

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 517 268**

51 Int. Cl.:

G01N 33/92 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2010 E 10737701 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.08.2014 EP 2457098**

54 Título: **Procedimiento para predecir el aumento de peso asociado a una terapia farmacéutica**

30 Prioridad:

22.07.2009 US 271508 P

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

03.11.2014

73 Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

LEOHR, JENNIFER KAY

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 517 268 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

Procedimiento para predecir el aumento de peso asociado a una terapia farmacéutica

5 La literatura ha informado sobre una observación del aumento de peso producido por el tratamiento en las subpoblaciones de los pacientes tratados con diversos antipsicóticos, antidepresivos y estabilizadores del estado de ánimo habituales, y de otros trastornos psicológicos, así como algunos tratamientos para el control glucémico tales como agonistas PPAR-gamma. El documento WO 2007/050318 A2 divulga lipídicas para evaluar los efectos secundarios de un tratamiento. Hasta la fecha, no existen procedimientos para determinar antes de la observación del aumento de peso real qué pacientes individuales serán susceptibles al aumento de peso producido por el tratamiento y cuáles no. Dicho procedimiento sería muy valioso para preseleccionar los posibles pacientes a fin de fundamentar mejor las decisiones terapéuticas.

10 La presente divulgación proporciona un biomarcador y procedimientos para usar el biomarcador para predecir si un paciente individual estará sujeto a un aumento de peso producido por el tratamiento con un transcurso dado de terapia farmacéutica, tal como, por ejemplo, el tratamiento con un antipsicótico atípico, tal como, por ejemplo, olanzapina y similares.

15 En un aspecto, se ha encontrado que los cambios en la concentración de partículas grandes de lipoproteínas ricas en triglicéridos de la subclase V6 (TRL V6) se pueden usar como biomarcador para la modulación del metabolismo de triglicéridos y/o lipoproteínas en un mamífero inducida por un agente farmacéutico. Específicamente, un agente farmacéutico que presenta un aumento de peso observado producido por el tratamiento en una subpoblación de pacientes, tal como, por ejemplo, antipsicóticos atípicos, tal como, por ejemplo, 2-metil-4-(4-metil-1-piperazinil)-10H-tieno[2,3-b][1,5]benzodiazepina o una sal de la misma (olanzapina), producirá un aumento de la concentración de TRL V6 en pacientes que son susceptibles al aumento de peso producido por el tratamiento. El conocimiento de este grado de riesgo en un paciente por cada paciente antes de comenzar el tratamiento o inicialmente en el transcurso del tratamiento se puede usar para fundamentar mejor las opciones de tratamiento y/o para indicar tratamientos conjuntos para mitigar el potencial aumento de peso.

25 Como tal, una realización de la presente invención proporciona un procedimiento para determinar el riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico, que comprende determinar en una biomuestra aislada del paciente si hay un aumento de la concentración de TRL V6 en respuesta a una o más dosis del agente farmacéutico, en el que un aumento significativo de la concentración de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.

30 En otro ejemplo, se proporciona un procedimiento para determinar el riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico que comprende las etapas de:

- 1) administrar al paciente una dosis del agente farmacéutico;
- 35 2) medir la respuesta de TRL V6 en el paciente a la dosis;

en el que una respuesta significativa de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.

40 En otro ejemplo, se proporciona un procedimiento para determinar el riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico que comprende las etapas de:

- 1) administrar al paciente una dosis del agente farmacéutico estando el paciente en estado de ayuno;
- 2) medir la respuesta de TRL V6 en el paciente a la dosis;

en el que una respuesta significativa de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.

45 En otro aspecto, se proporciona un procedimiento para determinar el riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico que comprende las etapas de:

- 1) administrar al paciente una primera carga de grasa;
- 2) medir la respuesta de TRL V6 en el paciente a la primera carga de grasa;
- 50 3) administrar al paciente una dosis del agente farmacéutico en conjunción con la administración al paciente de una segunda carga de grasa;

4) medir la respuesta de TRL V6 en el paciente a la segunda carga de grasa;

5) determinar si hay un aumento de la respuesta de TRL V6 a la segunda carga de grasa en comparación con la respuesta de TRL V6 a la primera carga de grasa;

5 en el que un aumento significativo de la respuesta de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.

En un ejemplo adicional, se proporciona un procedimiento para determinar el riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico que comprende las etapas de:

10 1) administrar al paciente una dosis del agente farmacéutico en conjunción con la administración al paciente de una carga de grasa;

2) medir la respuesta de TRL V6 en el paciente a la carga de grasa;

3) determinar si hay un aumento de la respuesta de TRL V6 a la carga de grasa en comparación con una respuesta estándar de TRL V6 a la carga de grasa sin el agente farmacéutico;

15 en el que un aumento significativo de la respuesta de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.

