), el al menos un biomarcador es preferiblemente un péptido de tipo BNP, sST2, IGFBP7, una troponina cardíaca y/o FGF23. Preferiblemente, el marcador es sST2, más preferiblemente, el marcador es IGFBP7, más preferiblemente, el marcador es NT-proBNP. Además, también se prefiere que el marcador sea Troponina T o FGF23. Debe entenderse que el biomarcador GDF -15 y/o puede ser determinado también.

En una realización, el paso b) puede llevarse a cabo después de que se haya evaluado la presencia o ausencia de MFS anormal. En particular, el paso b) puede llevarse a cabo en un sujeto que sufre de MFS anormal. Por consiguiente, el método de la presente invención puede comprender además el paso a1) de seleccionar un sujeto que sufre un acortamiento fraccional de pared media anormal basándose en la evaluación en el paso a). Por lo tanto, el nivel de al menos biomarcador se mide en un sujeto que sufre de MFS anormal.

Alternativamente, el nivel de al menos un biomarcador puede medirse como un primer paso. Posteriormente, se evalúa la presencia de acortamiento fraccional de pared media anormal.

En el paso (a), realización (ii) del método de la presente invención, se evaluará la ausencia de HVI. Por lo tanto, se evalúa si el sujeto no sufre de HVI. Un sujeto que no sufre de HVI tiene una masa ventricular izquierda normal (como se describe en otra parte del presente documento).

Si se lleva a cabo la realización (ii) del paso (a) del método mencionado anteriormente, el al menos un biomarcador se selecciona preferiblemente de IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), ST2 soluble (sST2), FGF-23 (Factor de crecimiento de fibroblastos 23), y GDF15 (Factor de diferenciación de crecimiento 15). En particular, el al menos un biomarcador es IGFBP-7 y/o sST2. Sin embargo, los marcadores restantes como NT-proBNP también pueden determinarse. Las combinaciones preferidas de biomarcadores (características del paciente) son las siguientes:

- IGFBP7 + un péptido de tipo BNP, en particular NTproBNP
- ST2 + un péptido de tipo BNP, en particular NTproBNP
- FGF23 + un péptido de tipo BNP, en particular NTproBNP
- IGFBP7 + ST2
- edad + un péptido tipo BNP, en particular NTproBNP
- edad + NTproBNP + cTn, en particular hs-cTnT

"Edad" significa preferiblemente que el sujeto que se va a evaluar tiene 65 años o más

Otra combinación preferida es un péptido de tipo BNP, en particular NTproBNP, e IGFBP7, en particular en sujetos de edad avanzada (en particular, un sujeto que tiene 65 años o más), preferiblemente en combinación con la evaluación de la presencia o ausencia de hipertrofia ventricular izquierda (HVI).

Otra combinación preferida es un péptido de tipo BNP, en particular NTproBNP, e IGFBP7, en particular en sujetos de edad avanzada (en particular, un sujeto que tiene 65 años o más) en combinación con la evaluación de la presencia o ausencia de MFS anormal.

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. Las muestras de fluidos corporales pueden obtenerse mediante técnicas bien conocidas e incluyen muestras de sangre, plasma, suero, orina, fluido linfático, esputo, ascitis o cualquier otra secreción corporal o un derivado del mismo. Las muestras de tejido u órgano se pueden obtener de cualquier tejido u órgano mediante, por ejemplo, biopsia. En particular, se prevé que la muestra sea una muestra de sangre, de suero sanguíneo o de plasma sanguíneo.

De acuerdo con la presente invención, se medirá el nivel de al menos un biomarcador como se menciona en este documento. El término "al menos uno" significa uno o más de uno. Preferiblemente, los niveles de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho biomarcadores se miden en el contexto de la presente invención.

Además, se prevé que el nivel de al menos un biomarcador adicional sea el nivel medido y que el nivel medido del al menos un biomarcador adicional se compare con un nivel de referencia. Preferiblemente, el al menos un biomarcador adicional es PIGF (Factor de crecimiento de la placenta). Más preferiblemente, el al menos un biomarcador adicional es MMP2 (metaloproteinasa de matriz 2). MMP2 (también conocida como colagenasa y gelatinasa A de tipo IV de 72 kDa) es una enzima que en los humanos está codificada por el gen MMP2 (para la secuencia de MMP2 humana, consulte, por ejemplo, Uniprot (P08253).

Además, está previsto evaluar una característica adicional o características adicionales del sujeto para la evaluación del riesgo, preferiblemente edad o género (sexo), en particular edad y género (sexo). Preferiblemente, el riesgo se predice en función del paso de comparación y en función de las características del paciente (como la edad y el sexo). Más preferiblemente, el riesgo se predice basándose en el paso de comparación, basado en la presencia o ausencia de MFS y/o HVI anormales (en particular, basado en la presencia de MFS y/o HVI), y en función de las características del paciente) (como la edad y el sexo).

En una realización preferida, los niveles de biomarcadores se miden en combinación. Así, se mide más de un nivel. Además, se contemplan combinaciones de un biomarcador (o de biomarcadores) con una característica del paciente (características del paciente). Las combinaciones preferidas se muestran en la Figura 11 y la Figura 12 y, en particular en la Tabla 1 de la sección de Ejemplos, en particular, la combinación de un péptido de tipo BNP, en

particular NTproBNP e IGFBP7 con la evaluación de HVI o MFS, respectivamente, es preferible. Otras combinaciones preferidas se muestran en la Tabla 2 de la sección de Ejemplos.

Otras combinaciones preferidas de biomarcadores (y características del paciente) son:

- un péptido de tipo BNP, en particular NTproBNP, y una troponina cardíaca, en particular cTnT
 - IGFBP7 y un péptido de tipo BNP, en particular NT-proBNP
 - IGFBP7 y ST2
 - ST2 y un péptido de tipo BNP, en particular NT-proBNP
 - GDF15 y un péptido de tipo BNP, en particular NT-proBNP
 - FGF23 y un péptido de tipo BNP, en particular NT-proBNP
 - Edad y un péptido de tipo BNP, en particular NT-proBNP
 - Edad, una troponina cardíaca, en particular cTnT (Troponina T) y un péptido de tipo BNP, en particular NT-proBNP
- Otras combinaciones preferidas son: al menos un biomarcador seleccionado de un biomarcador seleccionado de una troponina cardíaca, en particular TnT, FGF23, un péptido de tipo BNP, en particular NTproBNP, IGFBP7, sST2 y GDF15, en combinación con la edad y/o (en particular y) género.

El término "medir" (en el presente documento también se refiere a una "determinar") el nivel de un marcador al que se hace referencia en este documento que se refiere a la cuantificación del biomarcador, por ejemplo, para determinar el nivel del biomarcador en la muestra, empleando métodos apropiados.

Los biomarcadores que deben medirse en relación con la presente invención son biomarcadores de proteínas. La forma de medir el nivel y, por lo tanto, la forma de determinar la cantidad de un biomarcador de proteínas es bien conocida en la técnica y se describe, por ejemplo, en el documento WO 2014/040759, ver en particular la página 15, línea 15, a la página 19 línea 25.

En una realización, el nivel de al menos un biomarcador se mide poniendo en contacto la muestra con un agente de unión que se une específicamente al correspondiente marcador, formando así un complejo entre el agente y dicho marcador, detectando el nivel de complejo formado, y de ese modo midiendo el nivel de dicho marcador.

Preferiblemente, el agente de unión se une específicamente a un biomarcador como se menciona en este documento. Los agentes de unión preferidos incluyen anticuerpos, ácidos nucleicos, péptidos o polipéptidos tales como receptores o socios 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, ácido nucleico o aptámeros peptídicos, en particular anticuerpos. Los anticuerpos a los que se hace referencia en el presente documento incluyen tanto anticuerpos policlonales como monoclonales, así como también fragmentos de los mismos, tales como fragmentos Fv, Fab y F(ab)₂ que son capaces de unirse al antígeno o hapteno. La presente invención también incluye anticuerpos de cadena única y anticuerpos híbridos humanizados en los que las secuencias de aminoácidos de un anticuerpo donador no humano que exhiben una especificidad de antígeno deseada se combinan con secuencias de un anticuerpo aceptor humano. El término "unión específica" o "se une específicamente" se refiere a una reacción de unión en la que las moléculas de pares de unión se unen entre sí en condiciones en las que no se unen significativamente a otras moléculas. El término "unión específica" o "se une específicamente", cuando se refiere a una proteína o péptido como biomarcador, se refiere a una reacción de unión en la que un agente de unión se une al biomarcador correspondiente con una afinidad de al menos 10^{-7} M. El término "unión específica" o "se une específicamente" preferiblemente se refiere a una afinidad de al menos 10^{-8} M o incluso más preferida de al menos 10^{-9} M por su molécula diana. El término "específico" o "específicamente" se utiliza para indicar que otras moléculas presentes en la muestra no se unen significativamente al agente de unión específico para la molécula diana. Preferiblemente, el nivel de unión a una molécula diferente a la molécula diana da como resultado una afinidad de unión que es solo del 10% o menos, más preferiblemente solo el 5% o menos de la afinidad a la molécula diana.

