

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 742 291**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

A61K 31/4985 (2006.01)

A61K 31/505 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 31/53 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.09.2013** **PCT/US2013/062262**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.04.2014** **WO14052803**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.09.2013** **E 13841842 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2019** **EP 2900267**

54 Título: **Cistatina C y Galectina-3 como biomarcadores para la hipertensión arterial pulmonar**

30 Prioridad:

27.09.2012 US 201261706411 P

10.05.2013 US 201361822111 P

20.09.2013 US 201361880459 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.02.2020

73 Titular/es:

SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
(100.0%)

511 Benedict Avenue
Tarrytown, NY 10591 , US

72 Inventor/es:

LASALVIA, LUIS;
FENSTER, BRETT;
SCHROEDER, JOYCE y
BUCKNER, J., KERN

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 742 291 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

Cistatina C y Galectina-3 como biomarcadores para la hipertensión arterial pulmonar

Solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional Nos. 61/706,411 presentada el 27 de septiembre de 2012; 61/822,111 presentada el 10 de mayo de 2013 y 61/880,459 presentada el 20 de septiembre de 2013.

Campo de la invención

10 La presente invención se relaciona con el uso de biomarcadores para enfermedades y afecciones del corazón para regímenes de diagnóstico y tratamiento, especialmente para el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar (PAH).

Antecedentes

15 La hipertensión arterial pulmonar (PAH) es un trastorno progresivo que se caracteriza por un aumento de la resistencia vascular pulmonar que produce una disfunción del ventrículo derecho y en última instancia, una insuficiencia cardíaca. En consecuencia, los índices de disfunción ventricular derecha son los indicadores de pronóstico más importantes en la hipertensión arterial pulmonar. IX ET AL divulga en el estudio "Cysratin C, Left Ventricular Hypertrophy and Diagnostic Dysfunction: Data from the Heart and Soul Study", JOURNAL OF CARDIAC FAILURE, CHURCHILL LIVINGSTONE, NAPERVILLE, IL, US, vol.12, no.8, 1 de Octubre del 2006, páginas 601-607, XP005686404, ISSN: 1071-9164, un estudio en el que se examinó la asociación de la cistatina C sérica con hipertrofia ventricular izquierda (LVH), disfunción diastólica y disfunción sistólica en un estudio transversal entre 818 pacientes ambulatorios con enfermedades de la

20 arteria coronaria. Según este estudio, se plantea la hipótesis de que los participantes en el cuartil de cistatina C más alto tenían más probabilidades de presentar LVH y disfunción diastólica en comparación con los pacientes del cuartil de cistatina C más bajo.

25 UMESH C SHARMA ET AL: "Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction", CIRCULATION; LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, EE. UU., Vol. 110, no. 19, 9. de noviembre del 2004, páginas 3121-3128; XP008154272, ISSN: 0009-7322, DOI: 10.1161/01.CIR.0000147181.65298.4D está dirigido al estudio que muestra que un aumento temprano de la expresión 3-galéctica identifica corazones hipertrofiados propensos a fallar. PEREZ VINICIO A DE JESUS ET AL: "Diagnosis and management of pulmonary hypertension associated with left ventricular diastolic dysfunction": PULMONARY CIRCULATION 2012 APR-JUN, vol. 2, no. 2, ABRIL del 2012, páginas 163-169, XP002757933, ISSN: 2045-8940 se

30 dirige al diagnóstico y manejo de la hipertensión pulmonar asociada con disfunción diastólica ventricular izquierda. En él se divulga que la hipertensión pulmonar a menudo se asocia con insuficiencia cardíaca izquierda. Además, BUCKLEY MITCHELL S ET AL: "Phosphodiesterase-5 inhibitors in management of pulmonary hypertension: safety, tolerability and efficacy", DRUG, HEALTHCARE AND PATIENT SAFETY 2010, vol.2, 2010, páginas 151-161, XP002757935, ISSN: 1179-1365 describe inhibidores de la fosfordiesterasa-5, en particular sildenafil, tadalafil y

35 vardenafil para tratar la hipertensión arterial pulmonar (PAH).

Los biomarcadores que reflejan el fallo del ventrículo derecho, incluido el péptido natriurético cerebral (BNP) y su producto de escisión N-terminal, NT-ProBNP, se utilizan actualmente para el diagnóstico y pronóstico de la hipertensión arterial pulmonar. Sin embargo, la utilidad de BNP y NT-ProBNP como biomarcadores de hipertensión

40 arterial pulmonar está limitada por las falsas lecturas negativas que estos marcadores proporcionan en la hipertensión arterial pulmonar temprana, los niveles atenuados en la obesidad y las elevaciones fisiológicas con la edad y el género femenino, independientemente del estado cardiovascular.

Sumario de la invención

45 La presente invención proporciona un método para identificar un candidato para el tratamiento de hipertensión arterial pulmonar, en donde el método incluye proporcionar una muestra de un fluido biológico de un sujeto de prueba; determinar la concentración de CysC y/o Gal-3 en la muestra del sujeto de prueba; comparar la concentración de CysC y/o Gal-3 determinada en la muestra del sujeto de prueba con un intervalo normal de concentración de CysC y/o Gal-3, respectivamente; determinar que el nivel de CysC y/o Gal-3 está por encima del intervalo normal de concentración de CysC y/o Gal-3 y, por lo tanto, identificar al sujeto de prueba como un candidato para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar.

50 Aquí también se describe un método de diagnóstico de hipertensión arterial pulmonar en un sujeto de prueba, en donde el método incluye proporcionar una muestra de un fluido biológico de un sujeto de prueba; determinar el nivel de CysC y/o Gal-3 en la muestra del sujeto de prueba; comparar el nivel de CysC y/o Gal-3 determinado en la muestra del sujeto de prueba con un intervalo normal de niveles de CysC y/o Gal-3, respectivamente; determinar que el nivel de CysC y/o Gal-3 está por encima del intervalo normal de los niveles de CysC y/o Gal-3 y por lo tanto, diagnosticar

55 al sujeto de prueba como probable que esté sufriendo de hipertensión arterial pulmonar.

Cuando los niveles tanto de CysC como de Gal-3 en la muestra del sujeto de prueba están por encima del intervalo normal para cada uno de estos biomarcadores, el nivel elevado de Gal-3 es un resultado confirmatorio y proporciona un alto grado de confianza de que el sujeto de prueba sufre de hipertensión arterial pulmonar.

Breve descripción de las figuras

- 5 La Figura 1 muestra los niveles de biomarcadores en sujetos control frente a PAH. Panel izquierdo: CysC, panel central: BNP, panel derecho: NT-ProBNP. Los diagramas de caja muestran la distribución de los datos, incluidos el mínimo (bigote inferior), el primer cuartil (parte inferior del rectángulo), mediana (línea horizontal dentro del rectángulo), tercer cuartil (parte superior del rectángulo) y máximo (bigote superior).