En otro aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento para determinar el riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico que comprende determinar en una biomuestra aislada del paciente si hay un aumento de la concentración de TRL V6 en respuesta a una o más dosis del agente farmacéutico, en la que un aumento significativo de la concentración de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.

En otra realización de este aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento para determinar el riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico que comprende:

25 medir la respuesta de TRL V6 a una o más dosis del agente farmacéutico en una biomuestra aislada del paciente al que se administra dicha una o más dosis del agente farmacéutico;

en la que una respuesta significativa de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.

30 En otra realización de este aspecto de la invención, se proporciona también un procedimiento para determinar el riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico que comprende las etapas de:

1) medir la respuesta de TRL V6 a una primera carga de grasa en una biomuestra aislada del paciente al que se administra la primera carga de grasa;

35 2) medir la respuesta de TRL V6 a una segunda carga de grasa en una biomuestra aislada del paciente al que se administra una dosis del agente farmacéutico en conjunción con la administración de la segunda carga de grasa;

3) determinar si hay un aumento de la respuesta de TRL V6 a la segunda carga de grasa en comparación con la respuesta de TRL V6 a la primera carga de grasa;

en el que un aumento significativo de la respuesta de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.

40 En otra realización adicional de este aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento para determinar el riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico que comprende las etapas de:

1) medir la respuesta de TRL V6 a una carga de grasa en una biomuestra aislada del paciente al que se administra una dosis del agente farmacéutico en conjunción con la administración de la carga de grasa;

45 2) determinar si hay un aumento de la respuesta de TRL V6 a la carga de grasa en comparación con una respuesta estándar de TRL V6 a la carga de grasa sin el agente farmacéutico;

en el que un aumento significativo de la respuesta de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.

En realizaciones particulares de los procedimientos de la invención anteriores, el agente farmacéutico es un fármaco antipsicótico atípico. En realizaciones específicas de los procedimientos de la invención anteriores, el agente farmacéutico es olanzapina.

5 En ejemplos particulares adicionales, el agente farmacéutico es un agonista PPAR-gamma, tal como, por ejemplo, una tiazolidindiona. En ejemplos específicos de los procedimientos anteriores, el agente farmacéutico es pioglitazona, rosiglitazona, o troglitazona.

En otro aspecto de la descripción, se proporciona un sistema para evaluar el riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente durante el tratamiento con un agente farmacéutico, que comprende:

un espectrómetro de RMN; y

10 al menos un procesador en comunicación con el espectrómetro de RMN,

en el que el al menos un procesador se configura para evaluar la señal de RMN generada por el espectrómetro de RMN para determinar la concentración de TRL V6, o equivalente, de una o más biomuestras *in vitro* del paciente, y para determinar si hay respuesta de TRL V6 al agente farmacéutico, en el que una respuesta significativa de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.

15

Breve Descripción de las Figuras

La Figura 1 es un gráfico de las señales de RMN del grupo metilo de los lípidos para subfracciones (subclases) ilustrativas de partículas de lipoproteínas ricas en triglicéridos.

La Figura 2 es una ilustración esquemática de un sistema de RMN.

20 **La Figura 3** es un diagrama esquemático de un sistema de procesamiento de datos ilustrativo.

En los dibujos, los números similares se refieren a elementos similares a lo largo del documento, y el grosor, el tamaño y las dimensiones de algunos componentes, líneas, o características pueden estar exagerados a efectos de claridad. El orden de las operaciones y/o las etapas ilustradas en las figuras o mencionadas en las reivindicaciones no pretenden limitarse al orden presentado, a menos que se indique lo contrario. Las líneas discontinuas en las figuras, cuando se usan, indican que la característica, operación o etapa así indicada es opcional, a menos que se indique específicamente de otro modo.

25

Para los fines de esta solicitud, los términos siguientes tendrán los siguientes significados, a menos que se indique específicamente de otro modo:

30

El término "estado de ayuno" significa el estado fisiológico de un individuo tras un periodo sin comida o bebidas que contengan calorías. En este estado, el vaciado gástrico del individuo se ha completado y los triglicéridos están a nivel basal. El tiempo necesario para alcanzar un estado de ayuno variará de un individuo a otro y dependerá de la naturaleza de su ingesta calórica previa. Típicamente el estado de ayuno se alcanza tras haber ayunado durante aproximadamente 5-10 horas, preferiblemente entre aproximadamente 6 y 9 horas, tal como, por ejemplo, aproximadamente 8 horas.