En tercer lugar, el agente de unión puede estar acoplado covalentemente o no covalentemente a un marcador que permite la detección y medición del agente de unión. El marcaje puede hacerse por métodos directos o indirectos.

El marcaje directo implica el acoplamiento del marcador directamente (covalentemente o no covalentemente) al agente de unión. El marcaje indirecto implica la unión (covalente o no covalente) de un agente de unión secundario al primer agente de unión. El agente de unión secundario debe unirse específicamente al primer agente de unión. Dicho agente de unión secundario puede estar acoplado con un marcador adecuado y/o ser el objetivo (receptor) de la unión del agente de unión terciaria al agente de unión secundario.

Los biomarcadores a los que se hace referencia en este documento son bien conocidos en la técnica.

El péptido de tipo péptido natriurético cerebral (denominado en este documento también péptido de tipo BNP) se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en pre-proBNP, proBNP, NT-proBNP y BNP. El pre-pro péptido (134 aminoácidos en el caso del pre-proBNP) comprende un péptido de señal corta, que se escinde enzimáticamente para liberar el propéptido (108 aminoácidos en el caso del proBNP). El propéptido se escinde

adicionalmente en un propéptido N-terminal (péptido NT-pro, 76 aminoácidos en el caso de NT-proBNP) y la hormona activa (32 aminoácidos en el caso de BNP). Preferiblemente, los péptidos natriuréticos cerebrales de acuerdo con la presente invención son NT-proBNP, BNP y variantes de los mismos. BNP es la hormona activa y tiene una vida media más corta que su contraparte inactiva correspondiente NT-proBNP. Preferiblemente, el péptido de tipo péptido natriurético cerebral es BNP (péptido natriurético cerebral), y más preferiblemente NT-proBNP (N-terminal de la prohormona péptido natriurético cerebral).

El término "troponina cardíaca" se refiere a todas las isoformas de troponina expresadas en las células del corazón y, preferiblemente, las células subendocárdicas. Estas isoformas están bien caracterizadas en la técnica como se describe, por ejemplo, en Anderson 1995, *Circulation Research*, vol. 76, no. 4: 681-686 y Ferrieres 1998, *Clinical Chemistry*, 44: 487-493. Preferiblemente, la Troponina cardíaca se refiere a Troponina T y/o Troponina I, y, más preferiblemente, a Troponina T.

La proteína de unión a IGF 7 (= IGFBP7) es una glicoproteína modular de 30 kDa conocida por ser secretada por células endoteliales, células de músculo liso vascular, fibroblastos y células epiteliales (Ono, Y., et al., *Biochem Biophys Res Comm* 202 (1994) 1490-1496). Preferiblemente, 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 de GenBank (NP_001240764.1).

El ST2, también conocido como "receptor similar a 1 de la interleucina 1" 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 del receptor de interleucina 1 y existe tanto en la 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 (ver Dieplinger et al. (*Clinical Biochemistry*, 43, 2010: 1169 a 1170). ST2 también conocido como receptor similar a 1 de la interleucina 1 o IL1RL1, está codificado en humanos por el gen IL1RL1. La secuencia del polipéptido ST2 humano es bien conocida en la técnica y, por ejemplo, accesible a través de GenBank, ver NP_003847.2 GI: 27894328.

El biomarcador factor de crecimiento de fibroblastos 23 (abreviado "FGF-23") es bien conocido en la técnica. FGF-23 es un jugador clave en la regulación del metabolismo del calcio-fosfato y la vitamina D y tiene un papel causal en la patogénesis de la hipertrofia del VI, un determinante importante de los eventos cardiovasculares. Preferiblemente, FGF-23 es FGF-23 humano. La secuencia de FGF-23 humano es bien conocida en la técnica, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos puede evaluarse a través del número de acceso de GenBank NM_020638.1 GI: 10190673. Además, la secuencia también se describe en Shimada et al., 2001, *PNAS*, vol. 98 (11) páginas 6500 a 6505.

El término "Factor de diferenciación de crecimiento-15" o "GDF-15" se refiere a un polipéptido que es un miembro de la superfamilia de citoquinas del factor de crecimiento transformante (TGF). Los términos polipéptido, péptido y proteína se usan de manera intercambiable a lo largo de esta especificación. GDF-15 se clonó originalmente como citoquina inhibidora de macrófagos 1 y, posteriormente, también se identificó como factor de crecimiento transformante de la placenta 15, proteína morfogenética del hueso placentario, gen activado por fármacos antiinflamatorios no esteroideos 1 y factor derivado de la próstata (Bootcov loc. cit.; Hromas, 1997 *Biochim Biophys Acta* 1354: 40-44; Lawton 1997, *Gene* 203: 17-26; Yokoyama-Kobayashi 1997, *J Biochem (Tokyo)*, 122: 622-626; Paralkar 1998, *J Biol Chem* 273: 13760-13767). Las secuencias de aminoácidos para GDF-15 se describen en los documentos WO99/06445, WO00/70051, WO2005/113585, Bottner 1999, *Gene* 237: 105-111, Bootcov loc. cit, Tan loc. cit., Baek 2001, *Mol Pharmacol* 59: 901-908, Hromas loc. cit., Paralkar loc. cit., Morrish 1996, *Placenta* 17: 431-441.

La molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1; con frecuencia también denominada CD54) es una glicoproteína transmembrana que se expresa típicamente en las células endoteliales y en las células del sistema inmunitario. La estructura de ICAM-1 se caracteriza por una glicosilación pesada y consiste en una porción extracelular, que forma cinco dominios similares a inmunoglobulina (Ig). Estos dominios están unidos a una sola región transmembrana y una cola citoplásmica corta. Se han descrito varios ligandos para ICAM-1; se une a integrinas de tipo CD11a/CD18, o CD11b/CD18 y también es explotado por Rhinovirus como receptor. La secuencia de aminoácidos de la ICAM-1 humana, preferiblemente, se proporciona en la Entrada UniProt P05362. La ICAM-1 referida de acuerdo con la presente invención incluye además variantes alélicas y otras variantes de dicha secuencia específica.

El marcador "Angiopoyetina 2" (ANG2) es bien conocido en la técnica (ver, por ejemplo, Sarah Y. Yuan; Robert R. Rigor (30 de septiembre de 2010). *Regulation of Endothelial Barrier Function*. Morgan & Claypool Publishers. ISBN 978- 1-61504-120-6). La angiopoyetina 2 es parte de una familia de factores de crecimiento vascular que juegan un papel en la angiogénesis embrionaria y postnatal. La angiopoyetina-2 se produce y almacena en los cuerpos de Weibel-Palade en las células endoteliales y actúa como un antagonista de la tirosina quinasa TEK. La angiopoyetina-2 es un marcador de enfermedad cardiovascular temprana en niños con diálisis crónica (Shroff et al. (2013). "Circulating angiopoietin-2 is a marker for early cardiovascular disease in children on chronic dialysis". *PLoS ONE* 8 (2) : e56273). La secuencia de ANG2 está accesible a través de por ejemplo, UniProt (véase Número de Acceso 015123)

El término "nivel" tal como se usa en el presente documento abarca la cantidad absoluta de un biomarcador como se menciona en el presente documento, la cantidad o concentración relativa de dicho biomarcador, así como cualquier valor o parámetro que se correlaciona con el mismo o puede derivarse de él.

El término "comparado" como se usa en el presente documento se refiere a comparar el nivel del biomarcador en la muestra del individuo o paciente con el nivel de referencia del biomarcador especificado en otra parte de esta descripción. Debe entenderse que "comparado" como se usa en el presente documento usualmente se refiere a una comparación de parámetros o valores correspondientes, por ejemplo, una cantidad absoluta se compara con una cantidad de referencia absoluta mientras que una concentración se compara con una concentración de referencia o una señal de intensidad obtenida del biomarcador en una muestra es en comparación con el mismo tipo de señal de intensidad obtenida de una muestra de referencia. La comparación puede realizarse de forma manual o asistida por ordenador. El valor del nivel medido o detectado del biomarcador en la muestra del individuo o del paciente y el nivel de referencia pueden compararse, por ejemplo, entre sí, y dicha comparación puede realizarse automáticamente mediante un programa informático que ejecute un algoritmo para la comparación.