Descripción detallada

- 10 La hipertensión arterial pulmonar (PAH) es uno de los cinco grupos de hipertensión pulmonar (PH) de afecciones clasificadas por la Organización Mundial de la Salud. Además de la condición de hipertensión arterial pulmonar del Grupo 1, estas condiciones incluyen el Grupo 2: PH con enfermedad cardíaca izquierda; Grupo 3: PH con enfermedad pulmonar y/o hipoxemia; Grupo 4: PH debida a enfermedad trombótica y/o embólica crónica; y Grupo 5: afecciones diversas (que incluyen sarcoidosis, histiocitosis X, linfangiomatosis y compresión de los vasos pulmonares).
- 15 La PAH es una enfermedad grave, progresiva y potencialmente mortal del sistema de la vasculatura pulmonar, caracterizada por vasoconstricción profunda y una proliferación anormal de células musculares lisas en las paredes de las arterias pulmonares. La constricción severa de los vasos sanguíneos en los pulmones conduce a presiones arteriales pulmonares muy altas. Estas altas presiones dificultan que el corazón bombee sangre a través de los pulmones para ser oxigenado. Los pacientes con PAH sufren de dificultad respiratoria extrema cuando el corazón
- 20 bombea contra estas altas presiones. Los pacientes con PAH típicamente desarrollan aumentos significativos en la resistencia vascular pulmonar y elevaciones sostenidas en la presión de la arteria pulmonar, lo que en última instancia puede conducir a insuficiencia ventricular derecha y muerte. Los pacientes diagnosticados con PAH tienen un mal pronóstico y una calidad de vida igualmente comprometida, con una esperanza de vida media de 2 a 5 años desde el momento del diagnóstico si no se tratan.
- 25 Aunque la evaluación de imágenes no invasiva de PAH se ha centrado tradicionalmente en la presión sistólica de la arteria pulmonar derivada del ecocardiograma Doppler (PASP), el PASP estimado aún no ha demostrado su importancia pronóstica. Por lo tanto, el valor de las imágenes cardíacas parece estar en la evaluación de la adaptación del ventrículo derecho a la PAH. Tanto el RVEF, el volumen diastólico final del RV (RVEDV) como el volumen sistólico final de ventrículo derecho (RVESV) predicen insuficiencia cardíaca derecha, deterioro clínico y mortalidad. El reciente
- 30 desarrollo de nuevas técnicas de imagen permite una metodología más completa de la evaluación del ventrículo derecho que puede complementar las metodologías tradicionales. La geometría compleja del ventrículo derecho y la orientación predominantemente longitudinal de las miofibrillas ha conducido al desarrollo de la ecocardiografía de rastreo de marcas, una técnica independiente del ángulo para evaluar el movimiento del ventrículo derecho. Además, la evaluación ecocardiográfica de las presiones de llenado del ventrículo derecho utilizando una combinación de
- 35 Doppler de onda tisular y pulsado es un poderoso predictor de eventos cardíacos, estado funcional y capacidad de ejercicio, lo que indica que la disfunción diastólica del ventrículo derecho (RVDD) tiene importancia de pronóstico en la PAH. Usando una metodología de imágenes multimodales en el mismo día para caracterizar de manera integral el ventrículo derecho, se probó la siguiente hipótesis: que CysC está tan fuertemente asociada con el tamaño del ventrículo derecho, función sistólica, distensión y función diastólica del ventrículo derecho como los biomarcadores
- 40 tradicionales, BNP y NT-ProBNP, en la hipertensión arterial pulmonar (PAH).

La cistatina C (CysC) es una proteína básica no glicosilada, anteriormente conocida como "traza gamma" y se detectó por primera vez en la orina, líquido cefalorraquídeo y otros fluidos biológicos de pacientes con insuficiencia renal. Desde entonces, se ha utilizado como un marcador endógeno altamente sensible de la filtración renal. Sin embargo, CysC también predice la insuficiencia cardíaca izquierda y la mortalidad cardiovascular en general. Además, la CysC

45 puede ser superior a NT-ProBNP en la predicción de la mortalidad relacionada con la insuficiencia cardíaca izquierda aguda. Significativamente y en contraste con el BNP y el NT-ProBNP, los niveles séricos de CysC parecen ser independientes de la masa muscular, edad y género, lo que respalda el uso de los diagnósticos de CysC y el monitoreo como un indicador más confiable de la afección arterial pulmonar.

- 50 La galectina-3 (Gal 3) es un marcador de insuficiencia cardíaca izquierda y mortalidad cardiovascular debida a insuficiencia cardíaca congestiva (CHF). La galectina-3 es un miembro de la proteína de aproximadamente 30 Kd de la familia de las lectinas, que contiene un dominio de reconocimiento de carbohidratos de aproximadamente 130 aminoácidos. La galectina-3 es una lectina específica de galactosa que se enlaza a la IgE y está involucrada en las respuestas inflamatorias agudas que incluyen la activación y adhesión de los neutrófilos, la quimioatracción de monocitos y macrófagos, opsonización de los neutrófilos apoptóticos y activación de los mastocitos.

- 55 Los inhibidores de la fosfodiesterasa-5 (inhibidores de la PDE-5), como sildenafil, tadalafil y vardenafil, se utilizan para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar (PAH): véase por ejemplo, la patente de los Estados Unidos No. 8,377,933; como lo son los antagonistas de los receptores de la endotelina, como el ambrisentan, que se utiliza en el tratamiento de la PAH para prevenir un mayor engrosamiento del sistema vascular pulmonar. La inhibición de JAK2

también se ha sugerido como otra metodología terapéutica para el tratamiento de la PAH; véase la patente de Estados Unidos No. 8,410,173. La patente de Estados Unidos No. 8,324,247 divulga el uso de antagonistas de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B} combinados para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar.

Abreviaciones:

- 5 CMR: MRI cardíaco
- CysC: Cistatina C
- BNP: Péptido natriurético cerebral
- NT-ProBNP: Péptido natriurético cerebral pro N-terminal
- GFR: Rata de filtración glomerular
- 10 LVEF: Fracción de eyección ventricular izquierda
- LVEDV: Volumen diastólico final ventricular izquierdo
- LVESV: Volumen sistólico final ventricular izquierdo
- PAH: Hipertensión arterial pulmonar
- PASP: Presión sistólica de la arteria pulmonar
- 15 RV: Ventriculo derecho
- RVDD: Disfunción diastólica ventricular derecha
- RVEF: Fracción de eyección ventricular derecha
- RVEDV: Volumen diastólico final ventricular derecho
- RVESV: Volumen sistólico final ventricular derecho
- 20 RSVP: Presión sistólica ventricular derecha
- TV E/e': proporción válvula tricúspide de E/e'
- TV E/A: proporción válvula tricúspide de E/A

En una realización, la presente invención proporciona un método para identificar un candidato para el tratamiento de hipertensión arterial pulmonar, en el que el método incluye: proporcionar una muestra de un fluido biológico de un sujeto; determinar la concentración de CysC y/o Gal-3 en la muestra; comparar la concentración de CysC y/o Gal-3 con un intervalo normal de concentración de CysC y/o concentración de Gal-3, respectivamente; y determinar que la concentración de CysC y/o Gal-3 está por encima del intervalo de concentración normal y, por lo tanto, identificar al sujeto como candidato para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar. La muestra de fluido biológico puede ser cualquier muestra de fluido biológico adecuada. Como por ejemplo y sin limitación: una muestra de sangre, plasma o suero. Los sujetos de prueba que son candidatos para el tratamiento de la PAH presentan uno o más de los siguientes síntomas: dolor en el pecho, falta de aire, fluido en los pulmones y mareo.

