

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 430 940**

51 Int. Cl.:

G01N 33/48 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

G01N 33/94 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.02.2009 E 09714591 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2013 EP 2255184**

54 Título: **Gen del transportador de serotonina y tratamiento del alcoholismo**

30 Prioridad:

28.02.2008 US 32263 P

06.06.2008 US 59301 P

22.01.2009 US 146440 P

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

22.11.2013

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF VIRGINIA PATENT FOUNDATION
(100.0%)
250 West Main Street, Suite 300
Charlottesville, VA 22902, US**

72 Inventor/es:

JOHNSON, BANKOLE A.

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 430 940 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Gen del transportador de serotonina y tratamiento del alcoholismo

5 Campo de la invención

Esta invención se refiere en general al campo del diagnóstico de la predisposición a padecer enfermedades y trastornos relacionados con adicciones y trastornos de control de los impulsos, particularmente las enfermedades y trastornos relacionados con el consumo de alcohol, así como a la vigilancia y el tratamiento de los mismos.

10

Antecedentes

La vulnerabilidad a la dependencia del alcohol es heredable, en una proporción que varía de 0.52 a 0.64 (Kendler, 2001). A pesar de esta alta heredabilidad, sólo un alelo marcador (genes de aldehído deshidrogenasa metabolizadora del alcohol) ha sido identificado constantemente como asociado con el alcoholismo (Kranzler et al, 2002). De los diversos sistemas de neurotransmisores a través de los cuales el alcohol ejerce sus efectos, se ha demostrado que el sistema serotoninérgico juega un papel importante en la preferencia y el consumo de alcohol (Johnson, 2004). La neurotransmisión serotoninérgica sináptica termina cuando la serotonina (5-HT) es transportada de regreso a las neuronas presinápticas por los transportadores de 5-HT (5-HTT) (Talvenheimo y Rudnick, 1980). Por lo tanto, una parte importante de la capacidad funcional del sistema serotoninérgico es regulada por el 5-HTT. Los episodios de consumo exagerado de alcohol se asocian a numerosas enfermedades psiquiátricas y generales que representan una importante carga para la salud pública (Cargiulo, 2007). Varios estudios han informado de una relación dosis-respuesta entre el grado de consumo exagerado de alcohol y el riesgo de morbilidad relacionada con el alcohol entre los bebedores empedernidos (Makela y Mustonen, 2007; Gastfriend et al., 2007). En consecuencia, la reducción del consumo exagerado de alcohol se utiliza como un indicador de la respuesta al tratamiento en ensayos clínicos para tratar la dependencia del alcohol.

15

De los diversos sistemas de neurotransmisores a través de los cuales el alcohol ejerce sus efectos, se ha demostrado que el sistema serotoninérgico juega un papel importante en la preferencia y el consumo de alcohol (Johnson, 2004). La neurotransmisión serotoninérgica sináptica termina cuando la serotonina (5-HT) es transportada de regreso a las neuronas presinápticas por los transportadores de 5-HT (5-HTT) (Talvenheimo y Rudnick, 1980) y el grado de recaptación de la 5-HT depende de la densidad de los 5-HTT en la superficie presináptica. Se ha demostrado que los inhibidores selectivos de la recaptación de 5-HT que actúan directamente sobre los 5-HTT reducen el consumo de alcohol en ratas (Gill y Amit, 1989). Sin embargo, en los seres humanos los ISRS han sido eficaces para reducir el consumo exagerado de alcohol sólo entre algunos subtipos de alcohólicos, más específicamente en los alcohólicos tipo A, pero no en los alcohólicos tipo B (Dundon et al., 2004; Pettinati et al., 2000) que se considera que están biológicamente más predispuestos a tomarse dependientes del alcohol. Por consiguiente, es razonable proponer que se puede esperar que variantes alélicas que alteran los niveles de expresión del gen SLC6A4 tengan un efecto importante sobre la intensidad de consumo de alcohol.

30

El 5-HTT humano es codificado por un solo gen (SLC6A4) asignado en el cromosoma 17q11.1-q12 (Ramamoorthy et al., 1993). El gen SLC6A4 abarca ~35 kb y tiene 14 exones. La proteína codificada por dicho gen, la 5-HTT, es una proteína transmembrana que contiene 630 aminoácidos (Heils et al., 1996). El nivel de expresión de SLC6A4 es regulado por al menos tres mecanismos: elementos reguladores de la transcripción en el promotor (Ramamoorthy et al., 1993), empalme diferencial (Bradley y Blakely, 1997) y el uso de diferentes sitios de poliadenilación 3' (Battersby et al., 1999). Además, se ha demostrado que otros varios polimorfismos que cambian la secuencia de aminoácidos (Thr4Ala, Gly56Ala, Glu215Lys, Lys605Asn y Pro612Ser) de 5-HTT afectan la función de captación de 5-HT en cultivos celulares (Prasad et al., 2003).

35

Aunque los polimorfismos largo (L) y corto (S) en la región polimórfica unida a 5-HTT (5-HTTLPR) de SLC6A4 han sido extensamente estudiados en la bibliografía, los resultados no son concluyentes. Por ejemplo, en un metanálisis de 17 estudios, Feinn et al (2005) demostraron que el alelo S estaba significativamente asociado a la dependencia del alcohol en sujetos con anomalías serotoninérgicas concurrentes, mientras que varios otros estudios informaron de una asociación de la dependencia del alcohol con el alelo L (Kweon et al., 2005, Hu et al., 2005). Por otra parte, numerosos estudios, entre otros el informe de nuestro grupo, revelan una asociación diferencial entre el problema de consumo crónico y la densidad y función de los transportadores de serotonina en sujetos alcohólicos con variantes L y S de SLC6A4 (Little et al., 1998, Javors et al., 2005, Johnson et al., 2008). Ubicada en la región de control transcripcional del gen, 5-HTTLPR contiene 16 repeticiones en tándem de una secuencia de 20 a 23 bp rica en (G + C) entre bp-1376 y bp-1027. Se encontraron dos formas comunes de esta región de control transcripcional: un alelo largo (L) de 528 bp con 16 repeticiones y un alelo corto (S) de 484 bp con una delección de 44 bp que se extiende de bp-1255 a bp-1212.

40

45

La función de la serotonina (5-HT) ha sido implicada en la regulación del humor, la impulsividad y el consumo de alcohol que incluye la variación en la edad de inicio del consumo y la aparición de trastornos por consumo de

alcohol. Se cree que el sistema de la 5-HT, que se origina en los núcleos del rafe y se proyecta a la corteza, el hipocampo y las regiones subcorticales del cerebro, influye directamente en la conducta respecto a la bebida en individuos con trastornos por consumo de alcohol mediante la modulación de los efectos de refuerzo del alcohol y/o indirectamente mediante procesos que regulan la impulsividad y el afecto. Los resultados de los estudios en animales demostraron que la potenciación farmacológica de la actividad de la 5-HT inhibe la ingesta de alcohol. Estudios en humanos demostraron que el bajo recambio de 5-HT se asocia a impulsividad, así como a comportamiento de búsqueda de alcohol y al alcoholismo. Se informó de un menor recambio central de 5-HT (por ejemplo, ácido 5-hidroxi indol acético en el líquido cefalorraquídeo) en adultos con inicio temprano de la dependencia del alcohol (EOA) en comparación con adultos de inicio tardío de la dependencia del alcohol (LOA) y el menor recambio de 5-HT central ocurre en adultos EOA cuando ambos padres tienen dependencia del alcohol. Juntos, estos resultados respaldan la hipótesis de que la función y la disponibilidad de la 5-HT regulan los comportamientos relacionados con el consumo y los antecedentes de consumo.

Se ha promulgado la frustración científica por la incapacidad para demostrar la eficacia clínica de los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina (ISRS) en el tratamiento del alcoholismo. Estudios en animales muestran contundentemente que los ISRS reducen el consumo de alcohol en diversos modelos y entre especies (por una revisión véase Johnson y Ait-Daoud 2000). Los ISRS aumentan la función serotoninérgica central y, por inhibición tónica, disminuyen la liberación de dopamina (DA) mesocorticolímbica. La activación de la DA actúa de mediadora de los efectos gratificantes del alcohol; por lo tanto, su disminución se debe asociar a disminución de la propensión al abuso. Por otra parte, en los seres humanos, hay evidencia sólida de que individuos con la mayor predisposición biológica al alcoholismo, habitualmente por tener un inicio temprano de la enfermedad, antecedentes familiares o ambos, tienen reducida la función serotoninérgica (Buydens-Branchey et al. 1989; Fils-Aime et al 1996; LeMarquand et al 1994a; LeMarquand et al 1994b; Swann et al 1999). Por lo tanto, era tentador predecir que los alcohólicos se beneficiarían del tratamiento con los ISRS, y que aquellos con antecedentes de inicio temprano y/o antecedentes familiares serían los más beneficiados porque los ISRS presumiblemente mejorarían el desequilibrio existente en la función serotoninérgica.

A pesar de los alentadores resultados de estudios anteriores, ensayos clínicos más modernos, más rigurosos y bien controlados, han fracasado en general en encontrar un efecto terapéutico para los ISRS en el tratamiento del alcoholismo (Gorelick y Paredes 1992; Kranzler et al 1996).

En los seres humanos, el control funcional del sistema serotoninérgico también parece ser regulado por diferencias genéticas en la expresión de SERT (Meltzer y Arora 1988). El SERT posee el único polimorfismo funcional conocido que regula el sistema de la serotonina (Heils et al 1997; Heils et al. 1996; Lesch et al 1997). Básicamente, el polimorfismo de la región promotora reguladora 5' (5'-HTTLPR) de SERT en el cromosoma 17p12 consiste en dos tipos (Heils et al 1997; Heils et al. 1996; Síndrome de Lesch et al 1997). La variante larga (LL), en comparación con la corta (SS) o la forma heterocigótica (SL), está asociada a la captación tres veces mayor de 5-HT en las plaquetas (Greenberg et al., 1999) y en los linfoblastos (Lesch et al., 1996). Por lo tanto, se puede esperar que los individuos con la variante LL de 5'-HTTLPR tengan mayor cantidad y función de SERT y menores niveles de 5-HT intrasináptica.

Evidencia científica reciente apoyaría la hipótesis del predominio de la variante LL de 5'-HTTLPR entre los EOA (Ishiguro et al 1999; Schuckit et al., 1999). Turker et al (1998) sugirieron que la alta tolerancia al etanol puede estar asociada a la forma SS/SL de 5'-HTTLPR, pero sus criterios más bien informales y el uso de controles de un banco de sangre con antecedentes de consumo de alcohol inciertos pueden hacer que sus conclusiones sean difíciles de justificar. Además, un estudio por Sander et al., (1998) no encontró una relación significativa ($p = 0.09$) entre el genotipo SS/SL y los alcohólicos con trastorno de personalidad antisocial. Finalmente, existen datos contradictorios sobre la relación entre la forma SS/SL de 5'-HTTLPR y el alcoholismo en general (Edenberg et al. 1998; Hammoumi et al., 1999; Jorm et al., 1998; Sander et al. 1997); sin embargo, estos estudios no contienen información de subtipificación. Por otra parte, es difícil comparar estos estudios de genotipificación epidemiológicos debido a los diferentes criterios diagnósticos entre los estudios y las diferentes frecuencias de población entre los grupos étnicos para las formas alélicas. Tal vez lo más importante, es que ninguno de estos estudios ha tomado en cuenta que puede ser la interacción entre esos subtipos y el consumo de alcohol lo que es crucial. Es decir, aunque esas formas alélicas de los SERT pueden no determinar la vulnerabilidad al alcoholismo per se, la interacción entre las formas alélicas y el consumo de alcohol puede determinar la respuesta al tratamiento, particularmente a un agente serotoninérgico selectivo.

Se ha informado de una menor neurotransmisión de 5-HT en aquellas personas con mayor propensión a consumir alcohol y en alcohólicos que manifiestan comportamientos antisociales (es decir, EOA) (LeMarquand et al 1994a; LeMarquand et al 1994b). Estos resultados son compatibles con: 1) la demostración de mayor captación de 5-HT en las neuronas serotoninérgicas presinápticas en el cerebro, en los linfocitos y en las plaquetas de los alcohólicos y sus descendientes (Boismare et al 1987; Ernouf et al. 1993; Faraj et al 1997) y 2) los estudios SPECT en primates no humanos que habían sido sometidos a estrés ambiental temprano, que demuestran que la mayor unión de los transportadores de serotonina se asocia a una mayor agresividad y una menor sensibilidad a la intoxicación con

etanol (Heinz et al., 1998). Por lo tanto, sería tentador especular que este estado hiposerotoninérgico podría tornar a los individuos más vulnerables a la experimentación con alcohol tempranamente en la vida.

Aunque el consumo agudo de alcohol puede producir inicialmente un alivio temporal al aumentar los niveles de 5-HT cerebral, el efecto residual es reducir la función de la serotonina, estableciendo así un círculo vicioso (por una revisión véase LeMarquand et al., (LeMarquand et al 1994a; LeMarquand et al 1994b)). El consumo crónico de alcohol en exceso no se traduce en aumentos sostenidos en la neurotransmisión de 5-HT (Branchey et al 1981; Ledig et al, 1982; Pohorecky et al 1978). La menor densidad de SERT en los núcleos del rafe se asocia a un inicio temprano del alcoholismo en delincuentes violentos (Tiihonen et al., 1997) y a la combinación de tener la variante LL de 5'-HTTLPR y consumo crónico, tanto en cerebros post mortem (Little et al., 1998) como en individuos con vida (Heinz et al., 2000). El estudio de Heinz y colegas (Heinz et al., 2000) mostró que los individuos con la forma LL de 5'-HTTLPR son más vulnerables a las reducciones crónicas inducidas por el alcohol en la densidad de SERT, pero su estudio requiere validación en un estudio prospectivo impulsado adecuadamente que contenga un número igual de individuos con las variantes LL y SS/SL de 5'-HTTLPR. Esto permitiría confirmar la expresión fenotípica diferencial de estas formas alélicas. Aunque pueda, en principio, parecer paradójico (es decir, para aquellos con la variante LL de 5'-HTTLPR tener disminuida tanto la densidad de SERT como la función serotoninérgica), es notable que los SERT en el rafe están asociados a la regulación de las tasas de intercambio celular.

Mannelli et al., 2005, dan a conocer que los individuos con el alelo S de 5'-HTTLPR mostraron mayor gravedad en el consumo de alcohol en el ingreso, y que el genotipo SS mostró menos mejoría en las mediciones de alcohol que los LL en el seguimiento.

Liu et al, 2005 estudiaron la asociación del consumo habitual de cigarras o alcohol con polimorfismos en 40 genes candidatos y dieron a conocer que el polimorfismo de rs102173 no está asociado al abuso de alcohol en una población japonesa.

Existe en el área, desde hace mucho tiempo, la necesidad de composiciones y métodos útiles para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los trastornos relacionados con el alcohol y la predisposición a padecer trastornos relacionados con el alcohol. La presente invención satisface esas necesidades.

Resumen de la invención

La presente invención da a conocer varios métodos y ensayos útiles para determinar si un sujeto tiene predisposición al alcoholismo, para determinar si un sujeto será sensible a determinados tratamientos, y composiciones y métodos útiles para tratar a un sujeto que necesita tratamiento. Por ejemplo, la presente invención abarca composiciones y métodos, y sus combinaciones, útiles para predecir los sujetos propensos a una mayor intensidad de consumo de alcohol, y útiles para predecir tratamientos útiles.

La presente invención abarca composiciones y métodos útiles para tratar sujetos que abusan del alcohol basándose en la identificación de marcadores genéticos indicativos de que un sujeto está predispuesto al consumo severo de alcohol o es más susceptible al alcoholismo y al consumo problemático. Los ensayos se enfocan en el sistema de la serotonina, particularmente el gen del transportador de serotonina SLC6A4, su expresión y diferentes polimorfismos de ese gen. En un aspecto, el marcador se basa en la medición de los polimorfismos nucleotídicos. En un aspecto, el polimorfismo es un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP). La invención prevé además el uso de combinaciones de los ensayos para ayudar a predecir aun más una predisposición al alcoholismo y para ayudar a predecir los tratamientos basándose en los resultados de los ensayos. En un aspecto, se administra al sujeto al menos un fármaco que regula parte del sistema de la serotonina. En otro aspecto, se puede utilizar una terapia de combinación mediante la administración de fármacos adicionales.

Se encontró aquí que los sujetos que tienen el alelo G del polimorfismo SNP rs1042173 del gen del transportador de serotonina SLC6A4 se asocian a una intensidad significativamente menor de consumo de alcohol en comparación con sujetos homocigóticos para el alelo T. Esto fue cierto para blancos pero no hispanos. Además, la presente solicitud da a conocer que las células transfectadas con el alelo G del polimorfismo SNP rs1042173 del gen del transportador de serotonina SLC6A4 tuvieron niveles significativamente más altos tanto del ARNm como de la proteína transportador de serotonina en comparación con las células transfectadas con el alelo T. Incluso entre los dependientes del alcohol portadores del alelo G para rs1042173, hubo menor intensidad de consumo de alcohol en comparación con sujetos dependientes del alcohol que eran homocigóticos para el alelo T. La presente solicitud da a conocer además que los sujetos dependientes del alcohol con el genotipo TT responden mejor al tratamiento con ondansetrón que sujetos similares con el genotipo GG/TG. Por lo tanto, la presente invención proporciona composiciones y métodos útiles para predecir una predisposición al alcoholismo y la gravedad de ese trastorno, así como composiciones y métodos útiles para predecir tratamientos y regímenes de tratamiento adecuados para esos sujetos. La presente invención estipula que para los homocigóticos para T, el tratamiento se puede personalizar para aumentar la expresión del gen SLC6A4 o su proteína, o sus niveles o actividad, y que los tratamientos incluyen además composiciones y métodos útiles para disminuir los niveles o la actividad de la serotonina.

La presente solicitud da a conocer que los jóvenes con el genotipo LL del polimorfismo funcional para la región promotora reguladora 5' del gen SERT (5-HTTLPR) tuvieron niveles más altos de SERT, medidos mediante unión de ³H-paroxetina y tuvieron una edad significativamente menor de inicio del consumo de alcohol. La presente invención abarca por lo tanto un método para predecir sujetos con una predisposición al inicio temprano de consumo de alcohol así como métodos para tratar a esos sujetos, que incluyen tratamientos para reducir la expresión de SERT y su actividad.

La presente solicitud da a conocer además que la "interacción" entre el tratamiento (con ondansetrón) y el genotipo (LS vs LS/SS) es muy importante y que hay un efecto significativo de la edad de inicio del consumo. La solicitud da a conocer una unión de paroxetina significativamente mayor (densidad de SERT) en el genotipo LL vs portadores de S (genotipos SS o SL). La presente solicitud da a conocer además que el grupo de LL tuvo una edad significativamente menor de inicio del consumo y más tiempo de consumo. Estos datos prometedores proporcionan la primera evidencia de que alcohólicos con el genotipo LL, en comparación con sus contrapartes con LS/SS, experimentan una disminución significativamente mayor en la gravedad del consumo después del tratamiento con ondansetrón.

En una realización, la presente invención prevé el tratamiento de alcohólicos con al menos un . En un aspecto, el sujeto tiene el genotipo LL. En un aspecto, el al menos un fármaco es ondansetrón. En un aspecto, el tratamiento reduce las DDD. La presente invención abarca además el uso de múltiples fármacos y combinaciones de fármacos para el tratamiento de los sujetos descritos en este documento.

Además, la presente invención prevé el uso de combinaciones de ensayos para predecir o diagnosticar mejor una propensión al alcoholismo así como métodos para predecir un tratamiento personalizado basado en el uso de uno o más ensayos predictivos. Basándose en los resultados de uno o más de los ensayos en un sujeto, se pueden diseñar tratamientos específicos para ese sujeto.

La presente invención abarca un método que combina fármacos para el tratamiento o la prevención de la dependencia del alcohol. Dado que los efectos de refuerzo de la mayoría de las drogas de abuso también son mediados por las neuronas CMDA, la presente invención estipula una terapia de combinación con fármacos como topiramato, ondansetrón y naltrexona como tratamientos eficaces para el alcoholismo. Basándose en los descubrimientos inesperados descritos en este documento, un técnico con experiencia podrá apreciar ahora que los compuestos de la invención útiles para farmacoterapia de combinación pueden en algunos casos ser utilizados solos en vez de como parte de una combinación. Además, basándose en la presente solicitud, un técnico con experiencia también apreciará que los compuestos de la invención útiles para farmacoterapia de combinación pueden en algunos casos ser utilizados en cualquier combinación.

En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para tratar o prevenir el alcoholismo, que comprenden administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos dos agentes o compuestos para tratar el alcoholismo y opcionalmente otros agentes terapéuticos. Preferentemente, se utilizan al menos tres agentes o compuestos contra el alcoholismo en la terapia de combinación. La presente invención abarca además el uso complementario de técnicas de gestión psicosocial. En un aspecto, la farmacoterapia de combinación es más eficaz sola que cuando se combina con técnicas de gestión psicosocial. En otro aspecto, la farmacoterapia de combinación combinada con técnicas de gestión psicosocial es más eficaz que la farmacoterapia de combinación sola. En un aspecto, la presente invención proporciona métodos para tratar o prevenir el alcoholismo en un sujeto que comprenden administrar una cantidad eficaz de al menos dos compuestos, o preferentemente al menos tres compuestos, o sus análogos, homólogos, derivados, modificaciones y sales farmacéuticamente aceptables, seleccionados del grupo que consiste en serotoninérgicos, antagonistas de serotonina, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, antagonistas del receptor de serotonina, antagonistas de los opioides, dopaminérgicos, inhibidores de la liberación de dopamina, antagonistas de la dopamina, antagonistas de la norepinefrina, agonistas de GABA, inhibidores de GABA, antagonistas del receptor de GABA, bloqueadores de los canales de GABA, agonistas de glutamato, antagonistas de glutamato, agonistas de glutamina, antagonistas de glutamina, anticonvulsivantes, bloqueadores de NMDA, antagonistas de los canales de calcio, inhibidores de la anhidrasa carbónica, neuroquininas, moléculas pequeñas, péptidos, vitaminas, cofactores, agentes anti-orexina, reguladores del receptor de cannabinoides tipo 1 y antagonistas del factor de liberación de corticosteroides. En un aspecto, la neuroquinina es NPY. La presente invención abarca además otras moléculas pequeñas y péptidos.

En un aspecto, el alcoholismo es alcoholismo de inicio temprano En otro aspecto, el alcoholismo es alcoholismo de inicio tardío.

En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para reducir la frecuencia de consumo de alcohol en comparación con la frecuencia de consumo de alcohol antes del tratamiento. Un técnico con experiencia podrá apreciar que la frecuencia se puede comparar con el consumo previo del sujeto o con el consumo

de un sujeto de control que no recibe el tratamiento. En un aspecto, el tipo de consumo de alcohol es un consumo exagerado. En otro aspecto, es consumo excesivo.

5 En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para reducir la cantidad de alcohol que consume un sujeto en comparación con la cantidad de alcohol consumido antes del tratamiento o en comparación con el consumo de alcohol de un sujeto de control que no recibe el tratamiento.

10 Un técnico con experiencia comprenderá que en algunos casos un sujeto que está siendo tratado por un trastorno de adicción no es necesariamente dependiente. Dichos sujetos incluyen, por ejemplo, sujetos que abusan del alcohol, consumen exageradamente alcohol, beben en exceso, son bebedores problemáticos. La presente invención proporciona composiciones y métodos para tratar o prevenir esos comportamientos en sujetos no dependientes.

15 En una realización de la invención, la presente invención proporciona composiciones y métodos para mejorar las secuelas físicas o psicológicas asociadas al consumo de alcohol en comparación con un sujeto de control que no recibe el tratamiento.

En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para aumentar la tasa de abstinencia de un sujeto en comparación con un sujeto de control que no recibe el tratamiento.

20 En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para reducir el nivel promedio de consumo de alcohol en un sujeto en comparación con el nivel de consumo de alcohol antes del tratamiento o en comparación con el nivel de consumo de alcohol de un sujeto de control que no recibe el tratamiento.

25 En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para reducir el consumo de alcohol y para aumentar la abstinencia en comparación con el consumo de alcohol del sujeto antes del tratamiento o con un sujeto de control que no recibe el tratamiento.

30 En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para tratar a un sujeto con predisposición al alcoholismo de inicio temprano.

En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para tratar a un sujeto con predisposición al alcoholismo de inicio tardío.

35 Un técnico con experiencia comprenderá que existen varios parámetros o características del consumo de alcohol que pueden caracterizar a un sujeto aquejado de una enfermedad o trastorno relacionado con el alcohol. También se comprenderá que las terapias de combinación pueden ser eficaces para tratar más de un parámetro y que hay varias maneras de analizar la eficacia del tratamiento. Los parámetros analizados al medir el consumo de alcohol o la frecuencia de consumo de alcohol incluyen, pero no se limitan a, días de consumo exagerado, número de días de consumo exagerado, promedio de días de consumo, número de bebidas por día, días de abstinencia, número de individuos que no beben mucho o se abstienen durante un periodo determinado, y deseo. Se pueden usar tanto medidas subjetivas como objetivas para analizar la eficacia del tratamiento. Por ejemplo, un sujeto puede autoinformar según las pautas y procedimientos establecidos para tales informes. Los procedimientos se pueden realizar en diversos momentos antes, durante y después del tratamiento. Además se dispone de ensayos para medir el consumo de alcohol. Estos ensayos incluyen lecturas del alcoholímetro, medir los niveles séricos de CDT y GGT, y medir los niveles de 5-HTOL en la orina.

50 La presente divulgación proporciona además terapias complementarias para utilizar conjuntamente con las farmacoterapias de combinación. La presente invención proporciona además terapia o tratamiento complementarios donde el sujeto también es sometido a un programa de gestión psicosocial. Los programas de gestión psicosocial son conocidos en el área e incluyen, pero no exclusivamente, tratamiento de mejora del cumplimiento conductual breve, terapia cognitivo-conductual con entrenamiento en habilidades, terapia de reforzamiento motivacional, terapia de facilitación de doce pasos (alcohólicos anónimos), intervención conductual combinada, manejo médico, psicoanálisis, tratamiento psicodinámico y evaluación biopsicosocial, informe, empatía, necesidades, asesoramiento directo y evaluación. La presente invención abarca además el uso de terapias complementarias adicionales y tratamiento, incluidas hipnosis y acupuntura.

60 La presente divulgación prevé además que se proporcione asesoramiento a los sujetos junto con la farmacoterapia de combinación. El asesoramiento constituye un conjunto de instrucciones relativas a las posibles consecuencias de beber alcohol en exceso, un calendario u otro método para controlar el consumo e instrucciones o sugerencias acerca de cómo reducir el consumo o dejar de beber. Cualquiera de esas estrategias sola o en cualquier combinación, sin importar cuán breve o prolongada, puede constituir asesoramiento. El asesoramiento puede ser proporcionado en un formato escrito, electrónico o interpersonal. En una realización, la farmacoterapia de combinación es más eficaz para tratar o prevenir que sólo administrar un placebo y proporcionar asesoramiento, que no administrar fármacos y proporcionar asesoramiento, o que no administrar fármacos ni proporcionar

asesoramiento. En un aspecto, la farmacoterapia de combinación es más eficaz en para tratar o prevenir que la farmacoterapia utilizada en combinación con un programa de gestión psicosocial.

5 En una realización, al menos uno de los compuestos que se está administrando se administra al menos una vez al día. En un aspecto, se administra al menos dos veces al día. En otra realización, se administra al menos una vez a la semana. Aún en otra realización, se administra al menos una vez al mes.

10 En una realización, al menos uno de los compuestos es un antagonista del receptor de serotonina. En un aspecto, el receptor de serotonina es el receptor de serotonina 3. En un aspecto, el compuesto es ondansetrón.

Diversos aspectos y realizaciones de la invención se describen más detalladamente a continuación.

Breve descripción de las figuras

15 Figura 1. Gráficos de LD generados por Haploview de los cinco SNP examinados en este estudio y los alelos de 5-HTTLPR del gen SLC6A4. La muestra combinada consiste en sujetos de origen caucásico e hispano. El número de cada casilla representa valores D' para cada par de SNP.

20 Figura 2. Cantidades de consumo en 165 varones y mujeres alcohólicos caucásicos. (A) cantidades de consumo como una función de los genotipos TT, TG y GG de rs1042173 (N de sujetos en cada grupo es: 47 TT, 77 TG y 41 GG). El promedio de bebidas por día de consumo (\pm SEM) para los sujetos con TT, TG y GG fue de 11.17 ± 0.98 vs 8.05 ± 0.47 y 9.58 ± 0.67 , respectivamente ($F = 5.63$; $p = 0.004$). (B) La varianza de las bebidas por día de consumo como función de los TT y portadores de G (N de sujetos en cada genotipo es: 47 TT y 118 portadores de G). El promedio de bebidas por día de consumo (\pm SEM) para los homocigotos T y los portadores de G fue de 11.17 ± 0.98 vs 8.58 ± 0.39 , respectivamente ($t = 2.97$; $p = 0.003$).

25 Figura 3. (A) niveles de expresión de ARNm del transportador de serotonina (5-HTT) en cultivos de células HeLa cuantificados por análisis de PCR cuantitativa en tiempo real. Los datos mostrados aquí son la media \pm SEM de cuatro repeticiones del ARNm de 5-HTT expresado por los alelos T y G en tres experimentos independientes (Exp.) realizados en diferentes momentos. GAPDH = gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. (B) Diferencias promedio en las densidades ópticas de las bandas observadas en inmunotransferencias para la expresión de la proteína transportador de serotonina (5-HTT) en cultivos de células HeLa para la expresión específica del alelo T y G en tres cultivos celulares (G: $1.23 + 0.07$; T: $0.28 + 0.05$; N = 4).

30 Figura 4. Es una representación gráfica de la unión de paroxetina en las plaquetas ($B_{m\acute{a}x}$) para los genotipos LL y portadores de S (genotipo de 5-HTTLPR). La ordenada indica la unión en las plaquetas ($B_{m\acute{a}x}$), y la abscisa el genotipo.

35 Descripción detallada

Abreviaturas, nombres genéricos y acrónimos

40 5-HT - serotonina
 5-HT₃ - un subtipo de receptor de serotonina, el receptor de serotonina 3
 5-HTOL - 5-hidroxitriptofol
 5-HTT- transportador de serotonina (también denominado SERT, 5HTT, HTT y OCD1)
 5-HTTLPR- región polimórfica unida al transportador de serotonina
 45 ADE - efecto de privación de alcohol
 ADI - entrevista diagnóstica para adolescentes
 ASPD- trastorno de personalidad antisocial
 AUD - trastorno por consumo de alcohol
 BBCET - tratamiento de mejora del cumplimiento conductual breve
 50 BED- trastorno por atracón
 b.i.d.- dos veces al día
 B_{máx}- máxima densidad de unión específica de paroxetina
 BRENDA- evaluación biopsicosocial, informe, empatía, necesidades, asesoramiento directo y evaluación
 CBI- intervención conductual combinada
 55 CBT - terapia cognitiva-conductual con entrenamiento de habilidades, también conocida como terapia cognitiva-conductual
 CDT- transferrina deficiente en carbohidratos
 ChIPS- entrevista a niños por síndrome psiquiátrico
 CMDA - dopamina corticomesolímbica
 60 DA - dopamina
 DDD - bebidas/por día de consumo
 DSM- manual diagnóstico y estadístico de trastornos mentales
 EOA - alcohólico(s) de inicio temprano
 G2651T - un sitio en una señal de poliadenilación putativa para un sitio de poliadenilación 3' utilizado

- comúnmente del gen SLC6A4; también tiene número de identificación de referencia rs1042173 en el sitio web de GenBank del Centro Nacional de Información Biotecnológica
- GABA - ácido γ -amino-butírico (también conocido como ácido γ -amino butírico y ácido γ -aminobutírico)
- GGT - γ -glutamil transferasa
- 5 ICD- trastorno de control de impulsos
- IP- intraperitoneal
- K_d - constante de afinidad
- K_m - constante de equilibrio
- L- largo
- 10 LOA- alcohólico(s) de inicio tardío
- MET - terapia de reforzamiento motivacional
- ARNmi - micro ARN
- MM - manejo médico
- NAC - núcleo accumbens
- 15 Naltrexona - un antagonista de los receptores opioides μ
- ARNnc - ARN no codificante
- NMDA - N-metil-D-aspartato
- NOS - no especificado en otra parte
- Ondansetrón (Zofran®) - un antagonista del receptor de serotonina
- 20 P - ratas que prefieren el alcohol
- S - corto
- SERT - transportador de serotonina (también conocido como 5-HTT)
- SLC6A4 - gen del transportador de 5-HT humano.
- SNP - polimorfismo de un solo nucleótido
- 25 ISRS - inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina
- Topiramato (Topamax ®) - un anticonvulsivante
- TSF - terapia de facilitación de 12 pasos (p. ej., alcohólicos anónimos)
- $V_{m\acute{a}x}$ - máxima velocidad de captación de serotonina
- VTA - área tegmental ventral

30 Definiciones

Al describir y reivindicar la invención, se utilizará la terminología siguiente de conformidad con las definiciones que se establecen a continuación. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en este documento tienen el mismo significado que le da comúnmente un experto en el área a la que pertenece esta invención. Aunque se pueden usar todos los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en este documento en la práctica o prueba de la presente invención, los métodos y los materiales preferidos se describen en este documento. Según se usan en este documento, cada uno de los términos siguientes tiene el significado asociado en esta sección. Los valores específicos y preferidos mencionados a continuación para los radicales, sustituyentes y rangos son sólo con fines ilustrativos; no excluyen otros valores definidos ni otros valores dentro de los rangos definidos para los radicales y sustituyentes.

Según se usan en este documento, los artículos "un" y "una" se refieren a uno(a) o a más de uno(a), es decir, a por lo menos uno del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

El término "alrededor" según se usa en este documento, significa aproximadamente, en la región de, casi, o más o menos. Cuando el término "alrededor" se usa junto con un rango numérico, modifica ese rango extendiendo los límites en más y en menos de los valores numéricos indicados. En general, el término "alrededor" se usa en este documento para modificar un valor numérico en más y en menos del valor establecido en un 20%.

Los "trastornos adictivos" incluyen, pero no exclusivamente, trastornos alimentarios, trastornos relacionados con obesidad, trastornos de control de impulsos, trastornos relacionados con alcohol, trastornos relacionados con nicotina, trastornos relacionados con anfetaminas, trastornos relacionados con metanfetamina, trastornos relacionados con cannabis, trastornos relacionados con cocaína, ludopatía, trastornos sexuales, trastornos de consumo de alucinógenos, trastornos relacionados con inhalantes, trastornos relacionados con abuso o dependencia de benzodiazepinas y trastornos relacionados con opioides.

Un técnico con experiencia en el área comprenderá que los trastornos adictivos como los relacionados con el alcohol o las drogas, significan que el sujeto no es dependiente a menos que se defina específicamente como tal.

La expresión "compuesto terapéuticamente activo adicional", en el contexto de la presente invención se refiere al uso o la administración de un compuesto para un uso terapéutico adicional que no sea sólo el trastorno particular en tratamiento. Dicho compuesto, por ejemplo, podría incluir uno que se use para tratar una enfermedad o un trastorno

sin relación, o una enfermedad o un trastorno que puede no ser sensible al tratamiento primario de la enfermedad o el trastorno adictivo en tratamiento. La enfermedad y los trastornos que van a ser tratados por el principio terapéuticamente activo incluyen, por ejemplo, hipertensión y diabetes.

5 Según se usa en este documento, el término "aerosol" se refiere a la suspensión en el aire. En particular, aerosol se refiere a la particulización o la atomización de una formulación de la invención y a su suspensión en el aire.

10 Según se usa en este documento, la expresión "célula afectada" se refiere a una célula de un sujeto aquejado de una enfermedad o un trastorno, cuya célula afectada tiene un fenotipo alterado en comparación con un sujeto no aquejado de una enfermedad, una afección o un trastorno.

15 Las células de los tejidos son "afectadas" por una enfermedad o un trastorno si las células o el tejido tienen un fenotipo alterado respecto de las mismas células o el mismo tejido en un sujeto no aquejado de una enfermedad, una afección o un trastorno.

Según se usa en este documento, un "agonista" es una composición de materia que, cuando se administra a un mamífero como un ser humano, aumenta o extiende una actividad biológica de interés. Dicho efecto puede ser directo o indirecto.

20 La expresión "que abusa del alcohol", según se usa en este documento, se refiere a un sujeto que cumple los criterios del DSM IV para el abuso de alcohol (es decir, "consumo repetido a pesar de las consecuencias adversas recurrentes") pero no es dependiente del alcohol.

25 "Trastornos relacionados con el alcohol" según se utiliza en este documento se refiere a enfermedades y trastornos relacionados con el consumo de alcohol e incluyen, pero no exclusivamente, trastorno psicótico inducido por el alcohol, con delirios; abuso de alcohol; consumo excesivo de alcohol; consumo exagerado de alcohol; problemas de bebida; intoxicación con alcohol; síndrome de abstinencia alcohólica; delirio por intoxicación con alcohol; delirio por abstinencia de alcohol; demencia persistente inducida por alcohol; trastorno amnésico persistente inducido por alcohol; dependencia del alcohol; trastorno psicótico inducido por el alcohol, con alucinaciones; trastorno del humor inducido por el alcohol; trastorno bipolar asociado al, o inducido por el, alcohol; trastorno de estrés postraumático asociado al, o inducido por el, alcohol; trastorno de ansiedad inducido por el alcohol; disfunción sexual inducida por el alcohol; trastorno del sueño inducido por el alcohol; y trastorno relacionado con el alcohol no especificado (NOS).

35 Según se usa en este documento, "aminoácidos" están representados por sus nombres completos, el código de tres letras correspondiente, o por el código de una letra correspondiente, como se indica en la tabla siguiente:

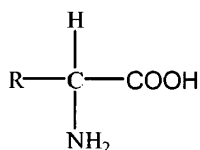
Nombre completo	Código de tres letras	Código de una letra
Ácido aspártico	Asp	D
Ácido glutámico	Glu	E
Lisina	Lys	K
Arginina	Arg	R
Histidina	His	H
Tirosina	Tyr	Y
Cisteína	Cys	C
Asparagina	Asn	N
Glutamina	Gln	Q
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Glicina	Gly	G
Alanina	Ala	A
Valina	Val	V
Leucina	Leu	L
Isoleucina	Ile	I

Nombre completo	Código de tres letras	Código de una letra
Metionina	Met	M
Prolina	Pro	P
Fenilalanina	Phe	F
Triptofano	Trp	W

La expresión "aminoácido" según se usa en este documento pretende incluir tanto los aminoácidos naturales como los sintéticos y ambos aminoácidos D y L. "Aminoácido estándar" significa cualquiera de los veinte L-aminoácidos estándar comúnmente encontrados en los péptidos naturales. "Residuo de aminoácido no estándar" significa cualquier aminoácido, diferente de los aminoácidos estándar, independientemente de si se prepara sintéticamente o deriva de una fuente natural. Según se usa en este documento, "aminoácido sintético" también abarca aminoácidos químicamente modificados, incluidos, pero no exclusivamente, sales, derivados de aminoácidos (como las amidas) y sustituciones. Los aminoácidos contenidos en los péptidos de la presente invención, y particularmente en el extremo carboxi o amino-terminal, se pueden modificar por metilación, amidación, acetilación o sustitución con otros grupos químicos que puede cambiar la vida media del péptido circulante sin afectar negativamente su actividad. Además, puede haber un enlace disulfuro presente o ausente en los péptidos de la invención.

