

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 397 345**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

A61K 31/485 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.05.2005 E 05748517 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2012 EP 1756310**

54 Título: **Método para detectar polimorfismos en el gen de la ABCB1 asociados con una falta de respuesta a un medicamento activo en el SNC y medicamento que comprende un agente inhibidor de la ABCB1 para su uso en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el SNC**

30 Prioridad:

12.05.2004 US 570085 P

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

06.03.2013

73 Titular/es:

**MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR
FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V.
(100.0%)
HOFGARTENSTRASSE 8
80539 MÜNCHEN, DE**

72 Inventor/es:

**UHR, MANFRED;
HOLSBOER, FLORIAN;
BINDER, ELISABETH y
MÜLLER-MYHSOK, BERTRAM**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 397 345 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

Método para detectar polimorfismos en el gen de la ABCB1 asociados con una falta de respuesta a un medicamento activo en el SNC y medicamento que comprende un agente inhibidor de la ABCB1 para su uso en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el SNC

5 El presente invento se refiere a unos métodos para determinar el pronóstico de una respuesta clínica en un paciente humano a un medicamento que actúa en el sistema nervioso central (SNC, acrónimo de central nervous system) y que es un sustrato de la proteína ABCB1. Además, el invento se refiere a una composición terapéutica y a un estuche terapéutico destinado a usarse en el tratamiento de pacientes humanos que tienen unos polimorfismos específicos en el gen de la ABCB1.

10 La depresión es un trastorno médico muy corriente, con prevalencias durante toda una vida de hasta 14 %, afectando de esta manera a millones de personas por todo el mundo. Mientras que los antidepresivos constituyen el tratamiento más efectivo para trastornos depresivos, todavía hay una necesidad sustancial de mejoramiento de la terapia. Hasta ahora, no hay criterios objetivos para la elección del tratamiento óptimo con antidepresivos para un paciente individual. Los pacientes deprimidos son tratados por lo tanto sobre una base de tanteo, dando como
15 resultado una tasa de fallo de un único intento de tratamiento en hasta un 30-40 %, incluso en la presencia de unos niveles en plasma suficientemente altos ¹. Sin embargo, unos niveles de fármacos en plasma, que se consideran como que incitan una respuesta clínica pueden, sin embargo, no traducirse en unos adecuados niveles intracerebrales de fármacos en todos los pacientes a causa de unas actividades de moléculas transportadoras expresadas junto a la membrana luminal de las células endoteliales que revisten a los pequeños capilares
20 sanguíneos que forman la barrera hematoencefálica. Una de las moléculas más estudiadas de esta última clase es una glicoproteína p ^{2,3}. Una glicoproteína p es un miembro de la superfamilia altamente conservada de proteínas transportadoras ⁴ de una casete de fijación de ATP (ABC). En seres humanos, esta glicoproteína p de 170 kDa es codificada en el cromosoma 7 por el gen de la ABCB1, también conocido como el gen de resistencia a múltiples fármacos (MDR1, acrónimo de multidrug resistance 1) ^{5,6}. Esta proteína de membrana plasmática transporta
25 activamente sus sustratos frente a un gradiente de concentraciones. Una glicoproteína p actúa como una bomba de eflujo activa para compuestos xenobióticos, así como para sustratos endógenos tales como algunos esteroides ^{7,8}.

Se encontró que la proteína ABCB1 está implicada en la asimilación de citalopram y trimipramina dentro del cerebro de ratones. Se especuló sobre que unas diferencias interindividuales en la actividad del gen de la ABCB1 puede
30 responder en parte de la gran variación en la respuesta clínica a antidepresivos en pacientes psiquiátricos, incluso con unos comparables niveles en plasma ²⁶. Sin embargo, no hay ninguna sugerencia de que existan en el gen de la ABCB1 unos polimorfismos que están asociados con una falta de respuesta clínica a ciertos medicamentos. Un estudio adicional mostró una diferente intensificación de la penetración de los antidepresivos doxepina, venlafaxina y paroxetina en el cerebro de ratones con una mutación de supresión de la respuesta inmune (knockout) abcb1ab ²⁹.
35 Sin embargo, no se describen unos polimorfismos en el gen de la ABCB1 con una respuesta clínica a ciertos medicamentos.

Una investigación de polimorfismos en el gen de la ABCB1 y de una manía inducida por antidepresivos mostró que no había ninguna asociación entre una manía inducida por antidepresivos y unos alelos o genotipos de la ABCB1 ³⁰. Parece ser que estos resultados indican que unos polimorfismos en el gen de la ABCB1 no tienen importancia
40 clínica. Además, un reciente artículo recopilativo indica que los efectos anteriormente informados de los polimorfismos en el gen de la ABCB1 han resultado ser inconsistentes y en algunos casos conflictivos ³¹.

El documento de solicitud de patente internacional WO 01/09183 describe unos polimorfismos en el gen de la ABCB1 humana destinados a su uso en ensayos de diagnóstico con el fin de mejorar una terapia con fármacos consagrados y ayudar a correlacionar unos genotipos con la actividad de un fármaco y efectos colaterales del
45 mismo. Este documento no describe unos polimorfismos asociados con la respuesta clínica a antidepresivos. El documento de solicitud de patente de los EE.UU. US 2001/0034023 se refiere generalmente a unos métodos para identificar unas variaciones de secuencias en diferentes genes con el fin de averiguar la eficacia y la seguridad de unas terapias médicas. Aunque se mencionan unos SNPs en el gen de la ABCB1, no existe ninguna evidencia de polimorfismos específicos que estén asociados con la respuesta clínica a antidepresivos.

50 Por lo tanto, hasta ahora, no se han identificado en el gen de la ABCB1 unos polimorfismos que tengan una asociación manifiesta y significativa con la respuesta clínica a ciertos medicamentos que actúan en el sistema nervioso central y que son sustratos para la proteína ABCB1.

En este estudio se ensayó si tres antidepresivos corrientemente usados son sustratos de una glicoproteína p, usando unos ratones transgénicos que carecen de los homólogos de la ABCB1 y sus crías de la misma camada de
55 tipo salvaje. Luego, se investigó la asociación de polimorfismos de nucleótidos únicos (SNPs, acrónimo de single

nucleotide polymorphisms) en el gen de la ABCB1 con la respuesta clínica a fármacos antidepresivos en 255 pacientes deprimidos.

Sorprendentemente, se identificaron en el gen de la ABCB1 unos polimorfismos, situados particularmente en los intrones de los genes, que tienen una asociación manifiesta y estadísticamente relevante con una respuesta clínica insuficiente, p.ej. un estado de alivio de las seis semanas de tratamientos con los antidepresivos citalopram, paroxetina y/o venlafaxina. La determinación de los genotipos de estos polimorfismos permite predecir la respuesta clínica a un sustrato de la ABCB1 con una certidumbre de más de un 75 %, abriendo una ruta hacia el diagnóstico y unos métodos terapéuticos basados en los genotipos.

Un primer aspecto del invento se refiere a un método *in vitro* para determinar el pronóstico de una respuesta clínica en un paciente humano a un medicamento activo en el sistema nervioso central (SNC), que es un sustrato de la proteína ABCB1, en el que se determina la presencia de por lo menos un polimorfismo en el gen de la ABCB1 de dicho paciente, en el que dicho polimorfismo está asociado con una respuesta clínica retrasada, parcialmente sub-óptima o ausente a dicho medicamento, y en el que el polimorfismo está situado dentro del exón 29, del intrón 5, 13, 21, 22 o 23 o de la secuencia 3'UTR del gen de la ABCB1 humana.

También se describe una composición o un estuche de diagnóstico para el pronóstico de una respuesta clínica en un paciente humano a un medicamento activo en el SNC, que es un sustrato de la proteína ABCB1, que comprende por lo menos un cebador o una sonda para determinar por lo menos un polimorfismo en el gen de la ABCB1 en dicho paciente, en el que dicho polimorfismo está asociado con una respuesta clínica retrasada, parcialmente sub-óptima o ausente a dicho medicamento.

Además se describe una micromatriz para el pronóstico de una respuesta clínica en un paciente humano a un medicamento activo en el SNC, que es un sustrato de la proteína ABCB1 que comprende un vehículo que tiene inmovilizada en el por lo menos una sonda para determinar por lo menos un polimorfismo en el gen de la ABCB1 en dicho paciente, en la que dicho polimorfismo está asociado con una respuesta clínica retrasada, parcialmente sub-óptima o ausente a dicho medicamento.

Además, se describe un cebo o una sonda para el pronóstico de una respuesta clínica en un paciente humano a un medicamento activo en el SNC, que es un sustrato de la proteína ABCB1 que comprende un vehículo que tiene inmovilizado en él por lo menos una sonda para determinar por lo menos un polimorfismo en el gen de la ABCB1 en dicho paciente, en el o la que dicho polimorfismo está asociado con una respuesta clínica retrasada, parcialmente sub-óptima o ausente a dicho medicamento.

Finalmente, un aspecto adicional del invento se refiere a una composición terapéutica o un estuche terapéutico como se definen en la reivindicación 14.

El presente invento describe por primera vez en el gen de la ABCB1 humana unos polimorfismos, que tienen una asociación estadísticamente significativa con una respuesta clínica retrasada, parcialmente sub-óptima o ausente a ciertos medicamentos que actúan en el sistema nervioso central y que son sustratos de la proteína ABCB1. Una asociación estadísticamente significativa es preferiblemente $p < 0,05$, más preferiblemente $p < 0,01$ y de modo sumamente preferible $p < 0,001$. Los polimorfismos son preferiblemente unos polimorfismos de un único nucleótido (SNPs). Sorprendentemente, se encontró que unos polimorfismos asociados con una respuesta clínica retrasada, parcialmente sub-óptima o ausente a dicho medicamento pueden presentarse en exones, intrones y/o la secuencia 3'UTR del gen de la ABCB1 humana, a saber en el exón 29, en el intrón 5, 13, 21, 22 ó 23 y/o en la secuencia 3'UTR del gen de la ABCB1 humana.

Preferiblemente, los polimorfismos se seleccionan entre el conjunto que consiste en rs 2235015, rs 2235040, rs 2235067, rs 2032583, rs 17064, rs 2032588, rs 1055302 y combinaciones de los mismos. Más preferiblemente, el polimorfismo es el rs 2235015 o rs 2235040. De manera sumamente preferible, el polimorfismo es el rs 2235015. La secuencia del gen de la ABCB1 humana que incluye los intrones se describe en la secuencia de referencia humana del National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Centro Nacional de Información sobre Biotecnología]. La secuencia es accesible en bases de datos de genes tales como las del NCBI, o del Genomics Browser [Navegador Genómico] (UCSC) que usa el reg. Sep # = ONM.000927 o el gen ID de la ABCB1. Con respecto a la nomenclatura de los polimorfismos se hace referencia a la ABCB1 en la casete de fijación a ATP chr7:86731406-86940797 - (NM_000927) ATP, sub-familia B (MDR/TAP), NM # es = Número de la Secuencia de Referencia, Localización en el genoma de acuerdo con la secuencia de referencia humana de Abril de 2003 (UCSC versión hg15) basada en NCBI Build 33. Todos los polimorfismos han sido seleccionados a partir de la base pública de datos de SNP (www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP). La situación de los SNPs dentro de la ABCB está de acuerdo con la secuencia de referencia humana de Abril de 2003 (UCSC versión mg 15; www.genome.ucsc.edu). Los polimorfismos más preferidos, que se han enumerado anteriormente, se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Polimorfismos en la ABCB1 humana

Referencia nº	Posición	Secuencia
NM_000927	86797791	AACACNNNNAGAATT[A/T]TGAAGAGGTATCTGT
NM_000927	86763977	CTCCTTTCTACTGGT[G/A]TTTGTCTTAATTGGC
NM_000927	86748149	AAAGTACAAGACCCT[G/A]AACTAAGGCAGGGAC
NM_000927	86758788	TAGAGTAAAGTATTC[T/C]AATCAGTGTTATTTT
NM_000927	86731697	AACACNNNNAGAATT[A/T]TGAAGAGGTATCTGT
NM_000927	86777670	GCGGTGATCAGCAGT[C/T]ACATTGCACATCTTT
NM_000927	86731143	CCCAAACACAGATC[G/A]ATATAAGATTTTAGG

5 Los medicamentos activos en el SNC se seleccionan preferiblemente entre el conjunto que consiste en antidepresivos, ansiolíticos, hipnóticos, intensificadores cognitivos, antipsicóticos, agentes neuroprotectores, antieméticos, antiepilépticos, antibióticos, agentes contra el cáncer, antimicóticos, agentes contra la enfermedad de Parkinson, agentes antivíricos, glucocorticoides, inmunosupresores, estatinas, neurolépticos, y opioides. Una clase preferida de medicamentos la constituyen los antidepresivos. Ejemplos de medicamentos activos en el SNC se describen en la cita de Schatzberg y Nemeroff, "The American Psychiatric Publishing Textbook of Psychopharmacology" [Libro de texto de psicofarmacología de La Editorial Psiquiátrica Americana] Amer Psychiatric Pr, 2004.

10 Una clase preferida de medicamentos la constituyen los antidepresivos. Unos ejemplos de antidepresivos son imipramina, amitriptilina, óxido de amitriptilina, bupropiona, citalopram, clomipramina, doxepina, desipramina, flesinoxano, fluoxetina, fluvoxamina, maprotilina, mirtazepina, mianserina, moclobemida, nefazodona, nortriptilina, paroxetina, selegilina, sertralina, tranilcipromina, trazodona, trimipramina y venlafaxina. Ejemplos preferidos de antidepresivos que son sustratos de la proteína ABCB1, son amitriptilina, citalopram, doxepina, flesinoxano, nortriptilina, paroxetina, trimipramina y venlafaxina. Unos ejemplos especialmente preferidos de antidepresivos son citalopram, venlafaxina o paroxetina.