El término "nivel de referencia" es bien conocido en la técnica. Los niveles de referencia preferidos pueden ser determinados por el experto sin más dilación. Preferiblemente, el término "nivel de referencia" en este documento se refiere a un valor predeterminado para el correspondiente biomarcador. En este contexto, "nivel" abarca la cantidad absoluta, la cantidad relativa o la concentración, así como cualquier valor o parámetro que se correlaciona con la misma o se puede derivar de ella. Preferiblemente, el nivel de referencia es un nivel que permite asignar al sujeto a un grupo de sujetos que corren el riesgo de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte, o a un grupo de sujetos que no están en riesgo de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte. Por lo tanto, el nivel de referencia permitirá diferenciar entre un sujeto que está en riesgo o que no está en riesgo (de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica) y/o muerte.

Como el experto en la materia apreciará, el nivel de referencia está predeterminado y configurado para cumplir los requisitos de rutina en términos de, por ejemplo, especificidad y/o sensibilidad. Estos requisitos pueden variar, por ejemplo, entre sujetos. Por ejemplo, puede ser que la sensibilidad o la especificidad del ensayo, respectivamente, se deban establecer en ciertos límites, por ejemplo, 80%, 90%, 95% o 98%, respectivamente. Estos requisitos también pueden definirse en términos de valores predictivos positivos o negativos. No obstante, en base a la enseñanza dada en la presente invención, siempre será posible para un experto en la materia llegar al nivel de referencia que cumpla con esos requisitos. En una realización, el nivel de referencia se determina en una muestra de referencia o muestras de un paciente (o grupo de pacientes) que están en riesgo. En otra realización, la referencia se determina en una muestra de referencia o muestras de un paciente (o grupo de pacientes) que no están en riesgo (de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte). El nivel de referencia en una realización se ha predeterminado en muestras de referencia de la entidad de la enfermedad a la que pertenece el paciente. En ciertas realizaciones, el nivel de referencia puede por ejemplo, establecer un porcentaje entre el 25% y el 75% de la distribución general de los valores en una entidad de enfermedad investigada. En otras realizaciones, el nivel de referencia puede ajustarse mediante por ejemplo, a la mediana, terciles o cuartiles según se determine a partir de la distribución general de los valores en muestras de referencia de una entidad de enfermedad investigada. En una realización, el nivel de referencia se establece en el valor mediano según se determina a partir de la distribución general de los valores en una entidad de enfermedad investigada. El nivel de referencia puede variar dependiendo de diversos parámetros fisiológicos, como la edad, el sexo o la subpoblación, así como de los medios utilizados para la determinación de los biomarcadores mencionados en este documento. En una realización, la muestra de referencia es esencialmente del mismo tipo de célula, tejido, órgano o fuente de fluido corporal que la muestra del individuo o paciente sometido al método de la invención, por ejemplo, si de acuerdo con la invención, se usa sangre como una muestra para determinar el nivel de biomarcadores en el individuo, el nivel de referencia también se determina en sangre o una parte de la misma. Preferiblemente, lo siguiente se aplica como algoritmo:

Preferiblemente, un nivel (o niveles) de al menos un biomarcador por encima del nivel de referencia indica que el sujeto está en riesgo de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debida a la insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte. También preferiblemente, un nivel (o niveles) de al menos un biomarcador por debajo del nivel de referencia indica que el sujeto no está en riesgo de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte.

En ciertas realizaciones, el término "mayor que el nivel de referencia" o "por encima del nivel de referencia" se refiere a un nivel del biomarcador en la muestra del individuo o paciente por encima del nivel de referencia o a un aumento general del 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% o mayor, determinado por los métodos descritos aquí, en comparación con el nivel de referencia. En ciertas realizaciones, el término aumento se refiere al aumento en el nivel de biomarcadores en la muestra del individuo o paciente en el que, el aumento es de al menos aproximadamente 1,5-, 1,75-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-, 15-, 20-, 25-, 30-, 40-, 60-, 70-, 75-, 80-, 90- o 100 veces más alto en comparación con el nivel de referencia, por ejemplo, predeterminado de una muestra de referencia. En ciertas realizaciones, el término "más bajo que el nivel de referencia" o "por

debajo" en este documento se refiere a un nivel del biomarcador en la muestra del individuo o paciente por debajo del nivel de referencia o a una reducción general del 5%, 10%, 20 %, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más, determinado por los métodos descritos aquí, en comparación con el nivel de referencia. En ciertas realizaciones, el término disminución en el nivel de biomarcadores en la muestra del individuo o paciente en el que el nivel disminuido es como máximo aproximadamente 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05 o 0,01 veces el nivel de referencia, por ejemplo, predeterminado de una muestra de referencia, o inferior.

Los niveles de referencia preferidos pueden ser determinados por el experto en la materia sin más dilación. El nivel de referencia puede ser dependiente de la edad. Sin embargo, esto es tenido en cuenta por el experto. Por ejemplo, el nivel de referencia puede ser el nivel medio en una población de sujetos. Los niveles de referencia preferidos para los marcadores descritos aquí se muestran en la sección de Ejemplos en la Tabla 3. Dependiendo de la sensibilidad y especificidad deseadas, los niveles de referencia pueden diferir.

En una realización preferida de los métodos de la presente invención, dichos métodos comprenden además el paso de recomendar y/o iniciar al menos una terapia adecuada, si se predice que el sujeto está en riesgo de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica. y/o de hospitalización por insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte. Por consiguiente, la presente invención también se refiere al método de tratamiento.

Preferiblemente, el término "terapia", como se usa en el contexto de la presente invención, abarca cambios en el estilo de vida, régimen alimentario, intervenciones en el cuerpo así como tratamiento medicinal, es decir, tratamiento con un medicamento (o varios medicamentos).

Los medicamentos adecuados para el tratamiento son bien conocidos en la técnica, véase, por ejemplo, Heart Disease, 2008, 8ª edición, eds. Braunwald, Elsevier Saunders, capítulo 24 (con respecto a la insuficiencia cardíaca) y capítulo 41 (con respecto a la hipertensión). Estos tratamientos son parte de la presente invención. Preferiblemente, la administración de tales medicamentos tiene como objetivo reducir el riesgo de que el sujeto progrese rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte. Preferiblemente, el medicamento se selecciona del grupo que consiste en un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), un antagonista del receptor de angiotensina (ARB), un antagonista de aldosterona, un diurético y un bloqueador beta. En particular, el medicamento es un antagonista del receptor de angiotensina, o un inhibidor de la ECA.

Los diuréticos preferidos son diuréticos de asa, tiazidas y diuréticos de tipo tiazida. Los bloqueadores beta preferidos son propranolol, metoprolol, bisoprolol, carvedilol, bucindolol y nebivolol. Los inhibidores de la ECA preferidos son Enalapril, Captopril, Ramipril y Trandolapril. Los antagonistas de los receptores de angiotensina preferidos son Losartan, Valsartan, Irbesartan, Candesartan, Telmisartan y Eprosartan. Antagonistas preferidos de la aldosterona como Eplerone, Spironolactone, Canrenone, Mexrenone y Prorenone. Los antagonistas del calcio preferidos son dihidropiridinas, verapamilo y diltiazem.

Los cambios en el estilo de vida incluyen el abandono del hábito de fumar, la moderación del consumo de alcohol, el aumento de la actividad física, la pérdida de peso, la restricción de sodio (sal), el control del peso y la alimentación saludable, el aceite de pescado a diario y la restricción de sal.

Otras terapias preferidas son descritas por Frohlich et al. (Journal of Hypertension 2011, 29: 17-26). En particular, se remite a la página 21 y 22 de esta referencia.

Las definiciones dadas en este documento a continuación se aplican mutatis mutandis a las siguientes realizaciones de la presente invención.

La presente invención también se refiere al uso de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra de un sujeto, en combinación con a) imágenes ecocardiográficas del corazón obtenidas de dicho sujeto, en donde dichas imágenes permiten evaluar la presencia o ausencia de (i) MFS anormal, y (ii) ausencia de HVI en dicho sujeto, o b) un dispositivo de ecocardiografía que preferiblemente permita evaluar la presencia o ausencia de (i) MFS anormal, y (ii) ausencia de HVI en dicho sujeto, para predecir el riesgo de que el sujeto progrese rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte.

