

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 457 529**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.10.2008 E 08805165 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2014 EP 2201383**

54 Título: **Medios y métodos para controlar el infarto de miocardio y su tratamiento**

30 Prioridad:

**10.10.2007 EP 07118218**

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

**28.04.2014**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**HESS, GEORG;  
HORSCH, ANDREA y  
ZDUNEK, DIETMAR**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 457 529 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

Medios y métodos para controlar el infarto de miocardio y su tratamiento

5 La presente invención se refiere a métodos y dispositivos para diagnóstico médico. Específicamente, se refiere a un método para evaluar (diagnosticar) la medicación que se va a aplicar cuando se inicia la remodelación en un sujeto después de un infarto de miocardio. Además, la invención se refiere al control del avance de la remodelación bajo la administración de una medicación dada. El método se basa en la determinación del nivel de varios péptidos entre el grupo de péptidos natriuréticos, osteopontina, GDF-15, CRP y una troponina cardiaca, en particular la troponina T, en un líquido corporal del individuo que ha padecido un infarto de miocardio, y en el control del nivel del péptido respectivo. Una decisión sobre la adaptación de la medicación se puede basar en los datos recogidos. Además, la presente invención se refiere a un dispositivo de diagnóstico y un kit para realizar el método que se ha mencionado anteriormente.

15 Un objetivo de la medicina moderna es proporcionar regímenes de tratamiento personalizados o individualizados. Son regímenes de tratamiento que tienen en cuenta las necesidades o riesgos individuales de un paciente. Incluso los regímenes de tratamiento personalizado o individual se deberán tener en cuenta para medidas de emergencia cuando sea necesario decidir sobre regímenes de tratamiento potenciales dentro de periodos de tiempo cortos. Las enfermedades cardiacas son la causa principal de morbilidad y mortalidad en el hemisferio occidental. Las enfermedades mencionadas pueden permanecer asintomáticas durante largos periodos de tiempo. Sin embargo, éstas pueden tener graves consecuencias una vez que se produce un suceso cardiovascular agudo, tal como infarto de miocardio, como una causa de la enfermedad cardiovascular.

25 La insuficiencia cardiaca es una afección que puede resultar de cualquier trastorno cardiaco estructural o funcional que altere la capacidad del corazón para rellenarse con o bombear una cantidad suficiente de sangre por todo el cuerpo. Incluso con la mejor terapia, la insuficiencia cardiaca está asociada con una mortalidad anual de aproximadamente un 10 %. La insuficiencia cardiaca es una enfermedad crónica; ésta se puede producir, entre otras cosas, después de un suceso cardiovascular agudo (como infarto de miocardio), o se puede producir, por ejemplo, como consecuencia de cambios inflamatorios o degenerativos en el tejido del miocardio. Los pacientes con insuficiencia cardiaca se clasifican en las clases I, II, III y IV de acuerdo con el sistema NYHA. Un paciente que padece insuficiencia cardiaca no será capaz de restablecer totalmente su salud sin recibir un tratamiento terapéutico.

35 La disfunción miocárdica es un término general, que describe varios estados patológicos del músculo cardiaco (miocardio). Una disfunción miocárdica puede ser un estado patológico temporal (causado, por ejemplo, por isquemia, sustancias tóxicas, alcohol, etc.), al contrario que la insuficiencia cardiaca. La disfunción miocárdica puede desaparecer después de eliminar la causa subyacente. Sin embargo, una disfunción miocárdica asintomática también se puede transformar en una insuficiencia cardiaca (que se tiene que tratar con una terapia). Una disfunción miocárdica, sin embargo, también puede ser una insuficiencia cardiaca, una insuficiencia cardiaca crónica, incluso una insuficiencia cardiaca crónica grave.

40 La disfunción miocárdica y la insuficiencia cardiaca a menudo permanecen sin diagnosticar, en particular cuando la afección se considera "leve". Las técnicas de diagnóstico convencionales para la insuficiencia cardiaca se basan en el marcador NT-proBNP de tensión de volumen vascular, bien conocido. Sin embargo, el diagnóstico de insuficiencia cardiaca en algunas circunstancias médicas en base a NT-proBNP parece ser incorrecto para un número significativo de pacientes, pero no para todos (por ejemplo, Beck 2004, Canadian Journal of Cardiology 20: 1245-1248; Tsuchida 2004, Journal of Cardiology, 44: 1-11). Sin embargo, especialmente los pacientes que padecen insuficiencia cardiaca necesitarían urgentemente una terapia de soporte para la insuficiencia cardiaca. Por otro lado, como consecuencia de un diagnóstico incorrecto de insuficiencia cardiaca, muchos pacientes recibirán un régimen de tratamiento que es insuficiente o que incluso puede tener efectos secundarios adversos

50 Los pacientes que padecen insuficiencia cardiaca también pueden desarrollar un trastorno cardiaco agudo, en general un síndrome coronario agudo (SCA). El SCA abarca los estados de angina de pecho inestable API e infarto de miocardio agudo IM.

55 El IM se clasifica como perteneciente a las enfermedades cardiacas coronarias ECC y va precedido por otros sucesos que también se clasifican como pertenecientes a ECC, como angina de pecho inestable API. La sintomatología de la API es dolor de pecho que se alivia mediante administración sublingual de nitroglicerina. La API está causada por una oclusión parcial de los vasos coronarios que conduce a hipoxemia e isquemia del miocardio. En caso de que la oclusión sea demasiado grave o total, aparece una necrosis en el miocardio (que es el estado patológico que subyace al infarto de miocardio). El IM se puede producir sin síntomas evidentes, es decir, el sujeto no muestra molestia alguna, y el IM no va precedido de angina de pecho estable o inestable.

65 La API, sin embargo, es un suceso sintomático que precede al IM. La ECC en un sujeto también se puede producir sin síntomas, es decir, el sujeto puede no sentirse incómodo ni mostrar ningún signo de ECC como falta de respiración, dolor de pecho u otros conocidos por el experto en la materia. El sujeto, sin embargo, puede ser patológico y padecer una disfunción de sus vasos coronarios, lo que puede dar como resultado un IM y/o

insuficiencia cardiaca congestiva ICC, lo que significa que el corazón no tiene la capacidad de funcionar como es necesario para asegurar la provisión necesaria de sangre al organismo del sujeto. Ésto puede dar como resultado complicaciones graves, un ejemplo de las cuales es la muerte cardiaca.

5 Los pacientes que padecen síntomas de un suceso cardiovascular agudo (por ejemplo, infarto de miocardio), tales como dolor en el pecho, en la actualidad están sometidos a un diagnóstico de troponina cardiaca, generalmente basado en Troponina T. Con esta finalidad, se determinan los niveles de Troponina T de los pacientes. Si la cantidad de Troponina T en la sangre es elevada, es decir, superior a 0,1 ng/ml, se asume un suceso cardiovascular agudo y el paciente se trata en consecuencia.

10 El infarto de miocardio IM se define como una necrosis del miocardio de diversa extensión y localización diferente. La terapia para el IM tiene como objetivo el restablecimiento de la perfusión, en particular con métodos invasivos y terapia antiplaquetaria. A partir de ese momento, se inicia una remodelación, que va acompañada de la administración de diversos fármacos, de acuerdo con criterios clínicos. Entre estos fármacos, se pueden usar antagonistas de ACE, antagonistas de receptores de la angiotensina, diuréticos de diversos modos de acción, antagonistas de Ca y agentes digitálicos.

15 Wollert et al. (Circulation. 2007. vol. 115 (8): 962-971) desvelan GDF-15 como un biomarcador para síndromes coronarios agudos sin elevación de ST causados por isquemia aguda e infarto junto con marcadores adicionales tales como NT-proBNP, CRP y troponina.

20 Kusuyama (Journal of Pharmacological Sciences, vol. 98 (3): 283-289) desvela los efectos de un inhibidor de ACE sobre la función cardiaca y la expresión de osteopontina cardiaca asociada con remodelación cardiaca en ratas miocárdicas. El bloqueo de angiotensina inhibe de expresión de osteopontina en el miocardio sin infarto y evita la remodelación cardiaca después del IM.

25 Suezawa et al. (Journal of Laboratory and Clinical Medicine, vol. 145 (1): 33-40) desvelan que la osteopontina desempeña un papel en la curación de tejido en remodelación después del infarto de miocardio. Los niveles en plasma de osteopontina y proteína C-reactiva se han medido en suero de pacientes durante la terapia.

30 Greenberg et al. (American Journal of Cardiology, vol. 97(10): 34-40) enseñan que se debe tener en cuenta el efecto de agentes actuales y futuros sobre mediadores patofisiológicos que se sabe que están asociados con la insuficiencia cardiaca, remodelación cardiaca y disfunción endotelial, que incluyen determinadas hormonas cardiorrenales, aldosterona, péptidos natriuréticos y marcadores inflamatorios tales como osteopontina y proteína C-reactiva.

35 En el proceso de remodelación, es un estado de la técnica medir el nivel de péptidos natriuréticos, en particular BNP o NT-proBNP. Sin embargo, la información obtenida sobre el diagnóstico es limitada. Además, no es posible un control eficaz de la terapia en la remodelación.

40 El problema técnico que subyace en la presente invención se puede observar como la provisión de medios y métodos para cumplir con las necesidades que se han mencionado anteriormente. El problema técnico se resuelve con las realizaciones caracterizadas con la materia objetivo de las reivindicaciones 1 a 3.

45 En consecuencia, la presente invención se refiere a un método para diagnosticar el tratamiento o combinación de tratamientos que se va a aplicar en el proceso de remodelación de un sujeto humano después de un infarto de miocardio, comprendiendo dicho método

50 a) determinar en un momento dado, que está comprendido entre 1 y 3 días después del suceso agudo, la cantidad de un péptido natriurético, una troponina cardiaca y al menos un marcador inflamatorio en una muestra de dicho sujeto humano;

55 b) decidir sobre la continuación, modificación o terminación de la administración del medicamento para iniciar una remodelación en el sujeto humano, en el que la medicación a aplicar en la remodelación se selecciona de acuerdo con el nivel de los péptidos determinados en a);

i) en el que el péptido natriurético es NT-proBNP, y en el que un nivel de NT-proBNP  $\geq$  300 pg/ml es indicativo de la administración de la siguiente medicación: agentes que realizan una función cardiaca, en el que

60 ii) el marcador inflamatorio es GDF-15, y en el que un nivel de GDF-15  $\geq$  800 pg/ml es indicativo de la administración de la siguiente medicación:

65 inhibidores de ACE, antagonistas de receptores de angiotensina; estatinas; AINES; inhibidores selectivos de COX-2 o en el que el marcador inflamatorio es proteína C-reactiva (CRP) y en el que un nivel de CRP  $\geq$  3 pg/ml es indicativo de la administración de la siguiente medicación: estatinas, o en el que el marcador inflamatorio es osteopontina, y en el que un nivel de osteopontina  $\geq$  500 pg/ml es indicativo de la

administración de la siguiente medicación: inhibidores de ACE, antagonistas de receptores de angiotensina, antagonistas de aldosterona, y en el que

5 iii) la Troponina cardiaca es Troponina T y en el que se aplica una intervención percutánea si el nivel de Troponina T no desciende a valores de un 80 % o inferiores del nivel medido después del suceso.

Además, se desvela un método para diagnosticar el tratamiento o combinación de tratamientos que se va a aplicar en el proceso de remodelación de un sujeto después de un infarto de miocardio, comprendiendo dicho método

10 a) determinar la cantidad de un péptido natriurético, una troponina cardiaca y al menos un marcador inflamatorio, en una muestra de dicho sujeto;  
b) iniciar una remodelación en el sujeto, en el que la medicación a aplicar en la remodelación se selecciona de acuerdo con el nivel de los péptidos determinados en a).