En otra realización, la invención proporciona un método para identificar un candidato para el tratamiento de hipertensión arterial pulmonar, en donde la concentración de CysC en la muestra se determina formando un complejo de CysC en la muestra con un agente de enlace a CysC y determinando la concentración del complejo. La concentración de CysC en la muestra con un agente de enlace a CysC está relacionada con la concentración de CysC en la muestra. Una concentración de CysC en la muestra por encima del intervalo normal es indicativo de que el sujeto probablemente sufre de hipertensión arterial pulmonar. El agente de enlace a CysC puede ser cualquier agente de enlace a CysC adecuado, tal como, por ejemplo, un anticuerpo anti-CysC, por ejemplo, el anticuerpo anti-CysC del ensayo Siemens ADVIA Chemistry.

En otra realización más, la invención proporciona un método para identificar un candidato para el tratamiento de hipertensión arterial pulmonar, en donde la concentración de Gal-3 en la muestra se determina formando un complejo de Gal-3 en la muestra con un agente de enlace a Gal-3 y determinando la concentración del complejo. La concentración de Gal-3 en la muestra con un agente de enlace a Gal-3 está relacionada con la concentración de Gal-3 en la muestra. Una concentración de Gal-3 en la muestra por encima del intervalo normal es indicativo de que el sujeto probablemente sufre de hipertensión arterial pulmonar. Alternativamente, en un sujeto que tiene una concentración por encima de lo normal de CysC en una muestra de un fluido biológico, el hallazgo de una concentración de Gal-3 en la muestra por encima del intervalo normal es la confirmación de que el sujeto probablemente sufre de hipertensión arterial pulmonar. El agente de enlace a Gal-3 puede ser cualquier agente de

enlace a Gal-3 adecuado, tal como, por ejemplo, un anticuerpo anti-Gal-3, por ejemplo, el anticuerpo anti-Gal-3 del ensayo Siemens ADVIA Chemistry.

Aquí se describe un método para identificar y tratar un candidato para el tratamiento de hipertensión arterial pulmonar, en donde el método incluye: proporcionar una muestra de un fluido biológico de un sujeto; determinar la concentración de CysC y/o Gal-3 en la muestra; comparar la concentración de CysC y/o Gal-3 con un intervalo normal de concentración de CysC y/o concentración de Gal-3, respectivamente; y determinar que la concentración de CysC y/o Gal-3 está por encima del intervalo de concentración normal y por lo tanto, identificar al sujeto como candidato para el tratamiento de hipertensión arterial pulmonar (PAH) y tratar al sujeto con una terapia para la PAH. La terapia para la PAH puede ser cualquier terapia para la PAH adecuada, como por ejemplo el tratamiento con un inhibidor de la PDE-5, como sildenafil, tadalafil o vardenafil; o un antagonista del receptor de endotelina, tal como ambrisentan.

Además, aquí se describe un método para monitorizar un tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar, en donde el método incluye: proporcionar dos o más muestras de un fluido biológico de un sujeto en diferentes momentos durante la terapia para la hipertensión arterial pulmonar; determinar la concentración de CysC en las muestras; comparar la concentración de CysC determinada en al menos dos de las muestras; y de ese modo monitorizar el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar.

Ejemplos

Todas las pruebas en humanos se realizaron de conformidad con todos los requisitos reglamentarios estatales federales y locales y bajo la aprobación de una Junta de Revisión Institucional (IRB).

Ejemplo 1: Comparación de la CysC con marcadores estándar para el diagnóstico y monitorización de la hipertensión arterial pulmonar (PAH)

Inscripción para pruebas clínicas: clinicaltrials.gov, NCT01491646

Materiales y métodos:

Población del estudio.

El estudio prospectivo fue aprobado por la Junta Nacional de Revisión Institucional de Salud Judía y se obtuvo el consentimiento informado de todos los sujetos. Los sujetos fueron reclutados e inscritos consecutivamente de la Clínica Nacional de Cardiología de la Salud Judía. Todos los sujetos tenían 18 años o más y no tenían contraindicaciones para la MRI cardíaca (CMR). Para eliminar las causas alternativas de la elevación o atenuación de los biomarcadores, los sujetos se excluyeron si tenían cardiomiopatía; enfermedad de la arteria coronaria significativa (antecedentes de infarto de miocardio; revascularización mecánica, incluida la intervención coronaria percutánea o la cirugía de desviación de la arteria coronaria; o estenosis de la arteria coronaria superior al 50%); es decir, enfermedad cardíaca valvular por encima de moderada; insuficiencia renal avanzada (rata de filtración glomerular inferior a o igual a 30 ml/kg/1,73 M²) o enfermedad hepática avanzada (cirrosis, infección crónica por hepatitis B o C, o cáncer). Los controles fueron asintomáticos, sin enfermedad pulmonar parenquimatosa, hipertensión pulmonar o historia de tabaquismo. Antes de la inscripción, todos los sujetos con PAH tenían una PAH previamente probada con cateterismo derecho del corazón según los criterios de la Organización Mundial de la Salud, así como disfunción diastólica ventricular derecha (RVDD) por ecocardiograma realizado dentro de las dos semanas anteriores a la inscripción. Los datos biométricos, incluidos la edad, género y el índice de masa corporal (BMI), así como la Clase Funcional de la Asociación Cardíaca de Nueva York, se recopilaron el día del desempeño del protocolo.

Ecocardiografía Doppler.

La adquisición de datos se realizó con un sistema de ultrasonido Vivid 7 (General Electric Medical System, Milwaukee, WI, Estados Unidos) equipado con un transductor de 3 MHz. Las grabaciones de imagen Doppler pulsado tisular se obtuvieron de una vista apical de cuatro cámaras durante una breve pausa de final de expiración. Usando la ecocardiografía Doppler de onda pulsada, se obtuvieron los parámetros de llenado del ventrículo derecho, incluidas las velocidades pico de llenado temprano (E) y tardío (A) (cm/s) y la proporción E/A. Usando Doppler tisular pulsado, se obtuvieron las velocidades diastólicas (cm/s) del anillo tricuspídeo lateral y septal, así como la proporción E/E'. RVDD se definió como etapa I (TV E/A <0,8, TV E/e' >6 y DT >120 ms) o etapa II (TV E/A= 0,8-2,1, E/e' >6, y DT >120 ms) según las pautas de la Sociedad Americana de Ecocardiografía. La presión sistólica ventricular derecha (RVSP) se estimó utilizando el método de la envoltura para regurgitación tricuspídea descrito por Yock et al., Circulation. 1984; 70:657-62.

