

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 426 838**

21 Número de solicitud: 201230592

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

20.04.2012

43 Fecha de publicación de la solicitud:

25.10.2013

71 Solicitantes:

GENETRACER BIOTECH S.L (50.0%)
Parque Científico Tecnológico de Cantabria,
Isabel Torres 11 A, Bajo
39011 Santander (Cantabria) ES y
UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO (50.0%)

72 Inventor/es:

CORTIJO BRINGAS, Carlos;
MEANA MARTÍNEZ, José Javier;
BALLESTEROS RODRÍGUEZ, Francisco Javier y
GARCÍA-ORAD CARLES, África

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

54 Título: **Método para predecir el éxito en el abandono del consumo de tabaco en respuesta a un tratamiento farmacológico**

57 Resumen:

Método para predecir el éxito en el abandono del consumo de tabaco en respuesta a un tratamiento farmacológico.

La presente invención se relaciona, en general, con métodos para predecir el éxito en el cese del consumo de tabaco en respuesta a un tratamiento farmacológico con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, basados en el análisis de, al menos, un alelo de uno o más de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o de cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, en una muestra de un sujeto, y, opcionalmente, en combinación con unas variables clínicas.

ES 2 426 838 A1

DESCRIPCIÓN

MÉTODO PARA PREDECIR EL ÉXITO EN EL ABANDONO DEL CONSUMO DE TABACO EN RESPUESTA A UN TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se relaciona, en general, con métodos para predecir el éxito en el cese del consumo de tabaco en respuesta a un tratamiento farmacológico con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, basados en la presencia de determinados polimorfismos y, opcionalmente, en combinación, con unas variables clínicas.

10 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

El consumo de tabaco es uno de los mayores problemas de salud pública de nuestros días ya que constituye uno de los principales factores de riesgo de diversas enfermedades crónicas, por ejemplo, enfermedades pulmonares, cardiovasculares y cáncer. A pesar de ello, el consumo de tabaco continúa estando muy extendido en todo el mundo. De hecho, se calcula que hay cerca de 1 billón de fumadores en el mundo. Tan solo en España, unas 500.000 personas al año enferman por tabaquismo pasivo, siendo el 65% de ellas niños de corta edad. Asimismo, el humo del tabaco es responsable de bronquitis y neumonía en menores de 18 meses, entre 25.000 y 51.000 casos al año aproximadamente, que obligan a alrededor de 1.300 hospitalizaciones/año por ese motivo. Por otro lado, el promedio de adultos no fumadores fallecidos por cáncer de pulmón es de unos 400 casos anuales. A todo esto hay que agregar el alto número de afectados (entre 6.000 y 11.000 aproximadamente) de infarto de miocardio o angina de pecho que también han requerido hospitalización. A pesar de esto, en España el 31,8% de los adultos son fumadores actuales, y esta tasa se ha mantenido estable durante los últimos años (Plan Nacional sobre Drogas, 2009).

25

En los países en los que ya se ha establecido la educación contra el tabaco, por ejemplo España, más del 80% de los fumadores están interesados en abandonar el consumo de tabaco y más del 40% de personas intentan dejar de fumar cada año (Shiffman *et al.* 2008, *Am J Prev Med*, 35(2):158-176).

30

Se distinguen dos líneas terapéuticas principales en el abordaje del tratamiento de la dependencia a la nicotina: la terapia farmacológica no nicotínica y la terapia sustitutiva de

nicotina ya que la nicotina es el principal compuesto psicoactivo en el tabaco. En ambos casos, se considera que el coadyuvante de la predisposición psicológica y su abordaje cognitivo-conductual, es esencial para conseguir superar la dependencia.

5 La terapia farmacológica no nicotínica se lleva a cabo con el uso de medicamentos que imitan la molécula de la nicotina y la sustituyen en la fijación en los receptores nicotínicos, o mediante otros medicamentos con indicación aprobada para abandonar el consumo de tabaco; entre los medicamentos más empleados, se encuentran el bupropión, la nortriptilina, la vareniclina y la citisina. Mediante la administración de estos fármacos se obtiene una tasa
10 de éxito en los intentos de abandonar el consumo de tabaco que duplica la tasa obtenida en ausencia de los mismos, por lo que dichos fármacos contribuyen sustancialmente a mejorar la salud y a reducir el riesgo de mortalidad prematura (Fant *et al.* 2009, *Handb Exp Pharmacol.* 2009;(192):487-510).

15 La terapia basada en administrar nicotina en dosis limitadas a través de medios alternativos (chicles, parches, pastillas e inhaladores), conocida como terapia sustitutiva de nicotina (TSN), presenta el problema de su contraindicación para aquellos con problemas precisamente derivados del consumo de nicotina a través del tabaco e incluso la posibilidad de que ella misma cree adicción. No obstante, los sustitutos de nicotina fumada pueden
20 ayudar a superar la abstinencia de los fumadores dependientes que dejan de fumar si se usan durante plazos cortos, no superiores a 9 semanas. En general, se utilizan parches diariamente con una concentración constante de nicotina durante 3 semanas y luego se van cambiando por otros con menor dosis de nicotina. Mientras tanto el cerebro se adapta a funcionar sin nicotina y adquiere otros hábitos saludables. El hecho de que los parches liberen la nicotina
25 en forma constante no genera adicción ya que no se produce un pico de nicotina en sangre que es lo que refuerza el deseo de fumar.

La TSN, el apoyo psicológico, y el tratamiento farmacológico con bupropión, vareniclina o nortriptilina han demostrado tener un efecto clínicamente significativo. Actualmente, la
30 eficacia de todos los tratamientos puede considerarse idéntica a las 52 semanas (Aubin *et al.* 2008, *Thorax* 63(8):717-24). Desafortunadamente, sin tratamiento, aproximadamente el 3-5% de los fumadores que desean dejar de fumar logra tasas de abstinencia de un año, pero

muchos de los que logran una abstinencia al año recaerán en los próximos 2 años (Organización Mundial de la Salud, 2004).

5 El tabaquismo representa un comportamiento complejo que incluye el inicio en el consumo del tabaco, su progresión al uso regular, dependencia, abandono y recaída. Junto con los factores ambientales, existen evidencias de la influencia genética en el establecimiento, mantenimiento y cese del consumo de tabaco. Estudios de asociación refieren una influencia del genotipo del 40-60% (Uhl *et al.* 2007, BMC Genet 3:8-10).

10 La información genética puede ser de utilidad para identificar a los fumadores con posibilidades razonadas de abandonar el consumo de tabaco frente a los que carecen de ellas. De hecho, se han descrito polimorfismos de genes específicos que contribuyen a la variabilidad de la respuesta cognitiva a la nicotina, la cual influye en el proceso de dependencia de la abstinencia, e influyen en los procesos del inicio, la adicción y cese de su
15 consumo. Por todo ello, es de esperar que las variaciones genéticas puedan influir en la respuesta fármaco-terapéutica de los fármacos utilizados en el abandono del consumo de tabaco. Dado que la nicotina es el principal componente psicoactivo del tabaco, la mayoría de los genes candidatos en estudios farmacogenéticos se centran en los receptores nicotínicos involucrados en el metabolismo de la nicotina. Sin embargo, otros genes con relevancia
20 biológica, con demostradas variaciones fenotípicas y genotípicas, pueden afectar a la eficacia de los fármacos utilizados para abandonar el consumo de tabaco.

Un estudio de asociación del genoma completo (GWA) ha identificado diferentes genes involucrados en el éxito de la abstinencia entre sujetos tratados con mecamilamina y TSN
25 (Uhl *et al.* 2007, BMC Genet 3:8-10). Además, una reciente revisión sistemática ha identificado 75 genes asociados a 13 rutas metabólicas diferentes que parecen influir en el abandono del consumo de tabaco (Wang & Li 2010, Neuropsychopharmacology 35(3):702-719). Las variantes farmacogenéticas que selectivamente distinguen entre la respuesta terapéutica a TSN y bupropión también han sido publicadas (Uhl *et al.* 2008, Arch Gen
30 Psychiatry 65(6):683-693).

Los estudios farmacogenéticos constituyen un método poderoso para identificar variantes genéticas que contribuyen a establecer las bases de las enfermedades complejas, entre las que se incluyen las adicciones (Detera-Wadleigh & McMahon 2004, *Int Rev Psychiatry* 16(4):301-310). Los polimorfismos más frecuentes conocidos actualmente son los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs). Los SNPs se producen a lo largo de todo el genoma, tanto en regiones extragénicas como en regiones codificantes o en sus secuencias reguladoras. El cambio de un solo nucleótido puede causar: (i) la sustitución de un aminoácido, si está en una secuencia exónica, variando la función de la proteína, (ii) la modificación de la cantidad de la proteína, si el SNP está en una región reguladora, o (iii) el cambio de la estructura de la proteína, si el cambio está en una zona de splicing. Estas diferencias individuales proporcionan la base del modelo de la farmacogenética.

Dado que la nicotina es el principal compuesto psicoactivo en el tabaco, la mayoría de los genes candidatos analizados en estudios de farmacogenética se han centrado en los receptores nicotínicos y genes implicados en el metabolismo de la nicotina. Entre los genes implicados en la vulnerabilidad a nicotina se encuentran aquellos genes vinculados a las vías de la neurotransmisión dopaminérgica, especialmente los del receptor D2 (DRD2) y el transportador de dopamina (DAT o SLC6A3). Igualmente, las enzimas del metabolismo dopaminérgico COMT y MAO-B presentan variabilidad interindividual que podría contribuir a las diferentes respuestas ante sustancias con potencial adictivo (Barrueco *et al.* 2005, *Med Clin (Barc)* 124(6):223-8). Por otro lado, el metabolismo de la nicotina está sujeto a variantes genéticas en el citocromo P450, encargado de su metabolismo a cotinina.

En el caso de la TSN, se ha sugerido que variantes en las subunidades del receptor colinérgico nicotínico pueden afectar a la intensidad de los efectos de la misma. El tipo más frecuente de receptor colinérgico nicotínico (CHRN) presente en el sistema nervioso central (SNC) es el $\alpha 4\beta 2$. El consumo de tabaco modifica la expresión de otras subunidades como la $\alpha 7$ y la $\alpha 5$, modificando así la estructura del receptor y de sus funciones acopladas. Por otro lado, el metabolismo de nicotina es muy sensible a los SNPs en el CYP2A6. Ciertas variantes, tales como la *2 y la *4 son menos activas, lo que supone mayor sensibilidad a los efectos adversos de los parches de nicotina.

El bupropión es un fármaco que utiliza el transportador de dopamina DAT y la consecuente modulación dopaminérgica como mecanismo de ayuda en la deshabituación tabáquica. Ciertas variantes del DAT podrían representar una resistencia a los efectos del mismo. Por otro lado, se ha descrito, en uno de los pocos estudios metodológicamente bien diseñados (Berrettini *et al.* 2007, *Biol Psychiatry* 61(1):111-118), que las respuestas a bupropión pueden variar en función de la mayor o menor disponibilidad sináptica de dopamina controlada por variantes de la COMT. El metabolismo de bupropión también es dependiente del citocromo CYP2B6, así alguna de sus variantes, por ejemplo, la *4, proporciona un mayor aclaramiento de bupropión y como consecuencia, una menor eficacia del mismo.

10

En el caso de la vareniclina, dada su reciente introducción comercial, únicamente se ha publicado un estudio no independiente de asociación con variantes genéticas centrado en farmacogenética (King *et al.* 2012, *Neuropsychopharmacology* 37:641-650).

15

Dado que las variaciones genéticas influyen en las respuestas farmacoterapéuticas a los medicamentos utilizados para dejar de fumar, sería conveniente conocer la relación entre estos dos factores. El aumento de la probabilidad de un sujeto de abandonar el consumo del tabaco presenta un escenario prometedor en el que la farmacogenómica podría proporcionar mejoras sustanciales para la salud.

20

Por tanto, sigue existiendo la necesidad de realizar estudios que permitan determinar el éxito derivado del uso de fármacos dirigidos al abandono del consumo de tabaco, en particular, de fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos, entre los que se encuentran la vareniclina, la citisina y la dianiclina, entre otros. Por ello, se hace necesario el desarrollo de metodologías que permitan determinar el éxito de un tratamiento farmacológico con dichos fármacos en el cese del consumo de tabaco.

25

COMPENDIO DE LA INVENCION

Los autores de la presente invención han identificado unos polimorfismos de nucleótido único (SNPs) cuya presencia, opcionalmente junto a un compendio de variables clínicas, está relacionada con una mayor o menor probabilidad de éxito en el abandono del consumo de tabaco en respuesta a un tratamiento farmacológico basado en vareniclina, un fármaco

30

agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos. Los inventores realizaron un estudio para determinar el perfil farmacogenómico asociado con la eficacia de un tratamiento farmacológico para dejar de fumar basado en vareniclina, evaluándose los resultados obtenidos en términos de abstinencia de consumo tabáquico a 3 meses (eficacia a corto
5 plazo) y a 12 meses (eficacia a largo plazo). Se genotiparon 384 SNPs en un total de 807 sujetos, de los cuales 479 habían recibido, o estaban recibiendo, tratamiento farmacológico con vareniclina, y se estudió la asociación de sus genotipos con el abandono del consumo de tabaco en respuesta a dicho tratamiento farmacológico encontrándose que los alelos de determinados SNPs, concretamente de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566,
10 rs10891510, rs11932367 y/o rs2023239, o cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, estaban significativamente asociados. Este hallazgo abre la puerta a unos nuevos predictores genéticos útiles en la predicción del éxito en el abandono del consumo de tabaco por un sujeto en respuesta a un tratamiento farmacológico basado en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, tales como, por ejemplo, vareniclina, citisina y
15 dianiclina, entre otros. Basándose en estos hallazgos, los inventores han desarrollado los métodos de la presente invención. La información proporcionada por dichos métodos puede ser utilizada eficientemente por el especialista en el diseño de tratamientos personalizados para el abandono del consumo de tabaco.

20 Los aspectos inventivos de la presente invención se mencionan en las reivindicaciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La **Figura 1** muestra las curvas ROC correspondientes a los modelos univariado (gráfica superior) y multivariado (gráfica inferior) en relación con el SNP rs678188.

25

La **Figura 2** muestra las curvas ROC correspondientes a los modelos univariado (gráfica superior) y multivariado (gráfica inferior) en relación con el SNP rs9658498.

La **Figura 3** muestra las curvas ROC correspondientes a los modelos univariado (gráfica superior) y multivariado (gráfica inferior) en relación con el SNP rs4821566.

30

La **Figura 4** muestra las curvas ROC correspondientes a los modelos univariado (gráfica superior) y multivariado (gráfica inferior) en relación con el SNP rs10891510.

La **Figura 5** muestra las curvas ROC correspondientes a los modelos univariado (gráfica superior) y multivariado (gráfica inferior) en relación con el SNP rs11932367.

La **Figura 6** muestra las curvas ROC correspondientes a los modelos univariado (gráfica superior) y multivariado (gráfica inferior) en relación con el SNP rs2023239.

10 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Los autores de la presente invención han identificado unos alelos de SNPs cuya presencia está relacionada con una mayor o menor probabilidad de éxito en el abandono del consumo de tabaco en respuesta a un tratamiento farmacológico basado en vareniclina o fármacos con similar mecanismo de acción como por ejemplo citisina y dianiclina, entre otros. Basándose en ese hallazgo, se han desarrollado los métodos de la presente invención los cuales se describen a continuación en detalle.

Para evitar dudas, los métodos de la invención se llevan a cabo con una muestra que previamente es retirada del sujeto. Los kits de la invención, descritos a continuación, pueden incluir medios para extraer la muestra del sujeto.

Definiciones

Las siguientes definiciones se presentan para ilustrar y definir el sentido y alcance de distintos términos y expresiones utilizadas para describir la propia invención.

25

En la presente invención, se emplean indistintamente los términos “abandono” o “cese”, en relación con el consumo de tabaco, para hacer referencia a la abstinencia, terminación o finalización, del consumo de tabaco. El abandono del consumo de tabaco puede ser (i) completo, cuando se produce una total ausencia de consumo de cualquier tipo o forma de producto de tabaco desde el momento en el que se decide abandonar su consumo, (ii) continuado, cuando el sujeto que abandona el consumo de tabaco tiene recaídas, continuas o puntuales, durante los 15 días posteriores a la fecha en la que decide cesar o abandonar el

30

consumo de tabaco, o (iii) puntual, cuando el sujeto abandona el consumo de tabaco durante un periodo de tiempo variable aunque corto, en general, de unas semanas o meses. Ventajosamente, el cese del consumo de tabaco es un cese completo. En la práctica clínica, la declaración verbal de cese de consumo de tabaco, cuando éste es inhalado (fumado),
 5 puede ser validada mediante la determinación de los niveles de monóxido de carbono (CO) en aire espirado, siendo la cooximetría la técnica más habitual para dicha determinación. Niveles de 10 ó más ppm de CO en el aire espirado corresponden a sujetos fumadores. Niveles de 6 a 10 ppm a fumadores esporádicos, y cifras por debajo de 6 ppm a no fumadores.

10

La expresión “adicción o dependencia al tabaco”, tal como aquí se utiliza, hace referencia al abuso del consumo de tabaco, provocando que el consumidor de tabaco sufra una dependencia física y psicológica que genera un síndrome de abstinencia. El tabaco tiene poder adictivo debido principalmente a la nicotina, la cual también tiene efectos
 15 antidepresivos y de alivio sintomático de la ansiedad. El término “tabaquismo” se utiliza, en ocasiones, como sinónimo de “adicción al tabaco”; no obstante, el término “tabaquismo” también se emplea en relación con una intoxicación crónica que se produce por el abuso del tabaco y agrupa los efectos del consumo reiterado del tabaco y de la adicción desarrollada. La adicción al tabaco constituye un factor de riesgo de enfermedades respiratorias y
 20 cardiovasculares, y es especialmente perjudicial durante el embarazo. El tabaquismo está relacionado con la aparición de un alto número de enfermedades, entre ellas varios tipos de cáncer, siendo el más frecuente el de pulmón. Además, el tabaco no sólo perjudica a los fumadores activos, sino también a los que respiran el mismo aire (fumadores pasivos).

25

El término “agonista” se refiere a un compuesto capaz de generar una respuesta en una célula tras unirse a un receptor celular. El compuesto agonista se une a un receptor y tiene un efecto intrínseco y, por tanto, aumenta la actividad basal de un receptor cuando entra en contacto con el receptor. Por otro lado, el término “antagonista” se refiere a un compuesto que al unirse a un receptor celular bloquea la activación de dicho receptor celular por parte
 30 del agonista. El compuesto antagonista compite con el compuesto agonista por unirse a un receptor, bloqueando de ese modo la acción del agonista en el receptor. Sin embargo, un antagonista (también conocido como antagonista “neuro”) no tiene ningún efecto sobre la

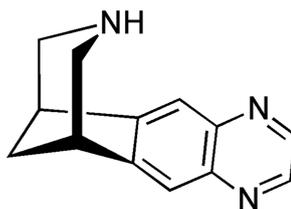
actividad constitutiva del receptor. Los antagonistas median sus efectos mediante la unión al sitio activo o a los sitios alostéricos en los receptores, o pueden interactuar en sitios de unión únicos que normalmente no están implicados en la regulación biológica de la actividad del receptor. La actividad antagonista puede ser reversible o irreversible dependiendo de la
5 longevidad del complejo antagonista-receptor, que, a su vez, depende de la naturaleza de la unión antagonista-receptor. Asimismo, los agonistas pueden ser parciales o completos. Un “agonista parcial” se define como un compuesto que tiene afinidad por un receptor, pero a diferencia de un agonista completo, provocará sólo un pequeño grado de la respuesta farmacológica peculiar para la naturaleza del receptor implicado, incluso si una alta
10 proporción de receptores están ocupados por el compuesto..