15 Unos medicamentos para el SNC adicionalmente preferidos son ansiolíticos, hipnóticos, intensificadores cognitivos y antipsicóticos. Ejemplos de ansiolíticos incluyen pero no se limitan a alprazolam, bromazepam, clonazepam, diazepam, lorazepam, halazepam, clordiazepóxido, buspirona, azapirona, pagoclone, prazosina, biperideno y kava kava. Unos ejemplos de medicamentos hipnóticos son secobarbital, pentobarbital, metacualona, etclorvinol, hidrato de cloral y meprobamato. Unos ejemplos de medicamentos intensificadores cognitivos son acetil L-carnitina (ALCAR), adrafinilo, aniracetam, deprenilo, galantamina, hidergina, idebenona, modafinilo, picamilon, piracetam, piritinol, vasopresina y vinpocetina. Unos ejemplos de medicamentos antipsicóticos son risperidona, olanzapina, quetiapina y ziprasidona, cloropromazina, flufenazina, trifluoperazina, perfenazina, tioridazina, haloperidol, tiotixeno, molindona, loxapina, clozapina, olanzapina, quetiapina, risperidona, sertindol, ziprasidona, amisulpida, aripiprazol, benperidol, cloropromazina, clorprotixeno, flupentixol, fluspirileno, levomepromazina, benperidol, melperona, perazina, perfenazina, pimozida, pipamperona, sulpirida, triflupromazina, zotepina y zuclopentixol.

20 Unos ejemplos adicionalmente preferidos de sustratos de la proteína ABCB1 son medicamentos antieméticos tales como domperidona u ondansetrona, medicamentos antiepilépticos tales como carbamazepina, felbamato, lamotrigina, fenobarbital y fenitoína, agentes contra la enfermedad de Parkinson tales como budipina o L-Dopa, compuestos neurolépticos tales como olanzapina, quetiapina, risperidona y sulpirida, o medicamentos opioides tales como fentanil o morfina.

25 Los pacientes que se han de ensayar son unos pacientes humanos que padecen de un trastorno que puede ser tratado con un medicamento activo en el SNC, p.ej. un trastorno psiquiátrico. Particularmente, los pacientes tienen un trastorno depresivo, una distimia y/o un trastorno bipolar.

30 El presente invento se refiere a la determinación del pronóstico de una respuesta clínica en un paciente humano. El término "una respuesta clínica" en la presente solicitud con respecto a antidepresivos se refiere a un estado de alivio después de seis semanas de tratamiento. Unos métodos para averiguar un estado de alivio son bien conocidos en la especialidad. Por ejemplo, un alivio puede ser evaluado de acuerdo con la Escala de Calificación de Depresiones de Hamilton (HAM-D; Hamilton, Br. J. Soc. Clin. Psychol. 6 (1967) 278-296). Una calificación HAM-D de 10 o por debajo es considerada como un alivio de los síntomas depresivos. Un alivio puede ser también averiguado de acuerdo con

una normalización del eje hipotalámico, pituitario y adrenocortical (HPA). El desarrollo y el curso de una depresión están vinculados causalmente con perjuicios en la regulación central del eje HPA. Unas anomalías en el eje HPA pueden ser medidas usando el ensayo de supresión con dexametasona (DST) o el ensayo combinado con dexametasona y con la hormona liberadora de corticotropina (Dex/CRH). Unos cambios en las mediciones de cortisol y/o de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) durante el ensayo DST o Dex/CRH, son indicativos de una disfunción del HPA mientras que una normalización del cortisol y/o de la ACTH es indicativa de un alivio (Heuser y colaboradores J. Psychiat. Res. 28 (1994) 341-356; Rybakowski y Twardowska, J. Psychiat. Res. 33 (1999) 363-370; Zobel y colaboradores J. Psychiat. Res. 35 (2001) 83-94; Künzel y colaboradores Neuropsychopharmacology (Neuropsicofarmacología) 28 (2003) 2169-2178). Los métodos y las condiciones para realizar los ensayos DST y Dex/CRH son bien conocidos en la especialidad, véanse, por ejemplo, las citas de Heuser y colaboradores J. Psychiat. Res. 28 (1994) 341-356; y de Künzel y colaboradores Neuropsychopharmacology 28 (2003) 2169-2178. Dicho brevemente, unos individuos pueden ser previamente tratados a las 23:00 con una administración por vía oral de 1,5 mg de dexametasona. Para el ensayo DST, una muestra de sangre puede ser extraída a las 8:00 antes de una administración de dexametasona (es decir pre-dexametasona) y a las 8:00 de la mañana siguiente a una administración de dexametasona (es decir post-dexametasona). Para el ensayo Dex/CRH, un catéter venoso puede ser introducido a las 14:30 del día que sigue a la administración de dexametasona y se puede recoger sangre a las 15:00, 15:30, 15:45, 16:00 y 16:15 dentro de unos tubos que contienen EDTA y trasilol (Bayer Inc., Alemania). A las 15:02, se pueden administrar por vía intravenosa 100 mg de CRH humana (Ferring Inc., Alemania). Una medición de las concentraciones de cortisol en plasma se puede hacer de acuerdo con métodos conocidos, p.ej. usando un estuche de radioinmunoensayo comercial (de ICN Biomedicals, EE.UU.). Las concentraciones de ACTH en plasma pueden también ser medidas de acuerdo con métodos conocidos, p.ej. usando un ensayo inmunométrico comercial (de Nichols Institute, EE.UU.). Con respecto a otras clases de medicamentos, el término "respuesta clínica" puede ser definido como una reducción de la gravedad de los síntomas en más de un 50 % con respecto a la gravedad de los síntomas al comienzo de un tratamiento.

La presencia de un polimorfismo asociado con una respuesta clínica retrasada, parcialmente sub-óptima o ausente a un medicamento se determina preferiblemente con un análisis de determinación del genotipo del paciente humano. Este análisis de determinación del genotipo comprende frecuentemente el uso de unos cebadores y/o unas sondas que son específicos/as de un polimorfismo, capaces de hibridarse con el gen de la ABCB1 humana y que permiten realizar una discriminación entre polimorfismos, particularmente SNPs en una posición predeterminada. Por ejemplo, el análisis de determinación del genotipo puede comprender una primera reacción de elongación usando unos cebadores específicos para un polimorfismo tal como se describe en los Ejemplos. La determinación de polimorfismos individuales se puede llevar a cabo mediante un análisis por espectrometría de masas tal como se describe en los Ejemplos. Una forma de realización adicionalmente preferida comprende un análisis de micromatrices, que es particularmente apropiado para la determinación paralela de varios polimorfismos. Unos apropiados dispositivos de micromatrices están disponibles comercialmente.

Basándose en los resultados de una determinación de un polimorfismo, se puede hacer un pronóstico de una respuesta clínica en un paciente humano a un medicamento activo en el SNC, que es un sustrato de la proteína ABCB1. Por lo tanto, por una parte, si el paciente que se ha de ensayar no tiene un polimorfismo que está asociado con una respuesta clínica insuficiente al medicamento, se puede dar un pronóstico favorable para una respuesta clínica y el medicamento para obtener la respuesta clínica puede ser producido, prescrito y administrado en una dosis normalizada con lo que se puede esperar con una alta probabilidad una respuesta clínica suficiente. Por otro lado, el paciente que se ha de ensayar puede tener un polimorfismo o una pluralidad de polimorfismos que está(n) asociado(s) con un pronóstico desfavorable para una respuesta clínica del medicamento. Si se da dicho pronóstico desfavorable para una respuesta clínica, se puede usar un régimen terapéutico modificado para el paciente. Por ejemplo, el medicamento puede ser administrado en una dosis que es más alta que la dosis normal, p.ej. aumentando la fuerza de una dosis y/o el número de dosis que se han de administrar por intervalo de tiempo. Además, se puede producir y administrar la formulación del medicamento que muestra una permeación aumentada a través de la barrera hematoencefálica, p.ej. incluyendo un medio auxiliar de la permeación a través de la barrera hematoencefálica, tal como los que se indican en la Tabla 2.

Tabla 2. Agentes inhibidores y moduladores de la ABCB1

Antiácidos	Maprotilina	Estatinas	Ginsenoide
Lansoprazol	Nefazodona	Atorvastatina	Pomelo
Omeprazol	Paroxetina	Lovastatina	Té verde
Pantoprazol	Reboxetina	Simvastatina	Lidocaína
Antiarrítmicos	Sertralina	Neurolépticos	Lonafarnib (SC66336)
Amilorida	Trimipramina	Cloropromazina	Loratadina
Amiodarona	Venlafaxina	Droperidol	Mefloquina
Barnidipina	Antieméticos	Flupentixol	Midazolam
Benidipina	Antiepilépticos	Flufenazina	Nobilitina
Bepridilo	Agentes antihipertensivos	Haloperidol	Zumo de naranja -Sevilla
Digitoxina	Carvedilol	Fenotiazina	Piperina
Digoxina	Doxazosina	Pimozida	Probenecida
Efonidipina	Felodipina	Proclorperazina	Progesterona
Niguldipina	Mibefradilo	Prometazina	Quinacrina
Nilvadipina	Nifedipina	Tioridazina	Quinina
Propafenona	Nicardipina	Trifluoperazina	RU 486
Propranolol	Nitrendipina	Triflupromazina	Espironolactona
Quinidina	Reserpina	Opioides	Terfenadina
Verapamil	Antimicóticos	Alfentanilo	Tetrandrina
Antibióticos	Itraconazol	Fentanil	Hormonas de la tiroides
Ceftriaxona	Ketoconazol	Metadona	TNF alfa
Claritromicina	Antiparkinson	Pentazocina	Vandato
Eritromicina	Agentes antivíricos	Sufentanilo	XR9576
Fucidina	Indinavir	Tensioactivos	Yohimbina
Josamicina	Lopinavir	Cremophor EL	Zosuquidar.3 HCl
Ofloxacina	Nelfinavir	Triton X-100	Rifampina
Agentes anticancerosos	Ritonavir	Tween 80	GG918
Azidopina	Saquinavir	Otros usos	Topotecán
Gramicidina	Esteroides	Anticuerpo anti-CD 19	Puromicina
Mitomicina C	Progesterona	Azelastina	Mitramicina
Quercetina	Inmunosupresores	Bromocriptina	Mitomicina C
Valinomicina	Ciclosporina A	Cloroquina	Inhibidores de calmodulina
Antidepresivos	FK 506	Colesterol	Indometacina
Amitriptilina	Rapamicina	Ciproheptadina	Quinina
Citalopram	Sirolimus	Dipiridamol	Melfalán
Desipramina	Tacrolimus	E6	Econazol
Fluoxetina	Tamoxifeno	Emetina	Colquicina
Fluvoxamina	Valspodar (PSC833)	EP 51389	Actinomicina
Imipramina	Vinblastina	Flavonoides	Taxonas
		Ajo	Antraciclina
		GF120918	5'MHC
			Reversina
			JS-2190
			PGP-4008
			WP631
			Dihidropiridina
			Quinolinas
			VX-710
			S-9788

5 Adicionalmente, la producción y la administración del medicamento se pueden combinar con la producción y la administración de un medicamento adicional que es un inhibidor de la proteína ABCB1. Unos inhibidores apropiados de la proteína ABCB1 son conocidos y se describen por ejemplo en el documento US 2003/0073713 A1. Otros inhibidores de la ABCB1 se describen en la cita de Marzolini C, y colaboradores (2004), Clin Pharmacol Ther. Enero

de 2004; 75(1):13-33. Los inhibidores mencionados en estos documentos son incorporados en la presente divulgación por su referencia.

Tal como se ha bosquejado anteriormente, el presente documento describe también unas composiciones y unos estuches de diagnóstico para el pronóstico de una respuesta clínica en un paciente humano a un medicamento activo en el SNC, que es un sustrato de la proteína ABCB1. Una composición o un estuche de diagnóstico comprende preferiblemente por lo menos un cebador y/o una sonda para determinar por lo menos un polimorfismo que está asociado con una falta de respuesta clínica al medicamento activo en el SNC. Los cebadores y/o las sondas pueden ser unas moléculas de ácido nucleico tales como un ADN, un ARN o compuestos análogos a ácidos nucleicos tales como ácidos nucleicos peptídicos (PNA) o unos ácidos nucleicos bloqueados (LNA). El cebador y/o las sondas se seleccionan de manera tal que él o ellas pueden discriminar entre polimorfismos en la posición que se ha de analizar. Usualmente, los cebadores y las sondas tienen una longitud de por lo menos 10, preferiblemente de por lo menos 15 hasta 50, más preferiblemente hasta 30 bloques de construcción de ácidos nucleicos, p.ej. nucleótidos. La composición o el estuche puede comprender por lo menos un cebador que se hibrida con el gen de la ABCB1 humana en unas condiciones previamente determinadas, p.ej. de temperatura, tampón, fuerza y/o concentración de un disolvente orgánico, y que permite una determinación específica del polimorfismo que se ha de ensayar. Unos ejemplos preferidos de dichos cebadores se indican en la Tabla 3 y en la Tabla 4 para determinar el genotipo con un sistema de matriz de masas y en la Tabla 5 para determinar el genotipo rs 2235015 con unas sondas de hibridación.”