Tensión longitudinal del ventrículo derecho.

Tras la adquisición de la ecocardiografía bidimensional, se importaron imágenes apicales de cuatro cámaras en Syngo Velocity Vector Imaging v2.0 (Siemens Medical Solutions USA, Inc., Mountain View, California) para la medición de la tensión. El borde endocárdico del ventrículo derecho se trazó manualmente en un marco sistólico medio y se rastreó automáticamente para determinar la tensión longitudinal miocárdica máxima del ventrículo derecho basal de pared libre tal como se describió anteriormente (Pirat et al., Am J of Card 2006, 98:699-704).

MRI cardíaco.

La CMR se realizó el mismo día que la ecocardiografía. Los sujetos se sometieron a imágenes de CMR en posición supina utilizando un sistema de MRI clínico de 1,5 T (Magnetom Avanto, Siemens Medical Solutions, Erlangen, Alemania) y una bobina cardíaca de matriz de fase de ocho canales. El eje cardíaco corto se determinó a partir de imágenes exploratorias en el nivel del ventrículo medio, eje vertical largo y un eje horizontal largo. El plano de imagen del eje corto basal se colocó más allá del nivel del plano de la válvula tricúspide. Se usó una técnica de precesión libre en estado estable con activación retrospectiva para obtener imágenes desde la base hasta el vértice durante breves retenciones respiratorias al final de la espiración utilizando cortes contiguos de eje corto en incrementos de 8 mm. El análisis funcional y volumétrico del ventrículo derecho y del ventrículo izquierdo se realizó fuera de línea mediante un lector ciego que utiliza un software disponible comercialmente (Argus, Syngo MR B17, Siemens Medical Solutions, Erlangen, Alemania). Los contornos del final de la diástole y del final de la sístole del ventrículo derecho e izquierdo se rastrearon manualmente para cada corte. La RVEDV y RVESV se determinaron de acuerdo con la regla de Simpson modificada (véase Lorenz et al., J Cardiovasc Magn Reson 1999, 1:7-21). Se calcularon la RVEF y el índice cardíaco (RV CI). Se aplicó la misma metodología para la determinación de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (LVEF), volumen diastólico final del ventrículo izquierdo (LVEDV) y el volumen sistólico final del ventrículo izquierdo (LVESV).

Diagnósticos de Laboratorio.

La BNP, CysC, NT-ProBNP y creatinina se recolectaron de todos los sujetos mediante flebotomía inmediatamente antes de la ecocardiografía y la CMR. Tras la recolección y la centrifugación, las muestras se dividieron en partes alícuotas y se almacenaron a -20 °C usando plasma-EDTA (BNP, CysC) o suero (NT-ProBNP, creatinina). Una vez finalizado el estudio, todas las muestras se enviaron a un laboratorio central para su análisis. La concentración de BNP en plasma se determinó utilizando el inmunoensayo ADVIA Centaur, los niveles de CysC y creatinina se midieron utilizando los ensayos químicos ADVIA, y la concentración de NT-ProBNP se determinó utilizando el inmunoensayo Visa (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, Nueva York). Todas las muestras se ejecutaron por triplicado y fueron promediadas por un solo operador que estaba cegado a la ecocardiografía, la CMR y las características de los pacientes. La tasa de filtración glomerular (GFR) se calculó utilizando la ecuación de modificación de la dieta en el estudio de enfermedad renal.

Análisis estadístico.

Debido a que el análisis de histograma con la prueba de Kolmogorov-Smirnov no pudo verificar una distribución normal, se usó la prueba de la suma de rangos de Wilcoxon para comparar la CysC, BNP, NT-ProBNP, GFR, edad, género y BMI entre los grupos control y PAH. Se reporta la mediana con intervalo intercuartil asociado para datos continuos y porcentajes para datos categóricos. Los coeficientes de correlación de Spearman se utilizaron para probar la fuerza de la relación entre la CysC, BNP, NT-ProBNP y los marcadores de presión, tamaño, función sistólica y función diastólica del RV utilizando JMP v9.0 (SAS Institute, Cary, NC). Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos (NS= no significativo).

Resultados: Un total de veinticuatro sujetos fueron inscritos, incluyendo catorce con PAH y diez controles. La PAH fue idiopática (N= 12) o asociada con la enfermedad del tejido conectivo (N= 2). No hubo diferencias en el género entre los grupos de control y PAH (70% vs. 79%, $p = \text{NS}$). Además, no hubo diferencias significativas en la edad o BMI como se muestra en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1: Características biométricas y demográficas en grupos control y PAH.

	Control (N=10)	PAH (N=14)	Valor p
Edad (años)	59 (54-66)	64 (60-70)	NS
BMI (kg/m ²)	25 (23-26)	28 (24-31)	NS
GFR (cc/min/1,73 m ²)	75 (70-84)	71 (48-101)	NS
LVEF (%)	71 (66-79)	69 (63-75)	NS
LVEDV (cc)	96 (78-106)	87 (73-112)	NS
LVESV (cc)	27 (19-35)	27 (22-46)	NS

	Control (N=10)	PAH (N=14)	Valor p
Los datos se reportan como valor de la mediana con el intervalo intercuartil asociado entre paréntesis. BMI= índice de masa corporal, GFR= rata de filtración glomerular, LVEF= fracción de eyección del ventrículo izquierdo, LVEDV= volumen diastólico de la eyección del ventrículo izquierdo y LVESV= volumen sistólico final del ventrículo izquierdo.			

Debido a la posibilidad de que las diferencias en la función renal confundan las comparaciones de la CysC, se calculó MDRD GFR (rata de filtración glomerular con base en la ecuación de la modificación de la dieta en la enfermedad renal) y se encontró que era similar entre los dos grupos (mediana 75 ml/kg/1,73 M², intervalo intercuartil 71-84 ml/kg/1,73 M² en controles vs. 71 ml/kg/1,73 M², intervalo intercuartil 48-101 ml/kg/1,73 M² en sujetos con PAH, p= NS). De manera similar, no hubo diferencias significativas entre los grupos en cuanto a los marcadores de la morfología o función del ventrículo izquierdo, incluidas la LVEF, LVEDV o la LVESV. Nueve de los 14 sujetos con PAH recibieron tratamiento farmacológico dirigido el día de finalización del protocolo (7 sildenafil, 1 tadalafil y 1 ambrisentan). Todos los sujetos con PAH fueron de la clase funcional III de la asociación cardíaca de Nueva York (NYHA FC), y todos los controles fueron asintomáticos.

Niveles de biomarcador.