El término “alelo”, tal como aquí se utiliza, se refiere a una, dos o más formas de un gen, locus o polimorfismo genético. A veces, los diferentes alelos pueden dar lugar a diferentes fenotipos; sin embargo, otras veces, los diferentes alelos tendrán el mismo resultado en la
15 expresión de un gen. La mayoría de los organismos multicelulares tienen dos juegos de cromosomas, es decir, que son diploides. Estos cromosomas se denominan cromosomas homólogos. Los organismos diploides tienen una copia de cada gen (y un alelo) en cada cromosoma. Si ambos alelos son iguales, son homocigotos. Si los alelos son diferentes, son heterocigotos.

20

El término “bloque de ligamiento” o “bloque haplotípico”, tal como aquí se utiliza, hace referencia al conjunto de SNPs en un cromosoma particular que están estadísticamente asociados y configuran un haplotipo (combinación de marcadores genéticos).

25 El término “citisina”, tal como aquí se utiliza, se refiere al compuesto (1R,5S)-1,2,3,4,5,6-hexahidro-1,5-metano-8H-pirido[1,2a][1,5] diazocina-8-ona, de fórmula:



La citisina es un alcaloide vegetal de conformación relativamente rígida, de estructura molecular similar a la de la nicotina y de la acetilcolina. La citisina es un insecticida natural que se encuentra en las hojas de *Cytisus laburnum* y *Ulex europaeus*, entre otros. Se ha descrito la síntesis de citisina y derivados en Coe JW 2000 Org Lett 2:4205-4208 y O'Neill BT *et al.* 2000 Org Lett 2:4201-4204. El término “citisina”, tal como aquí se utiliza incluye los derivados mencionados en dichas publicaciones científicas, entre otros.

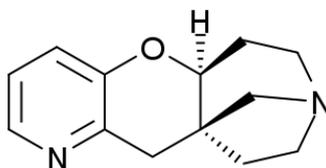
La citisina se comercializa bajo la marca Tabex[®] y se encuadra dentro del grupo de los fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos y es un compuesto que tiene afinidad por el subtipo $\alpha 4\beta 2$ de los receptores nicotínicos neuronales de la acetilcolina. La citisina es un insecticida natural que se encuentra en las hojas de *Cytisus laburnum* y *Ulex europaeus*, entre otros. La síntesis de citisina y derivados se describe en Coe JW 2000 Org Lett 2:4205-4208 y O'Neill BT *et al.* 2000 Org Lett 2:4201-4204.

La expresión “consumo de tabaco”, tal como aquí se utiliza, incluye cualquier forma de consumo de tabaco, constituyendo la inhalación de los productos de la combustión del tabaco su forma de consumo más habitual. El término “fumar”, en el sentido utilizado en esta descripción, hace referencia a la acción de aspirar y despedir el humo del tabaco. Al consumir un cigarrillo se producen 2 tipos de corrientes de humo: (i) la primera, o corriente principal, que es aquella que al aspirar una calada pasa por el interior del cigarrillo hasta alcanzar los pulmones del fumador activo; y (ii) la segunda, o corriente secundaria, que es la que se desprende al ambiente desde el extremo incandescente del cigarrillo y que puede ser inhalada por un sujeto que respira en ese entorno contaminado, siendo dicho sujeto el fumador pasivo. Al inhalar el humo del tabaco, el fumador promedio consume entre 1 y 2 mg de nicotina por cigarrillo. Cuando el tabaco se fuma, la nicotina llega rápidamente a sus niveles máximos en el torrente sanguíneo y penetra en el cerebro.

Aunque fumar cigarrillos es la forma más habitual y popular de consumo de tabaco, en la presente invención también se contemplan otras formas de consumo de tabaco sin humo, tales como, por ejemplo, el consumo de tabaco en polvo o rapé y el consumo de tabaco para mascar, que suponen formas de consumo de tabaco mediante masticado, chupado, esnifado, etc. Estos productos de tabaco sin humo también contienen nicotina. En el caso de no inhalar

el humo, por ejemplo, al fumar pipas o cigarros, o al consumir tabaco sin humo, la nicotina se absorbe a través de las membranas de las mucosas y alcanza los niveles máximos en la sangre y en el cerebro más lentamente.

- 5 Otra forma de consumo de tabaco, cuya predicción de éxito o fracaso de cese de consumo en sujetos sometidos a tratamiento con vareniclina también cae dentro de los objetivos de los métodos proporcionados por la presente invención, viene dada por los cigarrillos electrónicos. Los “cigarrillos electrónicos” (“e-Cig”) son aparatos que vaporizan la sustancia contenida en los cartuchos, provocando la expulsión de vapor que imita al humo en el
- 10 cigarrillo tradicional y consiguiendo en el usuario un efecto similar. La boquilla del aparato contiene un cartucho recambiable o recargable lleno de líquido. Las principales sustancias de dicho líquido son propilenglicol y/o glicerina vegetal, nicotina en diferentes dosis de modo opcional (entre 0 y 36 mg/ml en general), sabores y aromas opcionales.
- 15 El término “dianiclina” se refiere al compuesto (5aS,8S,10aR)-5a,6,9,10-tetrahidro,7H,11H-8,10a-metanopirido[2',3':5,6]pirano[2,3-d]azepina y tiene como fórmula:



- La dianiclina se encuadra dentro del grupo de los fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos y es un compuesto que tiene afinidad por el subtipo $\alpha 4\beta 2$ de los
- 20 receptores nicotínicos neuronales de la acetilcolina.

- El término “fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos” se entiende como aquel fármaco con capacidad para, tras la interacción con alguna de las subunidades del receptor colinérgico nicotínico, modificar procesos de respuesta celular y generar una
- 25 respuesta biológica (Florez *et al.*, Farmacología Humana, 4ª Edición, Masson, Barcelona, 2003). Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de dichos fármacos incluyen citisina, dianiclina y vareniclina, entre otros.

El término “muestra biológica”, tal como aquí se utiliza, incluye cualquier material biológico que se puede obtener de un sujeto, susceptible de conservación y que pueda albergar información sobre la dotación genética característica del sujeto. La muestra de la invención puede ser de tipo celular, tisular o fluida. En una realización particular de la invención, la muestra es de sangre y/o de saliva.

El término “nicotina”, tal como aquí se utiliza, se refiere a un compuesto alcaloide que se encuentra en la planta del tabaco, responsable de los efectos psicoactivos y adictivos del tabaco. Aunque se han identificado cerca de 5.000 compuestos químicos en las distintas fases (gaseosa, sólida o de partículas) del humo del tabaco, su contenido en nicotina es lo que convierte al tabaco en adictivo. Se considera que la nicotina es la responsable tanto de la adicción al tabaco como del mantenimiento del hábito tabáquico. A modo de ejemplo, al inhalar el humo del tabaco, la nicotina se absorbe rápidamente tanto en la mucosa oral como en los pulmones, desde donde pasa al aparato circulatorio distribuyéndose por todo el organismo, y, en 7-10 segundos, la nicotina llega al cerebro, donde se une a los receptores nicotínicos produciendo un efecto estimulante y/o sedante, placentero y gratificante, que desencadena la aparición de dependencia al tabaco (dependencia farmacológica o física). En general, el fumador adapta su patrón de inhalación de nicotina en cuanto a frecuencia, profundidad de las inhalaciones y tiempo de retención del humo, en función de sus propias características y del efecto que pretenda provocarse en cada circunstancia. Estas variaciones del patrón de fumar producen distintas concentraciones de nicotina en sangre que rinden diferentes niveles de oferta de nicotina al organismo y diferentes efectos en su acción. Cuando el fumador deja de fumar durante un tiempo comienza a tener una serie de síntomas que son lo que causa el síndrome de abstinencia. Además de esta dependencia farmacológica o física, la nicotina también ocasiona una dependencia psicológica y social que depende fundamentalmente de la configuración de la personalidad de cada fumador. La nicotina produce una serie de efectos en el organismo entre los que destacan incremento de la tensión arterial, incremento de la frecuencia cardiaca o taquicardia, incremento de la glucemia e incremento del movimiento intestinal.

Los polimorfismos genéticos más comunes son los SNPs y las variaciones en el número de copias (VNCs). Tal como aquí se utiliza, el término “polimorfismo” se refiere a sustituciones

de un único nucleótido por otro y que se observan en la población general en una frecuencia mayor que el 1%. En un caso concreto, cuando dicha variación en la secuencia de nucleótidos se produce en un solo nucleótido (A, C, T y G), se conoce como “SNP” (del inglés “single nucleotide polymorphism” o “polimorfismo de un sólo nucleótido”).

5

Los SNPs representan una de las formas más comunes de variación genética, en donde cada versión de la secuencia con respecto al sitio polimórfico es referida como un alelo del sitio polimórfico. Los SNPs se producen a lo largo de todo el genoma, tanto en regiones extragénicas como en regiones codificantes o sus secuencias reguladoras. El cambio de un solo nucleótido puede causar: 1) la sustitución de un aminoácido, si está en una secuencia exónica, y variar la eficacia de la función de la proteína; 2) modificar la cantidad de la proteína, si el SNP está en una región reguladora; ó 3) cambiar la estructura de la proteína, si el cambio está en una zona de splicing.

15 Las mutaciones se pueden utilizar como herramientas diagnósticas y/o pronósticas para la identificación de sujetos con predisposición a una enfermedad o a una rápida evolución de la enfermedad, genotipando al sujeto que padece la enfermedad y facilitando el desarrollo de medicamentos basado en el conocimiento generado sobre el papel de las proteínas en el proceso de patogénesis. Asimismo, los SNPs también se puede utilizar como herramientas
20 diagnósticas y/o pronósticas para la identificación de sujetos que respondan bien (o que no respondan) o que presenten efectos adversos a una terapia concreta o a un tratamiento farmacológico determinado ya que las diferencias interindividuales heredadas en la farmacocinética y farmacodinámica de los fármacos se deben a variantes genéticas que afectan a la función o expresión génica. Estos polimorfismos afectan a enzimas
25 metabolizadoras de fármacos, transportadores y dianas de fármacos y pueden tener una gran influencia en la eficacia y seguridad de una terapia o tratamiento farmacológico determinados.

En algunas realizaciones de la presente invención, los marcadores genéticos utilizados en la
30 invención son alelos específicos en “sitios polimórficos” asociados con el éxito o fracaso del cese o abandono del consumo de tabaco por un sujeto bajo tratamiento con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos para dejar de consumir tabaco. Una

posición nucleotídica en el genoma en la que es posible más de una secuencia en una población, se conoce como un “sitio polimórfico”. Cuando un sitio polimórfico es de un solo nucleótido de longitud, el sitio comúnmente se llama SNP, tal como se mencionó anteriormente, por ejemplo, si en una localización cromosómica particular, un miembro de una población tiene una adenina (A) y otro miembro de la población tiene una timina (T) en la misma posición, entonces esta posición es un sitio polimórfico y, más concretamente, el sitio polimórfico es un SNP. Cada versión de la secuencia con respecto al sitio polimórfico se conoce como un alelo del sitio polimórfico. Así, en el ejemplo anterior, el SNP permite tanto un alelo A como un alelo T. Estos alelos son “variantes alélicas”. Variantes de la secuencia de nucleótidos, ya sea en regiones codificantes o no codificantes, pueden dar lugar a cambios en la secuencia del polipéptido codificado, lo que afecta a las propiedades de los mismos (alteración de la actividad, alteración de la distribución, estabilidad alterada, etc.). Por otra parte, las variantes de la secuencia de nucleótidos, ya sean en regiones codificantes o no codificantes, pueden dar lugar a cambios que afectan a la transcripción de un gen o de la traducción de su ARN mensajero. En todos los casos, las alteraciones pueden ser cualitativas, cuantitativas, o ambas.

El término “probabilidad”, tal como aquí se utiliza, mide la frecuencia con la que se obtiene un resultado (o conjunto de resultados) al llevar a cabo un experimento aleatorio, del que se conocen todos los resultados posibles, bajo condiciones suficientemente estables. Dicho término “probabilidad”, en combinación con el cese del consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en vareniclina, tal como aquí se utiliza, se refiere a la propensión, o probabilidad real, de un sujeto de abandonar el consumo de tabaco en respuesta a dicha terapia durante un periodo de tiempo determinado, por ejemplo, durante un periodo de, al menos, 3 meses, contado desde el inicio del tratamiento con vareniclina. La probabilidad puede ser “alta” o “baja”. Como entenderán los técnicos en la materia, la probabilidad no tiene por qué ser del 100% para todos los sujetos evaluados, aunque preferentemente debería ser así. Dicho término, sin embargo, requiere que una parte estadísticamente significativa de los sujetos que abandonan el consumo de tabaco en respuesta al tratamiento farmacológico con vareniclina puedan ser identificados como sujetos que tienen una probabilidad alta de obtener un resultado determinado, en concreto, abandonar el consumo de tabaco. Si un sujeto es estadísticamente significativo o no, puede ser determinado sin grandes complicaciones,

por un técnico en la materia, utilizando distintas herramientas conocidas de evaluación estadística, por ejemplo, mediante la determinación de intervalos de confianza, la determinación del valor de p, el test de Student, el test de Mann-Whitney, etc. Información adicional sobre estas herramientas estadísticas pueden encontrarse en Dowdy y Wearden,
 5 Statistics for Research, John Wiley & Sons, New York, 1983. Los intervalos de confianza preferidos son de al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90%, o al menos 95%. Los valores de p son, preferentemente, 0,1, 0,05, 0,02, 0,01 ó inferiores.

10 El término “sujeto”, tal como aquí se utiliza, se refiere a un ser humano, de sexo femenino o masculino, y de cualquier raza o edad. En una realización particular, el sujeto es un consumidor activo de tabaco, es decir, consume tabaco de forma habitual o de forma esporádica; en una realización más concreta, dicho sujeto es un fumador activo. Aunque no existe unanimidad acerca de quiénes deberían ser considerados fumadores leves, moderados
 15 o severos, ni del límite exacto que separa el fumador habitual del esporádico, a modo de ejemplo, un fumador de más de 20 cigarrillos al día podría ser considerado un fumador “severo”, un fumador de entre 10 y 20 cigarrillos al día podría ser considerado un fumador “moderado”, y un fumador de menos de 10 cigarrillos al día podría ser considerado un fumador “leve”. Asimismo, aunque no se ha establecido el tiempo necesario para considerar
 20 a un fumador como “ex-fumador”, lo más habitual es considerar el plazo de un año de cese o abandono completo de consumo de tabaco. Por otra parte, se consideran “no fumadores” aquellos sujetos que no han tenido una exposición al tabaco de forma activa ni mantenida.

El término “tabaco”, tal como aquí se utiliza, se refiere a un producto procesado a partir de
 25 las hojas de varias plantas del género *Nicotiana*, entre ellas *N. tabacum*, *N. petunoides*, *N. rustica* y *N. glauca*. La especie *N. tabacum* puede clasificarse en cuatro variedades, *havanensis*, *brasilensis*, *virginica* y *purpurea*, que son el origen de las distintas variedades usadas en la comercialización del tabaco. Los productos a base de tabaco a los que se dirigen
 los métodos de la invención relacionados con la predicción de éxito o fracaso de cese de
 30 consumo en sujetos sometidos a tratamiento con vareniclina incluyen aquellos productos que están hechos total o parcialmente de tabaco, contienen nicotina, y cuyo consumo se produce, por ejemplo, al fumarlos, chuparlos, masticarlos o esnifarlos. A modo ilustrativo, no

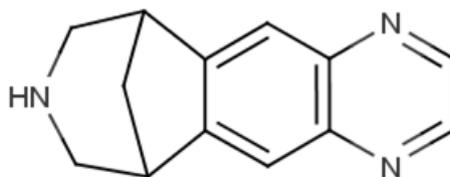
limitativo, el tabaco puede presentarse en forma de cigarros [(también denominados cigarrillos, pitillos, etc.) que pueden ser emboquillados o sin filtro, rubios o negros, “lights”, “semi-lights” o enteros], puros, tabaco para liar, tabaco para fumar en pipa, tabaco en polvo o rapé, etc.

5

El término “tratamiento” o “terapia”, tal como aquí se utiliza, hace referencia a la administración de un fármaco para aliviar o eliminar una patología o para reducir o eliminar uno o más síntomas asociados a dicha patología. En el contexto de la presente invención, el tratamiento aplicado al sujeto es un tratamiento de tipo farmacológico y está dirigido a
10 reducir o eliminar el consumo de tabaco en dicho sujeto y está basado en el empleo de vareniclina. En una realización particular, el sujeto a quien está dirigido el tratamiento es un consumidor activo de tabaco, por ejemplo, un fumador activo.

El término “tratamiento personalizado” o “medicina personalizada”, tal como aquí se utiliza,
15 se refiere al diseño y aplicación de intervenciones de prevención, diagnóstico y tratamiento adaptado el sustrato genético del paciente y al perfil molecular de la enfermedad.

El término “vareniclina” tal como aquí se utiliza, se refiere al compuesto 7,8,9,10-tetrahidro-6,10-metano-6H-pirazino[2,3-h][3]benzacepina, de fórmula:



20

e incluye también sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como, por ejemplo, las mencionadas en la solicitud de patente internacional WO99/35131, así como sus derivados, por ejemplo, N-formil-vareniclina y N-metil-vareniclina. La vareniclina se comercializa en España en forma de su sal de tartrato bajo la marca Chantix[®] o Champix[®].

25

La vareniclina se encuadra dentro del grupo de los fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos y es un compuesto que actúa como agonista parcial selectivo de los

receptores nicotínicos de acetilcolina, que se une con gran afinidad y selectividad al subtipo $\alpha 4\beta 2$ de los receptores nicotínicos neuronales de la acetilcolina.

La vareniclina se emplea en el tratamiento de diversas enfermedades, incluyendo, a modo
 5 ilustrativo, no limitativo, las enfermedades inflamatorias crónicas del intestino (incluyendo, sin limitarse a, colitis ulcerosa, pioderma gangrenoso y enfermedad de Crohn), síndrome del intestino irritable, distonía espasmódica, dolor crónico, dolor agudo, enfermedad celiaca, reservoritis, vasoconstricción, ansiedad, trastorno de pánico, depresión, trastorno bipolar, autismo, trastorno del sueño, desacomodación horaria (“*jet lag*”), esclerosis lateral
 10 amiotrófica (ALS), disfunción cognitiva, hipertensión, bulimia, anorexia, obesidad, arritmia cardíaca, hipersecreción ácida gástrica, úlcera, feocromocitoma, parálisis supranuclear progresiva, adicción y dependencia química (nicotina, productos de tabaco, alcohol, benzodiacepina, barbitúricos, opioides, cocaína), dolor de cabeza, migraña, ataque súbito, lesión cerebral traumática (TBI), trastorno obsesivo-compulsivo, psicosis, corea de
 15 Huntington, disquinesia tardía, hiperquinesia, dislexia, esquizofrenia, demencia multiinfarto, decaimiento cognitivo asociado a edad, epilepsia, demencia senil de la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, trastorno por déficit de atención (ADHD) y síndrome de Gilles de la Tourette.

20 El tratamiento habitual para el cese del consumo de tabaco con vareniclina comprende la administración oral, dos veces al día, de 1 mg de compuesto, durante 12 semanas. La absorción es completa y la disponibilidad sistémica alta. Las concentraciones máximas en plasma ocurren típicamente a las 3-4 horas de la toma (Faessel HM et al. 2010, Clin Pharmacokinet 49(12):799-816).

25

Método para determinar la probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos (“primer método de la invención”).

30 En un aspecto, la invención se relaciona con un método para determinar la probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos (en adelante, “primer método de

la invención”), que comprende determinar en una muestra biológica de dicho sujeto, al menos un alelo de uno o más de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o de cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, en donde

- 5 - la presencia de al menos un alelo C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo G del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- 10 - la presencia de al menos un alelo G del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo G del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- 15 - la presencia de al menos un alelo C del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de SNPs de su bloque de ligamiento;

es indicativa de una alta probabilidad de que dicho sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a dicha terapia.