15 Además, la presente invención se refiere a un método para controlar la remodelación en un sujeto después de un infarto de miocardio, en el que se ayuda a la remodelación mediante tratamiento o una combinación de tratamientos, comprendiendo dicho método realizar las etapas a) y b) tal como se ha mencionado anteriormente; y las etapas adicionales de

20 c) determinar de nuevo la cantidad de un péptido natriurético, una troponina cardiaca y al menos un marcador inflamatorio, en una muestra de dicho sujeto;  
d) calcular la diferencia entre los valores procedentes de la primera y la segunda medición;  
e) evaluar, a partir de los datos obtenidos en c) y d), si la remodelación es satisfactoria,

25 en el que el marcador inflamatorio es osteopontina y una disminución  $\geq 40$  % indica que la administración del fármaco se puede reducir, en el que el marcador inflamatorio es GDF-15 y una disminución  $\geq 20$  % indica que la administración del fármaco se puede reducir, o en el que el marcador es CRP y una disminución a un nivel de 33 pg/ml de CRP indica que la administración del fármaco respectivo se puede reducir.

30 En una realización preferente, los péptidos medidos en la etapa c) del método de control son los mismos que los medidos en la etapa a) del método de diagnóstico.

El método puede comprender adicionalmente la etapa opcional f) de decidir sobre la adaptación del tratamiento o medicación dependiendo de los resultados obtenidos en las etapas a) a e).

35 Los expertos en la materia conocen marcadores inflamatorios apropiados que se prestan a sí mismos para el método de la presente invención. Los marcadores preferentes incluyen osteopontina, GDF-15 y CRP.

40 El método de la presente invención es, preferentemente, un método in vitro. Además, puede comprender etapas además de las que se han mencionado anteriormente de forma explícita. Por ejemplo, las etapas adicionales se pueden referir a tratamientos previos o evaluación en muestras de los resultados obtenidos con el método. El método de la presente invención también se puede usar para control, confirmación, y subclasificación de un sujeto. El método se puede realizar manualmente o asistido de forma automatizada. Preferentemente, la etapa (a) y/o (b) y/o (c) y/o (d) y/o (e) y/o (f) pueden estar asistidas totalmente o en parte con automatización, por ejemplo, con un equipo robótico y sensorial adecuado para la determinación en las etapas (a) y/o (b) y/o (c) y/o (e) y/o (f) o una comparación puesta en práctica de forma informatizada en la etapa (d).

45 En una realización preferente del método para diagnosticar la medicación que se va a aplicar en el proceso de remodelación de la presente invención, los niveles de los péptidos se miden en un punto temporal que se encuentra comprendido entre 1 y 3 días después de que se haya producido el suceso agudo, preferentemente entre 1 y 2 días.

50 En una realización preferente para controlar la remodelación en un sujeto después de un infarto de miocardio, donde la remodelación está apoyada con medicación de la presente invención, los niveles de los péptidos se miden (controlan) durante un periodo de tiempo de varios meses, dependiendo del estado patológico del paciente, y en intervalos que también dependerán del estado del paciente. Comenzando en la fecha de la primera medición de los péptidos, los niveles de los péptidos se deberían medir después de 2 a 3 días; a continuación después de 1, 2, 3 y 4 semanas; y a continuación hasta 3 meses, en intervalos de 2 a 4 semanas. A partir de ese momento, hasta 6 meses, el nivel de los péptidos se debería determinar cada mes, y posteriormente cada 3 a 6 meses. En general, se puede decir que los péptidos cuyo nivel no muestra alteraciones rápidas (como GDF-15 u osteopontina) se pueden determinar en intervalos mayores que los péptidos cuyo nivel está sometido a alteraciones más rápidas (como Troponina T/I, NT-proBNP y CRP).

55 El término "diagnosticar", tal como se usa en el presente documento, significa evaluar si un determinado tratamiento o una combinación de tratamientos se debería aplicar a un sujeto que ha sufrido un infarto de miocardio IM, en el proceso de remodelación que sigue al IM. El tratamiento puede comprender intervención, por ejemplo, cirugía, y/o medicación, es decir, administración de uno o más fármacos, o cualquier combinación de los mismos (por ejemplo,

más de una intervención o medicación o una combinación de medicación e intervención). El tratamiento se selecciona a partir de los siguientes:

5 A)  
agentes que realizan una función cardíaca, preferentemente: beta bloqueantes tales como proprenolol, metoprolol, bisoprolol, carvedilol, bucindolol, nebivolol; nitratos; agonistas adrenérgicos, tales como dobutamina, dopamina, epinefrina, isoprotenerol, norepinefrina, fenilepinefrina; agentes inotrópicos positivos, tales como digoxina, digitoxina; diuréticos, en particular diuréticos de asa, tiazida y diuréticos de tipo tiazida, dietéticos de moderación de K, antagonistas de receptores de mineralocorticoides de tipo I, inhibidores de la anhidrasa carbónica, antagonistas de vasopresión.

10 La información sobre si estos agentes se deberían administrar después de un IM se proporciona por el nivel de péptido natriurético medido. Son péptidos natriuréticos adecuados BNP, NT-proBNP, ANP, NT-proANP; preferentemente BNP o NT-proBNP, en particular NT-proBNP.

15 Cuando se alcanza un nivel de péptido natriurético de, en el caso de NT-proBNP,  $\geq 300$  pg/ml, preferentemente  $\geq 500$  pg/ml, más preferentemente  $\geq 800$  pg/ml, aún más preferentemente  $\geq 2000$  pg/ml, se deberían administrar uno o más de los fármacos que se han mencionado anteriormente.

20 B)  
fármacos antiinflamatorios, preferentemente: inhibidores de ACE, en particular Enalapril, Captopril, Ramipril, Trandolapril; antagonistas de receptores de angiotensina, en particular Losartán, Valsartán, Irbesartán, Candesartán, Telmisartán, Eprosartán; estatinas, en particular Atorvastatina, Fluvastatina, Lovastatina, Pravastatina, Rosuvastatina, Simvastatina; AINES; inhibidores selectivos de COX-2.

La información sobre si estos agentes se deberían administrar después de un IM se proporciona por el nivel de GDF-15 que es indicativo de procesos inflamatorios.

25 Cuando se alcanza un nivel de GDF-15 de  $\geq 800$  pg/ml, preferentemente  $\geq 1200$  pg/ml, más preferentemente  $\geq 1500$  pg/ml, en particular  $\geq 2000$  pg/ml, se debería administrar uno o más de los fármacos que se han mencionado anteriormente.

30 C)  
fármacos antiinflamatorios, preferentemente: inhibidores de ACE, en particular Enalapril, Captopril, Ramipril, Trandolapril; antagonistas de receptores de angiotensina, en particular Losartán, Valsartán, Irbesartán, Candesartán, Telmisartán, Eprosartán; antagonistas de aldosterona.

La información sobre si estos agentes se deberían administrar después de un IM se proporciona con el nivel de osteopontina que es indicativo de procesos antiinflamatorios.

35 Cuando se alcanza un nivel de osteopontina de  $\geq 500$  pg/ml, preferentemente  $\geq 800$  pg/ml, más preferentemente  $\geq 1200$  pg/ml, en particular  $\geq 1500$  pg/ml, se debería administrar uno o más de los fármacos que se han mencionado anteriormente.

40 D)  
fármacos antiinflamatorios, preferentemente: estatinas, en particular Atorvastatina, Fluvastatina, Lovastatina, Pravastatina, Rosuvastatina, Simvastatina.

La información sobre si estos agentes se deberían administrar después de un IM se proporciona por el nivel de CRP que es indicativo de procesos antiinflamatorios.

45 Cuando se alcanza un nivel de CRP de  $\geq 3$  pg/ml, preferentemente  $\geq 5$  pg/ml, más preferentemente  $\geq 10$  pg/ml, en particular  $\geq 20$  pg/ml, se debería administrar uno o más de los fármacos que se han mencionado anteriormente.

50 E)  
En general, la Troponina I y/o T, en particular la Troponina T, es indicativa de la existencia de necrosis del miocardio y de la extensión de la necrosis; en caso de que no se observe disminución en el nivel de Troponina T/I, entonces este péptido indica insuficiencia cardíaca y/o estenosis vascular que se pueden tratar mediante intervención coronaria percutánea.

La información sobre si estos agentes se deberían administrar después de un IM se proporciona por el nivel de Troponina I y/o Troponina T, en particular Troponina T, que es indicativo de insuficiencia cardíaca o de estenosis vascular.

55 Cuando el nivel de Troponina T no disminuye a valores de un 80 %, preferentemente un 60 %, más preferentemente un 20 % del valor medido después del suceso agudo, debería iniciarse la intervención que se ha mencionado anteriormente. La intervención también debería iniciarse en el caso de un aumento del nivel de Troponina T/I.

60 En el contexto de la presente invención, todos los péptidos que se han mencionado anteriormente se pueden medir para obtener información que permita la mejor evaluación posible de la medicación a aplicar. Esta es una realización de la presente invención. Sin embargo, en algunos casos, puede ser suficiente medir, adicionalmente a un péptido natriurético y una troponina cardíaca, dos de los marcadores inflamatorios mencionados. A menudo es suficiente medir un marcador inflamatorio.

65 En el contexto de la presente invención, solamente se puede administrar un fármaco de los que se han mencionado anteriormente, o dos e incluso más. Cuando se administra más de un fármaco, los fármacos se pueden seleccionar entre uno de los grupos mencionados, o entre dos o más grupos.

Tal como entenderán los expertos en la materia, habitualmente dicha evaluación no pretende ser correcta para todos (es decir, un 100 %) de los sujetos a identificar. El término, sin embargo, requiere que una porción estadísticamente significativa de los sujetos se pueda identificar (por ejemplo, una población base en un estudio de población base). Por ejemplo, la osteopontina, el GDF-15 y la CRP se superponen en su valor de diagnóstico y pueden ser de un valor variable, de acuerdo con el estado patológico del individuo que se va a diagnosticar. Se puede decir que, en las aplicaciones de acuerdo con la presente invención, la CRP tiene la especificidad más baja, el GDF-15 es lento, y la osteopontina es rápida y la más significativa cuando cambia su nivel.

En general, el GDF-15 y la CRP son los marcadores inflamatorios más preferentes de la presente invención. Tal como puede ser el caso, y de acuerdo con la información requerida, el GDF-15 puede ser preferente sobre la CRP, y viceversa. En la mayoría de los casos, el GDF-15 es el más preferente para diagnosticar el tratamiento o medicación que se va a aplicar, mientras que la CRP es la más preferente, en la mayoría de los casos, para controlar el proceso de remodelación.

Si una porción es estadísticamente significativa, el experto en la materia la puede determinar sin más usando diversas herramientas de evaluación estadística bien conocidas, por ejemplo, determinación de intervalos de confianza, determinación del valor p, ensayo de t de Student, ensayo de Mann-Whitney, etc... Se encuentran detalles en Dowdy y Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, Nueva York 1983. Los intervalos de confianza preferentes son de al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 %. Los valores p son, preferentemente, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005, o 0,0001. Más preferentemente, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 % o al menos un 90 % de los sujetos de la población se pueden identificar adecuadamente con el método de la presente invención.

El diagnóstico de acuerdo con la presente invención incluye control, confirmación, subclasificación y predicción de la enfermedad, síntomas o riesgos relevantes de la misma. La confirmación se refiere a la consolidación o la confirmación de un diagnóstico ya realizado usando otros indicadores o marcadores. La subclasificación se refiere a la definición adicional de un diagnóstico de acuerdo con diferentes subclases de la enfermedad diagnosticada, por ejemplo, la definición de acuerdo con formas leves y graves de la enfermedad. En particular, también incluye el control. El control se refiere a la realización del seguimiento de una medicación o de una enfermedad ya diagnosticada.

El término "sujeto", tal como se usa en el presente documento, se refiere a seres humanos. Preferentemente, el sujeto mencionado de acuerdo con el método que se ha mencionado anteriormente padece un infarto de miocardio o presenta los síntomas o parámetros clínicos, tales como un mayor nivel de Troponina T que lo acompaña, es decir, que se sospecha que al menos ha padecido un infarto de miocardio.