El término "aminoácido" se utiliza indistintamente con "residuo de aminoácido" y se puede referir a un aminoácido libre y a un residuo de aminoácido de un péptido. Será evidente del contexto en el que se utiliza el término si se refiere a un aminoácido libre o a un residuo de un péptido.

Los aminoácidos tienen la estructura general siguiente:



Los aminoácidos se pueden clasificar en siete grupos basados en la cadena lateral R: (1) cadenas laterales alifáticas; (2) cadenas laterales que contiene un grupo (OH) hidroxílico; (3) cadenas laterales que contienen átomos de azufre; (4) cadenas laterales que contienen un grupo ácido o amida; (5) cadenas laterales que contienen un grupo básico; (6) cadenas laterales que contienen un anillo aromático; y (7) prolina, un iminoácido en el cual la cadena lateral está fusionada al grupo amino.

Según se usa en este documento, la expresión "sustitución de aminoácido conservadora" se define aquí como los intercambios entre uno de los cinco grupos siguientes:

- I. Residuos alifáticos pequeños, no polares o ligeramente polares:
Ala, Ser, Thr, Pro, Gly;
- II. Residuos polares cargados negativamente y sus amidas:
Asp, Asn, Glu, Gln;
- III. Residuos polares, cargados positivamente:
His, Arg, Lys;
- IV. Residuos alifáticos grandes, no polares:
Met Leu, Ile, Val, Cys
- V. Residuos aromáticos grandes:
Phe, Tyr, Trp

La nomenclatura utilizada para describir los compuestos peptídicos de la presente invención sigue la práctica convencional en la que se presenta el grupo amino a la izquierda y el grupo carboxi a la derecha de cada residuo de aminoácido. En las fórmulas que representan las realizaciones específicas seleccionadas de la presente invención, los grupos amino y carboxi-terminales, aunque no se muestran específicamente, se entenderá que están en la forma que asumirían a los valores de pH fisiológico, a menos que se especifique lo contrario.

La expresión aminoácido "básico" o "cargado positivamente", según se usa en este documento, se refiere a los aminoácidos en los que los grupos R tienen una carga neta positiva a pH 7.0 e incluyen, pero no exclusivamente, los aminoácidos estándar lisina, arginina e histidina.

Según se usa en este documento, un "análogo" de un compuesto químico es un compuesto que, a modo de ejemplo, se asemeja a otro en la estructura pero no es necesariamente un isómero (p. ej., 5-fluorouracilo es un

análogo de timina).

5 Un "antagonista" es una composición de materia que cuando se administra a un mamífero como un ser humano, inhibe o impide una actividad biológica atribuible al nivel o la presencia de un compuesto endógeno en el mamífero. Dicho efecto puede ser directo o indirecto.

10 Según se usa en este documento, el término "agente contra el alcoholismo" se refiere a cualquier fármaco activo, formulación o método que manifieste actividad para tratar o prevenir uno o más síntomas de adicción al alcohol, abuso de alcohol, intoxicación alcohólica y/o abstinencia de alcohol, incluidos los fármacos activos, formulaciones y métodos que reducen significativamente, limitan o previenen el consumo de alcohol en sujetos mamíferos.

15 La expresión "inhibición del apetito", según se usa en este documento, es una reducción, una disminución o, en casos de consumo excesivo de alimentos, una mejoría, en el apetito. Esta inhibición del apetito reduce el deseo o ansia de alimentos. La inapetencia puede producir pérdida de peso o control de peso, según se desee.

La expresión "consumo promedio," según se usa en este documento, se refiere al número promedio de bebidas consumidas durante un período de una semana. La expresión "consumo promedio" se utiliza indistintamente en este documento con la expresión "nivel promedio de consumo".

20 Un "biomarcador" es un compuesto bioquímico específico del organismo que tiene una característica molecular particular que lo hace útil para medir el progreso de la enfermedad o los efectos del tratamiento, o para medir un proceso de interés.

25 Un "compuesto" según se usa en este documento, se refiere a cualquier tipo de sustancia o agente que comúnmente se considera un fármaco o una sustancia con potencial terapéutico, así como las combinaciones y mezclas de los anteriores.

30 Un sujeto de "control" es un sujeto que tiene las mismas características que un sujeto de prueba, como un tipo similar de dependencia, etc. El sujeto de control puede, por ejemplo, ser examinado exactamente, o casi, al mismo tiempo que el sujeto de prueba está siendo tratado o examinado. El sujeto de control también puede, por ejemplo, ser examinado en un momento distante del momento en el cual se examina al sujeto de prueba y los resultados del examen del sujeto de control se pueden registrar para que los resultados registrados se puedan comparar con los resultados obtenidos del examen del sujeto de prueba.

35 Un sujeto de "prueba" es un sujeto que se está tratando.

Según se usa en este documento, un "derivado" de un compuesto se refiere a un compuesto químico que se puede producir a partir de otro compuesto de estructura similar en uno o más pasos, como reemplazando un H por un grupo alquilo, acilo o amino.

40 Según se usa en este documento, el término "diagnóstico" se refiere a la detección de un riesgo o propensión a un trastorno o una enfermedad relacionados con adicción. En cualquier método de diagnóstico existen falsos positivos y falsos negativos. Ningún método de diagnóstico proporciona 100% de exactitud.

45 Una "enfermedad" es un estado de salud de un sujeto en el cual el sujeto no puede mantener la homeostasia, y en el cual si la enfermedad no mejora entonces la salud del sujeto continúa deteriorándose. Por el contrario, un "trastorno" en un sujeto es un estado de salud en el cual el sujeto es capaz de mantener la homeostasia, pero en el cual el estado de salud del sujeto es menos favorable de lo que sería en ausencia del trastorno. Sin embargo, las definiciones de "enfermedad" y "trastorno" como se describen antes no pretenden reemplazar las definiciones o el uso común relacionados con enfermedades o trastornos adictivos específicos.

50 Una enfermedad, una afección o un trastorno se "mitiga" si la gravedad de un síntoma de la enfermedad o el trastorno, la frecuencia con la que el paciente experimenta ese síntoma, o ambos, disminuyen.

55 Según se usa en este documento, una "cantidad eficaz" significa una cantidad suficiente para producir un efecto elegido, como aliviar los síntomas de una enfermedad o un trastorno. En el contexto de la administración de dos o más compuestos, la cantidad de cada compuesto, cuando se administra en combinación con otro u otros compuestos, puede ser diferente de cuando ese compuesto se administra solo. La expresión "más eficaz" significa que el efecto elegido es mitigado en mayor medida por un determinado tratamiento respecto a un segundo tratamiento con el cual se lo compara.

60 El término "elixir", según se usa en este documento, se refiere en general a un líquido generalmente hidroalcohólico, transparente, edulcorado, que contiene alcohol, que contiene sustancias saborizantes y algunas veces principios activos medicinales.

Las "categorías étnicas y raciales" se definen en el presente documento según las pautas de NIH (1997 OMB Directiva 15).

5 Categorías étnicas:

Hispano o latino: una persona de origen, cubano, mexicano, puertorriqueño, sudamericano o centroamericano, u otro cultura u origen español, independientemente de la raza. La expresión "origen español" se puede usar además de "hispano o latino".

10 No hispano ni latino

Categorías raciales:

15 Indioamericano o nativo de Alaska: una persona con orígenes en cualquiera de los pueblos originarios del América del Norte, Central o del Sur, y que mantiene afiliaciones tribales o apego a la comunidad.

20 Asiático: una persona con orígenes en cualquiera de los pueblos originarios del Lejano Oriente, Sureste Asiático o el Subcontinente Indio, incluidos, por ejemplo, Camboya, China, India, Japón, Corea, Malasia, Pakistán, las Islas Filipinas, Tailandia y Vietnam. (Nota: los individuos de las islas Filipinas han sido registrados como de las islas del Pacífico en estrategias de recolección de datos anteriores.)

Negro o afroamericano: una persona con orígenes en cualquiera de los grupos raciales negros de África. Se pueden emplear términos tales como "haitiano" o "negro" además "negro o afroamericano".

25 Nativo hawaiano u de otras islas del Pacífico: una persona con orígenes en cualquiera de los pueblos originarios de Hawai, Guam, Samoa y otras islas del Pacífico.

Blanco: una persona con orígenes en cualquiera de los pueblos originarios de Europa, Oriente Medio o África del norte.

30 La expresión "que bebe en exceso", según se usa en este documento, se refiere a los varones que beben más de 21 unidades de alcohol por semana y las mujeres que consumen más de 14 unidades de alcohol por semana. Una bebida estándar es de 0.5 oz de alcohol absoluto, equivalente a 10 onzas de cerveza, 4 onzas de vino o 1 onza de licor de graduación alcohólica 100. Esos individuos no son dependientes del alcohol pero pueden, o no, cumplir los
35 criterios DSM IV para el abuso del alcohol.

Según se usa en este documento, una molécula "funcional" es una molécula en una forma en la cual tiene una propiedad o actividad por la cual se caracteriza. Una enzima funcional, por ejemplo, es la que tiene la actividad catalítica característica, por la cual se caracteriza a la enzima.

40 La expresión "bebedor empedernido" según se usa en este documento, se refiere a los varones que beben más de 14 unidades de alcohol por semana y las mujeres que consumen más de 7 unidades de alcohol por semana. Una bebida estándar es de 0.5 oz de alcohol absoluto, equivalente a 10 onzas de cerveza, 4 onzas de vino o 1 onza de licor de graduación alcohólica 100. Esos individuos no son dependientes del alcohol pero pueden, o no, cumplir los
45 criterios DSM IV para el abuso del alcohol.

La expresión "consumo exagerado", según se utiliza con respecto a la población de dependientes del alcohol del ejemplo 1, se refiere a beber por lo menos 21 bebidas estándar a la semana para las mujeres y al menos 30 bebidas a la semana para los varones durante los 90 días previos a la inscripción en el estudio y se describe más
50 detalladamente allí.

Un "día de consumo exagerado", según se usa en este documento, se refiere al consumo por un hombre o una mujer de más de alrededor de cinco o cuatro bebidas estándar por día de consumo, respectivamente.

55 La expresión "toxicomanía", según se usa en este documento, se refiere al consumo de cualquier droga de abuso incluidas, pero no exclusivamente, cocaína, metanfetamina, otros estimulantes, fenciclidina, otros alucinógenos, marihuana, sedantes, tranquilizantes, hipnóticos u opioides, a intervalos o en cantidades superiores a lo normal. Los intervalos de consumo incluyen intervalos de al menos una vez al mes, al menos una vez a la semana y al menos una vez al día. "Toxicomanía" se define como una prueba "positiva" para el consumo de esa droga en al menos dos
60 ocasiones en una semana cualquiera con al menos dos días entre pruebas.

Según se usa en este documento, el término "inhalador" se refiere a los dispositivos para administración nasal y pulmonar de un fármaco, por ejemplo, en solución, polvo y similares. Por ejemplo, el término "inhalador" pretende abarcar un inhalador impulsado por propelente, como el que se utiliza para administrar antihistamínicos para

ataques de asma aguda y frascos atomizadores de plástico, como los que se utilizan para administrar los descongestionantes.

5 El término "inhibir", según se usa en este documento, se refiere a la habilidad de un compuesto o cualquier agente para reducir o impedir una función, un nivel, una actividad, una síntesis, una liberación, una unión, etc. descritas, en función del contexto en el que el término "inhibir" se utiliza. Preferentemente, la inhibición es de al menos 10%, más preferentemente de al menos 25%, incluso más preferentemente de al menos 50%, y muy preferentemente, la función es inhibida en al menos 75%. El término "inhibir" se utiliza indistintamente con "reducir" y "bloquear".

10 La expresión "inhibir un complejo," según se usa en este documento, se refiere a inhibir la formación de un complejo o la interacción de dos o más proteínas, así como a inhibir la función o actividad del complejo. La expresión también abarca romper un complejo formado. Sin embargo, la expresión no implica que cada una y todas esas funciones deban ser inhibidas al mismo tiempo.

15 La expresión "inhibir una proteína", según se usa en este documento, se refiere a cualquier método o técnica que inhiba la síntesis, los niveles, la actividad o la función de una proteína, así como los métodos para inhibir la inducción o estimulación de la síntesis, los niveles, la actividad o la función de la proteína de interés. La expresión también se refiere a cualquier vía metabólica o reguladora que pueda regular la síntesis, los niveles, la actividad o la función de la proteína de interés. La expresión incluye la unión con otras moléculas y la formación de complejos. Por
20 consiguiente, la expresión "inhibidor de la proteína" se refiere a cualquier agente o compuesto cuya aplicación produce la inhibición de la función de la proteína o de la función de la vía de la proteína. Sin embargo, la expresión no implica que cada una y todas esas funciones deban ser inhibidas al mismo tiempo.

25 Según se usa en este documento, un "material instructivo" incluye una publicación, una grabación, un diagrama o cualquier otro medio de expresión que se pueda utilizar para comunicar la utilidad de un compuesto del kit de la invención para mitigar las diferentes enfermedades o trastornos mencionados aquí. Opcionalmente, o
30 alternativamente, el material instructivo puede describir uno o más métodos de mitigar las enfermedades o trastornos en un sujeto. El material instructivo del kit de la invención podrá, por ejemplo, adherirse a un recipiente que contenga el compuesto de la invención identificado o enviarse junto con un recipiente que contenga el
compuesto identificado. Alternativamente, el material instructivo puede enviarse separado del recipiente con la intención de que el material instructivo y el compuesto sean utilizados conjuntamente por el destinatario.

"Intensidad de consumo" se refiere al número de bebidas, que puede ser comparado con valores tales como
35 bebidas/día, bebidas/día de consumo, etc. Por lo tanto, mayor intensidad de consumo significa más bebidas/día, o bebidas/día de consumo, etc.

40 Según se usa en este documento, un "ligando" es un compuesto que se une específicamente a una molécula o compuesto diana. Un ligando "se une específicamente a" o "es específicamente reactivo con" un compuesto, cuando el ligando actúa en una reacción de unión que es determinante de la presencia del compuesto en una muestra de compuestos heterogéneos.

Un "receptor" es un compuesto o molécula que se une específicamente a un ligando.

45 Según se usa en este documento, el término "enlace" se refiere a la conexión entre dos grupos. La conexión puede ser covalente o no covalente, incluidos, pero no exclusivamente, enlaces iónicos, enlace de hidrógeno e interacciones hidrófobas o hidrófilas.

50 Según se usa en este documento, el término "enlazador" se refiere a una molécula que une otras dos moléculas ya sea covalentemente o no covalentemente, por ejemplo a través de enlaces iónicos o de hidrógeno o interacciones de van der Waals.

55 El término "medir el nivel de expresión" o "determinar el nivel de expresión" según se usa en este documento se refiere a cualquier medida o ensayo que se pueda utilizar para correlacionar los resultados del ensayo con el nivel de expresión de un gen o una proteína de interés. Dichos ensayos incluyen medir el nivel de ARNm, los niveles de proteína, etc. y se pueden realizar por ensayos tales como análisis de inmunotransferencia tipo northern y western, ensayos de unión, inmunotransferencias, etc. El nivel de expresión puede incluir tasas de expresión y se puede medir en términos de la cantidad real de un ARNm o una proteína presente.

60 La expresión "administración nasal" en todas sus formas gramaticales se refiere a la administración de al menos un compuesto de la invención a través de la membrana mucosa nasal al torrente sanguíneo, para administración sistémica de al menos un compuesto de la invención. Las ventajas de la administración nasal son que no requiere inyección usando una jeringa y aguja, evita la necrosis que puede acompañar la administración intramuscular de fármacos y que la administración transmucosa de un fármaco es muy favorable para la autoadministración.

Según se usa en este documento, la expresión "ácido nucleico" abarca ARN así como ADN mono y bicatenario y ADNc. Además, los términos, "ácidos nucleicos," "ADN", "ARN" y términos similares también incluyen los análogos de los ácidos nucleicos, es decir los análogos que tienen un esqueleto distinto de un fosfodiéster. Por ejemplo, los denominados "ácidos nucleicos peptídicos" que son conocidos en el área y tienen enlaces peptídicos en vez de enlaces fosfodiéster en el esqueleto, se consideran dentro del alcance de la presente invención. Por "ácido nucleico" también se entiende cualquier ácido nucleico, esté compuesto por desorribonucleósidos o ribonucleósidos, y esté compuesto por enlaces fosfodiéster o enlaces modificados como fosfotriéster, fosforamidato, siloxano, carbonato, carboximetiléster, acetamidato, carbamato, tioéter, unido por puente de fosforamidato, unido por puente de metileno fosfonato, fosforotioato, metilfosfonato, fosforoditioato, unido por puente de fosforotioato o enlace sulfona y combinaciones de dichos enlaces. El término ácido nucleico incluye específicamente ácidos nucleicos compuestos de bases diferentes de las cinco bases que biológicamente presentes (adenina, guanina, timina, citosina y uracilo). En este documento se utiliza la notación convencional para describir las secuencias de polinucleótidos: el extremo izquierdo de una secuencia de un polinucleótido monocatenario es el extremo 5'-; la dirección de la izquierda de una secuencia de un polinucleótido bicatenario se denomina dirección 5'. La dirección de 5' a 3' de adición de nucleótidos a transcritos de ARN naciente se conoce como la dirección de transcripción. La hebra de ADN que tiene la misma secuencia que un ARNm se conoce como "hebra codificante"; las secuencias de la hebra de ADN que se ubican 5' respecto a un punto de referencia en el ADN se denominan "secuencias en dirección 5''"; de las secuencias de la hebra de ADN que se ubican 3' respecto a un punto de referencia en el ADN se denominan "secuencias en dirección 3''".

A menos que se especifique lo contrario, una "secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácido" incluye todas las secuencias de nucleótidos que son versiones degeneradas entre sí y que codifican la misma secuencia de aminoácido. Las secuencias de nucleótidos que codifican proteínas y ARN pueden incluir intrones.

"Obesidad" se refiere comúnmente a una afección de mayor peso debido al exceso de grasa. Los fármacos para tratar la obesidad se dividen generalmente en tres grupos: (1) los que reducen la ingesta de alimentos, tales como los fármacos que interfieren con los receptores de monoaminas, como los receptores noradrenérgicos, los receptores de serotonina, los receptores de dopamina y los receptores de histamina; (2) los que aumentan el metabolismo; y (3) los que aumentan la termogénesis o disminuyen la absorción de grasa mediante la inhibición de la lipasa pancreática (Bray, 2000, Nutrition, 66:953-960 y Leonhardt et al., 1999, Eur. J. Nutr., 38:1-13). La obesidad ha sido definida en términos de índice de masa corporal (IMC). El IMC se calcula como el peso (kg)/[la altura (m)]², según las directrices del U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Estado físico: Uso e interpretación de la antropometría. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la salud 1995. OMS serie de informes técnicos), para adultos mayores de 20 años, el IMC se encuentra en una de estas categorías: por debajo de 18.5 se considera bajo peso, 18.5-24.9 se considera normal, 25.0-29.9 se considera sobrepeso y 30.0 y por encima se considera obeso.

El término "oligonucleótido" se refiere normalmente a polinucleótidos cortos, generalmente de no más de alrededor de 50 nucleótidos. Se entenderá que cuando una secuencia de nucleótidos es representada por una secuencia de ADN (es decir, A, T, G, C), esto también incluye una secuencia de ARN (es decir, A, U, G, C) en la cual "U" reemplaza a "T."

El término "péptido" se refiere normalmente a polipéptidos cortos.

"Polipéptido" se refiere a un polímero compuesto de residuos de aminoácidos, sus variantes estructurales naturales relacionadas y análogos sintéticos no naturales unidos mediante enlaces peptídicos, las variantes estructurales naturales relacionadas y análogos sintéticos no naturales de éstos. Los polipéptidos sintéticos se pueden sintetizar, por ejemplo, usando un sintetizador de polipéptidos automatizado.

El término "proteína" se refiere normalmente a polipéptidos grandes.

Un "polipéptido recombinante" es el que se produce al expresarse un polinucleótido recombinante.

Un péptido abarca una secuencia de dos o más aminoácidos en la que los aminoácidos son aminoácidos naturales o sintéticos (origen no natural). Péptido miméticos incluye péptidos que tienen una o más de las modificaciones siguientes:

1. péptidos donde una o más de las uniones peptídico --C(O)NR-- (enlaces) ha sido reemplazada por una unión no peptídico como una unión --CH₂-carbamato (--CH₂OC(O)NR--), una unión fosfonato, una unión -CH₂-sulfonamida (-CH₂-S(O)₂NR--), una unión urea (--NHC(O)NH--), una unión --CH₂-amina secundaria, o con una unión peptídico alquilada (--C(O)NR--) donde R es C₁-C₄ alquilo;

2. péptidos en los que el extremo N-terminal es derivatizado a un grupo --NRR₁, a un grupo --NRC(O)R, a un grupo --NRC(O)OR, a un grupo --NRS(O)₂R, a un grupo -NHC(O)NHR donde R y R₁ son hidrógeno o C₁-C₄

alquilo con la condición de que R y R1 no sean ambos hidrógeno;

3. péptidos en los que el extremo C-terminal es derivatizado a --C(O)R2 donde R2 se selecciona del grupo que consiste en C1-C4 alcoxi, y --NR3R4 donde R3 y R4 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y C1-C4 alquilo.

5 La expresión "por aplicación" según se usa en este documento se refiere a la administración de un fármaco o compuesto a un sujeto.

10 Según se usa en este documento, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándar, como solución salina amortiguada con fosfato, agua, emulsiones como una emulsión de agua en aceite o de aceite en agua y diversos tipos de humectantes. La expresión también abarca a cualquiera de los agentes aprobados por un organismo regulador del Gobierno Federal de los Estados Unidos o que figure en la farmacopea de los Estados Unidos para usar en animales, incluso los seres humanos.

15 Según se usa en este documento, la expresión éster o sal "fisiológicamente aceptable" significa un éster o una sal de un principio activo que sea compatible con cualquier otro ingrediente de la composición farmacéutica y que no sea perjudicial para el sujeto al cual se va a administrar la composición.

20 Una "predisposición" a una enfermedad o un trastorno adictivo se refiere a situaciones en las que un sujeto tiene mayor probabilidad de abusar de una sustancia como alcohol o drogas o de volverse adicto al alcohol o a una droga, o a otras enfermedades o trastornos adictivos.

25 El término "prevenir", según se usa en este documento, significa evitar que algo pase o tomar medidas por adelantado contra la posibilidad o probabilidad de que algo pase. En el contexto de la medicina, "prevención" generalmente se refiere a la acción tomada para disminuir la probabilidad de contraer una enfermedad o afección.

30 La expresión "bebedor problemático", según se usa en este documento, abarca individuos que beben excesivamente y que informan que su consumo de alcohol les está causando problemas. Dichos problemas incluyen, por ejemplo, conducir estando intoxicado, problemas en el trabajo causados por el consumo de alcohol en exceso y problemas de relaciones causados por el consumo de alcohol en exceso del sujeto.

35 Según se usa en este documento, "grupo protector" con respecto a un grupo amino-terminal se refiere a un grupo amino-terminal de un péptido, donde dicho grupo amino-terminal se acopla a cualquier de los diversos grupos protectores amino-terminales empleados en síntesis de péptidos. Dichos grupos protectores incluyen, por ejemplo, grupos protectores acilo como formilo, acetilo, benzoilo, trifluoroacetilo, succinilo y metoxisuccinilo; grupos protectores uretano aromáticos como benciloxycarbonilo y grupos protectores uretano alifáticos, por ejemplo, tert-butoxicarbonilo o adamantiloxycarbonilo. Véase Gross y Mienhofer, eds., *The Peptides*, vol. 3, pp. 3-88 (Academic Press, Nueva York, 1981) por grupos protectores adecuados.

40 Según se usa en este documento, "grupo protector" con respecto a un grupo carboxilo terminal se refiere a un grupo carboxilo terminal de un péptido, donde dicho grupo carboxilo terminal se acopla a cualquiera de los diversos grupos protectores carboxilo-terminales. Dichos grupos protectores incluyen, por ejemplo, tert-butilo, bencilo u otros grupos aceptables unidos al grupo carboxilo terminal a través de un enlace éster o éter.

45 La expresión "programa de gestión psicosocial" según se usa en este documento, se refiere al uso de diversos tipos de técnicas de asesoramiento y gestión utilizadas para complementar el tratamiento farmacoterápico de combinación, de enfermedades y trastornos adictivos y relacionados con el alcohol.

50 Según se usa en este documento, el término "purificado" y términos análogos se refieren a un enriquecimiento de una molécula o un compuesto con respecto a otros componentes normalmente asociados a dicha molécula o dicho compuesto en un ambiente natural. El término "purificado" no indica necesariamente que se haya logrado la pureza total de la molécula particular durante el proceso. Un compuesto "muy purificado" según se usa en este documento se refiere a un compuesto que es más de 90% puro.

55 "Reducir" - véase "inhibir".

60 La expresión "disminución del consumo", según se usa en este documento, se refiere a una disminución en el consumo de bebidas según una o más de las mediciones del consumo como consumo exagerado, número de bebidas/día, número de bebidas/día de consumo, etc.

El término "regular" se refiere a la estimulación o a la inhibición de una función o actividad de interés.

Una "muestra", según se usa en este documento, se refiere a una muestra biológica de un sujeto, incluidas, pero no exclusivamente, muestras de tejidos normales, muestras de tejidos enfermos, biopsias, sangre, saliva, heces,

semen, lágrimas y orina. Una muestra también puede ser otra fuente de material obtenido de un sujeto que contenga células, tejidos o líquidos de interés según se interpreta en el contexto de la reivindicación y el tipo de ensayo a ser realizado usando esa muestra.

5 Por "ARN interferente pequeño (ARNip)" se entiende, entre otras cosas, una molécula aislada de ARNbc que comprende tanto una hebra sentido como una hebra antisentido. En un aspecto, es mayor de 10 nucleótidos de longitud. ARNip también se refiere a un solo transcrito que tiene ambas secuencias complementarias sentido y antisentido del gen diana, por ejemplo, una horquilla. El ARNip incluye además cualquier forma de ARNbc (productos proteolíticamente escindidos de ARNbc más grande, ARN parcialmente purificado, ARN esencialmente puro, ARN sintético, ARN producido por vía recombinante) así como ARN alterado que difiere del ARN natural por adición, eliminación, sustitución y/o alteración de uno o más nucleótidos.

15 Mediante la expresión "se une específicamente a", según se usa en este documento, se quiere dar a entender una molécula que reconoce y se une a una molécula específica, pero que no reconoce ni se une sustancialmente a otra molécula de una muestra, o se quiere dar a entender la unión entre dos o más moléculas como en parte de un proceso regulador celular, donde dichas moléculas no reconocen ni se unen sustancialmente a otras moléculas de una muestra.

20 El término "estándar", según se usa en este documento, se refiere a algo utilizado para comparar. Por ejemplo, puede ser un agente o compuesto conocido estándar que se administra o agrega y se utiliza para comparar resultados cuando se agrega un compuesto de prueba, o puede ser un parámetro o función estándar que se mide para obtener un valor de control cuando se mide un efecto de un agente o un compuesto, sobre un parámetro o una función. Estándar también puede referirse a un "estándar interno", como un agente o compuesto que se agrega en cantidades conocidas a una muestra y es útil para determinar cosas como tasas de purificación o recuperación cuando una muestra es procesada o sometida a procedimientos de purificación o extracción, antes de medir un marcador de interés. Los estándares internos a menudo son marcadores de interés purificados que han sido marcados, como con un radioisótopo, lo que permite distinguirlos de un marcador endógeno.

30 La expresión "una bebida estándar", según se usa en este documento, es de 0.5 oz de alcohol absoluto, equivalente a 10 onzas de cerveza, 4 onzas de vino o 1 onza de licor de graduación alcohólica 100.

Un "sujeto" de diagnóstico o tratamiento es un mamífero, inclusive un ser humano.

35 La expresión "el sujeto presenta una predisposición al inicio temprano del alcoholismo", según se usa en este documento, se refiere a un sujeto que tiene, o se caracteriza por, una predisposición al inicio temprano del alcoholismo.

40 El término "síntoma", según se usa en este documento, se refiere a cualquier fenómeno mórbido o apartado de lo normal en la estructura, función o sensación experimentada por el paciente e indicativo de enfermedad. En contraposición, un signo es evidencia objetiva de enfermedad. Por ejemplo, una hemorragia nasal es un signo. Es evidente para el paciente, el doctor, el personal de enfermería y otros observadores.

45 Según se usa en este documento, el término "tratar" puede incluir la profilaxis de la enfermedad, el trastorno o la afección específicos, o el alivio de los síntomas asociados a una enfermedad, un trastorno o una afección específicos, y/o la prevención o eliminación de dichos síntomas. Un tratamiento "profiláctico" es un tratamiento que se administra a un sujeto que no presenta signos de una enfermedad o presenta sólo signos precoces de la enfermedad, con el fin de reducir el riesgo de que sufra la patología asociada a la enfermedad. "Tratar" se usa en este documento indistintamente con "tratamiento".

50 Un tratamiento "terapéutico" es un tratamiento que se administra a un sujeto que presenta signos de patología con el fin de reducir o eliminar esos signos.

55 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto es la cantidad de compuesto suficiente para proporcionar un efecto beneficioso al sujeto al cual se administra el compuesto.

Definiciones químicas

Según se usa en este documento, el término "halógeno" o "halo" incluye bromo, cloro, fluoro y yodo.

60 El término "haloalquilo" según se usa en este documento se refiere a un radical alquilo que tiene al menos un sustituyente halógeno, por ejemplo, clorometilo, fluoroetilo o trifluorometilo y similares.

El término "C₁-C_n alquilo" donde n es un entero, según se usa en este documento, representa un grupo alquilo, lineal o ramificado, que tiene de uno al número especificado de átomos de carbono. Habitualmente, los grupos C₁-C₆

alquilo incluyen, pero no exclusivamente, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, butilo, iso-butilo, sec-butilo, tert-butilo, pentilo, hexilo y análogos.

5 El término " C_2-C_n alquenoilo" donde n es un entero, según se usa en este documento, representa un grupo, olefínicamente insaturado, lineal o ramificado que tiene de dos al número especificado de átomos de carbono y al menos un doble enlace. Los ejemplos de dichos grupos incluyen, pero no exclusivamente, 1-propenilo, 2-propenilo, 1,3-butadienilo, 1-butenilo, hexenilo, pentenilo y análogos.

10 El término " C_2-C_n alquiniilo" donde n es un entero se refiere a un grupo insaturado, lineal o ramificado, que tiene de dos al número especificado de átomos de carbono y al menos un triple enlace. Los ejemplos de dichos grupos incluyen, pero no exclusivamente, 1-propinilo, 2-propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo, 1-pentinilo y análogos.

15 El término " C_3-C_n cicloalquilo" donde n = 8, representa ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo.

Según se usa en este documento, la expresión "opcionalmente sustituido" se refiere de cero a cuatro sustituyentes, donde cada sustituyentes se elige independientemente. Cada sustituyente elegido independientemente puede ser igual a los otros sustituyentes o diferente de ellos.

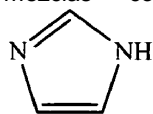
20 Según se usa en este documento, el término "arilo" se refiere a un sistema de anillo carbocíclico, opcionalmente sustituido, mono o bicíclico que tiene uno o dos anillos aromáticos que incluye, pero no exclusivamente, fenilo, bencilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, indenilo y análogos. "Arilo opcionalmente sustituido" incluye compuestos arilo que tienen de cero a cuatro sustituyentes, y "arilo sustituido" incluye compuestos arilo que tienen uno o más sustituyentes. El término (C_5-C_8 alquil)arilo se refiere a cualquier grupo arilo que está unido a la molécula original a través de un grupo alquilo.

30 La expresión "grupo heterocíclico" se refiere a un sistema de anillo carbocíclico, opcionalmente sustituido, mono o bicíclico, que contiene de uno a tres heteroátomos donde los heteroátomos se seleccionan del grupo que consiste en oxígeno, azufre y nitrógeno. Según se usa en este documento el término "heteroarilo" se refiere a un sistema de anillo carbocíclico, opcionalmente sustituido, mono o bicíclico, que tiene uno o dos anillos aromáticos que contienen de uno a tres heteroátomos e incluye, pero no exclusivamente, furilo, tienilo, piridilo y análogos.

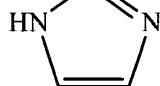
35 El término "bicíclico" representa un anillo de carbono bicíclico, saturado o insaturado, estable, de 7 a 12 átomos, unido por puente o fusionado. El anillo bicíclico puede estar unido en cualquier átomo de carbono que proporcione una estructura estable. El término incluye, pero no exclusivamente, naftilo, dicitlohexilo, dicitlohexenilo y análogos.

40 Los compuestos de la presente invención contienen uno o más centros asimétricos en la molécula. De conformidad con la presente invención una estructura que no designa la estereoquímica se debe entender que abarca todos los diversos isómeros ópticos así como las mezclas racémicas de éstos.

Los compuestos de la presente invención pueden existir en formas tautoméricas y la invención incluye tanto las mezclas como los diferentes tautómeros individuales. Por ejemplo la estructura siguiente:



Se entiende que representa una mezcla de las estructuras:



45 and

50 La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que retienen la eficacia biológica y las propiedades de los compuestos de la presente invención y que no son biológicamente, ni de otra manera, indeseables. En muchos casos, los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales de ácido y/o base en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a éstos.

Realizaciones

55 El número de moléculas de proteína transportador de serotonina en las células es afectado por la cantidad de moléculas de ARNm maduro del transportador de serotonina (secundario) expresadas en esa célula. Los niveles de expresión del ARNm son controlados por los 5'-HTTLPR y 3'-UTR del gen SLC6A4 a través de dos mecanismos diferentes. La región 5'-HTTLPR controla la velocidad de transcripción de SLC6A4 (Heils et al., (1996) J. Neurochem. 66:2621-2624), mientras que el SNP rs1042173 en la 3'-UTR de SLC6A4 afecta a los niveles de ARNm

maduro a través de mecanismos post transcripcionales (Battersby et al., (1999), J. Neurochem. 72:1384-1388; Beaudoin et al., (2000), Genome Res 10:1001-1010; Chen et al., (2006), Nat. Genet. 38:1452-145).

Se encuentra que 5'-HTTLPR alberga varios sitios de unión para moléculas de factores de transcripción diferentes, necesarios para la regulación de la iniciación de la transcripción (Hu et al., (2005), Alcohol Clin. Exp. Res. 29:8-16). Exp. 29:8-16). Por lo tanto, el número de copias de ARNm naciente (primario) transcritas por el gen SLC6A4 y de las copias de ARNm maduro subsiguientes es afectado por los polimorfismo de 5'-HTTLPR. Se informa que las diferencias alélicas de rs1042173 son reguladas por la unión de micro ARN (ARNmi) al/cerca del sitio rs1042173 (por ejemplo, unión de miR-15a y miR-16), la degradación de las moléculas de ARNm y la poliadenilación diferencial y que resulta en niveles alterados de ARNm maduro. Por consiguiente, los efectos combinados de los polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173 pueden modular los efectos individuales de cada uno en la determinación de la disponibilidad total de ARNm maduro para traducir en moléculas de proteína transportador de serotonina.

Sin querer regirse por ninguna hipótesis en particular, se plantea en este documento que, teniendo en cuenta estos factores, el efecto genético combinado de los polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173 puede dar como resultado diferencias en la función y la regulación serotoninérgica. Puesto que el consumo de alcohol afecta la función serotoninérgica, esta interacción gen-gen (5'-HTTLPR y rs1042173) puede conducir a una desregulación serotoninérgica que provoque, agrave o mantenga el comportamiento de consumir más y el alcoholismo. Estos estados de desregulación serotoninérgica o alteraciones en la función pueden ser estabilizados o mejorados en poblaciones de consumo excesivo o alcohólicas mediante las composiciones y los métodos de la presente invención como la administración de medicamentos serotoninérgicos, incluido al antagonista de la serotonina 3 (5-HT-3), ondansetrón.

En una realización, los antagonistas del receptor de 5-HT-3 (incluido ondansetrón) pueden mejorar los resultados del consumo de las personas con ciertos polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173.

Debido a que el sistema de serotonina tiene conexiones íntimas y es modulado en el cerebro por otros neurotransmisores, particularmente dopamina, GABA, glutamato, opioides y cannabinoides, la presente invención abarca el uso de medicamentos y fármacos que afectan la estructura y la función de esos otros neurotransmisores cuando se combinan con cualquier serotoninérgico (inclusive ondansetrón). En un aspecto, la combinación es eficaz para los individuos con polimorfismos en 5'-HTTLPR y rs1042173 descritos en este documento o en cualquier otro lugar en el sistema serotoninérgico. En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones, compuestos y métodos que están asociados a estos neurotransmisores moduladores (es decir, dopamina, GABA, glutamato, opioides y cannabinoides), incluidos, pero no exclusivamente, topiramato, baclofeno, gabapentina, naltrexona, nalmefero y rimonabant - en combinación con cualquier serotoninérgico (incluidos, pero no exclusivamente, ondansetrón, bloqueadores selectivos de la recaptación de serotonina y otros agonistas y antagonistas de otros receptores o moléculas de serotonina) que pueden producir un efecto terapéutico para mejorar los resultados clínicos de individuos que consumen, abusan, usan indebidamente o son dependientes del alcohol.

La presente invención abarca composiciones y métodos para el tratamiento o la prevención cuando los polimorfismo de rs1042173 están asociados a vulnerabilidad o pueden sostener, provocar o gobernar el consumo de alcohol. Los polimorfismos de rs1042173 o los ARNm, ARNm relacionados, la expresión, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas pueden servir ellos mismos como un biomarcador del consumo de alcohol. Dicho biomarcador (por ejemplo, un análisis de sangre) se puede utilizar para proporcionar un medio o una prueba para determinar si un individuo ha consumido alcohol, y cuánto. Los polimorfismos de rs1042173 o sus ARNm, ARNm relacionados, la expresión, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas pueden servir ellos mismos como un biomarcador del consumo, el uso indebido o la dependencia del alcohol. Dicho biomarcador (por ejemplo, un análisis de sangre) se puede utilizar para proporcionar un medio o un examen para determinar, evaluar o respaldar un diagnóstico de consumo, uso indebido o dependencia del alcohol.

La presente invención abarca composiciones y métodos para el tratamiento o la prevención cuando la combinación de los polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173 está asociada a vulnerabilidad o puede sostener, provocar o gobernar el consumo de alcohol. La combinación de los polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173 o sus ARNm, ARNm relacionados, o la expresión, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas puede, ella misma, servir como un biomarcador del consumo de alcohol. Dicho biomarcador se puede utilizar para proporcionar un medio o una prueba para determinar si un individuo ha consumido alcohol, y cuánto. La combinación de los polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173 o sus ARNm, ARNm relacionados, o la expresión, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas puede, ella misma, servir como un biomarcador del consumo, abuso o dependencia del alcohol. Dicho biomarcador se puede utilizar para determinar, evaluar o respaldar un diagnóstico de consumo, uso indebido o dependencia del alcohol.

La presente invención engloba que proporcionar cualquier antagonista de 5-HT-3 (incluido ondansetrón), en

cualquier dosis o cualquier forma farmacéutica, a individuos con polimorfismos de rs1042173 puede mejorar, tratar o ayudar en la recuperación del consumo, el abuso o la dependencia del alcohol.

5 La presente invención engloba que proporcionar cualquier antagonista de 5-HT-3 (incluido ondansetrón), en cualquier dosis o cualquier forma farmacéutica, a individuos con polimorfismos combinados de rs1042173 y 5'-HTTLPR puede mejorar, tratar o ayudar en la recuperación del consumo, el abuso o la dependencia del alcohol.