20 En una realización alternativa del primer método de la invención, la invención también se relaciona con un método para determinar la probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, que comprende determinar en una muestra biológica de dicho sujeto, al menos un alelo de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566,

25 rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o de cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, en donde

- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo C del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- 30 - la presencia de al menos un alelo C del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo A del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- 5 - la presencia de al menos un alelo T del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

es indicativa de una baja probabilidad de que dicho sujeto cese el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos.

10

De acuerdo con el primer método de la invención, en una muestra biológica del sujeto bajo estudio se determina al menos un alelo de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o de cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, y se correlacionan los resultados obtenidos con la probabilidad (alta o baja) de que el sujeto bajo estudio abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos incluyen citisina, dianiclina y vareniclina. En una realización particular, dicho fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos es vareniclina.

20

El sujeto es un ser humano de cualquier sexo, raza o edad. En una realización particular, el sujeto es un consumidor activo de tabaco, por ejemplo, un fumador de cigarros, cigarros electrónicos, puros o pipa, o bien un consumidor de tabaco en polvo o rapé. En una realización aún más particular, dicho sujeto es un consumidor activo de tabaco que voluntariamente desea dejar de consumir tabaco, o bien que debe dejar de consumir tabaco, por ejemplo, por prescripción médica.

25

La muestra biológica procedente del sujeto bajo estudio es una muestra biológica que contiene un ácido nucleico, por ejemplo, ADN, ADN genómico (ADNg), ADN complementario (ADNc), ARN, ARN nuclear heterogéneo (ARNnh), ARNm, etc., del sujeto a evaluar. Dicha muestra biológica puede ser aislada o extraída de un tejido, o puede estar presente en un fluido biológico, por ejemplo, sangre, saliva, etc. Los métodos para el

30

aislamiento de muestras biológicas a partir de células y tejidos son bien conocidos por los técnicos en la materia. En una realización particular, dicha muestra biológica es una muestra de sangre o de saliva.

5 En general, cuando la muestra biológica es una muestra de sangre completa, ésta se puede utilizar directamente en la puesta en práctica del primer método de la invención. Sin embargo, en otras ocasiones, es necesario extraer, en primer lugar, el ácido nucleico de las muestras biológicas, por ejemplo, células presentes en un fluido biológico; en ese caso, el total de ácidos nucleicos extraídos de dichas muestras biológicas representa el material de
10 trabajo. El aislamiento de los ácidos nucleicos a partir de una muestra biológica que los contiene se puede realizar por métodos conocidos por los técnicos en la materia [véase, por ejemplo, Sambrook *et al*, 2001 “Molecular Cloning: A Laboratory Manual”, 3ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York, vol. 1.3]. Asimismo, en ocasiones, puede ser necesario amplificar el ácido nucleico extraído antes de proceder a su análisis. Se conocen
15 numerosos métodos de amplificación de ácidos nucleicos; muchos de ellos se basan en una reacción enzimática, por ejemplo, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la reacción en cadena de la ligasa (LCR), ensayos de amplificación de círculo rodante (“rolling-circle”), etc. Información sobre dichos métodos de amplificación de ácidos nucleicos puede encontrarse en Sambrook *et al*, 2001 (citado *supra*).

20

Después de aislar y amplificar (si es necesario) el ácido nucleico, se analiza uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, y se determinan los nucleótidos presentes en dichos SNPs, en particular, los nucleótidos presentes en el sitio polimórfico el
25 SNP que permite identificar el correspondiente alelo del SNP.

Los técnicos en la materia reconocerán fácilmente que el análisis de los nucleótidos presentes en uno o más de dichos SNPs en la muestra que contiene ácido nucleico del sujeto bajo estudio se puede realizar por cualquier método o técnica capaz de determinar los
30 nucleótidos presentes en un sitio polimórfico (e.g., SNP), por ejemplo, mediante secuenciación, mini-secuenciación, hibridación, análisis de los fragmentos de restricción, ensayos de ligamiento de oligonucleótidos, PCR alelo-específica, análisis HRM (High

Resolution Melt), etc., o mediante cualquier combinación de dichos métodos. El experto en la materia puede utilizar cualquier método o técnica apropiada para conseguir esa determinación. Los nucleótidos presentes en los SNP y, en particular, en los sitios polimórficos, se pueden detectar a partir de cualquier hebra de ácido nucleico o a partir de
5 ambas hebras.

Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de métodos, técnicas o sistemas adecuados para analizar los nucleótidos presentes en los sitios polimórficos de los SNPs identificados en la presente invención incluyen métodos de mini-secuenciación, secuenciación de ácidos
10 nucleicos, hibridación, análisis de los fragmentos de restricción, ensayos de ligamiento de oligonucleótidos, PCR alelo-específica, análisis HRM, matrices de ácidos nucleicos (“DNA arrays”), por ejemplo, la tecnología disponible en Aclara BioSciences, Affymetrix, Agilent Technologies, Illumina Inc., Ion Torrent, Fluidigm, Nanopore Tech etc., técnicas basadas en el cambio de la movilidad de los fragmentos amplificados de ácidos nucleicos,
15 polimorfismos en la conformación de una sola hebra (SSCP), electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE), CMC (“chemical mismatch cleavage”), análisis de WAVE, etc., o mediante cualquier combinación de dichos métodos. Información adicional sobre el análisis de los nucleótidos presentes en los sitios polimórficos de los SNPs puede encontrarse en Sambrook *et al.*, 2001, citado *supra*, así como, por ejemplo, en la solicitud de
20 patente norteamericana US2007/0105128.

El primer método de la invención comprende genotipar o determinar al menos un alelo de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, y/o los alelos correspondientes de los SNPs de sus bloques de ligamiento, en la
25 muestra biológica del sujeto bajo estudio.

Por tanto, en una realización particular, el primer método de la invención comprende determinar un único alelo de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, y/o el alelo correspondiente de cualquiera de los
30 SNPs de sus correspondientes bloques de ligamiento, es decir, determinar el nucleótido presente en el sitio polimórfico de dicho SNP. Así, en una realización particular, se determina un único alelo del SNP rs678188; en otra realización particular, se determina un

único alelo del SNP rs9658498; en otra realización particular, se determina un único alelo del SNP rs4821566; en otra realización particular, se determina un único alelo del SNP rs10891510; en otra realización particular, se determina un único alelo del SNP rs11932367; en otra realización particular, se determina un único alelo del SNP rs2023239; mientras que, en otra realización particular, se determina un único alelo de cualquiera de los SNPs de los correspondientes bloques de ligamiento de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 o rs2023239. Más adelante se proporcionar información sobre los bloques de ligamiento de dichos SNPs. El experto en la materia puede obtener información sobre los SNPs presentes en un bloque de ligamiento de un SNP determinado utilizando bases de datos apropiadas, por ejemplo, la base de datos International HapMap Project (www.hapmap.org y <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>) y/o programas apropiados tales como el programa Haploview utilizando el método de intervalos de confianza o algoritmo de Gabriel (Gabriel *et al.*, Science, 2002, 296(5576):225-9) o cualquier otra versión más actualizada (Barrett *et al.*, 2005, Bioinformatics 21(2):263-265).

15

En otra realización particular, el primer método de la invención comprende determinar los dos alelos de uno o más de dichos SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, y/o de cualquiera de los SNPs de sus correspondientes bloques de ligamiento. Así, en una realización particular, se determinan los dos alelos del SNP rs678188; en otra realización particular, se determinan los dos alelos del SNP rs9658498; en otra realización particular, se determinan los dos alelos del SNP rs4821566; en otra realización particular, se determinan los dos alelos del SNP rs10891510; en otra realización particular, se determinan los dos alelos del SNP rs11932367; en otra realización particular, se determinan los dos alelos del SNP rs2023239; mientras que, en otra realización particular, se determinan los dos alelos de cualquiera de los SNPs de los correspondientes bloques de ligamiento de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 o rs2023239.

20
25

En otra realización particular, el primer método de la invención comprende determinar uno o ambos alelos de 1, 2, 3, 4, ó 5 SNPs cualesquiera de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, y/o de los SNPs de sus correspondientes bloques de ligamiento, mientras que en otra realización particular, dicho método comprende

30

determinar uno o ambos alelos de los 6 SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, y/o de los SNPs de sus correspondientes bloques de ligamiento.

Los SNPs identificados en la presente invención, asociados con la probabilidad (alta o baja) de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, o con la predicción de la eficacia de una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, o con la selección de un sujeto para una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, o con la selección de una terapia a administrar a un sujeto en necesidad de terapia para abandonar el consumo, presentan las siguientes características:

- el SNP rs678188 se localiza en el gen *PARD3* (*partitioning defective 3*), en el cromosoma 10 humano (10p11.21), corresponde a la secuencia [ACGCCGCCCATTTCCCTATTTCCCTACC[C/T]GTGCTGGATTTGCTGAAACCGTCAC] (SEQ ID NO: 1), y está situado en el bloque de ligamiento que se extiende desde el nucleótido 34484338 hasta el nucleótido 34509032;
- el SNP rs9658498 se localiza en el gen *NOS1* (*nitric oxide synthase 1*), en el cromosoma 12 humano (12q24.2-q24.31), corresponde a la secuencia [GGTCTCTGATTGTAAAATGAACCAA[C/T]GTAGCCTCTACCACCTTGCTTAGAA] (SEQ ID NO: 2), y está situado en el bloque de ligamiento que se extiende desde el nucleótido 117657521 hasta el nucleótido 117681829;
- el SNP rs4821566 se localiza en el gen *CSF2RB* (*colony stimulating factor 2 receptor beta*), en el cromosoma 22 humano (22q13.1), corresponde a la secuencia:[GGGATCATCCTCATATTCTTGCAAGA[C/G]GAAAAGTTTACCAGTGAGAACTAGG] (SEQ ID NO: 3), y está situado en el bloque de ligamiento que se extiende desde el nucleótido 37306899 hasta el nucleótido 37319081;

- el SNP rs10891510 se localiza en el gen *NCAM1* (*neural cell adhesion molecule 1*), en el cromosoma 11 humano (11q23.1), corresponde a la secuencia: [CCTTTGCAGAAAGAAGGAAATCACAT[G/T]ATGTACAAACGTTGTTAA T TACTCA] (SEQ ID NO: 4), y está situado en el bloque de ligamiento que se
5 extiende desde el nucleótido 112999832 hasta el nucleótido 113008370;
- el SNP rs11932367 se localiza en el gen *GRID2* (*glutamate receptor ionotropic delta*), en el cromosoma 4 humano (4q22), corresponde a la secuencia: [ATTCCAGAACTTAAAACCACAAATTT[A/G]CACTGCACTTGAAAATAC
10 ACACACA] (SEQ ID NO: 5), y está situado en el bloque de ligamiento que se extiende desde el nucleótido 94555780 hasta el nucleótido 94579593; y
- el SNP rs2023239 se localiza en el gen *CNRI* (*cannabinoid receptor 1*), en el cromosoma 6 humano (6q14-q15), corresponde a la secuencia:
15 [CTAGGTTTGTGGATGTGCCAGGACCA[C/T]GTAAGGAACAGCTCTCTC ATATATT] (SEQ ID NO: 6), y está situado en el bloque de ligamiento que se extiende desde el nucleótido 88858648 hasta el nucleótido 88864063.

Los sitios polimórficos (posiciones de nucleótidos dentro del genoma en las que es posible
20 que haya más de una secuencia de nucleótidos en una población) presentes en dichos SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239 a los que se hace referencia en la presente invención son los siguientes:

- el sitio polimórfico del SNP rs678188 corresponde a la posición 27 de la
25 secuencia SEQ ID NO: 1;
- el sitio polimórfico del SNP rs9658498 corresponde a la posición 27 de la secuencia SEQ ID NO: 2;
- el sitio polimórfico del SNP rs4821566 corresponde a la posición 27 de la
30 secuencia SEQ ID NO: 3;

- el sitio polimórfico del SNP rs10891510 corresponde a la posición 27 de la secuencia SEQ ID NO: 4;
- el sitio polimórfico del SNP rs11932367 corresponde a la posición 27 de la secuencia SEQ ID NO: 5; y
- el sitio polimórfico del SNP rs2023239 corresponde a la posición 27 de la secuencia SEQ ID NO: 6.

10

El nucleótido concreto presente en el sitio polimórfico de dichos SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239 permite identificar el alelo correspondiente; así, el alelo C del SNP rs678188 corresponde al alelo en el que hay una C en el sitio polimórfico de dicho SNP; el alelo T del SNP rs9658498 corresponde al alelo en el que hay una T en el sitio polimórfico de dicho SNP; el alelo G del SNP rs4821566 corresponde al alelo en el que hay una G en el sitio polimórfico de dicho SNP; el alelo G del SNP rs10891510 corresponde al alelo en el que hay una G en el sitio polimórfico de dicho SNP; el alelo G del SNP rs11932367 corresponde al alelo en el que hay una G en el sitio polimórfico de dicho SNP; el alelo C del SNP rs2023239 corresponde al alelo en el que hay una C en el sitio polimórfico de dicho SNP.

20

Estudios realizados por los inventores (Ejemplo 1) han permitido identificar los nucleótidos presentes en los sitios polimórficos de los SNPs descritos en este documento asociados con una alta probabilidad de que el sujeto bajo estudio abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en vareniclina, en ocasiones referidos en esta descripción como “alelos asociados con una alta probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos” o simplemente “alelos de éxito”. Dichos “alelos de éxito” se recogen en la Tabla 1.

30

Tabla 1

Alelos asociados con una alta probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos (“alelos de éxito”) para los distintos SNPs identificados en la presente invención

5

SNP	Alelo de éxito
rs678188	C
rs9658498	T
rs4821566	G
rs10891510	G
rs11932367	G
rs2023239	C

Los alelos de éxito indicados en la Tabla 1 corresponden a la hebra TOP del ADN según la nomenclatura de Illumina para la identificación de hebras de ADN. Como es sabido, el caso más sencillo para la denominación de una hebra se da cuando una de las variaciones posibles del SNP es una adenina (A), y la variación restante es bien una citosina (C) o una guanina (G). En ese caso, la secuencia de ese SNP se denomina TOP. De forma similar a las normas de complementariedad inversa, cuando una de las variaciones posibles del SNP es una timina (T), y la variación restante es bien una C o una G, la secuencia de este SNP se denomina BOT. Si el SNP es un [A/T] o un [C/G], entonces no se aplican las normas anteriores. Illumina utiliza una técnica de “paseo secuencial” para denominar a la hebra [A/T] y [C/G] de los SNP. Para este método de paseo secuencial, el SNP real se considera que está en la posición ‘n’. Las secuencias inmediatamente antes y después del SNP son ‘n-1’ y ‘n+1’, respectivamente. De forma similar, dos pares de bases antes del SNP se encuentran en ‘n-2’ y dos pares de base después del SNP ‘n+2’, etc. Empleando este método, el paseo secuencial continúa hasta que se presente un emparejamiento no ambiguo (A/G, A/C, T/C, o T/G). Para designar la hebra, cuando el nucleótido A o T del primer par no ambiguo se encuentra en el lado 5’ del SNP, entonces la secuencia se denomina TOP. Cuando el nucleótido A o T del primer par no ambiguo se encuentra en el lado 3’ del SNP, entonces la secuencia se denomina BOT.

25

De acuerdo con el primer método de la invención, una vez que se determina en una muestra biológica de dicho sujeto al menos uno de los alelos de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, y/o de cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, es posible determinar la probabilidad de que el sujeto bajo estudio abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, por ejemplo, vareniclina, citisina, dianiclina, o cualquier otro fármaco con un mecanismo de acción similar. El establecimiento de la probabilidad (alta o baja) de que el sujeto bajo estudio abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos se puede llevar a cabo en base a la presencia o ausencia de los alelos de éxito (es decir, en base a la presencia o ausencia de los nucleótidos presentes en los sitios polimórficos de dichos SNPs asociados con una probabilidad (alta o baja) de que el sujeto bajo estudio abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos) de dichos SNPS en el genoma del sujeto bajo estudio. Por tanto, como se ha mencionado previamente:

- la presencia de al menos un alelo C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo G del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo G del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo G del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- la presencia de al menos un alelo C del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de SNPs de su bloque de ligamiento;

es indicativa de una alta probabilidad de que dicho sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos.

Asimismo, en una realización particular, del primer método de la invención:

- la presencia de ambos alelos C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- 5 - la presencia de ambos alelos T del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos G del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos G del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- 10 - la presencia de ambos alelos G del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- la presencia de ambos alelos C del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de SNPs de su bloque de ligamiento;

es indicativa de una alta probabilidad de que dicho sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos.

El término “alta” aplicado a la probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, tal como aquí se utiliza, se refiere a que la frecuencia con la que se obtiene un resultado, en este caso, que un sujeto deje de consumir tabaco en respuesta a un tratamiento con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, es superior al 50%.

Alternativamente, tal como se ha mencionado previamente, en base a los resultados obtenidos en la presente invención, se puede establecer que:

- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo C del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- 30 - la presencia de al menos un alelo C del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs10891510, o de los alelos

correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

- la presencia de al menos un alelo A del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

5

es indicativa de una baja probabilidad de que dicho sujeto cese el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos.

- 10 El nucleótido concreto presente en el sitio polimórfico de dichos SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239 permite identificar el alelo correspondiente; así, el alelo T del SNP rs678188 corresponde al alelo en el que hay una T en el sitio polimórfico de dicho SNP; el alelo C del SNP rs9658498 corresponde al alelo en el que hay una C en el sitio polimórfico de dicho SNP; el alelo C del SNP rs4821566
- 15 corresponde al alelo en el que hay una C en el sitio polimórfico de dicho SNP; el alelo T del SNP rs10891510 corresponde al alelo en el que hay una T en el sitio polimórfico de dicho SNP; el alelo A del SNP rs11932367 corresponde al alelo en el que hay una A en el sitio polimórfico de dicho SNP; el alelo T del SNP rs2023239 corresponde al alelo en el que hay una T en el sitio polimórfico de dicho SNP.

20

De forma más concreta, en una realización más particular de esta alternativa:

- la presencia de ambos alelos T del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos C del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos C del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos T del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos A del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- la presencia de ambos alelos T del SNP rs2023239, o de los alelos

25

30

correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
es indicativa de una baja probabilidad de que dicho sujeto cese el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos.

5

El término “baja” aplicado a la probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, tal como aquí se utiliza, se refiere a que la frecuencia con la que se obtiene un resultado, en este caso, que un sujeto deje de consumir tabaco en respuesta a un
10 tratamiento con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, es inferior al 50%.

Adicionalmente, ensayos realizados por los inventores han puesto de manifiesto que los SNPs analizados según el primer método de la invención pueden clasificarse en dos grupos:

15

- Grupo 1: formado por los SNPs rs678188, rs9658498 y rs4821566; estos SNPs se relacionan con una alta probabilidad de que un sujeto en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos abandone el consumo de tabaco durante un periodo de, al menos, 3 meses
20 contados desde el inicio de dicha terapia; y

20

- Grupo 2: formado por los SNPs rs10891510, rs11932367 y rs2023239; estos SNPs se relacionan con una alta probabilidad de que un sujeto en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos abandone el consumo de tabaco durante un periodo de, al menos, 12 meses
25 contados desde el inicio de dicha terapia.

25

En una realización más concreta, el primer método de la invención contempla la posibilidad de analizar la presencia o ausencia en una muestra biológica de dicho sujeto al menos uno de
30 los alelos de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566 o cualquier combinación de dichos SNPs, y/o de los correspondientes SNPs de su bloque de ligamiento, en donde

- la presencia de al menos un alelo C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- 5 - la presencia de al menos un alelo G del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

es indicativa de una alta probabilidad de que el sujeto bajo estudio abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos durante un periodo de, al menos, 3 meses desde el inicio del
10 tratamiento con dicho fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos.