De acuerdo con la presente invención, la determinación de la cantidad del péptido natriurético o Troponina cardiaca se puede conseguir por todos los medios conocidos para determinar la cantidad de un péptido en una muestra. Dichos medios comprenden dispositivos y métodos de inmunoensayo que pueden usar moléculas marcadas en diversos formatos de sándwich, competición, u otros formatos de ensayo. Dichos ensayos desarrollarán una señal que es indicativa de la presencia o ausencia del péptido natriurético o Troponina cardiaca. Además, la fuerza de la señal, preferentemente, se puede correlacionar directa o indirectamente (por ejemplo, por proporcionalidad inversa) con la cantidad de polipéptido presente en una muestra. Otros métodos adecuados comprenden medir una propiedad física o química específica para el péptido natriurético tal como su masa molecular precisa o espectro de RMN. Dichos métodos comprenden, preferentemente, biosensores, dispositivos ópticos acoplados a inmunoensayos, biochips, dispositivos analíticos tales como espectrómetros de masas, analizadores de RMN, o dispositivos de cromatografía. Además, los métodos incluyen métodos basados en ELISA de microplacas, inmunoensayos totalmente automatizados o robóticos (disponibles, por ejemplo, en analizadores Elecsys™), CBA (un Ensayo enzimático de Unión a Cobalto, disponible por ejemplo en analizadores Roche-Hitachi™), y ensayos de aglutinación de látex (disponibles, por ejemplo, en analizadores Roche-Hitachi™). Los métodos y medios para medición también incluyen dispositivos de Análisis de diagnóstico inmediato, tales como el Cardiac Reader™ (disponible en Roche Diagnostics).

Por lo general, se entiende que los dispositivos de análisis de diagnóstico inmediato son dispositivos que permiten la medición en la habitación del paciente. Un ejemplo es el Cardiac Reader™ (disponible en Roche Diagnostics), en combinación, por ejemplo, con tiras de ensayo para NT-proBNP (disponibles como "Cardiac proBNP" de Roche Diagnostics). Dicho ensayo puede emplear dos anticuerpos (preferentemente monoclonales) dirigidos contra el péptido de interés (por ejemplo, un péptido de tipo BNP). Los anticuerpos pueden ser idénticos a los anticuerpos usados, por ejemplo, en los ensayos Elecsys™ o Cobas™. Por ejemplo, el primer anticuerpo se marca con biotina mientras que el segundo anticuerpo se marca con partículas de oro. El ensayo puede comenzar con la adición de una pequeña cantidad (por ejemplo 150 µl) de muestra de sangre sobre la tira de ensayo (por ejemplo, en un pocillo de muestra de la tira de ensayo). Los eritrocitos en la muestra se pueden separar del plasma restante antes o después de la adición a la tira de ensayo, por ejemplo, si la muestra fluye a través de un tejido adecuado (por ejemplo, un tejido de fibra de vidrio). Dicho medio de separación (por ejemplo, tejido) es preferentemente parte de la tira de ensayo. Los anticuerpos (preferentemente ya presentes en la tira de ensayo) se disuelven en el plasma restante. Los anticuerpos son capaces de unirse al péptido o polipéptido de interés, formando un complejo de

sándwich de tres miembros. Los anticuerpos (unidos o sin unir) fluyen a través de la tira en una zona de detección. La zona de detección comprende medios para detectar el complejo unido, por ejemplo, puede comprender estreptavidina. Esto inmoviliza a los complejos y permite visualizar el complejo inmovilizado como una línea de color púrpura mediante el anticuerpo marcado con oro. Preferentemente, el anticuerpo marcado con oro que permanece libre posteriormente puede desplazarse en la tira en la que se captura en una zona que comprende un péptido o polipéptido sintético que comprende el epítipo del péptido de tipo BNP a detectar, visualizado como una línea de color púrpura separada. La presencia de dicha segunda línea puede servir como un control porque indica que el flujo de la muestra tuvo lugar correctamente y el anticuerpo está intacto. La tira de ensayo puede comprender un marcador que indica el péptido o polipéptido de interés que se puede detectar con la tira. Además, puede comprender un código de barras u otro código legible con un dispositivo para la medición óptica de la cantidad de marcador detectable en la zona de detección. Dicho código de barras puede incluir información que indica el péptido o polipéptido de interés que se puede detectar con la tira. El código de barras también puede incluir información específica del lote sobre la tira de ensayo.

La expresión "Troponina cardiaca" se refiere a todas las isoformas de Troponina expresadas en células del corazón y, preferentemente, las células subendocardiales. Estas isoformas están bien caracterizadas en la técnica tal como se describe, por ejemplo, en Anderson 1995, *Circulation Research*, vol. 76, nº 4: 681-686 y Ferrieres 1998, *Clinical Chemistry*, 44: 487-493.

Preferentemente, Troponina cardiaca se refiere a Troponina T y/o Troponina I.

Por lo tanto, ambas Troponinas se pueden determinar en el método de la presente invención en conjunto, es decir, simultáneamente o secuencialmente, o individualmente, es decir, sin determinar la otra isoforma en absoluto.

En Anderson, en el lugar citado y Ferrieres 1998, *Clinical Chemistry*, 44: 487-493 se desvelan secuencias de aminoácidos para Troponina T humana y Troponina I humana. La expresión "Troponina cardiaca" incluye además variantes de las Troponinas específicas que se han mencionado anteriormente, es decir, preferentemente, de Troponina T o Troponina I. Dichas variantes tienen al menos las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales que las Troponinas cardíacas. En particular, éstas comparten las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales si son detectables con los mismos ensayos específicos que se mencionan en la presente memoria descriptiva, por ejemplo, con Ensayos de ELISA que usan anticuerpos policlonales o monoclonales que reconocen específicamente las Troponinas cardíacas mencionadas. Además, se debe entender que una variante tal como se menciona de acuerdo con la presente invención tendrá una secuencia de aminoácidos que difiere debido al menos a una sustitución, supresión y/o adición de aminoácidos en la que la secuencia de aminoácidos de la variante es todavía, preferentemente, idéntica en al menos un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 92 %, un 95 %, un 97 %, un 98 %, o un 99 % a la secuencia de aminoácidos de la Troponina específica. Las variantes pueden ser variantes alélicas o cualquier otra especie de homólogos, parálogos, u ortólogos específicos. Además, las variantes que se mencionan en el presente documento incluyen fragmentos de las Troponinas cardíacas específicas o de los tipos de variantes que se han mencionado anteriormente siempre y cuando estos fragmentos tengan las propiedades inmunológicas y biológicas básicas tal como se ha mencionado anteriormente. Dichos fragmentos pueden ser, por ejemplo, productos de degradación de las Troponinas. Además, se incluyen variantes que difieren debido a modificaciones posteriores a la traducción tales como fosforilación o miristilación. Un ensayo de Troponina T particularmente preferente en el contexto de la presente invención es el analizador Elecsys® 2010 (Roche Diagnostics) con un límite de detección de 0,001 ng/ml.

Si la cantidad de Troponina T en la sangre es elevada, es decir, superior a 0,1 ng/ml, se asume un suceso cardiovascular agudo y el paciente se trata en consecuencia.

La expresión "Factor-15 de Diferenciación de Crecimiento" o "GDF-15" se refiere a un polipéptido que es un miembro de la superfamilia de citoquinas del factor de crecimiento transformante (TGF)- $\beta$ . Los términos polipéptido, péptido y proteína se usan indistintamente a lo largo de la presente memoria descriptiva. GDF-15 se clonó originalmente como citoquina-1 inhibidora de macrófagos y posteriormente también se identificó como factor  $\beta$  de crecimiento transformante placentario, proteína morfogenética placentaria de hueso, gen 1 activado por fármacos antiinflamatorios no esteroideos, y factor derivado de próstata (Bootcov en el lugar citado; Hromas, 1997 *Biochim Biophys Acta* 1354: 40-44; Lawton 1997, *Gene* 203: 17-26; Yokoyama-Kobayashi 1997, *J Biochem (Tokio)*, 122: 622-626; Paralkar 1998, *J Biol Chem* 273: 13760-13767). De forma similar a otras citoquinas relacionadas con TGF- $\beta$ , GDF-15 se sintetiza como una proteína precursora inactiva, que experimenta homodimerización con enlaces disulfuro. Después de la escisión proteolítica del pro-péptido N-terminal, GDF-15 se secreta como una proteína dimerica de -28 kDa (Bauskin 2000, *Embo J* 19: 2212-2220). Se desvelan secuencias de aminoácidos para GDF-15 en los documentos WO99/06445, WO00/70051, WO2005/113585, Bottner 1999, *Gene* 237: 105-111, Bootcov, en el lugar citado, Tan, en el lugar citado, Baek 2001, *Mol Pharmacol* 59: 901-908, Hromas, en el lugar citado, Paralkar, en el lugar citado, Morrish 1996, *Placenta* 17: 431-441 o Yokoyama-Kobayashi, en el lugar citado. GDF-15 se usó en el presente documento y también incluye variantes de los polipéptidos GDF-15 específicos mencionados anteriormente. Dichas variantes tienen al menos las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales que los polipéptidos GDF-15 específicos. En particular, comparten las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales si son detectables con los mismos ensayos específicos mencionados en la presente memoria descriptiva,

por ejemplo, con Ensayos de ELISA que usan anticuerpos policlonales o monoclonales que reconocen específicamente los polipéptidos GDF-15 mencionados. Además, se debe entender que una variante tal como se menciona de acuerdo con la presente invención tendrá una secuencia de aminoácidos que difiere debido al menos a una sustitución, supresión y/o adición de aminoácidos donde la secuencia de aminoácidos de la variante es todavía, preferentemente, idéntica en al menos un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 92 %, un 95 %, un 97 %, un 98 %, o un 99 % a la secuencia de aminoácidos de los polipéptidos GDF-15 específicos. Además, las variantes mencionadas en el presente documento incluyen fragmentos de los polipéptidos GDF-15 específicos o de los tipos de variantes que se han mencionado anteriormente siempre y cuando estos fragmentos tengan las propiedades inmunológicas y biológicas esenciales tal como se ha mencionado anteriormente. Dichos fragmentos pueden ser, por ejemplo, productos de degradación de los polipéptidos GDF-15. Además, se incluyen variantes que difieren debido a modificaciones posteriores a la traducción tales como fosforilación o miristilación. Un ensayo preferente de GDF-15 en el contexto de la presente invención es el ensayo tal como se describe en Wollert et al. en *Clinical Chemistry* 53, N° 2, 2007, páginas 284-291.

La osteopontina, también denominada OPN en el presente documento, es un polipéptido hidrófilo ácido cargado negativamente. Los términos polipéptido, péptido y proteína se usan indistintamente a lo largo de la presente memoria descriptiva. La osteopontina es una proteína multifuncional y se secreta a todos los fluidos corporales. Aunque tiene un alto nivel de expresión en los huesos, también se expresa en diversos tipos celulares que incluyen macrófagos, células endoteliales, células de músculo liso y células epiteliales. Además, se desveló que la expresión de OPN se ve aumentada en el miocardio de pacientes con insuficiencia cardíaca avanzada. La OPN es un miembro ácido de la familia de N-glicoproteínas pequeñas con ligandos de unión a integrinas (SIBLING) que incluyen sialoproteína ósea, proteína I de la matriz de la dentina, sialofosfoproteína de la dentina, y fosfoglicoproteína extracelular de la matriz, que son los productos de cinco genes agrupados a lo largo del cromosoma 4 humano. Existe evidencia de corte y empalme alternativo, aunque la importancia funcional de éste aún se tiene que esclarecer. En general, la OPN es un monómero con una longitud que varía de 264 a 301 aminoácidos, que experimenta grandes modificaciones posteriores a la traducción, que incluyen fosforilación, glicosilación, y escisión, dando como resultado variantes de masas moleculares que varían de 25 a 75 kDa. Se han clonado genes que codifican OPN, por ejemplo, de rata, ratón, ser humano, vaca, pollo, conejo, y oveja (Stawowy et al., en el lugar citado.; Mazzali et al., *Osteopontin - A molecule for all season*. *QJM* 95 (1):3-13; Johnson et al. 2003, *Osteopontin: roles in implantation and placentation*. Kohri et al. (1992) *Biochem Biophys Res Commun*. 1992 184 (2): 859-64). Se desvela un anticuerpo contra una isoforma de Osteopontina, por ejemplo, en la patente EP 1 754 719. La osteopontina, tal como se usa en el presente documento, también incluye variantes de polipéptidos de Osteopontina. Dichas variantes tienen al menos las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales que los polipéptidos de Osteopontina específicos. En particular, comparten las mismas propiedades biológicas e inmunológicas esenciales si son detectables con los mismos ensayos específicos mencionados en la presente memoria descriptiva, por ejemplo, con Ensayos de ELISA que usan anticuerpos policlonales o monoclonales que reconocen específicamente los polipéptidos de Osteopontina mencionados. En los Ejemplos adjuntos se describe un ensayo preferente. Además, se debe entender que una variante tal como se menciona de acuerdo con la presente invención tendrá una secuencia de aminoácidos que difiere debido al menos a una sustitución, supresión y/o adición de aminoácidos en la que la secuencia de aminoácidos de la variante es todavía, preferentemente, idéntica en al menos un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 92 %, un 95 %, un 97 %, un 98 %, o un 99 % a la secuencia de aminoácidos de los polipéptidos de Osteopontina específicos. Además, las variantes mencionadas en el presente documento incluyen fragmentos de los polipéptidos de Osteopontina específicos o de los tipos de variantes que se han mencionado anteriormente siempre y cuando estos fragmentos tengan las propiedades inmunológicas y biológicas esenciales tal como se ha mencionado anteriormente. Dichos fragmentos pueden ser, por ejemplo, productos de degradación de los polipéptidos de Osteopontina. Además, se incluyen variantes que difieren debido a modificaciones posteriores a la traducción tales como fosforilación o miristilación. Un ensayo de osteopontina preferente en el contexto de la presente invención es el Kit de Ensayo de Osteopontina Humana de IBL (Immuno-Biological Laboratories Co, Ltd, 5-1 Aramachi, Takasaki-shi, Gunma, 370-0831, Japón), también disponible en IBL Gesellschaft für Immunochemie und Immunbiologie mbH, Flughafenstr. 52a, D-22335 Hamburgo.