10 Los polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173 en combinación, o combinados con cualquier otro polimorfismo del sistema de serotonina, o sus ARNmi, ARNm, ARNnc relacionados, o la expresión, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas pueden, ellos mismos, servir como un biomarcador del consumo de alcohol. En un aspecto, el uso de 5'-HTTLPR y rs1042173 como biomarcadores puede proporcionar un medio o una prueba para determinar si un individuo ha consumido alcohol, y cuánto.

15 Los polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173 en combinación, o combinados con cualquier otro polimorfismo del sistema de serotonina, o sus ARNmi, ARNm, ARNnc relacionados, o la expresiones, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas pueden, ellos mismos, servir como un biomarcador del consumo, el uso indebido o la dependencia del alcohol. En un aspecto, el uso de 5'-HTTLPR y rs1042173 como biomarcadores puede proporcionar un medio o una prueba para determinar, evaluar o respaldar un diagnóstico de consumo, uso indebido, abuso o dependencia del alcohol.

20 La presente divulgación se refiere a un método mediante el cual se usa un cribado genético para identificar polimorfismos en el sistema de serotonina, o sus ARNmi, ARNm, ARNnc relacionados, o la expresión, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas, que pueden servir como un biomarcador del consumo de alcohol. Dicho biomarcador (por ejemplo, un análisis de sangre) se puede utilizar para proporcionar un medio o una prueba para determinar si un individuo ha consumido alcohol, y cuánto.

25 La presente divulgación se refiere a un método mediante el cual se usa un cribado genético para identificar polimorfismos en el sistema de serotonina, o sus ARNmi, ARNm, ARNnc relacionados, o la expresión, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas, que pueden servir como un biomarcador para determinar, evaluar, o respaldar el diagnóstico de consumo, uso indebido, abuso o dependencia del alcohol.

30 La presente divulgación se refiere a un método mediante el cual se usa un cribado genético para identificar polimorfismos en el sistema de serotonina, o sus ARNmi, ARNm, ARNnc relacionados, o la expresión, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas, para identificar individuos que consumen, abusan, usan indebidamente o son dependientes del alcohol que puede constituir una base para un tratamiento de identificación. Se podría prever una prueba de ese tipo (por ejemplo un análisis de sangre) para determinar los individuos que responderán a cualquier tratamiento (es decir, farmacológico, conductual, genético, bioquímico o cualquier otra combinación).

35 La presente divulgación se refiere a un método mediante el cual se usa un cribado genético para identificar cualquier polimorfismo en el sistema de serotonina, o sus ARNmi, ARNm, ARNnc relacionados, o las expresiones, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas, para identificar a individuos que consumen, abusan, usan indebidamente o son dependientes del alcohol, que puede constituir una base para identificar eventos adversos o efectos secundarios u optimizar un tratamiento con cualquier antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón) en cualquier dosis o forma farmacéutica. Se puede prever una prueba de ese tipo para determinar los individuos que responderán al tratamiento con cualquier antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón).

40 La presente invención abarca además un método mediante el cual se usa un cribado genético para identificar cualquier polimorfismo en el sistema de serotonina, o sus ARNmi, ARNm, ARNnc relacionados, o las expresiones, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas, ya sea solos o en cualquier combinación, para identificar a los individuos que consumen, abusan, usan indebidamente, o son dependientes del alcohol que puede constituir una base para identificar eventos adversos o efectos secundarios u optimizar el tratamiento con cualquier antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón) en cualquier dosis o forma farmacéutica. Se puede prever una prueba de ese tipo (por ejemplo un análisis de sangre) para determinar los individuos que responderán al tratamiento con un antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón) o individuos que necesitaran medidas adicionales para optimizar el éxito del tratamiento con cualquier antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón).

45 La presente invención abarca además un método mediante el cual se usa un cribado genético para identificar cualquier polimorfismo en el sistema de serotonina, o sus ARNmi, ARNm, ARNnc relacionados, o las expresiones, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas, ya sea solos o en cualquier combinación, para identificar a los individuos que consumen, abusan, usan indebidamente, o son

dependientes del alcohol, que puede constituir una base para identificar a aquellos que responderán al tratamiento con cualquier antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón) en cualquier dosis o forma farmacéutica. Se puede prever una prueba de ese tipo (por ejemplo un análisis de sangre) para determinar los individuos que responderán al tratamiento con un antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón). Se puede identificar a dichos individuos enfermos mediante un cribado genético y luego proporcionarles ondansetrón.

La presente invención abarca además un método mediante el cual se usa un cribado genético para identificar polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173 o sus ARNm, ARNm relacionados, o las expresiones, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas, ya sea solos o en cualquier combinación, para identificar a los individuos que consumen, abusan, usan indebidamente, o son dependientes del alcohol, que puede constituir una base para identificar a aquellos que responderán al tratamiento con cualquier antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón) en cualquier dosis o forma farmacéutica. Se puede prever una prueba de ese tipo (por ejemplo un análisis de sangre) para determinar los individuos con un trastorno de consumo, abuso o dependencia del alcohol que responderán al tratamiento con un antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón). Se puede identificar a dichos individuos mediante un cribado genético y luego proporcionarles ondansetrón.

La presente divulgación se refiere a un método mediante el cual se usa un cribado genético para identificar cualquier polimorfismo en el sistema de serotonina o sus ARNm, ARNm, ARNnc relacionados, o las expresiones, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas, ya sea solos o en cualquier combinación, para identificar a los individuos que consumen, abusan, usan indebidamente, o son dependientes del alcohol, que puede constituir una base para identificar a individuos que responderán al tratamiento con cualquier serotonérgico, compuesto o fármaco en cualquier dosis o forma farmacéutica. Se puede prever una prueba de ese tipo (por ejemplo un análisis de sangre) para determinar los individuos que responderán al tratamiento para cualquier comportamiento adictivo con un serotonérgico, compuesto o fármaco.

La presente invención abarca además un método mediante el cual se usa un cribado genético para identificar polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173 o sus ARNm, ARNm relacionados, o las expresiones, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas, ya sea solos o en cualquier combinación, para identificar a los individuos que consumen, abusan, usan indebidamente, o son dependientes del alcohol, que puede constituir una base para identificar a aquellos propensos a eventos adversos o efectos secundarios u optimizar el tratamiento con cualquier serotonérgico, compuesto o fármaco en cualquier dosis o forma farmacéutica. Se puede prever una prueba de ese tipo (por ejemplo un análisis de sangre) para determinar los individuos que no responderán al tratamiento con un serotonérgico, compuesto o fármaco, o individuos que necesitarán medidas adicionales para optimizar el éxito del tratamiento con cualquier serotonérgico, compuesto o fármaco.

La presente invención abarca además un método mediante el cual se usa un cribado genético para identificar polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173 o cualquier otro polimorfismo en sistemas de neurotransmisores moduladores (por ejemplo dopamina, GABA, glutamato, opioides y cannabinoides) o sus ARNm, ARNm, ARNnc relacionados, o las expresiones, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas, ya sea solos o en cualquier combinación, para identificar a individuos que consumen, abusan, usan indebidamente, o son dependientes del alcohol, que puede constituir una base para identificar a aquellos que responderán al tratamiento con cualquier antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón) en combinación con cualquier fármaco que afecte esos sistemas moduladores (incluidos, pero no exclusivamente, topiramato, baclofeno, gabapentina, naltrexona, nalmefeno y rimonabant) en cualquier dosis o forma farmacéutica. Se puede prever una prueba de ese tipo (por ejemplo un análisis de sangre) para determinar los individuos que tienen un trastorno de consumo, abuso o dependencia del alcohol que responderán al tratamiento con un antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón) más cualquiera de esos agentes moduladores o fármacos. A los individuos que consumen, abusan o tienen dependencia del alcohol, que tienen esos polimorfismos identificados por este cribado genético, se les puede proporcionar ondansetrón más el medicamento o fármaco modulador, con la predicción de que esas combinaciones serán eficaces.

La presente invención abarca además un método mediante el cual se usa un cribado genético para identificar polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173 o cualquier otro polimorfismo en los sistemas de neurotransmisores moduladores (por ejemplo dopamina, GABA, glutamato, opioides y cannabinoides) o sus ARNm, ARNm, ARNnc relacionados, o las expresiones, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas, ya sea solos o en cualquier combinación, para identificar a individuos que consumen, abusan, usan indebidamente, o son dependientes del alcohol, que puede constituir una base para identificar a aquellos propensos a efectos adversos o que no responderán al tratamiento con ningún antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón) en combinación con cualquier fármaco que afecte esos sistemas moduladores (incluidos, pero no exclusivamente, topiramato, baclofeno, gabapentina, naltrexona, nalmefeno y rimonabant) en cualquier dosis o forma farmacéutica. Se puede prever una prueba de ese tipo (por ejemplo un análisis de sangre) para determinar los individuos que no responderán al tratamiento con un antagonista de 5-HT-3 (inclusive ondansetrón)

más cualquiera de esos agentes o fármacos moduladores, o que necesitarán medidas adicionales a esos compuestos para optimizar el tratamiento.

La presente invención abarca además un método mediante el cual se usa un cribado genético para identificar polimorfismos de 5'-HTTLPR y rs1042173 o cualquier otro polimorfismo en los sistemas de neurotransmisores moduladores (por ejemplo dopamina, GABA, glutamato, opioides y cannabinoides) o sus ARNm, ARNm, ARNnc relacionados, o las expresiones, los niveles o estados de función de las proteínas, u otros productos bioquímicos o asociaciones químicas, ya sea solos o en cualquier combinación, que se usa para producir un biomarcador (por ejemplo en análisis de sangre) para determinar, verificar o evaluar el nivel o el diagnóstico de consumo, abuso, uso indebido o dependencia del alcohol.

En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para tratar el alcoholismo utilizando composiciones farmacéuticas que contienen cantidades eficaces de ondansetrón.

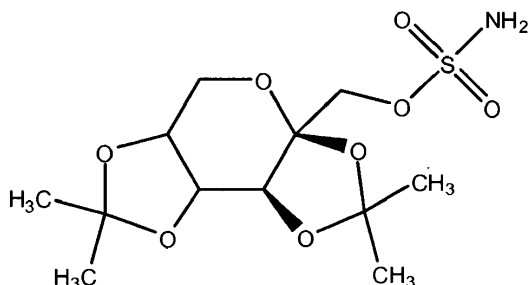
La dosis del principio o principios activos a administrar dependerá de la afección a tratar, del compuesto particular y de otros factores clínicos como edad, género, peso y estado de salud del sujeto que se va a tratar, la vía de administración del compuesto o compuestos, y el tipo de composición que se va administrar (comprimido, cápsula de gelatina, cápsula, solución, suspensión, inhalador, aerosol, elixir, pastilla, inyección, parche, pomada, crema, etc.). Se debe comprender que la presente invención tiene aplicación tanto para uso humano como veterinario.

Por ejemplo, en una realización que se refiere a la administración oral a humanos de una dosis entre aproximadamente 0.1 y 300 mg/kg/día, o entre aproximadamente 0.5 y 50 mg/kg/día, o entre aproximadamente 1 y 10 mg/kg/día, es generalmente suficiente, pero variará dependiendo de factores como el trastorno que se va a tratar, la duración del tratamiento, la edad, el género, el peso y/o el estado de salud del sujeto, etc. Los fármacos se pueden administrar en formulaciones que contengan todos los fármacos que se van a usar, o los fármacos se pueden administrar por separado. En algunos casos, se prevé que serán necesarios, o útiles, múltiples dosis o múltiples tiempos de administración. La presente invención prevé además variar la duración del tratamiento.

El topiramato se da a conocer en este documento como un fármaco útil en farmacoterapia de combinación. En una realización, el topiramato se proporciona en una dosis que varía de alrededor de 15 mg/día a alrededor de 2500 mg/día. En un aspecto, el topiramato se administra en una dosis que varía de alrededor de 25 mg/día a alrededor de 1000 mg/día. Aún en otro aspecto, el topiramato se administra en una dosis que varía de alrededor de 50 mg/día a alrededor de 500 mg/día. En un aspecto, el topiramato se administra en una dosis de alrededor de 400 mg/día. En otro aspecto, el topiramato se administra en una dosis de 400 mg/día. En otro aspecto más el topiramato se administra en una dosis de alrededor de 300 mg/día. Aún en otro aspecto el topiramato se administra en una dosis de alrededor de 275 mg/día. En un aspecto, el topiramato se administra en una dosis de alrededor de 1 mg/día. En un aspecto, se administran hasta alrededor de 300 mg/día.

En una realización, el topiramato se suministra en una dosis de alrededor de 1 mg/kg. En un aspecto, el topiramato se suministra en una dosis de alrededor de 10 mg/kg. En un aspecto, el topiramato se suministra en una dosis de alrededor de 100 mg/kg. En una realización, el topiramato se administra en una dosis que varía de alrededor de 0.1 mg/kg/día a alrededor de 100 mg/kg/día.

El topiramato ($C_{12}H_{21}NO_8S$; nombre IUPAC: sulfamato de 2,3:4,5-Bis-O-(1-metiletilideno)-beta-D-fructopiranosas; N° de registro CAS 97240-79-4) tiene la estructura siguiente:



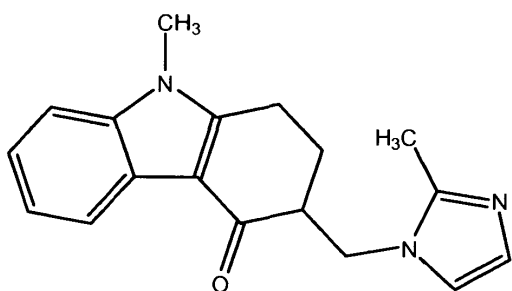
Un aspecto importante de los fármacos psicotrópicos es que producen aumento de peso. Estos aumentos de peso pueden inducir una serie de problemas metabólicos como un metabolismo anómalo de los azúcares, las grasas y los carbohidratos. Debido a que el topiramato puede provocar pérdida de peso y mejorar la función endocrina, en este documento se propone que el topiramato se puede usar para mejorar el problema de aumento de peso causado por otros fármacos psicotrópicos con el cual se combina así como el abuso de alcohol y otras drogas.

Un evento adverso importante del topiramato es el deterioro cognitivo. En la población general, este efecto se

informa en 2.4% de los individuos que toman topiramato (Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development. Investigator's Brochure: Topiramate (RWJ-17021-000), 10^a ed.; diciembre de 2005). En el campo del abuso de sustancias, la tasa de ocurrencia de deterioro cognitivo es de alrededor de 18.7% (Johnson BA, Ait-Daoud N, Bowden CL et al. Oral topiramate for treatment of alcohol dependence: a randomized controlled trial. Lancet 2003, 361:1677-1685). Los efectos cognitivos asociados al topiramato se deben a sus propiedades antiglutaminérgicas. Por lo tanto, no es evidente que el ondansetrón, un antagonista de los receptores de serotonina 3, reducirá las quejas de deterioro cognitivo. El ondansetrón parece tener efectos colinérgicos, quizás a través de interacciones con el sistema de GABA, que parecen mejorar el deterioro cognitivo relacionado con topiramato. Por lo tanto, es de esperar que la incidencia de deterioro cognitivo registrada por esta combinación triple sea menor que la del topiramato solo.

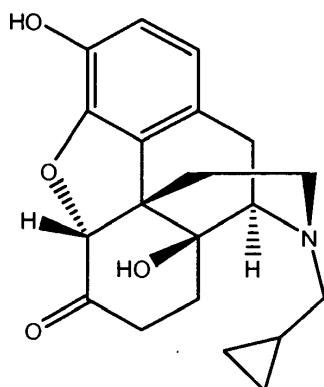
El ondansetrón se da a conocer en este documento como un fármaco útil sólo o como parte de la farmacoterapia de combinación. El ondansetrón es un antagonista del receptor de 5-HT₃ y funcionalmente tiene efectos opuestos a los de los ISRS y bloquea el agonismo de la serotonina en el receptor de 5-HT₃. La dosis y el régimen de tratamiento para administrar ondansetrón cuando se utiliza como un compuesto de una terapia de combinación se puede variar basándose en el otro u otros fármacos con los cuales se va administrar o basándose en otros criterios como la edad, el género, el estado de salud y el peso del sujeto. Por lo tanto, la presente invención prevé el uso de ondansetrón en dosis variables como de alrededor de 0.01 µg/kg, alrededor de 0.1 µg/kg, alrededor de 1.0 µg/kg, alrededor de 5.0 µg/kg, alrededor de 10.0 µg/kg, alrededor de 0.1 mg/kg, alrededor de 1.0 mg/kg, alrededor de 5.0 mg/kg y alrededor de 10.0 mg/kg. En otra realización, el ondansetrón se administra en una dosis que varía entre alrededor de 0.01 µg/kg y alrededor de 100 µg/kg por aplicación. En un aspecto, el ondansetrón se administra en una dosis que varía entre alrededor de 0.1 µg/kg y alrededor de 10.0 µg/kg por aplicación. Aún en otro aspecto, el ondansetrón se administra en una dosis que varía entre alrededor de 1.0 µg/kg y alrededor de 5.0 µg/kg por aplicación. En otro aspecto, el ondansetrón se administra en una dosis de alrededor de 4.0 µg/kg por aplicación. En otro aspecto, el ondansetrón se administra en una dosis de alrededor de 3.0 µg/kg por aplicación. En un aspecto, el ondansetrón se administra en una dosis de alrededor de 4 µg/kg dos veces al día (alrededor de 0.25 a 0.6 mg dos veces al día para pesos corporales entre alrededor de 50 kg y 150 kg).

El ondansetrón (C₁₈H₁₉N₃O; N° de registro CAS 99614-02-5; nombre IUPAC: 9-metil-3-[(2-metil-1H-imidazol-1-il)metil]-1,2,3,9-tetrahydrocarbazol-4-ona) tiene la estructura siguiente:



La presente divulgación prevé el uso de otros fármacos como naltrexona como parte de la farmacoterapia de combinación dada a conocer en este documento. En una realización, la naltrexona se administra en una dosis de alrededor de 10 mg/día. En un aspecto, la naltrexona se administra en una dosis de alrededor de 50 mg/día. En un aspecto, la naltrexona se administra en una dosis de alrededor de 100 mg/día. En un aspecto, la naltrexona se administra en una dosis que varía de alrededor de 1 mg a alrededor de 300 mg por aplicación. En otro aspecto, la naltrexona se administra en una dosis que varía de alrededor de 10 mg a alrededor de 50 mg por aplicación. En otro aspecto más de la invención, la naltrexona se administra en una dosis de alrededor de 25 mg por aplicación. En una realización, la naltrexona se administra al menos una vez al mes. En otra realización, la naltrexona se administra una vez al mes. En una realización, la naltrexona se administra al menos una vez a la semana. En otra realización, la naltrexona se administra al menos una vez al día. En otra realización más, la naltrexona se administra al menos dos veces al día. En un aspecto, la naltrexona se administra dos veces al día.

La naltrexona (C₂₀H₂₃NO₄; clorhidrato de 17-(ciclopropilmetil)-4,5a-epoxi-3,14-dihidroximorfinan-6-ona; N° de registro CAS 16590-41-3) tiene la estructura siguiente:



5 La naltrexona también tiene efectos adversos importantes: náuseas y vómitos, que reducen el cumplimiento terapéutico. De hecho, alrededor del 15% de los individuos en ensayos relacionados con el consumo de alcohol son incapaces de tolerar una dosis de naltrexona de 50 mg/día. Esto ha llevado al desarrollo de formulaciones en depot que liberan la naltrexona lentamente para reducir la incidencia de náuseas y vómitos. Sin embargo, estas formulaciones en depot parecen tener tasas de incumplimiento terapéutico similares a la forma oral de la medicación. Es importante, que el ondansetrón reduce las náuseas y disminuye los vómitos al enlentecer la motilidad intestinal. Por lo tanto, una combinación que agregue ondansetrón a la naltrexona disminuirá las náuseas y los vómitos causados por la naltrexona. Este es un importante avance terapéutico porque muchas más personas serán capaces de tolerar el tratamiento debido a un mayor cumplimiento terapéutico, y se pueden administrar dosis superiores a la dosis de 50 mg/día de naltrexona administrada habitualmente, para mejorar la respuesta terapéutica.

15 En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para reducir la frecuencia de consumo de alcohol en comparación con la frecuencia de consumo de alcohol antes del tratamiento. Un técnico con experiencia podrá apreciar que la frecuencia se puede comparar con el consumo previo del sujeto o con el consumo de un sujeto de control que no recibe el tratamiento. En un aspecto, el tipo de consumo de alcohol es un consumo exagerado. En otro aspecto, es consumo excesivo.

20 En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para reducir la cantidad de alcohol que consume un sujeto en comparación con la cantidad de alcohol consumido antes del tratamiento o en comparación con el consumo de alcohol de un sujeto de control que no recibe el tratamiento.

25 Un técnico con experiencia comprenderá que en algunos casos un sujeto que está siendo tratado por un trastorno de adicción no es necesariamente dependiente. Dichos sujetos incluyen, por ejemplo, sujetos que abusan del alcohol, consumen alcohol exageradamente, beben en exceso, son bebedores problemáticos o son consumidores de drogas pesadas. La presente invención proporciona composiciones y métodos para tratar o prevenir esos comportamientos en sujetos no dependientes.

30 En una realización de la invención, la presente invención proporciona composiciones y métodos para mejorar las secuelas físicas o psicológicas asociadas al consumo de alcohol en comparación con un sujeto de control que no recibe el tratamiento.

35 En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para aumentar la tasa de abstinencia de un sujeto en comparación con un sujeto de control que no recibe el tratamiento.

40 En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para reducir el nivel promedio de consumo de alcohol en un sujeto en comparación con el nivel de consumo de alcohol antes del tratamiento o en comparación con el consumo de alcohol de un sujeto de control que no recibe el tratamiento.

En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para reducir el consumo de alcohol y para aumentar la abstinencia en comparación con el consumo de alcohol del sujeto antes del tratamiento o con un sujeto de control que no recibe el tratamiento.

45 En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para tratar a un sujeto con predisposición al alcoholismo de inicio temprano.

En una realización, la presente invención proporciona composiciones y métodos para tratar a un sujeto con predisposición al alcoholismo de inicio tardío.

50 Un técnico con experiencia comprenderá que existen varios parámetros o características del consumo de alcohol

que pueden caracterizar a un sujeto aquejado de una enfermedad o un trastorno relacionado con el alcohol. También se comprenderá que las terapias de combinación pueden ser eficaces para tratar más de un parámetro y que hay varias maneras de analizar la eficacia del tratamiento. Los parámetros analizados al medir el consumo de alcohol o la frecuencia de consumo de alcohol incluyen, pero no se limitan a, días de consumo exagerado, número de días de consumo exagerado, promedio de días de consumo, número de bebidas por día, días de abstinencia, número de individuos que no beben exageradamente o se abstienen durante un período determinado, y deseo. Se pueden usar tanto medidas subjetivas como objetivas para analizar la eficacia del tratamiento. Por ejemplo, un sujeto puede autoinformar según las pautas y procedimientos establecidos para tales informes. Los procedimientos se pueden realizar en diversos momentos, antes, durante y después del tratamiento. Además se dispone de ensayos para medir el consumo de alcohol. Estos ensayos incluyen lecturas del alcoholímetro, medir los niveles séricos de CDT y GGT, y medir los niveles de 5-HTOL en la orina.

En algunas realizaciones, un primer compuesto y un segundo compuesto se administran casi simultáneamente. En otras realizaciones, un primer compuesto se administra antes que el segundo compuesto. Aún en otras realizaciones, el primer compuesto se administra a continuación del segundo compuesto. Si se administran tres o más compuestos, un técnico con experiencia en el área comprenderá que los tres o más compuestos se pueden administrar simultáneamente o en un orden variable.

En ciertas realizaciones dadas a conocer en este documento, a un individuo se le administra una composición farmacéutica que contiene una combinación de dos o más compuestos para tratar o prevenir una enfermedad o un trastorno relacionados con adicción, o una enfermedad o un trastorno relacionados con control de impulsos. En algunas de esas realizaciones, cada compuesto es una entidad química diferente. No obstante, en otras realizaciones, los al menos dos compuestos se pueden unir mediante una unión química, como un enlace covalente, de modo que los al menos dos compuestos diferentes formen partes distintas de la misma molécula. En un aspecto, la unión química se selecciona de modo que luego de ingresar en el organismo, la unión se rompa, por ejemplo por acción enzimática, hidrólisis ácida, hidrólisis básica, o semejantes, y después se formen los dos compuestos separados.

Se pueden usar datos obtenidos de estudios previos de relación estructura-actividad (SAR) como guía para determinar qué compuestos usar y la posición o posiciones óptimas en las moléculas para unir el enlazador de modo que la potencia y la selectividad de los compuestos se mantenga elevada. El enlazador o porción ligadora se elige entre los que mostraron utilidad para unir moléculas bioactivas entre sí. En este documento se dan a conocer compuestos representativos que se pueden unir en diferentes combinaciones para formar moléculas terapéuticas heterobivalentes.

Los ejemplos de enlazadores publicados en la bibliografía científica incluyen enlazadores de metileno (CH₂)_n (Hussey et al., J. Am. Chem. Soc., 2003, 125:3692-3693; Tamiz et al., J. Med. Chem., 2001, 44:1615-1622), unidades oligo etilenoxi O(-CH₂CH₂O-)_n unidades utilizadas para unir naltrexamina a otros opioides, oligómeros de glicina de fórmula -NH-(COCH₂NH)_nCOCH₂CH₂CO-(NHCH₂CO)_nNH- utilizados para unir antagonistas y agonistas de opioides ((a) Portoghese et al., Life Sci., 1982, 31:1283-1286. (b) Portoghese et al., J. Med. Chem., 1986, 29:1855-1861), diaminas hidrófilas utilizadas para unir péptidos opioides entre sí (Stepinski et al., Internat. J. of Peptide & Protein Res., 1991, 38:588-92), espaciadores de ADN bicatenario rígidos (Paar et al., J. Immunol., 2002, 169:856-864) y el enlazador biodegradable poli(ácido L-láctico) (Klok et al., Macromolecules, 2002, 35:746-759). La unión del enlazador a un compuesto puede dar lugar a que el compuesto logre una orientación de unión favorable. El enlazador en sí, puede, o no, ser biodegradable. El enlazador puede adoptar la forma de un profármaco y ser regulable para una cinética de liberación óptima del fármaco enlazado. El enlazador puede ser conformacionalmente flexible a lo largo de toda su longitud o se puede diseñar un segmento del enlazador para que sea conformacionalmente restringido (Portugués et al., J. Med. Chem., 1986, 29:1650-1653).

Con respecto a los trastornos relacionados con el alcohol, incluidos, pero no exclusivamente abuso y dependencia del alcohol, al menos dos compuestos seleccionados del grupo que consiste en topiramato, ondansetrón, naltrexona y análogos, sus derivados y modificaciones y sus sales farmacéuticamente aceptables, se pueden utilizar para reducir el consumo de etanol asociado a dichos trastornos relacionados con el alcohol. En un aspecto, se usan topiramato y ondansetrón. Por consiguiente, la presente divulgación proporciona un método para tratar o prevenir trastornos relacionados con el alcohol, basados en el consumo de etanol, que comprende administrar a un sujeto que necesita dicho tratamiento, o prevención, una cantidad eficaz de al menos dos compuestos seleccionados del grupo que consiste en topiramato, ondansetrón y naltrexona, y sus análogos, derivados y modificaciones o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En otro aspecto, el tratamiento farmacoterápico de combinación se utiliza junto con modificación o terapia conductual.

Se pueden administrar otros tipos de compuestos para tratar adicionalmente los trastornos y las enfermedades relacionados con adicción o para tratar otras enfermedades y trastornos. Los otros tipos de compuestos incluyen, pero no exclusivamente, adrenérgicos, esteroides adrenocorticales, supresores adrenocorticales, antagonistas de la aldosterona, aminoácidos, analépticos, analgésicos, anorexígenos, anoréticos, ansiolíticos, antidepresivos,

- 5 antihipertensivos, antiinflamatorios, antieméticos, antineutropénicos, antiobsesivos, antiparkinsonianos, antipsicóticos, inhibidores del apetito, reguladores de la glucemia, inhibidores de la anhidrasa carbónica, cardiotónicos, agentes cardiovasculares, coleréticos, colinérgicos, agonistas colinérgicos, desactivadores de la colinesterasa, adyuvantes de la cognición, estimulantes cognitivos, hormonas, adyuvantes de la memoria, estimulantes del rendimiento intelectual, reguladores del humor, neurolépticos, neuroprotectores, psicotrópicos, relajantes, sedantes hipnóticos, estimulantes, hormonas tiroideas, inhibidores tiroideos, tiromiméticos, agentes contra la isquemia cerebral, vasoconstrictores y vasodilatadores.
- 10 En una realización, la presente divulgación proporciona métodos y composiciones útiles para disminuir la actividad de la dopamina mesocorticolímbica.
- En una realización, la presente divulgación proporciona métodos y composiciones útiles para regular la actividad de la dopamina mesocorticolímbica.
- 15 En una realización, la presente divulgación proporciona métodos y composiciones útiles para inhibir la función del glutamato.
- En una realización, la presente divulgación proporciona métodos y composiciones útiles para facilitar la actividad del ácido γ -amino-butiérico.
- 20 En una realización, la presente divulgación proporciona métodos y composiciones útiles para regular la actividad del ácido γ -amino-butiérico.
- 25 La presente divulgación prevé varios métodos para la administración de los compuestos de la invención. Los compuestos se pueden proporcionar, por ejemplo, como composiciones farmacéuticas en múltiples formatos, por ejemplo, pero no exclusivamente, comprimidos, cápsulas, píldoras, pastillas, jarabes, pomadas, cremas, elixires, supositorios, suspensiones, inhalantes, inyecciones (incluidas preparaciones en depot) y líquidos.
- 30 La presente invención abarca además análogos, homólogos, derivados y modificaciones biológicamente activos de los compuestos de la invención. Los métodos para la preparación de dichos compuestos son conocidos en el área. En un aspecto, los compuestos son topiramato, naltrexona y ondansetrón.
- A continuación se proporciona una lista de tipos de fármacos y fármacos específicos dentro de las categorías comprendidas en la divulgación.
- 35 Adrenérgicos: adrenalona; mesilato de amidefrina; clorhidrato de apraclonidina; tartrato de brimonidina; clorhidrato de dapiprazol; clorhidrato de deterenol; dipivefrina; clorhidrato de dopamina; sulfato de efedrina; epinefrina; bitartrato de epinefrina; borato de epinefrilo; clorhidrato de esproquina; clorhidrato de etafedrina; bromhidrato dehidroxianfetamina; levonordefrina; sulfato de mefentermina; bitartrato de metaraminol; clorhidrato de metizolina; clorhidrato de nafazolina; bitartrato de norepinefrina; oxidopamina; clorhidrato de oximetazolina; clorhidrato de fenilefrina; clorhidrato de fenilpropanolamina; fenilpropanolamina polistirex; clorhidrato de prenalterol; propilhexedrina; clorhidrato de pseudoefedrina; clorhidrato de tetrahidrozolina; clorhidrato de tramazolina; clorhidrato de xilometazolina.
- 40 Esteroides adrenocorticales: ciprocinonida; acetato de desoxicorticosterona; pivalato de desoxicorticosterona; acetato de dexametasona; acetato de fludrocortisona; flumoxonida; hemisuccinato de hidrocortisona; hemisuccinato de metilprednisolona; naflocort; procinonida; acetato de timobesona; tixedano.
- 45 Supresores adrenocorticales: aminoglutetimida; trilostano.
- 50 Disuasor del alcohol: disulfiram.
- Antagonistas de la aldosterona: canrenoato de potasio; canrenona; dicirenona; mexrenoato de potasio; prorroenoatode potasio; espironolactona.
- 55 Aminoácidos: alanina; ácido aspártico; clorhidrato de cisteína; cistina; histidina; isoleucina; leucina; lisina; acetatode lisina; clorhidrato de lisina; metionina; fenilalanina; prolina; serina; treonina; triptofano; tirosina; valina.
- 60 Analépticos: Modafinilo.
- Analgésicos: paracetamol; clorhidrato de alfentanilo; aminobenzoato de potasio; aminobenzoato de sodio; anidoxima; anileridina; clorhidrato de anileridina; clorhidrato de anilopam; anilolaco; antipirina; aspirina; benoxaprofeno; clorhidrato de bencidamina; clorhidrato de bicifadina; clorhidrato de brifentanilo; maleato de bromadolina; bromfenacosódico; clorhidrato de buprenorfina; butacetina; butixirato; butorfanol; tartrato de butorfanol;

5 carbamazepina; carbaspirina cálcica; clorhidrato de carbifeno; citrato de carfentanilo; succinato de ciprefadol; ciramadol; clorhidrato de ciramadol; clonixerilo; clonixina; codeína; fosfato de codeína; sulfato de codeína; clorhidrato de conorfona; ciclazocina; clorhidrato de dexoadrol; dexpedemolaco; dezocina; diflunisal; bitartrato de dihidrocodeína; dimefadano; dipirona; clorhidrato de doxpicomina; drinideno; clorhidrato de enadolina; epirizol; 5 tartrato de ergotamina; clorhidrato de etoxazeno; etofenamato; eugenol; fenoprofeno; fenoprofeno cálcico; citrato de fentanilo; floctafenina; flufenisal; flunixina; flunixin meglumina; maleato de flupirtina; fluprocuazona; clorhidrato de fluradolina; flurbiprofeno; clorhidratode hidromorfona; ibufenaco; indoprofeno; ketazocina; ketorfanol; ketorolaco trometamina; clorhidrato de letimida; acetato de levometadilo; clorhidrato de acetato de levometadilo; clorhidrato de levonantradol; tartrato de levorfanol; clorhidrato de lofemizol; oxalato de lofentanilo; lorcinadol; lomoxicam; salicilato 10 de magnesio; ácido mefenámico; clorhidrato de menabitanol; clorhidrato de meperidina; clorhidrato de meptazinol; clorhidrato de metadona; acetato demetadilo; metofolina; metotrimpezazina; acetato de metkefamida; clorhidrato de mimbano; clorhidrato de mirfentanilo; molinazona; sulfato de morfina; moxazocina; clorhidrato de nabitano; clorhidrato de nalbufina; clorhidrato de nalmexona; namoxirato; clorhidrato de nantradol; naproxeno; naproxeno 15 sódico; naproxol; clorhidrato de nefopam; clorhidrato de nexeridina; clorhidrato de noracimetadol; clorhidrato de ocfentanilo; octazamida; olvanilo; fumarato de deoxetorona; oxicodona; clorhidrato de oxicodona; tereftalato de oxicodona; clorhidrato de oximorfona; pemedolaco; pentamorfona; pentazocina; clorhidrato de pentazocina; lactato de pentazocina; clorhidrato de fenazopiridina; clorhidrato de feniramidol; clorhidrato de picenadol; pinadolina; pifendiona; piroxicam olamina; maleato de pravadolina; clorhidrato de protilidina; clorhidrato de profadol; fumarato de propiram; clorhidrato de propoxifeno; napsilato de propoxifeno; proxazol; citrato de proxazol; tartrato de 20 proxorfano; clorhidrato de pirrolifeno; clorhidrato de remifentanilo; salcolex; maleato de saletamida; salicilamida; salicilato meglumina; salsalato; salicilato de sodio; mesilato de espiradolina; sufentanilo; citrato de sufentanilo; talmetacina; talniflumato; talosalato; succinato de tazadoleno; tebufelona; tefuraco sódico; clorhidrato de tilidina; tiopinaco; mesilato de tonazocina; clorhidrato de tramadol; clorhidrato de trefentanilo; trolamina; clorhidrato de veradolina; clorhidrato de verilopam; volazocina; mesilato dexorfanol; clorhidrato de xilazina; mesilato de zenazocina; 25 zomepiraco sódico; zucapsaicina.

Compuestos anoréticos que incluyen dexfenfluramina.

30 Anorexígenos: aminorex; anfecloral; clorhidrato de clorfentermina; clominorex; clorhidrato de clorfermina; clorhidrato de dietilpropiona; clorhidrato de fenfluramina; fenisorex; fludorex; fluminorex; succinato de levamfetamina; mazindol; clorhidrato de mefenorex; clorhidrato de fenmetrazina; fentermina; clorhidrato de sibutramina.

35 Ansiolíticos: clorhidrato de adatsenserina; alpidem; mesilato de binospirona; bretazenil; glemanserina; clorhidrato de ipsapirona; maletato de mirisetrone; ocinaplona; clorhidrato de ondansetrón; panadiplona; pancoprida; pazinaclona; clorhidrato de serazapina; citrato de tandospirona; clorhidrato de zalospirona.

Agentes anti-cannabis: Rimonabant y otros fármacos útiles, que incluyen los fármacos que regulan los receptores cannabinoides.

40 Antidepresivos: clorhidrato de adatsenserina; adinazolam; mesilato de adinazolam; alaproclato; clorhidrato de aletamina; clorhidrato de amedalina; clorhidrato de amitriptilina; amoxapina; maleato de aptazapina; fumarato de azaloxano; azepindol; clorhidrato de azipramina; clorhidrato de bipenamol; clorhidrato de bupropiona; butacetina; clorhidrato de butriptilina; caroxazona; cartazolato; ciclazindol; clorhidrato de cidoxepina; mesilato de cilobamina; clorhidrato de clodazona; clorhidrato de clomipramina; fumarato de cotinina; ciclindol; clorhidrato de cipenamina; 45 clorhidratode ciprolidol; ciproximida; tosilato de daledalina; clorhidrato de dapoxetina; maleato de dazadol; clorhidrato de dazepinilo; clorhidrato de desipramina; dexamisol; deximafeno; clorhidrato de dibenzepina; clorhidrato de dioxadol; clorhidrato de dotiepina; clorhidrato de doxepina; clorhidrato de duloxetina; maleato de eclanamina; enciprato; clorhidrato de etoperidona; clorhidrato de fantridona; clorhidrato de fenmetozol; fenmetramida; fumarato de fezolamina; clorhidrato de fluotraceno; fluoxetina; clorhidrato de fluoxetina; clorhidrato de fluparoxán; gamfexina; 50 sulfato de guanoxifeno; clorhidrato de imafeno; clorhidrato de imiloxán; clorhidrato de imipramina; clorhidrato de indeloxazina; clorhidrato de intriptilina; iprindol; isocarboxazida; fumarato de ketipramina; clorhidrato de lofepramina; lortalamina; maprotilina; clorhidrato de maprotilina; clorhidrato de melitraceno; clorhidrato de milacemida; clorhidrato de minaprina; mirtazapina; moclobemida; sulfato de modalina; clorhidrato de napactadina; clorhidrato de napamezol; clorhidrato de nefazodona; nisoxetina; clorhidrato de nitrafudam; maleato de nomifensina; clorhidrato de nortriptilina; 55 fosfato de octriptilina; clorhidrato de opipramol; clorhidrato de oxaprottilina; oxipertina; paroxetina; sulfato de fenelzina; clorhidrato de pirandamina; pizotilina; clorhidrato de pridedina; clorhidrato de prolintano; clorhidrato de protriptilina; maleato de quipazina; roliciprina; clorhidrato de seproxetina; clorhidrato de sertralina; clorhidrato desibutramina; sulpirida; suritazol; clorhidrato de tametralina; fumarato de tampramina; clorhidrato de tandamina; clorhidrato de tiazesim; tozalinona; clorhidrato de tomoxetina; clorhidrato de trazodona; clorhidrato de trebenzomina; 60 trimipramina; maleato de trimipramina; clorhidrato de venlafaxina; clorhidrato de viloxazina; clorhidrato de zimeldina; zometapina.