Tabla 3. Secuencia de cebadores para la amplificación y la secuenciación de SNPs

SNP	PCR hacia delante	PCR invertida
rs2235015	ACGTTGGATGCACCTAGACCACCACAAAC	ACGTTGGATGAAAACCTGAGTCAGTTCGACC
rs2235040	ACGTTGGATGACTGGAGCATGACTACCAG	ACGTTGGATGTTAGTTTCATGCTGGGGTCC
rs2235067	ACGTTGGATGAGTGGAGAAAGTGCTCGAAG	ACGTTGGATGTTCTACCTCAGAGATGTCCC
rs2032583	ACGTTGGATGCTGGGAAGGTGAGTCAAAC	ACGTTGGATGGCATAGTAAGCAGTAGGGAG
rs17064	ACGTTGGATGGACTCTGAACCTGACTGAGG	ACGTTGGATGGTGAACCTCTGACTGTATGAG
rs2032588	ACGTTGGATGTGATGCAGAGGCTCTATGAC	ACGTTGGATGGGCAACATCAGAAGGATGTG
rs1055302	ACGTTGGATGTCCACATTAAGGTGGCTCTC	ACGTTGGATGTCATAATTGTGCCTCACCCC

Tabla 4. Secuencia de cebadores para sistemas de extensión de cebadores (Mez. Det. = abreviatura de Mezcla de Detención del inglés Stop Mix)

SNP	Cebador de extensión	Mez. Det.
rs2235015	ACCACCACAAAACAAACATA	CGT
rs2235040	TGCCTCCTTTCTACTGGT	ACT
rs2235067	AGAGAAAGTACAAGACCCCT	ACT
rs2032583	AATTAAGTAGAGTAAAGTATTC	ACG
rs17064	AATGTTAAACAGATACCTCTTCA	CGT
rs2032588	CTGCGGTGATCAGCAGT	ACG
rs1055302	CAAACCCAAAACACAGATC	ACT

Tabla 5. Cebadores usados para determinar el genotipo con unas sondas de hibridación para el rs 2235015

	Descripción	Sondas de hibridación
Sonda de PCR hacia delante	ABCB1	CAATTA AAAACTgAgTCAgTTCg
Sonda de PCR inversa	ABCB1	TTTTAAACATTTCTACA ACTTgATg
Sonda de ancla	rs 2235015	TgTATCATTgATATCACCTAgACCACCAC-FL
Sonda de sensor	Sensor [G]	LCRed640-AAACAAACATACCATTTATgTCTCT--PH

El uso de las sondas de hibridación descritas en la Tabla 5 hace posible una detección de productos de PCR (acrónimo de Polymerase Chain Reaction = reacción en cadena de la polimerasa) que es específica para una secuencia. Estas sondas de hibridación consisten en dos diferentes oligonucleótidos que se hibridan con una secuencia interna del fragmento amplificado durante la fase de reanillado de una PCR. Una sonda es marcada en el extremo 5' con un fluoróforo. La otra sonda es marcada en el extremo 3' p.ej. con fluoresceína. Después de una hibridación con la secuencia diana, las dos sondas producen una transferencia de energía de resonancia de fluorescencia (FRET, acrónimo de Fluorescence Resonance Energy Transfer). La fluorescencia emitida es medida. Esta técnica se puede usar para una cuantificación y una determinación del genotipo. Por ejemplo la determinación del genotipo puede ser realizada con un análisis de curvas de fusión. La Tabla 5 muestra el cebador de la PCR y las sondas de hibridación marcadas con tintes para un ensayo de determinación del genotipo de rs 2235015.

La composición o el estuche comprende preferiblemente además una enzima para la elongación de cebadores tales como una polimerasa de ADN, nucleótidos, p.ej. nucleótidos de elongación de cadenas tales como desóxido nucleósido trifosfatos (dNTPs) o nucleótidos de terminación de cadenas tales como didesoxinucleósido trifosfatos (ddNTPs) y/o grupos de marcación, p.ej. grupos de marcación fluorescentes o cromógenos.

Una micromatriz para el pronóstico de una respuesta clínica a un medicamento activo en el SNC comprende un vehículo, p.ej. un vehículo plano o un dispositivo con microcanales, que tiene inmovilizadas en él por lo menos una sonda que permite una determinación de un polimorfismo que se ha de ensayar. Preferiblemente, la sonda de micromatriz tiene inmovilizada en ella una pluralidad de diferentes sondas situadas en diferentes zonas en el vehículo, que están diseñadas de manera tal que ellas pueden fijar moléculas de ácidos nucleicos, p.ej. moléculas de ARN o moléculas de ADN, productos de amplificación, productos de elongación de cebadores, etc., que contienen la secuencia en la que está situado el polimorfismo que se ha de ensayar. Por lo tanto, se puede realizar una identificación del polimorfismo que se ha de analizar por detección de unos sucesos de fijación, específicos para ciertos sitios de la molécula de la muestra de ácido nucleico, a la sonda inmovilizada sobre el vehículo.

Finalmente, el presente invento se refiere a una composición terapéutica o a un estuche terapéutico como se definirá en la reivindicación 14, que comprende un medicamento activo en el SNC, que es un sustrato de la proteína ABCB1 en una dosis terapéuticamente efectiva y otro medicamento adicional que es un inhibidor de la proteína ABCB1 en una dosis terapéuticamente efectiva para tratar a un paciente humano que tiene por lo menos un polimorfismo en el gen de la ABCB1, que está asociado con una falta de respuesta clínica a dicho medicamento activo en el SNC. Los medicamentos pueden estar presentes como una única formulación o como formulaciones separadas, si se desea. Se pueden incluir vehículos, diluyentes o coadyuvantes farmacéuticamente aceptables. La composición o el estuche se puede administrar por cualquier ruta apropiada, p.ej. por administración por vía oral o parenteral o por cualquier otro medio apropiado.

El esquema de administración y dosis de un medicamento activo en el SNC tal como, por ejemplo, un fármaco antidepresivo, puede variar entre pacientes y se conocen bien en la especialidad médica, véase, por ejemplo, la cita de Benkert e Hippus, "Kompodium der Psychiatrischen Pharmakotherapie" [Compendio de la farmacoterapia psiquiátrica], editorial Springer Verlag Publishing, 2000; Albers, "Handbook of Psychiatric Drugs: 2001-2002 Edition" [Manual de fármacos psiquiátricos edición de 2001-2002], Current Clinical Strategies Publishing, 2000. Para los antidepresivos hay tres posibilidades terapéuticas para los individuos cuyo genotipo se ha determinado con SNPs en el gen de la ABCB1.

1. La dosificación de un antidepresivo que es un sustrato de la ABCB1 sería aumentada. Unos ejemplos de dichos antidepresivos son: entre 10 mg y 100 mg por día, preferiblemente 40 mg, de citalopram; entre 10 mg y 80 mg por día, preferiblemente 20 mg, de paroxetina; entre 50 mg y 500 mg por día, preferiblemente 150 mg, de venlafaxina; entre 25 mg y 300 mg por día, preferiblemente 75 mg, de amitriptilina; entre 25 mg y 400 mg por día, preferiblemente 75 mg, de nortriptilina; entre 50 mg y 400 mg por día, preferiblemente 200 mg, de fluvoxamina; entre 2 mg y 15 mg por día, preferiblemente 10 mg, de reboxetina.

2. Se administraría un antidepresivo alternativo que no es un sustrato de la ABCB1. Unos ejemplos preferidos incluyen entre 15 mg y 100 mg por día, preferiblemente 30 mg, de mirtazapina; entre 5 mg y 80 mg por día, preferiblemente 20 mg, de fluoxetina.

3. Se combinaría un antidepresivo que es un sustrato de la ABCB1 con un inhibidor o modulador de la ABCB1. Ejemplos de inhibidores o moduladores de la ABCB1 se describen en la Tabla 2 y la dosificación se determinaría de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

Además, el presente invento será explicado por las siguientes Tablas y Figuras así como por los Ejemplos.

5 Tabla y leyendas de las Figuras

Tabla 6

10 Situación de acuerdo con la secuencia de referencia humana de Abril de 2003 (versión UCSC hg15) (<http://genome.ucsc.edu/>), heterocigosidad y valores de p del equilibrio según Hardy-Weinberg de SNPs de la ABCB1. * La frecuencia del tercer alelo raro A = 4,8 %, presente o bien como GA (3,2 %) o como TA (1,6 %), la frecuencia del genotipo GT es de 49,2 %.

SNP ID	Situación dentro del gen	Función	Situación hg15	Heterocigosidad	Valor de p según HWE
rs 1055305	3'	3'	86730918	0,00	NA
rs 1055302	3'	3'	86731143	0,23	0,79
rs 17064	exón 29	3'UTR	86731697	0,11	0,71
rs 2235051	exón 29	3'UTR	86731882	0,00	NA
rs 1045642	exón 27	Ile/Ile	86736872	0,50	1,00
rs 2235045	intrón	intrónica	86743871	0,00	NA
rs 2235044	exón 25	Pro/Pro	86744052	0,00	NA
rs 2235067	Intrón 23	intrónica	86748149	0,20	0,53
rs4148744	intrón	intrónica	86749001	0,08	1,00
rs4148743	intrón	intrónica	86749317	0,53	0,049
rs 2032583	Intrón 22	intrónica	86758788	0,18	0,34
rs 2032582	exón 22	Ala/Ser/Thr*	86758845	0,54	0,53
rs 2032581	intrón	intrónica	86759037	0,00	NA
rs 2235040	Intrón 21	intrónica	86763977	0,20	0,57
rs 2235039	exón 21	Val/Met	86764081	0,00	NA
rs 1922242	intrón	intrónica	86771894	0,53	0,06
rs 2235035	intrón	intrónica	86777313	0,47	0,67
rs 2032588	Intrón 13	intrónica	86777670	0,1	1,00
rs 2229109	exón 12	Ser/Asn	86778036	0,1	0,69
rs 2235030	intrón	intrónica	86778153	0,00	NA
rs 2235029	intrón	intrónica	86778162	0,00	NA
rs 2235023	intrón	intrónica	86788679	0,13	0,51
rs 2235022	exón 9	Glu/Glu	86788904	0,00	NA
rs 1202168	intrón	intrónica	86794189	0,48	0,75
rs 1202167	intrón	intrónica	86795286	0,51	0,32
rs 2235019	intrón	intrónica		0,02	1,00
rs 2235018	intrón	intrónica	86797592	<0,01	1,00
rs 2235017	intrón	intrónica	86797600	<0,01	1,00
rs 2235016	intrón	intrónica	86797639	0,00	NA
rs 2235015	intrón 5	intrónica	86797791	0,28	1,00
rs 2235014	intrón	intrónica	86797842	0,00	NA
rs 1202179	intrón	intrónica	86802506	0,44	0,41
rs 1989831	intrón	intrónica	86803706	0,43	0,34
rs 1202172	intrón	intrónica	86809201	0,39	1,00
rs 1202171	intrón	intrónica	86809272	0,43	0,41
rs4148733	intrón	intrónica	86811459	0,27	0,12
rs 1202186	intrón	intrónica	86811485	0,45	0,41
rs 1202185	intrón	intrónica	86811611	0,43	0,42
rs 1202183	exón 5	Asn/Ser	86813210	0,00	NA
rs 1202182	intrón	intrónica	86813531	0,44	0,42
rs 1202181	intrón	intrónica	86814377	0,42	0,89
rs 2235074	intrón	intrónica	86823273	0,08	0,34
rs 2214102	exón 3	TLI	86827728	0,13	0,26
rs3213619	exón 2	5'UTR	86828420	0,00	NA
rs 2188524	intrón	intrónica	86828662	0,00	NA

SNP ID	Situación dentro del gen	Función	Situación hg15	Heterocigosidad	Valor de p según HWE
rs4148731	intrón	intrónica	86837556	0,06	1,00
rs4148730	intrón	intrónica	86837578	0,06	0,49
rs4604363	intrón	intrónica	86852423	0,00	NA
rs 2157928	intrón	intrónica	86856631	0,00	NA
rs4148729	intrón	intrónica	86860613	0,06	0,041
rs 2157926	intrón	intrónica	86868727	0,12	1,00
rs4148728	intrón	intrónica	86869044	0,00	NA
rs916715	intrón	intrónica	86925156	0,00	NA
rs 2188529	intrón	intrónica	86930698	0,04	0,33
rs3747802	promotor	intrónica	86940813	0,00	NA
rs3747802	promotor	promotor	86942971	0,06	0,041

Tabla 7

Valores de p de la asociación de SNPs de la ABCB1 con un estado de alivio después de 6 semanas de tratamiento en todos los pacientes, los pacientes tratados con citalopram/venlafaxina/paroxetina y los pacientes tratados con mirtazapina (Abreviatura: n.s. = no significativo)

5

SNP ID	Todos los pacientes	Pacientes tratados con citalopram/venlafaxina/paroxetina	Pacientes tratados con mirtazapina
*rs 1055302	n.s	0.045	n.s
* rs 17064	n.s	0,025	n.s
rs 1045642	n.s	n.s	n.s
*rs 2235067	n.s	0,009	n.s
rs4148744	n.s	n.s	n.s
rs4148743	n.s	n.s	n.s
*rs 2032583	n.s	0,017	n.s
rs 2032582	n.s	n.s	n.s
rs 2235040	n.s	0,002	n.s
rs 1922242	n.s	n.s	n.s
rs 2235035	n.s	n.s	n.s
rs 2032588	n.s	0,028	n.s
rs 2229109	n.s	n.s	n.s
rs 2235023	n.s	n.s	n.s
rs 1202168	n.s	n.s	n.s
rs 1202167	n.s	n.s	n.s
rs 2235019	n.s	n.s	n.s
rs 2235018	n.s	n.s	n.s
rs 2235017	n.s	n.s	n.s
rs 2235015	0.015	0.00007	n.s
rs 1202179	n.s	n.s	n.s
rs 1989831	n.s	n.s	n.s
rs 1202172	n.s	n.s	n.s
rs 1202171	n.s	n.s	n.s
rs4148733	n.s	n.s	n.s
rs 1202186	n.s	n.s	n.s
rs 1202185	n.s	n.s	n.s
rs 1202183	n.s	n.s	n.s
rs 1202182	n.s	n.s	n.s
rs 1202181	n.s	n.s	n.s
rs 2235074	n.s	n.s	n.s
rs 2214102	0,02	n.s	n.s
rs3213619	n.s	n.s	n.s
rs 2188524	n.s	n.s	n.s
rs4148731	n.s	n.s	n.s
rs4148730	n.s	n.s	n.s
rs4604363	n.s	n.s	n.s
rs 2157928	n.s	n.s	n.s
rs4148729	n.s	n.s	n.s
rs 2157926	n.s	n.s	n.s

SNP ID	Todos los pacientes	Pacientes tratados con citalopram/venlafaxina/paroxetina	Pacientes tratados con mirtazapina
rs4148728	n.s	n.s.	n.s.
rs916715	n.s	n.s.	n.s.
rs 2188529	n.s	n.s.	n.s.
rs3747802	n.s	n.s.	n.s.
rs4728711	n.s	n.s.	n.s.