La presente invención también se refiere al uso de al menos un agente de unión que se une a un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra de un sujeto, en combinación con a) imágenes ecocardiográficas del corazón obtenidas de dicho sujeto, en donde dichas imágenes permiten evaluar la presencia o ausencia de (i) MFS anormal, y (ii) la ausencia de HVI en dicho

sujeto, o b) un dispositivo de ecocardiografía que permita preferiblemente evaluar la presencia o ausencia de (i) MFS anormal, y (ii) ausencia de HVI en dicho sujeto, para predecir el riesgo de que el sujeto progrese rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte.

- 5 Preferiblemente, el dispositivo de ecocardiografía al que se hace referencia en el presente documento se usa para evaluar la presencia o ausencia de (i) MFS anormal, y (ii) ausencia de HVI.

El término "agente de unión" se ha definido anteriormente. Preferiblemente, el agente de unión se une específicamente a un biomarcador como se menciona en este documento. Más preferiblemente, el agente de unión es un anticuerpo o un fragmento del mismo. Se puede usar al menos un agente de unión. Si se determina el nivel de más de un biomarcador, se usa más de un agente de unión. Por ejemplo, si se miden los niveles de un péptido de tipo BNP y de IGFBP7, se utilizará un agente de unión que se une al péptido de tipo BNP y un agente de unión que se une a IGFBP7.

- 15 Además, se describe un dispositivo adaptado para llevar a cabo el método, comprendiendo dicho dispositivo

a) una unidad analizadora que comprende al menos un agente de unión para medir el nivel de al menos un marcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra de un sujeto,
 b) un medio de entrada de datos para ingresar la información si el sujeto sufre (i) MFS anormal y/o (ii) HVI, y
 c) una unidad de evaluación para comparar el (los) nivel(es) medido(s) con el (los) nivel(es) de referencia, mediante el cual se basan en los resultados de comparar el (los) nivel(es) medido(s) con el (los) nivel(es) de referencia y en la información de si el sujeto sufre de (i) MFS anormal y/o (ii) HVI, se predice el riesgo de que el sujeto progrese rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a una insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte, dicha unidad comprende una base de datos con un nivel de referencia (o niveles) y un algoritmo implementado por computadora que realiza la comparación.

El término "dispositivo", como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema que comprende las unidades mencionadas anteriormente vinculadas operativamente a cada otra para permitir el diagnóstico de acuerdo con los métodos de la invención. Los agentes de unión preferidos que se pueden usar para la unidad de analizador se describen en otra parte en este documento. La unidad analizadora, preferiblemente, comprende dichos agentes en forma inmovilizada sobre un soporte sólido que debe ponerse en contacto con la muestra que comprende los biomarcadores cuyo nivel se va a medir. Además, la unidad analizadora también puede comprender un detector que mide el nivel de agente de detección que está unido específicamente al biomarcador. Los niveles medidos pueden transmitirse a la unidad de evaluación.

Según algunos ejemplos, una unidad analizadora puede configurarse para la detección óptica de un analito, por ejemplo un marcador, con una muestra. Un ejemplo de una unidad analizadora configurada para la detección óptica comprende un dispositivo configurado para convertir energía electromagnética en una señal eléctrica, que incluye detectores ópticos de un solo elemento y de varios elementos o de matriz. De acuerdo con la presente divulgación, un detector óptico es capaz de monitorizar una señal electromagnética óptica y proporcionar una señal de salida eléctrica o una señal de respuesta relativa a una señal basal indicativa de la presencia y/o concentración de un analito en una muestra que se encuentra en un haz óptico.

Dicha unidad de evaluación comprende preferiblemente un elemento de procesamiento de datos, tal como una computadora o dispositivo informático. Preferiblemente, dicho elemento tiene un algoritmo implementado para llevar a cabo una comparación de dicho(s) nivel(es) con un nivel de referencia (o nivel de referencia), en el que basándose en los resultados de la comparación y en la información de si el sujeto sufre de un acortamiento fraccional anormal de la pared media, se predice el riesgo de que un sujeto progrese rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte. Los resultados se pueden dar como resultado de los datos en bruto de parámetros diagnósticos. Debe entenderse que, por lo general, estos datos deberán ser interpretados por el médico. Sin embargo, también se contemplan dispositivos de sistemas expertos en los que los resultados comprenden datos en bruto de diagnóstico procesados cuya interpretación no requiere un médico especializado.

De lo anterior se deduce que, según algunos ejemplos de la descripción, partes de algunos pasos de los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse mediante un dispositivo informático. Un dispositivo informático puede ser por ejemplo una computadora de propósito general o un dispositivo informático portátil. También debe entenderse que se pueden usar múltiples dispositivos informáticos juntos, como en una red u otros métodos de transferencia de datos, para realizar uno o más pasos de los métodos descritos en este documento. Un dispositivo informático tiene acceso a una memoria. Una memoria es un medio legible por computadora y puede comprender un solo dispositivo de almacenamiento o múltiples dispositivos de almacenamiento, por ejemplo localizados localmente con el dispositivo informático o accesibles al dispositivo informático a través de una red. El dispositivo informático también puede tener acceso a un dispositivo de salida. Los ejemplos de dispositivos de salida incluyen por ejemplo

máquinas de fax, pantallas, impresoras y archivos. De acuerdo con algunas realizaciones de la presente divulgación, un dispositivo informático puede realizar uno o más pasos de un método descrito 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.

De acuerdo con ejemplos de la descripción, el software puede incluir instrucciones que, cuando se ejecutan por un procesador del dispositivo informático, pueden realizar una o más etapas de los métodos descritos en el presente documento. Algunas de las instrucciones pueden adaptarse para producir señales que controlan el funcionamiento de otras máquinas y, por lo tanto, pueden operar a través de esas señales de control para transformar materiales muy alejados de la computadora.

Las definiciones dadas en este documento a continuación se aplican mutatis mutandis a las siguientes realizaciones de la presente invención.

Además, la presente invención se refiere a un método para predecir el riesgo de que un sujeto progrese rápidamente a una insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a una insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte, comprendiendo dicho método:

- (a) medir el nivel de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra de un sujeto que padece (i) MFS anormal, y (ii) no padece de HVI, y
- (b) comparando el nivel de dicho al menos un biomarcador con un nivel de referencia.

Preferiblemente, el riesgo se predice al realizar el paso adicional c) de predecir el riesgo de que el sujeto progrese rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte. Dicho paso se basa en los resultados del paso b).

Los biomarcadores preferidos y combinaciones de biomarcadores para las alternativas (i) y (ii) se describen en otra parte del presente documento. Además, el nivel de referencia así como los algoritmos de diagnóstico preferidos se describen en otra parte de este documento. Preferiblemente, un nivel (o niveles) de al menos un biomarcador por encima del nivel de referencia indica que el sujeto está en riesgo de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte. También preferiblemente, un nivel (o niveles) de al menos un biomarcador por debajo del nivel de referencia indica que el sujeto no está en riesgo de progresar rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte.

La presente invención también se refiere al uso de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación del crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra de un sujeto que padece (i) MFS anormal, y (ii) no padece HVI para predecir el riesgo de que el sujeto progrese rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte.

La presente invención también se refiere al uso de al menos un agente de unión que se une a un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra de un sujeto que padece (i) MFS anormal, y (ii) no padece HVI para predecir el riesgo de que el sujeto progrese rápidamente a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte.

Las figuras muestran:

Figura 1 Incidencia de muerte estratificada según el grupo de biomarcadores (NTproBNP, MFS) en todos los pacientes.

Figura 2 Incidencia de muerte estratificada según el grupo de biomarcadores (cTnT MFS) en todos los pacientes.

Figura 3 Incidencia de muerte estratificada según el grupo de biomarcadores (IGFBP7, MFS) en todos los pacientes.

Figura 4 Incidencia de muerte estratificada según el grupo de biomarcadores (sST2, MFS) en todos los pacientes.

Figura 5 Incidencia de muerte estratificada según el grupo de biomarcadores (FGF23, MFS) en todos los pacientes.

Figura 6 Incidencia de muerte estratificada según el grupo de biomarcadores (NTproBNP MFS) en pacientes con masa VI normal.

Figura 7 Incidencia de muerte estratificada según el grupo de biomarcadores (cTnT, MFS) en pacientes con masa VI normal.

Figura 8 Incidencia de muerte estratificada según el grupo de biomarcadores (IGFBP7, MFS) en pacientes con masa VI normal.

Figura 9 Incidencia de muerte estratificada según el grupo de biomarcadores (sST2, MFS) en pacientes con masa VI normal.

Figura 10 Incidencia de muerte estratificada según el grupo de biomarcadores (FGF23, MFS) en pacientes con masa VI normal.