Antihipertensivos: clorhidrato de alfuzosina; alipamida; altiazida; clorhidrato de amiquinsina; besilato de amlodipina; maleato de amlodipina; acetato de anaritida; maleato de atiprosina; belfosdil; bemitradina; mesilato de bendacalol;

- 5 bendorfumetiazida; benzotiazida; clorhidrato de betaxolol; sulfato de betanidina; clorhidrato de bevantolol; clorhidrato de biclodil; bisoprolol; fumarato de bisoprolol; clorhidrato de bucindolol; bupicomida; butiazida; candoxatrilo; candoxatrilo; captopril; carvedilol; ceronapril; clorotiazida sódica; cicletanina; cilazapril; clonidina; clorhidrato de clonidina; clopamida; ciclopentiazida; ciclotiazida; darodipina; sulfato de debrisoquina; clorhidrato de delapril; diapamida; diazoxida; clorhidrato de dilevalol; malato de diltiazem; ditequireno; mesilato de doxazosina; ecadotril; maletato de enalapril; enalaprilato; enalquireno; mesilato de endralazina; epitiazida; eprosartán; mesilato de eprosartán; mesilato de fenoldopam; maleato de flavodilol; flordipina; flosequinán; fosinopril sódico; fosinoprilato; guanabenz; acetato de guanabenz; sulfato de guanacina; sulfato de guanadrel; guancidina; monosulfato de guanetidina; sulfato de guanetidina; clorhidrato de guanfacina; sulfato de guanisoquina; sulfato de guanocloro; clorhidrato de guanoctina; guanoxabenz; sulfato de guanoxano; sulfato de guanoxifeno; clorhidrato de hidralazina; hidralazina polistirex; hidroflumetiazida; indacrinona; indapamida; clorhidrato de indolapril; indoramina; clorhidrato de indoramina; clorhidrato de indorenato; lacidipina; leniquinsina; levromakalim; lisinopril; clorhidrato de lofedina; losartán potásico; clorhidrato de losulazina; mebutamato; clorhidrato de mecamilamina; medroxalol; clorhidrato de medroxalol; metaltiazida; metoclopramida; metildopa; clorhidrato de metildopato; metipranolol; metolazona; fumarato de metoprolol; succinato de metoprolol; metirosina; minoxidil; maleato de monatepil; muzolimina; neбивolol; nitrendipina; ofornina; clorhidrato de pargilina; pazoxido; clorhidrato de pelanserina; perindopril erbumina; clorhidrato de fenoxibenzamina; pinacidil; pivopril; politiazida; clorhidrato de prazosina; primidolol; clorhidrato de prizidilol; clorhidrato de quinapril; quinaprilato; clorhidrato de quinazosina; clorhidrato de quinolorano; clorhidrato de quimpirol; bromuro de quinuclo; ramipril; rauwolfia serpentina; reserpina; sapisartán potásico; acetato de saralazina; nitroprusido sódico; clorhidrato de sulfinalol; tasesartán; clorhidrato de teludipina; clorhidrato de temocapril; clorhidrato de terazosina; terlakiren; tiamenidina; clorhidrato de tiamenidina; ticrinafeno; tinabinol; tiodazosina; clorhidrato de tipentosina; ticlormetiazida; clorhidrato de trimazosina; camsilato de trimetafano; clorhidrato de trimoxamina; tripamida; xipamida; clorhidrato de zanquireno; zofenoprilato arginina.
- 25 Antiinflamatorios: alclofenac; dipropionato de alclometasona; acetónido de algestona; alfa-amilasa; amcinafal; amcinafida; amfenac sódico; clorhidrato de amiprilosa; anakinra; aniolac; anitrazafeno; apazona; balsalazida disódica; bendazac; benoxaprofeno; clorhidrato de bencidamina; bromelinas; broperamol; budesonida; carprofeno; cicloprofeno; cintazona; cliprofeno; propionato de clobetasol; butirato de clobetasona; clopirac; propionato de cloticasona; acetato de cormetasona; cortodoxona; deflazacort; desonida; desoximetasona; dipropionato de dexametasona; diclofenac potásico; diclofenac sódico; diacetato de diflorasona; diflumidona sódica; diflunisal; difluprednato; diftalona; dimetilsulfóxido; drocinonida; endrisona; enlimomab; enolicam sódico; epirizol; etodolac; etofenamato; felbinac; fenamol; fenbufeno; fenclofenac; fenclorac; fendosal; fempipalona; fentiazac; flazalona; fluazacort; ácido flufenámico; flumizol; acetato de flunisolida; flunixina; flunixin meglumina; fluocortina butilo; acetato de fluorometolona; flucuzona; flurbiprofeno; fluretofeno; propionato de fluticasona; furaprofeno; furobufeno; halcinonida; propionato de halobetasol; acetato de halopredona; ibufenaco; ibuprofeno; ibuprofeno aluminico; ibuprofeno piconol; ilonidap; indometacina; indometacina sódica; indoprofeno; indoxol; intrazol; acetato de isoflupredona; isoxepac; isoxicam; ketoprofeno; clorhidrato de lofemizol; lornoxicam; etabonato de loteprednol; meclofenamato sódico; ácido meclofenámico; dibutirato de meclorisona; ácido mefenámico; mesalamina; meseclazona; suleptanato de metilprednisolona; momiflumato; nabumetona; naproxeno; naproxeno sódico; naproxol; nimazona; olsalazina sódica; orgoteína; orpanoxina; oxaprozina; oxifembutazona; clorhidrato de paranilina; polisulfato sódico de pentosán; glicerato sódico defembutazona; pifenedona; piroxicam; cinamato de piroxicam; piroxicam olamina; piroprofeno; prednazato; prifelona; ácido prodólico; procuazona; proxazol; citrato de proxazol; rimexolona; romazarit; salcolex; salnacedina; salsalato; cloruro de sanguinario; seclazona; sermetacina; sudoxicam; sulindac; suprofen; talmecacina; talniflumato; talosalato; tebufelona; tenidap; tenidap sódico; tenoxicam; tesicam; tesimida; tetridamina; tiopinac; pivalato de tixocortol; tolmetina; tolmetina sódica; triclónida; triflumidato; zidometacina; zomepirac sódico.
- 30
- 35
- 40
- 45
- Antieméticos: clorhidrato de buclizina; lactato de ciclizina; clorhidrato de nabocato.
- 50 Antineutropénicos: filgrastim; lenograstim; molgramostim; regramostim; sargramostim.
- Antiobesivos: maleato de fluvoxamina.
- Antiparkinsonianos: maleato de benzotropina; biperideno; clorhidrato de biperideno; lactato de biperideno; carmantadina; clorhidrato de ciladopa; dopamantina; clorhidrato de etopropazina; lazabemida; levodopa; clorhidrato de lometralina; clorhidrato de mofegilina; clorhidrato de naxagolida; sulfato de pareptida; clorhidrato de prociclidina; clorhidrato de quinotorán; clorhidrato de ropinirol; clorhidrato de selegilina; tolcapona; clorhidrato de trihexifenidilo.
- Antiperistálticos: clorhidrato de difenoximida; difenoxina; clorhidrato de difenoxilato; fluperamida; clorhidrato de lidamidina; clorhidrato de loperamida; maletamer; nufenoxol; paregórico.
- 60 Antipsicóticos: maleato de acetofenazina; bromhidrato de alentemol; alpertina; azaperona; maleato de batelapina; bemperidol; clorhidrato de bencindopirina; brofbxina; bromperidol; decanoato de bromperidol; clorhidrato de butaclamol; butaperazina; maleato de butaperazina; maleato de carfenazina; clorhidrato de carvotrolina; clorpromazina; clorhidrato de clorpromazina; clorprotixeno; cimpereno; cintriamida; fosfato de clomacrán; clopextinol;

5 clopimozida; mesilato de clopipazán; clorhidrato de cloroperona; clotiapina; maleato de clotixamida; clozapina; clorhidrato de ciclofenazina; droperidol; clorhidrato de etazolato; fenimida; flucindol; flumezapina; decanoato de flufenazina; enantato de flufenazina; clorhidrato de flufenazina; fluspiperona; fluspirileno; flutrolina; clorhidrato de gevotrolina; halopemida; haloperidol; decanoato de haloperidol; iloperidona; clorhidrato de imidolina; lemperona; succinato de mazapertina; mesoridazina; besilato de mesoridazina; metiapina; milemperona; milipertina; clorhidrato de molindona; clorhidrato de naranol; clorhidrato de neflumozida; ocaperidona; olanzapina; oxiperomida; penfluridol; maleato de pentiapina; perfenazina; pimozida; clorhidrato de pinoxepina; pipamperona; piperacetazina; palmitato de pipotiazina; clorhidrato de piquindona; edisilato de proclorperazina; maleato de proclorperazina; clorhidrato de promazina; remoxiprida; clorhidrato de remoxiprida; clorhidrato de rimcazol; clorhidrato de seperidol; sertindol; setoperona; espiperona; tioridazina; clorhidrato de tioridazina; tiotixeno; clorhidrato de tiotixeno; clorhidrato de tioperidona; clorhidrato de tiospirona; clorhidrato de trifluoperazina; trifluperidol; triflupromazina; clorhidrato de triflupromazina; clorhidrato de ziprasidona.

15 Inhibidores del apetito: clorhidrato de dexfenfluramina; tartrato de fendimetrazina; clorhidrato de fentermina.

Reguladores de la glucemia: insulina humana; glucagón; tolazamida; tolbutamida; cloropropamida; acetohexamida y glipizida.

20 Inhibidores de la anhidrasa carbónica: acetazolamida; acetazolamida sódica, diclorfenamida; clorhidrato de dorzolamida; metazolamida; clorhidrato de sezolamida.

25 Depresores cardíacos: clorhidrato de acecainida; cloruro de acetilcolina; actisomida; adenosina; amiodarona; aprindina; clorhidrato de aprindina; fumarato de artilida; diclorhidrato de azimilida; bidisomida; maleato de bucainida; bucromarona; clorhidrato de butoprozina; capobenato sódico; ácido capobénico; cifenlina; succinato de cifenlina; fosfato de clofilio; disobutamida; disopiramida; fosfato de disopiramida; dofetilida; drobulina; acetato de edifolona; tosilato de emilio; clorhidrato de encainida; acetato de flecainida; fumarato de ibutilida; clorhidrato de indecainida; fumarato de ipazilida; clorhidrato de lorajmina; clorhidrato de lorcainida; sulfato de meobentina; clorhidrato de mexiletina; modecainida; moricizina; oxiramida; clorhidrato de pirmenol; pirolazamida; cloruro de pranolio; clorhidrato de procainamida; clorhidrato de propafenona; pirinolina; bromuro de quindonio; gluconato de quinidina; sulfato de quinidina; clorhidrato de recainam; tosilato de recainam; clorhidrato de risotilida; clorhidrato de ropitoina; clorhidrato de sematilida; maleato de suricainida; tocinida; clorhidrato de tocinida; transcainida.

35 Cardiotónicos: actodigina; amrinona; bemoradano; butopamina; carbazerano; succinato de carsatrina; deslanósido; digitalis; digitoxina; digoxina; dobutamina; clorhidrato de dobutamina; lactobionato de dobutamina; tartrato de dobutamina; enoximona; clorhidrato de imazodano; indolidán; clorhidrato de isomazol; lactobionato de levodbutamina; sulfato de lixazinona; medorinona; milrinona; clorhidrato de pelrinona; pimobendano; piroximona; prinoxodano; proscilaridina; quazinona; clorhidrato de tazolol; vesnarinona.

40 Agentes cardiovasculares: dopexamina; clorhidrato de dopexamina.

Coleréticos: ácido deshidrocólico; fencibutirol; himecromona; piprozolina; sincalida; tocanfilo.

45 Colinérgicos: aceclidina; cloruro de betanecol; carbacol; bromuro de demecario; dexpanthenol; yoduro de ecotiofato; isoflurofato; cloruro de metacolina; bromuro de neostigmina; metilsulfato de neostigmina; fisostigmina; salicilato de fisostigmina; sulfato de fisostigmina; pilocarpina; clorhidrato de pilocarpina; nitrato de pilocarpina; bromuro de piridostigmina.

Agonistas colinérgicos: xanomelina; tartrato de xanomelina.

50 Desactivadores de la colinesterasa: cloruro de obidoxima; cloruro de pralidoxima; yoduro de pralidoxima; mesilato de pralidoxima.

Coccidióstatos: arprinocid; narasina; semduramicina; semduramicina sódica.

55 Adyuvantes de la cognición: mesilatos de ergoloid; piracetam; clorhidrato de pramiracetam; sulfato de pramiracetam; clorhidrato de tacrina.

Estimulantes cognitivos: clorhidrato de besipirdina; linopirdina; sibopirdina.

60 Agonista del receptor de dopamina: cabergolina (Dostinex)

Hormonas: dietilestilbestrol; progesterona; 17-hidroxi-progesterona; medroxiprogesterona; norgestrel; noretinodrel; estradiol; megestrol (megace); noretindrona; levonorgestrel; etindiol; etinil-estradiol; mestranol; estrona; equilina; 17-alfa-dihidroequilina; equilenina; 17-alfa-dihidroequilenina; 17-alfa-estradiol; 17-beta-estradiol; leuprolida (luprón);

- glucagón; testolactona; clomifeno; gonadotropinas menopáusicas humanas; gonadotropinas coriónicas humanas; urofolitropina; bromocriptina; gonadorelina; hormona liberadora de la hormona luteinizante y análogos; gonadotropinas; danazol; testosterona; deshidroepiandrosterona; androstenodiona; dihidroestosterona; relaxina; oxitocina; vasopresina; foliculoestatina; proteína reguladora del folículo; gonadotrofinas; inhibidor de la maduración del ovocito; factor de crecimiento de insulina; hormona estimuladora del folículo; hormona luteinizante; tamoxifeno; triflutato de corticorelina ovina; cosintropina; metogest; hipófisis posterior; acetato de seractida; somalapor; somatrem; somatropina; somenopor; somidobova.
- 5
- Adyuvantes de la memoria: clorhidrato de dimoxamina; ribaminol.
- 10
- Estimulantes del rendimiento intelectual: aniracetam.
- Reguladores del humor: fengabina
- 15
- Neurolépticos: fumarato de duoperona; risperidona.
- Neuroprotectores: maleato de dizocilpina.
- 20
- Psicotrópicos: minaprina.
- Relajantes: clorhidrato de adifenina; cloruro de alcuronio; aminofilina; azumoleno sódico; baclofeno; clorhidrato de benzocetamina; carisoprodol; carbamato de clorfenesina; clorzoxazona; cinflumida; cinamedrina; clodanolo; clorhidrato de ciclobenzaprina; dantroleno; dantroleno sódico; fenalamida; clorhidrato de feniripol; clorhidrato de fetoxilato; clorhidrato de flavoxato; fletazepam; flumetramida; clorhidrato de flurazepam; bromuro de hexafluorenio; clorhidrato de isomilamina; lorbamato; clorhidrato de mebeverina; clorhidrato de mesuprina; metaxalona; metocarbamol; clorhidrato de metixeno; malato de nafomina; maleato de nelezaprina; clorhidrato de papaverina; clorhidrato de pipoxolán; quinctolato; ritodrina; clorhidrato de ritodrina; rolodina; glicinato sódico de teofilina; clorhidrato de tifenamilo; xilobam.
- 25
- 30
- Sedantes-hipnóticos: alobarbital; alonimida; alprazolam; amobarbital sódico; bentazepam; brotizolam; butabarbital; butabarbital sódico; butalbital; capurida; carbocloral; cloral betaína; hidrato de cloral; clorhidrato de clordiazepóxido; clorhidrato de cloperidona; cloretato; ciprazepam; clorhidrato de dexclamol; diazepam; dicloralfenazona; estazolam; etclorvinol; etomidato; fenobam; flunitrazepam; fosazepam; glutetimida; halazepam; lormetazepam; meclucualona; meprobamato; metacualona; midafur; paraldehído; pentobarbital; pentobarbital sódico; perlapina; prazepam; quazepam; reclazepam; roletamida; secobarbital; secobarbital sódico; suproclona; talidomida; tracazolato; maleato de trepipam; triazolam; tricetamida; triclofos sódico; trimetozina; uldazepam; zaleplón; clorhidrato de zolazepam; tartratode zolpidem.
- 35
- 40
- Antagonistas de la serotonina: tartrato de altanserina; amesergida; ketanserina; ritanserina.
- Inhibidores de la serotonina: clorhidrato de cinanserina; fenclonina; mesilato de fonazina; tosilito de xilamidina.
- Antagonistas de los receptores de serotonina: clorhidrato de tropanserina.
- 45
- Estimulantes: ácido amfonélico; sulfato de anfetamina; sulfato de ampizina; clorhidrato de arbutamina; azabón; cafeína; ceruletida; ceruletida dietilamina; cisaprida; fumarato de dazoprida; dextroanfetamina; sulfato de dextroanfetamina; clorhidrato de difluanina; clorhidrato de dimeflina; clorhidrato de doxapram; acetato de etriptamina; etamivan; clorhidrato de fenetilina; clorhidrato de flubanilo; fluotilo; fosfato de histamina; clorhidrato de indrilina; mefexamida; clorhidrato de metanfetamina; clorhidrato de metilfenidato; pemolina; clorhidrato de pirovalerona; xamoterol; fumarato de xamoterol. Sinérgicos: clorhidrato de proadifeno. Hormonas tiroideas: levotiroxina sódica; liotironina sódica; liotrix. Inhibidores tiroideos: metimazol; propiltiuracilo.
- 50
- Tiromiméticos: clorhidrato de tiromedán. Agentes contra la isquemia cerebral: clorhidrato de dextrofrano.
- 55
- Vasoconstrictores: angiotensinamida; felipresina; metisergida; maleato de metisergida.
- Vasodiladores: alprostadil; clorhidrato de azaclorzina; sulfato de bameván; clorhidrato de bepridil; buterizina; citrato de cetiedilo; clorhidrato de cromonar; clonitrato; clorhidrato de diltiazem; dipiridamol; droprenilamina; tetranitrato de eritritilo; felodipina; clorhidrato de flunarizina; fostedilo; hexobendina; niacinato de inositol; clorhidrato de iproxamina; dinitrato de isosorbida; mononitrato de isosorbida; clorhidrato de isoxsuprina; lidoflazina; mefenidil; fumarato de mefenidil; diclorhidrato de mibefradilo; clorhidrato de mioflazina; mixidina; oxalato de nafonilo; clorhidrato de nicardipina; nicergolina; nicorandil; alcohol nicotínico; nifedipina; nimodipina; nisoldipina; oxfenicina; clorhidrato de deoxprenolol; tetranitrato de pentaeritritol; pentoxifilina; pentritinol; maleato de perhexilina; pindolol; pirsidomina; prenilamina; nitrato de propatilo; suloctidilo; clorhidrato de terodilina; clorhidrato de tipropidil; clorhidrato de tolazolina;
- 60

niacinato de xantinol.

Los ensayos y métodos para probar los compuestos de la invención se describen en este documento o son conocidos en el área. Por ejemplo, véase Lippa et al., Pat de Estados Unidos. Pub. N° 2006/0173-64, publicado el 3 de agosto de 2006.

La divulgación se refiere además al tratamiento y la prevención de la obesidad, es decir, para actuar sobre la pérdida de peso y así prevenir el aumento de peso. La obesidad es un trastorno caracterizado por la acumulación de exceso de grasa en el cuerpo. La obesidad ha sido reconocida como una de las principales causas de enfermedad y se perfila como un problema mundial. El aumento de los casos de complicaciones como hipertensión, diabetes mellitus no dependiente de insulina, arteriosclerosis, dislipemia, ciertas formas de cáncer, apnea del sueño y osteoartritis se ha relacionado a casos de aumento de la obesidad en la población general. En un aspecto, la invención abarca administrar a un sujeto que lo necesita una terapia de combinación para inducir la pérdida de peso. Por ejemplo, se identifica a sujetos que tienen un IMC mayor de alrededor de 25 (25.0-29.9 se considera sobrepeso) para tratamiento. En un aspecto, los individuos tienen un índice de masa corporal superior a 30 (30 y por encima se considera obeso). En otro aspecto, un sujeto puede ser destinado a tratamiento para prevenir el aumento de peso. En una realización, a un individuo se le indica que tome al menos un compuesto de la invención por lo menos una vez al día y al menos un segundo compuesto de la invención por lo menos una vez al día. El compuesto puede estar en forma de, por ejemplo, un comprimido, una pastilla, un líquido, etc. En un aspecto, un tercer compuesto también se toma diariamente. En una realización, los compuestos se pueden tomar más de una vez al día. En otra realización, los compuestos se toman menos de una vez al día. Las dosis pueden ser determinadas basándose en lo que se conoce en el área o lo que se determina que es lo mejor para un sujeto de esa edad, género, estado de salud, peso, etc. Los compuestos útiles para tratar la obesidad según los métodos de la invención, incluyen, pero no exclusivamente, topiramato, naltrexona y ondansetrón. Véase Weber (Pat de los Estados Unidos. Pub. N° 20070275970) y McElroy (Pat de los Estados Unidos. N° 6,323,236) por información y técnicas adicionales para la administración de fármacos útiles para el tratamiento de la obesidad, los trastornos adictivos y los trastornos de control de impulsos y para determinar los esquemas de dosificación.

Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables se pueden preparar a partir de bases orgánicas e inorgánicas. Las sales derivadas de bases inorgánicas, incluyen sólo a modo de ejemplo, sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio y magnesio. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, pero no exclusivamente, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, como alquilaminas, dialquilaminas, trialquilaminas, alquilaminas sustituidas, di(alquil sustituido)aminas, tri(alquil sustituido)aminas, alquenilaminas, dialquenilaminas, trialquenilaminas, alquenilaminas sustituidas, di(alquenil sustituido)aminas tri(alquenil sustituido)aminas, cicloalquilaminas, di(cicloalquil)aminas tri(cicloalquil)aminas, cicloalquilaminas sustituidas, cicloalquilaminas disustituidas, cicloalquilaminas trisustituidas, cicloalquenilaminas, di(cicloalquenil)aminas, tri(cicloalquenil)aminas, cicloalquenilaminas sustituidas, cicloalquenilaminas disustituidas, cicloalquenilaminas trisustituidas, arilaminas, diarilaminas, triarilaminas, heteroarilaminas, diheteroarilaminas, triheteroarilaminas, aminas heterocíclicas, aminas diheterocíclicas, aminas triheterocíclicas, mezcla de di - y tri-aminas donde al menos dos de los sustituyentes en la amina son diferentes y se seleccionan del grupo que consiste en alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, arilo, heteroarilo, heterocíclico y similares. También se incluyen las aminas en las que dos o tres sustituyentes, junto con el nitrógeno amino, forman un grupo heterocíclico o heteroarilo. Los ejemplos de aminas adecuadas incluyen, sólo a modo de ejemplo, isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, tri(iso-propil)amina, tri(n-propil)amina, etanolamina, 2-dimetilaminoetanol, trometamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina, betaína, etilendiamina, glucosamina, N-alquilglucaminas, teobromina, purinas, piperazina, piperidina, morfolina, N-etilpiperidina y similares. También se debe entender que otros derivados de ácido carboxílico serían útiles en la práctica de esta invención, por ejemplo, las amidas de ácidos carboxílicos, por ejemplo carboxamidas, alquil inferior carboxamidas, dialquilcarboxamidas y similares.

Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se pueden preparar a partir de ácidos orgánicos e inorgánicos. Las sales derivadas de ácidos inorgánicos incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares. Las sales derivadas de ácidos orgánicos incluyen ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-tolueno-sulfónico, ácido salicílico y similares.

Intervención y gestión psicosocial

Los tratamientos de combinación de fármacos de la presente divulgación se pueden completar además proporcionando a los sujetos una forma de intervención y/o gestión psicosocial, como un tratamiento de mejora del cumplimiento conductual breve (BBCET). BBCET, un procedimiento estandarizado, guiado por manual, breve (es decir, se trasmite en unos 15 minutos), de mejora de adherencia psicosocial, que hace hincapié en que el cumplimiento de la medicación es crucial para cambiar el comportamiento de consumo de los participantes (Johnson

et al., Brief Behavioral Compliance Enhancement Treatment (BBCET) manual. En: Johnson BA, Ruiz P, Galanter M, eds. Handbook of clinical alcoholism treatment. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins; 2003, 282-301). Se ha demostrado que intervenciones breves (Edwards et al., J. Stud. Alcohol. 1977, 38:1004-1031) como BBCET, benefician el tratamiento de la dependencia del alcohol. El BBCET fue modelado basándose en la condición de manejo clínico en el ensayo cooperativo sobre depresión del National Institute of Mental Health, que se utilizó como complemento del requisito de medicación para ese estudio (Fawcett et al. Psychopharmacol Bull. 1987, 23:309-324). El BBCET se utilizó con éxito como la plataforma de tratamiento psicosocial en los ensayos de eficacia del topiramato, en un solo centro y en múltiples centros, para el tratamiento de la dependencia del alcohol (Johnson et al., Lancet. 2003, 361:1677-1685; Johnson et al., JAMA, 2007, 298:1641-1651). Es transmitido por personal médico capacitado, inclusive personal de enfermería y otras personas no especializadas. La uniformidad y la coherencia en la transmisión del BBCET están garantizados por la supervisión y la formación continuas. El BBCET es un material con derechos de autor (Johnson et al., Brief Behavioral Compliance Enhancement Treatment (BBCET) manual. En: Johnson BA, Ruiz P, Galanter M, eds. Handbook of clinical alcoholism treatment. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins; 2003, 282-301).

La presente divulgación se refiere además al uso de regímenes de gestión psicosocial distintos del BBCET, que incluyen, pero no exclusivamente, terapia cognitivo-conductual con entrenamiento en habilidades (CBT) (Project MATCH Research Group. Matching Alcoholism Treatments to Client Heterogeneity: Project MATCH posttreatment drinking outcomes. J Stud Alcohol. 1997;58:7-29), terapia de reforzamiento motivacional (MET) (Project MATCH Research Group. Matching Alcoholism Treatments to Client Heterogeneity: Project MATCH posttreatment drinking outcomes. J. Stud. Alcohol. 1997, 58:7-29), terapia de facilitación de doce pasos (TSF) (Project MATCH Research Group. Matching Alcoholism Treatments to Client Heterogeneity: Project MATCH posttreatment drinking outcomes. J. Stud. Alcohol. 1997, 58:7-29), intervención conductual combinada (CBI), (Anton et al., JAMA, 2006, 295:2003-2017) manejo médico (MM) (Anton et al., JAMA, 2006, 295:2003-2017), o el modelo BRENDA que implica una evaluación biopsicosocial, informe, empatía, necesidades, asesoramiento directo y evaluación (Garbutt et al., JAMA, 2005, 293:1617-1625). La presente invención abarca además el uso de intervenciones alternativas como hipnosis o acupuntura para ayudar en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno adictivos.

Los programas de gestión psicosocial se pueden usar antes, durante y después de tratar al sujeto con la farmacoterapia de combinación de la invención.

Un técnico con experiencia en el área reconocerá que se pueden usar procedimientos de gestión psicosocial, así como intervenciones alternativas como hipnosis o acupuntura, en combinación con farmacoterapia de combinación para tratar los trastornos adictivos y relacionados con los impulsos distintos de las enfermedades y los trastornos relacionados con el alcohol.

La presente divulgación se refiere además al uso de farmacoterapia de combinación e intervención conductual (psicosocial) o entrenamiento, para tratar otros trastornos adictivos y/o de control de impulsos.

Por ejemplo, el trastorno por atracón (BED) se caracteriza por periodos diferenciados de atracones durante los cuales se consumen grandes cantidades de alimentos en un periodo de tiempo diferenciado y por carecer de sensación de control sobre la alimentación. Se ha informado de que personas con bulimia nerviosa tienen anomalías electroencefalográficas y muestran reducción de los atracones en respuesta al fármaco antiepiléptico fenitoína. Además, en ensayos controlados en pacientes con epilepsia, el topiramato se asoció con inhibición del apetito y pérdida de peso no relacionada con los atracones. Se ha demostrado que el ondansetrón reduce los atracones.

El trastorno por atracón es un subconjunto de una clasificación mayor de trastornos mentales definidos ampliamente como trastornos en el control de los impulsos (ICD) caracterizados por conductas perjudiciales realizadas en respuesta a impulsos irresistibles. Se ha sugerido que los ICD pueden estar relacionados con el trastorno obsesivo-compulsivo o de manera similar, quizá con formas de trastornos obsesivo-compulsivos. También se ha planteado la hipótesis de que los ICD pueden estar relacionados con el trastorno del humor o pueden ser formas del trastorno de espectro afectivo, una familia de trastornos que se plantea como hipótesis que comparten al menos una anomalía fisiológica común con la depresión mayor. En el Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) (Manual estadístico y de diagnóstico de los trastornos mentales), la característica esencial de un ICD es la incapacidad de resistir un impulso, instinto o tentación de llevar a cabo un acto que es perjudicial para la persona o para otros. En la mayoría de los ICD, el individuo siente una sensación creciente de tensión o excitación antes de cometer el acto y después experimenta placer, gratificación o liberación en el momento de cometer el acto. Una vez realizado el acto, puede haber o no arrepentimiento o culpabilidad. Los ICD se enumeran en una categoría residual, los ICD no clasificados en otra parte, que incluyen trastorno explosivo intermitente (IED), cleptomanía, ludopatía, piromanía, tricotilomanía y los ICD no especificados en otra parte (NOS). Los ejemplos de ICD NOS son las compras compulsivas, la automutilación repetitiva, las adicciones sexuales no parafilicas, morderse las uñas compulsivamente, rascarse compulsivamente la piel, los trastornos de personalidad con características impulsivas, el trastorno por déficit de atención/hiperactividad, los trastornos alimentarios caracterizados por atracones y las toxicomanías.

5 Muchos fármacos pueden causar adicción física y/o psicológica. Los más conocidos incluyen opioides, como heroína, opio y morfina; simpaticomiméticos, incluidos cocaína y anfetaminas; sedantes-hipnóticos, incluidos alcohol, benzodiazepinas y barbituratos; y nicotina, que tiene efectos similares a los opioides y a los simpaticomiméticos. La drogadicción se caracteriza por un deseo o compulsión por tomar la droga y una incapacidad para limitar su ingesta. Además, la dependencia de las drogas se asocia a la tolerancia de la droga, la pérdida del efecto de ésta tras la administración repetida y la abstinencia, la aparición de síntomas físicos y de comportamiento cuando no se consume la droga. Se produce sensibilización si la administración repetida de una droga conduce a una mayor respuesta a cada dosis. La tolerancia, sensibilización y abstinencia son fenómenos que evidencian un cambio en el sistema nervioso central debido a un consumo continuado de la droga. Este cambio motiva al individuo adicto a continuar consumiendo la droga a pesar de las graves consecuencias sociales, legales, físicas o profesionales.

15 Los trastornos de déficit de atención incluyen, pero no exclusivamente, trastorno de déficit de atención con hiperactividad, tipo predominantemente desatento; trastorno de déficit de atención con hiperactividad, tipo predominantemente hiperactivo-impulsivo; trastorno de déficit de atención con hiperactividad, tipo combinado; y trastorno de déficit de atención con hiperactividad no especificado (NOS); trastorno de la conducta; trastorno de oposición desafiante; y trastorno de comportamiento perturbador no especificado (NOS).

20 Los trastornos depresivos incluyen, pero no exclusivamente, trastorno depresivo mayor recurrente; trastorno distímico; trastorno depresivo no especificado (NOS); y trastorno depresivo mayor, episodio único.

La enfermedad de Parkinson incluye, pero no exclusivamente, parkinsonismo inducido por neurolépticos.

25 Los trastornos adictivos incluyen, pero no exclusivamente, trastornos alimentarios, trastornos del control de impulsos, trastornos relacionados con alcohol, trastornos relacionados con nicotina, trastornos relacionados con anfetaminas, trastornos relacionados con cannabis, trastornos relacionados con cocaína, ludopatía, trastornos sexuales, trastornos por consumo de alucinógenos, trastornos relacionados con inhalantes y trastornos relacionados con opioides, todos los cuales se subclasifican además según se indica a continuación.

30 Los trastornos alimentarios incluyen, pero no exclusivamente, bulimia nerviosa, tipo no purgativo; bulimia nerviosa, tipo purgativo; y trastorno alimentario no especificado (NOS).

35 Los trastornos del control de impulsos incluyen, pero no exclusivamente, trastorno explosivo intermitente, cleptomanía, piromanía, ludopatía, tricotilomanía, y trastorno del control de impulsos no especificado (NOS).

Los trastornos relacionados con nicotina incluyen, pero no exclusivamente, dependencia de la nicotina, abstinencia de la nicotina, y trastorno relacionado con nicotina no especificado (NOS).

40 Los trastornos relacionados con anfetaminas incluyen, pero no exclusivamente, dependencia de anfetaminas, abuso de anfetaminas, intoxicación por anfetaminas, abstinencia de anfetaminas, delirio por intoxicación por anfetaminas, trastorno psicótico inducido por anfetaminas con delirios, trastornos psicóticos inducidos por anfetaminas con alucinaciones, trastorno del humor inducido por anfetaminas, trastorno de ansiedad inducido por anfetaminas, disfunción sexual inducida por anfetaminas, trastorno del sueño inducido por anfetaminas, trastorno relacionado con anfetaminas no especificado (NOS), intoxicación por anfetaminas y abstinencia de anfetaminas.

45 Los trastornos relacionados con cannabis incluyen, pero no exclusivamente, dependencia de cannabis; abuso de cannabis; intoxicación por cannabis; delirio por intoxicación por cannabis; trastorno psicótico inducido por cannabis con delirios; trastorno psicótico inducido por cannabis con alucinaciones; trastorno de ansiedad inducido por cannabis; trastorno relacionado con cannabis no especificado (NOS); e intoxicación por cannabis.

50 Los trastornos relacionados con cocaína incluyen, pero no exclusivamente, dependencia de la cocaína, abuso de cocaína, intoxicación por cocaína, abstinencia de cocaína, delirio por intoxicación por cocaína, trastorno psicótico inducido por cocaína con delirios, trastorno psicótico inducido por cocaína con alucinaciones, trastorno del humor inducido por cocaína, trastorno de ansiedad inducido por cocaína, disfunción sexual inducida por cocaína, trastorno del sueño inducido por cocaína, trastornos relacionados con cocaína no especificados (NOS), intoxicación por cocaína y abstinencia de cocaína.

60 Los trastornos por consumo de alucinógenos incluyen, pero no exclusivamente, dependencia de alucinógenos, abuso de alucinógenos, intoxicación por alucinógenos, abstinencia de alucinógenos, delirio por intoxicación por alucinógenos, trastorno psicótico inducido por alucinógenos con delirios, trastorno psicótico inducido por alucinógenos con alucinaciones, trastorno del humor inducido por alucinógenos, trastorno de ansiedad inducido por alucinógenos, disfunción sexual inducida por alucinógenos, trastorno del sueño inducido por alucinógenos, trastorno relacionado con alucinógenos no especificado (NOS), intoxicación por alucinógenos y trastorno perceptivo persistente por alucinógenos (Flashbacks).

Los trastornos relacionados con inhalantes incluyen, pero no exclusivamente, dependencia de inhalantes; abuso de inhalantes; intoxicación por inhalantes; delirio por intoxicación por inhalantes; trastorno psicótico inducido por inhalantes con delirios; trastorno psicótico inducido por inhalantes con alucinaciones; trastorno de ansiedad inducido por inhalantes; trastorno relacionado con inhalantes no especificado (NOS); e intoxicación por inhalantes.

Los trastornos relacionados con opioides incluyen, pero no exclusivamente, dependencia de opioides, abuso de opioides, intoxicación por opioides, delirio por intoxicación por opioides, trastorno psicótico inducido por opioides con delirios, trastorno psicótico inducido por opioides con alucinaciones, trastorno de ansiedad inducido por opioides, trastornos relacionados con opioides no especificado (NOS), intoxicación por opioides y abstinencia de opioides.

Los trastornos de tics incluyen, pero no exclusivamente, trastorno de Tourette, trastorno de tic motor crónico o trastorno crónico de tic vocal, trastorno de tic transitorio, trastorno de tic no especificado (NOS), tartamudeo, trastorno autístico y trastorno de somatización.

La presente divulgación se refiere además al tratamiento de al menos dos enfermedades o trastornos adictivos o trastornos de control de impulsos simultáneamente. Por ejemplo, la presente invención prevé el tratamiento simultáneo de trastornos relacionados con alcohol y control de peso (véanse los ejemplos).

La presente divulgación también abarca el uso de los compuestos y las terapias de combinación de la invención en circunstancias en las que puede ser aplicable el tratamiento obligatorio. Por ejemplo, un tribunal puede requerir que el sujeto sea tratado o tome parte en un programa de tratamiento utilizando compuestos o terapias de combinación de la invención como parte de la terapia obligatoria relacionada con el abuso o el consumo excesivo de alcohol, el consumo de drogas, etc. Más concretamente, la invención abarca aplicaciones forenses, donde un tribunal podría requerir que un sujeto que ha sido condenado por conducir bajo la influencia del alcohol se someta a los métodos de la invención como parte de una condición de libertad bajo fianza, libertad condicional, tratamiento, etc.

La invención también abarca el uso de composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de la invención para la práctica de los métodos de la invención, donde las composiciones contienen al menos un compuesto apropiado y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Otros métodos útiles para la práctica de la invención se pueden encontrar, por ejemplo, en la patente de los Estados Unidos Pub. N° 2006/0173064 (Lippa et al.), la patente de los Estados Unidos N° 6,323,236 (McElroy), la patente de los Estados Unidos Pub. N° 2007/0275970, la solicitud PCT PCT/US/2008/052628 (Johnson et al.) presentada el 31 de enero de 2008, y la solicitud PCT PCT/US/2007/088100 (Johnson y Tiouririne), presentada el 19 de diciembre de 2007.

En una realización, una composición de la invención puede contener un compuesto de la invención.

Las composiciones farmacéuticas útiles para poner en práctica la invención se pueden administrar, por ejemplo, para que liberen una dosis entre 1 ng/kg/día y 100 mg/kg/día.

Las composiciones farmacéuticas que son útiles en los métodos de la invención se pueden administrar, por ejemplo, en forma sistémica en formulaciones sólidas orales, o como formulaciones oftálmicas, supositorios, aerosoles, tópicas u otras formulaciones similares. Además de los compuestos adecuados, dichas composiciones farmacéuticas pueden contener vehículos farmacéuticamente aceptables y otros ingredientes conocidos para aumentar y facilitar la administración del fármaco. Otras formulaciones posibles, como nanopartículas, liposomas, eritrocitos resellados y sistemas basados en inmunología también se pueden utilizar para administrar un compuesto adecuado, o uno de sus análogos, modificaciones o derivados según los métodos de la invención.

Los compuestos que se identifican usando cualquiera de los métodos descritos en este documento pueden ser formulados y administrados a un sujeto para el tratamiento de las enfermedades que se dieron a conocer aquí. Un técnico con experiencia en el área comprenderá que esos métodos serán útiles también para otras enfermedades, trastornos y afecciones.