La CRP, también denominada proteína C-reactiva en el presente documento, es una proteína de fase aguda que según se descubrió hace más de 75 años, era una proteína sanguínea que se une al polisacárido C de pneumococos. La CRP consiste en cinco subunidades individuales, que no se unen de forma covalente y se ensamblan como un pentámero cíclico con un peso molecular de aproximadamente 110-140 kDa. Preferentemente, la CRP tal como se usa en el presente documento se refiere a CRP humana. La secuencia de CRP humana se conoce bien y se desvela, por ejemplo, en Woo et al. (*J. Biol. Chem.* 1985. 260 (24), 13384-13388). El nivel de CRP normalmente es bajo en individuos normales pero puede aumentar de 100 a 200 de veces más debido a inflamación, infección o lesión (Yeh (2004) *Circulation*. 2004; 109: II-11-II-14). Se sabe que la CRP es un factor independiente para la predicción de un riesgo cardiovascular. Particularmente, se ha mostrado que la CRP es adecuada como un indicador de infarto de miocardio, apoplejía, enfermedad arterial periférica y muerte cardíaca súbita. Además, cantidades elevadas de CRP también pueden predecir isquemia recurrente y muerte en sujetos con síndrome coronario agudo (SCA) y los sometidos a intervención coronaria. Ciertos grupos de expertos (por ejemplo, la American Heart Association) recomiendan la determinación de CRP en pacientes con riesgo de enfermedad cardíaca coronaria (véase también Pearson et al. (2003) *Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease*. *Circulation*, 107: 499-511).



Preferentemente, la cantidad de CRP en una muestra de un sujeto se determina usando ensayos de CRP con una alta sensibilidad. La CRP determinada con dichos ensayos también se denomina frecuentemente CRP de alta sensibilidad (hsCRP). Los ensayos de hsCRP se usan en la actualidad para predecir el riesgo de enfermedad cardiaca. En la técnica se conocen ensayos de hsCRP adecuados. Un ensayo de hsCRP particularmente preferente en el contexto de la presente invención es el ensayo HS de CRP (Látex) de Roche/Hitachi con un límite de detección de 0,1 mg/l.

En el contexto de la presente invención, el término "remodelación" se refiere a procesos angiogénicos mediante los cuales se reemplazan las áreas necróticas y tejido conectivo y su función se reestablece mediante hipertrofia no concéntrica.

Para establecer un diagnóstico tal como se ha expuesto anteriormente, la presente invención enseña a medir el nivel de péptidos distintos de un péptido natriurético, para establecer un diagnóstico. Además, la presente invención se puede usar para controlar el proceso de remodelación en un individuo después del IM y, según pueda ser el caso, decidir sobre la continuación, modificación o terminación de la administración del medicamento.

Los individuos que tienen solamente una disfunción miocárdica menor antes del IM (SCA), o que no tienen ninguna disfunción miocárdica, vuelven a desarrollar la funcionalidad del miocardio hasta al menos un cierto punto después de varias semanas o meses, por ejemplo 3 meses, mediante remodelación. Por el contrario, los individuos que tienen solamente una disfunción miocárdica considerable preexistente (antes del IM (SCA)) apenas vuelven a desarrollar funcionalidad del miocardio después de varias semanas o meses. En estos casos, se puede iniciar una terapia inmediatamente después de que se haya producido el IM (SCA), lo que va acompañado de la administración de determinados fármacos, tal como se ha expuesto anteriormente. La terapia se puede controlar midiendo el nivel de Troponina T o I, osteopontina, CRP y/o GDF-15.

En muchos casos, no es apropiado mencionar valores del péptido respectivo sobre el cual se puede basar una decisión sobre la continuación, modificación o terminación de la medicación. Para CRP, se puede decir que se debería alcanzar un nivel de aproximadamente 33 pg/ml antes de que se termine el tratamiento médico. En el caso de NT-proBNP, la disminución en el nivel del péptido depende del grado de insuficiencia cardiaca. La disminución en el nivel de Troponina T/I depende del grado de insuficiencia cardiaca y estenosis coronaria. Para GDF-15, una disminución  $\geq 20$  % indica generalmente que la cantidad de fármaco administrado se puede reducir. Para la osteopontina, una disminución  $\geq 40$  % indica generalmente que la cantidad de fármaco administrado se puede reducir.

El método de acuerdo con la presente invención comprende la determinación de la cantidad de NT-proBNP en una muestra de dicho sujeto, y la determinación de la cantidad de uno de los péptidos mencionados anteriormente en una muestra del sujeto. Estas etapas se pueden realizar simultáneamente, antes o posteriormente.

Tal como ya se ha analizado anteriormente, se puede obtener una cantidad de referencia preferente que sirve como un umbral a partir del ULN. El ULN para una población dada de sujetos se puede determinar tal como se especifica en otra parte de la presente descripción.

La presente invención se refiere a trastornos cardiacos, preferentemente del grupo de disfunción miocárdica e insuficiencia cardiaca.

La expresión "disfunción miocárdica", tal como se usa en el presente documento, es una expresión general y se refiere a varios estados patológicos del miocardio. Una disfunción miocárdica puede ser un estado patológico temporal (causado, por ejemplo, por isquemia, sustancias tóxicas, alcohol, etc.). La disfunción miocárdica puede desaparecer después de retirar la causa subyacente. En el contexto de la presente invención, la disfunción miocárdica puede ser una disfunción asintomática del miocardio. Una disfunción miocárdica, en particular una disfunción asintomática del miocardio, también se puede convertir en una insuficiencia cardiaca. Una disfunción miocárdica también puede ser una insuficiencia cardiaca crónica grave. En general, una disfunción miocárdica es una función sistólica y/o diastólica alterada del corazón, y una disfunción miocárdica se puede producir con o sin insuficiencia cardiaca. Cualquier insuficiencia cardiaca mencionada anteriormente puede ser asintomática.

La expresión "insuficiencia cardiaca", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una función sistólica y/o diastólica alterada del corazón. Preferentemente, la insuficiencia cardiaca mencionada en el presente documento también es insuficiencia cardiaca crónica. La insuficiencia cardiaca se puede clasificar con un sistema de clasificación funcional de acuerdo con la New York Heart Association (NYHA). Los pacientes de la Clase I de NYHA no tienen síntomas evidentes de enfermedad cardiovascular, pero ya presentan una evidencia objetiva de alteración funcional. La actividad física no se ve limitada, y la actividad física habitual no causa fatiga excesiva, palpitación, o disnea (dificultad para respirar). Los pacientes de la clase II de NYHA tienen una ligera limitación de la actividad física. Estos pacientes se sienten cómodos en reposo, pero la actividad física habitual da como resultado fatiga, palpitación o disnea. Los pacientes de la clase III de NYHA muestran una marcada limitación de la actividad física. Se sienten cómodos en reposo, pero una actividad menor que la habitual les causa fatiga, palpitación o disnea. Los pacientes de la clase IV de NYHA son incapaces de realizar cualquier actividad física sin molestias. Estos pacientes

muestran síntomas de insuficiencia cardiaca en reposo. La insuficiencia cardiaca, es decir, una función sistólica y/o diastólica alterada del corazón, también se puede determinar, por ejemplo, por ecocardiografía, angiografía, escintigrafía, o formación de imágenes por resonancia magnética. Esta alteración funcional puede ir acompañada de síntomas de insuficiencia cardiaca tal como se ha indicado anteriormente (clases II-IV de NYHA), aunque algunos pacientes pueden no presentar síntomas significativos (NYHA I). Además, la insuficiencia cardiaca también es evidente con una fracción reducida de eyección ventricular izquierda (LVEF). Más preferentemente, la insuficiencia cardiaca, tal como se usa en el presente documento, va acompañada de una fracción de eyección ventricular izquierda (LVEF) inferior a un 60 %, de un 40 % a un 60 % o inferior a un 40 %.

La expresión "suceso cardiovascular agudo" se refiere a todos los sucesos que aparecen repentinamente, es decir, sin signos o síntomas clínicos previos, y que afectan gravemente al caudal de sangre diastólica o sistólica. De forma histopatológica, el suceso cardiovascular agudo mencionado en el presente documento irá acompañado de una isquemia repentina de células musculares cardiacas acompañado de una necrosis grave de dichas células. Preferentemente, el sujeto que padece un suceso cardiovascular agudo también padecerá síntomas habituales tales como malestar o dolor de pecho, epigástrico, brazos, muñecas o mandíbula mediante el cual, en particular, el dolor de pecho se puede irradiar al brazo, espalda u hombro. Otros síntomas de un suceso cardiovascular agudo pueden ser náuseas o vómitos sin explicación, dificultad persistente para respirar, debilidad, mareo, sensación de desmayo o síncope así como cualquier combinación de los mismos. Preferentemente, el suceso cardiovascular agudo mencionado en el presente documento es un síndrome coronario agudo (SCA), es decir, una angina de pecho inestable (API) o infarto de miocardio (IM). Más preferentemente, el suceso cardiovascular agudo es IM que incluye IM del ST elevado e IM del ST no elevado. Además, el suceso cardiovascular también incluye apoplejía. La aparición de un IM puede ir seguida de una disfunción ventricular izquierda (LVD). Por último, los pacientes con LVD experimentan insuficiencia cardiaca congestiva (ICC) con una tasa de mortalidad considerable. Detalles adicionales sobre las definiciones, síntomas y señales clínicas tales como señales electrocardiográficas, se encuentran en Joint European Society of Cardiology / American Society of Cardiology, 2000, J American College of Cardiology, Vol. 36, N° 3: 959-969.

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

La determinación de la cantidad de los péptidos o polipéptidos mencionados en la presente memoria descriptiva se refiere a la medición de la cantidad o de la concentración, preferentemente semicuantitativamente o cuantitativamente. La medición se puede hacer directa o indirectamente. La medición directa se refiere a la medición de la cantidad o de la concentración del péptido o polipéptido en base a una señal que se obtiene a partir del péptido o polipéptido en sí mismo y cuya intensidad se correlaciona directamente con el número de moléculas del péptido presente en la muestra. Dicha señal – denominada en ocasiones en el presente documento señal de intensidad – se puede obtener, por ejemplo, midiendo un valor de intensidad de una propiedad física o química específica del péptido o polipéptido. La medición indirecta incluye la medición de una señal obtenida a partir de un componente secundario (es decir, un componente que no es el péptido o el polipéptido en sí mismo) o un sistema de lectura biológica, por ejemplo, respuestas celulares, ligandos, marcas, o productos reacciones enzimáticas que se pueden medir.