35

El término "carga de grasa" significa una dosis de lípidos suficiente para inducir hiperlipidemia en un sujeto de prueba y puede tomar la forma de una carga de grasa oral, una infusión intravenosa que contiene grasa, un alimento con alto contenido de grasa, una comida, una bebida con alto contenido de grasa, o similares. Se contempla también que se pueda desarrollar y usar un agente farmacéutico para suministrar la carga de grasa o una carga de grasa simulada.

40

El término "TRL V6" se refiere a partículas o subfracciones de TRL (lipoproteínas ricas en triglicéridos) que tienen un diámetro de entre aproximadamente 90 nm hasta tanto como aproximadamente 170 nm, más típicamente que tienen diámetros de entre aproximadamente 100 y 140 nm. El término "TRL V6" se puede definir también con respecto a los desplazamientos químicos (ppm) de la señal de RMN del grupo metilo de los lípidos correspondientes a los diámetros estimados tal y como se proporcionan en la **Tabla I** de más abajo.

45

El término "TRL V5" se refiere a partículas de TRL grandes que tienen un diámetro de entre aproximadamente 60 nm y aproximadamente 80 nm (véase la **Tabla 1** de más abajo para los desplazamientos químicos de RMN asociados).

50

El término "quilomícron" se refiere a partículas de TRL muy grandes que tienen diámetros que son mayores que los de las TRL V6. Como tales los quilomícrones se refieren a partículas o subfracciones de TRL que tienen un diámetro de entre aproximadamente 170 nm hasta aproximadamente 260 nm (véase la **Tabla I** de más abajo para los desplazamientos químicos de RMN asociados). Es importante señalar que no hay una demarcación clara entre las TRL V5 y las TRL V6 ni tampoco entre las TRL V6 y los quilomícrones, de tal manera que hay una distribución de los

tamaños de las partículas para cada subgrupo que se superpone en el intervalo entre aproximadamente 80 y 90 nm para las TRL V5-6 y entre aproximadamente 140-170 nm para las TRL V6 y los quilomicrones.

El término "la respuesta de TRL V6" significa el aumento de la concentración de triglicéridos de TRL V6 y/o el número de partículas en un paciente o mamífero de prueba comparados con una concentración y/o número de partículas de base. Se entiende que en determinadas circunstancias, puede ser ventajoso medir "L TRL", que para los fines de esta solicitud se toma para definir un subgrupo de TRL muy grande que contiene tanto los subtipos de partículas TRL V5 como los TRL V6, como un sustituto para medir las concentraciones de TRL V6 individualmente, en el que en determinadas circunstancias, la concentración de TRL V5 no muestra una respuesta sustancial al agente farmacéutico o a las cargas de grasa, de tal manera que una respuesta de "L TRL" puede, en circunstancias particulares, rastrear la respuesta de TRL V6 en sí y puede ser considerada, por tanto, un equivalente de la misma. Esto, sin embargo, no es cierto para medir la concentración de triglicéridos o TRL total (o número de partículas) del grupo como un todo (tal como, por ejemplo, las VLDL totales). Cabe señalar que la medida de los diversos TRL se puede dar bien como la concentración, en última instancia la concentración de triglicéridos del TRL designado en la muestra, o bien como el número de partículas, en última instancia la concentración de partículas de TRL en la muestra. Ambos dan los mismos resultados con respecto a la respuesta de TRL V6 o al aumento de la misma.

El término "respuesta de tamaño de VLDL" significa el aumento del tamaño de partícula de las subclases de TRL V1-6 como grupo, en un paciente o mamífero de prueba, en respuesta a la administración de un agente farmacéutico o por una carga de grasa o una dieta con alto contenido de grasa, cuyo aumento es el efecto causado por el aumento de la concentración de TRL V6 (o del número de partículas) sobre la distribución de tamaño de los tamaños de las partículas de VLDL como clase (es decir, el cambio del tamaño medio de las subpoblaciones de TRL, V1 -V6). Como en el caso de L TRL, medir el tamaño de VLDL puede, en ciertas circunstancias, ser usado como un sustituto para medir TRL V6 directamente de tal manera que la respuesta de tamaño de VLDL puede ser considerada, por tanto, un equivalente de la respuesta de TRL V6.

Un aumento de la respuesta de TRL V6 significa un aumento estadísticamente significativo de la concentración medida de TRL V6 (o del número de partículas o del tamaño de partícula de VLDL). En un ejemplo, un aumento se podría definir para una evaluación en estado de ayuno como un cambio de la respuesta de TRL V6 de aproximadamente un aumento de 3,6 veces o un aumento del 20-360 % de las concentraciones previas a la dosis.