* Para estos SNPs la asociación se realizó en una muestra de mayor tamaño (284 pacientes en total; 98 tratados con citalopram/venlafaxina/paroxetina, 74 tratados con mirtazapina)

Tabla 8

Descripción de los procesos experimentales de los experimentos con animales

5

	Citalopram	Mirtazapina	Venlafaxina
Animales			
Género	Masculino	Masculino	Masculino
Tamaño del grupo [n]	8	9	8
Edad [semanas]	16-24	15-17	12-15
Peso de la ABCB1 ab(-/-)	31,2 ± 0,6	28,6 ± 0,3	30,6 ± 0,5
Peso de la ABCB1 ab(+/+)	29,8 ± 1,0	28,3 ± 0,6	29,9 ± 1,0
Procesos experimentales			
Administración s.c. mediante bombas osmóticas	60 µg/día	60 µg/día	300 µg/día
Proceso de extracción			
Alcohol isoamílico (extracción de plasma)	0 %	0 %	0,5 %
Alcohol isoamílico (extracción de órganos)	0 %	0 %	0,5 %
Cromatografía de fase líquida de alto rendimiento			
Gradiente de la fase móvil [% B]	5-25	0-25	0-30
Detección de UV [nm]	214	214	214
Detección de fluorescencia ex/em [nm]	230/300	295/370	225/305

Figura 1

Relaciones de las concentraciones en cerebro/plasma de fármacos en ratones abcb1ab (-/-), comparadas con testigos de tipo salvaje.

- 10 Después de una administración subcutánea continua durante 11 días de venlafaxina, mirtazapina y citalopram, no se encontraron diferencias en los niveles en plasma de estos fármacos, incluyendo la d-venlafaxina que es el metabolito principal de la venlafaxina, entre un mutante abcb1ab (-/-) y sus crías de la misma camada de tipo salvaje. Las concentraciones de fármacos y metabolitos no eran tampoco diferentes entre el mutante y las crías de la misma camada de tipo salvaje en aquellos órganos que no tienen una barrera entre sangre y órgano. Estos
- 15 incluyen hígado, bazo, riñón y pulmón (datos no mostrados). Habían, sin embargo, unas diferencias significativas en las relaciones en cerebro/plasma de citalopram, venlafaxina y su metabolito d-venlafaxina, pero no en las relaciones en cerebro/plasma de mirtazapina. Para el citalopram ($F_{6,9} = 39,1$; $p < 0,001$) había una concentración 3 veces más alta en el cerebro del mutante de la ABCB1ab (-/-) en comparación con animales de tipo salvaje. Para la venlafaxina ($F_{6,9} = 32,1$; $p < 0,001$) y su metabolito d-venlafaxina ($F_{6,9} = 3,8$; $p = 0,035$) el mutante abcb1ab (-/-) presentó unas
- 20 concentraciones 1,7 y 4,1 veces más altas en el cerebro. Para la mirtazapina, no se observaron diferencias significativas en las relaciones en cerebro/plasma. Se observaron para testículos, que son otro órgano con una barrera de sangre/órgano (datos no mostrados), unas diferencias dependientes del fármaco significativas pero más pequeñas, similares a las que había en el cerebro.

* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$.

25 **Figura 2**

Representación de la estructura del desequilibrio de vinculación (LD, acrónimo de linkage disequilibrium) en la ABCB1 usando D' como una medida para la intensidad del LD.

Figura 3

- 30 % de pacientes aliviados (barras de color gris) y no aliviados (barras de color blanco) de acuerdo con el genotipo rs 2235015 para pacientes tratados con citalopram/venlafaxina/paroxetina (substratos) (3B) y con mirtazapina (3A).

Figura 4

Dosis de fármaco y niveles en plasma de antidepresivos de acuerdo con el genotipo rs 2235015.

Parte A: dosis media de fármaco administrado, que se había administrado en las semanas 4-6 de tratamiento con antidepresivos en mg.

- 5 Parte B: niveles medios en plasma de antidepresivos administrados para las semanas 4-6 de un tratamiento con antidepresivos en ng/ml. Para homocigotos GG, los niveles de venlafaxina en plasma fueron de 356,5 ng/ml (error típico de la media = SEM = 51,6).
Mirtazapina N = 65, citalopram N = 35, paroxetina N = 29, venlafaxina N = 22.

1. Métodos**10 1.1 Experimentos que usan animales transgénicos****Materiales**

La venlafaxina y la o-desmetilvenlafaxina (d-venlafaxina) se obtuvieron de Wyeth-Pharma GmbH (Münster, Alemania). La mirtazapina se obtuvo de Thiemann Arzneimittel GmbH (Waltrop, Alemania) y el citalopram se obtuvo de Lundbeck (Copenhague, Dinamarca). La protriptilina se adquirió de RBI (Massachusetts, EE.UU.). Todos los otros productos químicos se obtuvieron en la calidad más pura disponible de Merck (Darmstadt, Alemania).

Animales

Todos los experimentos con animales se realizaron de acuerdo con la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [Guía para el cuidado y el uso de animales de laboratorio] del Gobierno de Baviera, Alemania.

Unos ratones abcb1ab(-/-) y unos ratones FVB/N de tipo salvaje machos fueron alojados individualmente y mantenidos en un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h (las lámparas se conectaron a las 07:00), con pienso y agua ad libitum. Unos ratones abcb1ab doblemente desprovistos de inmunidad, creados originalmente por A. Schinkel por dirección secuencial hacia genes en células madre embrionarias 129/Ola E14²⁸ y retrocruzados siete veces (N7) con los FVB/N procedentes de la quimera C57BL/6 x 129, y unos ratones FVB/N de tipo salvaje fueron recibidos de Taconic (Germantown, EE.UU.; FVB/Tac-[KO]Pgy2 N7). Una colonia homocigótica es mantenida en el Max-Planck Institute of Psychiatry sobre el fondo de FVB/N N7 mediante entrecruzamiento de ratones homocigóticos. La edad, el peso y el tamaño del grupo de los ratones usados se muestran en la Tabla 3.

1.2 Procesos experimentales y de extracción

Los procesos experimentales y de extracción se realizaron tal como se ha descrito más arriba ^{12,26}. El citalopram, la mirtazapina y la venlafaxina disueltas en cloruro de sodio al 0,9 % y en etanol al 0,5 % se administraron por vía subcutánea en la nuca del cuello por medio de unas bombas de infusión osmótica implantadas quirúrgicamente (bomba micro-osmótica Alzet[®], de Alza Corporation, Palo Alto, EE.UU.), que suministraban de un modo continuo los fármacos en las concentraciones calculadas (Tabla 1). Después de 11 días, los ratones fueron anestesiados y sacrificados. Los órganos disecados fueron homogeneizados y se ha llevado a cabo un proceso de extracción líquido-líquido con n-hexano/alcohol isoamílico (Tabla 3) en la primera etapa y con ácido fosfórico en la segunda etapa. Las recuperaciones por extracción fueron > 90 % para citalopram, mirtazapina y venlafaxina y de 36 % para d-venlafaxina.

1.3 Cromatografía de fase líquida de alto rendimiento

Las mediciones por HPLC (cromatografía de fase líquida de alto rendimiento) se realizaron tal como se ha descrito más arriba ^{12,26}. Una bomba de gradiente de Beckman, un autoinyector, un detector de rayos UV y un detector de fluorescencia de Merck se usaron para el análisis por cromatografía de fase líquida de alto rendimiento. Las separaciones se hicieron en una columna Luna 5 μ C18(2) 250 x 4,6 mm de fase inversa (de Phenomenex, Torrance, EE.UU.), a 60°C, con un caudal de la fase móvil de 1 ml/min. Se usó un gradiente de la fase móvil con acetonitrilo para el análisis por cromatografía (Tabla 3). Las sustancias fueron determinadas por absorción de UV y por fluorescencia en la longitud de onda descrita (Tabla 3).

1.4 Genética humana

Pacientes

255 pacientes admitidos en nuestro hospital psiquiátrico para el tratamiento de un trastorno depresivo, que se presentaban con un episodio depresivo principal, distimia o trastorno bipolar único o recurrente como sus diagnósticos psiquiátricos primarios fueron reclutados para el estudio. Los pacientes fueron incluidos en el estudio dentro de los 1-3 días desde la admisión en nuestro hospital y el diagnóstico fue averiguado por psiquiatras entrenados de acuerdo con los criterios del Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM) IV. Unos trastornos depresivos debidos a una condición médica o neurológica fueron un criterio de exclusión. La etnicidad fue registrada usando una hoja de auto-informe normalizado en cuando a la nacionalidad y el lenguaje materno y la etnicidad que se percibieron del individuo propiamente dicho y de los 4 abuelos. Todos los pacientes incluidos eran caucásicos y un 92 % de ellos eran de origen alemán. El estudio ha sido aprobado por el comité ético local. Se obtuvo un consentimiento informado por escrito de todos los individuos.

Testigos

339 testigos sanos emparejados en cuanto a la salud, la edad, el sexo y la etnicidad fueron seleccionados aleatoriamente a partir de una muestra de comunidad con base en Múnich y sus genotipos usados en la construcción de un mapa del desequilibrio de vinculación de la ABCB1. El reclutamiento de los testigos fue también aprobado por el comité ético local y se obtuvo de todos los individuos un consentimiento informado por escrito.

Psicopatología y definición de la respuesta a un tratamiento con fármacos antidepresivos

En 255 pacientes se averiguó la gravedad de una psicopatología usando la escala de calificación de depresiones de Hamilton (HAM-D) de 21 artículos por calificadores entrenados. Las calificaciones fueron realizadas en el transcurso de los 3 días a partir de la admisión y luego a intervalos semanales hasta el despido. El alivio de los síntomas depresivos fue definido como que se había alcanzado una calificación HAM-D global ≤ 8 . Los pacientes fueron subdivididos de acuerdo con su estado de alivio después de una hospitalización durante 6 semanas. Todos los pacientes fueron tratados con fármacos antidepresivos en el transcurso de unos pocos días desde la admisión. La medicación antidepresiva tipo no fue influida por la participación en el estudio, sino que se escogió libremente por el psiquiatra responsable. Para todos los pacientes se vigiló la concentración en plasma de la medicación antidepresiva con el fin de asegurar unos niveles de fármacos clínicamente eficientes. Para unos pacientes tratados con citalopram, paroxetina, venlafaxina o mirtazapina se calcularon las dosis medias en mg del fármaco administrado y la concentración del fármaco en plasma en ng/ml durante las semanas de tratamiento 4-6.

Concentración en plasma de fármacos antidepresivos:

El citalopram, la mirtazapina, y la paroxetina en plasma se extrajeron con un proceso de extracción líquido-líquido y luego se midieron después de una HPLC con absorción de rayos UV y fluorescencia. Para esto se añadieron a 1.000 μ l de plasma 100 μ l de un patrón interno (protriptilina 2 μ g/ml), 1.000 μ l de hidrógenocarbonato de sodio (2 M, pH 10,5), y 5 ml de n-hexano con 1,5 % de alcohol isoamílico. Después de haber agitado durante 20 min y centrifugado durante 15 min a 4000 r.p.m. (revoluciones por minuto) las fases orgánicas fueron transferidas a 250 μ l de ácido fosfórico al 0,85 %. Las muestras fueron agitadas de nuevo durante 20 min, centrifugadas durante 15 min a 4000 r.p.m., y la fase acuosa inferior fue analizada en la HPLC.

Nosotros usábamos una columna Luna 5 μ C18(2) 250 x 4,6 mm de fase inversa (de Phenomenex, Torrance, EE.UU.), a 60°C, caudal de fase móvil 1 ml/min. Un gradiente de la fase móvil con acetonitrilo y ácido fosfórico, (1,5 ml de H₃PO₄/l al 85 %, pH = 3,5, ajustado con NaOH) se usó para el análisis por cromatografía (mirtazapina con 5-33 % de acetonitrilo en 30 min; citalopram y paroxetina con 28-35 % de acetonitrilo en 45 min). Las sustancias se determinaron por absorción de rayos UV (214 nm) y por fluorescencia a la longitud de onda apropiada (el citalopram a 235/300 nm, la mirtazapina a 295/370 nm, la paroxetina a 295/365 nm y la protriptilina a 295/420 nm). La recuperación por extracción fue de > 90 %, y el coeficiente de variación dentro de un día y entre dos días fue de < 10 %.

Preparación de ADN:

Al efectuarse el alistamiento en el estudio, se extrajeron 40 ml de sangre con EDTA de cada paciente y el ADN se extrajo a partir de una sangre reciente usando el estuche de extracción de ADN de sangre entera Puregene® (de Genra Systems Inc; MN).