De acuerdo con la presente invención, la determinación de la cantidad de un péptido o polipéptido se puede conseguir con todos los medios conocidos para determinar la cantidad de un péptido en una muestra. Dichos medios comprenden dispositivos y métodos de inmunoensayo que pueden usar moléculas marcadas en diversos formatos de ensayo de sándwich, competición u otros. Dichos ensayos desarrollarán una señal que es indicativa de la presencia o de la ausencia del péptido o polipéptido. Además, la fuerza de la señal se puede correlacionar, preferentemente, directa o indirectamente (por ejemplo, por proporcionalidad inversa) con la cantidad de polipéptido presente en una muestra. Otros métodos adecuados comprenden medir una propiedad física o química específica para el péptido o polipéptido, tal como su masa molecular precisa o espectro de RMN. Dichos procedimientos comprenden, preferentemente, biosensores, dispositivos ópticos acoplados a inmunoensayos, biochips, dispositivos analíticos tales como espectrómetros de masas, analizadores de RMN, o dispositivos de cromatografía. Además, los procedimientos incluyen métodos de microplacas basados en ELISA, inmunoensayos totalmente automatizados o robóticos (disponibles, por ejemplo, en analizadores Elecsys™), CBA (un Ensayo enzimático de Unión a Cobalto, disponible, por ejemplo, en Roche-Hitachi™), y ensayos de aglutinación de látex (disponibles, por ejemplo, en analizadores Roche-Hitachi™).

Preferentemente, la determinación de la cantidad de un péptido o polipéptido comprende las etapas de (a) poner en contacto una célula capaz de provocar una respuesta celular, cuya intensidad es indicativa de la cantidad del péptido o polipéptido, con el péptido o polipéptido mencionados durante un período de tiempo adecuado, y (b) medir la

5 respuesta celular. Para medir respuestas celulares, la muestra o muestra procesada, preferentemente, se añade al cultivo celular y se mide una respuesta celular interna o externa. La respuesta celular puede incluir la expresión mensurable de un gen indicador o la secreción de una sustancia, por ejemplo un péptido, polipéptido, o una molécula pequeña. La expresión de la sustancia generará una señal de intensidad que se corresponde con la cantidad del péptido o polipéptido.

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

15 La determinación de la cantidad de un péptido o polipéptido puede comprender, preferentemente, las etapas de (a) poner en contacto el péptido con un ligando específico, (b) (opcionalmente) retirar el ligando no unido, (c) medir la cantidad de ligando unido. El ligando unido generará una señal de intensidad. La unión de acuerdo con la presente invención incluye unión tanto covalente como no covalente. Un ligando de acuerdo con la presente invención puede ser cualquier compuesto, por ejemplo, un péptido, polipéptido, ácido nucleico, o molécula pequeña, que se une al péptido o polipéptido que se describe en el presente documento. Los ligandos preferentes incluyen anticuerpos, ácidos nucleicos, péptidos o polipéptidos tales como receptores o asociados de unión para el péptido o polipéptido y fragmentos de los mismos que comprenden los dominios de unión para los péptidos, y aptámeros, por ejemplo, aptámeros de ácidos nucleicos o de péptidos. En la técnica son bien conocidos métodos para preparar dichos ligandos. Por ejemplo, la identificación y producción de anticuerpos o aptámeros adecuados también la ofrecen proveedores comerciales. El experto en la materia está familiarizado con métodos para desarrollar derivados de dichos ligandos con una afinidad o especificidad más elevada. Por ejemplo, se pueden introducir mutaciones aleatorias en los ácidos nucleicos, péptidos o polipéptidos. A continuación, estos derivados se pueden someter a ensayo para unión de acuerdo con procedimientos de identificación sistemática conocidos en la técnica, por ejemplo, presentación de fagos. Los anticuerpos, tal como se denominan en el presente documento, incluyen anticuerpos tanto policlonales como monoclonales, así como fragmentos de los mismos, tales como fragmentos de Fv, Fab y F(ab)<sub>2</sub> que son capaces de unirse a antígenos o haptenos. La presente invención también incluye anticuerpos de una sola cadena y anticuerpos híbridos humanizados en los que secuencias de aminoácidos de un anticuerpo donante no humano que presentan una especificidad deseada por antígenos se combinan con secuencias de un anticuerpo aceptor humano. Las secuencias donantes incluirán habitualmente al menos los restos de aminoácidos de unión a antígenos del donante, pero también pueden comprender otros restos de aminoácidos estructuralmente y/o funcionalmente relevantes del anticuerpo donante. Dichos híbridos se pueden preparar por varios métodos bien conocidos en la técnica. Preferentemente, el ligando o agente se une específicamente al péptido o polipéptido. Unión específica de acuerdo con la presente invención significa que el ligando o agente no se debería unir básicamente a ("presentar reacción cruzada" con) otro péptido, polipéptido o sustancia presente en la muestra a analizar. Preferentemente, el péptido o polipéptido unido específicamente se debería unir con al menos una afinidad 3 veces más elevada, más preferentemente al menos 10 veces más elevada e incluso más preferentemente al menos 50 veces más elevada que cualquier otro péptido o polipéptido relevante. Se puede tolerar unión no específica, si además ésta se puede distinguir y medir de forma inequívoca, por ejemplo, de acuerdo con su tamaño en una Transferencia de Western, o mediante su abundancia relativamente más elevada en la muestra. La unión del ligando se puede medir por cualquier método conocido en la técnica. Preferentemente, dicho método es semicuantitativo o cuantitativo. A continuación se describen métodos adecuados.

45 En primer lugar, la unión de un ligando se puede medir directamente, por ejemplo por RMN o resonancia de plasmones superficiales.

50 En segundo lugar, si el ligando también sirve como un sustrato de una actividad enzimática del péptido o polipéptido de interés, se puede medir un producto de reacción enzimática (por ejemplo, se puede medir la cantidad de una proteasa por medición de la cantidad de sustrato escindido, por ejemplo, en una Transferencia de Western). Como alternativa, el ligando puede presentar propiedades enzimáticas en sí mismo y el complejo "ligando/péptido o polipéptido" o el ligando que se unió al péptido o polipéptido, respectivamente, se puede poner en contacto con un sustrato adecuado lo que permite la detección mediante la generación de una señal con una intensidad. Para la medición de productos de reacción enzimática, la cantidad de sustrato es preferentemente de saturación. El sustrato también se puede marcar con una marca detectable antes de la reacción. Preferentemente, la marca se pone en contacto con el sustrato durante un periodo de tiempo adecuado. Un periodo de tiempo adecuado se refiere al tiempo necesario para que se produzca una cantidad de producto detectable, preferentemente mensurable. En lugar de medir la cantidad de producto, se puede medir el tiempo necesario para la aparición de una cantidad de producto dado (por ejemplo detectable).

65 En tercer lugar, el ligando se puede acoplar covalentemente o no covalentemente a una marca que permite la detección y medición del ligando. El marcado se puede realizar con métodos directos o indirectos. El marcado directo implica el acoplamiento de la marca directamente (covalentemente o no covalentemente) al ligando. El marcado indirecto implica la unión (covalentemente o no covalentemente) de un ligando secundario al primer ligando. El ligando secundario se debería unir específicamente al primer ligando. Dicho ligando secundario se puede

acoplar con una marca adecuada y/o ser la diana (receptor) de ligando terciario que se une al ligando secundario. El uso de ligandos secundarios, terciarios o incluso de orden superior se usa a menudo para aumentar la señal. Los ligandos adecuados secundarios y de orden superior pueden incluir anticuerpos, anticuerpos secundarios, y el sistema de estreptavidina-biotina bien conocido (Vector Laboratories, Inc.). El ligando o sustrato también se puede "marcar" con una o más marcas tal como se conoce en la técnica. A continuación, dichas marcas pueden ser dianas para ligandos de orden superior. Marcas adecuadas incluyen biotina, digoxigenina, His-Tag, Glutación-S-Transferasa, FLAG, GFP, myc-tag, hemaglutinina del virus de la gripe A (HA), proteína de unión a maltosa, y similares. En el caso de un péptido o polipéptido, la marca está preferentemente en el extremo N y/o en el extremo C. Las marcas adecuadas son cualquier marca detectable con un método de detección apropiado. Las marcas habituales incluyen partículas de oro, perlas de látex, éster de acridano, luminol, rutenio, marcas enzimáticamente activas, marcas radiactivas, marcas magnéticas (por ejemplo, "perlas magnéticas", que incluyen marcas paramagnéticas y superparamagnéticas), y marcas fluorescentes. Las marcas enzimáticamente activas incluyen por ejemplo peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, beta-Galactosidasa, Luciferasa, y derivados de las mismas. Sustratos adecuados para detección incluyen di-amino-bencidina (DAB), 3,3'-5,5'-tetrametilbencidina, NBT-BCIP (cloruro de 4-nitro azul tetrazolio y 5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato, disponibles en el extremo de reserva ya preparada de Roche Diagnostics), CDP-Star™ (Amersham Biosciences), ECF™ (Amersham Biosciences). Una combinación adecuada de enzima-sustrato puede dar como resultado un producto de reacción coloreado, fluorescencia o quimioluminiscencia, que se puede medir de acuerdo con métodos conocidos en la técnica (por ejemplo usando película sensible a la luz o un sistema de cámara adecuado). En cuanto a la medición de la reacción enzimática, los criterios que se han proporcionado anteriormente se aplican de forma análoga. Marcas fluorescentes habituales incluyen proteínas fluorescentes (tales como GFP y sus derivados), Cy3, Cy5, Rojo Texas, Fluoresceína, y los colorantes Alexa (por ejemplo Alexa 568). Marcas fluorescentes adicionales están disponibles por ejemplo en Molecular Probes (Oregon). Además, se contempla el uso de puntos cuánticos como marcas fluorescentes. Las marcas radiactivas habituales incluyen <sup>35</sup>S, <sup>125</sup>I, <sup>32</sup>P, <sup>33</sup>P y similares. Una marca radiactiva se puede detectar con cualquier método conocido y apropiado, por ejemplo, una película sensible a la luz o una cámara de fósforo. Métodos de medición adecuados de acuerdo con la presente invención también incluyen precipitación (particularmente inmunoprecipitación), electroquimioluminiscencia (quimioluminiscencia electro-generada), RIA (radioinmunoensayo), ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas), ensayos inmunoenzimáticos de tipo sándwich, inmunoensayos de tipo sándwich de electroquimioluminiscencia (ECLIA), fluoro inmunoensayo de disociación potenciado por lantánidos (DELFLIA), ensayo de proximidad de centelleo (SPA), turbidimetría, nefelometría, turbidimetría o nefelometría potenciada por látex, ensayos inmunológicos en fase sólida. Se pueden usar otros métodos conocidos en la técnica (tales como electroforesis en gel, electroforesis en gel 2D, electroforesis en gel de poliacrilamida SDS (SDS-PAGE), Transferencia de Western, y espectrometría de masas), solos o en combinación con marcado u otros métodos de detección tal como se ha descrito anteriormente.

La cantidad de un péptido o polipéptido también se puede determinar, preferentemente, como sigue a continuación: (a) poner en contacto un soporte sólido que comprende un ligando para el péptido o polipéptido tal como se ha especificado anteriormente con una muestra que comprende el péptido o polipéptido y (b) medir la cantidad de péptido o polipéptido que se une al soporte. El ligando, preferentemente se elige entre el grupo que consiste en ácidos nucleicos, péptidos, polipéptidos, anticuerpos y aptámeros, está presente preferentemente sobre un soporte sólido en forma inmovilizada. Materiales para preparación de soportes sólidos son bien conocidos en la técnica e incluyen, entre otros, materiales de columna, perlas de poliestireno, perlas de látex, perlas magnéticas, partículas metálicas coloidales, microplacas y superficies de vidrio y/o sílice, tiras de nitrocelulosa, membranas, láminas, duracitas, pocillos y paredes de bandejas de reacción, tubos de plástico, etc, disponibles en el mercado. El ligando o agente se puede unir a muchos vehículos diferentes. Ejemplos de vehículos bien conocidos incluyen vidrio, poliestireno, cloruro de polivinilo, polipropileno, polietileno, policarbonato, dextrano, nailon, amilosas, celulosas naturales y modificadas, poliacrilamidas, agarosas, y magnetita. La naturaleza del vehículo puede ser soluble o insoluble para los fines de la invención. Métodos adecuados para fijar/inmovilizar dicho ligando son bien conocidos e incluyen, pero no se limitan a interacciones iónicas, hidrofóbicas, covalentes y similares. Además se contempla el uso de "matrices de suspensión" tales como matrices de acuerdo con la presente invención (Nolan 2002, Trends Biotechnol. 20 (1): 9-12). En dichas matrices de suspensión, el vehículo, por ejemplo, una microperla o microesfera, está presente en suspensión. La matriz consiste en diferentes microperlas o microesferas, posiblemente marcadas, que portan diferentes ligandos. Generalmente se conocen métodos para producir dichas matrices, por ejemplo basados en química en fase sólida y grupos protectores fotolábiles (Patente de Estados Unidos N° 5.744.305).