Un aumento se podría definir para una evaluación con una carga de lípidos como un cambio de la respuesta de TRL V6 que cae por encima de al menos el intervalo de confianza del percentil 80 del límite superior de la distribución de variaciones entre eventos medidas en una población de pacientes en ausencia del agente farmacéutico. Para cualquier protocolo de ensayo dado, el intervalo de confianza real seleccionado para determinar una respuesta estadísticamente significativa al agente farmacéutico dependerá del valor predictivo deseado del protocolo de ensayo. Tal como, por ejemplo, un protocolo de ensayo que desea proporcionar un menor número de falsas respuestas positivas de TRL V6, o aumentos de la respuesta de TRL V6, seleccionará un intervalo de confianza de mayor percentil, digamos, por ejemplo, el percentil 90 o, por ejemplo, el percentil 95. Para protocolos de ensayo que desean un menor número de falsos negativos, serían adecuados intervalos de confianza menores, tal como, por ejemplo, el percentil 80.

El término "el agente farmacéutico" significa un agente activo farmacéutico para el que ha habido un aumento de peso observado producido por el tratamiento. En un ejemplo, el agente farmacéutico se toma para definir un agente farmacéutico antipsicótico atípico, tal como, por ejemplo, olanzapina, clozapina, quetiapina, ziprasidona, amisulprida, aripiprazol, asenapina, iloperidona, melperona, paliperidona, perospirona, risperidona, sertindol, sulpirida, y similares. En otro ejemplo, el agente farmacéutico es un antidepresivo o estabilizador del estado de ánimo para el que ha habido la observación del aumento de peso producido por el tratamiento, tal como, por ejemplo, amitriptilina, mirtazapina, litio, ácido valproico y carbamazepina. En otro ejemplo, el agente farmacéutico es un agonista PPAR-gamma tal como la clase de los compuestos de tiazolidinediona, tal como, por ejemplo, pioglitazona, rosiglitazona, o troglitazona. En otro ejemplo adicional, el agente farmacéutico es un fármaco antiepiléptico (AED) para el que ha habido la observación del aumento de peso producido por el tratamiento, tal como, por ejemplo, valproato, carbamazepina y gabapentina.

El término "biomuestra" incluye sangre completa, plasma, suero, orina, líquido cefalorraquídeo (CSF), muestras linfáticas, muestras de heces, tejidos, y/o fluidos corporales en forma bruta y/o en preparaciones. No obstante, pueden ser particularmente adecuadas las biomuestras de sangre completa o de plasma.

El término "aumento de peso sustancial" significa un aumento de peso igual o superior a aproximadamente 2,3 Kg (5 lb) de peso corporal en el primer mes de tratamiento o un aumento de peso igual o superior a aproximadamente 2,8 Kg (6 lb) de peso corporal en seis semanas de tratamiento.

Las lipoproteínas incluyen una amplia variedad de partículas encontradas en el plasma, el suero, la sangre completa, y la linfa, que comprende diversos tipos y cantidades de triglicéridos, colesterol, fosfolípidos, esfingolípidos, y proteínas. Estas partículas variadas permiten la solubilización de moléculas de lípidos, que de otro modo serían hidrófobas, en la sangre y desempeñan una serie de funciones relacionadas con la lipólisis, la lipogénesis, y el transporte de lípidos entre el intestino, el hígado, el tejido muscular y el tejido adiposo. En sangre

y/o plasma, las lipoproteínas se han clasificado de muchas maneras, generalmente basadas en propiedades físicas tales como la densidad o la movilidad electroforética. La clasificación basada en el tamaño de partícula determinado por resonancia magnética nuclear distingue al menos 16 subtipos distintos de partículas de lipoproteínas ricas en triglicéridos, incluyendo 5 subtipos lipoproteínas de alta densidad, 4 subtipos de lipoproteínas de baja densidad, y 6 subtipos de lipoproteínas de muy baja densidad, TRL designados V1 a V6, y quilomicrones. Fuera de estos subtipos de lipoproteínas, y en contraste con los otros subtipos, la presente invención ha determinado que el subtipo de partículas TRL más grandes, TRL V6, se puede usar como biomarcador del metabolismo de triglicéridos y/o lipoproteínas en el que las concentraciones de TRL V6 llegan a ser predeciblemente elevadas tras el consumo de una comida que contiene grasa y vuelven después a niveles basales en algún momento posterior a la comida a medida que el sujeto de prueba se aproxima al estado de ayuno.

Para correlacionar las caracterizaciones RMN de las partículas de TRL con los diámetros estimados, la **Tabla 1** de más abajo define el desplazamiento químico para el rango de las TRL V6 así como para las TRL V5 y los quilomicrones.