En otra realización concreta, el primer método de la invención contempla la posibilidad de analizar la presencia o ausencia en una muestra biológica de dicho sujeto al menos uno de los alelos de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566 o cualquier
15 combinación de dichos SNPs, y/o de los correspondientes SNPs de su bloque de ligamiento, en donde

- la presencia de ambos alelos C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos T del SNP rs9658498, o de los alelos
20 correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- la presencia de ambos alelos G del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

es indicativa de una alta probabilidad de que el sujeto bajo estudio abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores
25 colinérgicos nicotínicos durante un periodo de, al menos, 3 meses desde el inicio del tratamiento con dicho fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos.

Asimismo, en otra realización más concreta, el primer método de la invención contempla la posibilidad de analizar la presencia o ausencia en una muestra biológica de dicho sujeto al
30 menos un alelo de uno o más de los SNPs rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o cualquier combinación de dichos SNPs, y/o de los correspondientes SNPs de su bloque de ligamiento, en donde

- la presencia de al menos un alelo G del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo G del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- 5 - la presencia de al menos un alelo C del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de SNPs de su bloque de ligamiento;

es indicativa de una alta probabilidad de que el sujeto bajo estudio abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos durante un periodo de, al menos, 12 meses desde el inicio del
10 tratamiento con dicho fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos.

Asimismo, en otra realización más concreta, el primer método de la invención contempla la posibilidad de analizar la presencia o ausencia en una muestra biológica de dicho sujeto al menos un alelo de uno o más de los SNPs rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o cualquier
15 combinación de dichos SNPs, y/o de los correspondientes SNPs de su bloque de ligamiento, en donde

- la presencia de ambos alelos G del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos G del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- 20 - la presencia de ambos alelos C del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de SNPs de su bloque de ligamiento;

es indicativa de una alta probabilidad de que el sujeto bajo estudio abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos durante un periodo de, al menos, 12 meses desde el inicio del
25 tratamiento con dicho fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos.

El primer método de la invención permite establecer la probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos. Si dicha probabilidad es alta, por ejemplo, debido a la
30 presencia de un alelo de éxito en al menos uno de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 o rs2023239 (Tabla 1), o de los alelos correspondientes

de los SNPs de su bloque de ligamiento, entonces dicho sujeto puede ser un candidato apropiado *a priori* para recibir una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos con el fin de abandonar el consumo de tabaco, por ejemplo, vareniclina, citisina o dianiclina, entre otros. Al contrario, si dicha probabilidad es baja, entonces dicho sujeto no es un candidato apropiado *a priori* para recibir una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, y, por tanto, debería recibir una terapia alternativa para abandonar el consumo de tabaco.

Adicionalmente, los inventores han estudiado la posible influencia de variables clínicas, tales como estrés subjetivo, motivos para fumar y la dependencia según la escala de Fagerström, en los resultados de eficacia de dicha terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos con el fin de abandonar el consumo de tabaco, así como su papel como variables confusoras o modificadoras de la asociación estudiada, mediante el empleo de modelos de regresión logística múltiple. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que la combinación de los SNPs con las variables clínicas proporciona unos modelos mejores ya que la predicción es mejor para el modelo multivariado (genotipo + variables clínicas) que para el modelo univariado (genotipo); de hecho, la significación del *p*-valor para modelos anidados (genotipo vs genotipo + variables clínicas) señala que el modelo multivariado es mejor que el univariado en la predicción del resultado, tal como se menciona en el Ejemplo 1, Tablas 2-5 y Figuras 1-6.

Por tanto, en una realización particular, el primer método de la invención comprende, además, analizar al menos una variable clínica relacionada con el consumo de tabaco. Aunque prácticamente cualquier variable clínica relacionada con el consumo de tabaco puede ser analizada, en una realización particular, dicha variable clínica relacionada con el consumo de tabaco se selecciona del grupo formado por estrés subjetivo, motivos para fumar, dependencia según la escala de Fagerström, y cualquiera de sus combinaciones.

Este modelo probabilístico basado en la determinación de al menos uno de los alelos de uno o más de los SNPs identificados en la presente invención, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento, opcionalmente junto con una evaluación clínica estructurada, constituye una valiosa herramienta para predecir el éxito o fracaso, en base a

una probabilidad alta o baja, del abandono del consumo de tabaco, por parte de un sujeto, en respuesta a un tratamiento con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, por ejemplo, vareniclina, citisina o dianiclina, o cualquier otro fármaco con un mecanismo de acción similar. A la vista de los resultados proporcionados por esta invención, el especialista (e.g., un médico) podrá optimizar la atención terapéutica al sujeto eligiendo, desde el primer momento, la terapia más adecuada en función de la probabilidad (alta o baja) de que el sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos y realizar un seguimiento cercano de los sujetos en tratamiento. Por tanto, los métodos y medios proporcionados por la presente invención pueden ayudar a los médicos a seleccionar la terapia para abandonar el consumo de tabaco más apropiada para un sujeto. Por otra parte, se pueden evitar los efectos secundarios asociados con el tratamiento con fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos en sujetos cuyo tratamiento con ese fármaco sea ineficaz.

Método para predecir la eficacia de una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos (“segundo método de la invención”).

En otro aspecto, la invención se relaciona con un método para predecir la eficacia de una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto (en adelante, “segundo método de la invención”), que comprende determinar en una muestra biológica de dicho sujeto al menos un alelo de uno o más de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, en donde

- la presencia de al menos un alelo C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo G del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo G del SNP rs10891510, o de los alelos

correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

- la presencia de al menos un alelo G del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- la presencia de al menos un alelo C del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de SNPs de su bloque de ligamiento;

5

es indicativa de que dicha terapia será eficaz.

En una realización alternativa del segundo método de la invención, la invención también se relaciona con un método para predecir la eficacia de una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto, que comprende determinar en una muestra biológica de dicho sujeto, al menos un alelo de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o de cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, en donde

10

- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo C del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo C del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo A del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

15

20

25

es indicativa de dicha terapia será ineficaz.

La expresión “predecir la eficacia de una terapia”, tal como aquí se utiliza, en combinación con el abandono del consumo de tabaco, se refiere a la determinación del resultado obtenido por un sujeto en respuesta a una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, por ejemplo, vareniclina, citisina y dianiclina, entre otros. La consideración de que dicha terapia será eficaz implica que esa

30

terapia proporciona el efecto deseado, es decir, que el sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a dicha terapia, durante un periodo de tiempo determinado, por ejemplo, durante un periodo de tiempo de, al menos, 3 meses.

- 5 Las características de la muestra biológica, el sujeto, los SNPs (rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239) y sus correspondientes bloques de ligamiento, así como las de sus sitios polimórficos, ya han sido mencionadas previamente en relación con el primer método de la invención, al igual que los métodos para determinar dichos SNPs e identificar los nucleótidos presentes en los sitios polimórficos de dichos
10 SNPs; todo ello se incorpora en este método por referencia.

De acuerdo con el segundo método de la invención, en una muestra biológica del sujeto bajo estudio se determina al menos un alelo de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o de cualquier SNP de sus
15 correspondientes bloques de ligamiento, y se correlacionan los resultados obtenidos con la predicción de la eficacia de una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos incluyen citisina, dianiclina y vareniclina. En una realización particular, dicho fármaco
20 agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos es vareniclina.

Una vez que se determina en una muestra biológica de dicho sujeto al menos uno de los alelos de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, y/o de cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, según el
25 segundo método de la invención, es posible predecir la eficacia de una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto. La predicción de que dicha terapia será eficaz o ineficaz en un sujeto se puede llevar a cabo en base a la presencia o ausencia de los alelos de éxito (es decir, en base a la presencia o ausencia de los nucleótidos presentes en los sitios
30 polimórficos de dichos SNPs asociados con una predicción de que dicha terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos será eficaz o ineficaz) de dichos SNPS en el genoma del sujeto bajo estudio. Dichos alelos de éxito (en este caso, alelos cuya

presencia está asociada con una predicción de que la terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos será eficaz) se mencionan en la Tabla 1.

En una realización particular, del segundo método de la invención:

- 5 - la presencia de ambos alelos C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos T del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos G del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes
10 de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos G del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos G del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- 15 - la presencia de ambos alelos C del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de SNPs de su bloque de ligamiento;

es indicativa de que dicha terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos será eficaz.

20 Alternativamente, en otra realización particular de la realización alternativa del segundo método de la invención:

- la presencia de ambos alelos T del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos C del SNP rs9658498, o de los alelos
25 correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos C del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de ambos alelos T del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- 30 - la presencia de ambos alelos A del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- la presencia de ambos alelos T del SNP rs2023239, o de los alelos

correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

es indicativa de que dicha terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos será ineficaz.

5 En otra realización particular, el segundo método de la invención contempla la posibilidad de determinar al menos un alelo de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566 o cualquier combinación de dichos SNPs, y/o de los correspondientes SNPs de su bloque de ligamiento, en donde

- 10 - la presencia de al menos un alelo C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- la presencia de al menos un alelo G del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

15 es indicativa de que dicha terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos será eficaz en un sujeto durante un periodo de, al menos, 3 meses desde el inicio de dicha terapia.

Asimismo, en otra realización particular, el segundo método de la invención contempla la posibilidad de determinar al menos un alelo de uno o más de los SNPs rs10891510, rs11932367, rs2023239, o cualquier combinación de dichos SNPs, y/o de los correspondientes SNPs de su bloque de ligamiento, en donde

- 20 - la presencia de al menos un alelo G del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- 25 - la presencia de al menos un alelo G del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- la presencia de al menos un alelo C del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de SNPs de su bloque de ligamiento;

es indicativa de que dicha terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos será eficaz en un sujeto durante un periodo de, al menos, 12 meses desde el inicio de dicha terapia.

En una realización particular, el segundo método de la invención comprende, además, analizar al menos una variable clínica relacionada con el consumo de tabaco. Aunque prácticamente cualquier variable clínica relacionada con el consumo de tabaco puede ser analizada, en una realización particular, dicha variable clínica relacionada con el consumo de tabaco se selecciona del grupo formado por estrés subjetivo, motivos para fumar, dependencia según la escala de Fagerström, y cualquiera de sus combinaciones. La combinación de los SNPs con las variables clínicas proporciona, en general, unos modelos mejores.

10 El segundo método de la invención permite predecir la eficacia de una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto, de manera que si el resultado de dicha predicción es que la terapia será eficaz, entonces el sujeto puede ser tratado con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos para abandonar el consumo de tabaco, mientras que, en caso contrario, si el resultado de dicha predicción fuera que la terapia será ineficaz, entonces el sujeto no debería ser tratado con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos incluyen vareniclina, citisina o dianiclina, o cualquier otro fármaco con un mecanismo de acción similar.

20

Este modelo predictivo basado en la determinación de al menos uno de los alelos de uno o más de los SNPs identificados en la presente invención, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento, opcionalmente junto con una evaluación clínica estructurada, constituye una valiosa herramienta para predecir la eficacia o ineficacia de un tratamiento con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, por ejemplo, vareniclina, citisina o dianiclina, o cualquier otro fármaco con un mecanismo de acción similar. A la vista de los resultados proporcionados por esta invención, el especialista (e.g., un médico) podrá optimizar la atención terapéutica al sujeto eligiendo, desde el primer momento, la terapia más adecuada en función de la predicción de la eficacia o ineficacia de que el sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, y realizar un seguimiento cercano de los sujetos en tratamiento.

30

Por tanto, los métodos y medios proporcionados por la presente invención pueden ayudar a los médicos a seleccionar la terapia para abandonar el consumo de tabaco más apropiada para un sujeto. Por otra parte, se pueden evitar los efectos secundarios asociados con el tratamiento con fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos en sujetos cuyo tratamiento con ese fármaco sea ineficaz. En una realización particular, dicho fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos es vareniclina.

Método para seleccionar un sujeto para una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos (en adelante, “tercer método de la invención”).

En otro aspecto, la invención se relaciona con un método para seleccionar un sujeto para una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de receptores colinérgicos nicotínicos (en adelante, “tercer método de la invención”), que comprende determinar en una muestra biológica de dicho sujeto al menos un alelo de uno o más de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, en donde dicho sujeto es seleccionado para dicha terapia si tiene

- al menos un alelo C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- al menos un alelo T del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- al menos un alelo G del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- al menos un alelo G del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- al menos un alelo G del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- al menos un alelo C del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de SNPs de su bloque de ligamiento.

En una realización particular del tercer método de la invención, se selecciona un sujeto para una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de receptores colinérgicos nicotínicos, cuando dicho sujeto tiene

- 5 - ambos alelos C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- ambos alelos T del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- ambos alelos G del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- 10 - ambos alelos G del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- ambos alelos G del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o
- ambos alelos C del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de SNPs de su
- 15 bloque de ligamiento.

Las características de la muestra biológica, el sujeto, los SNPs (rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239) y sus correspondientes bloques de ligamiento, así como las de sus sitios polimórficos, ya han sido mencionadas previamente en

20 relación con el primer método de la invención, al igual que los métodos para determinar dichos SNPs e identificar los nucleótidos presentes en los sitios polimórficos de dichos SNPs; todo ello se incorpora en este método por referencia.

De acuerdo con el tercer método de la invención, en una muestra biológica del sujeto bajo

25 estudio se determina al menos un alelo de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o de cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, y se correlacionan los resultados obtenidos con la posibilidad de seleccionar un sujeto para que reciba una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un

30 sujeto. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos incluyen citisina, dianiclina y vareniclina. En una realización particular, dicho fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos es vareniclina.

Una vez que se determina en una muestra biológica de dicho sujeto al menos uno de los alelos de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, y/o de cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, es posible, según el tercer método de la invención, seleccionar un sujeto para que reciba o no una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto. La selección del sujeto se puede llevar a cabo en base a la presencia o ausencia de los alelos de éxito (es decir, en base a la presencia o ausencia de los nucleótidos presentes en los sitios polimórficos de dichos SNPs asociados con una predicción de que dicha terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos será eficaz) de dichos SNPs en el genoma del sujeto bajo estudio. Dichos alelos de éxito (en este caso, alelos cuya presencia está asociada con una predicción de que la terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos será eficaz) se mencionan en la Tabla 1.

15

En una realización particular, el tercer método de la invención comprende, además, analizar al menos una variable clínica relacionada con el consumo de tabaco. Aunque prácticamente cualquier variable clínica relacionada con el consumo de tabaco puede ser analizada, en una realización particular, dicha variable clínica relacionada con el consumo de tabaco se selecciona del grupo formado por estrés subjetivo, motivos para fumar, dependencia según la escala de Fagerström, y cualquiera de sus combinaciones. La combinación de los SNPs con las variables clínicas proporciona, en general, unos modelos mejores.

20

El tercer método de la invención permite seleccionar un sujeto para que reciba una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, de manera que si el sujeto es seleccionado entonces dicho sujeto puede ser tratado con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos para abandonar el consumo de tabaco, mientras que, en caso contrario, si el sujeto no es seleccionado para dicha terapia entonces el sujeto no debería ser tratado con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos.

25

30

Este modelo selectivo basado en la determinación de al menos uno de los alelos de uno o más de los SNPs identificados en la presente invención, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento, opcionalmente junto con una evaluación clínica estructurada, constituye una valiosa herramienta para predecir la eficacia o ineficacia de un tratamiento con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto. A la vista de los resultados proporcionados por esta invención, el especialista (e.g., un médico) podrá seleccionar al sujeto a ser sometido a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, y realizar un seguimiento cercano de los sujetos sometidos a dicha terapia. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos incluyen vareniclina, citisina o dianiclina, o cualquier otro fármaco con un mecanismo de acción similar.

Método para seleccionar una terapia para abandonar el consumo de tabaco para un sujeto en necesidad de terapia (en adelante, “cuarto método de la invención”).

15

En otro aspecto, la invención se relaciona con un método para seleccionar una terapia para un sujeto en necesidad de terapia para abandonar el consumo de tabaco (en adelante, “cuarto método de la invención”), que comprende determinar en una muestra biológica de dicho sujeto al menos un alelo de uno o más de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, en donde se selecciona una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de receptores colinérgicos nicotínicos si dicho sujeto tiene

20

- al menos un alelo C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- al menos un alelo T del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- al menos un alelo G del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- al menos un alelo G del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;
- al menos un alelo G del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los

25

30

SNPs de su bloque de ligamiento; y/o

- al menos un alelo C del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de SNPs de su bloque de ligamiento.

5 En una realización particular del cuarto método de la invención, se selecciona una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de receptores colinérgicos nicotínicos, cuando dicho sujeto tiene

- ambos alelos C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

10 - ambos alelos T del SNP rs9658498, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

- ambos alelos G del SNP rs4821566, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

15 - ambos alelos G del SNP rs10891510, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento;

- ambos alelos G del SNP rs11932367, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento; y/o

- ambos alelos C del SNP rs2023239, o de los alelos correspondientes de SNPs de su bloque de ligamiento.

20

Las características de la muestra biológica, el sujeto, los SNPs (rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239) y sus correspondientes bloques de ligamiento, así como las de sus sitios polimórficos, ya han sido mencionadas previamente en relación con el primer método de la invención, al igual que los métodos para determinar dichos SNPs e identificar los nucleótidos presentes en los sitios polimórficos de dichos SNPs; todo ello se incorpora en este método por referencia.

25

De acuerdo con el cuarto método de la invención, en una muestra biológica del sujeto bajo estudio se determina al menos un alelo de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239, o de cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, y se correlacionan los resultados obtenidos con la

30

posibilidad de seleccionar una terapia para un sujeto en necesidad de recibir terapia para abandonar el consumo de tabaco.

Una vez que se determina en una muestra biológica de dicho sujeto al menos uno de los
5 alelos de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367
y rs2023239, y/o de cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento, es
posible, según el cuarto método de la invención, seleccionar (o no) una terapia para
abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores
colinérgicos nicotínicos en un sujeto a aplicar al sujeto. La selección de dicha terapia se
10 puede llevar a cabo en base a la presencia o ausencia de los alelos de éxito (es decir, en base
a la presencia o ausencia de los nucleótidos presentes en los sitios polimórficos de dichos
SNPs asociados con una predicción de que dicha terapia basada en un fármaco agonista de
los receptores colinérgicos nicotínicos será eficaz) de dichos SNPS en el genoma del sujeto
bajo estudio. Dichos alelos de éxito (en este caso, alelos cuya presencia está asociada con
15 una predicción de que la terapia basada en un fármaco agonista de los receptores
colinérgicos nicotínicos será eficaz) se mencionan en la Tabla 1.

En una realización particular, el cuarto método de la invención comprende, además, analizar
al menos una variable clínica relacionada con el consumo de tabaco. Aunque prácticamente
20 cualquier variable clínica relacionada con el consumo de tabaco puede ser analizada, en una
realización particular, dicha variable clínica relacionada con el consumo de tabaco se
selecciona del grupo formado por estrés subjetivo, motivos para fumar, dependencia según la
escala de Fagerström, y cualquiera de sus combinaciones. La combinación de los SNPs con
las variables clínicas proporciona, en general, unos modelos mejores.

25

El cuarto método de la invención permite seleccionar una terapia para abandonar el consumo
de tabaco a administrara a un sujeto basada en un fármaco agonista de los receptores
colinérgicos nicotínicos, de manera que se selecciona esa terapia, de entre otras terapias para
abandonar el consumo de tabaco, cuando el genotipo del sujeto a ser sometido a terapia
30 presenta las características mencionadas previamente, mientras que, en caso contrario, si el
sujeto no presenta esas características, entonces habría que seleccionar una terapia para dejar

el consumo de tabaco que no estuviera basada en fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos.