El término "cantidad" tal como se usa en el presente documento incluye la cantidad absoluta de un polipéptido o péptido, la cantidad o concentración relativa de dicho polipéptido o péptido así como cualquier valor o parámetro que se correlaciona con las mismas o que se puede derivar de las mismas. Dichos valores o parámetros comprenden valores de la señal de intensidad a partir de propiedades físicas o químicas específicas obtenidas a partir de los péptidos mencionados con mediciones directas, por ejemplo, valores de intensidad en espectros de masas o espectros de RMN. Además, se incluyen todos los valores o parámetros que se obtienen con mediciones indirectas que se especifican en cualquier parte en la presente descripción, por ejemplo, niveles de respuesta determinados a partir de sistemas biológicos de lectura como respuesta a las señales de péptidos o de intensidad obtenidas a partir de ligandos unidos específicamente. Se debe entender que también se pueden obtener valores que se correlacionan con las cantidades o parámetros que se han mencionado anteriormente con todas las operaciones matemáticas convencionales.

En base al método de la presente invención, la disfunción miocárdica, en particular la insuficiencia cardiaca que existe antes de un SCA, en particular un IM (y que aún existe después del suceso agudo) se puede diagnosticar y tratar de forma más eficaz. El método de la presente invención, ventajosamente, permite un diagnóstico fiable, rápido y de un coste menor y se puede poner en práctica incluso en ensayos portátiles, tales como tiras de ensayo. Por lo tanto, el método es muy adecuado particularmente para diagnosticar a pacientes de emergencia. Gracias a los descubrimientos de la presente invención, una terapia adecuada para un sujeto se puede seleccionar de forma oportuna y fiable, por ejemplo, una terapia para la insuficiencia cardiaca. Se pueden evitar efectos secundarios graves causados por el tratamiento tardío y/o incorrecto de los pacientes.

Además se desvela un dispositivo para diagnosticar el tratamiento o combinación de tratamientos que se va a aplicar en el proceso de remodelación de un sujeto humano después de un infarto de miocardio, comprendiendo dicho dispositivo

- a) medios para determinar la cantidad de un péptido natriurético y la cantidad de una troponina cardiaca, en una muestra de dicho sujeto,
- b) medios para determinar la cantidad de un marcador inflamatorio, preferentemente osteopontina, GDF-15, y/o CRP, en una muestra de dicho sujeto; opcionalmente
- c) medios para diagnosticar si se va a iniciar una remodelación en el sujeto, en el que la medicación a aplicar en la remodelación se selecciona de acuerdo con el nivel de los péptidos determinados en a) y b).

Además se desvela un dispositivo para controlar la remodelación en un sujeto después de un infarto de miocardio, en el que la remodelación está apoyada con tratamiento o una combinación de tratamientos, comprendiendo dicho dispositivo

- d) medios para determinar de nuevo la cantidad de un péptido natriurético y la cantidad de una troponina cardiaca, en una muestra de dicho sujeto,
- e) medios para determinar de nuevo la cantidad de un marcador inflamatorio, preferentemente osteopontina, GDF-15, y/o CRP, en una muestra de dicho sujeto; opcionalmente
- f) medios para calcular la diferencia entre los valores a partir de la primera y la segunda medición; opcionalmente
- g) medios para evaluar, a partir de los datos obtenidos en las etapas d), e) y f), si la remodelación es satisfactoria; y opcionalmente
- h) medios para decidir sobre la adaptación de la medicación dependiendo de los resultados obtenidos en las etapas a) a g).

El término "dispositivo" tal como se usa en el presente documento se refiere a un sistema de medios que comprenden al menos los medios que se han mencionado anteriormente unidos de forma operativa entre sí para permitir el diagnóstico. Medios preferentes para determinar la cantidad de una troponina cardiaca y medios para determinar la cantidad de un péptido natriurético, y medios para calcular y diagnosticar si el sujeto está padeciendo un trastorno cardiovascular se han desvelado anteriormente en relación con el método de la invención. La forma de unir los medios de una forma operativa dependerá del tipo de medios incluidos en el dispositivo. Por ejemplo, cuando se aplican medios para determinar automáticamente la cantidad de los péptidos, los datos obtenidos con dichos medios de operación automática se pueden procesar, por ejemplo, con un programa informático para obtener los resultados deseados. Preferentemente, los medios están formados por un solo dispositivo en dicho caso. Por consiguiente, dicho dispositivo puede incluir una unidad analizadora para la medición de la cantidad de los péptidos o polipéptidos en una muestra aplicada y una unidad informática para procesar los datos resultantes para la evaluación. Como alternativa, cuando se usan medios tales como tiras de ensayo para determinar la cantidad de los péptidos o polipéptidos, los medios para la comparación pueden comprender tiras o tablas de control para distribuir la cantidad determinada respecto a una cantidad de referencia. Las tiras de ensayo, preferentemente, se acoplan a un ligando que se une específicamente a los péptidos o polipéptidos que se mencionan en el presente documento. La tira o dispositivo, preferentemente, comprende medios para la detección de la unión de dichos péptidos o polipéptidos al ligando mencionado. Se desvelan medios preferentes para la detección en relación con realizaciones que se refieren al método de la invención anterior. En dicho caso, los medios se unen operativamente de forma que el usuario reúna en conjunto el resultado de la determinación de la cantidad y el valor del diagnóstico o pronóstico del mismo según las instrucciones e interpretaciones que se proporcionan en un manual. Los medios se pueden presentar como dispositivos separados en dicha realización y, preferentemente, se envasan conjuntamente como un kit. El experto en la materia se dará cuenta de cómo unir los medios sin más. Los dispositivos preferentes son los que se pueden aplicar sin el conocimiento particular de un profesional médico especializado, por ejemplo, tiras de ensayo o dispositivos electrónicos que simplemente necesitan la carga con una muestra. Los resultados se pueden dar como una salida de datos sin procesar que necesitan la interpretación del profesional médico. Preferentemente, la salida del dispositivo, sin embargo, procesa, es decir, evalúa, datos sin procesar de manera que su interpretación no requiere un profesional médico. Además, los dispositivos preferentes comprenden las unidades/dispositivos de análisis (por ejemplo, biosensores, matrices, soportes sólidos acoplados a ligandos que reconocen específicamente el péptido natriurético, Dispositivos de resonancia de plasmones superficiales, espectrómetros de RMN, espectrómetros de masas, etc.) o unidades/dispositivos de evaluación mencionados anteriormente de acuerdo con el método de la invención.

Además se desvela un kit para diagnosticar la medicación que se va a aplicar en el proceso de remodelación de un sujeto después de un infarto de miocardio, comprendiendo dicho kit instrucciones para realizar el método mencionado y

- 5 a) medios para determinar la cantidad de un péptido natriurético y la cantidad de una troponina cardiaca, en una muestra de dicho sujeto,
- b) medios para determinar la cantidad de un marcador inflamatorio, preferentemente osteopontina, GDF-15, CRP, en una muestra de dicho sujeto; opcionalmente
- 10 c) medios para diagnosticar si se va a iniciar una remodelación en el sujeto, en el que la medicación a aplicar en la remodelación se selecciona de acuerdo con el nivel de los péptidos determinados en a) y b).

Además se desvela un kit para controlar la remodelación en un sujeto después de un infarto de miocardio, en el que la remodelación está apoyada con medicación, comprendiendo dicho kit instrucciones para realizar el método mencionado, medios para realizar las etapas a), b) y c) tal como se ha mencionado anteriormente; y

- 15 d) medios para determinar de nuevo la cantidad de un péptido natriurético y la cantidad de una troponina cardiaca, en una muestra de dicho sujeto,
- e) medios para determinar la cantidad de un marcador inflamatorio, preferentemente osteopontina, GDF-15, CRP, en una muestra de dicho sujeto; opcionalmente
- 20 f) medios para calcular la diferencia entre los valores a partir de la primera y la segunda medición; opcionalmente
- g) medios para evaluar, a partir de los datos obtenidos en d), e) y f), si la remodelación es satisfactoria; y opcionalmente
- h) medios para decidir sobre la adaptación de la medicación dependiendo de los resultados obtenidos en las etapas a) a g).

25 El término "kit" tal como se usa en el presente documento se refiere a una colección de los medios que se han mencionado anteriormente, preferentemente, dispuestos por separado o dentro de un solo envase. El envase, también preferentemente, comprende instrucciones para realizar el método de la presente invención. Por lo tanto, un kit adaptado para realizar el método de la presente invención comprende todos los componentes necesarios para poner en práctica dicho método de una forma lista para usar, por ejemplo, en una forma mezclada previamente con concentraciones ajustadas de los componentes usados para la determinación y/o comparación.

30 Todas las referencias citadas en la presente memoria descriptiva se incorporan en el presente documento por referencia en relación con el contenido total de la divulgación y el contenido de la divulgación mencionado específicamente en la presente memoria descriptiva.

Los siguientes Ejemplos ilustrarán simplemente la invención. No se deberán interpretar, en absoluto, como limitantes del alcance de la invención.

40 **Ejemplo 1:**

En 202 pacientes a los que se les ha diagnosticado IM agudo, se midieron los parámetros de NT-proBNP, Troponina T ultrasensible, CRP, GDF 15 y osteopontina en un punto temporal de 2-3 días después del infarto y de nuevo 3 meses después del infarto. Se mostró que la disminución de los parámetros dependía del nivel inicial de NT-proBNP. Los niveles de los péptidos disminuyeron de forma individual. No se pudo determinar una correlación entre los parámetros, lo que significa que deberían representar diferentes modos de acción.

Se determinaron niveles de NT-proBNP con un inmunoensayo en un Elecsys 2010 con un límite de detección de 20 pg/ml.

50 Los resultados del estudio se muestran en la siguiente tabla y en las Figuras 1 a 10. En el presente documento, las Figuras 1 a 5 ilustran los valores citados en la tabla, se clasifican parcialmente de acuerdo con los valores de NT-proBNP por encima y por debajo del valor medio y muestran el cambio (en %) dependiendo del valor inicial de NT-proBNP; las Figuras 6 a 10 ilustran las correlaciones de los biomarcadores iniciales en el punto temporal = 0 y muestran si estos marcadores son dependientes o independientes.