TABLA 1: Características de las subclases de lipoproteínas ricas en triglicéridos medidas mediante Análisis RMN LipoProfile®

Subclase	Componentes de la Subclase TRL	Desplazamiento químico RMN (ppm)	Diámetro estimado (nm)
Quilomicrones	C-260	0,8477	260
Quilomicrones	C-250	0,8470	250
Quilomicrones	C-240	0,8464	240
Quilomicrones	C-225	0,8457	225
Quilomicrones	C-200	0,8443	200
Quilomicrones	C-190	0,8440	190
Quilomicrones	C-185	0,8436	185
Quilomicrones	C-180	0,8429	180
Quilomicrones	C-175	0,8422	175
Quilomicrones	C-170	0,8416	170
TRL V6	V6-140	0,8402	140
TRL V6	V6-120	0,8388	120
TRL V6	V6-100	0,8374	100
TRL V5	V5-80	0,8361	80
TRL V5	V5-70	0,8347	70
TRL V5	V5-60	0,8333	60

La **Tabla 1** ilustra los desplazamientos químicos de RMN de protón de subclases (subfracciones) aisladas de lipoproteínas ricas en triglicéridos (TRL) que fueron medidos con respecto a la señal de referencia interna de Ca EDTA (2,519 ppm). La **Figura 1** ilustra las señales de RMN características de subclases de TRL ilustrativas. Las medidas de RMN se efectuaron en un espectrómetro de 400 MHz a 47°C. Las subclases de TRL identificadas como quilomicrones fueron aisladas de muestras de plasma postprandial obtenidas de sujetos humanos tras la ingestión de una comida que contenía grasa. Las subclases de TRL identificadas como TRL V6 o TRL V5 fueron obtenidas de muestras de plasma en estado de ayuno obtenidas de sujetos humanos hipertrigliceridémicos. Las subclases de TRL se aislaron inicialmente mediante ultracentrifugación secuencial (densidad < 0,94 g/ml para los quilomicrones y < 1,006 g/ml para las TRL V5-V6) y se purificaron posteriormente mediante cromatografía de filtración en gel usando perlas de agarosa al 1 % o el 2 % (Bio-Rad, Hercules, CA) en un tampón que contenía KCl 120 mM, EDTA 5 mM, CaCl₂ 1 mM, Na₂HPO₄ 50 mM y 0,2 g/l de NaN₃, pH 7,4. Se obtuvieron estimaciones de los diámetros de las lipoproteínas a partir de las medidas de microscopía electrónica sobre las subclases de TRL aisladas.

Así pues, mientras que las TRL V6 se han definido por los diámetros indicados anteriormente, los desplazamientos

químicos de RMN de la **Tabla 1** son equivalentes a los intervalos de diámetros definidos. Por tanto, usando la evaluación por RMN, las TRL V6 se pueden definir también por tener desplazamientos químicos entre aproximadamente 0,8374 a aproximadamente 0,8402 y las subfracciones de TRL próximas (por ejemplo, las TRL V5 y los quilomicrones) tienen los desplazamiento químicos indicados también en la **Tabla 1**. En consecuencia, la definición de "TRL V6" también se refiere a cualquier subfracción de TRL que tiene los desplazamientos químicos de RMN indicados anteriormente (+/- los rangos de medición razonables) cuando se mide como se describe incluso si el ensayo real en cuestión emplea una metodología de evaluación distinta a la RMN o define el parámetro con respecto a la densidad o de otro modo en lugar del diámetro.

Por ejemplo, una técnica conocida para medir partículas de TRL muy grandes es la ultracentrifugación por flotación que emplea una separación basada en la densidad. Redgrave y col. han caracterizado partículas por su velocidad de flotación (S_f , unidades Svedberg) con respecto a sus diámetros estimados: $S_f > 400$ incluye partículas > 75 nm; S_f 175-400 incluye partículas entre 50-75 nm; S_f 100-175 incluye partículas entre 37-50 nm; y S_f 20-100 incluye partículas entre 20-37 nm. Véase, Redgrave y col., *Changes in plasma in very low density and low density lipoprotein content, composition, and size after a fatty meal in normo- and hypertriglyceridemic man*, Journal of Lipid Research, Vol. 20, pp. 217-229 (1979). Véase también, Karpe y col., *Differences in Postprandial Concentrations of Very-Low-Density Lipoprotein and Chylomicron Remnants between Normotriglyceridemic and Hypertriglyceridemic Men With and Without Coronary Heart Disease*, Metabolism, Vol. 48, No. 3 (Marzo), 1999, pp. 301-307, Por tanto, incluso si la caracterización no se basa en el tamaño mediante el método de ensayo propiamente dicho, si las partículas separadas por densidad tienen aproximadamente los desplazamientos químicos indicados anteriormente, las partículas de TRL son partículas de TRL V6.