5 Este modelo selectivo basado en la determinación de al menos uno de los alelos de uno o más de los SNPs identificados en la presente invención, o de los alelos correspondientes de los SNPs de su bloque de ligamiento, opcionalmente junto con una evaluación clínica estructurada, constituye una valiosa herramienta para predecir la eficacia o ineficacia de un tratamiento con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto. A la vista de los resultados proporcionados por esta invención, el especialista (e.g., un
10 médico) podrá seleccionar la terapia a administrar al sujeto, en concreto, una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos (u otra terapia basada en otros fármacos), y realizar un seguimiento cercano de la eficacia de dicha terapia seleccionada en los sujetos sometidos a dicha terapia. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos incluyen vareniclina,
15 citisina o dianiclina, o cualquier otro fármaco con un mecanismo de acción similar.

Kits de la invención

La invención también contempla la preparación de unos kits para su uso de acuerdo con los
20 métodos de la presente invención. Por tanto, en otro aspecto, la invención se relaciona con un kit, en adelante "kit de la invención", que comprende al menos un reactivo para determinar la presencia de al menos un alelo de uno o más de los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367, rs2023239, y/o de los correspondientes SNPs de su bloque de ligamiento, y/o al menos un reactivo para determinar el nucleótido
25 presente en el sitio polimórfico de dichos SNPs.

En una realización particular, el kit de la invención comprende al menos un reactivo para determinar la presencia de un único SNP seleccionado del grupo formado por los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367, rs2023239 y los
30 correspondientes SNPs de sus bloques de ligamiento, y, al menos, un reactivo para determinar el nucleótido presente en el sitio polimórfico de dicho SNP.

En otra realización particular, el kit de la invención comprende al menos un reactivo necesario para determinar la presencia de 1, 2, 3, 4, 5 cualesquiera, o incluso los 6, SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367, rs2023239, y/o en los correspondientes SNPs de sus bloques de ligamiento, y/o al menos un reactivo necesario
5 para determinar el nucleótido presente en dichos SNPs.

Opcionalmente, el kit de la invención puede incluir, además, medios para extraer la muestra del sujeto y/o medios o reactivos para amplificar el ácido nucleico presente en dicha muestra.

10

Los kits de la invención incluyen uno o más reactivos para su uso de acuerdo con la presente invención en recipientes adecuados y materiales de embalaje, incluidos los tubos, viales, y técnicas de embalaje como el retractilado y moldeados por soplado. Materiales adecuados para su inclusión en un kit de acuerdo con la presente invención comprenden uno o más de
15 los siguientes: pares de cebadores específicos para PCR (oligonucleótidos) que hibridan con dominios de la secuencia de ADN o cDNA que flanquean los SNPs de interés (SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367, rs2023239 y los correspondientes SNPs de sus bloques de ligamiento); reactivos capaces de amplificar un dominio de una secuencia específica, ya sea en el ADNg o ADNc sin tener que realizar la
20 PCR; reactivos necesarios para discriminar entre los distintos alelos en la secuencia de los dominios amplificados por PCR y PCR-no amplificación (por ejemplo, las endonucleasas de restricción, oligonucleótidos que hibridan preferentemente a un alelo del polimorfismo, incluidos los modificados para contener enzimas o grupos químicos fluorescentes que amplifican la señal de los oligonucleótidos y que hacen la discriminación de los alelos más
25 robusta); reactivos necesarios para separar físicamente los productos derivados de los diferentes alelos (por ejemplo, agarosa o poliacrilamida y un tampón para ser utilizado en la electroforesis, columnas de HPLC, geles SSCP, geles formamida o un soporte de la matriz de MALDI-TOF), etc.

30 Están específicamente contemplados kits que comprenden uno o más oligonucleótidos alelo-específicos o polimorfismo-específicos o parejas de oligonucleótidos, donde cada pareja de oligonucleótidos alelo-específicos o polimorfismo-específicos está dirigida a uno de los

polimorfismo citados en este documento, es decir, los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239 y/o los correspondientes SNPs de sus bloques de ligamiento. El técnico en la materia entenderá que en este contexto el término “dirigido a” significa un oligonucleótido o pareja de oligonucleótidos capaz de identificar el alelo presente en un SNP determinado.

A modo ilustrativo, no limitativo, la presente invención contempla kits que comprenden un conjunto de sondas, comprendiendo una pluralidad de sondas de oligonucleótidos que interrogan para SNPs seleccionados del grupo formado por los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y rs2023239 y/o los correspondientes SNPs de sus bloques de ligamiento, donde dichas sondas oligonucleotídicas suponen al menos el 50% de las sondas oligonucleotídicas del conjunto de sondas. Por tanto, dicho conjunto de sondas, comprendiendo una pluralidad de sondas oligonucleotídicas que interrogan para SNPs seleccionados entre dichos SNPs, donde dichas sondas oligonucleotídicas suponen al menos el 50% de las sondas oligonucleotídicas del conjunto de sondas, constituye una realización adicional de esta invención.

En una realización particular, el kit comprende una o más parejas de oligonucleótidos polimorfismo-específicos o alelo-específicos dirigidas a dos o más de los SNPs citados anteriormente, mientras que otra realización contempla uno o más oligonucleótidos o parejas de oligonucleótidos polimorfismo-específicos o alelo-específicos dirigidos a todos los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367, rs2023239 y/o a los correspondientes SNPs de sus bloques de ligamiento.

El kit de la invención permite predecir el éxito en el abandono del consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos. Por tanto, en otro aspecto, la invención se relaciona con el uso del kit de la invención para:

- determinar la probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos; o para

- predecir la eficacia de una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto; o para
- seleccionar un sujeto para una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos; o para
- seleccionar una terapia a administrar a un sujeto en necesidad de terapia para abandonar el consumo.

10 Usos de la invención

En otro aspecto, la invención se relaciona con el uso de al menos un SNP para:

- determinar la probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos; o para
- predecir la eficacia de una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto; o para
- seleccionar un sujeto para una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos; o para
- seleccionar una terapia a administrar a un sujeto en necesidad de terapia para abandonar el consumo,

en donde dicho SNP se selecciona del grupo formado por los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367, rs2023239 y cualquier combinación de los mismos y/o cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento.

En una realización particular, dicho SNP se selecciona del grupo formado por los SNPs rs678188, rs9658498, rs4821566, o cualquier combinación de dichos SNPs, y/o de los correspondientes SNPs de su bloque de ligamiento.. En otra realización particular, dicho SNP se selecciona del grupo formado por los SNPs rs10891510, rs11932367, rs2023239, o

cualquier combinación de dichos SNPs, y/o de los correspondientes SNPs de su bloque de ligamiento.

En otro aspecto, la invención se relaciona con una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos para su empleo en el tratamiento de un sujeto en necesidad de terapia para abandonar el consumo de tabaco, en donde dicho sujeto se selecciona mediante el tercer método de la invención. En una realización particular, dicho fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos se selecciona entre vareniclina, citisina y dianiclina, preferentemente careniclina.

El siguiente ejemplo sirve para ilustrar la invención y no debe ser considerado como limitativo del alcance de la misma.

EJEMPLO 1

Identificación de SNPs asociados con el éxito en el abandono del consumo de tabaco en sujetos tratados con vareniclina

1. MATERIALES Y MÉTODOS

Grupos y parámetros de estudio

En un estudio realizado sobre 807 pacientes de las Unidades de Tabaquismo de 22 Hospitales y Centros Sanitarios de España y Portugal se valoraron más de 300 SNPs relacionados con vías relevantes respecto a la eficacia de los 3 tratamientos farmacológicos de primera línea en deshabituación tabáquica: terapia de sustitución con nicotina (TSN), bupropión y vareniclina. La eficacia se valoró en términos de abstinencia de consumo tabáquico a 3 meses (eficacia a corto plazo) y a 12 meses (eficacia a largo plazo).

La validación de los datos de dicho genotipado previo se realizó en una nueva muestra de sujetos (aproximadamente 1.500 personas). Tras aplicar los chequeos habituales para corregir errores en la introducción de datos, el proceso de validación se llevó a cabo replicando los análisis realizados en el estudio previo. En primer lugar, se caracterizó el estado de los sujetos bien como “casos” o bien como “controles”, en función de los

resultados de eficacia obtenidos a los 3 meses y a los 12 meses de seguimiento tras la instauración del tratamiento de deshabituación tabáquica de elección. Como “casos” se consideraron aquellas personas que tuvieron éxito en el tratamiento de deshabituación tabáquica, y, de ese modo, los distintos modelos de análisis estadísticos proporcionarán información sobre la probabilidad de éxito asociada a la presencia de un determinado patrón genético a los distintos tiempos de evaluación del resultado.

Para valorar la posibilidad de sesgos de confusión como resultado del análisis de poblaciones mixtas, y también como control de errores de genotipado, se realizó el test de desequilibrio de Hardy-Weinberg tanto en los “casos” como en los “controles” correspondientes. El resultado de este test se valoró antes de analizar los resultados obtenidos en los diversos modelos de regresión logística que se han utilizado para valorar la asociación entre los SNPs específicos y los resultados de eficacia de los tratamientos prescritos. Se han utilizado los siguientes modelos de penetrancia en los modelos de regresión logística: dominante, recesivo, aditivo, sobredominante y log-aditivo. Los análisis estadísticos se realizaron tanto con la frecuencia alélica como con la frecuencia genotípica, siendo estos últimos los que aportan la mayor información sobre las asociaciones que se pretenden replicar. Todos los resultados se presentaron con odds-ratios, con sus correspondientes intervalos de confianza al 95%, y su valor de significación estadística. Dado que en este estudio de validación sólo se analizaron los SNPs determinados en el estudio inicial no se consideró necesario establecer un nivel de significación más exigente, o su control mediante tasas de falsos resultados.

La posible influencia de variables clínicas, tales como estrés subjetivo, motivos para fumar, y dependencia según la escala de Fagerström, en los resultados de eficacia así como su papel como variables confusoras o modificadoras de la asociación estudiada, se valoró con modelos de regresión logística múltiple. Por último, el poder discriminante de los distintos indicadores genéticos (SNPs) y clínicos analizados respecto a los resultados de eficacia se valoró mediante curvas de operador-receptor y el análisis del área bajo la curva. El objetivo final de esta estrategia de análisis era el de poder llegar a estimar la probabilidad de éxito que pudiera tener un sujeto con un determinado perfil genotípico que comienza un

tratamiento de deshabituación tabáquica (en particular, con veraniclina) y ajustar y monitorizar su tratamiento en base a esta información.

Genotipado

5 Las muestras de ácidos nucleicos pueden ser genotipadas para determinar los alelos que están presentes en una región génica determinada de interés, por ejemplo, la posición de un SNP determinado, mediante métodos bien conocidos del estado de la técnica. Los SNPs candidatos fueron identificados mediante 3 estrategias diferentes, dirigidas principalmente a incluir SNPs con un potencial impacto funcional en la estructura proteica y/o expresión
10 génica, así como a partir de la información de variaciones comunes a lo largo de un gen dado.

Según una primera estrategia, se buscaron SNPs codificantes no-sinónimos (nsSNPs) y SNPs localizados en regiones potenciales (en sentido 5' corriente arriba, 5'-UTR, región
15 codificante, sitios de splicing, primer intrón, 3'-UTR y corriente abajo 3'). Los SNPs se buscaron desde 20 kilobases (kb) en sentido corriente arriba 5' a partir del codón de inicio hasta 10 kb corriente abajo 3' a partir del codón de parada para un gen dado. Los SNPs incluidos en este grupo fueron aquellos con un posible efecto funcional, en concreto aquellos que alteran potenciales sitios de unión a factores de transcripción tales como los que se
20 pueden predecir mediante el empleo del software Pupus View (Conde *et al.* 2005, Nucleic Acid Res 33: W501-5) y SNPs localizados en secuencias conservadas entre especies, tal como han sido determinados mediante el uso de UCSC Genome Browser Database (<http://genome.ucsc.edu/index.html>).

25 En una segunda estrategia, se seleccionaron varios SNPs diana. El principal objetivo de esta selección fue identificar un conjunto de SNPs dirigidos a casi todos los SNPs conocidos en un gen, incluyendo aquellos localizados en potenciales regiones reguladoras que no mostraron ninguna evidencia de funcionalidad. En este estudio, los SNPs diana fueron definidos como SNPs comunes con un r^2 estimado superior a 0,8 ($r^2 > 0,8$) con otros SNPs
30 en sujetos con ancestro europeo (CEU) en la base de datos HapMap (Tagger, Haploview 3.2) (Barrett *et al.*, 2005, Bioinformatics 21(2):263-265).

Finalmente, en la tercera estrategia se consideraron SNPs descritos previamente en la literatura.

En todos los casos, se seleccionaron solamente aquellos SNPs con una frecuencia descrita de alelo minoritario superior al 5% ($MAF \geq 0,05$) en poblaciones caucásicas de HapMap-CEU y PERLEGEN-EUR-Panel North America (ENSEMBL genome browser v. 3.3-3.6; www.ensembl.org), con el objetivo de garantizar SNPs informativos. Todos los SNPs seleccionados fueron filtrados mediante los criterios de la tecnología Illumina (score $\geq 0,6$ ó GoldengateValidated Status, Illumina Inc., San Diego, USA). El genotipado de los SNPs fue llevado a cabo en el Centro Nacional de Genotipado (CeGen), España, usando el sistema Illumina Bead Array (Illumina Inc., San Diego; USA).

La tecnología Illumina Bead Array está basada en partículas (“beads”) de 3 μm que autoagregan en micropocillos sobre uno de los sustratos: haces de fibra óptica o superficies planas de sílice. Cuando las partículas se ensamblan aleatoriamente sobre uno de estos 2 sustratos, se disponen con una separación uniforme de aproximadamente 5,7 μm . Cada partícula está recubierta por cientos de miles de copias de un oligonucleótido específico que actúa capturando las secuencias en uno de los ensayos de Illumina. De promedio, cada tipo de partícula está representada 30 veces por muestra, permitiendo un alto grado de precisión. Se seleccionó el ensayo de genotipado GoldenGate Genotyping assay. En esta aproximación, durante la fase líquida, oligonucleótidos específicos de alelo (ASO) se hibridan a ADN_g, se extienden y ligan a un oligonucleótido específico de locus (LSO). La PCR se llevó a cabo utilizando cebadores universales. Los productos de la reacción multiplex se hibridaron para su detección y análisis a un Sentrix Array universal. Los resultados obtenidos en muestras de ADN de duplicados de sangre fueron concordantes con todos los SNPs genotipados por este método. El ADN fue cuantificado en el Centro Nacional de Genotipado (CeGen) mediante la técnica de PicoGreen y diluido a una concentración final de 50 ng/ml. Con esta técnica, la concentración de ADN se determinó mediante un marcador fluorescente (PicoGreen[®], Molecular Probes) que se une a ADN bicatenario y posterior cuantificación en un fluorímetro.

2. RESULTADOS

Con el objetivo de determinar el perfil farmacogenético asociado a la eficacia de un tratamiento farmacológico para dejar de fumar, se evaluaron los resultados obtenidos en términos de abstinencia de consumo tabáquico a 3 meses (eficacia a corto plazo) y a 12 meses (eficacia a largo plazo). El éxito del tratamiento se entiende como la abstinencia del consumo de tabaco en un estudio prospectivo con 3 grupos de sujetos que demandaron una intervención de profesionales sanitarios y fueron tratados con TSN, bupropión y vareniclina.

Se trata de un estudio observacional que contó con la intervención de 21 unidades de tabaquismo de los servicios públicos de salud de España y Portugal. Un total de 807 sujetos fueron invitados a participar en el estudio de los cuales 798 pacientes aportaron sus datos sociodemográficos y clínicos realizando un test de 144 ítem. Además aportaron una muestra biológica para su posterior genotipado. Un total de 483 individuos fueron tratados con vareniclina. La información tanto de variables fenotípicas como genotípicas fue recogida para 479 pacientes tratados con vareniclina antes de la instauración del tratamiento farmacológico.

La descripción general de la muestra se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. Características de la muestra evaluada y en tratamiento con vareniclina

Variables	Media (DE)	N (%)
Género:		
Varones		241 (49.9)
Mujeres		242 (48.3)
Edad (años)	46.2 (10.8)	
Consumo cigarrillos/día	23.9 (10.9)	
Edad comienzo consumo tabaco (años)	15.5 (3.6)	
Edad comienzo consumo diario (años)	18.1 (4.5)	
Número intentos de dejar de fumar	2.8 (7.1)	
Método utilizado en los intentos previos:		
TSN		115 (31.1)
Bupropion/vareniclina		36 (9.7)

Sin fármacos		219 (5.2)
Meses desde el último intento de dejar de fumar	41.5 (86.4)	
Tiempo máximo de abstinencia alcanzado (meses)	29.0 (80.1)	

DE: desviación estándar; TSN: terapia de sustitución con nicotina

Los resultados clínicos fueron relacionados con la eficacia de los tratamientos farmacológicos. La eficacia fue evaluada a los 3 y 12 meses posteriores al inicio del tratamiento, de acuerdo a los criterios de abstinencia previamente establecidos tales como la medición del monóxido de carbono, entrevistas clínicas e información propia del paciente.

Se seleccionaron 80 genes candidatos en base a su relevancia biológica y a la búsqueda bibliográfica así como en base a las apuestas de los genes candidatos de los investigadores. En las muestras se analizaron 384 SNPs, inserción/delección y repeticiones en tándem. Para cada gen la selección del SNP se basó en los siguientes criterios:

1. SNPs diana, $r^2 > 0,98$ con otros SNPs en individuos HapMap de ancestro europeo (CEU) (The International HapMap Project, 2003) (Tagger, Haploview 3.2).
2. SNPs localizados en regiones que pueden tener influencia con la función del gen (corriente arriba, 5'UTR, región codificante, sitios de splicing, intrón 1, 3'UTR y corriente abajo).
3. SNPs previamente asociados con la dependencia y cesación del consumo de tabaco.

Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto la asociación entre SNPs y la eficacia del tratamiento para dejar de fumar únicamente de aquellos genes que muestran un valor de p menor de 0,01. Los resultados genéticos se presentan con sus correspondientes OR (odds ratio), su precisión (95% intervalos de confianza) y el correspondiente valor de p. Con todo ello se obtuvieron los 6 SNPs asociados con eficacia de vareniclina que se muestran en las Tablas 3-6.

Los resultados que se muestran a continuación presentan el ajuste de dos modelos de predicción. El primero es un modelo univariado que sólo incluye el genotipo como variable explicativa, mientras que el segundo incluye además variables clínicas (estrés subjetivo, motivos para fumar, y dependencia según la escala de Fagerström). Se ha contrastado el poder explicativo de ambos modelos mediante el test de cociente de verosimilitudes para modelos anidados. Un *p*-valor significativo señala la necesidad de explicar el resultado mediante el modelo multivariado, mientras que un *p*-valor no significativo implica que el modelo univariado (genotipo) sería suficiente para explicar el resultado.