	Relación de NT-proBNP/hsTnT en el Punto Temporal 0			
N = 166	41	41	42	42
	1. cuartil	2. cuartil	3. cuartil	4. cuartil
Relación, mediana (intervalo)	0,34 (0,10-0,56)	0,86 (0,56-1,27)	2,46 (1,32-3,93)	10,35 (4,10-285,02)
NT-proBNP [pg/ml], mediana	624,10	827,2	1216,5	3369
Hs Troponina T [pg/ml], mediana	1904,5	980,4	515,45	238,25

ES 2 457 529 T3

Relación de NT-proBNP/hsTnT en el Punto Temporal 0				
N = 166	41	41	42	42
	1. cuartil	2. cuartil	3. cuartil	4. cuartil
GDF-15 [pg/ml], mediana	1450	1800	2280	3270
Osteopontina [ng/ml], mediana	856	1036	1050	1198,5
Hs CRP [mg/l], mediana	16,7	13,02	15,22	9,90
Relación de NT-proBNP/hsTnT en el Punto Temporal 3 meses				
N = 166	41	41	42	42
	1. cuartil	2. cuartil	3. cuartil	4. cuartil
NT-proBNP [pg/ml], mediana	273,6	481,20	759,35	1245
Hs Troponina T [pg/ml], mediana	9,80	12,8	16,10	23,85
GDF-15 [pg/ml], mediana	1330	1730	2410	2860
Osteopontina [ng/ml], mediana	647	728	806	812
Hs CRP [mg/l], mediana	1,55	2,11	1,92	1,81

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para diagnosticar el tratamiento o combinación de tratamientos que se va a aplicar en el proceso de remodelación de un sujeto humano después de un infarto de miocardio, comprendiendo dicho método

5 a) determinar en un momento dado, comprendido entre 1 y 3 días después del suceso agudo, la cantidad de un péptido natriurético, una troponina cardiaca y al menos un marcador inflamatorio en una muestra de dicho sujeto humano;

10 b) decidir sobre la continuación, modificación o terminación de la administración de un medicamento para iniciar una remodelación en el sujeto humano, en el que la medicación a aplicar en la remodelación se selecciona de acuerdo con el nivel de los péptidos determinados en a);

15 i) en el que el péptido natriurético es NT-proBNP, y en el que un nivel de NT-proBNP  $\geq 300$  pg/ml es indicativo de la administración de la siguiente medicación: agentes que realizan una función cardiaca, en el que

ii) el marcador inflamatorio es GDF-15, y en el que un nivel de GDF-15  $\geq 800$  pg/ml es indicativo de la administración de la siguiente medicación:

20 inhibidores de ACE, antagonistas de receptores de angiotensina; estatinas; AINES; inhibidores selectivos de COX-2 o en el que el marcador inflamatorio es proteína C-reactiva (CRP) y en el que un nivel de CRP  $\geq 3$  pg/ml es indicativo de la administración de la siguiente medicación: estatinas, o en el que el marcador inflamatorio es osteopontina, y en el que un nivel de osteopontina  $\geq 500$  pg/ml es indicativo de la administración de la siguiente medicación: inhibidores de ACE, antagonistas de receptores de angiotensina, antagonistas de aldosterona, y en el que

25 iii) la Troponina cardiaca es Troponina T y en el que se aplica una intervención percutánea si el nivel de Troponina T no desciende a valores de un 80 % o inferiores del nivel medido después del suceso.

30 2. El método de la reivindicación 1, en el que dichos agentes que realizan una función cardiaca se seleccionan entre el grupo que consiste en beta bloqueantes; diuréticos; diuréticos de asa; nitratos; agentes inotrópicos positivos.

35 3. Un método para controlar la remodelación en un sujeto humano después de un infarto de miocardio, en el que se ayuda a la remodelación con un tratamiento o una combinación de tratamientos, comprendiendo dicho método realizar las etapas a) y b) tal como se establece en las reivindicaciones 1 o 2, y las etapas adicionales de

c) determinar de nuevo la cantidad de un péptido natriurético, una troponina cardiaca y al menos un marcador inflamatorio, en una muestra de dicho sujeto humano;

d) calcular la diferencia entre los valores a partir de la primera y la segunda medición;

40 e) evaluar, a partir de los datos obtenidos en c) y d), si la remodelación es satisfactoria, en el que el marcador inflamatorio es osteopontina y una disminución  $\geq 40$  % indica que la administración del fármaco se puede reducir, en el que el marcador inflamatorio es GDF-15 y una disminución  $\geq 20$  % indica que la administración del fármaco se puede reducir, o en el que el marcador es CRP y una disminución a un nivel de 33 pg/ml de CRP indica que la administración del fármaco respectivo se puede reducir.