Selección de los SNPs y determinación del genotipo

26 SNPs de la ABCB1 fueron seleccionados a partir de dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/80/>). La herramienta de investigación de los SNPs en <http://ihg.gsf.de/ihg/snps.html> se usó para descargar secuencias de SNP a partir de bases de datos públicas. La determinación del genotipo se realizó en un espectrómetro de masas MALDI-TOF (sistema MassArray®) empleando el software Spectrodesigner (de Sequenom®; CA) para la selección y el multiplexado de cebadores y el proceso para extensión homogénea de masas (hMe) para producir productos de extensión de cebadores. Todas las secuencias de cebadores están disponibles a petición. El SNP tri-alélico rs

2032582 fue medido en el dispositivo ciclador de luz usando unas sondas hybe (de hibridación) específicas para alelos (las secuencias de cebadores están disponibles a petición).

1.3 Análisis estadístico

Experimentos con animales:

5 El análisis estadístico se llevó a cabo con el software estadístico SPSS 10.0 para windows (Chicago, Illinois). La significancia fue ensayada mediante unos análisis de la varianza multivariantes de un factor (MANOVAs). Siguieron unos ensayos F univariantes para identificar las variables cuyas diferencias entre los dos grupos contribuían significativamente al efecto global de los grupos. Como un nivel nominal de significancia se aceptó el de $\alpha = 0,05$ y se corrigió (se redujo de acuerdo con el procedimiento de Bonferroni) para todos los ensayos “a posteriori” (ensayos F univariantes) con el fin de mantener al error del tipo I menor que o igual a 0,05.

Genética humana:

15 Todos los análisis para resultados binarios se realizaron usando una regresión logística mediante uso tanto de R como de SPSS (versión 11), así como por análisis de tablas de contingencia exacta usando el SPSS. Las tablas se construyeron como ensayos por genotipo, es decir para un resultado binario dado y un único SNP habíamos analizado una tabla 2*3 con 2 d.f. Para el SNP tri-alelico rs 2032582 (G/T/A) se usó una tabla 2*5 con 4 d.f. Para detectar cualesquiera diferencias dependientes del genotipo en la dosis o en el nivel en plasma de un antidepresivo habíamos usado un ANOVA de una vía con el genotipo de rs 2235015 como factor.

20 Para los análisis de haplotipos se determinaron asignaciones de haplotipos individuales usando el SNP HAP (<http://www.gene.cimr.cam.ac.uk/clayton/software/snphap.txt>). Solamente se incluyeron en los análisis unas asignaciones de haplotipos con un grado de incertidumbre de menos que cinco por ciento y con una frecuencia de por encima de cinco por ciento. Para el análisis del patrón de LD y el cómputo de valores de D' por pares a partir de datos de genotipos de nuestra muestra de casos y testigos, hemos usado el paquete R “genetics” (<http://lib.stat.cmu.edu/R/CRAN/>). La definición de bloques de haplotipos se hizo usando el método |D'| (Lewontin R.C., On Measures of Gametic Disequilibrium [Acerca de mediciones del desequilibrio gamético], Genetics 120: 849-852 (Noviembre, 1988)) con un umbral de 0,75. Para la representación gráfica de una LD hemos usado el GOLD (<http://www.sph.umich.edu/csg/abecasis/publications/10842743.html>) recopilación gráfica GOLD del desequilibrio de vinculación. Abecasis GR y Cookson WO. Bioinformatics (2000) 16:182-3). Los SNPs con una frecuencia del alelo menor de menos que 0,1 se omitieron de los análisis de la LD.

2. Resultado

30 2.1 Regulación diferencial de niveles intracerebrales de mirtazapina, venlafaxina y citalopram en ratones doblemente desprovistos de inmunidad abcb1a y abcb1b.

Mientras que una glicoproteína p es codificada por un único gen en seres humanos (ABCB1) hay dos homologías en ratones, los genes abcb1a (también denominado mdr1a o mdr3) y abcb1b (también denominado mdr1b o mdr1)⁹. Aunque los abcb1a y abcb1b no son siempre expresados en los mismos órganos, la distribución global de estos genes en un tejido de ratón coincide aproximadamente con la del gen único de la ABCB1 en seres humanos, sugiriendo que los abcb1a y abcb1b conjuntamente funcionan de la misma manera que una ABCB1 humana^{10,11}. Habríamos podido mostrar previamente que varios antidepresivos son substratos de una glicoproteína p a continuación de la administración de un único fármaco^{12,26,27}. Habíamos seleccionado tres de ellos para ensayar si esta especificidad para un substrato permanece después de un tratamiento subcrónico, que es más relevante para la situación clínica. Usando unos ratones transgénicos que carecen de los abcb1a y abcb1b, podríamos mostrar que a continuación de una administración durante 11 días, las concentraciones intracerebrales de los fármacos antidepresivos citalopram (que pertenece a la clase de los inhibidores selectivos de la resorción de serotonina) y venlafaxina (un inhibidor combinado de la resorción de serotonina y norepinefrina) y su metabolito activo desmetilvenlafaxina, son reguladas por una glicoproteína p. Este no es el caso para la mirtazapina, que es un fármaco antidepresivo que se dirige principalmente a receptores de serotonina (5-HT)_{2C} y alfa2A-adrenérgicos (véase la Figura 1).

2.2 Los SNPs de la ABCB1 están asociados con un alivio al tratamiento con un antidepresivo

50 Puesto que una glicoproteína p regula el acceso al cerebro para algunos antidepresivos, los polimorfismos funcionales en este gen pueden influir sobre la concentración intracerebral de los antidepresivos y por lo tanto sobre la respuesta clínica a fármacos antidepresivos. Si ciertos polimorfismos alterasen las concentraciones intracerebrales de antidepresivos específicos, el conocimiento previo de los genotipos de una glicoproteína p relevantes para un paciente podría impedir la administración de un fármaco que no fuese capaz de alcanzar unos niveles intracerebrales terapéuticos a pesar de una concentración en plasma que es considerada como clínicamente suficiente. Para ensayar esta hipótesis, en primer lugar hemos investigado si los SNPs en el gen de la ABCB1 están asociados con una respuesta clínica a un fármaco. En segundo lugar, hemos analizado si la asociación de los

genotipos de SNPs de la ABCB1 con una respuesta a antidepresivos depende de sí el fármaco es o no un sustrato del producto del gen de la ABCB1. La última distinción estaba basada en unas concentraciones cerebrales de un fármaco en ratones que carecen de los respectivos genes codificadores de los transportadores de fármacos. El citalopram, la venlafaxina y la paroxetina pero no la mirtazapina se consideraron como sustratos de una glicoproteína p (véanse los datos presentados en este manuscrito y en ¹² donde la paroxetina es identificada como un sustrato de una glicoproteína p).

De 56 SNPs investigados en la ABCB1, 38 resultaron ser polimórficos en nuestra muestra (Tabla 6). Los SNPs fueron espaciados inicialmente con una distancia media entre marcadores de 8,3 kb que franquean 209 kb del gen desde la región de promotor hasta el exón 29. La distancia media entre marcadores de los SNPs informativos fue de 11,7 kb que franquean 199 kb del gen (desde el intrón 1 al exón 29). Todos los SNPs polimórficos fueron ensayados luego en cuanto a una asociación con un estado de alivio a las 6 semanas en la totalidad de los 255 pacientes deprimidos. Un alivio fue definido como haberse alcanzado una calificación total menor o igual que 8 en la escala de Calificación de Depresiones de Hamilton (véase el método para más detalles). Hemos encontrado una asociación significativa con un alivio ($p < 0,05$) para 7 SNPs: los rs 1055302, rs 17064, rs 2235067, rs 2032583, rs 2235040, rs 2032588 y rs 2235015 (véase la Tabla 7). Para investigar si la asociación con un estado de alivio depende de sí el fármaco antidepresivo recibido por los pacientes era un sustrato potencial de la ABCB1 humana, hemos repartido a los pacientes en subgrupos de acuerdo con su medicación antidepresiva en las primeras 6 semanas del tratamiento. El primer grupo de pacientes había recibido unos sustratos de abcb1ab: citalopram, paroxetina o venlafaxina como tratamiento con antidepresivos dentro de las primeras 6 semanas ($n = 86$) y el segundo grupo había recibido mirtazapina ($n = 65$), cuya concentración intracerebral no se encontró que sea regulada por el abcb1ab en el modelo de ratón desprovisto de inmunidad. Un análisis de la asociación con el estado de alivio en el primer grupo de pacientes reveló unas asociaciones significativas con los rs 2235015, rs 2235040, rs 2235067, rs 2032583, rs 17064, rs 2032588 y rs 1055302, mostrando el primer SNP la más fuerte asociación ($p < 0,00008$). En el grupo de pacientes que recibieron mirtazapina no se podría detectar ninguna asociación significativa con ninguno de los SNPs ensayados (véase la Tabla 7). Las relaciones desiguales para la asociación en cuanto a un alivio dentro de seis semanas con el genotipo rs 2235015, fueron de 2,056 (una CI de 95 % = 1,27-3,32) para todos los pacientes, de 6,15 (una CI de 95 % = 2,54-14,67) para los pacientes tratados con citalopram/paroxetina/venlafaxina y de 1,83 (una CI de 95 % = 0,73-4,55) para los pacientes tratados con mirtazapina,

2.3 Análisis de los haplotipos y determinación del desequilibrio de vinculación

Hemos construido entonces todos los haplotipos posibles para los SNPs polimórficos con el genotipo determinado dentro la ABCB1 y hemos repetido el análisis de la asociación con el estado de alivio para los tres grupos de pacientes (todos los pacientes, los pacientes que recibieron sustratos de la abcb1ab y los pacientes que recibieron mirtazapina). Incluso aunque algunos haplotipos mostraron un valor de OR más alto en los primeros grupos de dos pacientes, la asociación no era diferente de manera estadísticamente significativa respecto con respecto del rs 2235015, puesto que los intervalos de confianza se solapaban, sugiriendo que la mayor parte de la asociación es llevada por este SNP. Disponiendo paralelamente los datos de SNPs individuales, no se encontró ninguna asociación de haplotipos en el grupo de pacientes que habían recibido mirtazapina. Con el fin de estrechar posiblemente la región de la ABCB1 que contenía la variante causal, habíamos analizado la estructura de bloques del desequilibrio de vinculación (LD) de los SNPs investigados dentro de la ABCB1 usando los genotipos de todos los casos así como de 339 testigos sanos. De manera similar a los informes anteriores en la bibliografía ^{13,14}, habíamos detectado solamente un bloque de haplotipos, que franquea la región examinada de la ABCB1 (véase la Figura 2). Por lo tanto es difícil identificar el rs 2235015 o cualquier otro SNP como la mutación causal potencial. Unas cuidadosas caracterizaciones de las secuencias funcionales de los SNPs investigados y de los resultantes haplotipos *in vitro* e *in vivo* son garantizadas con el fin de estrechar el polimorfismo causal potencial o la combinación de polimorfismos.

2.4 Uso del genotipo rs 2235015 para la predicción de un alivio frente al tratamiento con un antidepresivo

Para evaluar si el conocimiento de los genotipos de SNPs en la ABCB1 podría permitir la predicción de un alivio después de seis semanas de tratamiento, se empleó un análisis discriminante del genotipo rs 2235015 (variable de grupo) y el estado de alivio a las seis semanas (variable independiente) en unos pacientes tratados con citalopram/paroxetina/venlafaxina, que mostró un poder discriminante significativo global de este SNP; Wilks lambda = 0,792; $X^2 = 19,4$; $df = 1$; $p = 1,0 \times 10^{-5}$. Usando este polimorfismo, un 75,6 % de los pacientes que recibieron sustratos de la ABCB1 fueron clasificados correctamente en aliviados y no aliviados; siendo definido un alivio como haberse alcanzado una calificación HAM-D igual a o menor que 8 después de 6 semanas de tratamiento. En el grupo de pacientes tratados con mirtazapina, no se podría detectar ningún poder discriminante significativo de este SNP. Para ensayar si el poder discriminante podría ser aumentado añadiendo los genotipos de rs 2235040, que es el segundo SNP asociado más fuerte, hemos incluido este polimorfismo en el análisis. Mientras que ambos SNPs contribuían significativamente al poder discriminante (rs 2235015: Wilks lambda = 0,792, $p = 1,0 \times 10^{-5}$ y rs 2235040: Wilks lambda = 0,875, $p = 0,0008$), la adición del segundo genotipo no aumenta el número de pacientes correctamente clasificados en el grupo tratado con citalopram/paroxetina/venlafaxina. Esto indicaría que la determinación del genotipo de rs 2235015 es suficiente para predecir un estado de alivio con un grado de certidumbre de más de 75 %

en unos pacientes que recibían sustratos de la ABCB1. La Figura 3 muestra una distribución del genotipo rs 2235015 entre aliviados y no aliviados para los pacientes tratados con mirtazapina en comparación con los tratados con citalopram/paroxetina/venlafaxina.