Tabla 3

Resultados univariados (genotipo) y multivariados (genotipo y variables clínicas) de la eficacia de un tratamiento con vareniclina para la deshabituación tabáquica – Abstinencia a 3 meses

rs678188 (Chr 10; PARD3)

Resultado	Genotipo			P-valor	AIC	AUC
	T/T	C/T	C/C			
1	109	165	69			
0	61	55	16			
OR	1,00	1,68	2,41	0,0073	557,6	
OR lineal	1,59			0,0018	555,7	0,5849

Resultado	Alelos		OR (IC 95%)	P-valor
	T	C		
1	383	303		
0	177	87		
Total	560	390	1,61 (1,19 – 2,17)	0,002

Genotipo	Resultados univariados			Resultados multivariados			P-valor (modelos anidados)
	OR (IC 95%)	P-valor	AUC	OR (IC 95%)	P-valor	AUC	
T/T	1,0			1,0			
C/T	1,68 (1,08 a 2,60)	0,020		1,67 (1,06 a 2,63)	0,028		

C/C	2,57 (1,36 a 4,88)	0,004	0.5886	2,47 (1,26 a 4,83)	0,008	0,6633	0,0002
-----	--------------------	-------	--------	--------------------	-------	--------	--------

Comentarios	<p>Los genotipos C/T y C/C están asociados a una mayor abstinencia a los 3 meses, siendo el alelo C el factor más importante en la explicación del éxito de la abstinencia. La predicción es mejor para el modelo multivariado (66% en base al área bajo la curva) que para el univariado. La significación del <i>p</i>-valor para modelos anidados (genotipo versus genotipo más variables clínicas) señala que el modelo multivariado es significativamente mejor que el univariado en la predicción del resultado.</p> <p>La Figura 1 muestra las curvas ROC correspondientes a los modelos univariado (gráfica superior) y multivariado (gráfica inferior) en relación con el SNP rs678188.</p>
--------------------	--

rs9658498 (Chr 12; NOS1)

Resultado	Genotipo			P-valor	AIC	AUC
	T/T	C/T	C/C			
1	154	151	37			
0	52	49	32			
OR	1,00	1,04	0,39	0,0019	556,8	
OR lineal	0,68			0,0081	560,3	0,5628

Resultado	Alelos		OR (IC 95%)	P-valor
	T	C		
1	459	225		
0	153	113		
Total	612	338	0,66 (0,50 – 0,89)	0,006

5

Genotipo	Resultados univariados			Resultados multivariados			P-valor (modelos anidados)
	OR (IC 95%)	P-valor	AUC	OR (IC 95%)	P-valor	AUC	
T/T	1,0			1,0			
C/T	1,06 (0,67 a 1,67)	0,793		1,13 (0,71 a 1,81)	0,598		
C/C	0,39 (0,22 a 0,69)	0,001	0,5718	0,39 (0,22 a 0,72)	0,002	0,6682	0,0001

Comentarios	<p>Los genotipos C/T y T/T están asociados a una mayor abstinencia a los 3 meses, siendo el alelo C el factor más importante en la explicación del fracaso en la abstinencia. La predicción es mejor para el modelo multivariado (66% en base al área bajo la curva) que para el univariado. La significación del <i>p</i>-valor para modelos anidados (genotipo versus genotipo más variables clínicas) señala que el modelo multivariado es significativamente mejor que el univariado en la predicción del resultado.</p> <p>La Figura 2 muestra las curvas ROC correspondientes a los modelos univariado (gráfica superior) y multivariado (gráfica inferior) en relación con el SNP rs9658498.</p>
--------------------	---

rs4821566 (Chr 22; CSF2RB)

Resultado	Genotipo			P-valor	AIC	AUC
	C/C	C/G	G/G			
1	84	169	91			
0	48	62	24			
OR	1,00	1,56	2,17	0,0226	565,6	
OR lineal	1,48			0,0061	563,7	0,5742

Resultado	Alelos		OR (IC 95%)	P-valor
	C	G		
1	337	351		
0	158	110		
Total	495	461	1,50 (1,12 – 1,99)	0,006

Genotipo	Resultados univariados			Resultados multivariados			P-valor (modelos anidados)
	OR (IC 95%)	P-valor	AUC	OR (IC 95%)	P-valor	AUC	
C/C	1,0			1,0			
C/G	1,58 (1,00 a 2,51)	0,05		1,57 (0,97 a 2,53)	0,065		
G/G	2,17 (1,22 a 3,84)	0,008	0,5747	2,14 (1,18 a 3,88)	0,012	0,6624	0,0001

5

Comentarios	<p>Los genotipos G/G y C/G están asociados a una mayor abstinencia a los 3 meses. Siendo el alelo G el factor más importante en la explicación del éxito en la abstinencia. La predicción es mejor para el modelo multivariado (66% en base al área bajo la curva) que para el univariado. La significación del <i>p</i>-valor para</p>
--------------------	---

	<p>modelos anidados (genotipo versus genotipo más variables clínicas) señala que el modelo multivariado es significativamente mejor que el univariado en la predicción del resultado.</p> <p>La Figura 3 muestra las curvas ROC correspondientes a los modelos univariado (gráfica superior) y multivariado (gráfica inferior) en relación con el SNP rs4821566.</p>
--	--

Tabla 4

Resultados univariados (genotipo) y multivariados (genotipo y variables clínicas) de la eficacia de un tratamiento con vareniclina para la deshabituación tabáquica – Abstinencia a 12 meses

5

rs10891510 (Chr 11; NCAM1)

Resultado	Genotipo			P-valor	AIC	AUC
	G/G	G/T	T/T			
1	72	114	36			
0	65	115	68			
OR	1,00	0,89	0,48	0,0115	647,2	
OR lineal	0,71			0,0080	647,1	0,5639

Resultado	Alelos		OR (IC 95%)	P-valor
	G	T		
1	258	186		
0	245	251		
Total	503	437	0,70 (0,54 – 0,91)	0,008

Genotipo	Resultados univariados			Resultados multivariados			P-valor (modelos anidados)
	OR (IC 95%)	P-valor	AUC	OR (IC 95%)	P-valor	AUC	
G/G	1,0			1,0			
G/T	0,88 (0,58 a 1,35)	0,559		0,89 (0,57 a 1,38)	0,592		
T/T	0,47 (0,28 a 0,80)	0,005	0,5655	0,47 (0,27 a 0,81)	0,007	0,6436	0,0003

Comentarios	<p>El genotipo G/G está asociado a la abstinencia a los 12 meses. Siendo el alelo T el factor más importante en la explicación del fracaso en la abstinencia. La predicción es mejor para el modelo multivariado (64% en base al área bajo la curva) que para</p>
--------------------	---

	<p>el univariado. La significación del <i>p</i>-valor para modelos anidados (genotipo versus genotipo más variables clínicas) señala que el modelo multivariado es significativamente mejor que el univariado en la predicción del resultado.</p> <p>La Figura 4 muestra las curvas ROC correspondientes a los modelos univariado (gráfica superior) y multivariado (gráfica inferior) en relación con el SNP rs10891510.</p>
--	---

rs11932367 (Chr 4; GRID2)

Resultado	Genotipo			P-valor	AIC	AUC
	G/G	A/G	A/A			
1	125	84	13			
0	109	120	21			
OR	1,00	0,61	0,54	0,0211	650,9	
OR lineal	0,67			0,0077	649,6	0,5654

Resultado	Alelos		OR (IC 95%)	P-valor
	G	A		
1	334	110		
0	338	162		
Total	672	272	0,68 (0,52 – 0,91)	0,010

Genotipo	Resultados univariados			Resultados multivariados			P-valor (modelos anidados)
	OR (IC 95%)	P-valor	AUC	OR (IC 95%)	P-valor	AUC	
G/G	1,0			1,0			
A/G	0,61 (0,42 a 0,89)	0,011		0,62 (0,42 a 0,92)	0,018		
A/A	0,57 (0,27 a 1,19)	0,135	0,5637	0,62 (0,29 a 1,32)	0,213	0,6423	0,0004

5

Comentarios	<p>El genotipo G/G está asociado a la abstinencia a los 12 meses, siendo el alelo A el factor más importante en la explicación del fracaso en la abstinencia. La predicción es mejor para el modelo multivariado (64% en base al área bajo la curva) que para el univariado. La significación del <i>p</i>-valor para modelos anidados (genotipo versus genotipo más variables clínicas) señala que el modelo multivariado es significativamente mejor que el univariado en la predicción del resultado.</p> <p>La Figura 5 muestra las curvas ROC correspondientes a los modelos univariado</p>
--------------------	--

(gráfica superior) y multivariado (gráfica inferior) en relación con el SNP rs11932367.

rs2023239 (Chr 6; CNR1)

Resultado	Genotipo			P-valor	AIC	AUC
	T/T	C/T	C/C			
1	126	83	13			
0	175	65	10			
OR	1,00	1,77	1,81	0,0115	649,7	
OR lineal	1,57			0,0049	648,7	0,5664

Resultado	Alelos		OR (IC 95%)	P-valor
	T	C		
1	335	109		
0	415	85		
Total	750	194	1,59 (1,16 – 2,18)	0,004

Genotipo	Resultados univariados			Resultados multivariados			P-valor (modelos anidados)
	OR (IC 95%)	P-valor	AUC	OR (IC 95%)	P-valor	AUC	
T/T	1,0			1,0			
C/T	1,76 (1,18 a 2,62)	0,005		1,85 (1,22 a 2,81)			
C/C	1,79 (0,76 a 4,22)	0,180	0,5657	1,73 (0,71 a 4,20)	0,228	0,6577	0,0002

5

Comentarios	<p>Los genotipos C/T y C/C están asociados a una mayor abstinencia a los 12 meses, siendo el alelo C el factor más importante en la explicación del éxito en la abstinencia. La predicción es mejor para el modelo multivariado (66% en base al área bajo la curva) que para el univariado. La significación del <i>p</i>-valor para modelos anidados (genotipo versus genotipo más variables clínicas) señala que el modelo multivariado es significativamente mejor que el univariado en la predicción del resultado.</p> <p>La Figura 6 muestra las curvas ROC correspondientes a los modelos univariado (gráfica superior) y multivariado (gráfica inferior) en relación con el SNP rs2023239.</p>
--------------------	--

Tabla 5				
Vareniclina - Abstinencia a 3 meses				
Gen	ID	SNP Ligado	MAF	Función
PARD3 (10p11.21)	rs678188 (p-0,0073)C	rs624056C/T	C 0,442	IP
		rs626385 C/T	T 0,376	IP-CG
		rs1765160 A/G	G 0,449	INF
		rs1274478 A/G	A0,338	INF-CG
		rs678188 C/T	C0,407	INF-CG
NOS1 (12q24.2-q24.31)	rs9658498 (p-0,0019)T	rs7959232 A/G	G 0,394	IP
		rs904658 G/T	G 0,389	INF
		rs10774910 C/T	T 0,381	INF
		rs3741476 C/T	C 0,397	INF
		rs12830203C/T	T 0,347	INF-CG
		rs2291908A/G	G 0,363	INF-CG
		rs2293046 A/G	A 0,336	IP-CG
		rs9658498 C/T	C 0,389	INF-CG
CSF2RB (22q13.1)	rs4821566 (p-0,0226)G	rs4821565	C/T 0,5	AARRP
		rs9607391 A/T	T 0,486	AANF
		rs2413435	G/T 0,5	IGRT
		rs4239882 A/G	G 0,492	AART
		rs4821561 C/T	T 0,473	IGRT-CG
		rs2049908 A/G	G 0,471	IGRT-CG
		rs4821560 G/T	G 0,473	IGRT
		rs1807546 A/C	C 0,492	IGRT
		rs9607397 C/T	T 0,48	AART
		rs2413436A/G	G 0,473	IGNF
		rs9607390 C/T	T 0,439	AANF
		rs9607396 A/C	A 0,453	AART
		rs2075941C/T	T 0,492	INF
		rs10222238G/T	G 0,469	AART-CG
		rs10222232A/G	A 0,491	AART
		rs4821567	G 0,478	AART
		rs4820262C/T	T 0,492	AART
		rs4820261A/G	G 0,483	AART-CG
		rs5756407C/T	C0,478	AART
		rs4821568	C 0,478	AART
rs2899276 C/T	C 0,473	IGRT		
rs4821566 C/G	G 0,482	AANI		

AAIGRT: Aguas arriba intergénico regulador transcripcional; AANF: Aguas arriba no funcional; AARR: Aguas arriba región reguladora; AARRP: Aguas arriba regulador de región de promotor; AART: Aguas arriba regulador transcripcional; ABNF: Aguas abajo no funcional; ABRT: Aguas abajo regulador transcripcional; CG: Sitio CpG; ERES: Exónico regulador ensamblaje sinónimo;

IGNF: Intergénico no funcional; IGRT: Intergénico regulador transcripcional; INF Intrónico no funcional; IP: Intrónico potenciador; IRT: Intrónico regulador transcripcional; ISI: Intrónico sin información; ND: Dato no disponible.

5

Tabla 6				
Vareniclina - Abstinencia a 12 meses				
Gen	ID	SNP Ligado	MAF	Función
NCAM1 (11q23.1)	rs10891510 (p-0,0115)G	rs4936263 A/G	G 0,46	IGRT-CG
		rs10891518 C/T	T 0,458	IGRT-CG
		rs4937993 A/G	A 0,491	IGRT-CG
		rs7932647 A/G	A 0,458	IGRT
		rs10891510 G/T	T 0,491	IGRT
GRID2 (4q22)	rs11932367 (p-0,0211)G	rs6848888 C/T	T 0,363	IRT
		rs4519763 C/T	C 0,363	IRT-CG
		rs7671794 A/G	A 0,363	IRT-CG
		rs11097378 G/T	T 0,381	IRT
		rs11932367 A/G	A 0,385	INF-CG
CNR1 (6q14-q15)	rs2023239 (p-0,0115)C	rs9450898 C/T	T 0,158	INF
		rs6928813 A/G	G 0,159	INF-CG
		rs9444584 C/T	T 0,2	IRT-CG
		rs6928499 C/T	C 0,175	INF
		rs2023239 C/T	C 0,167	INF-CG

AAIGRT: Aguas arriba intergénico regulador transcripcional; AANI: Aguas arriba no información; AANF Aguas arriba no funcional; AARR: Aguas arriba región reguladora; AARRP: Aguas arriba regulador de región de promotor; AART: Aguas arriba regulador transcripcional; ABNF: Aguas abajo no funcional; ABRT: Aguas abajo regulador transcripcional; CG: Sitio CpG; ERES: Exónico regulador ensamblaje sinónimo; IGNF: Intergénico no funcional; IGRT: Intergénico regulador transcripcional; INF Intrónico no funcional; IP: Intrónico potenciador; IRT: Intrónico regulador transcripcional; ISI: Intrónico sin información; ND: Dato no disponible.

10

15

TRADUCCIÓN AL CASTELLANO DE TÉRMINOS EN INGLÉS QUE APARECEN EN LA LISTA DE SECUENCIAS

El término “SEQUENCE LISTING” significa “LISTA DE SECUENCIAS”.

REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar la probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, que comprende determinar en una muestra biológica de dicho sujeto, al menos un alelo del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) rs678188, o de cualquier SNP de su correspondiente bloque de ligamiento, en donde

5

10

- la presencia de al menos un alelo C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNP de su bloque de ligamiento

es indicativa de una alta probabilidad de que dicho sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a dicha terapia; o

15

alternativamente, en donde

- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNP de su bloque de ligamiento

20

es indicativa de una baja probabilidad de que dicho sujeto cese el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos.

25

2. Método según la reivindicación 1, en el que:

- la presencia de ambos alelos C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNP de su bloque de ligamiento

30

es indicativa de una alta probabilidad de que dicho sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos; o

alternativamente, en el que

- la presencia de ambos alelos T del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNP de su bloque de ligamiento

es indicativa de una baja probabilidad de que dicho sujeto cese el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos.

3. Un método para predecir la eficacia de una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto, que comprende determinar en una muestra biológica de dicho sujeto al menos un alelo del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) rs678188, o cualquier SNP de su correspondiente bloque de ligamiento, en donde

- la presencia de al menos un alelo C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNP de su bloque de ligamiento

es indicativa de que dicha terapia será eficaz; o

alternativamente, en donde

- la presencia de al menos un alelo T del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNP de su bloque de ligamiento

es indicativa de que dicha terapia será ineficaz.

4. Método según la reivindicación 3, en el que:

- la presencia de ambos alelos C del SNP rs678188, o de los alelos

correspondientes de los SNP de su bloque de ligamiento

es indicativa de que dicha terapia será eficaz; o

5 alternativamente, en el que

- la presencia de ambos alelos T del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNP de su bloque de ligamiento

10 es indicativa de que dicha terapia será ineficaz.

5. Un método para seleccionar un sujeto para una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de receptores colinérgicos nicotínicos, que comprende determinar en una muestra biológica de dicho sujeto al menos un alelo del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) rs678188, o cualquier SNP de su correspondiente bloques de ligamiento, en donde dicho sujeto es seleccionado para dicha terapia si tiene al menos un alelo C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNP de su bloque de ligamiento.

20

6. Un método para seleccionar una terapia para un sujeto en necesidad de terapia para abandonar el consumo de tabaco, que comprende determinar en una muestra biológica de dicho sujeto al menos un alelo del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) rs678188, o cualquier SNP de su correspondiente bloque de ligamiento, en donde se selecciona una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de receptores colinérgicos nicotínicos si dicho sujeto tiene al menos un alelo C del SNP rs678188, o de los alelos correspondientes de los SNP de su bloque de ligamiento.

25

7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que adicionalmente se determina al menos un alelo de uno o más de los polimorfismos de un solo

30

nucleótido (SNP) rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y/o rs2023239, y/o cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento.

- 5 8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicho sujeto es un consumidor activo de tabaco, preferentemente, un fumador activo.
9. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende, además, analizar al menos una variable clínica relacionada con el consumo de tabaco.
- 10 10. Método según la reivindicación 9, en el que dicha variable clínica relacionada con el consumo de tabaco se selecciona del grupo formado por estrés subjetivo, motivos para fumar, dependencia según la escala de Fagerström, y cualquiera de sus combinaciones.
- 15 11. Un kit que comprende al menos un reactivo necesario para determinar la presencia de al menos un alelo del SNP rs678188, y/o de los alelos correspondientes de los SNP de su bloque de ligamiento, y/o, al menos, un reactivo para determinar el nucleótido presente en el sitio polimórfico de dicho SNP, en donde dichos al menos un reactivo necesario para determinar la
20 presencia de al menos un alelo de dicho SNP y/o de los alelos correspondientes de los SNP de su bloque de ligamiento, y/o, al menos, un reactivo para determinar el nucleótido presente en el sitio polimórfico de dicho SNP comprende:
- 25 - una o más parejas de oligonucleótidos alelo-específicos o polimorfismo-específicos, donde cada pareja de oligonucleótidos alelo-específicos o polimorfismo-específicos está dirigida al SNP rs678188, y/o los correspondientes SNP de su bloque de ligamiento, o
- 30 - un conjunto de sondas, en donde dicho conjunto de sondas comprende una pluralidad de sondas de oligonucleótidos que interrogan para el SNP rs678188, y/o sus correspondientes SNP de su bloque de ligamiento, en

donde dichas sondas de oligonucleótidos suponen al menos el 50% de las sondas de oligonucleótidos de dicho conjunto de sondas.

12. Kit según la reivindicación 11, que comprende adicionalmente al menos un
5 reactivo necesario para determinar la presencia de al menos un alelo de uno o más de los SNP rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367 y/o rs2023239, o de los alelos correspondientes de los SNP de sus bloques de ligamiento, y/o, al menos, un reactivo para determinar el nucleótido presente en el sitio polimórfico de dichos uno o más SNP, en donde dicho al menos un reactivo necesario para
10 determinar la presencia de al menos un alelo de uno o más de dichos SNP y/o de los alelos correspondientes de los SNP de sus bloques de ligamiento, y/o, al menos, un reactivo para determinar el nucleótido presente en el sitio polimórfico de dichos uno o más SNP comprende:

- 15 - una o más parejas de oligonucleótidos alelo-específicos o polimorfismo-específicos, donde cada pareja de oligonucleótidos alelo-específicos o polimorfismo-específicos está dirigida a uno de los SNPs rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367, rs2023239 y/o los correspondientes SNP de su bloque de ligamiento, o
20 - un conjunto de sondas, en donde dicho conjunto de sondas comprende una pluralidad de sondas de oligonucleótidos que interrogan para los SNP rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367, rs2023239 y/o sus correspondientes SNP de sus bloques de ligamiento, en donde dichas sondas
25 de oligonucleótidos suponen al menos el 50% de las sondas de oligonucleótidos de dicho conjunto de sondas.