Fig. 1

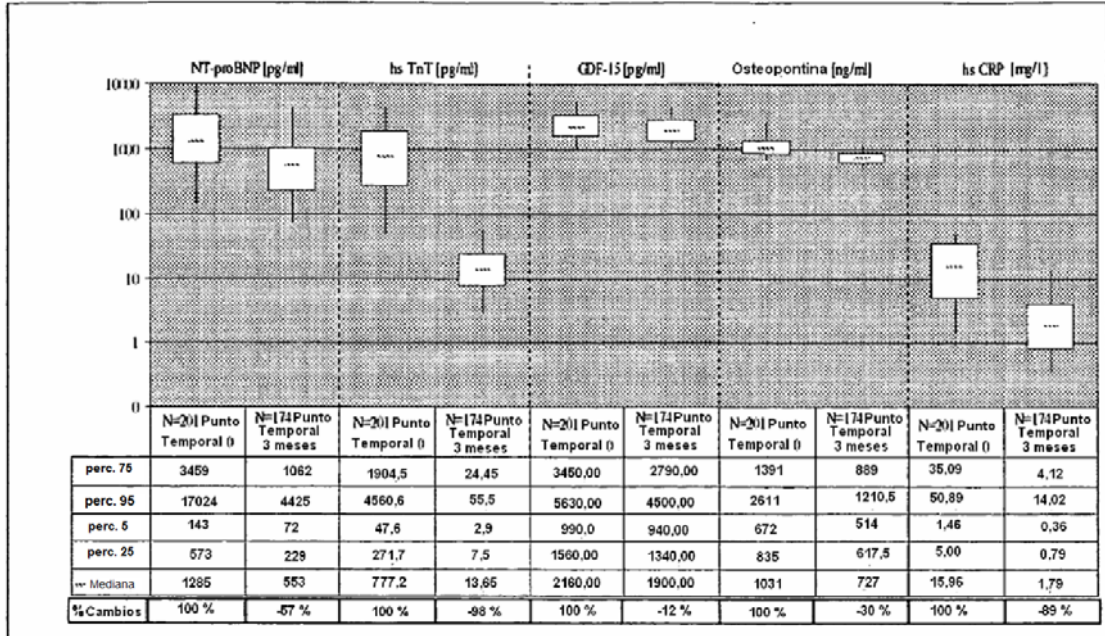


Fig. 2

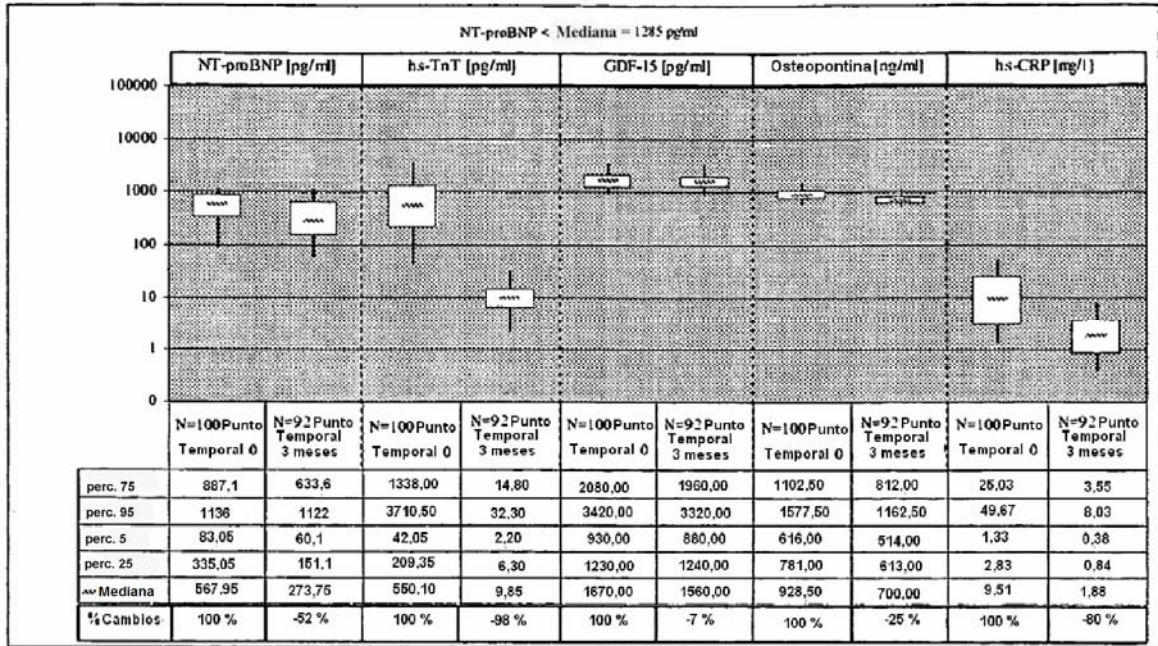


Fig. 3

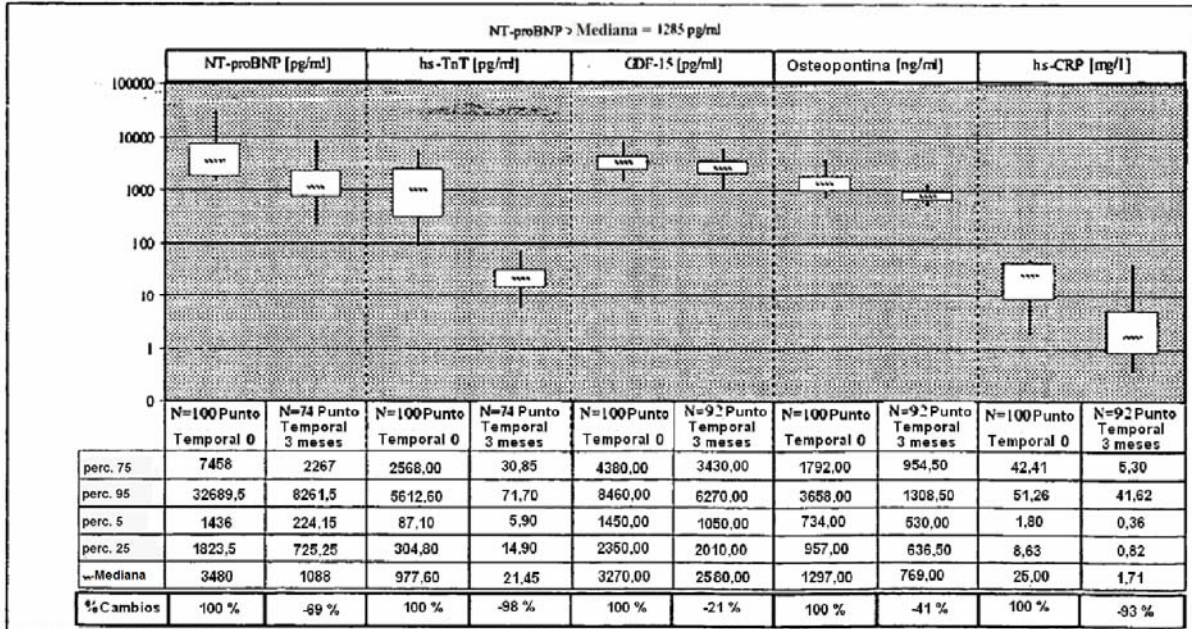


Fig. 4

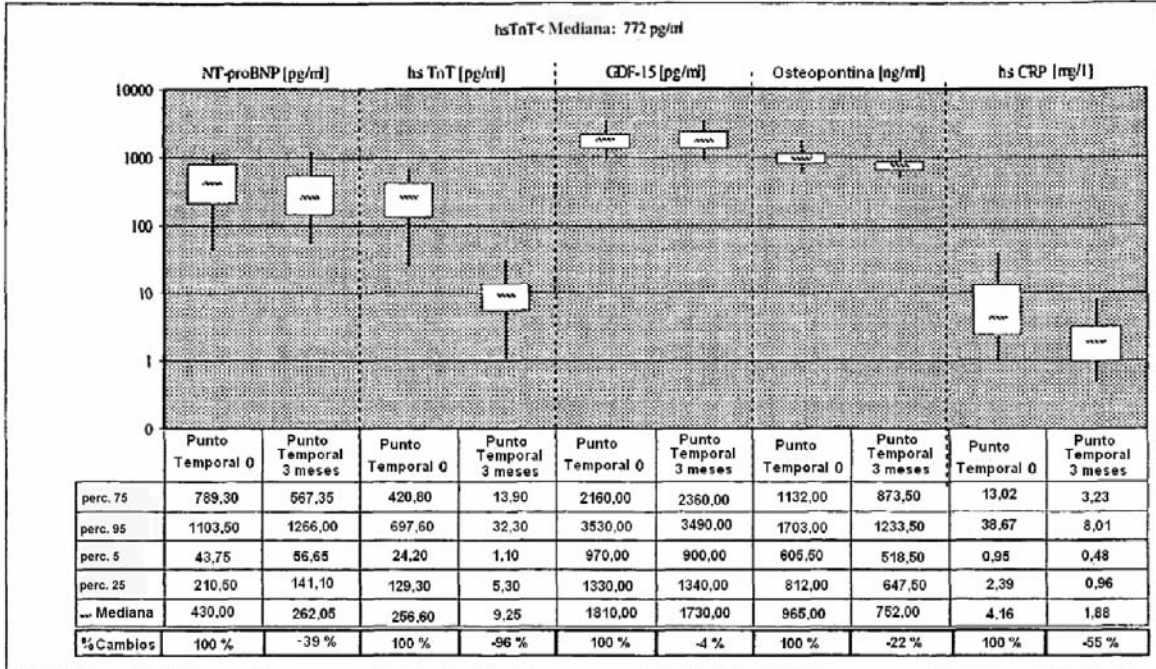


Fig. 5

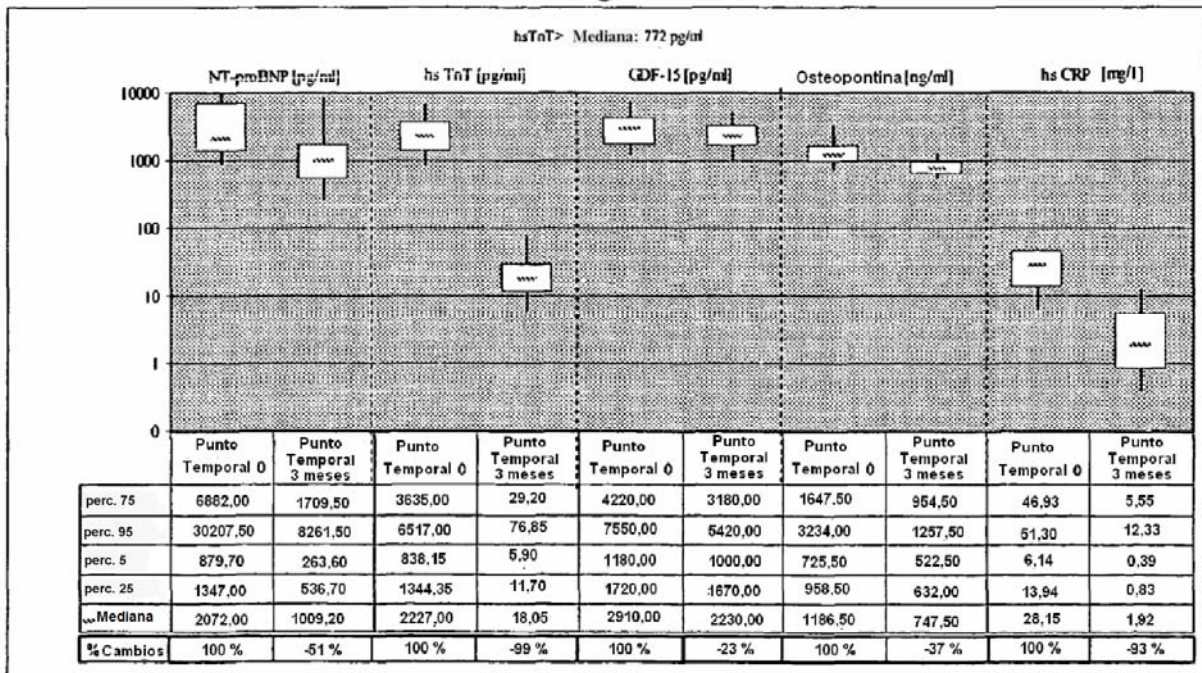


Fig. 6

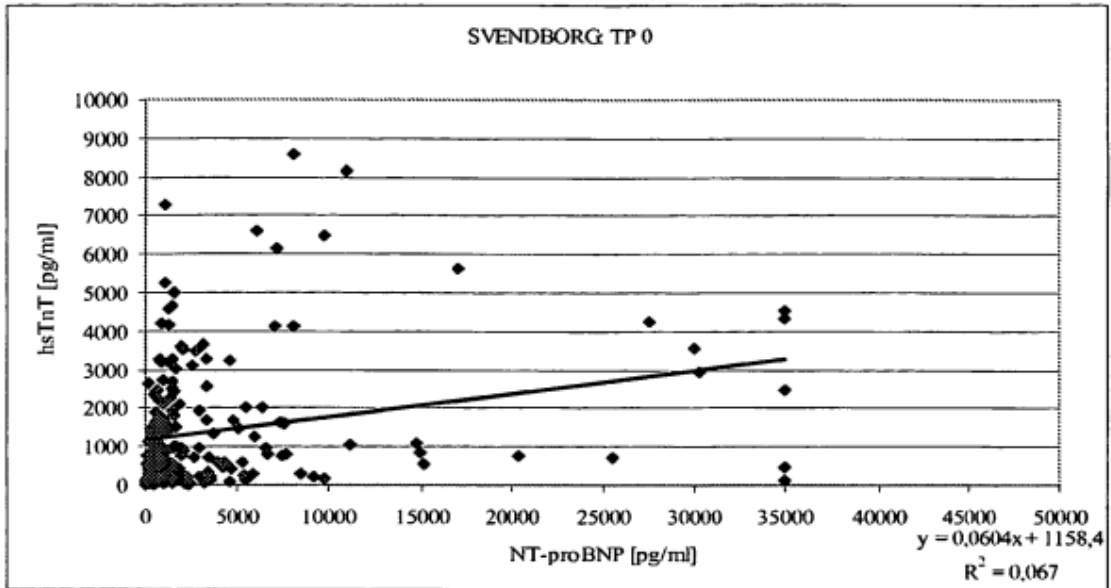


Fig. 7

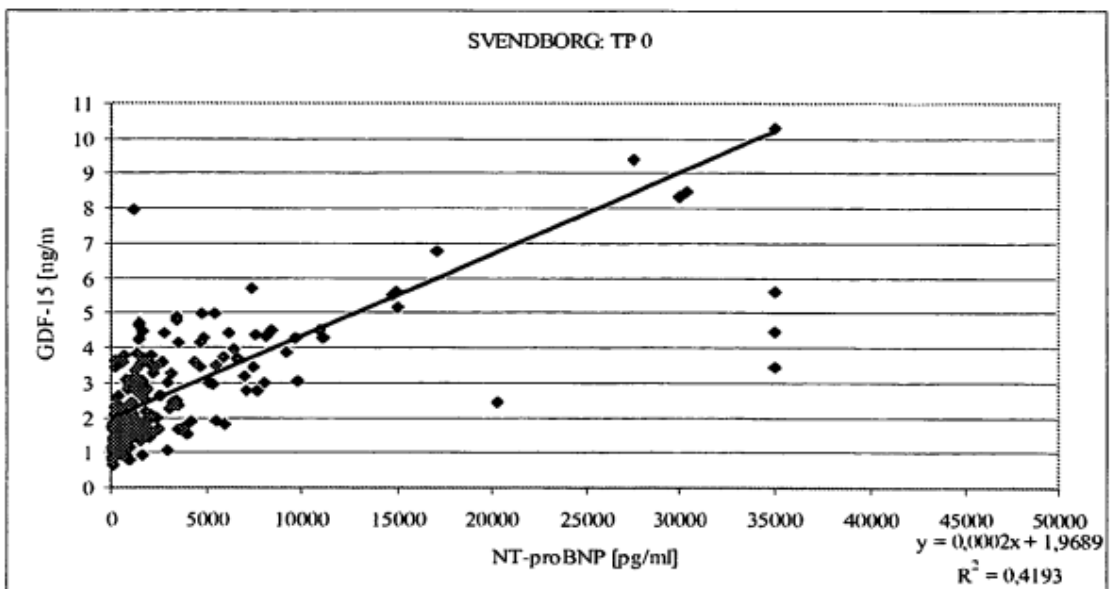


Fig. 8

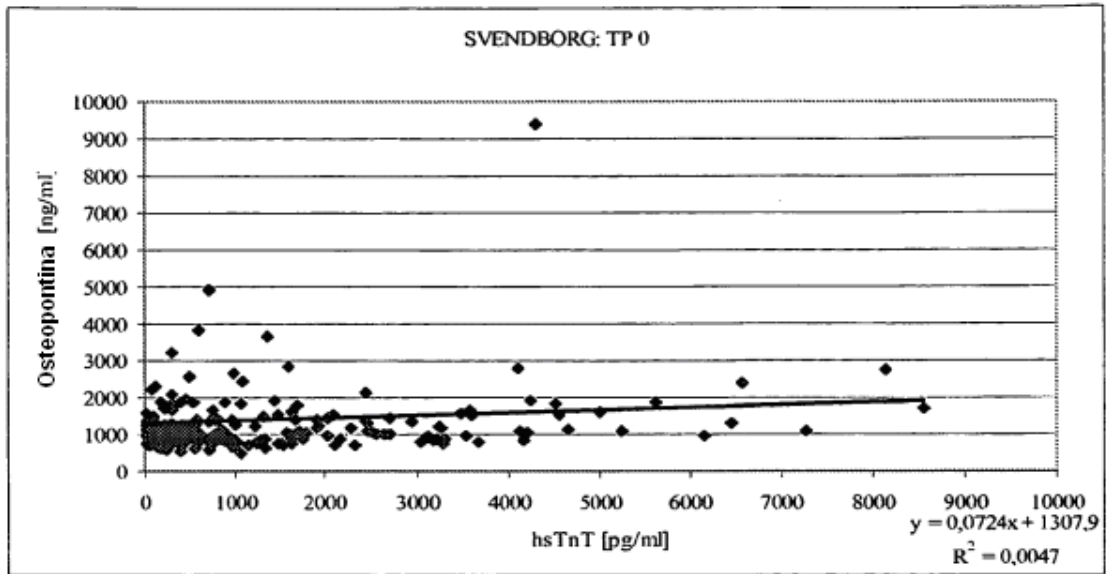


Fig. 9

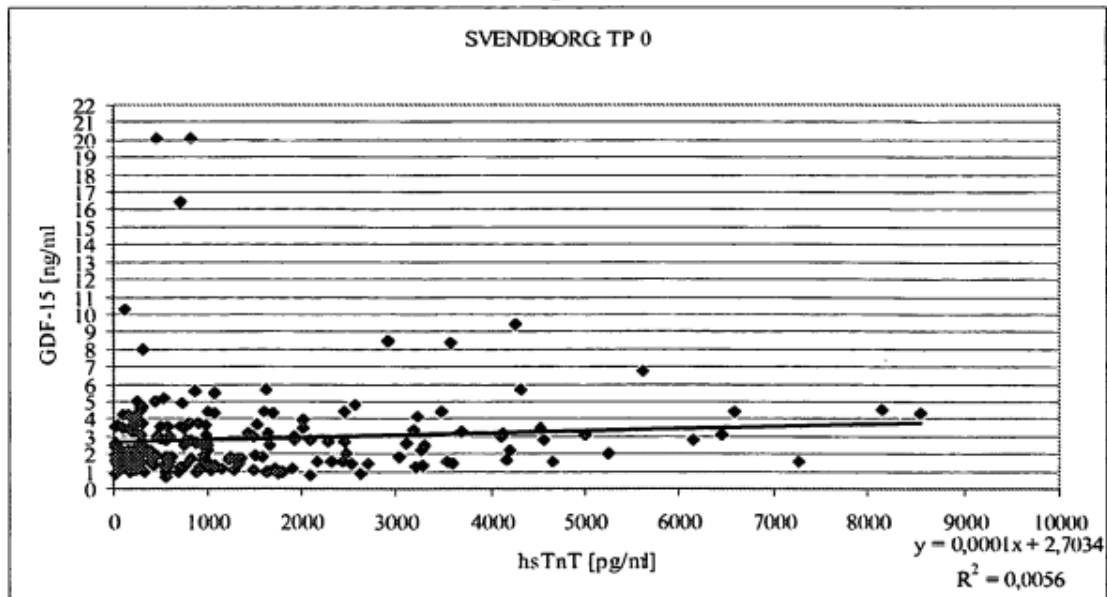


Fig. 10