2.5 El genotipo rs 2235015 no está asociado con diferencias en los niveles en plasma de fármacos

5 Se ha informado que los SNPs en la ABCB1 influyen sobre la asimilación intestinal y por lo tanto sobre los niveles en plasma de fármacos^{15,16}. Unas diferencias en los niveles en plasma pueden conducir también a unas diferencias en la tolerancia del fármaco y por lo tanto potencialmente a unas diferencias en la dosificación del fármaco. Para excluir que el efecto que estamos viendo está basado solamente en diferencias en la asimilación intestinal, hemos comparado los niveles en plasma y las dosis administradas de citalopram (N = 35), de paroxetina (N = 29), de venlafaxina (N = 22) y de mirtazapina (N = 65) de acuerdo con el genotipo de rs 2235015. En el curso del estudio, una evaluación rutinaria de los niveles de venlafaxina en plasma estaba disponible solamente después de que hubieran sido reclutados la mitad de los pacientes, de manera tal que para este fármaco se midieron solamente niveles en plasma para homocigotos GG. No se podría encontrar ninguna significativa diferencia dependiente de un genotipo para los niveles medios en plasma y la dosis administrada de la totalidad de los cuatro antidepresivos durante las primeras seis semanas de tratamiento (véanse las Figuras 4A y 4B). Se puede rechazar por lo tanto la posibilidad de que la asociación del estado de alivio con el genotipo rs 2235015 esté relacionada con unas diferencias en los niveles en plasma, apoyando así la hipótesis de que las diferencias en la respuesta a un tratamiento, relacionadas con un genotipo, están vinculadas con unas diferencias en las concentraciones intracerebrales de los fármacos. Además, no hemos observado ninguna diferencia en la distribución del genotipo rs 2235015 entre los cuatro fármacos, indicando que el genotipo no influye sobre la elección del antidepresivo administrado.

3. Discusión

25 Este estudio muestra por primera vez que un alivio de síntomas depresivos inducido por un antidepresivo puede ser predicho por un SNP, particularmente por el rs 2235015 en el gen de la ABCB1. Esta asociación entre un curso clínico y el polimorfismo de la ABCB1 es encontrada en pacientes deprimidos tratados con fármacos que son un sustrato de una glicoproteína p codificada por la ABCB1. Para identificar si los antidepresivos administrados a pacientes son o no sustratos de una glicoproteína p, se estudiaron unos mutantes de ratón que carecían de los homólogos en ratón de la ABCB1. Estos hallazgos subrayan la necesidad de clasificar los antidepresivos de acuerdo con su propiedad como sustratos de una glicoproteína p.

30 Hasta ahora, no ha sido posible predecir la afinidad de un sustrato para una glicoproteína p a partir de la estructura química, ni a partir de la hidrofobicidad, de la lipofiliidad o de la carga. No han sido identificadas unas características estructurales que permitan explicar porqué la venlafaxina, el citalopram y la paroxetina son sustratos, pero la mirtazapina no lo es. Por lo tanto, un modelo con animales, en este caso con mutantes de ratones que carecen de homólogos de la ABCB1 es útil para averiguar si un antidepresivo dado es un sustrato de una glicoproteína p. Estos resultados sugieren una similar especificidad para un sustrato entre un ratón y un ser humano, apoyando que las mutaciones nulas de *abcb1a* y de *abcb1b* son unos modelos apropiados para la pérdida de función de la ABCB1 humana.

40 Numerosos artículos describen polimorfismos en esta ABCB1¹⁷⁻²⁴ y se enumeran más de 230 SNPs en bases de datos públicas de SNPs para la ABCB1. El polimorfismo más estudiado es un SNP silencioso, el rs 1045642 en el exón 26 (27 de acuerdo con la secuencia de referencia humana; UCSC versión hg15), con frecuencia citado como C3435T^{14,16} encontraron una asociación entre este polimorfismo C3435T y una epilepsia resistente a fármacos, sugiriendo unos posibles efectos de este polimorfismo sobre las concentraciones intracerebrales de fármacos antiepilépticos. En este estudio, sin embargo, no se hizo ninguna distinción de acuerdo con el estado del sustrato de una glicoproteína p de los anticonvulsivos usados. Solamente un estudio investigó unos polimorfismos de la ABCB1, más específicamente del C3435T, en relación con los efectos clínicos inducidos por antidepresivos²⁵. En este estudio, los pacientes fueron tratados con nortriptilina, que es un sustrato de una glicoproteína p, o con fluoxetina, que no es un sustrato de una glicoproteína p^{26,27}. No se encontró ninguna asociación significativa entre el genotipo C3435T y la respuesta antidepresiva a cualquiera de los fármacos, lo que está en concordancia con la falta de asociación con un estado de alivio a las 6 semanas, que hemos observado con este mismo polimorfismo.

50 En conclusión, el hallazgo aquí informado de que la determinación de genotipos de polimorfismos específicos, tal como el rs 2235015, podría permitir predecir una respuesta clínica a una clase distinta de antidepresivos es una etapa adicional hacia una terapia diferencial de acuerdo con un fondo genético individual. Los sustratos de una glicoproteína p podrían ser el fármaco a elegir en pacientes con los genotipos GT o TT de rs 2235015 (véase la Figura 3). Además, los pacientes con el genotipo GG, asociados presumiblemente con unas concentraciones intracerebrales insuficientes de sustratos antidepresivos de una glicoproteína p pueden beneficiarse de una medicación concomitante con un fármaco que mediante un bloqueo del transportador de la ABCB1 intensifica las concentraciones intracerebrales de antidepresivos. Junto al beneficio para el paciente individual que recibe unos fármacos ajustados a medida de su(s) genotipo(s), la predicción de una respuesta por un genotipo plantea

importantes cuestiones para el reclutamiento y enrolamiento de participantes en las pruebas. Una vez que una diferencia en la especificidad para un sustrato para una glicoproteína p ha sido establecida para dos fármacos comparativos, los actuales hallazgos requieren una estratificación apropiada de las muestras de estudios clínicos, para evitar unos sesgos en el muestreo. Un tal sesgo puede tener graves consecuencias puesto que los perfiles de respuestas a fármacos no reflejarán a los de la población general.

5

Referencias

1. Thase, M.E. Overview of antidepressant therapy [Compendio de una terapia antidepresiva].
Manag. Care **10**, 6-9, Discussion [Discusión]18-22 (2001).
2. Cordon-Cardo, C., O'Brien, J.P., Casals, D., Rittman-Grauer, L., Biedler, J.L., Melamed, M.R. & Bertino, J.R. Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites [El gen de resistencia a múltiples fármacos (Glicoproteína p) es expresado por células endoteliales en sitios de la barrera hematoencefálica].*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, 695-698 (1989).
3. Thiebaut, F., Tsuruo, T., Hamada, H., Gottesman, M.M., Pastan, I. & Willingham, M.C. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. [Localización celular del producto del gen de resistencia a múltiples fármacos, Glicoproteína p, en tejidos humanos normales] *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 7735-7738 (1987).
4. Ambudkar, S.V., Dey, S., Hrycyna, C.A., Ramachandra, M., Pastan, I. & Gottesman, M.M. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter [Aspectos bioquímicos, celulares y farmacológicos del transportador de múltiples fármacos]. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **39**, 361-398 (1999).
5. Callen, D.F., Baker, E, Simmers, R.N., Seshadri, R. & Roninson, I.B. Localization of the human multiple drug resistance gene, MDR1, to 7q21.1. [Localización del gen de resistencia a múltiples fármacos de MDR1 humana, en 7q21.1]. *Hum. Genet.* **77**, 142-144 (1987).
6. Chin, J.E, Soffir, R., Noonan, K.E, Choi, K. & Roninson, I.B. Structure and expression of the human MDR (P-glycoprotein) gene family [Estructura y expresión de la familia de genes de MDR humana (Glicoproteína p)]. *Mol. Cell Bio* **9**, 3808-3820 (1989).
7. Schinkel, A.H., Wagenaar, E., Mol, CA. & van Deemter, L. P-glycoprotein in the blood-brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs. [Una glicoproteína p en la barrera hematoencefálica influye sobre la penetración en el cerebro y la actividad farmacológica de muchos fármacos]. *J. Clin. Invest.* **97**, 2517-2524 (1996).
8. Uhr, M., Holsboer, F. & Müller, M.B. Penetration of endogenous steroid hormones corticosterone, cortisol, aldosterone and progesterone into the brain is enhanced in mice deficient for both *mdr1a* and *mdr1b* p, glycoproteins. [La penetración de las hormonas esteroides endógenas corticosterona, cortisol, aldosterona y progesterona en el cerebro es intensificada en ratones deficientes para las dos glicoproteínas p *mdr1a* y *mdr1b*]. *J. Neuroendocrinol.* **14**, 753-759 (2002).
9. Devault, A & Gros, P. Two members of the mouse *mdr* gene family confer multidrug resistance with overlapping but distinct drug specificities. [Dos miembros de la familia de genes *mdr* de ratón confieren resistencia a múltiples fármacos con especificidades para fármacos solapadas pero distintas] *Mol. Cell Biol.* **10**, 1652-1663 (1990).
10. Meijer, D.C., de Lange, EC., Breimer, D.D., de Boer, A.G., Workel, J.D. & de Kloet, E.R. Penetration of dexamethasone into brain glucocorticoid targets is enhanced in *mdr1A* P-glycoprotein knockout mice. [La penetración de dexametasona en dianas de glucocorticoides es intensificada en una glicoproteína p *mdr1A* de ratones desprovistos de inmunidad] *Endocrinology* **139**, 1789-1793 (1998).
11. van de Vrie, W., Marquet, RL., Stoter, G., de Bruijn, EA & Eggermont, A.M. In vivo model systems in P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. [Sistemas de modelos in vivo en la resistencia a múltiples fármacos mediada por una glicoproteína p]. *Grit. Rev. Glin. Lab. Sci.* **35**, 1-57 (1998).

12. Uhr, M., Grauer, M.T. & Holsboer, F.
Differential enhancement of antidepressant penetration into the brain in mice with *abcb1ab* (*mdr1ab*) P-glycoprotein gene disruption
[Intensificación diferencial de la penetración de antidepresivos en el cerebro en ratones con disrupción del gen *abcb1ab* (*mdr1ab*) de una glicoproteína p].
5 *Biol. Psychiatry* **54**,840-846 (2003).
13. Kroetz, D.L., Pauli-Magnus, C., Hodges, L.M., Huang, C.C., Kawamoto, M., Johns, S.J., Stryke, D., Ferrin, T.E., DeYoung, J., Taylor, T., Carlson, E.J., Herskowitz, I., Giacomini, K.M. & Clark, A.G.
10 Sequence diversity and haplotype structure in the human ABCB1 (MDR1, multidrug resistance transporter) gene.
[Diversidad de secuencias y estructura de haplotipos en el gen de la ABCB1 humana (de MDR1, transportador de la resistencia a múltiples fármacos)].
Pharmacogenetics **13**,481-494 (2003).
14. Siddiqui, A., Kerb, R., Weale, M.E., Brinkmann, U., Smith, A., Goldstein, D.B., Wood, N.W. & Sisodiya, S.M.
15 Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1.
[Asociación de la resistencia a múltiples fármacos en una epilepsia con un polimorfismo en el gen transportador de fármacos de la ABCB1]
20 *N. Engl. J. Med.* **348**, 1442-1448 (2003).
15. Sakaeda, T., Nakamura, T. & Okumura K.
Pharmacogenetics of MDR1 and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs.
[Farmacogenética de la MDR1 y su impacto sobre la farmacocinética y la farmacodinámica de fármacos].
25 *Pharmacogenomics* **4**, 397-410 (2003).
16. Brinkmann, U.
Functional polymorphisms of the human multidrug resistance (MDR1) gene: correlation with P glycoprotein expression and activity in vivo
30 [Polimorfismos funcionales del gen de la resistencia a múltiples fármacos (de la MDR1): correlación con la expresión y la actividad *in vivo* de una glicoproteína p].
Novartis Found. Symp. **243**, 207-212. (2002).
17. Kioka, N., Tsubota, J., Kakehi, Y., Komano, T., Gottesman, M.M., Pastan, I. & Ueda, K.
35 P-glycoprotein gene (MDR1) cDNA from human adrenal: normal P-glycoprotein carries Gly185 with an altered pattern of multidrug resistance.
[El ADNc del gen de una glicoproteína p (MDR1) procedente del sistema adrenal humano: Una glicoproteína p normal lleva Gly185 con un patrón alterado de resistencia a múltiples fármacos].
Biochem. Biophys. Res Commun. **162**, 224-231 (1989).
18. Stein, U., Walther, W. & Wunderlich, V.
40 Point mutations in the *mdr1* promoter of human osteosarcomas are associated with in vitro responsiveness to multidrug resistance relevant drugs.
[Unas mutaciones puntuales en el promotor de *mdr1* de osteosarcomas humanos están asociadas con una capacidad de respuesta in vitro a fármacos relevantes para la resistencia a múltiples fármacos].
45 *Eur. J. Cancer* **30A**, 1541-1545 (1994).
19. Mickley, L.A., Lee, J.S., Weng, Z., Zhan, Z., Álvarez, M., Wilson, Bates, S.E. & Fojo, T.
50 Genetic polymorphism in MDR-1: a tool for examining allelic expression in normal cells, unselected and drug-selected cell lines, and human tumors.
[Polimorfismo genético en la MDR1: una herramienta para examinar la expresión alélica en células normales, no seleccionadas, y en linajes de células seleccionadas para ciertos fármacos, y en tumores humanos].
Blood **91**, 1749-1756 (1998).
20. Hoffmeyer, S., Burk, O., von Richter, O., Arnold, H.P., Brockmoller, J., John, A., Cascorbi, I., Gerloff, T., Roots, I., Eichelbaum, M. & Brinkmann, U.
55 Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo.
[Polimorfismos funcionales del gen de la resistencia a múltiples fármacos: variaciones de secuencias múltiples y correlación de un alelo con la expresión y la actividad *in vivo* de una glicoproteína p].
60 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 3473-3478 (2000).
21. Ito, S., Ieiri, I., Tanabe, M., Suzuki, A., Higuchi, S. & Otsubo, K.
65 Polymorphism of the ABC transporter genes, MDR1, MRP1 and MRP2/cMOAT, in healthy Japanese subjects.
[Polimorfismo de los genes transportadores de ABC, MDR1, MRP1 y MRP2/cMOAT, en individuos japoneses sanos]
Pharmacogenetics **11**, 175-184 (2001).