Un "profármaco" se refiere a un agente que se convierte en el fármaco generador in vivo. Los profármacos son a menudo útiles porque, en algunas situaciones, pueden ser más fáciles de administrar que el fármaco generador. Pueden, por ejemplo, estar biodisponibles por administración oral mientras que el generador no lo está. El profármaco también puede tener una mayor solubilidad en composiciones farmacéuticas que el fármaco generador, o puede tener mejor palatabilidad o ser más fácil de formular. Un ejemplo no limitante de un profármaco sería un compuesto de la presente invención que se administra como un éster (el "profármaco") para facilitar la transmisión a través de la membrana celular donde la solubilidad en agua es perjudicial para la movilidad, pero que luego se hidroliza metabólicamente al ácido carboxílico, la entidad activa, una vez dentro de la célula donde la solubilidad en agua es beneficiosa. Otro ejemplo de un profármaco podría ser un péptido corto (poliaminoácido) enlazado a un

grupo ácido donde el péptido se metaboliza para proporcionar la molécula activa.

La invención abarca la preparación y el uso de composiciones farmacéuticas que contienen un principio activo útil para el tratamiento del alcoholismo. Dicha composición farmacéutica puede consistir en el principio activo solo, en una forma adecuada para la administración a un sujeto, o la composición farmacéutica puede contener el principio activo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, uno o más ingredientes adicionales o alguna combinación de éstos. El principio activo puede estar presente en la composición farmacéutica en forma de un éster o una sal fisiológicamente aceptables, como en combinación con un catión o anión fisiológicamente aceptable, como es bien sabido en el área. un antagonista del receptor de la serotonina 5HT3

Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas descritas en este documento se pueden preparar por cualquier método conocido o desarrollado más adelante en el área de la farmacología. En general, dichos métodos de preparación incluyen el paso de poner el principio activo en asociación con un excipiente o uno o más ingredientes accesorios y luego, si es necesario o deseable, dar forma o acondicionar el producto en una unidad monodosis o multidosis deseada.

Aunque las descripciones de composiciones farmacéuticas proporcionadas en este documento apuntan principalmente a composiciones farmacéuticas que son adecuadas para la administración ética a los seres humanos, los técnicos con experiencia comprenderán que dichas composiciones son generalmente adecuadas para la administración a animales de todo tipo. La modificación de composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración a los seres humanos con el fin de tornar dichas composiciones adecuadas para la administración a diversos animales es bien conocida, y el farmacólogo veterinario puede diseñar y realizar dicha modificación con la experimentación meramente corriente, si fuera necesario. Los sujetos considerados para la administración de las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen, pero no exclusivamente, los seres humanos y otros primates, los mamíferos, entre otros los mamíferos comercialmente importantes como el ganado, los cerdos, los caballos, las ovejas, los gatos y perros, y las aves, incluidas las aves con importancia comercial como pollos, patos, gansos y pavos.

Un tipo de administración comprendida por los métodos de la invención es la administración parenteral, que incluye, pero no exclusivamente, la administración de una composición farmacéutica por inyección de la composición, por aplicación de la composición a través de una incisión quirúrgica, por aplicación de la composición a través de una herida no quirúrgica que penetra un tejido, y similares. En particular, se contempla la administración parenteral que incluye, pero no exclusivamente, la inyección subcutánea, intraperitoneal, intramuscular e intraesternal y las técnicas de diálisis renal.

Las composiciones farmacéuticas que son útiles en los métodos de la invención se pueden preparar, en pasar o vender en formulaciones adecuadas para administración oral, rectal, vaginal, parenteral, tópica, pulmonar, intranasal, por inhalación, bucal, oftálmica, intratecal u otra vía de administración. Otras formulaciones contempladas incluyen nanopartículas proyectadas, preparaciones liposómicas, eritrocitos resellados que contienen el principio activo y formulaciones basadas en inmunología.

Una composición farmacéutica de la invención se puede preparar, acondicionar o vender a granel, como una dosis unitaria, o como varias dosis unitarias. Según se usa en este documento, una "dosis unitaria" es una cantidad aislada de la composición farmacéutica que contiene una cantidad predeterminada del principio activo. La cantidad del principio activo es generalmente igual a la dosis de principio activo que se administraría a un sujeto, o una fracción conveniente de dicha dosis, como por ejemplo, la mitad o un tercio de dicha dosis.

Las cantidades relativas del principio activo, del vehículo farmacéuticamente aceptable y de cualquier otro ingrediente en una composición farmacéutica de la invención variará, dependiendo de la identidad, el tamaño y la afección del sujeto en tratamiento y dependiendo además de la vía a través de la cual la composición debe ser administrada. A modo de ejemplo, la composición puede contener entre 0.1% y 100% (p/p) del principio activo.

Además del principio activo, una composición farmacéutica de la invención puede contener uno o más principios farmacéuticamente activos adicionales. Los principios activos especialmente contemplados incluyen antieméticos y depuradores como depuradores de cianuro y cianato.

A formulaciones de liberación controlada o sostenida de una composición farmacéutica de la invención se pueden preparar utilizando la tecnología convencional.

Una formulación de una composición farmacéutica de la invención adecuada para la administración oral se puede preparar, acondicionar, o vender en forma de una unidad de dosificación sólida aislada incluidas, pero no exclusivamente, un comprimido, una cápsula dura o blanda, una oblea, un trocisco o una pastilla, donde cada una contiene una cantidad predeterminada del principio activo. Otras formulaciones adecuadas para la administración oral incluyen, pero no exclusivamente, una formulación en polvo o granular, una suspensión acuosa u oleosa, una

solución acuosa u oleosa, o una emulsión.

Según se usa en este documento, un líquido "oleoso" es aquel que comprende una molécula líquida que contiene carbono y que tiene un carácter menos polar que el agua.

Un comprimido que contiene el principio activo puede, por ejemplo, prepararse por compresión o moldeado del ingrediente activo, opcionalmente con uno o más ingredientes adicionales. Los comprimidos se pueden preparar comprimiendo en un dispositivo adecuado, el principio activo fluyendo en forma libre como una preparación en polvo o granular, opcionalmente mezclado con uno o más de: un aglutinante, un lubricante, un excipiente, un tensioactivo y un dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando en un dispositivo adecuado, una mezcla del principio activo, un vehículo farmacéuticamente aceptable y por lo menos líquido suficiente para humedecer la mezcla. Los excipientes farmacéuticamente aceptables utilizados en la fabricación de comprimidos incluyen, entre otros, diluyentes inertes, granulantes y desintegrantes, aglutinantes y lubricantes. Los dispersantes conocidos incluyen, pero no exclusivamente, almidón de patata y glicolato sódico de almidón. Los tensioactivos conocidos incluyen, pero no exclusivamente, laurilsulfato de sodio. Los diluyentes conocidos incluyen, pero no exclusivamente, carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, celulosa microcristalina, fosfato de calcio, fosfato ácido de calcio y fosfato de sodio. Los granulantes y desintegrantes conocidos incluyen, pero no exclusivamente, almidón de maíz y ácido alginico. Los aglutinantes conocidos incluyen, pero no exclusivamente, gelatina, acacia, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona e hidroxipropilmetilcelulosa. Los lubricantes conocidos incluyen, pero no exclusivamente, estearato de magnesio, ácido esteárico, sílice y talco.

Los comprimidos se pueden recubrir, o no, utilizando métodos conocidos para obtener una desintegración retardada en el tubo digestivo de un sujeto, proporcionando así una liberación y absorción sostenidas del principio activo. A modo de ejemplo, se puede usar un material como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo para recubrir los comprimidos. Además, a modo de ejemplo, los comprimidos se pueden recubrir usando los métodos descritos en las patentes de los Estados Unidos números 4,256,108; 4,160,452; y 4,265,874 para formar comprimidos de liberación controlada osmóticamente. Los comprimidos pueden contener además un edulcorante, un saborizante, un colorante, un conservante o alguna combinación de éstos con el fin de suministrar una preparación farmacéuticamente aceptable y elegante.

Las cápsulas duras que contienen el principio activo se pueden preparar utilizando una composición fisiológicamente degradable, como gelatina. Dichas cápsulas duras contienen el principio activo, y pueden contener además ingredientes adicionales como por ejemplo, un diluyente sólido inerte como carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín.

Las cápsulas de gelatina blanda que contienen el principio activo se pueden preparar usando una composición fisiológicamente degradable, como gelatina. Dichas cápsulas blandas contienen el principio activo que puede estar mezclado con agua o un medio oleoso como aceite de cacahuate, parafina líquida o aceite de oliva.

También se puede usar lactulosa como un relleno libremente erosionables y es útil cuando los compuestos de la invención se preparan en forma de cápsula.

Las formulaciones líquidas de una composición farmacéutica de la invención que son adecuadas para la administración oral se pueden preparar, acondicionar y vender en forma líquida o en forma de un producto seco destinado a ser reconstituido con agua u otro vehículo adecuado antes de usar.

Las suspensiones líquidas se pueden preparar usando métodos convencionales para lograr una suspensión de principio activo en un vehículo acuoso u oleoso. Los vehículos acuosos incluyen, por ejemplo, agua y solución salina isotónica. Los vehículos oleosos incluyen, por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico, aceites vegetales como de arachís, oliva, sésamo o coco, aceites vegetales fraccionados y aceites minerales como parafina líquida. Las suspensiones líquidas pueden contener además uno o más ingredientes adicionales, por ejemplo, pero no exclusivamente, suspendentes, dispersantes o humectantes, emulsionantes, demulcentes, conservantes, soluciones amortiguadoras, sales, aromatizantes, colorantes y edulcorantes. Las suspensiones oleosas también pueden contener un espesante. Los suspendentes conocidos incluyen, pero no exclusivamente, jarabe de sorbitol, grasas comestibles hidrogenadas, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto, goma de acacia y derivados de celulosa como carboximetilcelulosa, metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa. Los dispersantes o humectantes conocidos incluyen, pero no exclusivamente fosfátidos de origen natural como lecitina, productos de condensación de un óxido de alquileo con un ácido graso, con un alcohol alifático de cadena larga, con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol, o con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol (por ejemplo, estearato de polioxietileno, heptadecaetilenoxicetanol, monooleato de polioxietileno sorbitol y monooleato de polioxietileno sorbitán, respectivamente). Los emulsionantes conocidos incluyen, pero no exclusivamente, lecitina y acacia. Los conservantes conocidos incluyen, pero no exclusivamente, parahidroxibenzoatos de metilo, etilo o n-propilo, ácido ascórbico y ácido sórbico. Los edulcorantes conocidos incluyen, por ejemplo, glicerol, propilenglicol, sorbitol, sacarosa y sacarina. Los espesantes conocidos para suspensiones

oleosas incluyen, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura y alcohol cetílico.

En un aspecto, una preparación en forma de un jarabe o elixir o para la administración en forma de gotas puede contener principios activos junto con un edulcorante, que sea preferentemente sin calorías, y puede incluir además metilparabeno o propilparabeno como antisépticos, un saborizante y un color adecuado.

Las soluciones líquidas del principio activo en solventes acuosos u oleosos se pueden preparar sustancialmente de la misma manera que las suspensiones líquidas, siendo la principal diferencia que el principio activo está disuelto en vez de suspendido en el solvente. Las soluciones líquidas de la composición farmacéutica de la invención pueden contener cada uno de los componentes descritos con relación a la suspensiones líquidas, comprendiéndose que los suspendentes no necesariamente ayudarán en la disolución del principio activo en el solvente. Los solventes acuosos incluyen, por ejemplo, agua y solución salina isotónica. Los solventes oleosos incluyen, por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico, aceites vegetales como de arachís, oliva, sésamo o coco, aceites vegetales fraccionados y aceites minerales como parafina líquida.

Las formulaciones en polvo y granulares de la preparación farmacéutica de la invención se pueden preparar usando métodos conocidos. Dichas formulaciones se pueden administrar directamente a un sujeto, utilizar, por ejemplo para formar comprimidos, para llenar cápsulas o para preparar una suspensión o solución acuosa u oleosa por agregado de un vehículo acuoso u oleoso. Cada una de esas formulaciones puede contener además uno o más dispersantes o humectantes, un suspendente y un conservante. También pueden incluirse en esas formulaciones otros excipientes como rellenos, edulcorantes, aromatizantes o colorantes.

Una composición farmacéutica de la invención también se puede preparar, acondicionar o vender en forma de una emulsión de aceite en agua o una emulsión de agua en aceite. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, aceite de oliva o de arachis, un aceite mineral como parafina líquida, o una combinación de éstos. Dichas composiciones pueden contener además uno o más emulsionantes inclusive gomas de origen natural como goma de acacia o goma de tragacanto, fosfátidos de origen natural como fosfátido de soja o lecitina, ésteres o ésteres parciales derivados de combinaciones de ácidos grasos y anhídridos de hexitol como monooleato de sorbitán, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno como monooleato de polioxietileno sorbitán. Esas emulsiones también pueden contener otros ingredientes como, por ejemplo, edulcorantes o aromatizantes.

Una composición farmacéutica de la invención se pueden preparar, acondicionar o vender en una formulación adecuada para la administración rectal. Dicha composición puede estar en forma, por ejemplo, de un supositorio, una preparación para enema de retención y una solución para irrigación rectal o colónica.

Las formulaciones de supositorios se pueden elaborar combinando el principio activo con un excipiente no irritante farmacéuticamente aceptable que sea sólido a la temperatura ambiente corriente (es decir alrededor de 20 °C) y líquido a la temperatura rectal del sujeto (es decir alrededor de 37 °C en un humano sano). Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, pero no exclusivamente, manteca de cacao, polietilenglicoles y diversos glicéridos. Las formulaciones de supositorios también pueden contener diversos ingredientes adicionales incluidos, pero no exclusivamente, antioxidantes y conservantes.

Las preparaciones para enema de retención o soluciones para irrigación rectal o colónica se pueden elaborar combinando el principio activo con un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable. Como es bien sabido en el área, las preparaciones para enema se pueden administrar utilizando, y se pueden acondicionar dentro de, un dispositivo de administración adaptado a la anatomía rectal del sujeto. Las preparaciones para enema pueden contener además diversos ingredientes adicionales incluidos, pero no exclusivamente, antioxidantes y conservantes.

Una composición farmacéutica de la invención se puede preparar, acondicionar o vender en una formulación adecuada para la administración vaginal. Dicha composición puede estar en forma, por ejemplo, de un supositorio, un material insertable en la vagina impregnado o recubierto, como un tampón, una preparación para ducha, un gele o crema o una solución para irrigación vaginal.

Los métodos para impregnar o recubrir un material con una composición química son conocidos en el área, e incluyen, pero no exclusivamente, métodos para depositar o unir una composición química sobre una superficie, métodos para incorporar una composición química en la estructura de un material durante la síntesis del material (es decir como con un material fisiológicamente degradable) y métodos para absorber una solución o suspensión acuosa u oleosa en un material absorbente, con o sin un secado posterior.

Las preparaciones para ducha o soluciones para irrigación vaginal se pueden elaborar combinando el principio activo con un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable. Como es bien sabido en el área, las preparaciones para ducha se pueden administrar utilizando, y se pueden acondicionar dentro de, un dispositivo de administración adaptado a la anatomía vaginal del sujeto. Las preparaciones para ducha pueden contener además diversos ingredientes adicionales incluidos, pero no exclusivamente, antioxidantes antibióticos, antimicóticos y conservantes.

Según se usa en este documento, "la administración parenteral" de una composición farmacéutica incluye cualquier vía de administración caracterizada por abrir físicamente una brecha en un tejido de un sujeto y administrar la composición farmacéutica a través de la brecha en el tejido. Así, la administración parenteral incluye, pero no exclusivamente, la administración de una composición farmacéutica por inyección de la composición, por aplicación de la composición a través de una incisión quirúrgica, por aplicación de la composición a través de una herida no quirúrgica que penetra el tejido y similares. En particular, se contempla la administración parenteral que incluye, pero no exclusivamente, la inyección subcutánea, intraperitoneal, intramuscular e intraesternal y las técnicas de diálisis renal.

Las formulaciones de una composición farmacéutica adecuada para la administración parenteral contienen el principio activo combinado con un vehículo farmacéuticamente aceptable, como agua estéril o solución salina isotónica estéril. Dichas formulaciones se pueden preparar, acondicionar o vender en una forma adecuada para la administración en bolo o para la administración continua. Las formulaciones inyectables se pueden preparar, acondicionar o vender en formas farmacéuticas, como en ampollas o en envases multidosis que contienen un conservante. Las formulaciones para la administración parenteral incluyen, pero no exclusivamente, suspensiones, soluciones, emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, pastas y formulaciones implantables de liberación sostenida o biodegradables. Dichas formulaciones pueden abarcar además uno o más ingredientes adicionales incluidos, pero no exclusivamente, suspendentes, estabilizantes o dispersantes. En una realización de una formulación para administración parenteral, el principio activo se proporciona seco (es decir, polvo o granular) para reconstituir con un vehículo adecuado (p. ej., agua apirógena estéril) antes de la administración parenteral de la composición reconstituída.

Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar, acondicionar o vender en forma de una solución o suspensión acuosa u oleosa inyectable estéril. Esta suspensión o solución se puede formular según las técnicas conocidas y puede contener, además del principio activo, otros ingredientes como los dispersantes, humectantes, o suspendentes descritos aquí. Dichas formulaciones inyectables estériles se pueden preparar con un diluyente o solvente aceptable para uso parenteral, atóxico, como, por ejemplo, agua o 1,3-butanodiol. Otros solventes y diluyentes aceptables incluyen, pero no exclusivamente, solución de Ringer, solución isotónica de cloruro de sodio y aceites fijos como mono - o diglicéridos sintéticos. Otras formulaciones administrables por vía parenteral que son útiles, son las que contienen el principio activo en forma microcristalina, en una preparación liposómica, o como un componente de un sistema polimérico biodegradable. Las composiciones para liberación sostenida o de implantación pueden contener materiales poliméricos o hidrófobos, farmacéuticamente aceptables como una emulsión, una resina de intercambio iónico, un polímero poco soluble o una sal poco soluble.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica incluyen, pero no exclusivamente, preparaciones líquidas o semilíquidas como linimentos, lociones, emulsiones de aceite en agua o de agua en aceite tales como cremas, pomadas o pastas y soluciones o suspensiones. Las formulaciones administrables por vía tópica pueden contener, por ejemplo, entre alrededor de 1% y alrededor de 10% (p/p) del principio activo, aunque la concentración del principio activo puede ser tan alta como el límite de solubilidad del principio activo en el solvente. Las formulaciones para administración tópica pueden contener además uno o más de los ingredientes adicionales descritos aquí.

Una composición farmacéutica de la invención se puede preparar, acondicionar o vender en una formulación adecuada para la administración pulmonar a través de la cavidad oral. Dicha formulación puede estar compuesta por partículas secas que constituyen el principio activo y que tienen un diámetro en el rango de alrededor de 0.5 a alrededor de 7 nanómetros, y preferentemente de alrededor de 1 a alrededor de 6 nanómetros. Dichas composiciones están convenientemente en forma de polvos secos para ser administrados utilizando un dispositivo compuesto por un depósito de polvo seco al cual se puede dirigir una corriente de propelente para dispersar el polvo o usando un recipiente con un solvente autopropelente/dispensador de polvo como un dispositivo que contenga el principio activo disuelto o suspendido en un propelente de bajo punto de ebullición, en un recipiente sellado. Preferentemente, dichos polvos contienen partículas donde al menos el 98%, en peso, de las partículas tiene un diámetro mayor de 0.5 nanómetros y por lo menos el 95%, en número, de las partículas tiene un diámetro menor de 7 nanómetros. Más preferentemente, al menos el 95%, en peso, de las partículas tiene un diámetro mayor de 1 nanómetro y al menos el 90%, en número, de las partículas tiene un diámetro menor de 6 nanómetros. Las composiciones de polvo seco incluyen preferentemente un diluyente de polvo fino sólido como el azúcar y se proporcionan convenientemente en forma de una dosis unitaria.

Los propelentes de bajo punto de ebullición incluyen generalmente propelentes líquidos cuyo punto de ebullición es inferior a 65 °F a la presión atmosférica. Generalmente, el propelente puede constituir entre alrededor del 50% y alrededor del 99.9% (p/p) de la composición y el ingrediente activo puede constituir entre alrededor del 0.1% y alrededor del 20% (p/p) de la composición. El propelente puede contener además otros ingredientes adicionales como un tensioactivo líquido no iónico o sólido aniónico o un diluyente sólido (preferentemente con un tamaño de partícula del mismo orden que que las partículas que constituyen el principio activo).

Las composiciones farmacéuticas de la invención formuladas para administración pulmonar también pueden proporcionar el principio activo en forma de gotas de una solución o suspensión. Dichas formulaciones se pueden preparar, acondicionar o vender como soluciones o suspensiones acuosas o diluidas en alcohol, opcionalmente estériles, que contienen el principio activo, y que se pueden administrar convenientemente utilizando cualquier dispositivo de nebulización o atomización. Dichas formulaciones pueden contener además uno o más ingredientes adicionales incluidos, pero no exclusivamente, un saborizante como sacarina sódica, un aceite volátil, un amortiguador del pH, un tensioactivo, o un conservante como metilhidroxibenzoato. Las gotas provistas por esta vía de administración tienen preferentemente un diámetro promedio en el rango entre alrededor de 0.1 y alrededor de 200 nanómetros.

Las formulaciones descritas en este documento como útiles para la administración pulmonar también son útiles para la administración intranasal de una composición farmacéutica de la invención.

Otra formulación adecuada para la administración intranasal es un polvo grueso que constituye el principio activo y tiene un tamaño de partícula promedio entre alrededor de 0.2 y alrededor de 500 micrómetros. Dicha formulación se administra de la manera en que se toma el rapé, es decir, por inhalación rápida a través de las fosas nasales desde un recipiente del polvo que se mantiene cerca de las narinas.

Las formulaciones adecuadas para administración nasal, pueden contener, por ejemplo, desde alrededor de tan poco como aproximadamente 0.1% (p/p) y tanto como aproximadamente 100% (p/p) del principio activo, y pueden contener además uno o más de los ingredientes adicionales descritos aquí.

Una composición farmacéutica de la invención se puede preparar, acondicionar o vender en una formulación adecuada para la administración bucal. Dichas formulaciones pueden estar, por ejemplo, en forma de comprimidos o pastillas elaborados utilizando métodos convencionales y pueden contener, por ejemplo, entre alrededor de 0.1% y alrededor de 20% (p/p) del principio activo, y el resto ser una composición que se pueda disolver o degradar oralmente, y opcionalmente, uno o más de los ingredientes adicionales descritos aquí. Alternativamente, las formulaciones adecuadas para la administración bucal pueden consistir en un polvo o una solución o suspensión aerosolizada o atomizada, que contiene el principio activo. Dichas formulaciones en polvo, aerosolizadas o atomizadas, cuando se dispersan, tienen preferentemente un tamaño promedio de partícula o gota en el rango de alrededor de 0.1 a alrededor de 200 nanómetros, y pueden contener además uno o más de los ingredientes adicionales descritos aquí.

Una composición farmacéutica de la invención se puede preparar, acondicionar o vender en una formulación adecuada para la administración oftálmica. Dichas formulaciones pueden estar, por ejemplo, en forma de gotas oculares que incluyen, por ejemplo, una solución o suspensión entre 0.1% y 1.0% (p/p) del principio activo en un vehículo líquido acuoso u oleoso. Dichas gotas pueden contener además soluciones amortiguadoras, sales o uno o más de los otros ingredientes adicionales descritos aquí. Otras formulaciones que se pueden administrar por vía oftálmica que son útiles incluyen las que contienen el principio activo en forma microcristalina o en una preparación liposómica.

Una composición farmacéutica de la invención se puede preparar, acondicionar o vender en una formulación adecuada para la administración intramucosa. La presente invención prevé la administración intramucosa de compuestos para permitir el pasaje o la absorción de los compuestos a través de la mucosa. Dicho tipo de administración es útil para la absorción oral (gingival, sublingual, bucal, etc.), rectal, vaginal, pulmonar, nasal, etc.

En algunos aspectos, la administración sublingual tiene una ventaja para los principios activos que en algunos casos, cuando se administran por vía oral, están sometidos a un metabolismo de primer paso sustancial y a la degradación enzimática a través del hígado, lo que resulta en una metabolización rápida y en una pérdida de la actividad terapéutica relacionada con la actividad de las enzimas hepáticas que convierten la molécula en metabolitos inactivos, o cuya actividad es disminuida a causa de esta bioconversión.

En algunos casos, una vía de administración sublingual es capaz de producir un inicio rápido de la acción debido a la considerable permeabilidad y vascularización de la mucosa bucal. Además, la administración sublingual también puede permitir la administración de principios activos que no son absorbidos normalmente a nivel de la mucosa estomacal o la mucosa digestiva luego de la administración oral, o alternativamente que son degradados parcial o completamente en medio ácido luego de la digestión, por ejemplo, de un comprimido.

Las técnicas de preparación de comprimidos sublinguales son conocidas del estado anterior de la tecnología y se preparan habitualmente por compresión directa de una mezcla de polvos que contiene el principio activo y los excipientes para la compresión, como diluyentes, aglutinantes, desintegrantes y adyudantes. En un método alternativo de preparación, el principio activo y los excipientes de compresión se pueden granular en seco o en húmedo previamente. En un aspecto, el principio activo se distribuye en toda la masa del comprimido. WO 00/16750 describe un comprimido para uso sublingual que se desintegra rápidamente y contiene una mezcla ordenada en la

5 cual el principio activo esta en forma de micropartículas que se adhieren a la superficie de partículas solubles en agua que son sustancialmente mayores en tamaño, constituyendo un soporte para las micropartículas activas, y la composición también contiene un mucoadhesivo. WO 00/57858 describe un comprimido para uso sublingual, que contiene un principio activo combinado con un sistema efervescente destinado a promover la absorción, y también un modificador del pH.

10 Los compuestos de la invención se pueden preparar en una formulación o composición farmacéutica adecuada para su administración, que permita o mejore la absorción a través de la mucosa. Los potenciadores de la absorción a través de la mucosa incluyen, pero no exclusivamente, una sal biliar, un ácido graso, un tensioactivo o alcohol. En realizaciones específicas, el potenciador de la difusión puede ser colato de sodio, dodecilsulfato de sodio, desoxicolato de sodio, taurodesoxicolato, glicolato de sodio, dimetilsulfóxido o etanol. En otra realización, un compuesto de la invención se puede formular con un potenciador de la penetración de la mucosa para facilitar la administración del compuesto. La formulación también se puede preparar con un pH optimizado para la solubilidad, la estabilidad, y la absorción del fármaco a través de la mucosa como la mucosa nasal, la mucosa oral, la mucosa vaginal, la mucosa respiratoria y la mucosa intestinal.

15 Para mejorar aún más la administración a través de la mucosa de los medicamentos comprendidos por la invención, las formulaciones que contienen el principio activo también pueden contener un compuesto hidrófilo de bajo peso molecular como base o excipiente. Dichos compuestos hidrófilos de bajo peso molecular proporcionan un medio de pasaje a través del cual un principio activo soluble en agua, como un péptido o proteína fisiológicamente activos, puede difundir a través de la base a la superficie corporal donde el principio activo es absorbido. El compuesto hidrófilo de bajo peso molecular absorbe opcionalmente humedad de la mucosa o de la atmósfera de administración y disuelve el péptido activo soluble en agua. El peso molecular del compuesto hidrófilo de bajo peso molecular es generalmente menor de 10 000 y preferentemente menor de 3000. Los ejemplos de compuestos hidrófilos de bajo peso molecular incluyen compuestos de polirol, como oligo-, di - y monosacáridos como sacarosa, manitol, lactosa, L-arabinosa, D-Eritrosa, D-ribosa, D-xilosa, D-manosa, D-galactosa, lactulosa, celobiosa, gentibiosa, glicerina y polietilenglicol. Otros ejemplos de compuestos hidrófilos de bajo peso molecular útiles como vehículos de la invención, incluyen N-metilpirrolidona y alcoholes (por ejemplo, alcohol oligovinílico, etanol, etilenglicol, propilenglicol, etc.). Estos compuestos hidrófilos de bajo peso molecular se pueden usar solos o en combinación con otro, o con otros componentes activos o inactivos de la formulación intranasal.

20 Cuando una preparación farmacéutica de liberación controlada de la presente invención contiene además una base hidrófila, existen muchas opciones disponibles para la inclusión. Polímeros hidrófilos como un polietilenglicol y polivinilpirrolidona, alcoholes de azúcar como D-sorbitol y xilitol, sacáridos como sacarosa, maltosa, lactulosa, D-fructosa, dextrano y glucosa, tensioactivos como aceite de ricino polioxietileno-hidrogenado, polioxietileno polioxipropilenglicol y ésteres de ácidos grasos superiores de polioxietileno sorbitán, sales como cloruro de sodio y el cloruro de magnesio, ácidos orgánicos como ácido cítrico y ácido tartárico, aminoácidos como glicina, beta-alanina y clorhidrato de lisina, y aminosacáridos como meglumina se dan como ejemplos de la base hidrófila. Se prefieren polietilenglicol, sacarosa y polivinilpirrolidona y polietilenglicol es el que más se prefiere. Se puede usar una base o una combinación de dos o más bases hidrófilas en la presente invención.

35 La presente invención contempla la administración pulmonar, nasal u oral a través de un inhalador. En una realización, la administración desde un inhalador puede ser una dosis fija.

40 Un inhalador es un dispositivo para la autoadministración del paciente de al menos un compuesto de la invención que comprende un inhalador para pulverización (por ejemplo, un inhalador para pulverización nasal, oral o pulmonar) que contiene una formulación en aerosol de al menos un compuesto de la invención y un dispersante farmacéuticamente aceptable. En un aspecto, el dispositivo esta dosificado para dispersar una cantidad de la formulación en aerosol formando una pulverización que contiene una dosis de al menos un compuesto de la invención eficaz para tratar una enfermedad o un trastorno abarcado por la invención. El dispersante puede ser un tensioactivo, como, pero no exclusivamente, ésteres de ácidos grasos de polioxietileno, alcoholes grasos de polioxietileno y ésteres de ácidos grasos de polioxietileno sorbitán. También se pueden usar tensioactivos a base de fosfolípidos.

45 En otra realizaciones, la formulación en aerosol se proporciona como una formulación en aerosol de polvo seco en el cual está presente un compuesto de la invención como un polvo finamente dividido. La formulación en polvo puede constar además de un agente de carga, como, pero no exclusivamente, lactosa, sorbitol, sacarosa y manitol.

50 En otra realización específica, la formulación en aerosol es una formulación en aerosol líquida que contiene además un diluyente farmacéuticamente aceptable como, pero no exclusivamente, agua estéril, solución salina, solución salina amortiguada y solución de dextrosa.

55 En otras realizaciones, la formulación en aerosol contiene además al menos un compuesto adicional de la invención en una concentración tal que la cantidad dosificada de la formulación en aerosol dispersada por el dispositivo

contiene una dosis del compuesto adicional en una cantidad dosificada que es eficaz para mejorar los síntomas de una enfermedad o un trastorno dados a conocer en este documento, cuando se usa en combinación con al menos un primer o segundo compuesto de la invención.

5 Por lo tanto, la divulgación proporciona un método de autoadministración para el tratamiento ambulatorio de una enfermedad o un trastorno relacionados con adicción como una enfermedad o un trastorno relacionados con el consumo de alcohol. Dicha administración se puede hacer en un hospital, en un consultorio médico, o fuera del hospital o del consultorio médico por personal no médico para la autoadministración.

10 Los compuestos de la invención se prepararán en una formulación o composición farmacéutica adecuada para la administración nasal. En otra realización, los compuestos de la invención se pueden formular con un potenciador de la penetración de la mucosa para facilitar la administración del fármaco. La formulación también se puede preparar con un pH optimizado para la solubilidad, la estabilidad y la absorción del fármaco a través de la mucosa nasal, y otras consideraciones.

15 Las cápsulas, los blisters y los cartuchos para usar en un inhalador o insuflador se pueden formular de modo que contengan una mezcla en polvo de las composiciones farmacéuticas provistas en este documento; una base en polvo adecuada, como lactosa o almidón; y un modificador del rendimiento, como 1-leucina, manitol o estearato de magnesio. La lactosa puede ser anhidra o estar en forma de monohidrato. Otros excipientes adecuados incluyen dextrano, glucosa, maltosa, sorbitol, xilitol, fructosa, sacarosa y trehalosa. Las composiciones farmacéuticas provistas en este documento para la administración por inhalación/intranasal pueden contener además un aromatizante adecuado, como mentol y levomentol, o edulcorantes como sacarina o sacarina sódica.

20 Para la administración por inhalación, los compuestos para usar de acuerdo con los métodos de la invención se administran convenientemente en forma de una presentación en aerosol desde envases presurizados o un nebulizador, mediante el uso de un propelente adecuado, p. ej. diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado la forma farmacéutica puede ser determinada proveyendo de una válvula para administrar una cantidad dosificada. Las cápsulas y los cartuchos, por ejemplo, de gelatina para usar en un inhalador o insuflador se pueden formular de modo que contengan una mezcla en polvo de los fármacos y una base en polvo adecuada como lactosa o almidón.

25 Según se usa en este documento, "ingredientes adicionales" incluyen, pero no exclusivamente, uno o más de los siguientes: excipientes; tensioactivos; dispersantes; diluyentes inertes; granulantes y desintegrantes; aglutinantes; lubricantes; edulcorantes; saborizantes; colorantes; conservantes; composiciones fisiológicamente degradables como gelatina; vehículos y solventes acuosos; vehículos y solventes oleosos; suspensantes; dispersantes o humectantes; emulsionantes; demulcentes; soluciones amortiguadoras; sales; espesantes; rellenos; emulsionantes; antioxidantes; antibióticos; antimicóticos; estabilizantes, y materiales poliméricos o hidrófobos farmacéuticamente aceptables. Otros "ingredientes adicionales" que pueden estar incluidos en las composiciones farmacéuticas de la invención son conocidos en el área y se describen por ejemplo en Genaro, ed., 1985, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, que se incorpora en este documento por referencia.

30 Habitualmente, las dosis de los compuestos de la invención que se pueden administrar a un animal, preferentemente un ser humano, varían en cantidad entre alrededor de 1.0 µg y alrededor de 100 g por kilogramo de peso corporal del animal. La dosis precisa a administrar variará dependiendo de una serie de factores que incluyen, pero no exclusivamente, el tipo de animal y el tipo de enfermedad en tratamiento, la edad del animal y la vía de administración. Preferentemente, la dosis del compuesto variará entre alrededor de 1 mg y alrededor de 10 g por kilogramo de peso corporal del animal. Más preferentemente, la dosis variará entre alrededor de 10 mg y alrededor de 1 g por kilogramo de peso corporal del animal.

35 Los compuestos se pueden administrar a un sujeto tan frecuentemente como varias veces al día, o se pueden administrar menos frecuentemente, como una vez al día, una vez por semana, una vez por quincena, una vez al mes, o incluso menos frecuentemente como una vez cada varios meses o incluso una vez al año o menos. La frecuencia de la dosis será evidente para el técnico con experiencia y dependerá de diversos factores, como, pero no exclusivamente, el tipo y la gravedad de la enfermedad en tratamiento, el tipo y la edad del animal, etc.

40 La invención también incluye un kit que contiene los compuestos de la invención y material instructivo que describe la administración de los compuestos. En otra realización, este kit contiene un solvente (preferentemente estéril) adecuado para disolver o suspender la composición de la invención antes de administrar el compuesto al mamífero.

45 Según se usa en este documento, un "material instructivo" incluye una publicación, una grabación, un diagrama o cualquier otro medio de expresión que se pueda utilizar para comunicar la utilidad de los compuestos de la invención del kit para mitigar las diferentes enfermedades o trastornos indicados en él. Opcional o alternativamente, el material instructivo puede describir uno o más métodos para mitigar las enfermedades o los trastornos. El material instructivo del kit de la invención puede, por ejemplo, adherirse a un recipiente que contenga el compuesto de la invención o

enviarse junto con un recipiente que contenga los compuestos. Alternativamente, el material instructivo puede enviarse separado del recipiente con la intención de que el material instructivo y el compuesto sean utilizados conjuntamente por el destinatario.