Los niveles de la CysC fueron anormalmente elevados y significativamente más altos en el grupo de PAH en comparación con los controles (mediana de 1,06 mg/L, intervalo intercuartil 0,86-1,24 mg/L frente a 0,79 mg/L, intervalo intercuartil 0,75-0,83 mg/L, p =,001, intervalo de referencia de 0,53-0,95 mg/L) (ver Figura 1). De manera similar, en comparación con los controles, los sujetos con PAH tuvieron niveles más altos tanto de BNP (mediana de 3 ng/ml, intervalo intercuartil 0-15 ng/ml frente a 63 ng/ml, intervalo intercuartil 34-220 ng/ml, p= 0,0003, intervalo de referencia 0-100 ng/ml) como de NT-ProBNP (mediana 40 pg/ml, intervalo intercuartil 23-63 pg/ml frente a 462 pg/ml, intervalo intercuartil 63-2383 pg/ml, p= 0,0004, intervalo de referencia 0-125 pg/ml). Consistente con el efecto conocido de la función renal en estos biomarcadores, los niveles de la CysC y NT-ProBNP se correlacionaron negativamente con la GFR (r= -0,43, p= 0,03 y r= 0,48, p= 0,02, respectivamente). Además, el BNP se acercó a una relación estadísticamente significativa con la GFR (r= -0,40, p= 0,05). Ninguno de los biomarcadores se correlacionó con edad, género o BMI.

Tabla 2: Características basales en la presión, tamaño, función sistólica y función diastólica del ventrículo derecho en sujetos control frente a PAH.

	Control	PAH	Valor p
RVSP (mmHg)	28 (22-32)	57 (46-65)	< 0,0001
RVEF (%)	51 (44-55)	35 (27-39)	0,0005
Tensión máxima lateral del RV	-39 (-53 a -23)	-22 (-28 a -14)	0,02
Rata de la tensión máxima lateral del RV (1/s)	-3 (-4 a -1)	-1,1 (-1,8 a -0,9)	NS
RVEDV (cc)	122 (105-171)	192 (140-208)	0,04
RVESV (cc)	59 (46-94)	125 (75-152)	0,004
Masa del RV (g/M ²)	13 (11-17)	23 (19-29)	0,0001
TV E/e'	3,4 (2,5-4,1)	5,9 (4,8-6,7)	0,0002
TV e'	12,5 (10,8-15,6)	6,3 (5,9-7,1)	<0,0001
TV E/A	1,7 (1,3-2,1)	0,8 (0,7-1,1)	0,003

	Control	PAH	Valor p
Los datos se reportan como valor de la mediana con el intervalo intercuartil asociado entre paréntesis. RVSP= presión sistólica del ventrículo derecho, RVEF= fracción de eyección del ventrículo derecho, RVEDV= volumen diastólico de la eyección del ventrículo derecho, RVESV= volumen sistólico final del ventrículo derecho, TV E/e'= proporción de velocidad máxima válvula tricúspide E a e', TV e'= velocidad válvula tricúspide e', y TV E/A= proporción de velocidad máxima válvula tricúspide E a A.			

Función y presión sistólica ventricular derecha

En comparación con los controles, el grupo de PAH tuvo menor RVEF, mayor RVEDV y RVESV, y RVSP más alto como se muestra en la Tabla 2, anteriormente. Los niveles de la CysC se correlacionaron positivamente con RVSP, tensión lateral máxima del RV y la rata de la tensión lateral máxima del RV y se correlacionaron negativamente con RVEF como se muestra en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3: Coeficientes de Spearman para correlaciones entre biomarcadores e índices de presión del RV y función sistólica.

	CysC	BNP	NT-ProBNP
RVSP	0,61 (<0,01)	0,69 (<,01)	0,74 (<0,01)
RVEF	-0,58 (<0,01)	-0,55 (<0,01)	-0,61 (<0,01)
Tensión lateral máxima del RV	0,51 (0,01)	0,41 (0,04)	0,49 (0,02)
Rata de la tensión lateral máxima del RV	0,51 (0,01)	0,36 (NS)	0,45 (0,03)
Los valores p se reportan entre paréntesis. RVSP= presión sistólica del ventrículo derecho, RVEF= fracción de eyección del ventrículo derecho.			

- 10 Aunque tanto el BNP como el NT-ProBNP estaban más fuertemente correlacionados con el RVSP que con la CysC, la CysC demostró una relación más fuerte con la tensión del ventrículo derecho y la rata de la tensión que el BNP o el NT-ProBNP, y una correlación comparable con la RVEF.

Morfología ventricular derecha y función diastólica

- 15 Los índices de remodelación miocárdica, incluidos RVEDV, RVESV y el índice de masa del RV, aumentaron en el grupo de PAH en relación con los controles (ver la Tabla 2 anteriormente). Además, en los sujetos con PAH, los marcadores de la función diastólica del ventrículo derecho, incluidos TV E/e' y TV E/A, aumentaron significativamente, y TV e' se redujo significativamente, en relación con los controles. La CysC se correlacionó positivamente con RVEDV, RVESV, índice de masa ventricular derecha y E/e' ventricular derecha y se correlacionó negativamente tanto con TV E/A como con TV e'. Las relaciones de la BNP y NT-ProBNP con RVEDV, RVESV, masa ventricular derecha y TV E/e' se correlacionaron con la CysC (ver las Tablas 4 y 5 a continuación).
- 20

Tabla 4. Coeficientes de Spearman para correlaciones entre biomarcadores e índices de morfología del ventrículo derecho.

	CysC	BNP	NT-ProBNP
Masa del RV g/M2	0,67 (<0,01)	0,70 (<0,01)	0,67 (<0,01)
RVESV (cc)	0,58 (<0,01)	0,52 (<0,01)	0,58 (<0,01)
RVEDV (cc)	0,50 (,01)	0,44 (0,03)	0,42 (<0,04)

	CysC	BNP	NT-ProBNP
Los valores de p se indican entre paréntesis. RVEDV= fracción de eyección del ventrículo derecho, RVESV= volumen sistólico final del ventrículo derecho.			

Tabla 5. Coeficientes de Spearman para correlaciones entre biomarcadores e índices de la función diastólica del ventrículo derecho.

	CysC	BNP	NT-ProBNP
TV e' (cm/s)	-0,75 (<0,01)	-0,61 (<0,01)	-0,66 (<0,01)
TV E/e'	0,57 (<0,01)	0,57 (<0,01)	0,58 (<0,01)
TV E/A	-0,50 (0,01)	-0,41 (0,04)	-0,38 (NS)
Los valores p se indican entre paréntesis. TV e'= velocidad de la válvula tricúspide e', TV E/e'= proporción de la velocidad máxima de la válvula tricúspide E a e', y TV E/A= proporción de la velocidad máxima de la válvula tricúspide E a A.			

- 5 Como se muestra anteriormente en la Tabla 5, las correlaciones de la CysC con TV e' y TV E/A fueron más fuertes que las correlaciones con la BNP y NT-ProBNP.