Figura 11 Incidencia de muerte estratificada según el grupo de biomarcadores (NTproBNP, IGFBP7, HVI) en todos los pacientes.

Figura 12 Incidencia de muerte estratificada según el grupo de biomarcadores (NTproBNP, IGFBP7, MFS) en todos los pacientes.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustrarán la invención. Sin embargo, no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención.

Ejemplo 1:

Se investigó la combinación de varios biomarcadores circulantes con acortamiento fraccional de pared media (MFS) anormal, un indicador ecocardiográfico temprano de disfunción sistólica preclínica, con resultados adversos.

Se midieron los niveles circulantes de diversos biomarcadores (NTproBNP, ICAM1, cTNT, FGF23, IGFBP7, MMP2, PLGF, eSelectina, GDF15, ST2, Galectina-3, Vitamina D, CRP, CistatinaC, OPN, P1NP, Mimecan, Endostatina, proANP, ANG2) en 550 individuos de edad avanzada (65-84 años) seleccionados del estudio PREDICTOR. Los participantes fueron remitidos a centros de cardiología para examen clínico y ecocardiografía Doppler integral con MFS medido centralmente. Los números absolutos de todas las causas de muerte estaban disponibles después de una mediana de seguimiento de 46 [39-54] meses a partir del registro de datos administrativos. La muerte se registró en 36 casos.

Los individuos con disfunción de pared media del VI (MFS <15%) tenían niveles más altos de NT-proBNP, cTnT, IGFBP7, sST2, GDF15, ICAM1 o FGF23 que aquellos con función normal. La incidencia relativa de mortalidad entre individuos con MFS anormal y NT-proBNP elevado (> 75 percentil específico por edad y sexo) fue de 14,29% versus 1,96% (MFS anormal, bajo NT-proBNP), 6,22% (MFS normal, alto NT-proBNP) y 0,85% (MFS normal, bajo NT-proBNP) (Figura 1).

Los valores correspondientes para cTnT (> 3ng/L) fueron 14,09, 0,0, 4,65 y 3% (Figura 2). Los valores correspondientes para IGFBP7 por encima de la concentración media fueron 15,85, 2,94, 6,87 y 1,36% (Figura 3). Los valores correspondientes para sST2 por encima de la concentración media fueron 15,89 4,82, 6,13 y 2,03% (Figura 4). Los valores correspondientes para FGF23 por encima de la concentración media fue de 14,04, 6,58, 6,9 y 1,83% (Figura 5).

Después del ajuste por sexo, edad, eGFR y antecedentes de hipertensión, los sujetos con MFS anormal y NTproBNP elevado, IGFBP7, FGF23, GDF15, ICAM1, ANG2 o sST2 tuvieron un mayor riesgo de mortalidad en comparación con aquellos con MFS normal y bajo NT-proBNP, IGFBP7, FGF23, GDF15, ICAM1, ANG2 o sST2.

Relación de riesgo (HR) = 11,4 para NTproBNP (p = 0,002), HR = 6,1 para ST2 (p = 0,005), HR = 7,4 (p = 0,002) para ICAM1, HR = 3,2 (p = 0,02) para angiopoyetina-2, HR = 6,5 (p = 0,002) para IGFBP7, HR = 7,46 (p = 0,002) para FGF23, HR = 7,39 (p = 0,002) para GDF15 (Tabla 1).

La elevación en la circulación de NTproBNP, cTnT, IGFBP7, FGF23, GDF15, ICAM1, ANG2 o sST2 combinada con alteraciones tempranas en la función sistólica del VI con MFS identifica un subgrupo de individuos en la población general de 65 años o más con mayor riesgo de muerte .

Después del ajuste por sexo, edad, eGFR y antecedentes de hipertensión, los sujetos con MFS anormal y NTproBNP elevado en combinación con ST2 o IGFBP7 o GDF15 o FGF23 elevados tuvieron un mayor riesgo de mortalidad en comparación con aquellos con MFS normal y bajo NTproBNP, ST2, FGF23, GDF15, IGFBP7. HR = 20,01 para NTproBNP e IGFBP7, HR = 19,07 para NTproBNP y ST2, 10,54 para NTproBNP y FGF23, HR = 12,62 para NTproBNP y GDF15 (Tabla 1) .Después del ajuste por sexo, edad, eGFR e historia de hipertensión, los sujetos con MFS anormal y el IGFBP7 elevado en combinación con el ST2 elevado tuvieron un mayor riesgo de mortalidad en comparación con aquellos con el MFS normal y el IGFBP7 bajo y el ST2 bajo. HR = 17,96 para IGFBP7 y ST2 (Tabla 1).

El NTproBNP circulante elevado mostró la asociación más pronunciada con el resultado adverso cuando se midió combinado con MFS anormal (Tabla 1). El NTproBNP circulante elevado mostró la asociación más pronunciada con el resultado adverso/mortalidad cuando se midió en combinación con IGFBP7 circulante elevado y MFS o HVI anormales (Figuras 11 y 12, Tabla 1).

Después del ajuste para la edad del sexo eGFR y la historia de hipertensión en sujetos con MFS anormal y NTproBNP elevado, Ang2, ICAM1, IGFBP7, sST2, GDF15 y FGF23 se encontró que tienen un riesgo significativamente mayor de mortalidad (Tabla 1).

5 En contraste, otros biomarcadores incluidos en la presente investigación no se encontraron adecuados cuando se midieron combinados con un MFS anormal para identificar un subgrupo en la población anciana con mayor riesgo de resultados adversos relacionados con CV/IC.

10 La CRP, la CysC, la vitamina D y la proANP elevadas no se encontraron asociadas con un mayor riesgo de muerte en sujetos con MFS anormal. Después del ajuste por sexo, edad, eGFR y antecedentes de hipertensión en sujetos con MFS anormal y CRP, CysC, proANP, vitamina D elevada no se encontró que tuviera un riesgo significativamente mayor de mortalidad en comparación con aquellos sin MFS anormal y niveles bajos de los correspondientes biomarcadores (Tabla 1).

15 Ejemplo 2:

La combinación de los biomarcadores mencionados en el Ejemplo 1 con MFS anormal se investigó en un subconjunto de muestras derivadas de participantes del estudio PREDICTOR con masa ventricular izquierda normal.

20 Los individuos con disfunción de pared media del VI (MFS <15%) tenían niveles más altos de NT-proBNP, cTnT, IGFBP7, sST2 o FGF23 que aquellos con función normal. La incidencia relativa de mortalidad entre individuos con MFS anormal y NT-proBNP elevado (> 75 percentil específico por edad y sexo) fue de 13,51% vs 0% (MFS anormal, bajo NT-proBNP), 6,77% (MFS normal, alta NT-proBNP) y 1,06% (MFS normal, bajo NT-proBNP) (Figura 6). Los valores correspondientes para IGFBP7 por encima de la concentración media fueron 16,0%, 6,93% y 1,9% (Figura 8).

25 Los números absolutos de muerte entre individuos con MFS anormal y cTnT elevada (> 3ng/L) fueron 5 vs 0 (MFS anormal, cTnT baja), 8 (MFS normal, cTnT alta) y 2 (MFS normal, baja cTnT) (Figura 7). Los números correspondientes para sST2 por encima de la concentración media fueron 3,2, 9 y 1. Los números correspondientes para FGF23 por encima de la concentración media fueron 5, 0, 7 y 3. (Figura 9) (Figura 10).

30 La elevación en la circulación de NTproBNP, cTnT, IGFBP7, FGF23 o sST2 combinada con alteraciones tempranas en la función sistólica del VI con MFS identifica un subgrupo de individuos en la población general de 65 años o más con masa normal del ventrículo izquierdo con mayor riesgo de CV/hospitalización relacionada con la insuficiencia cardíaca/muerte y/o todas las causas de muerte.

35 En contraste, no se encontró que otros biomarcadores incluidos en la presente investigación fueran adecuados cuando se midieron combinados con una MFS anormal en sujetos con masa normal del VI para identificar un subgrupo en la población de edad avanzada con mayor riesgo de resultado adverso relacionado con CV/IC.

40 Ejemplo 3

Se investigó la combinación de varios biomarcadores circulantes con hipertrofia ventricular izquierda, un indicador ecocardiográfico temprano de cardiopatía estructural preclínica, con resultados adversos.

45 Los niveles circulantes de NT-proBNP, ICAM-1, ST2, hsCRP, CistatinaC, proANP, Vitamina D, FGF23, GDF15 e IGFBP7 se midieron en 550 sujetos de edad avanzada (65-84 años) seleccionados en el estudio PREDICTOR. Los números absolutos de muerte estaban disponibles después de una mediana de seguimiento de 46 [39-54] meses a partir del registro de datos administrativos. La muerte se registró en 36 casos.