Adicionalmente, la presente memoria ha determinado que el nivel postprandial de triglicéridos se correlaciona con el aumento de la concentración de TRL V6. Estos niveles de triglicéridos se pueden atribuir bien a triglicéridos intraluminales que están siendo hidrolizados y a los ácidos grasos que están siendo absorbidos desde el intestino y re-esterificados después como triglicéridos y transportados al sistema linfático o la circulación portal como quilomicrones, o bien a las VLDL secretadas por el hígado. En un estado de equilibrio energético positivo, tal como, por ejemplo, tras una ingesta excesiva de alimentos, los triglicéridos se transportan como un componente de las VLDL al tejido adiposo para su almacenamiento, en lugar de o además de otros tejidos, tales como el músculo, para el uso de la energía mediante oxidación de los ácidos grasos. Por tanto, un aumento de los niveles postprandiales de triglicéridos indicaría una disminución de la oxidación de los ácidos grasos y/o un aumento de la absorción de grasas y, en cualquier caso, se correlacionaría con un aumento del almacenamiento de lípidos. La presente divulgación demuestra que, específicamente, un aumento de la concentración de TRL V6 se correlaciona con este aumento del almacenamiento de lípidos, de tal manera que la determinación de los cambios en las concentraciones de TRL V6 debidas al tratamiento con un agente farmacéutico se puede usar como biomarcador para los efectos sobre el metabolismo de triglicéridos y/o lipoproteínas, particularmente como un marcador para un aumento del almacenamiento de lípidos, incluyendo la predicción de si un paciente individual dado aumentará sustancialmente de peso cuando sea tratado con el agente farmacéutico.

Se entenderá que el aumento de la concentración de TRL V6 (o del número de partículas) puede, en algunos casos, rastrearse también mediante el aumento del tamaño medio de las partículas de VLDL (tamaño medio o promedio para todas las partículas de lipoproteína del grupo de partículas de lipoproteína VLDL, TRL V1-V6) o incluso sólo las TRL grandes = TRL V5 + TRL V6). Esto es debido a que el componente dominante que muestra un cambio de la concentración en respuesta al agente farmacológico en este grupo es el componente TRL V6, tal y como se describe anteriormente. Dicha señal será debilitada por la señal de los otros subtipos, pero también es posible discernir una respuesta al tamaño de VLDL (cambio del tamaño promedio) y, por tanto, un aumento de la respuesta de tamaño de VLDL como sustituto para medir la respuesta de TRL V6 directamente. Se observa que la concentración global de las VLDL V1-V5 como grupo no cambia apreciablemente y la respuesta de TRL V6 no es generalmente detectable a partir de la medida de las concentraciones de las VLDL (a diferencia del tamaño medio) como clase.

Para estudios en seres humanos, incluyendo estudios de investigación sobre agentes terapéuticos de ensayo y para evaluar el riesgo de aumento de peso sustancial producido por el tratamiento para un individuo durante el tratamiento con un agente terapéutico dado, un paciente humano es evaluado típicamente después de despertarse y antes de ingerir nada, tal como, por ejemplo, tras haber ayunado durante aproximadamente 5-10 horas, preferiblemente entre aproximadamente 6 y 9 horas, tal como, por ejemplo, aproximadamente 8 horas. Los pacientes pueden beber agua en cualquier momento antes del período de ensayo o durante el mismo. A continuación se toma una muestra de sangre para proporcionar una medida del nivel basal de la concentración de TRL V6, o del número de partículas, para ese paciente cuando el paciente está en estado de ayuno. Al paciente humano se le administra después el agente farmacéutico y se le extrae una segunda muestra de sangre. La elección del momento para esta muestra de sangre dependerá de la farmacocinética de la molécula de agente farmacéutico. Dependiendo de la molécula, las muestras de sangre se podrían recoger tan pronto como 1 hora después de la dosis hasta varios días después del tratamiento. Para evaluaciones cortas, tal como, por ejemplo, en un par de horas, el paciente ha de permanecer en ayunas hasta que se complete la evaluación. Típicamente, una extracción de sangre después de la dosificación será suficiente para las pruebas de rutina para determinar si el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico. De modo alternativo, se pueden efectuar múltiples extracciones de sangre después de la dosificación para obtener

una respuesta completa de TRL V6 a lo largo del tiempo. Es común observar que la respuesta de TRL V6 aumenta entre aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 360 %, o aproximadamente 3,6 veces con relación al nivel basal. Las respuestas típicas indicativas de una respuesta indicativa del futuro aumento de peso producido por el tratamiento pueden ser de aproximadamente un aumento del 50 % o más.