- 5 Las secuencias de ácidos nucleicos y aminoácidos importantes comprendidas por la presente invención incluyen, pero no exclusivamente:

SEC. ID N°: 1- transportador de serotonina humana (SLC6A4), secuencia de ácido nucleico

(GenBank Accession No. NM_001045- 2775 bp mRNA)-

acagccagcgcgccgggtgcctcgagggcgcgaggccagcccgcctgccagcccggga

ccagcctccccgcgacgctggcaggtctcctggaggcaaggcgaccttgcttgcctct

cttcagaataacaaggggcttagccacaggagttgctggcaagtggaaagaagaacaaa

tgagtcaatcccgacgtgtcaatcccgacgatagagagctcggaggtgatccacaaatcc

aagcaccagagatcaattgggatccttggcagatggacatcagtgctattactaacca

gcaggatggagacgacgcccttgaattctcagaagcagctatcagcgtgtgaagatggag

10 aagattgtcaggaaaacggagttctacagaaggtgttcccaccccaggggacaaaagtgg

agtccgggcaaataccaatgggtactcagcagttccaagtctgggtcgggagatgaca
 cacggcactctatcccagcgaccaccaccacctagtggtgagcttcatcaagggaac
 ggggagacctggggcaagaagggtgatttccttctcagtgattggctatgctgtggacc
 tgggcaatgtctggcgtcccctacataatgttaccagaatggaggggggcattctcc
 tcccctacaccatcatggccattttgggggaatcccgtctttacatggagctcgcac
 tgggacagtaccaccgaaatggatgcatttcaatggaggaaaatctgcccgatttca
 aagggttgggtatgccatctgcatcattgcctttacattgcttctactacaacacca
 tcatggcctgggctatactacctcatctctcttccacggaccagctgccctggacca
 gctgcaagaactcctggaacactggcaactgcaccaattactctccgaggacaacatca
 cctggaccctccattccacgtcccctgctgaagaatttaccacgcgccacgtctgcaga
 tccaccggtctaaggggctccaggacctggggggcatcagctggcagctggcccttgcga
 tcatgctgatcttcaactgttatctacttcagcatctggaaaggcgtcaagaccttggca
 aggtggtgtgggtgacagccacctcccttatactcttctgtctgctggtgaggg
 gtgccaccctcccggagcctggaggggtgttcttctacttgaaccaatggcaga
 aactcctggagacaggggtgtgatagatgcagccgctcagatcttctctcttggtc
 cgggctttggggtcctgctggctttgtagctacaacaagtcaacaacaactgctacc
 aagatgccctgggtgaccagcgtggtgaactgcatgacgagcttcttgggatttga
 tcttcacagtctcgggttaccatggctgagatgaggaatgaagatgtgtctgaggtggcca
 aagacgcaggtcccagcctctcttcatcacgtatgcagaagcagatgccaacatgccag
 cgtccactttcttggcatcatcttcttctgatgtaatcacgctgggcttggacagca
 cgtttgcaggcttggagggggtgatcacggctgtgctggatgagttccacacgtctggg
 ccaagcgggggagcgggtctgctcgcctgggtcatcacctgcttcttggatccctgg
 tccacctgacttttggagggcctacgtggtgaagctgctggaggagtatgccagggggc
 ccgagtgctcactgtcgcgctgatcgaagcagtcgctgtgtcttgggtctatggcatca
 ctcagttctgcagggacgtgaaggaatgctcggctcagcccggggtggttctggagga
 tctgctgggtggccatcagccctctgttctcctgttcatcattgacgtttctgatga
 gcccggcacaactcagactttccaatataaattaccttactggagtatcatctgggtt
 actgcataggaacctcatctttcatttgcaccccacatatagcttatcgggtgatca
 tcactccagggacattaaagagcgtattatfaaaagtattaccccagaaacaccaacag
 aaattcctgtgggacatccgcttgaatgctgtgtaacacactcaccgagaggaaaaag
 gcttccacaacctcctcctcagttctgatgaggcacgcctgccttctcccctcaag
 tgaatgagttccagctaagcctgatgatggaaggccttctccacagggacacagtctg
 gtgcccagactcaaggcctccagccacttattccatggattcccctggacatattcca
 tggtagactgtgacacagctgagctggcctattttggacgtgtgaggatgtggatggagg

tgatgaaaaccacctatcatcagtaggattaggttagaatcaagtctgtgaaagtct
 cctgtatcattcttggtatgatcattggtatctgatatctgtttgcttctaaaggttc
 actgttcatgaatacgtaaactgcgtaggagagaacagggatgctatctcgctagccata
 tattttctgagtagcatatataattttattgctggaatctactagaaccttctaaccat
 gtgctgctgtggcatcaggaaaaggaagatgtaagaagctaaaatgaaaatagtgtgtcc
 atgcaaaaaaaaaa

SEC. ID N°: 2- Transportador de serotonina humana (SLC6A4), secuencia de aminoácidos

(GenBank Accession No. NP_001036; 630 residues)-

mettplnsqkqlsacedgedcqengvlqkvvptpgdkvesgqisngysavpspgagddtr
 hspatttlvaelhqeretwggkvdflsvigyavdlgnvwrpicyqngggafllp
 ytimaifgqiplyfymelalgqyhrngcisiwrkicpifkgigyaiciafyiasyntim
 awalyylissftdqlpwtscnswntgnctnyfsednitwlhstspaeefytrhvlqih
 rskglqldggiswqlalcmiliftviyfsiwkgvktskvvwtatfpyiilsvllvrga
 tlpawrgvlyfklpnwqkllletgvwidaaaqifflslpgpfgvllafasynkfnncyqd
 alvtsvncmstsvsgfviftvlgymaemrnedvsevakdagpsllfityaeianmpas
 tffaiiffllmitlglldstfaglegvitavldefphvwakrrerfvlavvitcffgslvt
 ltfggayvvkllleeyatgpavltvalicavavswfygitqfcrdvkemlgfsgpwwfwric
 wvaisplflfiicsflmsppqlrlfqynypyysiilgycigtssficiencyiarliit
 5 pgtfkeriiksitpetpteipcgdirlnav

SEC. ID N°: 3- SNP rs25531 cebador hacia adelante- 5'-TCCT CCGCTTTGGCG CCTCTTCC-3' (hacia adelante)

SEC. ID N°: 4- SNP rs25531 cebador hacia atrás- 5'-TGGGGGTTGCAGGGGA GATCCTG-3' (hacia atrás)

SEC. ID N°: 5- rs2891483 cebador hacia adelante- GCAGAAGCGATAGCCAACATG

SEC. ID N°: 6- rs2891483 cebador hacia atrás- CAAGCCCAGCGTGATTAACATC

SEC. ID N°: 7- rs2891483 sonda- CTTTCTTTGCC[C/A]TCATCT (representado por CTTTCTTTGCCNTCATCT en la lista de secuencias)

SEC. ID N°: 8- Primer cebador para amplificar los polimorfismos repetidos de la región promotora 5'-HTTLPR 44 bp- 5'-CGT TGC CGC TCT GAA TGC CAG-3'

SEC. ID N°: 9- segundo cebador para amplificar el polimorfismo repetido de la región promotora 5'-HTTLPR 44 bp- 5'-GGA TTC TGG TGC CAC CTA GAC GCC-3'

SEC ID N°: 10- sitio de polimorfismo SNP de SLC6A4 rs1042173-

GCCATATATTTTCTGAGTAGCATATA[G/T]AATTTTATTGCTGGAATCTAC
 TAGA-

(represented by

GCCATATATTTTCTGAGTAGCATATANAATTTTATTGCTGGAATCTACTA

GA in the sequence listing)

Otros métodos y técnicas útiles para la práctica de la invención que no se describen son conocidos en el área, por ejemplo, véase la solicitud internacional N° PCT/US2008/064232.

Se cree que un técnico con experiencia en el área puede, sin mayor descripción, utilizando la descripción anterior y los ejemplos ilustrativos siguientes, preparar y utilizar los compuestos de la presente invención y practicar los métodos reivindicados. Los ejemplos de trabajo siguientes, por lo tanto, señalan específicamente realizaciones de la presente invención y no se deben interpretar como una limitación en modo alguno del resto de la divulgación.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Correlación de un polimorfismo funcional en la 3'UTR del gen transportador de serotonina SLC6A4 y su asociación con la actividad de consumo de alcohol

Se determinó si la variación alélica en un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) en una señal de poliadenilación putativa para un sitio de poliadenilación 3' utilizado comúnmente SNP G2651 T (National Center for Biotechnology Information N° de ID de referencia rs1042173) de SLC6A4, el gen del transportador de serotonina, está asociado a las diferencias en la gravedad del consumo de alcohol entre alcohólicos que buscan tratamiento. Para determinar la significación funcional del SNP G2651T/rs1042173, examinamos si la variación alélica en este sitio estaba asociada a cambios cuantificables en el nivel de expresión del ARNm y la expresión de la proteína 5-HTT. El gen del transportador de serotonina humana (SLC6A4) se encuentra en la posición 17q11.1-q12 del cromosoma 17. G2651T/rs1042173 está en el exón 15 posición 25,549,137. Además, 5-HTTLPR está en el promotor en la posición del cromosoma ~25,588,500. La secuencia de la región de flanco 5' del gen corresponde al número de referencia de GenBank X76753 (véase Heils et al., J. Neurochem., 66:2621, 1996).

Materiales y métodos

Sujetos

Se utilizó un total de doscientos setenta y cinco sujetos dependientes del alcohol (78.5% varones) de entre 18 y 66 años en este estudio, en el en el cual 198 de ellos estuvieron incluidos en nuestro estudio anterior (Johnson et al., 2008). Todos los sujetos fueron considerados dependientes del alcohol (véase más adelante los detalles) y se inscribieron como parte de un ensayo farmacoterápico para el tratamiento de la dependencia del alcohol tanto en el University of Texas Health Science Center en San Antonio como en la University of Virginia. Los participantes fueron convocados por el periódico o por avisos en la radio y se obtuvo el consentimiento informado por escrito, aprobado por los comités de revisión de todos los institutos participantes, de todas las personas participantes.

La dependencia del alcohol se diagnosticó con la entrevista clínica estructurada para el Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4ª edición (American Psychiatric Association, 1994) Axis I Disorders, por un psicólogo entrenado. Todos los sujetos tuvieron una puntuación ≥ 8 en la prueba de identificación de trastornos por consumo de alcohol (AUDIT) (Babor et al., 1992) que seleccionaba los individuos con consumo de alcohol y problemas relacionados: consumo de alcohol exagerado informado que se definió como beber ≥ 21 bebidas estándar a la semana para las mujeres y ≥ 30 bebidas estándar a la semana para los varones durante los 90 días previos a la inscripción. La ausencia de consumo de otras sustancias se confirmó por análisis de detección toxicológica en orina negativo para narcóticos, anfetaminas o sedantes hipnóticos en el momento de la inscripción. Los sujetos que cumplían los criterios siguientes fueron excluidos del estudio: diagnóstico psiquiátrico a ese día de eje I distinto de la dependencia del alcohol o la nicotina; síntomas de abstinencia de alcohol significativos basándose en la evaluación de la abstinencia para la escala de alcohol revisada del Instituto clínico (Sullivan et al., 1989) puntuación >15 ; anomalías físicas clínicamente significativas, basadas en el examen físico, un registro electrocardiográfico, una evaluación hematológica, análisis clínicos que incluían concentración de bilirrubina sérica y análisis de orina; embarazadas o lactantes; tratamiento por dependencia del alcohol ≤ 30 días antes de la inscripción y encarcelamiento obligatorio o pérdida del empleo por no recibir tratamiento para el alcoholismo.

Mediciones del consumo

El consumo autoinformado (medido en bebidas estándar) en los 90 días previos a la inscripción en el estudio se cuantificó utilizando el método de línea de tiempo hacia atrás. Una bebida estándar se definió como 0.35 L de cerveza, 0.15 L de vino o 0.04 L de licor de graduación alcohólica 80. La intensidad de consumo se evaluó midiendo la media de bebidas por día de consumo y la media de bebidas por día. Las bebidas por día de consumo se definieron como el número total de bebidas dividido entre el número de días de consumo en los 90 días; las bebidas por día se definieron como el número total de bebidas dividido entre los 90 días.

Extracción de ADN y genotipificación

Se extrajeron 10 mililitros de sangre de cada sujeto al inicio del estudio para obtener los glóbulos blancos para la determinación de los genotipos de 5-HTT. Se extrajo el ADN utilizando un kit Genra Puregene® (QIAGEN Inc., Valencia, CA). Se seleccionaron los SNP para análisis de asociación usando la base de datos de SNP (dbSNP) del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://Hwww.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) basándose en su potencial

funcional y menor frecuencia alélica (MAF) ≥ 0.05 . La densidad promedio de SNP es ~ 7 kb. La información detallada sobre las ubicaciones de los SNP, las posiciones cromosómicas, las variantes alélicas, MAF y las secuencias de cebador/sonda se resumen en la tabla 1. Cuatro de los cinco SNP (rs6354, rs6355, rs28914832 y rs1042173) se genotificaron con los ensayos de genotificación de SNP TaqMan® (Applied Biosystems, Foster City, CA). Las condiciones de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fueron 50 °C durante 2 min, 95 °C durante 10 minutos, 30 ciclos a 95 °C durante 25 s y 60 °C durante 1 minuto. Se determinaron los alelos de cada SNP con un instrumento ABI PRISM® 7900HT (Applied Biosystems) y se analizaron usando el software de sistema de detección de secuencia (SDS).

Se genotificaron las muestras de ADN de los 77 sujetos que no habían sido incluidos en nuestro estudio previo para los alelos L/S de 5'-HTTLPR según se describió previamente (Johnson et al., 2008).

Los ensayos para el SNP rs25531 se llevaron a cabo según describen Wendland et al (2006). Cada ensayo tuvo un volumen total de ensayo de 20 μ l, y las condiciones de la PCR fueron 15 min a 95 °C, 35 ciclos de 94 °C durante 30 s, 65.5 °C durante 90 s, y 72 °C durante 60 s, con un paso de extensión final de 10 min a 72 °C. Luego, 10 μ l del producto de la PCR se digirieron dos veces con HpaI y BclI (5 U de cada uno; New England Biolabs, Ipswich, MA) en un ensayo de reacción de 20 μ l con NEBuffer 1 y seroalbúmina bovina a 37 °C durante 5 horas. Finalmente, los 10 μ l restantes del producto de la PCR y los 20 μ l de solución del ensayo de la enzima de restricción se sometieron a electroforesis en gel de agarosa UltraPure™ al 3.5% (Invitrogen™, Carlsbad, CA) durante 1.5-2 h a 100 V en tampón de Tris/borato/ácido etilendiaminotetraacético y se visualizaron mediante tinción con bromuro de etidio (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). El producto de la PCR sin cortar, en los carriles cargados con productos de la PCR digeridos con la enzima de restricción, se detectaron como el alelo "A" de rs25531 y el producto cortado en 402 bp se detectó como el alelo "G" de rs25531.

Análisis de asociación con la intensidad de consumo

Las asociaciones de cada SNP con la intensidad de consumo (es decir, bebidas por día de consumo y bebidas por día) se analizaron utilizando la prueba del análisis de varianza en SAS versión 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC). Se probaron tres modelos genéticos (aditivo, dominante y recesivo) usando, género y edad como covariables. El desequilibrio de unión (LD) de a pares entre los 6 polimorfismos se evaluó mediante el programa Haploview (Barrett et al., 2005). Todas las asociaciones que se encontró que eran significativas fueron corregidas para pruebas múltiples según la corrección de Bonferroni dividiendo el nivel de significación entre el número de los polimorfismos estudiados.

Clonación, cultivo celular y transfección

Las diferencias de expresión alélica del SNP (rs1042173) que mostraron una asociación significativa con la intensidad de consumo se estudiaron usando un sistema in vitro. El 5-HTT humano que contenía el alelo G de rs1042173 en pBluescript II KS (-) fue un generoso regalo del Prof. Randy D. Blakely (eVanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN). Este constructo de ADNc de 5-HTT/Bluescript contenía la región codificante así como ambas regiones sin traducir 5'- y 3'- del gen con una longitud total de 2508 bp. El constructo de 5-HTT humano se digirió con HindIII/XbaI y se subclonó en pcDNA3.1(-) (Invitrogen™) digerido previamente con HindIII/XbaI según describen Qian et al (Qian et al., 1997). Para producir el plásmido con el alelo T de rs1042173, se mutó un plásmido de ADN que tenía el alelo G utilizando el sistema de mutagénesis sitio dirigida GeneTailor™ (Invitrogen™). A ambos constructos se les verificó la secuencia de ADN.

Se cultivaron células HeLa en medio completo [medio de Eagle modificado de Dulbecco (HyClone, Logan, UT), suero de feto bovino al 10% GIBCO® (Invitrogen™), 100 U/ml de penicilina y 100 μ g/ml de estreptomycin (Mediatech, Inc., Manassas, VA)] en placas de 6 pocillos y se mantuvieron en una estufa humedecida a 37 °C y 5% de CO₂. Después de que las células alcanzaron aproximadamente 80% de confluencia, se transfectaron con uno de los dos alelos (4 μ g de plásmidos por pocillo) en placas de cultivo de 6 pocillos utilizando Lipofectamina™ 2000 (Invitrogen™) según las instrucciones del fabricante. Se extrajeron el ARN y las proteínas de las células HeLa 24 horas después de la transfección.

Aislamiento del ARN, transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR)

Se extrajo el ARN total de las células HeLa con reactivo TRIZOL® (Invitrogen™). Las posibles contaminaciones de ADN se eliminaron tratando las muestras de ARN con DNase I exenta de RNase a 37 °C durante 30 min. Se llevó a cabo la transcripción inversa in vitro de cada muestra de ARN utilizando SuperScript® II RT (Invitrogen™) para obtener ADNc. Estas muestras de ADNc se transcribieron con los ensayos de expresión de genes TaqMan® (Applied Biosystems) específicos para el ARNm de 5-HTT, y el ARNm de 5-HTT resultante se cuantificó mediante el sistema de detección de secuencias ABI PRISM® 7900HT. Se utilizaron los conjuntos de cebador/sonda TaqMan® para la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH) como control interno para normalizar la expresión de 5-

HTT. Para cada experimento de qRT-PCR, se usaron cuatro muestras con el alelo G, cuatro muestras con el alelo T y cuatro controles con el vector pcDNA3.1 (-) solo en cultivos celulares de transinfecciones llevadas a cabo en días diferentes.

5 Análisis de inmunotransferencia tipo Western

Se agregó solución amortiguadora del ensayo de radioinmunoprecipitación [Tris-HCl (pH 7.4), NP-40 al 1%, NaCl 150 mM, desoxicolato de sodio al 0.25% y EDTA 1 mM] a células HeLa después de lavar las células una vez con solución salina amortiguada con fosfato helada. La concentración de proteína de los lisados celulares se determinó usando el ensayo Bio-Rad (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Se cargaron 15 microgramos de muestras en geles de poliacrilamida- dodecil sulfato de sodio al 10% (30% de acrilamida) en solución amortiguadora de Tris-glicina que contenía dodecilsulfato de sodio. Las proteínas separadas se transfirieron después electroforéticamente a membranas de nitrocelulosa (PerkinElmer, Waltham, MA) durante toda la noche a 25 mA. Las membranas se bloquearon durante 1 h a temperatura ambiente con 2% de leche en polvo no grasa diluida en solución salina amortiguada con Tris con Tween® 20, solución amortiguadora (TBST), y se lavaron tres veces durante 10 min en solución amortiguadora TBST; luego se incubaron durante la noche con el anticuerpo primario (1:200) a 4 °C [inmunoglobulina G (IgG) policlonal de conejo correspondiente al extremo C-terminal de un 5-HTT dependiente de sodio de origen humano (solución madre de 200 µg/ml) (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA)]. Después las membranas se lavaron tres veces durante 10 min cada vez en solución amortiguadora TBST y se incubaron con los anticuerpos secundarios (1:5000) [anti-IgG de conejo (cabra), marcada con peroxidasa de rábano (PerkinElmer)] durante 1.5 h a temperatura ambiente. Las membranas hibridadas se lavaron con solución amortiguadora TBST cuatro veces durante 10 min cada vez, y se detectó la inmunorreactividad de las proteínas utilizando el reactivo de quimioluminiscencia Western Lightning® Chemiluminescence Reagent Plus (PerkinElmer) y exposición a una película de rayos X. Se usó la proteína tubulina como control interno para controlar las discrepancias en la carga de proteínas en cada carril. Se utilizó un anticuerpo monoclonal (anticuerpo monoclonal de ratón para α -tubulina) como el anticuerpo primario (1:2000), y anti-IgG de ratón como el anticuerpo secundario en inmunotransferencia tipo western para la tubulina.

30 Análisis densitométrico y estadístico

Se analizaron las películas de inmunotransferencia tipo Western en un escáner UMAX (Techville, Inc., Dallas, TX) usando Adobe Photoshop (v. 6.0; Adobe Systems Inc., San Jose, CA), y se midieron las densidades ópticas de los alelos G y T y de la tubulina utilizando el software de imagen NIH (v. 1.61). Se cuantificaron las densidades ópticas de las bandas de los alelos G y T y de la tubulina por densitometría. Los valores de densidad óptica de fondo (el área que rodea cada banda) se cuantificaron de la misma forma que las bandas de proteínas, y los valores se restaron de los valores de densidad óptica medidos para las bandas de proteínas. Se calcularon los cocientes entre los valores de densidad óptica de los alelos G y T, y los valores de densidad óptica de la tubulina en las muestras correspondientes para normalizar la expresión de los alelos G y T de 5-HTT. Se utilizó la prueba t de Student para analizar los datos de la proteína a fin de determinar la significación de las diferencias de expresión entre los alelos G y T.

Resultados

45 Genotipificación y análisis LD

Se genotipificaron muestras de ADN de 275 sujetos dependientes del alcohol en este estudio. De esos sujetos, 165 eran caucásicos (43 mujeres y 122 varones) y 110 eran hispanos (16 mujeres y 94 varones). Las distribuciones genotípicas de los 5 SNP y los alelos L/S de 5-HTTLPR, se ajustaron al equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 1). Además, los análisis de LD usando Haploview revelaron que no había bloques de haplotipos entre los 5 SNP y el polimorfismo L/S de 5-HTTLPR según los criterios de Gabriel et al. (2002), en las poblaciones caucásica, hispana o combinada, respectivamente (Figura 1).

Asociaciones con mediciones de consumo autoinformadas

55 Para excluir posibles variaciones causadas por las diferencias étnicas en la intensidad de consumo, se analizaron por separado subgrupos de sujetos basados en el origen étnico para todos los polimorfismos estudiados aquí. Entre los polimorfismos analizados individualmente usando el programa SAS (version 9.1) para asociaciones con la intensidad de consumo, sólo el SNP rs1042173 en la 3' UTR de SLC6A4 mostró una asociación significativa con la intensidad de consumo. La tabla 2 muestra parámetros demográficos y de consumo de la cohorte analizada para estudios de asociación de rs1042173. No se detectó una asociación significativa para otros polimorfismos genéticos con la intensidad de consumo en las poblaciones caucásica, hispana o combinada (no se muestran los datos).

Entre los sujetos caucásicos, la media de bebidas por día de consumo difirió significativamente entre los genotipos TT, TG y GG ($F=5.625$; $p = 0.004$). Utilizando la prueba de comparación múltiple post-hoc de Tukey, las diferencias

entre heterocigotos TG y homocigotos TT fueron estadísticamente significativas ($d = 4.721$; $p = 0.002$); sin embargo, las diferencias entre heterocigotos TG y homocigotos GG no lo fueron ($d = 2.175$; $p = 0.20$). Cuando se combinaron TT y TG y se compararon con GG utilizando la prueba t de Student, las medias no difirieron significativamente ($t = 0.32$; $p = 0.75$). Las medias combinadas de TG y GG (Figura 2A) fueron significativamente menores que la media de TT ($t = 2.97$; $p = 0.003$). Esto sugiere un efecto dominante del alelo G respecto al alelo T. La diferencia entre las medias de bebidas por día de consumo en los portadores de G y el grupo genotípico TT fue de $2.59 + 0.87$ (IC de 95% - 0.879 a 4.297).

Se demostró que el estrógeno modula la síntesis, la liberación y el metabolismo de 5-HT (Bethea et al., 2002; Frackiewicz et al., 2000; Pivac et al., 2004). Por lo tanto, para examinar el impacto del género en estas asociaciones, repetimos los análisis sólo en los sujetos de sexo masculino. En los varones caucásicos, la diferencia media de bebidas estándar por día de consumo entre los portadores de G y el grupo genotípico TT, fue de $2.89 + 1.07$ (IC de 95% - 0.771 a 5.009), que fue similar a la diferencia media en los sujetos caucásicos de sexo masculino y femenino combinados. Por consiguiente, no encontramos un efecto significativo del género en las asociaciones entre los genotipos de rs1042173 y las bebidas por día de consumo.

Sin embargo, entre los sujetos hispanos, no detectamos un efecto significativo de los genotipos de rs1042173 en ambas mediciones de intensidad de consumo: bebidas por día de consumo ($F = 0.935$; $p = 0.397$) y bebidas por día ($F = 0.299$; $p = 0.74$).

Teniendo en cuenta que el polimorfismo L/S de 5'-HTTLPR ha sido implicado como funcional en muchos estudios divulgados, examinamos el posible efecto interactivo de los alelos 5'-HTTLPR L/S y rs 1042173 en la intensidad de consumo, usando un algoritmo desarrollado recientemente para detectar la interacción gen-gen, denominado método de reducción de la dimensionalidad multifactorial generalizado (GMDR) (Lou et al. 2007). Nuestros análisis GMDR revelaron que no hay ninguna interacción significativa entre estos dos SNP funcionales ($P = 0.623$).

Expresión del ARNm de 5-HTT en células transfectadas con el plásmido que tiene los alelos T o G

Para estudiar si los alelos T y G de rs1042173 conducen a niveles de expresión diferenciales de los 5-HTT, transfectamos plásmidos que tenían los alelos T y G de rs1042173 en células HeLa y cuantificamos los niveles de ARNm utilizando el ensayo de qRT-PCR. Se analizaron los resultados para determinar las diferencias alélicas usando el método $\Delta\Delta C_t$ descrito por Winer et al (1999). La figura 3A representa la media de los niveles de expresión del ARNm de 5-HTT para los alelos T y G de tres experimentos de transfección independientes. El alelo G produjo un nivel de expresión significativamente mayor del ARNm en comparación con el alelo T. En los tres experimentos independientes, las células HeLa transfectadas con el alelo G, en comparación con sus contrapartes transfectadas con el alelo T, produjeron siempre un nivel de ARNm de 5-HTT >50% superior, un efecto que fue estadísticamente significativo ($p < 0.0001$).

Expresión de la proteína 5-HTT en los alelos T y G del SNP rs1042173

Para determinar si la diferencia de ARN asociada al alelo puede ser traducida en proteína, medimos las diferencias específicas de los alelos en los niveles de proteína 5-HTT entre los dos alelos. Después de la normalización con la tubulina para la diferencia de carga, encontramos que el nivel de proteína 5-HTT con el alelo G (0.137 ± 0.006) es significativamente mayor que el del alelo T (0.104 ± 0.002) ($t = 5.53$; $p = 0.005$; véase Figura 3B). Estos resultados se reprodujeron en experimentos de inmunotransferencia tipo Western de varias repeticiones independientes. En particular, la expresión del ARNm y las proteínas 5-HTT fue en la misma dirección, estando el alelo G asociado a mayores niveles de expresión del ARNm y la proteína que el alelo T.

Discusión

Los datos provistos evidencian que rs1042173, un SNP en la 3' UTR del gen SLC6A4, se asocia a la intensidad de consumo entre caucásicos dependientes del alcohol. Usando un método de mutagénesis sitio-dirigida, se demostró que rs1042173 es un polimorfismo funcional que dio lugar a una diferencia en los niveles de expresión de 5-HTT en cultivos de células HeLa, con el alelo G asociado a mayores niveles de expresión del ARNm de 5-HTT y la proteína que el alelo T. De los múltiples métodos utilizados para determinar si un polimorfismo es una función, uno, una comparación directa del nivel de expresión entre dos alelos a través de un sistema de expresión in vitro como el que se usó en este estudio representa una de las técnicas moleculares más convenientes en el área.

Los individuos dependientes del alcohol que eran portadores del alelo G para rs1042173 mostraron menor intensidad de consumo en comparación con los que eran homocigóticos para el alelo T. Es importante que, la intensidad promedio de consumo para ambos grupos alélicos superó el umbral de consumo exagerado de alcohol (es decir, ≥ 5 y ≥ 4 bebidas estándar/día para varones y mujeres, respectivamente), y todos eran dependientes del alcohol. En el momento del ingreso, los sujetos de ambos grupos alélicos no eran desde el punto de vista estadístico significativamente diferentes en el promedio de edad cronológica y duración de la dependencia del alcohol. Por lo

tanto, es razonable proponer que individuos dependientes del alcohol con el genotipo TT podrían constituir un subtipo de bebedores más intensos entre los alcohólicos de consumo exagerado de ascendencia europea.

5 Este es el primer estudio para investigar la función del SNP rs 1042173 en una población de dependientes del alcohol. El polimorfismo de rs1042173 no sólo está ubicado en un sitio de señal de poliadenilación putativa en la 3' UTR del gen 5-HTT sino también cerca de un sitio de unión potencial para microARN ARNmi-135 según una predicción bioinformática con el programa PicTar (Chen et al., 2006). Se ha planteado la hipótesis de que una variante en esta ubicación puede cambiar los niveles de expresión al afectar la estabilidad del ARNm (Battersby et al., 1999; Beaudoin et al., 2000; Chen et al., 2006). Nuestros resultados han sido respaldados además por dos informes recientes. El primer estudio reportado por Vallender et al., (2008) reveló que un haplotipo funcional que contenía el alelo T de rs1042173 estaba asociado a una mayor expresión del ARNm en células HEK293 en comparación con el haplotipo que constaba del alelo G. Otro estudio reportado por Lim et al (2006) mostró que el alelo G tenía mayor desequilibrio en la expresión alélica (AEI) en linfoblastos transformados con el virus de Epstein-Barr mientras que tejido protuberancial humano mostró un menor AEI para el alelo G. Aunque los niveles de expresión asociados a cada alelo de rs1042173 son incoherentes entre estos estudios (probablemente debido a los diferentes genes reporteros y/o líneas celulares utilizados entre ellos), todos ellos revelan que rs1042173 es funcional.

20 El resultado de no asociación entre el genotipo de rs1042173 y la intensidad de consumo en los hispanos, que difirió del de una asociación entre personas caucásicas, mientras que las frecuencias alélicas para los alelos T y G en caucásicos e hispanos no fueron significativamente diferentes, sugiere la posibilidad de regulación diferencial de la expresión génica por grupo étnico. Debido al tamaño relativamente pequeño de la muestra de la cohorte, tal premisa debe tratarse como preliminar y confirmarse mediante estudios más amplios.

25 Los datos muestran que la asociación entre la intensidad de consumo y el genotipo sigue siendo significativa de la misma manera, incluso si variamos el período de consumo antes de la inscripción dentro de un rango de 14 a 90 días (no se muestran los datos). La coherencia de estos resultados reforzó nuestros hallazgos.

30 Los resultados sugieren la posibilidad de que dos subgrupos diferentes de alcohólicos que buscan tratamiento con diferencias alélicas en el 3' UTR SNP rs1042173 puedan diferir en su intensidad de consumo, un efecto que podría estar asociado a diferencias subyacentes en la expresión de 5-HTT.

Tabla 1. Información biológica de los 5 SNP examinados en este estudio

ID de dbSNP de NCBI	Posición física	Posición cromosómica	Alelos	MAF			Valores p para la desviación de HWE ^b		Secuencias de cebadores y sonda/ID de la secuencia de contexto de los cebadores y sondas ABI
				CEU*	Caucásicos ^b	Hispanos ^b	Caucásicos	Hispanos	
5-HTTLPR	Promotor	- 25,588,500	L- largo	--	0.451	0.430	0.814	0.624	Forward: TCCT CCGCTTTGGCCTCTTCC
			S - corto					Reverse: TGGGGGTTGCAGGATATCCTG	
rs25531	Promotor	25,588,472	A/G:	0.100	0.065	0.079	0.999	1,000	Forward: TCCT CCGCTTTGGCCTCTTCC Reverse: TGGGGGTTGCAGGATATCCTG
									Los dos alelos se determinaron usando enzimas de restricción HpaI y BclI
rs6354	Exon 2 (5' UTR)	25,574,024	T/G	0.295	0.202	0.158	0.319	1.000	C_1841706_10
rs6355	Exon 3	25,572,936	C/G:	0.025 (Ala/Gly)	0.022	0.026	1.000	1.000	C_11414113_20

ID de dbSNP de NCBI	Posición física	Posición cromosómica	Alelos	MAF			Valores <i>p</i> para la desviación de HWE ^b		Secuencias de cebadores y sonda/ID de la secuencia de contexto de los cebadores y sondas ABI
				CEU*	Caucásicos ^b	Hispanos ^b	Caucásicos	Hispanos	
rs28914832	Exon 10	25,562,500	A/C	0.008 (Lea/IIe)	0.003	0.009	1.000	1.000	[Ensayo de genotipificación de SNP Custom Taqman(R)]
									Hacia delante:
									GCAGAAGCGATAGCCAACATG
									Hacia atrás:
									CAAGCCCAGCGTGATT AACATC
									Sonda: CTTTCTTTGCC[C/A]TCA TCT
rs1042173	Exon 15 (3' UTR)	25,549,137	G/T	0.433	0.419	0.455	0.138	1.000	C_7473190_10

MAF, menor frecuencia alélica; HWE, equilibrio de Hardy-Weinberg; ABI, Applied Biosystems (Foster City, CA).
 *Muestra europea del proyecto HapMap.
^bDatos de este estudio,

Tabla 2. Demografía y parámetros de consumo en la cohorte analizada para rs1042173

	Caucásicos				Hispanos			
	TT	TG	GG	valor <i>p</i>	TT	TG	GG	valor <i>p</i>
Número de sujetos	47	77	41	---	26	56	28	---
Género (% de varones)	82.97	64.93	80.49	---	88.46	85.71	82.14	---
Edad (años)	41.6 ± 1.66	42.36 ± 1.23	40.98 ± 1.52	0.62	37.08 ± 2.01	40.05 ± 1.22	38.82 ± 1.76	0,33
Edad de inicio del consumo problemático	29.74 ± 1.72	30.61 ± 1.25	28.37 ± 1.87	0.69	26.44 ± 1.67	26.82 ± 1.23	26.36 ± 1.87	0.91
Valor inicial de bebidas por día de consumo	11.17 ± 0.98	8.05 ± 0.47	9.58 ± 0.67	0.0043	9.99 ± 0.71	10.66 ± 0.67	9.76 ± 0.58	0.65
Valor inicial de bebidas por día	8.99 ± 0.96	6.48 ± 0.44	7.72 ± 0.58	0.02	8.23 ± 0.75	7.52 ± 0.59	7.92 ± 0.55	0.74
Años de vida consumiendo	11.86 ± 1.32	11.75 ± 1.04	12.6 ± 1.4	0.56	10.63 ± 1.68	13.23 ± 1.2	12.64 ± 1.51	0.35

Los valores son la media ± EEM. Los valores *p* significativos después de la corrección para pruebas múltiples figuran en negrita. Los "años de vida consumiendo" se calcularon restando la edad a la cual el sujeto comenzó a experimentar síntomas de dependencia del alcohol de su edad al inscribirse en el estudio. El valor *p* ajustado en el nivel de significación de 0.05 es 0.010.

Bibliografía para el Ejemplo 1

5 American Psychiatric Association (1994) Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th ed. American Psychiatric Association, Washington, D.C. Babor T.F., de la Fuente J.R., Saunders J., Grant M. (1992) AUDIT: The alcohol use disorders identification test, World health organization, Geneva. Switzerland.

10 Barrett et al., Bioinformatics, 2005, 21:263-265.
 Battersby et al., J Neurochem, 1999, 72:1384-1388.
 Beaudoin et al., (2000), Genome Res 10:1001-1010.
 Bethea et al. (2002), Front Neuroendocrinol 23:41-100.

- Bradley et al. (1997), *J Neurochem* 69:1356-1367.
 Cargiulo T. (2007) *Am J Health Syst Pharm* 64(5 Suppl 3):S5-11.
 Chen et al. (2006) *Hum Genet* 120:1-21.
 Chen et al. (2006) *Nature Genetics* 38: 1452 - 1456
 5 Dundon et al. (2004) *Alcohol Clin Exp Res* 28(7):1065-73.
 Feinn et al., (2005), *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 133B(1):79-84.
 Frackiewicz et al., (2000), *Ann Pharmacother* 34:80-88.
 Gastfriend et al., (2007), *J Subst Abuse Treat* 33(1):71-80.
 Goldman et al. (2005) *Nature Reviews/Genetics* 6:521-532.
 10 Gill K, Amit Z. (1989) *Recent Dev Alcohol* 7:225-48.
 Heils et al. (1996) *J Neurochem* 66:2621-2624.
 Hu et al. (2005) *Alcohol Clin Exp Res* 29(1): 8-16.
 Hu et al. (2006) *Am J Hum Genet* 78(5):815-26.
 Johnson et al. (2004) *Alcohol Clin Exp Res* 28(2):295-301.
 15 Javors et al. (2005) *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 29(1):7-13.
 Johnson et al. (2008) Can serotonin transporter genotype predict serotonergic function, chronicity, and severity of drinking? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32(1):209-16.
 Kweon YS, Lee HK, Lee CT, Lee KU, Pae CU. (2005) Association of the serotonin transporter gene polymorphism with Korean male alcoholics. *Journal of Psychiatric Research* 39:371-376.
 20 LeMarquand et al. (1994) *Biol Psychiatry* 36:326-337.
 Lim et al. (2006) Allelic expression of serotonin transporter (SERT) mRNA in human pons: lack of correlation with the polymorphism SERTLPR. *Mol Psychiatry* 11(7): 649-662.
 Little et al. (1998) *Am J Psychiatry* 155:207-213.
 Lou et al. (2007) *Am J Hum Genet* 80(6):1125-1137.
 25 Makela P, Mustonen H. (2007) *Alcohol Alcohol* 42(6):610-7.
 Mynett-Johnson et al. (2000) *Am J Med Genet* 96(6):845-9.
 Ozaki et al. (2003) *Mol Psychiatry* 8(11):933-6.
 Pivac et al. (2004) *Life Sci* 76:521-531.
 Prasad et al. (2005) Human serotonin transporter variants display altered sensitivity to protein kinase G and p38 mitogen-activated protein kinase. *PNAS* 102(32):1 11545-11550.
 30 Qian et al. (1997) Protein kinase C activation regulates human serotonin transporters in HEK-293 cells via altered cell surface expression. *J Neurosci* 17:45-57.
 Ramamoorthy et al. (1993) Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:2542-2546.
 35 Sullivan et al. (1989) *Br J Addict* 84:1353-1357.
 Talvenheimo et al. (1980). *J Biol Chem* 255:8606-8611.
 Vallender et al. (2008) Functional variation in the 3' untranslated region of the serotonin transporter in human and rhesus macaque. *Genes, Brain Behav.* 2008 Aug;7(6):690-7
 Wendland et al. (2006) Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reappraisal of 5-HTTLPR and rs25531. *Mol Psych.* 11:224-226.
 40 Winer et al. (1999) *Anal Biochem* 270:41-49.
 Wrase et al. (2006) *Cogn Affect Behav Neurosci* 6:53-61.

45 Ejemplo 2 - Antecedentes de consumo en jóvenes con trastorno de consumo de alcohol: relación entre la expresión del transportador de serotonina en las plaquetas y los genotipos del transportador de serotonina

Se planteó la hipótesis de que el control funcional del sistema de serotonina es regulado en parte por diferencias en la expresión de SERT (5-HTT) [15]. El gen responsable de la codificación de la expresión de SERT tiene un polimorfismo funcional en la región reguladora promotora 5' [16, 17]. El polimorfismo contiene una mutación de inserción/delección, donde la variante larga (L) tiene 44 pares de bases que están ausentes en la variante corta (S).
 50 En controles normales, el genotipo LL, comparado con los portadores de S (es decir, los genotipos SS y SL), tiene una mayor captación de 5-HT en las plaquetas humanas [18], los linfoblastos [19] y mayor número (por ejemplo, reflejando mayor expresión o menor recambio) de SERT en los núcleos del rafe humano [20]. Suponiendo que los individuos con el genotipo LL tienen mayores tasas de expresión de SERT, se presume que esos individuos tienen
 55 una mayor captación de 5-HT, menores niveles intrasinápticos de 5-HT y, por consiguiente, menor neurotransmisión intrasináptica de 5-HT in vivo e in vitro [16, 19].

La expresión diferencial del transportador de serotonina, en interacción con el consumo crónico de alcohol, puede desempeñar un papel importante en la etiología y patogenia del alcoholismo [15, 21], especialmente para el
 60 alcoholismo de inicio temprano. Por ejemplo, los adolescentes con el genotipo LL pueden tener vulnerabilidades específicas que aumentan el riesgo de que se tornen alcohólicos [1, 22]. Estudios de riesgo familiar y de población respaldan esta hipótesis. En una muestra de varones en riesgo de dependencia del alcohol, el genotipo LL fue más prevalente entre quienes se habían tomado dependientes del alcohol [23]. Ernouf y colegas [24] demostraron que esa captación de serotonina (5-HT) en las plaquetas fue mayor en los padres dependientes del alcohol y sus hijos,

en comparación con los controles pareados por edad. Rausch y colegas [25] demostraron que los adultos de sexo masculino con padres dependientes del alcohol tenían mayor V_{max} media para la captación de 5-HT en las plaquetas, en comparación con los controles FH. En una muestra de japoneses, los alcohólicos con el alelo L (p. ej., genotipos LL y LS) tuvieron un inicio significativamente más temprano de la dependencia del alcohol, en comparación con los del genotipo SS [26]. En una muestra de varones coreanos, la frecuencia del alelo L fue significativamente mayor en los individuos dependientes del alcohol en comparación con los controles [27]. Sin embargo, en las muestras de europeos y mexicanos-americanos, el genotipo SS, no el genotipo LL, se asoció a un tipo antisocial de alcoholismo [28, 29], así que el riesgo genético claramente no es tan simple como que una sola variante alélica aumenta el riesgo de dependencia del alcohol. Nuestro grupo ha informado previamente que la captación de 5-HT en las plaquetas fue mayor entre los varones EOA, en comparación con los varones LOA y los controles sanos [30]. Aunque en muestras de adultos normales, la captación de 5-HT en las plaquetas es mayor entre los portadores de L en comparación con los individuos con el genotipo SS [18], encontramos recientemente que entre los adultos con dependencia crónica del alcohol, tanto la captación de 5-HT como la unión de 3H-paroxetina a SERT se redujeron entre los portadores de L (p. ej., LL y LS) en comparación con los homocigotos SS [31] y estas reducciones en la función de 5-HT en las plaquetas se relacionaron a los años de consumo. Juntos, los resultados anteriores de los estudios de riesgo familiar y de población, respaldan la hipótesis de que el consumo crónico de alcohol puede ser "tóxico" para SERT y disminuir la actividad de SERT expresado en los individuos que son portadores de L [15, 20, 22].