50 Los individuos con HVI tenían niveles más altos de NT-proBNP e IGFBP7, o de aquellos con función normal. La incidencia relativa de mortalidad entre individuos con HVI, NTproBNP elevado (> 75 percentiles específicos de edad y sexo) e IGFBP7 elevado (por encima de la concentración media) fue de 19,15% frente a 0% (HVI, NTproBNP bajo, IGFBP7 bajo), 13,79% (sin HVI, alto NTproBNP, alto IGFBP7) y 1,08% (sin HVI, bajo NTproBNP, bajo IGFBP7) (Figura 11). La incidencia relativa de mortalidad entre individuos con MFS anormal, NTproBNP elevado (> 75 percentiles específicos de edad y sexo) e IGFBP7 elevado (por encima de la concentración media) fue del 17% frente al 3% (sin MFS anormal, bajo NTproBNP, bajo IGFBP7).

55 La elevación en la circulación de NTproBNP e IGFBP7 combinada con HVI identifica un subgrupo de individuos en la población general de 65 años o más con mayor riesgo de muerte.

60 La elevación tanto de NTproBNP como de IGFBP7 circulantes combinadas con HVI identifica un subgrupo de individuos en la población general de 65 años o más con mayor riesgo de muerte.

Después del ajuste por sexo, edad, eGFR y antecedentes de hipertensión, los sujetos con HVI y NTproBNP e IGFBP7 elevado, tuvieron un mayor riesgo de hospitalización/mortalidad relacionada con CV/IC en comparación con aquellos sin HVI y bajo IGFBP7, NT proBNP.

- 5 La elevación de NTproBNP, IGFBP-7, ICAM-1, FGF23, GDF15 o sST2 circulante combinada con HVI identifica un subgrupo de individuos en la población general de 65 años o más con mayor riesgo de CV/hospitalización relacionada IC/muerte y/o todas las causas de muerte.

- 10 Después del ajuste por sexo, edad, eGFR y antecedentes de hipertensión, los sujetos con HVI y FGF23, GDF15, ICAM1 o sST2 elevados tuvieron un mayor riesgo de mortalidad en comparación con aquellos con masa del VI normal y FGF23, GDF15, ICAM1 o sST2 bajos.

Relación de riesgo (HR) = 3,5 para ST2 (p = 0,08), HR = 5,5 (p = 0,009) para ICAM1, HR = 4,9 (p = 0,01) para FGF23, HR = 5,83 (p = 0,03) para GDF15 (Tabla 2).

- 15 Después del ajuste por sexo, edad, eGFR e historial de hipertensión, los sujetos con HVI y NTproBNP elevado en combinación con ST2 o IGFBP7 o GDF15 o FGF23 elevados tuvieron un mayor riesgo de mortalidad en comparación con aquellos con masa del VI normal y bajo NTproBNP, ST2, FGF23, GDF15, IGFBP7. HR = 9,8 para NTproBNP e IGFBP7, HR = 11,9 para NTproBNP y ST2, HR = 8,3 para NTproBNP y FGF23, HR = 7,1 para NTproBNP y GDF15 (Tabla 2). Después del ajuste por sexo, edad, eGFR e historia de hipertensión, los sujetos con HVI e IGFBP7 elevado en combinación con ST2 elevado tuvieron un mayor riesgo de mortalidad en comparación con aquellos con MFS normal y IGFBP7 y ST2 bajo. HR = 5,7 para IGFBP7 y ST2 (Tabla 2).

- 25 En contraste, varios otros biomarcadores incluidos en la presente investigación no se encontraron adecuados cuando se midieron en sujetos con HVI para identificar un subgrupo en la población anciana con mayor riesgo de resultado adverso relacionado con CV/IC.

- 30 La CRP, CysC, vitamina D y proANP elevadas no se encontraron asociadas con un mayor riesgo de muerte en sujetos con HVI. Después del ajuste por sexo, edad, eGFR y antecedentes de hipertensión en sujetos con HVI y CRP, CysC, proANP y vitamina D elevadas no se encontró que tuvieran un riesgo significativamente mayor de mortalidad en comparación con aquellos sin HVI y niveles bajos de los correspondientes biomarcadores (Tabla 2).

Tabla 1: Modelos multivariantes de Cox para la mortalidad en sujetos con MFS anormal y concentraciones elevadas de biomarcadores

MFS anormales y biomarcadores elevados	HR [95% CI]	covariables P: sexo, edad, eGFR e historial de hipertensión
ICAM-1	7,4	0,002
ST2	6,1	0,005
NT-proBNP	11,4	0,02
ANG-2	3,2	0,02
IGFBP7	6,5	0,02
hsCRP	1,1	0,84
Cistatina C	1,35	0,37
proANP	1,15	0,75
Vitamina D	2,2	0,13
FGF23	7,46	0,0017
GDF15	7,39	0,002
NTproBNP + IGFBP7	20,01	0,003
NTproBNP + ST2	19,07	0,005
NTproBNP + FGF23	10,24	0,025
NTproBNP + GDF15	12,62	0,016
IGFB7 + ST2	17,96	0,006

- 35 Tabla 2: Modelos multivariantes de Cox para la mortalidad en sujetos con HVI y concentraciones elevadas de biomarcadores

HVI y biomarcadores elevados	HR [95% CI]	covariables P: sexo, edad, eGFR e historial de hipertensión
ICAM-1	5,5	0,009
ST2	3,53	0,08
NT-proBNP	7,6	0,05
hsCRP	1,0	0,9
Cistatina C	0,98	0,97
proANP	0,93	0,03
Vitamina D	1,1	0,8

FGF23	4,9	0,01
GDF15	5,83	0,03
NTproBNP + IGFBP7	9,8	0,03
NTproBNP + ST2	11,9	0,02
NTproBNP + FGF23	8,3	0,04
NTproBNP + GDF15	7,1	0,06
IGFBP7 + ST2	5,7	0,04

Tabla 3: Niveles de referencia utilizados en todas las investigaciones relacionadas con biomarcadores elevados en combinación con HVI o MFS anormal y una muerte

Biomarcador	Concentración elevada				
NT-proBNP (pg/ml)	percentiles específicos para la edad > 75 y sexo,				
			<40 años	40-50 años	> 50 años
		Mujer	63,6	63,4	73,2
		Hombre	25,2	29,9	45,7
hsCRP (mg/L)	> concentración mediana (1,63)				
CysC (mg/L)	> concentración mediana (1,09)				
Vitamina D (ng/mL)	> concentración mediana (9,57)				
IGFBP7 (ng/mL)	> concentración mediana (171,9)				
sST2 (ng/mL)	> concentración mediana (15)				
GDF15 (ng/L)	> concentración mediana (1646)				
FGF23 (RU/mL)	> concentración mediana (76,27)				
hs-cTnT (pg/mL)	>3				
ICAM1 (ng/mL)	> concentración mediana (218)				
ANG2 (ng/mL)	> concentración mediana (1,93)				

REIVINDICACIONES

1. Un método in vitro para predecir el riesgo de que un sujeto progrese a una insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a una insuficiencia cardíaca crónica y/o de muerte, dicho método comprende:

- (a) la medición del nivel de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra de un sujeto que ha sido evaluado por la presencia o ausencia de acortamiento fraccional de pared media anormal (MFS anormal) y
- (b) la comparación del nivel de dicho al menos un biomarcador a un nivel de referencia,

en el que dicho sujeto no sufre de hipertrofia ventricular izquierda.

2. El método de la reivindicación 1, en el que dicho sujeto no muestra síntomas de insuficiencia cardíaca.

3. El método de las reivindicaciones 1 y 2, en el que dicho sujeto padece una insuficiencia cardíaca clasificada como estadio A o estadio B de acuerdo con la clasificación ACC/AHA.

4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho sujeto tiene 65 años o más, en particular en el que dicho sujeto tiene 75 años o más, o en el que el sujeto tiene 80 años o más.

5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el péptido de tipo BNP es BNP o NT-proBNP, y/o en el que la troponina cardíaca es troponina T o troponina I.

6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el sujeto es un sujeto humano, y/o en el que la muestra es una muestra de sangre, plasma sanguíneo o suero sanguíneo.

7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que se predice el riesgo de que un sujeto progrese a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte dentro de un período de tiempo de 3 años.

8. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que un MFS anormal está presente en dicho sujeto.