La CysC frente a la tasa de filtración glomerular para las correlaciones del ventrículo derecho

- 10 Se suele considerar que la CysC es un indicador sensible de la función renal, pero en esta cohorte, la CysC solo se correlacionó moderadamente con la GFR ($r = -0,43$, $p = 0,03$). Aunque se identificaron asociaciones significativas entre la GFR y la RVEF y el índice de masa del RV, la fuerza de esas asociaciones fue más débil que las asociaciones entre la CysC y estos índices ($r = 0,51$ frente a $0,58$ y $0,43$ frente a $0,67$, respectivamente). Además, la GFR no predijo la tensión, la rata de tensión, la RVSP o ningún marcador de la función diastólica del RV.

Ejemplo 2: Comparación de la Gal-3 con marcadores estándar para el diagnóstico y monitoreo de la hipertensión arterial pulmonar

- 15 Usando un estudio prospectivo, quince sujetos con hipertensión arterial pulmonar (PAH) probada con cateterismo cardíaco derecho y diez controles pareados por edad se sometieron a ecocardiografía, MRI cardíaco (CMR) y flebotomía para la Galectina-3 (Gal 3) y creatinina, en el mismo día. La resonancia magnética cardíaca (CMR) se utilizó para calcular la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (LVEF), la fracción de eyección del ventrículo derecho (RVEF), el volumen sistólico final del ventrículo derecho (RVESV) y la masa del ventrículo derecho. La ecocardiografía se utilizó para estimar la presión sistólica del ventrículo derecho (RVSP), así como para evaluar la función diastólica del ventrículo derecho utilizando la velocidad de la válvula tricúspide (TV) e' y E/e'.

- 20 Todos los sujetos con hipertensión arterial pulmonar (PAH) fueron idiopáticos ($N = 12$) o asociados con enfermedades del tejido conectivo ($N = 3$). No hubo diferencias significativas en edad, género, índice de masa corporal, rata de filtración glomerular estimada o LVEF entre los controles y los sujetos con PAH. La RVSP en los sujetos con PAH fue significativamente elevada frente a los controles (58 ± 17 mmHg frente a 26 ± 8 mmHg, $p < 0,01$). Los niveles de Gal-3 se elevaron significativamente en el grupo de PAH en comparación con los controles (18 ± 5 frente a 11 ± 2 , $p < 0,01$). Los niveles de Gal-3 se correlacionaron positivamente con RVSP ($r = 0,53$, $p < 0,01$), RVESV ($r = 0,41$, $p < 0,04$), masa del RV ($r = 0,47$, $p < 0,01$) y TV E/e' ($r = 0,65$, $p < 0,01$). La Gal-3 se correlacionó negativamente con RVEF ($r = -0,41$, $p = 0,04$) y TV e' ($r = -0,61$, $p < 0,01$).

- 30 Este estudio proporciona evidencia de que los niveles de Gal-3 son predictivos de la presión pulmonar, la función sistólica del ventrículo derecho, la función diastólica y la morfología, independientes de la función sistólica del ventrículo izquierdo y que la Gal-3 proporciona un nuevo biomarcador para el diagnóstico y monitoreo de la hipertensión arterial pulmonar.

Discusión:

- 35 En el estudio prospectivo de CysC, catorce sujetos con hipertensión arterial pulmonar confirmada con cateterismo cardíaco derecho y diez controles sanos se sometieron a evaluaciones exhaustivas en el mismo día que incluyeron

imágenes de resonancia magnética cardíaca (CMR), ecocardiografía y extracción de sangre con el fin de evaluar la CysC como un biomarcador viable en la hipertensión arterial pulmonar. El nivel observado de la CysC, comúnmente considerado como un marcador sensible de la función renal, está anormalmente elevado en los sujetos con hipertensión arterial pulmonar en comparación con los controles y el grado de disfunción ventricular derecha sistólica y diastólica, así como la presión sistólica del ventrículo derecho (RVSP), se encontró que todos estaban significativamente correlacionados con los niveles de CysC, lo que apoya la utilidad de la CysC como biomarcador de la hipertensión arterial pulmonar (PAH).

Con base en la fuerza de las asociaciones con métricas que se sabe que poseen valor de pronóstico en la PAH, la CysC se desempeñó de manera similar a los dos biomarcadores de la PAH establecidos, la BNP y NT-ProBNP. A diferencia de la BNP y NT-ProBNP, la CysC tiene la ventaja de ser independiente de la edad, el género y la masa muscular para determinar la función renal, lo que la hace un biomarcador de la PAH potencialmente más atractivo que el BNP y el NT-ProBNP; ambos varían dependiendo de un número de parámetros no relacionados con la PAH. Aunque los niveles de CysC están elevados en la insuficiencia cardíaca izquierda, la población del presente estudio estaba libre de factores de confusión significativos, incluida la enfermedad cardíaca izquierda, incluida la disfunción sistólica del ventrículo izquierdo, isquemia o la enfermedad valvular; por lo tanto, se puede estar muy seguro de que los niveles elevados de CysC que se observaron se debieron a la hipertensión arterial pulmonar.

La insuficiencia renal predice la insuficiencia cardíaca derecha en la hipertensión arterial pulmonar. Debido a que la CysC es un indicador sensible de la filtración renal, los niveles elevados de CysC observados podrían simplemente reflejar disminuciones en la función renal. Sin embargo, la falta de una diferencia en la tasa de filtración glomerular (GFR) entre los sujetos con hipertensión arterial pulmonar y los controles, frente a una diferencia significativa entre los grupos en los niveles de CysC, niega esto como una posibilidad. Además, la GFR se correlacionó solo con la fracción de eyección del ventrículo derecho (RVEF) y el índice de masa del ventrículo derecho, pero la CysC se correlacionó con varios marcadores del ventrículo derecho, lo que demuestra nuevamente que la CysC es un marcador más específico de remodelación miocárdica que la disfunción renal. Esta noción se apoya en el hecho de que los niveles séricos de CysC se asocian independientemente con los índices de hipertrofia ventricular izquierda, incluida la masa, la concetricidad y el grosor de la pared, según lo medido por CMR. Además, se sabe que la CysC inhibe la actividad elastolítica en extractos de miocardio de ratas hipertensas, lo que indica un papel en la deposición de matriz extracelular.

Estos resultados demuestran la utilidad de la CysC como un biomarcador para la hipertensión arterial pulmonar. Los sujetos tenían una gravedad intermedia de la enfermedad: todos eran clase funcional III de la Asociación Cardíaca de Nueva York (NYHA) y tenían elevaciones moderadas en el BNP, NT-ProBNP y presión sistólica del ventrículo derecho (RVSP) con función sistólica del ventrículo derecho moderadamente disminuida. Estos hallazgos también pueden aplicarse al resto del espectro de la enfermedad de hipertensión arterial pulmonar. El presente estudio no abordó esta posibilidad debido al hecho de que la población de este tenía una función renal relativamente preservada.