Los objetivos fueron determinar si el genotipo de SERT (LL vs portadores de S) diferenciaba adolescentes de inicio temprano con AUD con respecto a sus patrones de consumo o su actividad serotoninérgica medida por la densidad y la función de SERT en las plaquetas. También se examinaron las relaciones entre las mediciones de SERT en las plaquetas y el consumo a ese día y de toda la vida. Se planteó la hipótesis de que las medidas en las plaquetas de la unión y función de SERT estarían relacionadas con el genotipo de SERT, en parte debido a los antecedentes relativamente breves de consumo de alcohol. Específicamente se predijo que los adolescentes con AUD mostrarían una mayor mayor función de SERT y densidad de SERT en el genotipo LL en comparación con los genotipos S (LS, SS). También se probó si los antecedentes de consumo, la cantidad de consumo a ese día, o ambos, determinan cómo el genotipo de SERT altera la función de SERT en adolescentes con trastorno de consumo de alcohol.

30 Materiales y métodos

Participantes - Los participantes fueron jóvenes de 18-20 años de edad con un trastorno de consumo de alcohol a ese día, que no buscaban tratamiento. A los participantes se les diagnosticó abuso de alcohol o dependencia del alcohol, usando los criterios diagnósticos del Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4ª edición (DSM-IV; American Psychiatric Association, 1994). Todos los voluntarios tenían buena salud física (determinada por un examen físico completo, electrocardiograma (ECG) dentro de los límites normales y análisis clínicos dentro de parámetros aceptables); estaban consumiendo al menos 3 bebidas estándar/día de consumo; tenían un nivel de alcohol de cero con el alcoholímetro en el momento de la selección; y sabían leer y escribir en inglés. Los criterios de exclusión incluyeron trastorno de consumo de sustancias diferentes del alcohol o el cannabis, a ese día o durante toda la vida, DSM-IV de eje I. El consumo de sustancias ilícitas diferentes de la marihuana en los 30 días previos, fue excluyente. Los criterios de exclusión psiquiátricos incluyeron trastorno depresivo mayor a ese día, trastorno bipolar, trastorno de estrés posttraumático, psicosis o déficit de atención con hiperactividad (TDAH) que había sido medicado en los 30 días anteriores. Los criterios de exclusión médicos incluyeron niveles de enzimas hepáticas superiores a 4 veces el rango normal, y/o bilirrubina elevada (>110% según los límites de lo normal); comorbilidad médica sería que requiera intervención médica o supervisión estrecha; abstinencia del alcohol clínicamente significativa; tratamiento para el abuso o la dependencia del alcohol en los 30 días previos; o, en caso de ser mujer, el embarazo. Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito. El estudio fue aprobado por el Comité de revisión institucional del University of Texas Health Science Center.

Mediciones diagnósticas - Terapeutas entrenados utilizaron la entrevista infantil para síndromes psiquiátricos (ChIPS), que se adhiere estrictamente a los criterios de DSM-IV para trastornos psiquiátricos y se ha demostrado que es precisa y proporciona diagnósticos válidos de trastornos psiquiátricos en adolescentes y jóvenes adultos hasta 20 años de edad [32]. Se diagnosticaron trastornos de consumo de sustancias a ese día y de toda la vida en una entrevista clínica estructurada utilizando la entrevista diagnóstica para adolescentes (ADI) [33, 34]. El investigador principal aclaró las discrepancias y estableció la fiabilidad de las entrevistas, utilizando el mejor procedimiento estimado de diagnóstico [35, 36] y controló la coherencia del autoinforme de los participantes durante todo el estudio. Se determinaron el consumo recién informado y el consumo de toda la vida mediante una entrevista al paciente usando procedimientos de línea de tiempos hacia atrás [37].

Diseño general y procedimientos - El diseño experimental fue un estudio retrospectivo transversal. Después de la selección inicial, los participantes elegibles dieron sangre para análisis de la función plaquetaria de 5HT y genotipificación. Se extrajeron 50 mililitros de sangre de cada participante para obtener plaquetas para la medir la captación de 5-HT en las plaquetas intactas y la unión de paroxetina a las membranas de las plaquetas. Además, se extrajo una muestra de 10 ml de sangre para la determinación del genotipo de SERT.

Suspensión de plaquetas y preparación de las membranas de las plaquetas - Se extrajeron 50 ml de sangre en jeringas de polipropileno de 60 ml que contenían 10 ml de solución amortiguadora de ácido-citrato-dextrosa (ACD). Después la sangre se centrifugó a 150 g a 23 °C durante 20 minutos en una centrifuga Beckman TJ-6 para obtener plasma rico en plaquetas (PRP). El recuento de plaquetas en el PRP se llevó a cabo con un contador Coulter modelo S-plus VI y se ajustó a 3×10^8 plaquetas/ml con agregado de solución amortiguadora de plaquetas (KCl 137 mM, MgCl₂ 1 mM, glucosa 5.5 mM, HEPES 5 mM, pH 7.4) para preparar el PRP ajustado sólo para los experimentos de captación de serotonina. Se usaron 3 ml del PRP ajustado para los experimentos de captación de serotonina en las plaquetas, que se realizaron en el día de la extracción de sangre. Para preparar las membranas de las plaquetas para los experimentos de unión de paroxetina, se utilizó el resto del PRP. Se agregó 1 ml de solución de prostaglandina 12 (300 ng/ml) por ml de PRP para evitar la pérdida de plaquetas durante la centrifugación, y luego la muestra se centrifugó a 550 g. El sedimento de plaquetas resultante se resuspendió en solución amortiguadora de plaquetas y luego se centrifugó a 35 000 g. El sedimento de membranas plaquetarias se resuspendió en 1 ml de solución amortiguadora de plaquetas y se almacenó a 80 °C hasta el día del ensayo para medir la unión de paroxetina.

Captación de serotonina en las plaquetas intactas - Se realizaron experimentos de captación de 5-HT en las plaquetas en 21 participantes. La suspensión de PRP ajustada se utilizó para determinar la captación de 5-HT en las plaquetas. Se prepararon tubos de ensayo por duplicado que contenían ³[H] 5-HT en seis concentraciones diferentes (62.5 nM a 2000 nM) y pargilina 100 µM con o sin fluoxetina 50 µM. Esos tubos se incubaron a 37 °C durante 5 min; entonces la reacción se inició por adición de 100 µl de PRP ajustado que contenía 10⁷ plaquetas. Los tubos de ensayo se incubaron a 37 °C durante 5 min más; y después la reacción se detuvo por filtración rápida a través de filtros Whatman GF/B con una cosechadora de células Brandel Cell Harvester. Los filtros se lavaron tres veces con 5 ml de solución amortiguadora de lavado helada (Tris-HCl 50 mM, NaCl 150 mM y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 20 mM). Los filtros se colocaron en viales de centelleo que contenían 5 ml de Beckman Ready Protein + líquido de centelleo para recuento y se contaron inmediatamente. La captación específica se calculó restando de la captación total la captación no específica (tubos de fluoxetina). La velocidad de captación máxima de 5-HT máxima (V_{máx}) en las plaquetas se expresó como 5-HT fmol/min-10⁷ plaquetas, y la constante de equilibrio (K_m) como nM. K_m y V_{máx} se calcularon utilizando la función hiperbólica de un sitio en software Prism 4 mediante Graph Pad™.

Unión de paroxetina a las membranas de las plaquetas - Se usaron las membranas de las plaquetas para determinar la unión de paroxetina en las plaquetas. Se prepararon tubos de ensayo por duplicado que contenían solución amortiguadora de incubación (Tris-HCl 50 mM, KCl 5 mM y NaCl 120 mM) y paroxetina ³[H] a 6 concentraciones diferentes (0 a 2 nM) con y sin fluoxetina 150 mM. La concentración real de paroxetina en cada tubo se determinó utilizando una alícuota de 40 ml de cada tubo antes de la adición de las membranas de las plaquetas. El experimento se inició mediante agregado de 80 mg de proteína de membrana plaquetaria y después los tubos de ensayo se incubaron durante 1 hora a 23 °C. La reacción se detuvo por adición de solución amortiguadora de lavado helada (Tris HCl 50 mM, NaCl 150 mM, EDTA 20 mM) y rápida filtración a través de filtros Whatman GF/B tratados con polietilenoimina al 0.3% utilizando una cosechadora de células Brandel Cell Harvester. Los filtros se lavaron tres veces con solución amortiguadora de lavado helada, se secaron durante toda la noche, se colocaron en viales de centelleo que contenían 5 ml de Beckman Ready Protein + líquido de centelleo para recuento y se contaron en un contador de centelleo líquido Beckman LS-6500. Las desintegraciones por minuto (DPM) de las alícuotas de 40 ml se convirtieron en nM de paroxetina para obtener las concentraciones reales en cada tubo. La unión total y no específica de paroxetina se graficó frente a cada concentración real. La unión específica se calculó restando la unión no específica de la unión total. K_D y B_{máx} de la unión de paroxetina se calcularon utilizando el software Prism4 (Graphpad). La unión de paroxetina (B_{máx}) se expresó como fmol/mg de proteína de la membrana plaquetaria y K_D como nM. Se midieron las concentraciones de proteína utilizando el método BioRad y un espectrofotómetro para microplacas SPECTRAMax PLUS384.

Genotipificación- La muestra de sangre para la determinación del genotipo de SERT se extrajo en el momento de la inscripción. Se separaron los glóbulos blancos del plasma y se resuspendieron, se aisló el ADN usando PUREGENE, Gentra systems según el protocolo del fabricante. El polimorfismo repetido de la región promotora 5'-HTTLPR 44 bp se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de ~ 50 ng de ADN usando dos cebadores: 5'-CGT TGC CGC TCT GAA TGC CAG-3' y 5'-GGA TTC TGG TGC CAC CTA GAC GCC-3' y en un volumen final de 25 µl de 0.5 U de ADN polimerasa Tfl (Epicentre), 1X solución amortiguadora de PCR, 1.5 ml de MgCl₂, dNTP 200 µM, 1X potenciador y 0.6 µM de cada cebador. Las condiciones de la PCR fueron las siguientes: 94 °C durante 30 s; 70 °C durante 30 s y 72 °C durante 30 s; una extensión final de 72 °C durante 7 min y retención terminal a 4 °C. La separación por electroforesis en gel con 4% de agarosa MetaPhor (Cambrex, Rockland, ME) permitió la visualización por bromuro de etidio/detección UV de las dos variantes (larga (L) y corta (S): tamaños de fragmentos = 464 bp y 420 bp, respectivamente) de la región promotora del gen SCL4A (-1415 a -951) [16].

Análisis estadísticos - Se examinaron las medias y las desviaciones estándar para las variables de los resultados de las variables de las plaquetas (K_m y V_{máx} de captación de 5HT en plaquetas intactas, y K_D y B_{máx} de unión de paroxetina en las membranas plasmáticas de las plaquetas). Las distribuciones no normales de las variables de los

resultados fueron transformadas. Los análisis planificados incluyeron correlaciones de Pearson para examinar las relaciones de las variables de las plaquetas. Se utilizaron pruebas t para determinar si existían diferencias de grupos en los genotipos LL vs genotipos portadores de S, en los trastornos psiquiátricos, el consumo a ese día y el consumo de toda la vida, para las variables dependientes de la función de 5HT en las plaquetas (B_{máx} Kd. V_{máx} y KM).

Resultados - La distribución de los genotipos fue la siguiente: LL, n = 8, LS, n = 9, SS, n = 4. Dado que los portadores de S (LS y SS) fueron los genotipos predominantes en la muestra, LS y SS se agruparon para los análisis de diferencias de grupos (por ejemplo, LL vs. portadores de S).

No hubo diferencias estadísticamente significativas en la edad ni el origen étnico entre los LL y los portadores de S (véase Tabla 1). Sin embargo, el grupo LL tuvo una edad significativamente más temprana de inicio y una mayor tiempo de consumo de alcohol, pero no tuvo diferencias significativas en las medidas cuantitativas de consumo reciente. El grupo LL también tuvo significativamente mayor distracción y componentes motores del rasgo de impulsividad y una tendencia hacia diferencias significativas en el rasgo de impulsividad BIS-11 total. Todos los participantes tenían un trastorno de consumo de alcohol a ese día basado en los criterios DSM-IV. No hubo diferencias significativas entre los grupos de genotipos en otro de los grupos psiquiátricos del DSM-IV.

La tabla 2 y la figura 4 presentan los resultados de los estudios de plaquetas. Los participantes que tenían el genotipo LL tuvieron B_{máx} y Kd significativamente mayores que los portadores de S, lo que indica una mayor cantidad de SERT con menor afinidad para la unión de paroxetina. No hubo diferencias de grupo de genotipo en las medidas funcionales de las plaquetas de captación de 5HT .

Discusión - La principal conclusión fue que el genotipo de SERT predijo las diferencias en la edad de inicio y el tiempo de consumo, así como el perfil de unión de SERT en las plaquetas entre adolescentes con un trastorno de consumo de alcohol. Específicamente, los adolescentes con el genotipo LL comenzaron a beber a una edad más temprana y mostraron mayor unión de ³H-paroxetina a menor afinidad que lo que lo hicieron los portadores de S.

A pesar de que ambos grupos de participantes tenían un inicio del trastorno de consumo de alcohol durante la adolescencia y eran de la misma edad a ese día (es decir, media = 18.7 años), los participantes con un genotipo LL tuvieron una edad de inicio del consumo significativamente más temprana (es decir, 13.5 vs. 15.2 años) en comparación con los portadores de S. Este resultado es compatible con la hipótesis descrita por Johnson [22] que predice que el genotipo LL estaría asociado a una edad más temprana de inicio del consumo problemático. También compatible con la hipótesis de Johnson, el grupo LL también tuvo niveles más altos de vulnerabilidad de comportamiento (es decir, rasgo de impulsividad) que los portadores de S [1, 15, 22]. Este último resultado es interesante a la luz de la bibliografía que sugiere que los genotipos LL pueden tener menor 5-HT en la hendidura sináptica y menor recambio central de 5-HT asociados a mayores niveles de impulsividad [1, 15, 22]. Curiosamente, no hubo diferencias significativas de grupo en los niveles actuales de consumo, lo que contrasta con los informes de los estudiantes universitarios, que muestran que los portadores S tuvieron patrones más pronunciados de consumo excesivo de alcohol [38].

Los resultados de estudios previos en poblaciones adultas demostraron en general que el genotipo SS se asocia a tipos antisociales de alcoholismo en las poblaciones europeas y mexicanas-americanas [28], mientras que entre las poblaciones asiáticas, el genotipo LL se ha asociado a riesgo de alcoholismo [26, 29]. La población del presente estudio de adolescentes incluyó participantes caucásicos, "blancos" - de ascendencia hispana, biracial o mixta, e Indio americana. Los resultados sugieren que el genotipo LL puede estar asociado a una mayor impulsividad, aumentando el riesgo para comenzar a encontrar consumo problemático en edades más tempranas (adolescentes). Dada la asociación del genotipo SS con trastornos de ansiedad y relacionados con el estrés [15, 39], una hipótesis alternativa es que en el momento en que adolescentes caucásicos maduran en adultos jóvenes de edad universitaria, otros factores ambientales como el estrés, interactúan con los genotipos portadores de S, para producir ansiedad o angustia afectiva que resultan en patrones de mayor riesgo de consumo y alcoholismo.

Estudios previos en adultos mostraron que en comparación con los portadores de S, el genotipo LL se asocia a mayor unión central de SERT [20] y mayor captación de 5-HT (pero no unión) en las plaquetas de sujetos sanos [18]. Sin embargo, este resultado parece no ser el caso en alcohólicos adultos. Se sabe que los adultos alcohólicos que tienen un alelo L tienen en realidad menor unión de ³H-paroxetina y captación de 5-HT en las plaquetas en comparación con los homocigotos SS y se planteó la hipótesis de que este efecto está relacionado a los años de consumo problemático [31]. Los resultados actuales sugieren que los adolescentes bebedores problemáticos que tienen el genotipo LL inicialmente tienen patrones normales de mayor unión de SERT, pero que los portadores de S no tienen una unión normal de SERT. Por consiguiente, es razonable especular que con el consumo exagerado continuo, los adolescentes que tienen un inicio temprano del consumo y más tiempo de consumo tienen un inicio temprano de la disminución regulada de SERT que la que se ve en los alcohólicos adultos.

Ejemplo 2, Tabla 1. Demografía, antecedentes de consumo y trastornos psiquiátricos a ese día

ES 2 430 940 T3

		Genotipo				
		LL (n = 8)		LS/SS (n = 13)		
Variable		Media	(DE)	Media	(DE)	Valor de P
Edad (años) rasgo impulsividad (BIS-11)		18.9	0.6	18.5	0.5	0.20
	No planificada	26.0	4.7	24.4	6.9	0.57
	Con falta de atención	20.5	3.4	16.5	3.8	0.03
	Motora	27.8	3.2	23.9	3.2	0.02
Consumo de toda la vida		74.3	7.4	64.9	11.3	0.05
Edad de inicio del consumo de alcohol (años)		13.5	1.2	15.2	1.9	0.03
Tiempo de consumo de alcohol (años) consumo reciente		5.4	0.9	3.3	1.8	<0.01*
	DD	3.0	1.7	3.9	5.3	0.98
	DDD	9.9	5.7	7.8	7.8	0.27
	PDA	67.6	16.1	52.7	25.7	0.16
		Número	(Porcentaje de participantes LL)	Número	(Porcentaje de participantes LS/SS)	
Género						0.97
	Varones	5	62.5	8	61.5	
	Mujeres	3	37.5	5	38.5	
Origen étnico						0.38
	Caucásicos	2	25.0	3	23.1	
	Hispanos	3	37.5	9	69.2	
	Biracial o mixto	3	37.5	0	0.0	
	Indioamericano	0	0.0	1	7.7	
ADHD		3	37.5	3	25.0	0.48
ODD		1	12.5	3	25.0	0.55
CD		6	75.0	9	75.0	0.92
Trastornos del humor		2	25.0	3	23.0	0.85
Trastornos de ansiedad		0	0.0	4	44.0	0.81
Consumo de alcohol		8	100.0	13	100.0	+
Trastorno						
Dependencia del alcohol		8	100.0	10	83.3	0.14
Abuso de alcohol		0	0.0	3	16.7	**
Dependencia de cannabis		1	12.5	6	50.0	0.11

(*) El tiempo de consumo de alcohol permanece significativo después de incluir la escala de impulsividad de Barrett (BIS) total como covariable. DD: promedio de bebidas por día en los 90 días previos; DDD: promedio de bebidas por día de consumo en los 90 días previos; PDA: porcentaje de días de abstinencia en los 90 días previos; (+) Todos los participantes cumplieron los criterios para un trastorno de consumo de alcohol; (**) Tres participantes cumplieron los criterios DSM-IV-TR para abuso de alcohol. Trastorno de déficit de atención con hiperactividad (ADHD); Trastorno de oposición desafiante(ODD), Trastorno de conducta (CD)

Ejemplo 2, Tabla 2

Diferencias de grupo en mediciones de captación de 5HT y unión de paroxetina

5

Variable	Genotipo				Valor de P
	LL (n = 8)		LS/SS (n = 13)		
	Media	(DE)	Media	(DE)	
Unión de paroxetina					
B _{máx} (fmol/mg de proteína)	802.0	254.2	504.3	199.8	0.02
K _d (nM)	0.7	0.5	0.4	.3	0.03
B _{máx} /K _d	1293.2	508.6	1861.4	1318.0	0.18
Captación de 5HT					
V _{máx} (fmol/min-10 ⁷ plaquetas)	181.6	128.4	200.1	113.5	0.46
K _m (μM)	445.9	409.3	323.2	136.4	0.40
V _{máx} /K _m	0.6	0.4	0.7	0.4	0.53

Nota: Los datos se transformaron a la escala de logaritmo natural para los análisis de la prueba t.

Conclusión - Los resultados de la presente proporcionan un respaldo parcial para la hipótesis de que entre los adolescentes que beben corrientemente con un trastorno de consumo de alcohol, los que tienen un genotipo LL presentan mayor impulsividad, comenzaron a beber a una edad más temprana y tienen mayor unión de ³H-paroxetina al SERT de las plaquetas. Estos resultados amplían nuestra comprensión actual del promotor 5' del gen de SERT en la regulación de SERT en adolescentes con AUD. Este estudio proporciona resultados preliminares que demuestran además que las mediciones plaquetarias y genéticas de la función de SERT pueden ser medidas útiles para rastrear la compleja interacción de los factores biológicos y ambientales en la etiología de la vulnerabilidad y el riesgo de inicio del alcoholismo o la toxicidad.

10

15

Ejemplo 2 Bibliografía

- Johnson, B.A. and N. Ait-Daoud, *Psychopharmacology*, 2000. 149: p. 327-344.
- LeMarquand et al., *Biological Psychiatry*, 1994. 36: p. 326-337.
- LeMarquand et al., *American Journal of Psychiatry*, 1999. 156: p. 1771-1779.
- Stoltenberg, S.F., *Alcoholism: Clin. Exp. Res.*, 2003. 27: p. 1853-1859.
- Linnoila et al., *Life Sciences*, 1983. 33: p. 2609-2614.
- Fils-Aime, M.L., et al., *Archives of General Psychiatry*, 1996. 53(3): p. 211-216.
- Cloninger, C., *Science*, 1987. 236: p. 410-416.
- Virkkunen et al *Archives of General Psychiatry*, 1987. 44: p. 241-247.
- Virkkunen et al., *Archives of General Psychiatry*, 1996. 53: p. 523-529.
- Swann et al., *Psychopharmacology*, 1999. 143: p. 380-384.
- Grunbaum, J.A., et al., *Morb. Mort. Wkly Rpt., Surveil.* 2002. 51(4): p. 1-62.
- McBride, et al., *Critical Reviews in Neurobiology*, 1998. 12: p. 339-369.
- Virkkunen, et al., *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 1995. 20: p. 271-275.
- Virkkunen, et al., *Epidemiology, Neurobiology, Psychology, Family Issues.*, M. Galanter, Editor. 1997, Plenum Press: New York. p. 173-189.
- Heinz et al., *Psychopharmacology*, 2004. 174: p. 561-570.
- Heil et al., *Journal of Neurochemistry*, 1996. 66: p. 2621-2624.
- Heils et al., *Journal of Neural Transmission*, 1997. 104: p. 1005-1014.
- Greenberg et al., *American Journal of Medical Genetics*, 1999. 88: p. 83-87.
- Lesch, et al., *Science*, 1996. 274: p. 1527-1531.
- Heinz, et al., *Biological Psychiatry*, 2000. 47: p. 643-649.
- Meltzer, et al., *Psychiatry Research*, 1998. 24: p. 263-269.
- Johnson, B.A., et al., *Alcoholism: Clin. Exp. Res.*, 2000. 24(10): p. 1597-1601.
- Schuckit, et al., *Biological Psychiatry*, 1999. 45: p. 647-651.
- Ernouf, et al., *Life Sciences*, 1993. 52: p. 989-995.
- Rausch, J.L., et al., *Neuropsychopharmacology*, 1991. 4(2): p. 83-6.
- Ishiguro, et al., *Alcoholism: Clin. Exp. Res.*, 1999. 23: p. 1281-1284.

40

27. Kweon, et al., *Journal of Psychiatric Research*, 2005. 39: p. 371-376.
 28. Feinn, et al., *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)*, 2005. 133B: p. 79-84.
 29. Konishi, et al., *Alcohol*, 2004. 32: p. 45-52.
 30. Javors, et al., *Alcohol and Alcoholism*, 2000. 35: p. 390-393.
 5 31. Johnson, et al., *Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, in press.
 32. Rooney, et al., *Administration manual of the ChIPS*. 1999, Washington, D.C.: American Psychiatry Press.
 33. Winters, et al., *Adoles. Diagnostic Interview Schedule and Manual*. 1993, Los Angeles: Western Psychological Services.
 34. Winters, K.C., et al., *Psychology of Addictive Disorders*, 1993. 7: p. 185-196.
 10 35. Leckman et al., *Archives of General Psychiatry*, 1982. 39: p. 879-883.
 36. Kosten, et al., *American Journal of Psychiatry*, 1992. 149: p. 1225-1227.
 37. Sobell, L.C., Sobell, M.B., *Timeline follow-back: A technique for assessing self-reported alcohol consumption.*, in *Measuring Alcohol Consumption: Psychosocial and biochemical methods*, E.R. Litten, Allen, J., Editor. 1992, Humana Press Inc.: Totwa, N.J. p. 41-72.
 15 38. Covault et al., *Biological Psychiatry*, 2007. 61(5): p. 609-16.
 39. Lesch, K.P., *European Journal of Pharmacology*, 2005. 526: p. 113-124.
 40. Dawes, et al., *Alcohol and Alcoholism*, 2004. 39(3): p. 166-177.
 41. Pine, et al., *Archives of General Psychiatry*, 1997. 54: p. 839-846.
 42. Soloff et al., *Alcoholism: Clin. Exp. Res.*, 2000. 24(11): p. 1609-1619.
 20 43. Twitchell et al., *Alcoholism: Clin. Exp. Res.*, 2000. 24(7): p. 972-979.
 44. Twitchell, et al., *Alcoholism: Clin. Exp. Res.*, 2001. 25(7): p. 953-959.

Ejemplo 3 - Los alcohólicos LL experimentan mayor reducción en la gravedad del consumo después del tratamiento con ondansetrón

25 El aumento regulado de 5-HT₃ aumenta la función de DA (Blandina et al 1989; Blandina et al 1988; De Deurwaerdere et al 1998), el principal neurotransmisor que actúa como mediador de los efectos gratificantes del alcohol. Este aumento regulado puede incrementarse por episodios de consumo excesivo porque la magnitud en que se potencia el receptor de 5-HT₃ es inversamente proporcional al nivel de la neurotransmisión basal de 5-HT (Lovinger 1991; Lovinger 1999; Lovinger and Zhou 1994; Lovinger and Zhou 1998; Zhou and Lovinger 1996; Zhou et al 1998). Por consiguiente, el ondansetrón puede ser diferencialmente eficaz en EOA con presunto predominio de la variante LL por bloqueo de los receptores de 5-HT₃ regulados, mejorando así la disfunción serotoninérgica y disminuyendo los efectos gratificantes del alcohol.

35 La variación polimórfica de SERT en 5'-HTTLPR también puede explicar la respuesta al tratamiento terapéutico con ISRS entre los alcohólicos tipo A (similares a LOA) con presunto predominio de SS/SL (Pettinati et al., 2000). Sin embargo, esta asociación, probablemente no es mediada a través de mecanismos de 5-HT₃. En este documento se propone que en los alcohólicos tipo A de Pettinati et al., predominantemente con la forma de SS/SL, la función serotoninérgica basal era normal. El tratamiento crónico con ISRS, produjo por lo tanto, una modesta facilitación de la neurotransmisión de 5-HT y una inhibición a largo plazo de la actividad dopaminérgica, compensando así los efectos gratificantes del alcohol durante el consumo crónico. Se puede esperar que los individuos con la forma SS/SL de 5'-HTTLPR experimenten un modesto efecto antigratificante similar durante la ingesta aguda de alcohol mientras reciben tratamiento crónico con ISRS. En cambio, el tratamiento crónico con ISRS fue probablemente ineficaz para reducir el consumo prolongado de alcohólicos tipo B (Kranzler et al., 1996) con presunto predominio LL porque la actividad serotoninérgica había sido aumentada considerablemente (ya que hay relativamente menos transportadores SERT en este estado), y el consiguiente marcado estado hipodopaminérgico probablemente activó el consumo de alivio para normalizar esta condición neuroquímica. El tratamiento crónico con ISRS probablemente tiene poco efecto sobre la neurotransmisión de 5-HT entre individuos con consumo agudo que tienen la variante LL porque la recaptación basal de serotonina ya está aumentada en gran medida.

50 Los presentes estudios se llevaron a cabo para determinar si la eficacia del tratamiento con ondansetrón se podría correlacionar con la expresión de la variante LL de 5'-HTTLPR y el consumo de alcohol.

55 Materiales y métodos

En un análisis provisorio planificado previamente, se examinaron los datos para que los 226 individuos dependientes del alcohol (entre 18 y 65 años espacio de edad) inscritos en el ensayo farmacoterápico controlado, aleatorio, de 12 semanas para determinar el efecto del ondansetrón sobre el consumo de alcohol entre individuos que variaban en la diferencia alélica en el gen de 5-HTT y la edad de inicio del alcoholismo. Todos esos individuos se inscribieron en el University of Texas Health Science Center en San Antonio. En resumen, el diseño del estudio fue 2 (LL vs LS/SS) × 2 (inicio temprano vs inicio tardío) × 2 (ondansetrón 4 µg/kg b.i.d. versus placebo). Los resultados inferenciales siguientes son para la gravedad del consumo-bebidas/día de consumo (DDD).

Los datos demográficos fueron que: 74% eran varones y 26% mujeres; 48% eran alcohólicos de inicio temprano y

52% alcohólicos de inicio tardío y 20% eran hispanos y 80% blancos. No hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) en los datos demográficos entre los grupos de tratamiento. Las medias de los valores iniciales (SD) de DDD (90 días previos) también fueron similares para los subgrupos del ondansetrón 4 µg/kg b.i.d. y del placebo - 9.83 (4.63) vs. 9.85 (4.49), respectivamente. Los análisis inferenciales se realizaron en todos los sujetos aleatorizados según el principio de intención de tratar. El plan analítico fue en primera instancia calcular la DDD en cada semana. Después utilizamos la diferencia entre DDD semanal y DDD inicial (en los 90 días previos) como medidas repetidas. Se utilizó un modelo mixto (SAS PROC MIXED) para estudiar el efecto del tratamiento, el genotipo (LL vs LS/SS), la interacción entre tratamiento y genotipo, la edad, la edad de inicio (temprano versus tardía), el género y la edad de inicio del consumo problemático, ajustando para el nivel inicial de DDD. También se incluyó una pendiente aleatoria para el tiempo para estudiar la variación en la tendencia en el tiempo del DDD semanal.

Resultados - Ejemplo 3

Se observó que DDD tanto para el grupo del ondansetrón como del placebo tuvo un patrón decreciente en el tiempo apenas lineal; por lo tanto, todos los grupos mejoraron sus resultados de consumo con el tiempo ($F = 32.96$; $P < 0.0001$). La tabla siguiente (Tabla 1 - Ejemplo 3) muestra los contrastes celulares para los diferentes genotipos en DDD, para los grupos del placebo y de tratamiento (es decir, ondansetrón).

También hubo un efecto principal del tratamiento ($F = 5.64$; $P = 0$). La interacción del tratamiento y el genotipo fue altamente significativa ($F = 6.99$; $P = 0.0083$). También hubo un efecto marginalmente significativo de la edad de inicio ($F = 3.68$; $P = 0.06$). Hubo un efecto significativo en general para el grupo LL para reducir DDD ($F = 5.64$; $P = 0.02$) y un efecto en el tiempo ($F = 12.69$; $P = 0.0007$). De la tabla, los contrastes celulares muestran que la reducción en DDD para el grupo LL fue conducida por el hecho de que el grupo LL de ondansetrón tuvo una reducción significativamente mayor en DDD en comparación con los otros tipos alélicos. De hecho, el tamaño del efecto (d de Cohen) para el efecto del ondansetrón en los individuos LL de reducir DDD fue mayor (es decir, 0.08). La reducción media de DDD (SEM) desde el inicio a lo largo de todo el período de tratamiento para los diferentes genotipos y condiciones de tratamiento fue de 5.70 (0.64) para ondansetrón LL, de 3.45 (0.44) para ondansetrón LS/SS, de 3.54 (0.67) para el placebo LL y de 4.25 (0.45) para el placebo LS/SS. Alrededor del 70% de los que ingresaron en la fase de doble ciego completaron el ensayo clínico.

Estos datos prometedores proporcionan la primera evidencia de que alcohólicos con el genotipo LL, en comparación con sus contrapartes con LS/SS, experimentan una disminución significativamente mayor en la gravedad del consumo después del tratamiento con ondansetrón.

Tabla 1 - Ejemplo 3

Tratamiento	Genotipo	Estimación	IC inferior	IC superior	Valor de P	d de Cohen
Placebo	LS/SS vs. LL	-0.71	-2.29	0.87	0.379	0.03
Tratamiento	LS/SS vs. LL	2.25	0.73	3.78	0.004	0.10
Placebo vs. tratamiento	LS/SS	-0.80	-2.03	0.43	0.203	0.04
Placebo vs. tratamiento	LL	2.16	0.35	3.98	0.020	0.08

Críticamente, estos nuevos resultados sobre medicamentos serotoninérgicos reviven el concepto de que el alcoholismo es un trastorno heterogéneo asociado a diferentes alteraciones neuroquímicas. Los medicamentos dirigidos específicamente a uno o más de estas anomalías subyacentes prometen, por lo tanto, ser tratamientos potentes, y sus ensayos deberían incrementar nuestra comprensión científica de la enfermedad.

Ejemplo 4 - Métodos para predecir las respuestas al tratamiento basados en diferentes genotipos de la 5'-HTTLPR y la 3'-UTR del gen del transportador de serotonina SLC6A4 y métodos de tratamiento basados en las diferencias.

Basándose en los resultados de los experimentos descritos en los ejemplos 1 a 3, se se llevaron a cabo una serie de estudios para determinar si hay un efecto farmacogenético del ondansetrón para tratar diferencialmente los individuos con el genotipo LL de 5'-HTTLPR, el genotipo TT de la 3'-UTR de rs1042173, o la combinación de los genotipos.

Materiales y métodos

Sujetos: Se inscribieron 289 varones y mujeres dependientes del alcohol en un ensayo de tratamiento de 12 semanas en el cual recibieron ondansetrón (4 µg/kg) o placebo. Todos los sujetos también recibieron semanalmente terapia cognitiva-conductual como tratamiento psicosocial estandarizado. Se realizó la genotipificación de todos los sujetos.

Métodos estadísticos: Se utilizaron modelos de efectos mixtos para estudiar el efecto del tratamiento y el genotipo y su interacción para cada uno de los resultados primarios del consumo. Los modelos incluyeron la intersección aleatoria y pendiente aleatoria y se ajustaron para covariables como los niveles de consumo promedio de los participantes en los 90 días previos al estudio, la edad, el género, el origen étnico (caucásicos e hispanos) y el centro. Se utilizó una matriz de covarianza de componentes de varianza para modelar diferentes varianzas para la intersección y la pendiente y una covarianza entre ellas. Las interacciones del tratamiento, el genotipo, la edad y el centro se incluyeron primero en los modelos. Se excluyeron de los modelos finales si no eran significativas.

Resultados: Para el resultado de bebidas por día de consumo (DDD), se encontró que hubo efectos principales de rs1042173 significativos en DDD ($p = 0.003$) así como en el rs1042173-por-el efecto de interacción de los alelos L/S (LL, LS/SS) de 5'-HTTLPR ($p = 0.021$) y en los alelos L/S de 5'-HTTLPR -por-el efecto de interacción del tratamiento ($p = 0.028$). Los pacientes con el genotipo TT tuvieron más de una reducción de 1-DDD en comparación con lo que tenían TG/GG (diferencia media = -1.16; IC de 95%: -1.93 a -0.39; $p = 0.003$). Inesperadamente, en los pacientes con ambos genotipos LL y TT (LT), la reducción de DDD fue mucho mayor que en los que tenían las otras combinaciones de genotipo de rs1042173 y alelos L/S de 5'-HTTLPR (<0.05), y hubo más de una reducción de 2-DDD en individuos LT en comparación con los que tenían LL y TG/GG (LG; diferencia media = -2.06; IC de 95%: -3.27 a -0.85; $p = 0.001$). Cuando se trataron con ondansetrón, los pacientes con genotipo TT parecieran responder al tratamiento con mayor eficacia que los pacientes con genotipo TG/GG (diferencia media = -1.31; IC de 95%: -2.36 a -0.25; $p = 0.016$). Un efecto similar del tratamiento se observó cuando comparamos pacientes con el genotipo LL con quienes tenían LS/SS (diferencia media = -1.41; IC de 95%: -2.46 a -0.36; $p = 0.009$), y entre los 117 pacientes con el genotipo LL, los del grupo de tratamiento tuvieron una reducción de 1.5-DDD cen comparación con los del grupo placebo (diferencia media = -1.50; IC de 95%: -2.70 a -0.31; $p = 0.013$). Se observaron efectos similares para otras mediciones del consumo.

Conclusión: el ondansetrón ejerce un efecto preferencial del tratamiento para reducir el consumo severo entre individuos dependientes del alcohol con el genotipo LL de 5'-HTTLPR, un efecto que es aumentado entre los que también poseen el alelo TT en la 3'-UTR de rs1042173. Estos datos demuestran un importante efecto farmacogenético del ondansetrón en individuos dependientes del alcohol. Este estudio valida un método mediante el cual individuos dependientes del alcohol que se identificó que tienen alguno de esos alelos, o su combinación, pueden ser tratados eficazmente con ondansetrón.

Los datos presentados en los ejemplos 1 a 4 demuestran que existe una asociación con el mayor consumo severo y la sensibilidad al tratamiento con ondansetrón en sujetos dependientes del alcohol homocigotos para T, con respecto a sujetos dependientes del alcohol con un alelo G.

Las divulgaciones de todos y cada una de las patentes, las solicitudes de patente y las publicaciones citadas se incorporan en este documento por referencia, en su totalidad.

Los títulos se incluyen en este documento por referencia para ayudar a ubicar ciertas secciones. Estos títulos no pretende limitar el alcance de los conceptos descritos bajo el título, y esos conceptos pueden tener aplicabilidad en otras secciones en toda la especificación.

Si bien esta invención ha sido dada a conocer con referencia a realizaciones específicas, es evidente que otras realizaciones y variaciones de esta invención pueden ser ideadas por otros expertos en el área sin apartarse del verdadero espíritu y el alcance de la invención.