9. El método de la reivindicación 8, en el que un nivel de al menos un biomarcador por encima del nivel de referencia indica que el sujeto está en riesgo de progresar a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o de muerte, o en donde un nivel de al menos un biomarcador por debajo del nivel de referencia indica que el sujeto no tiene riesgo de progresar a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o de muerte.

10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el al menos un biomarcador se selecciona del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, sST2, IGFBP7, una troponina cardíaca y FGF23.

11. Un método in vitro para predecir el riesgo de que un sujeto progrese a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte, dicho método comprende:

- (a) la medición del nivel de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y angiopoyetina 2 (ANG2) en una muestra de un sujeto que sufre MFS anormal, y
- (b) comparar el nivel de dicho al menos un biomarcador con un nivel de referencia,

en el que dicho sujeto no sufre de hipertrofia ventricular izquierda.

12. El método de la reivindicación 11, en el que se predice el riesgo de que un sujeto progrese a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a una insuficiencia cardíaca crónica y/o de muerte dentro de un período de tiempo de 3 años.

13. El uso de al menos un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra de un sujeto, en combinación con a) imágenes ecocardiográficas del corazón obtenidas de dicho sujeto, en donde dichas imágenes permiten la evaluación de la presencia o ausencia de MFS anormal en dicho sujeto, para predecir el riesgo de que el sujeto progrese a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte, en el que dicho sujeto no sufre de hipertrofia ventricular izquierda.

- 5 14. El uso de al menos un agente de unión que se une específicamente a un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en un péptido de tipo BNP, IGFBP7 (proteína de unión a IGF 7), una troponina cardíaca, ST2 soluble (sST2), FGF-23 (factor de crecimiento de fibroblastos 23), factor de diferenciación del crecimiento 15 (GDF-15), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y angiopoyetina-2 (ANG2) en una muestra de un sujeto, en combinación con a) imágenes ecocardiográficas del corazón obtenidas de dicho sujeto, en donde dichas imágenes permiten evaluar la presencia o ausencia de FSM anormal en dicho sujeto, para predecir el riesgo de que el sujeto progrese a insuficiencia cardíaca crónica y/o de hospitalización debido a insuficiencia cardíaca crónica y/o muerte, en el que dicho sujeto no sufre de hipertrofia ventricular izquierda.
- 10 15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o el uso de acuerdo con la reivindicación 13 o 14, en el que se miden los niveles de un péptido de tipo BNP e IGFBP7.
- 15 16. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, y 15, o el uso de la reivindicación 13 o 14, en el que el sujeto tiene 65 años o más.