13. Uso de un kit según cualquiera de las reivindicación 11 ó 12, para:

- 30 - determinar la probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos; o para

- predecir la eficacia de una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto; o para
 - seleccionar un sujeto para una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos; o para
 - seleccionar una terapia a administrar a un sujeto en necesidad de terapia para abandonar el consumo.
- 5
- 10 14. Uso de un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) para:
- determinar la probabilidad de que un sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos; o para
 - predecir la eficacia de una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos en un sujeto; o para
 - seleccionar un sujeto para una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos; o para
 - seleccionar una terapia a administrar a un sujeto en necesidad de terapia para abandonar el consumo;
- 15
- 20 en donde dicho SNP es rs678188, y/o cualquier SNP de su correspondiente bloque de ligamiento.
- 25 15. Uso según la reivindicación 14, en donde adicionalmente se selecciona al menos un SNP del grupo formado por rs9658498, rs4821566, rs10891510, rs11932367, rs2023239, y/o cualquier SNP de sus correspondientes bloques de ligamiento.
- 30 16. Una terapia para abandonar el consumo de tabaco basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos para su empleo en el tratamiento de un sujeto, en donde dicho sujeto se selecciona mediante el método de la reivindicación 5.

- 5 17. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, kit según cualquiera de las reivindicaciones 11 ó 12, uso de un kit según la reivindicación 13, uso de un SNP según cualquiera de las reivindicaciones 14 ó 15, o terapia según la reivindicación 16, en donde dicho fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos se selecciona del grupo formado por vareniclina, citisina y dianiclina.

SNP rs678188

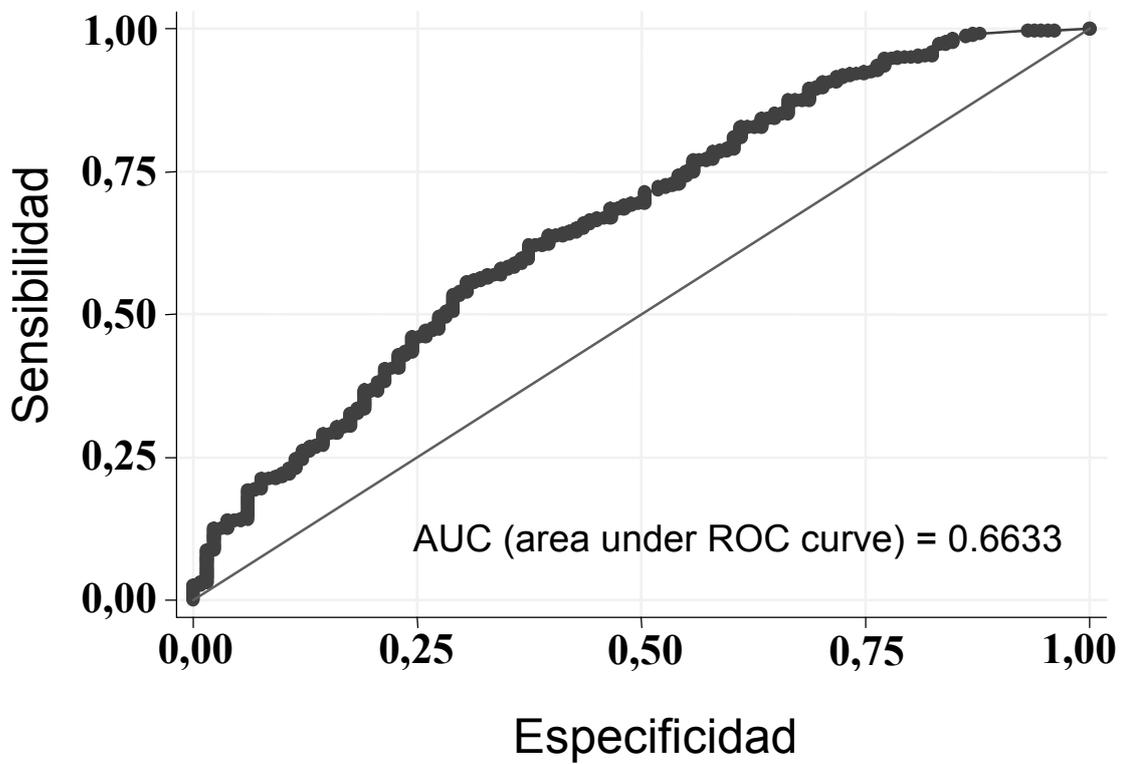
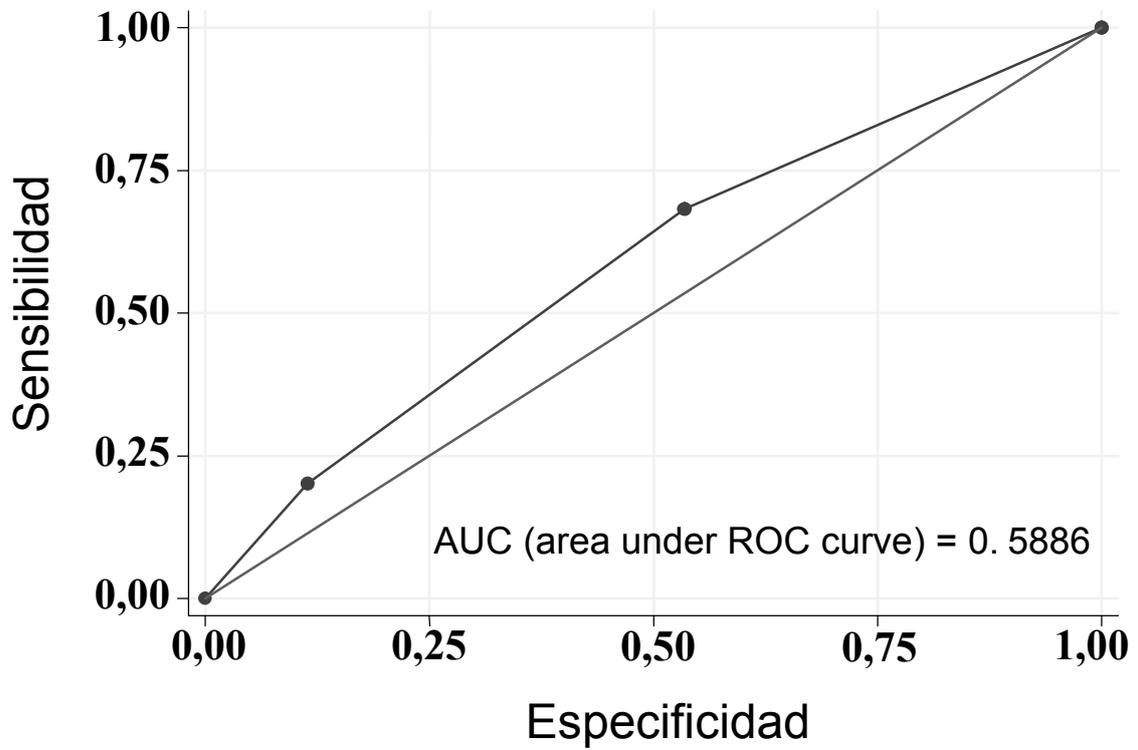


Fig. 1

SNP rs9658498

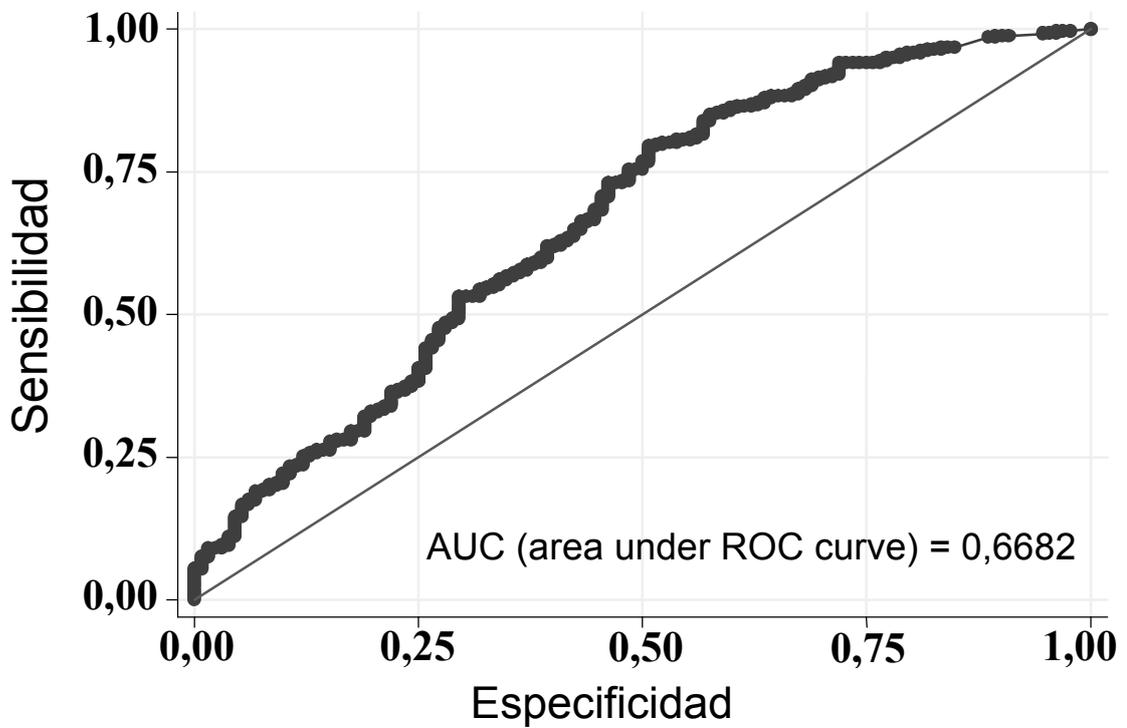
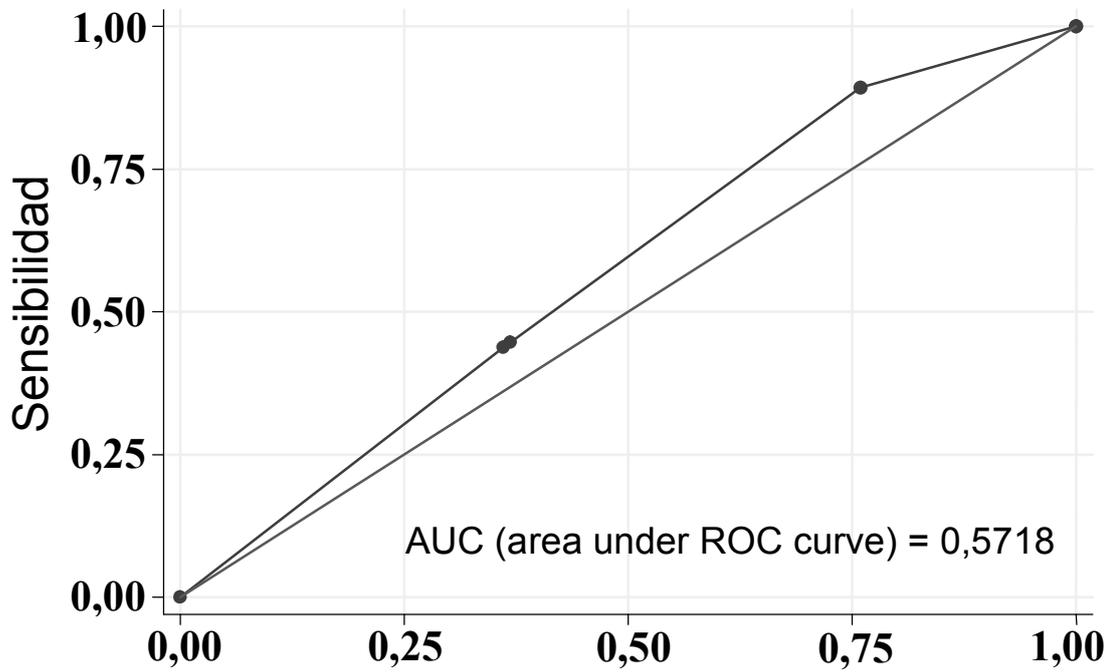


Fig. 2

SNP rs4821566

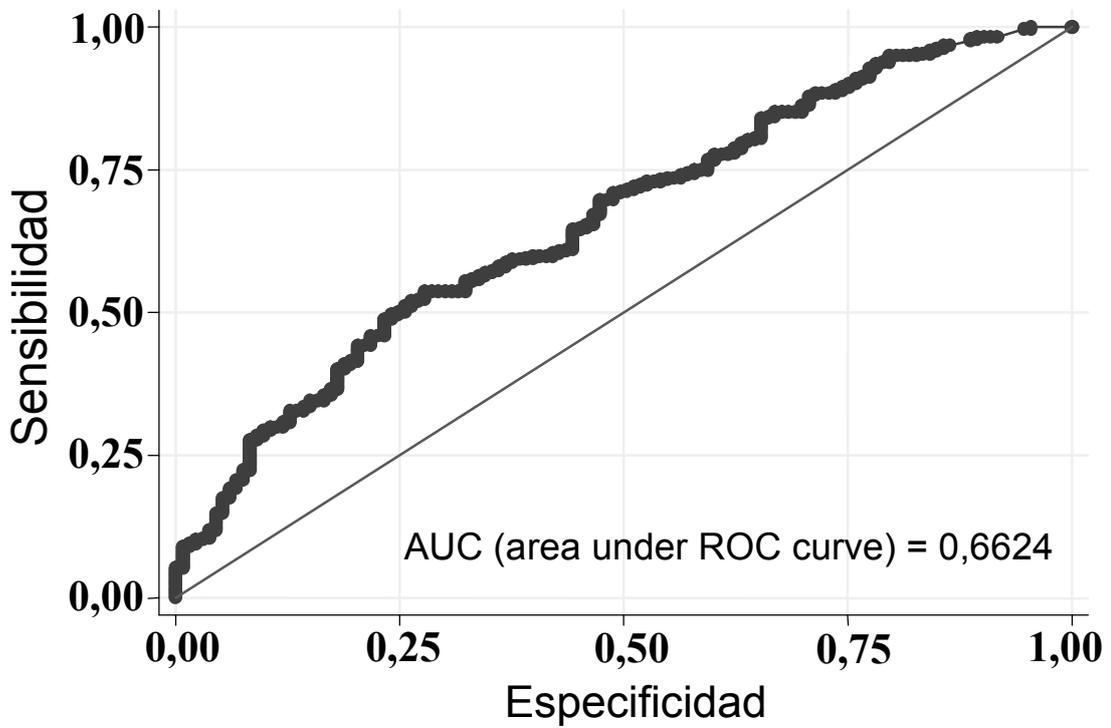
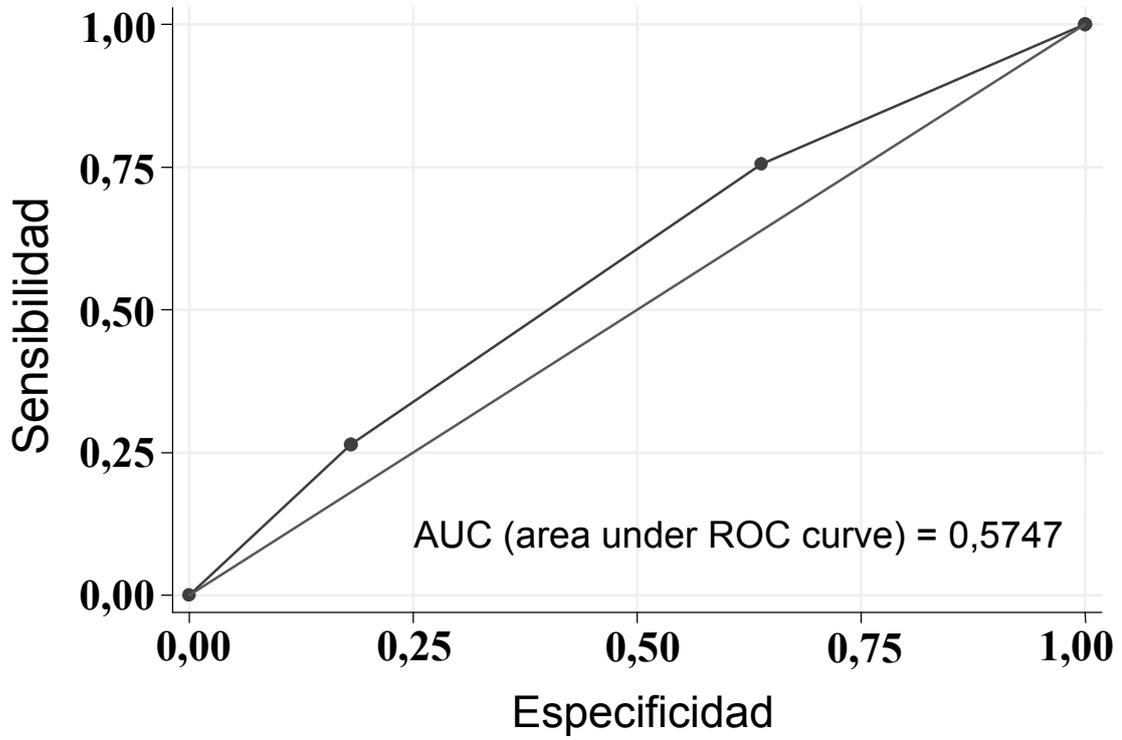


Fig. 3

SNP rs10891510

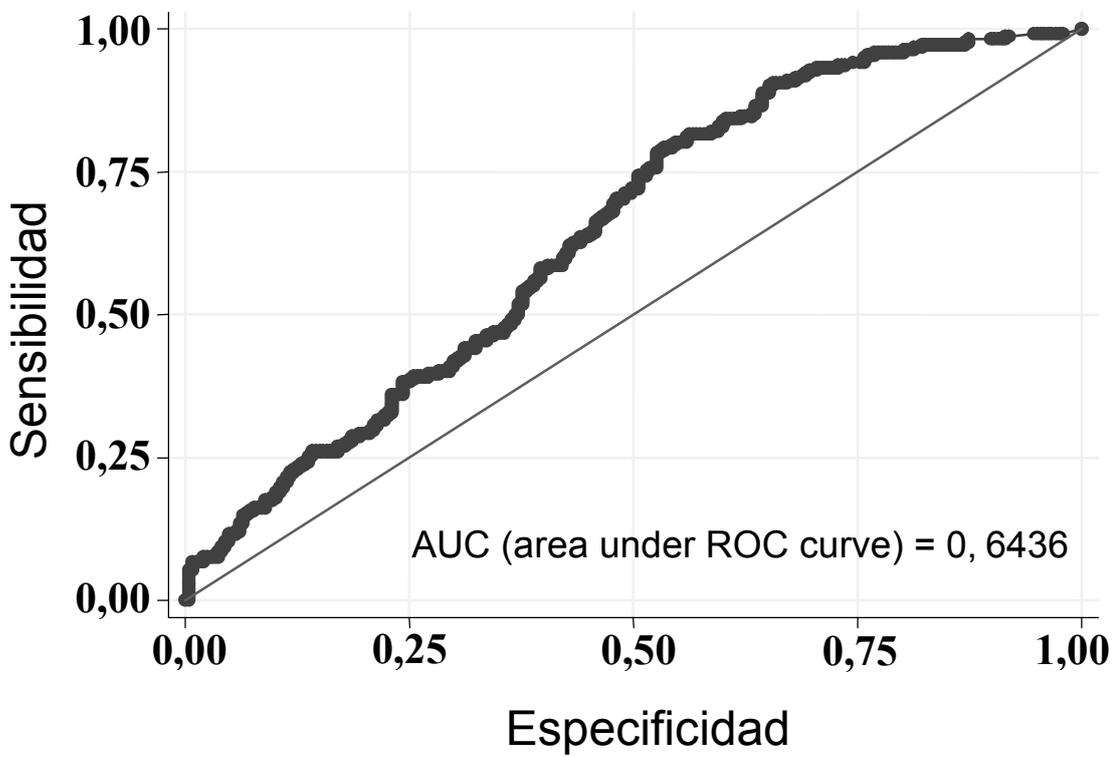
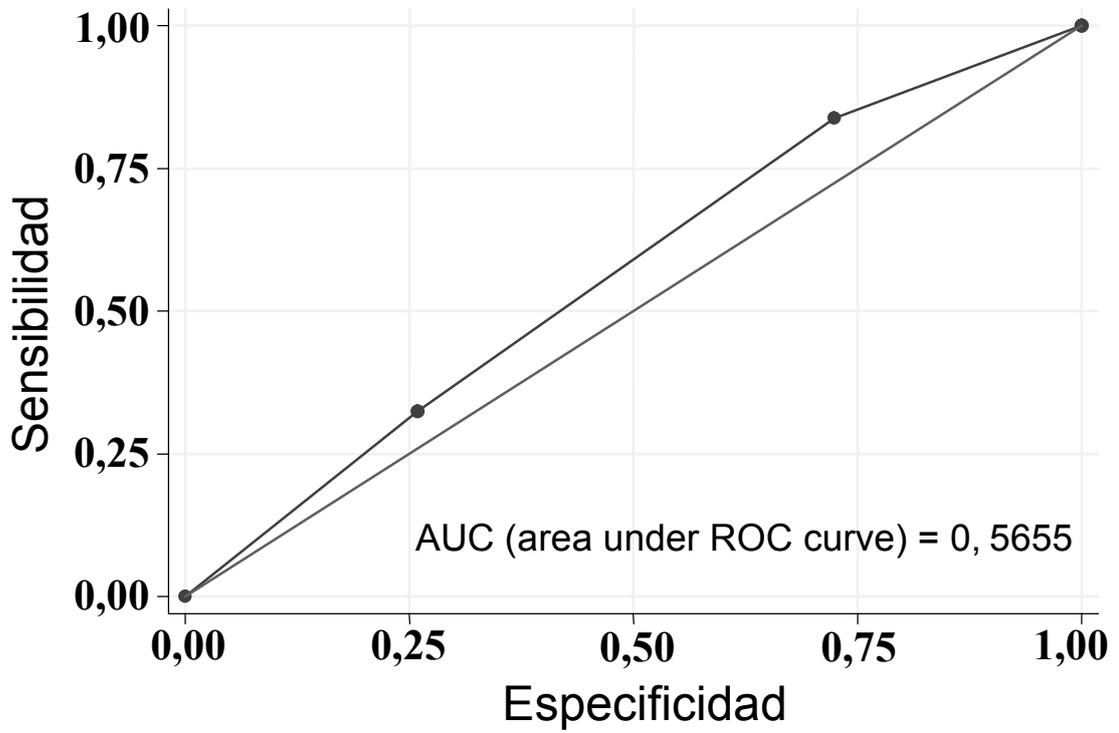