Listado de secuencias

<110> University of Virginia Patent Foundation Johnson, Bankole A

<120> Gen transportador de serotonina y tratamiento del alcoholismo

<130> 01493-04

<150> 61/032,263
 <151> 2008-02-28

<150> 61/059, 301
 <151> 2008-06-06

<150> 61/146,440
 <151> 2009-01-22

<160> 10

ES 2 430 940 T3

<170> PatentIn versión 3.4

5 <210> 1
<211> 2775
<212> ADN
<213> homo sapiens

10 <400> 1

```
acagccagcg cgcgccgggtg cctcgagggc gcgaggccag cccgcctgcc cagcccggga 60
ccagcctccc cgcgcagcct ggcaggtctc ctggaggcaa ggcgacctg cttgccctct 120
cttgcagaat aacaaggggc ttagccacag gagtgtctgg caagtggaaa gaagaacaaa 180
tgagtcaatc ccgacgtgtc aatcccgcag atagagagct cggaggtgat ccacaaatcc 240
aagcaccag agatcaattg ggatccttgg cagatggaca tcagtgtcat ttactaacca 300
gcaggatgga gacgacgccc ttgaattctc agaagcagct atcagcgtgt gaagatggag 360
aagattgtca ggaaaacgga gttctacaga aggttgttcc caccccaggg gacaaagtgg 420
agtccgggca aatatccaat gggactcag cagttccaag tcctggtgcg ggagatgaca 480
cacggcactc tatcccagcg accaccacca ccctagtggc tgagcttcat caaggggaac 540
gggagacctg gggcaagaag gtggatttcc ttctctcagt gattggctat gctgtggacc 600
tgggcaatgt ctggcgcttc ccctacatat gttaccagaa tggagggggg gcattcctcc 660
tcccctacac catcatggcc atttttgggg gaatcccgct cttttacatg gagctcgac 720
tgggacagta ccaccgaaat ggatgcattt caatatggag gaaaatctgc ccgattttca 780
aagggattgg ttatgccatc tgcattcattg cttttacat tgcttctac tacaacacca 840
tcatggcctg ggcgctatac tacctcatct cctccttcac ggaccagctg ccctggacca 900
gctgcaagaa ctctggaac actggcaact gcaccaatta cttctccgag gacaacatca 960
cctggaccct ccattccacg tcccctgctg aagaatttta cacgcgccac gtcctgcaga 1020
```

ES 2 430 940 T3

tccaccggtc taaggggctc caggacctgg ggggcatcag ctggcagctg gccctctgca 1080
 tcatgctgat cttcactggt atctacttca gcatctggaa aggcgtcaag acctctggca 1140
 aggtggtgtg ggtgacagcc accttccctt atatcatcct ttctgtcctg ctggtgaggg 1200
 gtgccacctt ccttgagacc tggaggggtg ttctcttcta cttgaaacct aattggcaga 1260
 aactcctgga gacaggggtg tggatagatg cagccgctca gatcttcttc tctcttggtc 1320
 cgggctttgg ggtcctgctg gcttttgcta gctacaacaa gttcaacaac aactgctacc 1380
 aagatgccct ggtgaccagc gtggtgaact gcatgacgag cttcgtttcg ggatttgtca 1440
 tcttcacagt gctcggttac atggctgaga tgaggaatga agatgtgtct gaggtggcca 1500
 aagacgcagg tcccagcctc ctcttcatca cgtatgcaga agcgatagcc aacatgccag 1560
 cgtccacttt ctttgccatc atcttcttcc tgatgttaat cacgctgggc ttggacagca 1620
 cgtttgcagg cttggagggg gtgatcacgg ctgtgctgga tgagttccca cacgtctggg 1680
 ccaagcgccg ggagcgggtc gtgctcgcg tggtcatcac ctgcttcttt ggatccctgg 1740
 tcacctgac ttttgagggg gcctacgtgg tgaagctgct ggaggagtat gccacggggc 1800
 ccgcagtgtc cactgtcgcg ctgatcgaag cagtcgctgt gtcttggttc tatggcatca 1860
 ctcagtctg cagggacgtg aaggaaatgc tcggcttccg cccgggggtg ttctggagga 1920
 tctgtcgggt ggccatcagc cctctgttcc tctgttccat catttgcaat tttctgatga 1980
 gcccgccaca actacgactt ttccaatata attatcctta ctggagtatc atcttggggt 2040
 actgcatagg aacctcatct ttcaattgca tccccacata tatagcttat cggttgatca 2100
 tcaactccagg gacatttaaa gagcgtatta ttaaaagtat taccocagaa acaccaacag 2160
 aaattccttg tggggacatc cgcttgaatg ctgtgtaaca cactcaccga gaggaaaaag 2220
 gcttctccac aacctcctcc tccagtctg atgaggcacg cctgccttct cccctccaag 2280
 tgaatgagtt tccagctaag cctgatgatg gaagggcctt ctccacaggg acacagtctg 2340
 gtgccagac tcaaggcctc cagccactta tttccatgga ttcccctgga catattccca 2400
 tggtagactg tgacacagct gagctggcct attttgagc tgtgaggatg tggatggagg 2460
 tgatgaaaac caccctatca tcagttagga ttaggtttag aatcaagtct gtgaaagtct 2520
 cctgtatcat ttcttggtat gatcattggt atctgatatc tgtttgcttc taaaggttcc 2580
 actgttcatg aatacgtaaa ctgcgtagga gagaacaggg atgctatctc gctagccata 2640
 tattttctga gtagcatata taattttatt gctggaatct actagaacct tctaaccat 2700
 gtgctgctgt ggcacagga aaggaagatg taagaagcta aatgaaaaa tagtgtgtcc 2760
 atgcaaaaaa aaaaa 2775

<210>
 <211>
 <212>
 <213> homo sapiens
 <400> 2

5

2
 630
 PRT

ES 2 430 940 T3

Met Glu Thr Thr Pro Leu Asn Ser Gln Lys Gln Leu Ser Ala Cys Glu
 1 5 10 15

Asp Gly Glu Asp Cys Gln Glu Asn Gly Val Leu Gln Lys Val Val Pro
 20 25 30

Thr Pro Gly Asp Lys Val Glu Ser Gly Gln Ile Ser Asn Gly Tyr Ser
 35 40 45

Ala Val Pro Ser Pro Gly Ala Gly Asp Asp Thr Arg His Ser Ile Pro
 50 55 60

Ala Thr Thr Thr Thr Leu Val Ala Glu Leu His Gln Gly Glu Arg Glu
 65 70 75 80

Thr Trp Gly Lys Lys Val Asp Phe Leu Leu Ser Val Ile Gly Tyr Ala
 85 90 95

Val Asp Leu Gly Asn Val Trp Arg Phe Pro Tyr Ile Cys Tyr Gln Asn
 100 105 110

Gly Gly Gly Ala Phe Leu Leu Pro Tyr Thr Ile Met Ala Ile Phe Gly
 115 120 125

Gly Ile Pro Leu Phe Tyr Met Glu Leu Ala Leu Gly Gln Tyr His Arg
 130 135 140

Asn Gly Cys Ile Ser Ile Trp Arg Lys Ile Cys' Pro Ile Phe Lys Gly
 145 150 155 160

Ile Gly Tyr Ala Ile Cys Ile Ile Ala Phe Tyr Ile Ala Ser Tyr Tyr
 165 170 175

Asn Thr Ile Met Ala Trp Ala Leu Tyr Tyr Leu Ile Ser Ser Phe Thr
 180 185 190

Asp Gln Leu Pro Trp Thr Ser Cys Lys Asn Ser Trp Asn Thr Gly Asn
 195 200 205

Cys Thr Asn Tyr Phe Ser Glu Asp Asn Ile Thr Trp Thr Leu His Ser

ES 2 430 940 T3

Phe Val Leu Ala Val Val Ile Thr Cys Phe Phe Gly Ser Leu Val Thr
 465 470 475 480

Leu Thr Phe Gly Gly Ala Tyr Val Val Lys Leu Leu Glu Glu Tyr Ala
 485 490 495

Thr Gly Pro Ala Val Leu Thr Val Ala Leu Ile Glu Ala Val Ala Val
 500 505 510

Ser Trp Phe Tyr Gly Ile Thr Gln Phe Cys Arg Asp Val Lys Glu Met
 515 520 525

Leu Gly Phe Ser Pro Gly Trp Phe Trp Arg Ile Cys Trp Val Ala Ile
 530 535 540

Ser Pro Leu Phe Leu Leu Phe Ile Ile Cys Ser Phe Leu Met Ser Pro
 545 550 555 560

Pro Gln Leu Arg Leu Phe Gln Tyr Asn Tyr Pro Tyr Trp Ser Ile Ile
 565 570 575

Leu Gly Tyr Cys Ile Gly Thr Ser Ser Phe Ile Cys Ile Pro Thr Tyr
 580 585 590

Ile Ala Tyr Arg Leu Ile Ile Thr Pro Gly Thr Phe Lys Glu Arg Ile
 595 600 605

Ile Lys Ser Ile Thr Pro Glu Thr Pro Thr Glu Ile Pro Cys Gly Asp
 610 615 620

Ile Arg Leu Asn Ala Val
 625 630

	<210>		3
	<211>		23
5	<212>		ADN
	<213> homo sapiens		
	<400>		3
	tctccgctt tggcgctct tcc	23	
	<210>		4
10	<211>		23
	<212>		DNA
	<213> homo sapiens		
	<400>		4
	tgggggtgc aggggagatc ctg	23	
15	<210>		5
	<211>		21
	<212>		ADN
	<213> homo sapiens		
	<400>		5
20	gcagaagcga tagccaacat g	21	
	<210>		6
	<211>		22
	<212>		ADN
	<213> homo sapiens		
25	<400>		6
	caagcccagc gtgattaaca tc	22	

ES 2 430 940 T3

	<210>				7
	<211>				18
	<212>				ADN
	<213> Homo Sapiens				
5	<220>				
	<221>			característica_misc	
	<222>			(12)..(12)	
	<223> N puede ser C o A				
	<400>				7
10	ctttctttgc cntcatct	18			
	<210>				8
	<211>				21
	<212>				ADN
	<213> Homo Sapiens				
15	<400>				8
	cgttgccgct ctgaatgcca g	21			
	<210>				9
	<211>				24
	<212>				ADN
20	<213> Homo sapiens				
	<400>				9
	ggattctggt gccacctaga cgcc	24			
	<210>				10
	<211>				52
25	<212>				ADN
	<213> Homo sapiens				
	<220>				
	<221>			característica_misc	
	<222>	(27)		(27)	
30	<223> N puede ser G o T (alelos del sitio de polimorfismo)			..	
	<400>				10
	gccatatatt ttctgagtag catatanaat ttattgctg gaatctacta ga	52			

REIVINDICACIONES

1. Un método para predecir una predisposición de un sujeto de prueba a tornarse alcohólico, donde dicho método consiste en:

5 determinar en una muestra biológica obtenida del sujeto de prueba si el sujeto tiene el alelo G o es homocigótico para el alelo T del polimorfismo de un solo nucleótido rs1042173 del gen del transportador de serotonina SLC6A4,
 10 donde la presencia del alelo G es una indicación de que el sujeto de prueba tiene una menor predisposición a tornarse alcohólico con respecto a un sujeto homocigótico para el alelo T y donde la homocigosidad del alelo T en el sujeto de prueba es una indicación de que el sujeto de prueba tiene una mayor predisposición a tornarse alcohólico en comparación con un sujeto con el alelo G;
 predecir de ese modo una predisposición de un sujeto a tornarse alcohólico.

15 2. Un método de predicción de la respuesta a un tratamiento para el alcoholismo en un sujeto de prueba, donde dicho método consiste en:

determinar en una muestra biológica obtenida del sujeto de prueba si el sujeto tiene el alelo G o es homocigótico para el alelo T del polimorfismo de un solo nucleótido rs1042173 del gen del transportador de serotonina SLC6A4,
 20 donde la presencia del alelo G es una indicación de que el sujeto de prueba tiene una menor respuesta a un tratamiento del alcoholismo con respecto a un sujeto homocigótico para el alelo T;
 donde la homocigosidad del alelo T en el sujeto de prueba es una indicación de que el sujeto de prueba tiene una mayor predisposición a responder a un tratamiento del alcoholismo en comparación con un sujeto con el
 25 alelo G y es una indicación de que el sujeto tiene menores niveles de expresión del gen del transportador de serotonina SLC6A4;
 predecir de esa manera una respuesta a un tratamiento para el alcoholismo en un sujeto.

30 3. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende los pasos de:

determinar en la muestra biológica si el gen del transportador de serotonina SLC6A4 del sujeto de prueba tiene el genotipo LL de la región polimórfica unida al transportador de serotonina 5-HTTLPR;
 donde la presencia del genotipo LL es una indicación de que el sujeto de prueba tiene una predisposición a
 35 tornarse alcohólico;
 correlacionar los resultados de las determinaciones;
 predecir de ese modo una predisposición de un sujeto a tornarse alcohólico.

4. Un método de acuerdo con la reivindicación 2 que comprende los pasos de:

40 determinar en la muestra biológica si el gen del transportador de serotonina SLC6A4 del sujeto de prueba tiene el genotipo LL de la región polimórfica 5-HTTLPR unida al transportador de serotonina de polimorfismo funcional;
 donde la presencia del genotipo LL es una indicación de que el sujeto de prueba responderá de manera diferente al tratamiento que un sujeto con el genotipo L/S o SS;
 correlacionar los resultados de las determinaciones; prediciendo de esa manera una respuesta al tratamiento
 45 para el alcoholismo en un sujeto.

5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 donde dicho alcoholismo es alcoholismo de inicio temprano o alcoholismo de inicio tardío.

50 6. Un antagonista del receptor de serotonina 5-HT3 para usar en el tratamiento del alcoholismo en un paciente, donde el antagonista se administra a un paciente que se sabe que tiene el genotipo TT del polimorfismo de un solo nucleótido rs1042173 del gen del transportador de serotonina SLC6A4.

7. Un antagonista del receptor de serotonina 5-HT3 para usar en el tratamiento del alcoholismo en un paciente de acuerdo con la reivindicación 6, donde se sabe que el paciente tiene también el genotipo LL de la región polimórfica 5-HTTLPR unida al transportador de serotonina de polimorfismo funcional del gen del transportador de serotonina SLC6A4.

8. Un antagonista del receptor de serotonina 5-HT3 para usar en el tratamiento del alcoholismo en un paciente de acuerdo con la reivindicación 6 o 7, donde el antagonista de 5-HT3 es ondansetrón.

9. Un antagonista del receptor de serotonina 5-HT3 para usar en el tratamiento del alcoholismo en un paciente de acuerdo con la reivindicación 7, donde una muestra biológica del paciente ha sido analizada previamente en un ensayo capaz de mostrar que el paciente tiene el genotipo LL de la región polimórfica 5-HTTLPR unida al

transportador de serotonina de polimorfismo funcional del gen del transportador de serotonina SLC6A4 y donde una muestra biológica del paciente ha sido analizada previamente en un ensayo capaz de mostrar que el paciente tiene el genotipo TT del polimorfismo de un solo nucleótido rs1042173 del gen transportador de serotonina SLC6A4.

5 10. Un antagonista del receptor de serotonina 5-HT₃ para usar en el tratamiento del alcoholismo en un paciente de acuerdo con la reivindicación 8, donde el ondansetrón se debe administrar en una dosis que varía de 1.0 µg/kg por aplicación a 5.0 µg/kg por aplicación, preferentemente en una dosis de alrededor de 3 µg/kg por aplicación o de alrededor de 4.0 µg/kg por aplicación, y preferentemente donde el ondansetrón se debe administrar al menos dos veces al día.

10 11. Un antagonista del receptor de serotonina 5-HT₃ para usar en el tratamiento del alcoholismo en un paciente de acuerdo con la reivindicación 7, donde:

15 (a) el uso incluye determinar si el gen del transportador de serotonina SLC6A4 del paciente tiene un genotipo LL de la región polimórfica 5-HTTLPR unida al transportador de serotonina de polimorfismo funcional y determinar si el paciente tiene el alelo G o es homocigótico para el alelo T del polimorfismo de un solo nucleótido rs1042173 del gen del transportador de serotonina SLC6A4; y

20 (b) el antagonista del receptor de serotonina 5-HT₃ se debe administrar al paciente si se encuentra que el paciente tiene el genotipo LL y el genotipo TT para tratar el alcoholismo.

12. Un antagonista del receptor de serotonina 5-HT₃ para usar en el tratamiento del alcoholismo en un paciente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, donde dicho alcoholismo es alcoholismo de inicio temprano o alcoholismo de inicio tardío.

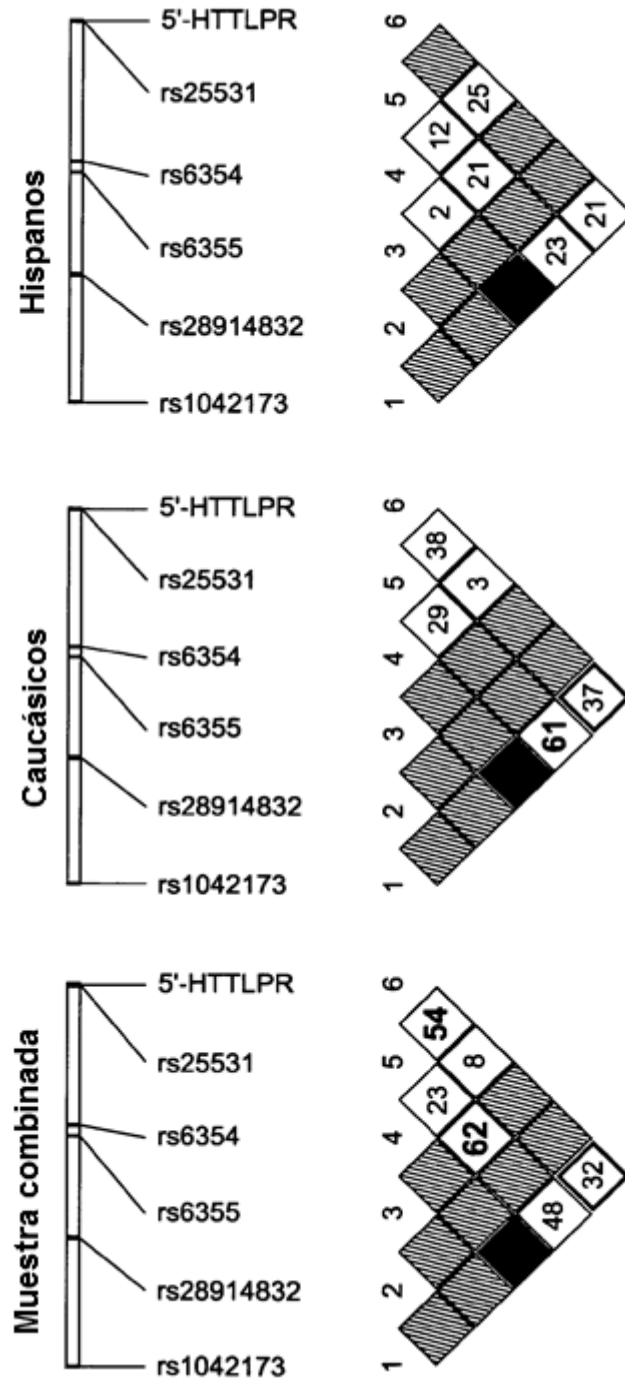


FIG. 1 Patrones de LD generados por Haploview

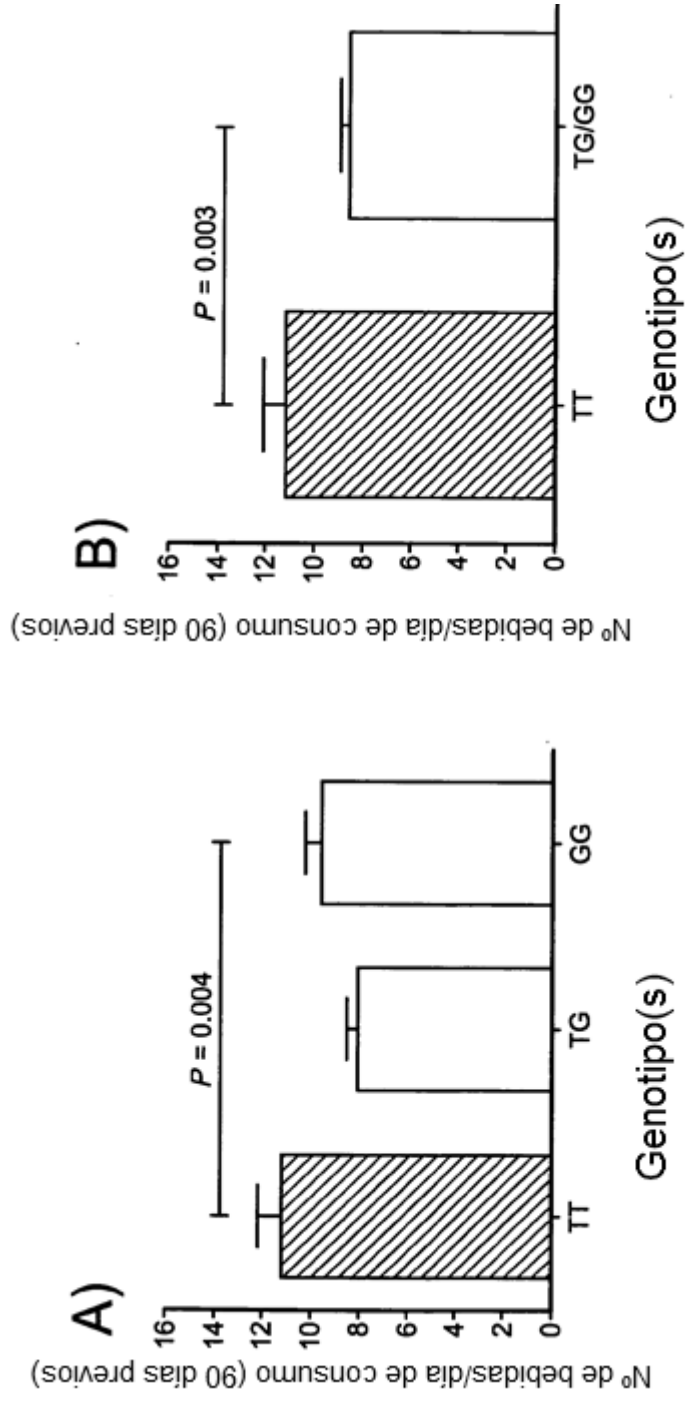


FIG. 2 Cantidades de consumo en caucásicos

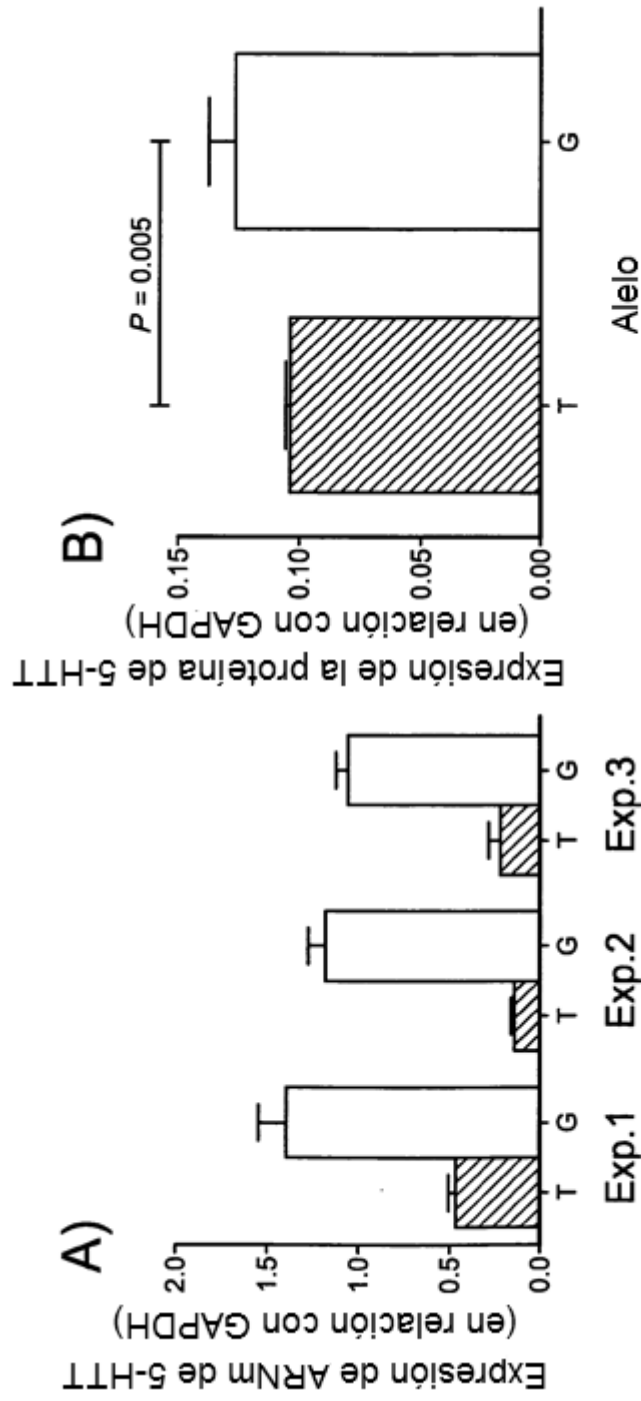


FIG. 3 Ensayos de expresión de 5-HTT

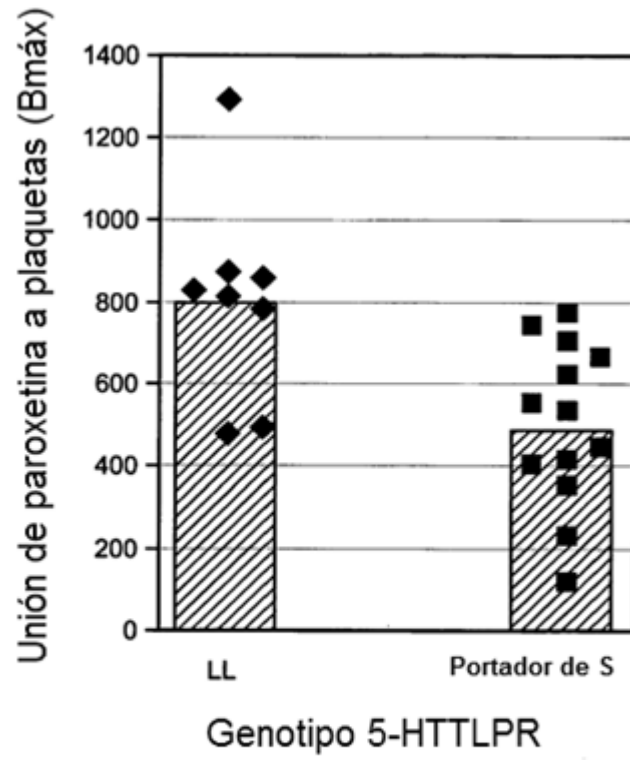


FIG 4 Bmáx vs genotipo

REFERENCES CITED IN THE DESCRIPTION

5 This list of references cited by the applicant is for the reader's convenience only. It does not form part of the European patent document. Even though great care has been taken in compiling the references, errors or omissions cannot be excluded and the EPO disclaims all liability in this regard.
Patent documents cited in the description

- 10
- [US2006017364A](#) [0258]
 - [US20070275970A](#) [0259] [0287]
 - [US6323236B](#) [0259] [0287]
 - [US20060173064A](#) [0287]
 - [US2008052628W](#) [0287]

15

 - [US2007088100W](#) [0287]
 - [US4256108A](#) [0305]
 - [US4160452A](#) [0305]
 - [US4265874A](#) [0305]
 - [WO0016750A](#) [0336]

20

 - [WO0057858A](#) [0336]
 - [US2008064232W](#) [0355]
 - [US61032263B](#) [0425]
 - [US61059301B](#) [0425]
 - [US61146440B](#) [0425]

25 Non-patent literature cited in the description

- BRAYNutrition, 2000, vol. 66, 953-960 [0105]
- LEONHARDT et al.Eur. J. Nutr., 1999, vol. 38, 1-13 [0105]

30

- Physical status: The use and interpretation of anthropometryWorld Health Organization19950000 [0105]
- The PeptidesAcademic Press19810000vol. 3, 3-88 [0118]
- HEILS et al.J. Neurochem., 1996, vol. 66, 2621-2624 [0148]
- BATTERSBY et al.J. Neurochem., 1999, vol. 72, 1384-1388 [0148]
- BEAUDOING et al.Genome Res, 2000, vol. 10, 1001-1010 [0148] [0384]

35

- CHEN et al.Nat. Genet, 2006, vol. 38, 1452-145 [0148]
- HU et al.Alcohol Clin. Exp. Res., 2005, vol. 29, 8-16 [0149]
- JOHNSON BAAIT-DAOUD NBOWDEN CL et al.Oral topiramate for treatment of alcohol dependence: a randomized controlled trial.Lancet, 2003, vol. 361, 1677-1685 [0178]
- HUSSEY et al.J. Am. Chem. Soc., 2003, vol. 125, 3692-3693 [0197]

40

- TAMIZ et al.J. Med. Chem., 2001, vol. 44, 1615-1622 [0197]
- PORTOGHESE et al.Life Sci., 1982, vol. 31, 1283-1286 [0197]
- PORTOGHESE et al.J. Med. Chem., 1986, vol. 29, 1855-1861 [0197]
- STEPINSKI et al.Internat. J. of Peptide & Protein Res., 1991, vol. 38, 588-92 [0197]
- PAAR et al.J. Immunol., 2002, vol. 169, 856-864 [0197]

45

- KLOK et al.Macromolecules, 2002, vol. 35, 746-759 [0197]
- PORTOGHESE et al.J. Med. Chem., 1986, vol. 29, 1650-1653 [0197]
- Brief Behavioral Compliance Enhancement Treatment (BBCET) manualJOHNSON et al.Handbook of clinical alcoholism treatmentLippincott Williams & Wilkins20030000282-301 [0262] [0262]
- EDWARDS et al.J. Stud. Alcohol., 1977, vol. 38, 1004-1031 [0262]

50

- FAWCETT et al.Psychopharmacol Bull., 1987, vol. 23, 309-324 [0262]
- JOHNSON et al.Lancet, 2003, vol. 361, 1677-1685 [0262]
- JOHNSON et al.JAMA, 2007, vol. 298, 1641-1651 [0262]

- Project MATCH Research Group. Matching Alcoholism Treatments to Client Heterogeneity: Project MATCH posttreatment drinking outcomes *J Stud Alcohol.*, 1997, vol. 58, 7-29 [0263]
- Project MATCH Research Group. Matching Alcoholism Treatments to Client Heterogeneity: Project MATCH posttreatment drinking outcomes *J. Stud. Alcohol.*, 1997, vol. 58, 7-29 [0263]
- 5 • Twelve-Step Facilitation Therapy (TSF) (Project MATCH Research Group. Matching Alcoholism Treatments to Client Heterogeneity: Project MATCH posttreatment drinking outcomes *J. Stud. Alcohol.*, 1997, vol. 58, 7-29 [0263])
- ANTON et al. *JAMA*, 2006, vol. 295, 2003-2017 [0263] [0263]
- GARBUTT et al. *JAMA*, 2005, vol. 293, 1617-1625 [0263]
- Remington's Pharmaceutical Sciences Mack Publishing Co. 19850000 [0349]
- 10 • HEILS et al. *J. Neurochem.*, 1996, vol. 66, 2621- [0357]
- AXIS I DISORDERS Structured Clinical Interview for Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders American Psychiatric Association 19940000 [0359]
- Diagnostic and statistical manual of mental disorders American Psychiatric Association 19940000 [0384]
- BABOR T.F. DE LA FUENTE J.R. SAUNDERS J. GRANT M. AUDIT: The alcohol use disorders identification
- 15 test World health organization 19920000 [0384]
- BARRETT et al. *Bioinformatics*, 2005, vol. 21, 263-265 [0384]
- BATTERSBY *J Neurochem*, 1999, vol. 72, 1384-1388 [0384]
- BETHEA et al. *Front Neuroendocrinol*, 2002, vol. 23, 41-100 [0384]
- BRADLEY et al. *J Neurochem*, 1997, vol. 69, 1356-1367 [0384]
- 20 • CARGIULO T. *Am J Health Syst Pharm*, 2007, vol. 64, 55-11 [0384]
- CHEN et al. *Hum Genet*, 2006, vol. 120, 1-21 [0384]
- CHEN et al. *Nature Genetics*, 2006, vol. 38, 1452-1456 [0384]
- DUNDON et al. *Alcohol Clin Exp Res*, 2004, vol. 28, 71065-73 [0384]
- FEINN et al. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2005, vol. 133B, 179-84 [0384]
- 25 • FRACKIEWICZ et al. *Ann Pharmacother*, 2000, vol. 34, 80-88 [0384]
- GASTFRIEND et al. *J Subst Abuse Treat*, 2007, vol. 33, 171-80 [0384]
- GOLDMAN et al. *Nature Reviews/Genetics*, 2005, vol. 6, 521-532 [0384]
- GILL KAMIT Z. *Recent Dev Alcohol*, 1989, vol. 7, 225-48 [0384]
- HEILS et al. *J Neurochem*, 1996, vol. 66, 2621-2624 [0384]
- 30 • HU et al. *Alcohol Clin Exp Res*, 2005, vol. 29, 18-16 [0384]
- HU et al. *Am J Hum Genet*, 2005, vol. 78, 5815-26 [0384]
- JOHNSON et al. *Alcohol Clin Exp Res*, 2004, vol. 28, 2295-301 [0384]
- JAVORS et al. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2005, vol. 29, 17-13 [0384]
- JOHNSON et al. Can serotonin transporter genotype predict serotonergic function, chronicity, and severity of
- 35 drinking? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2008, vol. 32, 1209-16 [0384]
- KWEON YSLEE HKLEE CTLEE KUPAE CU Association of the serotonin transporter gene polymorphism with Korean male alcoholics *Journal of Psychiatric Research*, 2005, vol. 39, 371-376 [0384]
- LEMARQUAND et al. *Biol Psychiatry*, 1994, vol. 36, 326-337 [0384]
- LIM et al. Allelic expression of serotonin transporter (SERT) mRNA in human pons: lack of correlation with
- 40 the polymorphism SERT LPR. *Mol Psychiatry*, 2006, vol. 11, 7649-662 [0384]
- LITTLE et al. *Am J Psychiatry*, 1998, vol. 155, 207-213 [0384]
- LOU et al. *Am J Hum Genet*, 2007, vol. 80, 61125-1137 [0384]
- MAKELA PMUSTONEN H. *Alcohol Alcohol*, 2007, vol. 42, 6610-7 [0384]
- MYNETT-JOHNSON et al. *Am J Med Genet*, 2000, vol. 96, 6845-9 [0384]
- 45 • OZAKI et al. *Mol Psychiatry*, 2003, vol. 8, 11933-6 [0384]
- PIVAC et al. *Life Sci*, 2004, vol. 76, 521-531 [0384]
- PRASAD et al. Human serotonin transporter variants display altered sensitivity to protein kinase G and p38 mitogen-activated protein kinase *PNAS*, 2005, vol. 102, 321 11545-11550 [0384]
- QIAN et al. Protein kinase C activation regulates human serotonin transporters in HEK-293 cells via altered
- 50 cell surface expression *J Neurosci*, 1997, vol. 17, 45-57 [0384]

- RAMAMOORTHY et al. Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, vol. 90, 2542-2546 [0384]
- SULLIVAN et al. *Br J Addict*, 1989, vol. 84, 1353-1357 [0384]
- TALVENHEIMO et al. *J Biol Chem*, 1980, vol. 255, 8606-8611 [0384]
- 5 • VALLENDER et al. Functional variation in the 3' untranslated region of the serotonin transporter in human and rhesus macaque *Genes, Brain Behav*, 2008, vol. 7, 6690-7 [0384]
- WENDLAND et al. Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reappraisal of 5-HTTLPR and rs25531 *Mol Psych*, 2006, vol. 11, 224-226 [0384]
- WINER et al. *Anal Biochem*, 1999, vol. 270, 41-49 [0384]
- 10 • WRASE et al. *Cogn Affect Behav Neurosci*, 2006, vol. 6, 53-61 [0384]
- Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders American Psychiatric Association 19940000 [0388]
- JOHNSON, B.A.N. AIT-DAOUD *Psychopharmacology*, 2000, vol. 149, 327-344 [0406]
- LEMARQUAND et al. *Biological Psychiatry*, 1994, vol. 36, 326-337 [0406]
- LEMARQUANDET *American Journal of Psychiatry*, 1999, vol. 156, 1771-1779 [0406]
- 15 • STOLTENBERG, S.F. *Alcoholism: Clin. Exp. Res.*, 2003, vol. 27, 1853-1859 [0406]
- LINNOILA et al. *Life Sciences*, 1983, vol. 33, 2609-2614 [0406]
- FILS-AIME, M.L. et al. *Archives of General Psychiatry*, 1996, vol. 53, 3211-216 [0406]
- CLONINGER, C. *Science*, 1987, vol. 236, 410-416 [0406]
- VIRKKUNEN et al. *Archives of General Psychiatry*, 1987, vol. 44, 241-247 [0406]
- 20 • VIRKKUNEN et al. *Archives of General Psychiatry*, 1996, vol. 53, 523-529 [0406]
- SWANN et al. *Psychopharmacology*, 1999, vol. 143, 380-384 [0406]
- GRUNBAUM, J.A. et al. *Morb. Mort. Wkly Rpt., Surveil. Sum.*, 2002, vol. 51, 41-62 [0406]
- MCBRIDE et al. *Critical Reviews in Neurobiology*, 1998, vol. 12, 339-369 [0406]
- VIRKKUNEN et al. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 1995, vol. 20, 271-275 [0406]
- 25 • VIRKKUNEN et al. *Epidemiology, Neurobiology, Psychology, Family Issues. Plenum Press* 19970000173-189 [0406]
- HEINZ et al. *Psychopharmacology*, 2004, vol. 174, 561-570 [0406]
- HEIL et al. *Journal of Neurochemistry*, 1996, vol. 66, 2621-2624 [0406]
- HEILS et al. *Journal of Neural Transmission*, 1997, vol. 104, 1005-1014 [0406]
- 30 • GREENBERG et al. *American Journal of Medical Genetics*, 1999, vol. 88, 83-87 [0406]
- LESCH et al. *Science*, 1996, vol. 274, 1527-1531 [0406]
- HEINZ et al. *Biological Psychiatry*, 2000, vol. 47, 643-649 [0406]
- MELTZER et al. *Psychiatry Research*, 1998, vol. 24, 263-269 [0406]
- JOHNSON, B.A. et al. *Alcoholism: Clin. Exp. Res.*, 2000, vol. 24, 101597-1601 [0406]
- 35 • SCHUCKIT et al. *Biological Psychiatry*, 1999, vol. 45, 647-651 [0406]
- ERNOUF et al. *Life Sciences*, 1993, vol. 52, 989-995 [0406]
- RAUSCH, J.L. et al. *Neuropsychopharmacology*, 1991, vol. 4, 283-6 [0406]
- ISHIGURO et al. *Alcoholism: Clin. Exp. Res.*, 1999, vol. 23, 1281-1284 [0406]
- KWEON et al. *Journal of Psychiatric Research*, 2005, vol. 39, 371-376 [0406]
- 40 • FEINN et al. *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)*, 2005, vol. 133B, 79-84 [0406]
- KONISHI et al. *Alcohol*, 2004, vol. 32, 45-52 [0406]
- JAVORS et al. *Alcohol and Alcoholism*, 2000, vol. 35, 390-393 [0406]
- JOHNSON et al. *Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, [0406]
- 45 • ROONEY et al. *Administration manual of the ChIPS* American Psychiatry Press 19990000 [0406]
- WINTERS et al. *Adoles. Diagnostic Interview Schedule and Manual* Western Psychological Services 19930000 [0406]
- WINTERS, K.C. et al. *Psychology of Addictive Disorders*, 1993, vol. 7, 185-196 [0406]
- LECKMAN et al. *Archives of General Psychiatry*, 1982, vol. 39, 879-883 [0406]
- 50 • KOSTEN et al. *American Journal of Psychiatry*, 1992, vol. 149, 1225-1227 [0406]

- Timeline follow-back: A technique for assessing self-reported alcohol consumption SOBELL, L.C. SOBELL, M.B. Measuring Alcohol Consumption: Psychosocial and biochemical methods Humana Press Inc. 1992 000041-72 [0406]
- COVAULT et al. Biological Psychiatry, 2007, vol. 61, 5609-16 [0406]
- 5 • LESCH, K.P. European Journal of Pharmacology, 2005, vol. 526, 113-124 [0406]
- DAWES et al. Alcohol and Alcoholism, 2004, vol. 39, 3166-177 [0406]
- PINE et al. Archives of General Psychiatry, 1997, vol. 54, 839-846 [0406]
- SOLOFF et al. Alcoholism: Clin. Exp. Res., 2000, vol. 24, 111609-1619 [0406]
- TWITCHELL et al. Alcoholism: Clin. Exp. Res., 2000, vol. 24, 7972-979 [0406]
- 10 TWITCHELL et al. Alcoholism: Clin. Exp. Res., 2001, vol. 25, 7953-959 [0406]