Figura 1

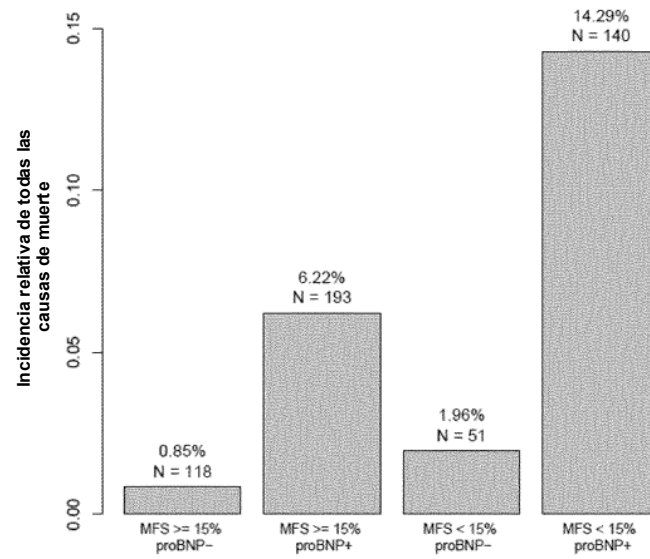


Figura 2

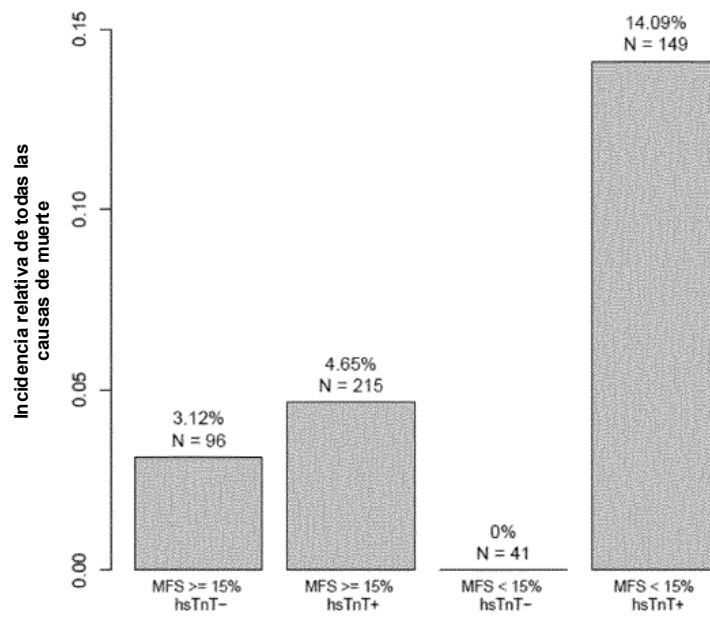


Figura 3

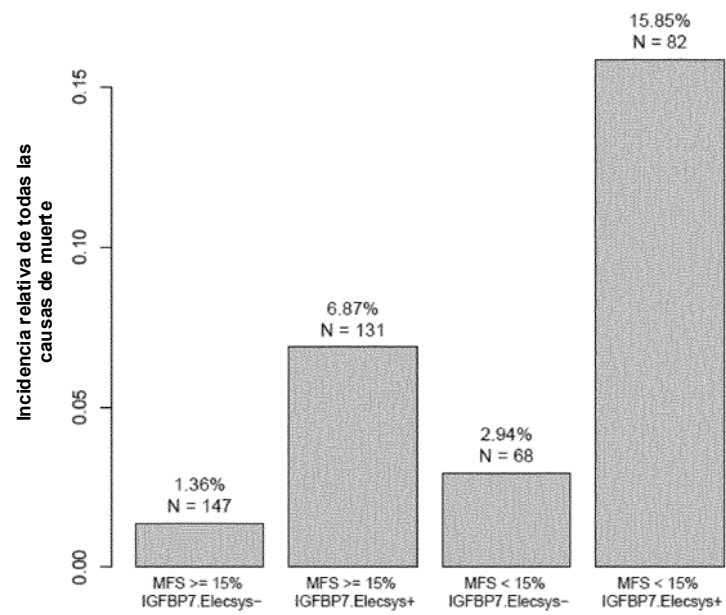


Figura 4

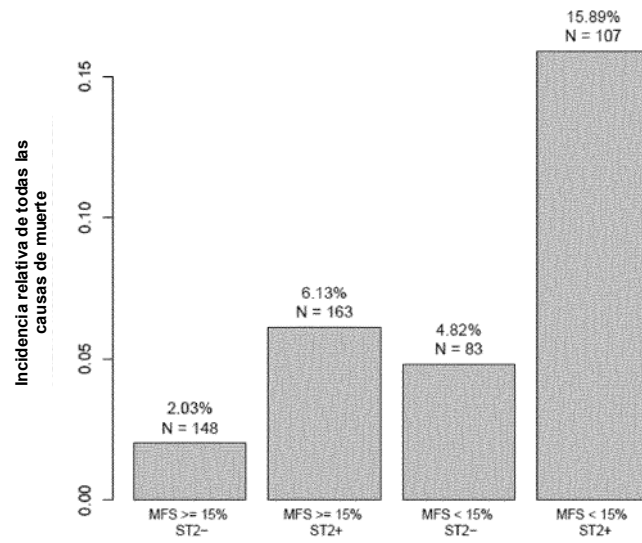


Figura 5

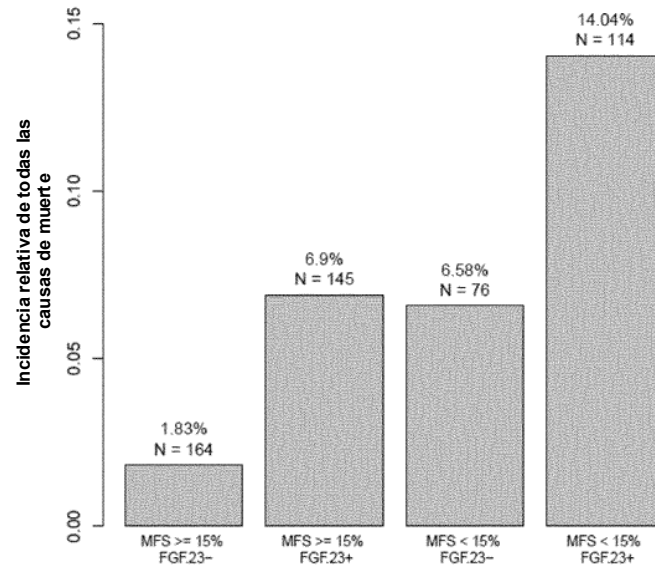


Figura 6

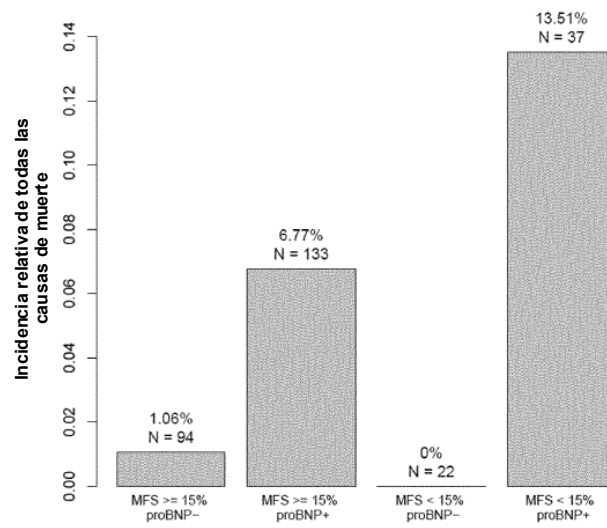


Figura 7

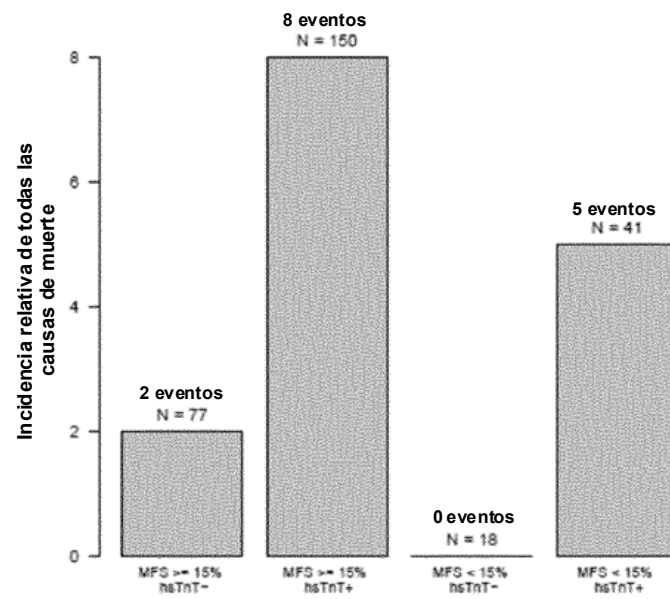


Figura 8

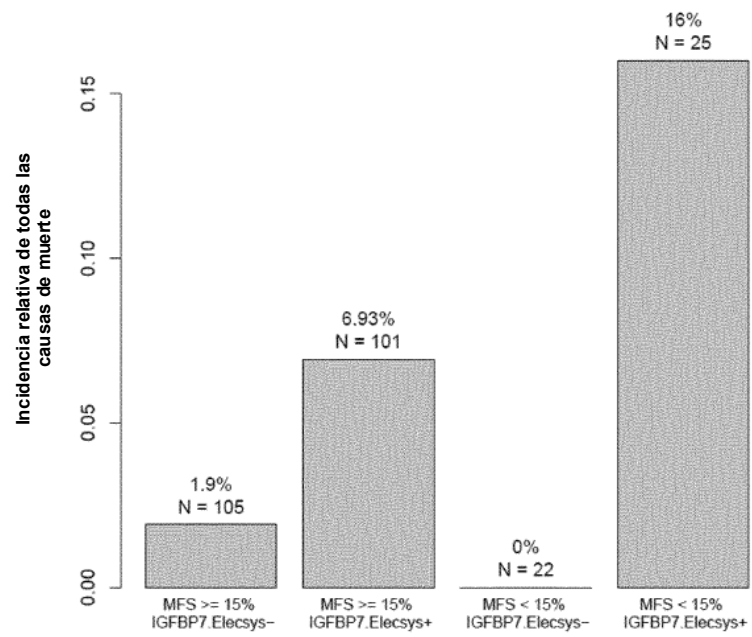


Figura 9

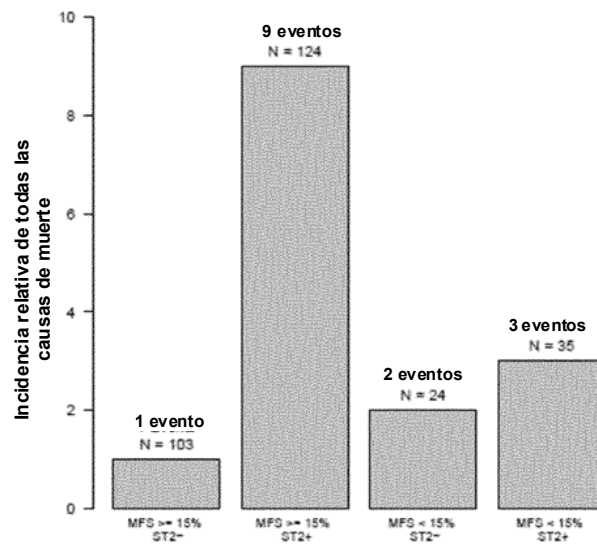


Figura 10

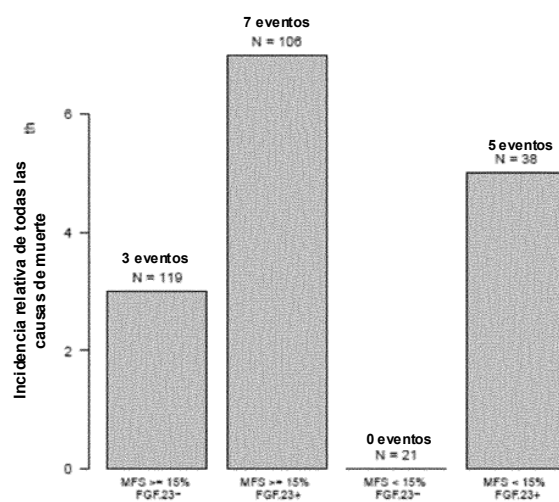


Figura 11

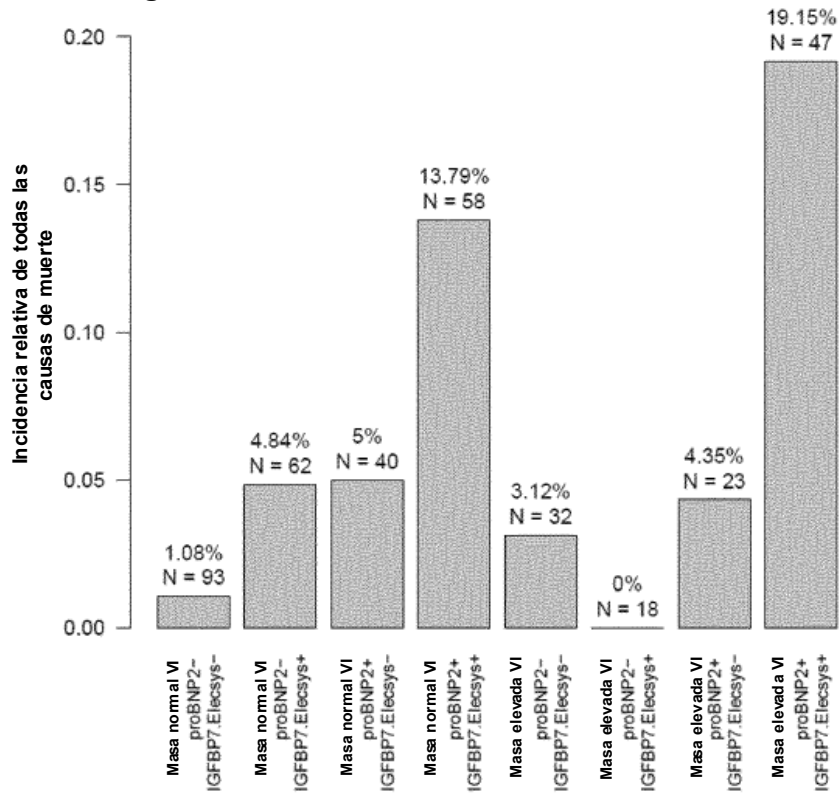


Figura 12