22. Cascorbi, I., Gerloff, T., Johne, A., Meisel, C., Hoffmeyer, S., Schwab, M., Schaeffeler, E., Eichelbaum, M., Brinkmann, U. & Roots, I.
Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects.
[Frecuencia de polimorfismos de un único nucleótido en el gen de la MDR1 transportador de fármacos de una glicoproteína p en individuos blancos]
5 *Clin. Pharmacol. Ther.* **69**,169-174 (2001).
23. Tanabe, M., Ieiri, I., Nagata, N., Inoue, K., Ito, S., Kanamori, Y., Takahashi, M., Kurata, Y., Kigawa, J., Higuchi, S., Terakawa, N. & Otsubo, K.
10 Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene.
[Expresión de una glicoproteína p en una placenta humana: relación con el polimorfismo genético en el gen de la (MDR)-1 de la resistencia a múltiples fármacos]
15 *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **297**, 1137-1143 (2001).
24. Kim, R.B., Leake, B.F., Choo, E.F., Dresser, G.K., Kubba, S.V., Schwarz, U.I., Taylor, A., Xie, H.G., McKinsey, J., Zhou, S., Lan, L.B., Schuetz, J.D., Schuetz, E.G. & Wilkinson, G.R.
20 Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans.
[Identificación de alelos de la MDR1 variante de funcionalidad entre Norteamericanos Europeos y Norteamericanos Africanos].
Clin. Pharmacol. Ther. **70**, 189-199 (2001).
25. Roberts, R.L., Joyce, P.R., Mulder, R.T., Begg, E. & Kennedy, M.A.
25 A common P-glycoprotein polymorphism is associated with nortriptyline-induced postural hypotension in patients treated for major depression.
[Un polimorfismo corriente de una glicoproteína p está asociado con una hipotensión postural inducida por nortriptilina en pacientes tratados por una depresión grande].
Pharmacogenomics J. **2**,191-196 (2002).
- 30 26. Uhr, M. & Grauer, M.T.
abcb1ab P-glycoprotein is involved in the uptake of citalopram and trimipramine into the brain of mice.
[Una glicoproteína p de abcb1ab está implicada en la asimilación de citalopram y trimipramina en el cerebro de ratones]
35 *J. Psychiatric Res.* **37**, 179-185 (2003).
27. Uhr, M., Steckler, T., Yassouridis, A. & Holsboer, F.
Penetration of amitriptyline, but not of fluoxetine, into brain is enhanced in mice with blood-brain-barrier deficiency due to Mdr1a P-glycoprotein gene disruption.
40 [La penetración de amitriptilina, pero no de fluoxetina, en el cerebro es intensificada en ratones con deficiencia en la barrera hematoencefálica debida a una disrupción del gen mdr1a de una glicoproteína p].
Neuropsychopharmacology **22**, 380-387 (2000).
28. Schinkel, A.H., Mayer, U., Wagenaar, E., Mol, C.A., van Deemter, L., Smit, J.J., van der Valk, M.A., Voordouw, A.C., Spits, H., van Tellingen, O., Zijlmans, J.M., Fibbe, W.E. & Borst, P.
45 Normal viability and altered pharmacokinetics in mice lacking mdr1-type (drug-transporting) P-glycoproteins.
[Viabilidad normal y farmacocinética alterada en ratones que carecen de glicoproteínas p del tipo de mdr-1 (transportadoras de fármacos)].
Proc. Natl. Acad. Sci. USA **94**, 4028-4033 (1997).
- 50 29. Uhr, M., Grauer, M.T. & Holsboer, F.,
Differential Enhancement of Antidepressant Penetration into the Brain of Mice with abcb1ab (mdr1ab) P-Glycoprotein Disruption,
[Intensificación diferencial de la penetración de antidepresivos en el cerebro de ratones con disrupción de una glicoproteína p de abcb1ab (mdr1ab)]
55 *Biol. Psych.* **34**, 840-846 (2003).
30. De Luca, V., Mundo, E., Trakalo, J., Wong, G.W.M. & Kennedy, J.L.
Investigation of polymorphism in the MDR1 gene and antidepressant induced mania.
60 [Investigación de un polimorfismo en el gen de la MDR1 y de una mania inducida por antidepresivos] *Pharmacogenomics J.* **3**, 297-299 (2003).
31. Marzolini, C., Pans, E., Buchin, T. & Kirn, R.B.
Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): Recent advances and clinical relevance.
[Polimorfismos en la MDR1 humana (glicoproteína p): Recientes avances y relevancia clínica].
65 *Clin. Pharmacol. Ther.* **75**, 13-33 (2004).

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.

5 <120> Polimorfismos en una ABCB1 asociada con una falta de respuesta clínica a ciertos medicamentos

<130> 32791PUS

<140> US 60/570,085

10 <141> 2004-05-12

<160> 32

<170> PatentIn version 3.1

15

<210> 1

<211> 31

<212> ADN

<213> Homo sapiens

20

<220>

<221> característica variada

<222> (6) .. (9)

<223> NM_000927; 86797791

25

n = a o c o g o t, desconocido, u otro

w = a o t

<400> 1

aacacnnna gaattwtgaa gaggtatctg t

30

31

<210> 2

<211> 31

35

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<221> característica variada

40

<223> NM_000927; 86763977

r = g o a

<400> 2

45

ctcctttcta ctgtrrttg tcttaattgg c

31

<210> 3

50

<211> 31

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

55

<221> característica variada

<223> NM_000927; 86748149

r = g o a

60

<400> 3

aaagtacaag accctraact aaggcagga c

31

<210> 4
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 5
 <220>
 <221> característica variada
 <223> NM_000927; 86758788
 y = t o c
 10
 <400> 4
 tagagtaaag tattcyaatc agtggtattt t
 31
 15
 <210> 5
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 20
 <220>
 <221> característica variada
 <222> (6) .. (9)
 25
 <223> NM_000927; 86731697
 n = a o e o g o t, desconocido, u otro
 w = a o t
 30
 <400> 5
 aacacnnna gaattwtgaa gaggtatctg t
 31
 35
 <210> 6
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 40
 <220>
 <221> característica variada
 <223> NM_000927; 86777670
 y = t o c
 45
 <400> 6
 gcggtgatca gcagtyacat tcacatctt t
 31
 50
 <210> 7
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 55
 <220>
 <221> característica variada
 <223> NM_000927; 86731143
 r = g o a
 60
 <400> 7
 cccaaaacac agatcratat aagattttag g
 31
 65

<210> 8
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Artificial
 5
 <220>
 <221> característica variada
 <223> rs 2235015; PCR Cebador hacia Delante
 10
 <400> 8
 acgttggatg cacctagacc accacaaaac
 30
 15
 <210> 9
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Artificial
 20
 <220>
 <221> característica variada
 <223> rs 2235015; PCR Cebador Inverso
 25
 <400> 9
 acgttggatg aaaaetgagt cagttcgacc
 30
 30
 <210> 10
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Artificial
 35
 <220>
 <221> característica variada
 <223> rs 2235040; PCR Cebador hacia Delante
 40
 <400> 10
 acgttggatg actggagcat tgactaccag
 30
 45
 <210> 11
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Artificial
 50
 <220>
 <221> característica variada
 <223> rs 2235040; PCR Cebador Inverso
 55
 <400> 11
 acgttggatg ttagttcat gctgggggcc
 30
 60
 <210> 12
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Artificial
 65
 <220>
 <221> característica variada
 <223> rs 2235067; PCR Cebador hacia Delante

ES 2 397 345 T3

<400> 12
acgttgatg agtgagaaa gtgctcgaag
30

5

<210> 13
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<221> característica variada
<223> rs 2235067; PCR Cebador Inverso