Fig. 4

SNP rs11932367

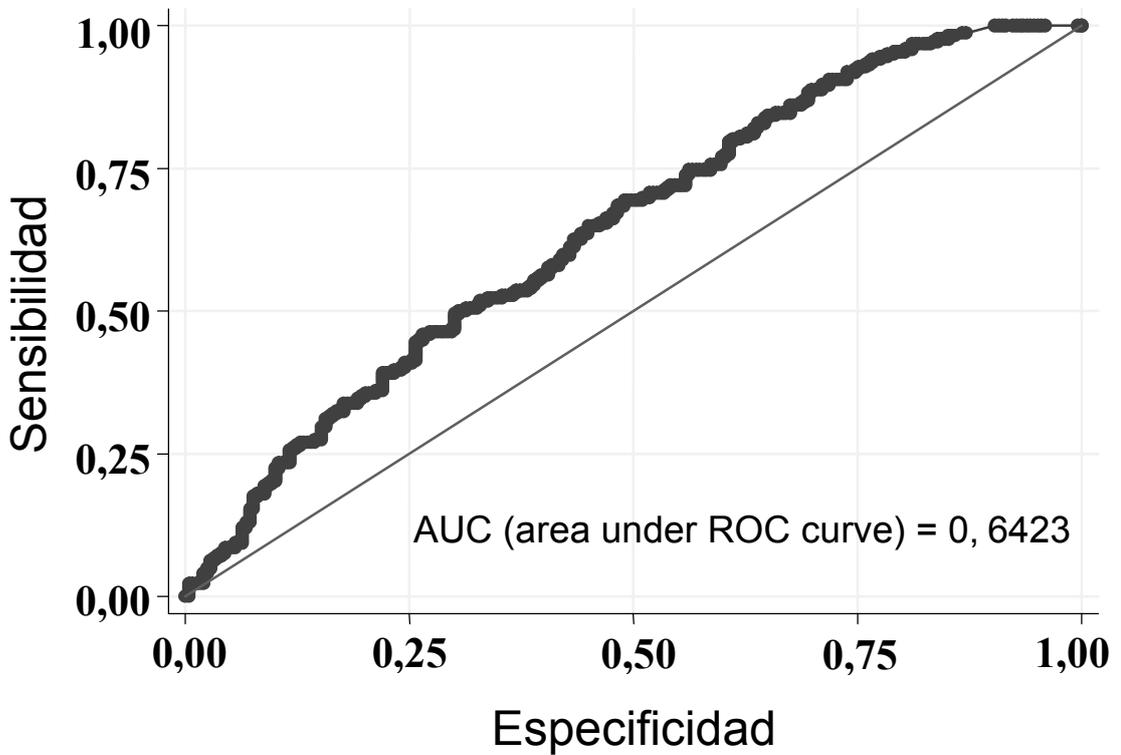
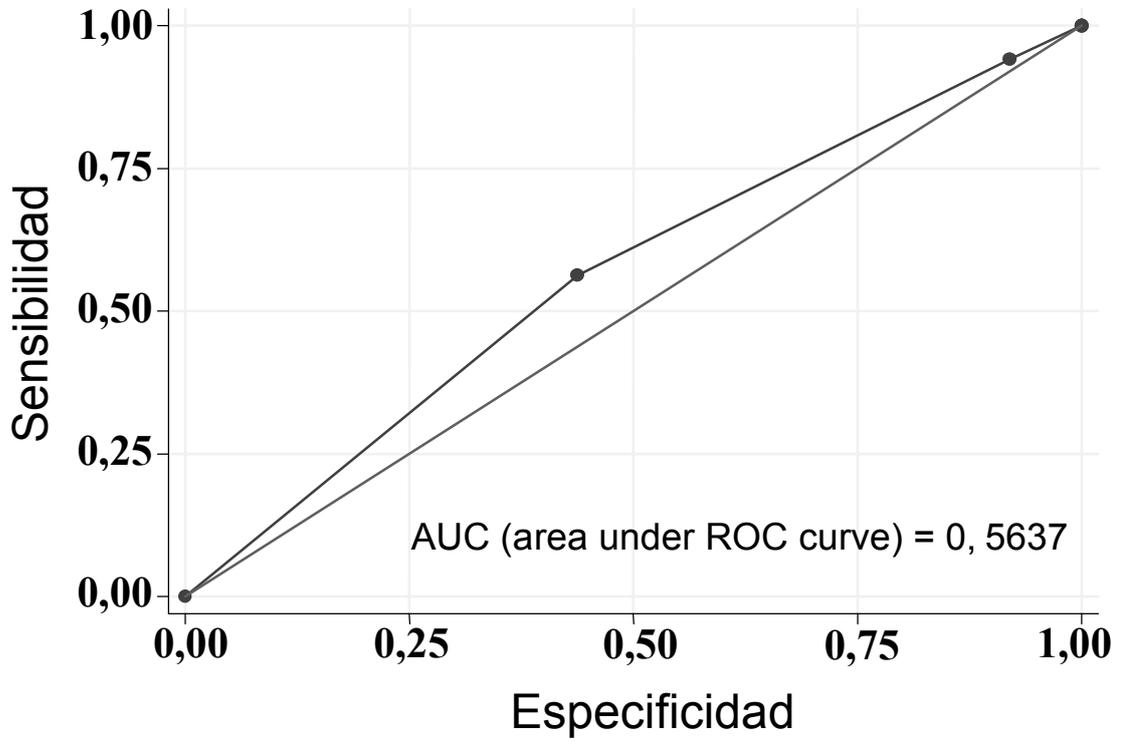


Fig. 5

SNP rs2023239

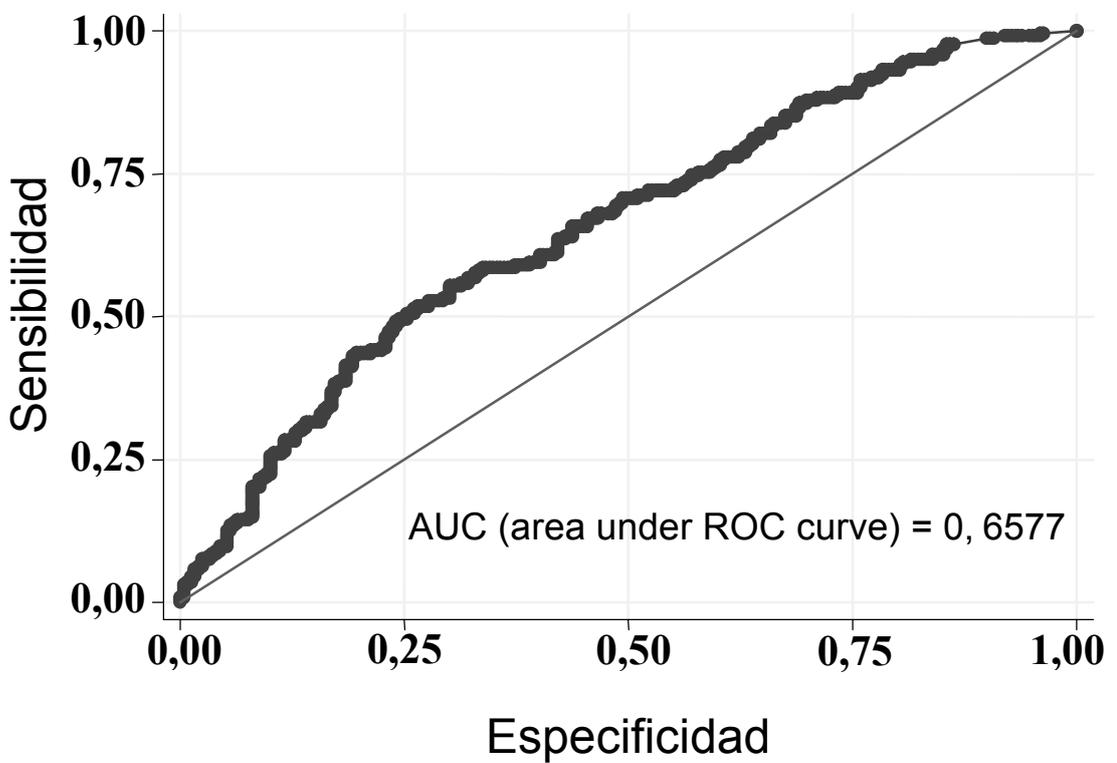
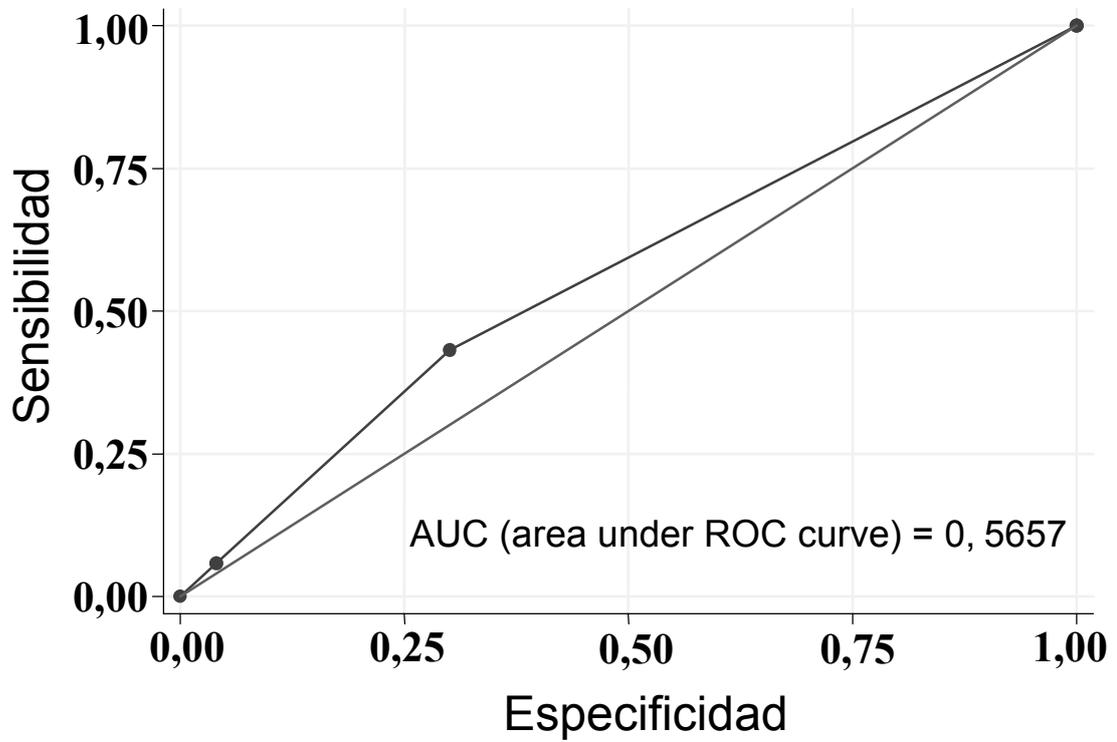


Fig. 6

Lista de Secuencias

<110> Genetracer Biotech S.L.
 Universidad del País Vasco

<120> MÉTODO PARA PREDECIR EL ÉXITO EN EL ABANDONO DEL CONSUMO DE
 TABACO EN RESPUESTA A UN TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

<130> P7236ES00

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 1
 acgccgccca tttcctatatt cctaccygtg ctggatttgc tgaaccgctc ac 52

<210> 2
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 2
 ggtctctgat tgtaaaatga accaaaygta gcctctacca ccttgcttag aa 52

<210> 3
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 3
 gggatcatcc tcatattctt gcaagasgaa aagtttacca gtgagaacta gg 52

<210> 4
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 4
 cctttgcaga aagaaggaaa tcacatkgtg tacaacggtt gttaattact ca 52

<210> 5
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 5
 attccagaac ttaaaaccac aaatttrcac tgcaacttgaa aatacacaca ca 52

<210> 6
 <211> 52

ES 2 426 838 A1

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

ctaggtttgt ggatgtgcca ggaccaygta aggaacagct ctctcatata tt

52



- ②① N.º solicitud: 201230592
②② Fecha de presentación de la solicitud: 20.04.2012
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **C12Q1/68** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 20090176878 A1 (GOATE et al.) 09.07.2009, página 1, párrafos 0005-0008; página 2, Tablas A y B; reivindicaciones 13-20.	1-17
A	KING DP et al. Smoking Cessation Pharmacogenetics: Analysis of Varenicline and Bupropion in Placebo-Controlled Clinical Trials. Neuropsychopharmacology. Febrero 2012. Vol. 37, páginas 641-650, todo el documento.	1-10,14-17
A	RUSSO P et al. Impact of Genetic Variability in Nicotinic Acetylcholine Receptors on Nicotine Addiction and Smoking Cessation Treatment. Current Medicinal Chemistry. 2011. Vol. 18, páginas 81-112, resumen.	1-10,14-17
A	US 20100003681 A1 (AZUMA et al.) 07.01.2010, página 2, párrafo 0035 – página 4, párrafo 0085; reivindicaciones 11-20.	1-17

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
19.09.2013

Examinador
M. D. García Grávalos

Página
1/5

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12Q

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, USPTO PATENT DATABASE, PUBMED, GOOGLE PATENTS, GOOGLE SCHOLAR, EBI.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 19.09.2013

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-17	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-17	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 20090176878 A1	09.07.2009
D02	KING DP et al. <i>Neuropsychopharmacology</i> . Feb-2012. Vol. 37, páginas 641-650.	Feb-2012
D03	RUSSO P et al. <i>Current Medicinal Chemistry</i> . 2011. Vol. 18, páginas 81-112.	2011
D04	US 20100003681 A1	07.01.2010

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente invención divulga unos métodos para predecir el éxito en el cese de consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, mediante la determinación de al menos un alelo del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) *rs678188*, o cualquiera de los que se encuentren en desequilibrio de ligamiento con él, pudiéndose determinar adicionalmente un alelo de uno o más de los siguientes SNPs: *rs9658498*, *rs4821566*, *rs10891510*, *rs11932367* y *rs2023239*. En dichos métodos, la presencia de al menos un alelo C del SNP *rs678188* indica una alta probabilidad de que el sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta positiva a la terapia; alternativamente, la presencia de al menos un alelo T de dicho SNP indica una baja probabilidad de que el sujeto abandone el consumo de tabaco en respuesta a la terapia con fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos, (reivindicaciones 1-10, 14-17). Se refiere también a un kit para llevar a cabo los métodos de la invención (reivindicaciones 11-13).

El documento D01 divulga métodos de screening para identificar sujetos con riesgo de padecer una adicción o dependencia; así como para evaluar la respuesta que presentan sujetos sometidos a un tratamiento, basado en la administración de un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, mediante la identificación de polimorfismos en genes relacionados con los receptores nicotínicos de la acetilcolina, como el clúster CHRNA5-CHRNA3-CHRNA4 y/o el gen CHRNA4 (ver página 1, párrafos 0005-0008; página 2, Tablas A y B; reivindicaciones 13-20).

El documento D02 divulga un estudio basado en análisis farmacogenéticos realizados con poblaciones de fumadores bajo tratamiento con vareniclina o bupropión, fármacos agonistas de los receptores colinérgicos nicotínicos, que muestra la relación entre la presencia de determinados polimorfismos (SNPs) en genes relacionados con el metabolismo de estos productos y la respuesta al tratamiento (ver todo el documento).

El documento D03 divulga un estudio sobre la relación entre adicción y dependencia a nicotina y la detección de determinados polimorfismos (SNPs) en la región genética que codifica para los receptores nicotínicos de la acetilcolina (nAChR). Se refiere también al uso de terapias personalizadas para abandono del consumo de tabaco, preferentemente con los fármacos vareniclina y bupropion (ver resumen).

El documento D04 divulga métodos de screening para determinar la dependencia a nicotina, así como la utilidad de estos métodos para seguimiento de terapias para abandono del consumo de tabaco, mediante la identificación de polimorfismos en genes relacionados con los receptores nicotínicos de la acetilcolina (ver página 2, párrafo 0035 - página 4, párrafo 0085; reivindicaciones 11-20).

1. NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 6.1 y Art. 8.1 LP 11/1986)

El objeto técnico de la presente invención es un método para predecir el éxito en el cese de consumo de tabaco en respuesta a una terapia basada en un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos, mediante la determinación de al menos un alelo del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) *rs678188*, o cualquiera de los que se encuentren en desequilibrio de ligamiento con él, adicionalmente, se puede determinar un alelo de uno o más de los siguientes SNPs: *rs9658498*, *rs4821566*, *rs10891510*, *rs11932367* y *rs2023239*.

1.1. REIVINDICACIONES 1-17

El documento D01 se considera el más cercano al estado de la técnica ya que anticipa métodos para evaluar la respuesta a un tratamiento con un fármaco agonista de los receptores colinérgicos nicotínicos para abandono del consumo de tabaco, mediante la identificación de polimorfismos genéticos.

La diferencia entre el documento D01 y el objeto técnico de la invención radica en los propios polimorfismos anticipados como marcadores genéticos de la dependencia a nicotina que son diferentes y no están relacionados con los reivindicados en la presente solicitud por lo que se consideran como una alternativa diferente a lo divulgado en el estado de la técnica.

En consecuencia, según lo divulgado en D01 las reivindicaciones 1-17 cumplen con los requisitos de novedad y actividad inventiva (Art. 6.1 y Art. 8.1 LP11/1986).

Aunque los documentos D02 - D04 también anticipan polimorfismos como marcadores genéticos de la dependencia a nicotina, éstos no guardan relación con los reivindicados y se considera que estos documentos se refieren al estado de la técnica y no son relevantes en relación al objeto de la invención.