El uso de la RVSP derivada del eco como un sustituto de la hemodinámica pulmonar invasiva introduce el potencial de una sobre o subestimación significativa de la presión sistólica de la arteria pulmonar (PASP). Debido a que el ventrículo derecho es una cámara altamente dependiente de la carga, las correlaciones entre los datos de imágenes del ventrículo derecho y el biomarcador están sujetos a una posible mala interpretación por las condiciones de carga variables. Sin embargo, en el estudio reportado aquí, la adquisición de imágenes y biomarcadores se realizó de forma consecutiva el mismo día para minimizar el potencial de sesgo significativo.

El presente estudio se ve reforzado por su diseño prospectivo y su metodología de imágenes multimodales. Para las imágenes del ventrículo derecho, el MRI cardíaco, se utilizó el estándar de oro actual para la evaluación del corazón derecho. Además de emplear métricas de imagen ventricular derecha convencionales (incluido el tamaño del ventrículo derecho y la función sistólica), se evaluaron marcadores nuevos, fácilmente adquiridos y potencialmente relevantes desde el punto de vista clínico, incluido la tensión ventricular derecha y la función diastólica, lo que refuerza aún más la relevancia de los hallazgos reportados anteriormente.

Referencias

1. Benza RL, Miller DP, Gomberg-Maitland M, et al. Predicting survival in pulmonary arterial hypertension: insights from the Registry to Evaluate Early and Long-Term Pulmonary Arterial Hypertension Disease Management (REVEAL). *Circulation* 2010; 122:164-72.
2. Chin KM, Kim NH, Rubin LJ. The right ventricle in pulmonary hypertension. *Coron Artery Dis* 2005; 16: 13-18.
3. Leuchte HH, Holzapfel M, Baumgartner RA, Ding I, Neurohr C, Vogeser M, Kolbe T, Schwaiblmair M, Behr J. Clinical significance of brain natriuretic peptide in primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:764-770.
4. Batal O, Faulx M, Krasuski RA, Khatib OF, Hammel JP, Hussein AA, Minai OA, Dweik RA. Effect of obesity on B-type natriuretic peptide levels in patients with pulmonary arterial hypertension. *Am J Cardiol*. 2012; 110:909-14.

5. Rivera M, Cortés R, Salvador A, Bertomeu V, de Burgos FG, Payá R, Portolés M, Taléns-Visconti R, Martínez-Dolz L, Valero R, Sevilla B, Climent V. Obese subjects with heart failure have lower N-terminal pro brain natriuretic peptide plasma levels irrespective of aetiology. *Eur J Heart Fail.* 2005;7: 1168-70.
- 5 6. Mehra M R, Uber P A, Park M H et al. Obesity and suppressed B-type natriuretic peptide levels in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1590-1595.
7. Raymond I, Groenning BA, Hildebrandt PR, Nilsson JC, Bauman M, Trawinski J, Pedersen F. The influence of age, sex and other variables on the plasma level of N-terminal pro BNP in a large sample of the general population. *Heart* 2003;89:745-751.
- 10 8. Redfield M M, Rodeheffer R J, Jacobsen S J et al. Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 976-982.
9. Wang T J, Larson M G, Levy D et al. Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *Am J Cardiol* 2002; 90: 254-258.
10. Fliser D, Ritz E. Serum cystatin C concentration as a marker of renal dysfunction in the elderly. *Am J Kidney Dis.* 2001;37:79-83.
- 15 11. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: A meta analysis. *American Journal of Kidney Diseases* 2002, 221-226.
12. Shlipak MG, Katz R, Fried LF, Jenny NS, Stehman-Breen CO, Newman AB, Siscovick D, Psaty BM, Sarnak MJ. Cystatin-C and mortality in elderly persons with heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45:268-271.
- 20 13. Ix JH, Shlipak MG, Chertow GM, Whooley MA. Association of cystatin C with mortality, cardiovascular events, and incident heart failure among persons with coronary heart disease: data from the Heart and Soul Study. *Circulation.* 2007;115:173-179.
14. Lassus J, Harjola VP, Sund R, Siirila-Waris K, Melin J, Peuhkurinen K, Pulkki K, Nieminen MS. Prognostic value of cystatin C in acute heart failure in relation to other markers of renal function and NT-proBNP. *Eur Heart J.* 2007;28:1841-1847.
- 25 15. Pérez-Calvo JI, Ruiz-Ruiz FJ, Carrasco-Sánchez FJ, Morales-Rull JL, Manzano-Fernández S, Galisteo-Almeda L, Pascual-Figal D. Prognostic value of serum cystatin C and N-terminal pro b-type natriuretic peptide in patients with acute heart failure. *Eur J Intern Med.* 2012 (7):599-603.
16. Coll E, Botey A, Alvarez L et al. Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. *Am J Kidney Dis* 2000; 36: 29-34.
- 30 17. Tang WH, Van Lente F, Shrestha K, Troughton RG, Francis GS, Tong W, Martin MG, Borowski AG, Jasper S, Starling RC, Klein AL. Impact of Myocardial Function on Cystatin C Measurements in Chronic Systolic Heart Failure. *Journal of Cardiac Failure* 2008, 14: 394-399.
18. Eysmann SB, Palevsky HI, Reichel N, Hackney K, Douglas PS. Two dimensional and Doppler-echocardiographic and cardiac catheterization correlates of survival in primary pulmonary hypertension. *Circulation* 1989;80:353-60.
- 35 19. D'Alonzo GE, Barst RJ, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, Fishman AP, Goldring RM, Groves BM, Kernis JT, et al. Survival in patients with primary pulmonary hypertension. Results from a national prospective registry. *Annals of Internal Medicine.* 1991 (5):343-9.
20. McLaughlin VV, Presberg KW, Doyle RL, Abman SH, McCrory DC, Fortin T, Ahearn G; American College of Chest Physicians. Prognosis of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 40 2004 (126):78S-92S.
21. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, Solomon SD, Louie EK, Schiller NB. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography endorsed by the Eur. Assoc Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *Am Soc Echocardiogr.* 2010: 685-713.
- 45 22. van Wolferen SA, Marcus JT, Boonstra A, Marques KM, Bronzwaer JG, Spreeuwenberg MD, Postmus PE, Vonk-Noordegraaf A. Prognostic value of right ventricular mass, volume, and function in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J.* 2007 May; 28 (10):1250-7.
- 50 23. Utsunomiya H, Nakatani S, Nishihira M, Kanzaki H, Kyotani S, Nakanishi N, Kihara Y, Kitakaze M. Value of estimated right ventricular filling pressure in predicting cardiac events in chronic pulmonary arterial hypertension. *J Am Soc Echocardiogr.* 2009 (12):1368-74.