15

<400> 13
acgttgatg ttctacctca gagatgtccc
30

20

<210> 14
<211> 29
<212> ADN
<213> Artificial

25

<220>
<221> característica variada
<223> rs 2032583; PCR Cebador hacia Delante

30

<400> 14
acgttgatg ctggaaggt gagtcaaac
29

35

<210> 15
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

40

<220>
<221> característica variada
<223> rs 2032583; PCR Cebador Inverso

45

<400> 15
acgttgatg gcatagtaag cagtagggag
30

50

<210> 16
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

55

<220>
<221> característica variada
<223> rs 17064; PCR Cebador hacia Delante

60

<400> 16
acgttgatg gactctgaac ttgactgagg
30

ES 2 397 345 T3

<210> 17
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

5

<220>
<221> característica variada
<223> rs 17064; PCR Cebador Inverso

10

<400> 17
acgttggatg gtgaactctg actgtatgag
30

15

<210> 18
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

20

<220>
<221> característica variada
<223> rs 2032588; PCR Cebador hacia Delante

25

<400> 18
acgttggatg tgatgcagag gctctatgac
30

30

<210> 19
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

35

<220>
<221> característica variada
<223> rs 2032588; PCR Cebador Inverso

40

<400> 19
acgttggatg ggcaaeatca gaaagatgtg
30

45

<210> 20
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

50

<220>
<221> característica variada
<223> rs 1055302; PCR Cebador hacia Delante

55

<400> 20
acgttggatg tccacattaa ggtggctctc
30

60

<210> 21
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

ES 2 397 345 T3

<220>
<221> característica variada
<223> rs 1055302; PCR Cebador Inverso

5

<400> 21
acgttgatg tcataattgt gcctcacccc
30

10

<210> 22
<211> 20
<212> ADN
<213> Artificial

15

<220>
<221> característica variada
<223> rs 2235015; Cebador de Extensión

20

<400> 22
accaccacaa aacaacata
20

25

<210> 23
<211> 18
<212> ADN
<213> Artificial

30

<220>
<221> característica variada
<223> rs 2235040; Cebador de Extensión

35

<400> 23
tgcctccttt ctactggt
18

40

<210> 24
<211> 19
<212> ADN
<213> Artificial

45

<220>
<221> característica variada
<223> rs 2235067; Cebador de Extensión

50

<400> 24
agagaaagta caagaccct
19

55

<210> 25
<211> 22
<212> ADN
<213> Artificial

60

<220>
<221> característica variada
<223> rs 2032583; Cebador de Extensión

65

<400> 25
aattaagtag agtaaagtat tc
22

ES 2 397 345 T3

<210> 26
<211> 23
<212> ADN
<213> Artificial

5
<220>
<221> característica variada
<223> rs 17064; Cebador de Extensión

10
<400> 26
aatgttaaac agatacctct tca
23

15
<210> 27
<211> 17
<212> ADN
<213> Artificial

20
<220>
<221> característica variada
<223> rs 2032588; Cebador de Extensión

25
<400> 27
ctgcggtgat cagcagt
17

30
<210> 28
<211> 19
<212> ADN
<213> Artificial

35
<220>
<221> característica variada
<223> rs 1055302; Cebador de Extensión

40
<400> 28
caaacccaaa acacagatc
19

45
<210> 29
<211> 22
<223> ABCB1; PCR Cebador hacia Delante

50
<400> 29
caattaaaac tgagtcagtt cg
22

55
<210> 30
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

60
<220>
<221> característica variada
<223> ABCB1; PCR Cebador Inverso

65
<400> 30
ttttaaacad ttctacaact tgatg
25

ES 2 397 345 T3

<210> 31
<211> 29
<212> ADN
<213> Artificial

5

<220>
<221> característica variada
<223> rs 2235015; Sonda de ancla

10

<400> 31
tgtatcattg atatcaccta gaccaccac
29

15

<210> 32
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

20

<220>
<221> característica variada
<223> Sensor [G]; Sonda de Sensor

25

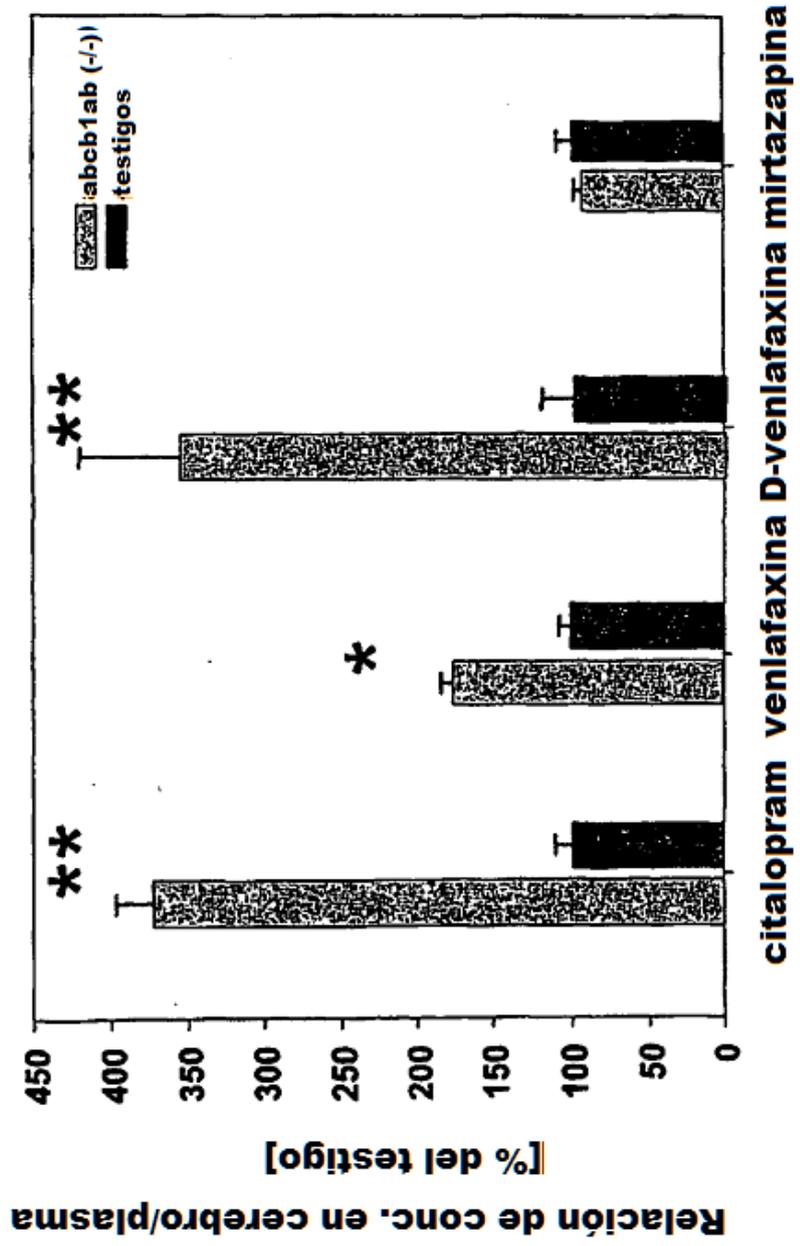
<400> 32
aaacaaacat accattatg tctct
25

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método *in vitro* para determinar el pronóstico de una respuesta clínica en un paciente humano a un medicamento activo en el sistema nervioso central (SNC) que es un sustrato de la proteína ABCB1, en el que se determina la presencia de por lo menos un polimorfismo en el gen de la ABCB1 de dicho paciente, en el que dicho polimorfismo está asociado con una respuesta clínica retrasada, parcial, sub-óptima o ausente a dicho medicamento, en el que el polimorfismo está situado dentro del exón 29, del intrón 5, 13, 21, 22 o 23 o de la secuencia 3'UTR del gen de la ABCB1 humana.
- 10 2. El método de la reivindicación 1, en el que el polimorfismo se selecciona entre el conjunto que consiste en los rs 2235015, rs 2235040, rs 2235067, rs 2032583, rs 17064, rs 2032588, rs 1055302, y combinaciones de los mismos.
3. El método de la reivindicación 2, en el que el polimorfismo es el rs 2235015 o rs 2235040.
4. El método de la reivindicación 3, en el que el polimorfismo es el rs 2235015.
5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el polimorfismo es determinado por un análisis de determinación de genotipos.
- 15 6. El método de la reivindicación 5, en el que el análisis de determinación de genotipos comprende el uso de cebadores y/o sondas que son específicos/as para un polimorfismo.
7. El método de la reivindicación 6, en el que el análisis de determinación de genotipos comprende una reacción de extensión de un cebador.
- 20 8. El método de la reivindicación 6 o 7, en el que los cebadores y/o las sondas comprenden por lo menos una secuencia como se muestra en las Tablas 3, 4 y 5.
9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 6-8, en el que el análisis de determinación de genotipos comprende un análisis de micromatrices.
10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 6-8, en el que el análisis de determinación de genotipos comprende un análisis por espectrometría de masas.
- 25 11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el medicamento se selecciona entre el conjunto que consiste en antidepresivos, ansiolíticos, hipnóticos, intensificadores cognitivos, antipsicóticos, agentes neuroprotectores, antieméticos, antiepilépticos, antibióticos, agentes anticancerosos, antimicóticos, agentes contra la enfermedad de Parkinson, agentes antivíricos, glucocorticoides, inmunosupresores, estatinas, neurolépticos y opioides.
- 30 12. El método de la reivindicación 11, en el que el medicamento es un antidepresivo.
13. El método de la reivindicación 12, en el que el antidepresivo es citalopram, venlafaxina y/o paroxetina.
- 35 14. Una composición terapéutica o un estuche terapéutico para usarse en un método de tratamiento de un paciente humano que tiene por lo menos un polimorfismo en el gen de la ABCB1, que está asociado con una respuesta retrasada, parcial, sub-óptima o ausente a un medicamento activo en el SNC y en el que el polimorfismo está situado dentro del exón 29, del intrón 5, 13, 21-23 o de la secuencia 3'UTR del gen de la ABCB1 humana, y en el que el método de tratamiento comprende:
determinar el pronóstico de una respuesta clínica en el paciente humano de acuerdo con el método de la reivindicación 1,
en el que la composición terapéutica o el estuche terapéutico comprende:
- 40 (a) un medicamento activo en el SNC, que es un sustrato de la proteína ABCB1, seleccionado entre antidepresivos, ansiolíticos, hipnóticos, intensificadores cognitivos, antipsicóticos, antieméticos, antiepilépticos, agentes contra la enfermedad de Parkinson, neurolépticos y opioides; y
(b) un medicamento adicional que es un inhibidor de la proteína ABCB1.

15. La composición terapéutica o el estuche terapéutico de acuerdo con la reivindicación 14, en la/el que los antidepresivos se seleccionan entre amitriptilina, citalopram, doxepina, flesinoxano, nortriptilina, paroxetina, trimipramina y venlafaxina, los ansiolíticos se seleccionan entre alprazolam, bromazepam, clonazepam, diazepam, lorazepam, halazepam, clordiazepóxido, buspirona, azapirona, pagoclone, prazosina, biperideno y kava kava, los hipnóticos se seleccionan entre secobarbital, pentobarbital, metacualona, etoclorovinol, hidrato de cloral y meprobamato, los intensificadores cognitivos se seleccionan entre acetil L-carnitina, adrafinilo, aniracetam, deprenilo, galantamina, hidergina, idebenona, modafinilo, picamilon, piracetam, piritinol, vasopresina y vinpocetina, los antipsicóticos se seleccionan entre risperidona, olanzapina, quetiapina, ziprasidona, clorpromazina, flufenazina, trifluoparazina, perfenazina, tioridazina, haloperidol, tiotixeno, molindona, loxapina, clozapina, olanzapina, quetiapina, risperidona, sertindol, ziprasidona, amisulpida, aripiprazol, benperidol, clorpromazina, clorprotixeno, flupentixol, fluspirileno, levomepromazina, benperidol, melperona, perazina, perfenazina, pimozida, pipamperona, sulpirida, triflupromazina, zotepina y zuclopentixol, los antieméticos se seleccionan entre domperidona y ondansetróna, los antiepilépticos se seleccionan entre carbamazepina, felbamato, lamotrigina, fenobarbital y fenitoína, los agentes contra la enfermedad de Parkinson se seleccionan entre budipina y L-Dopa, los neurolepticos se seleccionan entre olanzapina, quetiapina, risperidona y sulpirida, y/o los opioides se seleccionan entre fentanil y morfina.

Figura 1



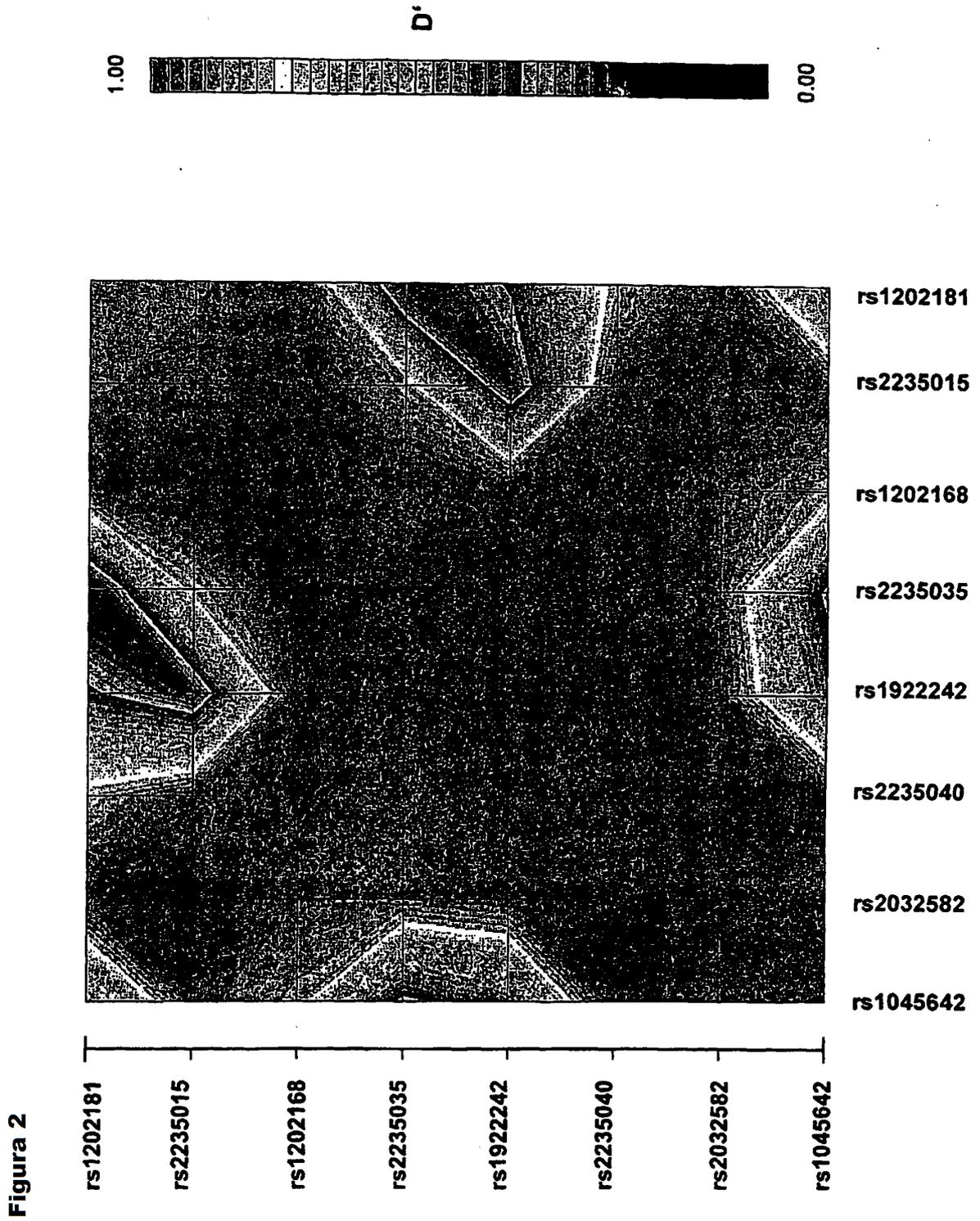


Figura 3

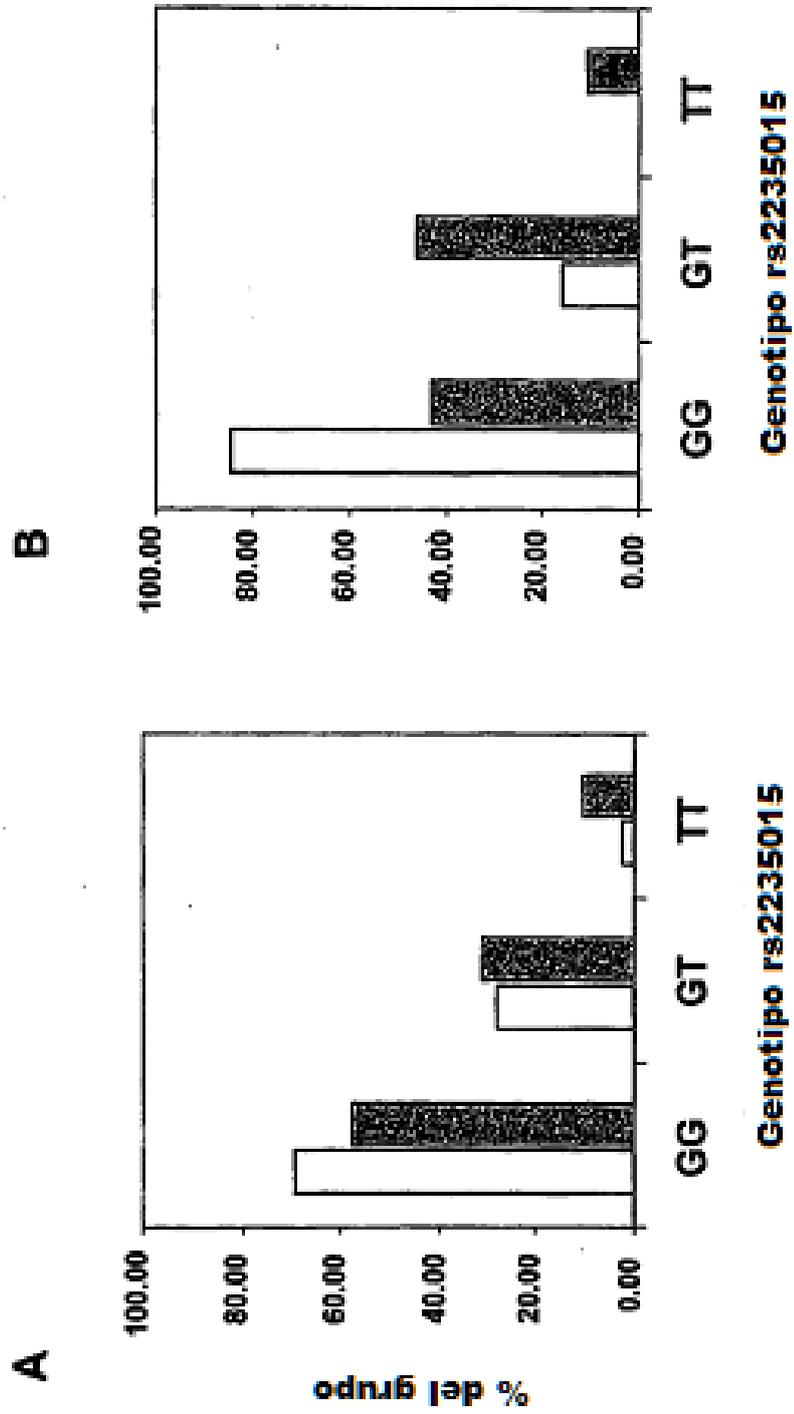


Figura 4