5 Como alternativa a la evaluación en condiciones de ayuno, se puede administrar una carga de grasa adecuada para estandarizar la concentración de TRL V6 durante la evaluación. En esta alternativa, un paciente humano es evaluado típicamente después de despertarse y antes de ingerir nada, tal como, por ejemplo, tras haber ayunado durante aproximadamente 5-10 horas, preferiblemente entre aproximadamente 6 y 9 horas, tal como, por ejemplo, aproximadamente 8 horas. Los pacientes pueden beber agua en cualquier momento antes del período de ensayo o durante el mismo. El período previo a la evaluación se puede implementar para facilitar la consistencia en cuanto al contenido de la comida y la elección del momento antes de cada sesión de evaluación. A continuación se toma una muestra de sangre para proporcionar una medida del nivel basal de la concentración de TRL V6, o del número de partículas, para ese paciente cuando el paciente está en estado de ayuno. Seguidamente, al paciente se le administra una carga de grasa adecuada durante el transcurso de un período de tiempo relativamente corto, tal como, por ejemplo, en aproximadamente ≤ 40 minutos, preferiblemente en ≤ 20 minutos. Dependiendo del estudio realizado o de las condiciones de ensayo rutinarias preferidas que se deseen, se toman entonces una o más muestras de sangre para determinar el aumento de la concentración de TRL V6 en respuesta a la carga de grasa. Típicamente, una extracción de sangre después de la carga de grasa será suficiente para las pruebas de rutina a fin de determinar si el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico. De modo alternativo, se pueden efectuar múltiples extracciones de sangre después de la carga de grasa para obtener una respuesta completa de TRL V6 a lo largo del tiempo. La respuesta de TRL V6 humana a una carga de grasa, (es decir, el aumento de la concentración de TRL V6) típicamente comienza aproximadamente 2 h después de la administración de la carga de grasa, llegando a un máximo entre aproximadamente 4 h y aproximadamente 7 h después de la administración de la carga de grasa, y volviendo a concentraciones basales entre aproximadamente 9 h y aproximadamente 12 h después de la administración de la carga de grasa. Nótese que puede haber un desplazamiento a lo largo del tiempo a un inicio posterior/vuelta a los niveles basales posterior cuando se administran concentraciones de grasa muy elevadas. Dicho desplazamiento típicamente observa un inicio a aproximadamente 4-6 h, llegando a un máximo a aproximadamente 10 h, y una vuelta a los niveles basales entre aproximadamente 12-15 h. Una respuesta de TRL V6 humana típica a una carga de grasa es un aumento de la concentración en plasma de un nivel basal de aproximadamente 0 mg/dl a aproximadamente 35 mg/dl en estado de ayuno hasta entre aproximadamente 80 y aproximadamente 250 mg/dl.

El paciente se vuelve a evaluar entonces en conjunción con la administración del agente farmacéutico. Se entiende que la evaluación en conjunción con el agente farmacéutico puede ser efectuada bien antes o bien después de la prueba para determinar la respuesta de TRL V6 normal del paciente, con tal de que el agente farmacéutico se haya eliminado del sistema del paciente antes de la nueva evaluación, si bien esto no es lo preferido. Un aumento típico de la respuesta de TRL V6 humana indicativo de una respuesta predictiva del aumento de peso producido por el tratamiento al agente farmacéutico a ensayo es un aumento estadísticamente significativo en la respuesta de TRL V6. Es común observar que la respuesta de TRL V6 aumenta aproximadamente 3,6 veces o entre aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 80 %. Las respuestas típicas indicativas de una respuesta positivamente predictiva puede ser de aproximadamente un aumento del 50 % o más.

En un ejemplo, el uso rutinario para determinar el riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente dado durante el tratamiento con un agente farmacéutico dado, (es decir, para predecir si el paciente aumentará sustancialmente de peso durante el tratamiento con el agente) de una administración única de una carga de grasa en conjunción con una dosis del agente farmacéutico puede ser adecuada, de tal manera que los aumentos de la respuesta de TRL V6 se pueden determinar a partir de la respuesta de TRL V6 promedio de una población de pacientes predeterminada a la carga de grasa dada. En dicho ejemplo, una extracción de sangre antes de la administración de la carga de grasa y el agente farmacéutico y una sola extracción de sangre en un momento predeterminado tras la administración de la carga de grasa pueden ser suficientes para determinar si el agente farmacéutico aumenta la respuesta de TRL V6 en el paciente a la carga de grasa, y, por tanto, determinar si el agente modula adversamente el metabolismo de triglicéridos y/o lipoproteínas de ese paciente individual, indicando que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento si es tratado con el agente farmacéutico.