24. Hardegree EL, Sachdev A, Villarraga HR, Frantz RP, McGoon MD, Kushwaha SS, Hsiao JF, McCully RB, Oh JK, Pellikka PA, Kane GC. Role of serial quantitative assessment of right ventricular function by strain in pulmonary arterial hypertension. *Am J Cardiol.* 2013 (1):143-8.
- 5 25. McLaughlin VV, Archer SL, Badesch DB, Barst RJ, Farber HW, Lindner JR, Mathier MA, McGoon MD, Park MH, Rosenson RS, Rubin LJ, Tapson VF, Varga J, Harrington RA, Anderson JL, Bates ER, Bridges CR, Eisenberg MJ, Ferrari VA, Grines CL, Hlatky MA, Jacobs AK, Kaul S, Lichtenberg RC, Lindner JR, Moliterno DJ, Mukherjee D, Pohost GM, Rosenson RS, Schofield RS, Shubrooks SJ, Stein JH, Tracy CM, Weitz HH, Wesley DJ; ACCF/AHA.ACCF/AHA 2009 expert consensus document on pulmonary hypertension: a report of the Amer ColL. *Cardiol. Foundn Task Force on Expert Consensus Documents and the Amer Heart Assoc: developed in collaboration with the American College of*
10 *Chest Physicians, American Thoracic Society, Inc., and the Pulmonary Hypertension Association. Circulation.* 2009. 119:2250-94.
- 15 26. J Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, Solomon SD, Louie EK, Schiller NB. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the Amer Soc Echocardiography endorsed by the Eur Assoc of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *Am Soc Echocardiogr.* 2010:685-713.
27. Yock PG, Popp RL. Noninvasive estimation of right ventricular systolic pressure by Doppler ultrasound in patients with tricuspid regurgitation. *Circulation.* 1984;70:657-62.
28. Bahar Pirat, Marti L. McCulloch, William A. Zoghbi, Methodist DeBakey Heart Center Evaluation of Global and Regional Right Ventricular Systolic Function in Patients with Pulmonary Hypertension Using a Novel Speckle Tracking Method. *Am J of Card* 2006, 98: 699-704.
20
29. Lorenz CH, Walker ES, Morgan VL, Klein SS, Graham TP Jr.: Normal human right and left ventricular mass, systolic function, and gender differences by cine magnetic resonance imaging. *J Cardiovasc Magn Reson* 1999, 1:7-21.
30. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, Kusek JW, Van Lente F: Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2006, 145:247-254.
25
31. Mielniczuk LM, Chandy G, Stewart D, Contreras-Dominguez V, Haddad H, Pugliese C, Davies RA. Worsening renal function and prognosis in pulmonary hypertension patients hospitalized for right heart failure. *Congest Heart Fail.* 2012, 18:151-7.
32. Patel PC, Ayers CR, Murphy SA. Association of Cystatin C with left ventricular structure and function: the Dallas Heart Study. *Circ Heart Fail* 2009;2:98-104.
30
33. Cheng XW, Obata K, Kuzuya M, Izawa H, Nakamura K, Asai E, Nagasaka T, Saka M, Kimata T, Noda A, Nagata K, Jin H, Shi GP, Iguchi A, Murohara T, Yokota M. Elastolytic cathepsin induction/activation system exists in myocardium and is upregulated in hypertensive heart failure. *Hypertension.* 2006 (5):979-87.
34. Fisher MR, Forfia PR, Chamara E, Houston-Harris T, Champion HC, Girgis RE, Corretti MC, Hassoun PM. Accuracy of Doppler echocardiography in the hemodynamic assessment of pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179:615-621.
35

REIVINDICACIONES

1. Un método para identificar un candidato para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar, que comprende:
proporcionar una muestra de un fluido biológico de un sujeto;
determinar la concentración de CysC y/o Gal-3 en la muestra;
- 5 comparar la concentración de CysC y/o Gal-3 en la muestra con un intervalo normal de concentración de CysC y/o concentración de Gal-3, respectivamente;
y determinar que la concentración de CysC y/o Gal-3 está por encima del intervalo normal de concentración de CysC y/o Gal-3, respectivamente, y de ese modo identificar al sujeto como un candidato para el tratamiento de hipertensión arterial pulmonar.
- 10 2. El método de la reivindicación 1, en donde el sujeto padece uno o más síntomas seleccionados de dolor en el pecho, falta de aire, fluido en los pulmones y mareos.
3. El método de la reivindicación 1, en donde el fluido biológico del sujeto comprende sangre, plasma o suero.
4. El método de la reivindicación 1, en donde la concentración de CysC en la muestra se determina formando un complejo de CysC en la muestra con un agente de enlace a CysC y determinando la concentración del complejo.
- 15 5. El método de la reivindicación 1, en donde la concentración de Gal-3 en la muestra se determina formando un complejo de Gal-3 en la muestra con un agente de enlace a Gal-3 y determinando la concentración del complejo.
6. El método de la reivindicación 1, en donde la concentración por encima del intervalo normal de concentración de CysC o Gal-3 en la muestra es indicativa de que el sujeto probablemente sufre de hipertensión arterial pulmonar.
- 20 7. El método de la reivindicación 1, en donde la concentración de CysC y Gal-3 en la muestra están por encima del intervalo de concentración normal.
8. El método de la reivindicación 1, en donde
 - a) la concentración de CysC en la muestra es superior a 0,83 mg/L, o
 - b) en donde la concentración de Gal-3 en la muestra es superior a 13 mg/L, o
 - c) en donde tanto la concentración de CysC en la muestra es superior a 0,83 mg/L como la concentración de Gal-3 en la muestra es superior a 13 mg/L
- 25 y opcionalmente en el caso de c) que comprende además usar una terapia para tratar la hipertensión arterial pulmonar del sujeto.
9. Un método para monitorizar la hipertensión arterial pulmonar en un sujeto, el método que comprende:
proporcionar dos o más muestras de un fluido biológico de un sujeto en diferentes momentos;
- 30 determinar la concentración de CysC en las muestras;
comparar la concentración de CysC determinada en al menos dos de las muestras; y
de esta forma monitorizar la hipertensión arterial pulmonar.
10. El método de la reivindicación 9, que comprende además
determinar la concentración de Gal-3 en las muestras;
- 35 comparar la concentración de Gal-3 determinada en al menos dos de las muestras; y
de esta forma monitorizar la hipertensión arterial pulmonar.
11. El método de la reivindicación 9, en donde las dos o más muestras son de momentos durante un tratamiento terapéutico para la hipertensión arterial pulmonar.
- 40 12. El método de la reivindicación 10, en donde las dos o más muestras son de momentos durante un tratamiento terapéutico para la hipertensión arterial pulmonar.
13. Un método para identificar a un sujeto en riesgo de desarrollar un tratamiento de hipertensión arterial pulmonar, comprendiendo el método:

proporcionar una muestra de un fluido biológico de un sujeto;

determinar la concentración de CysC y/o Gal-3 en la muestra;

comparar la concentración de CysC y/o Gal-3 en la muestra con un intervalo normal de concentración de CysC y/o concentración de Gal-3, respectivamente;

- 5 y determinar que la concentración de CysC y/o Gal-3 está por encima del intervalo normal de concentración de CysC y/o Gal-3, respectivamente, y de ese modo identificar al sujeto como en riesgo de desarrollar hipertensión arterial pulmonar.

FIG. 1