En un ejemplo adicional optimizado, también es posible determinar una respuesta relevante de TRL V6 a un agente farmacéutico o un aumento de la respuesta de TRL V6 a una carga de grasa en respuesta a un agente farmacéutico sin una extracción de sangre inicial (es decir, sin una determinación basal de la concentración de TRL V6/el número de partículas para el paciente individual). En dicho ejemplo, la concentración medida de TRL V6 o equivalente se mide a partir de una única biomuestra tomada dentro de un intervalo de tiempo predeterminado tras la dosificación o tras la administración de la carga de grasa en conjunción con la administración del agente farmacéutico, y se compara después con un nivel basal estándar o un nivel basal determinado para la población relevante que está siendo evaluada o se compara con una distribución estándar de respuestas a una carga de grasa en ausencia de cualquier agente farmacéutico.

Se contempla también que la carga de grasa administrada pueda ser inducida química o farmacéuticamente o que sea una carga de grasa simulada en lugar de una carga de grasa basada en alimentos.

Se entenderá que los protocolos de ensayo clínicos específicos usados dependerán del agente farmacéutico que se esté considerando para la terapia y que la determinación de dichos protocolos es conocida por el experto en la materia. Tal como, por ejemplo, la elección particular del momento de administración del agente y la segunda carga de grasa variará dependiendo de la farmacocinética del agente. Un factor que se ha de considerar es que los niveles en sangre del agente estén a un nivel eficaz antes de la administración de la carga de grasa. Por tanto "en conjunción con" el agente farmacéutico se entiende que significa que la administración del agente y de la carga de grasa se coordinan para permitir que el agente esté a un nivel eficaz en el paciente de modo que influya en la absorción/distribución/metabolismo/eliminación de la carga de grasa cuando es administrado. Esto puede significar, dependiendo de los detalles específicos del agente, que el agente se administra al mismo tiempo que la carga de grasa o muy poco tiempo después, hasta aproximadamente 30 minutos tras la administración de la carga de grasa, o que el agente se administra antes de la carga de grasa durante el período necesario para alcanzar un nivel eficaz en plasma del agente, digamos por ejemplo, de entre aproximadamente 0 y aproximadamente 3 horas antes de la administración de la carga de grasa, tal como, por ejemplo, de entre 15 minutos y 30 minutos antes de la administración de la carga de grasa. Si el agente farmacéutico se administra en forma de profármaco o si los metabolitos activos son importantes en la farmacodinámica del agente farmacéutico, puede ser necesario un tiempo mayor para permitir que se acumulen concentraciones en plasma adecuadas de los restos activos. La determinación de dichos regímenes de dosificación es rutinaria y bien conocida por el experto en la materia.

Análogamente, la elección del momento y el número de extracciones de sangre tras la administración del agente farmacéutico, o la carga de grasa en conjunción con la administración del agente farmacéutico, puede variar dependiendo de la velocidad de eliminación del agente, siendo el factor importante que los niveles en sangre del agente permanezcan a un nivel eficaz hasta después de la extracción de sangre tras la carga de grasa y deben ser sincronizados óptimamente para que correspondan con la respuesta máxima de TRL V6 basada en el agente farmacéutico y/o la carga de grasa administrada.

En los casos en los que se usa una carga de grasa, las cargas de grasa adecuadas comprenden una cantidad igual a o superior a aproximadamente 30 g de grasas, preferiblemente superior o igual a aproximadamente 50 g de grasas, preferiblemente entre aproximadamente 60 y 70 g de grasas. Las cargas de grasa que comprenden una cantidad superior o igual a aproximadamente 80 g de grasas pueden empezar a inducir tiempos más largos hasta el inicio de la respuesta de TRL V6.

Se entenderá que la composición exacta de la carga de grasa es poco importante y que muchas composiciones adecuadas pueden ser fácilmente formuladas por el dietista habitual de la técnica. Las formulaciones de carga de grasa adecuadas pueden ser adaptadas para ajustarse al estudio deseado y/o de acuerdo con las preferencias de la población de pacientes. El factor importante es que se proporcione un contenido suficiente de grasas y excesivo sobre todo el contenido calórico en un corto período de tiempo para producir una elevación medible de la concentración de TRL V6 en ausencia del agente farmacéutico a ensayar.

La carga de grasa puede ser cualquiera de un número de formas adecuadas tal como, por ejemplo, una comida preparada, una comida envasada, un producto de alimentación de dosis única tal como una barra de cereales, una composición líquida de dosis única tal como una bebida envasada o una mezcla de bebida en polvo, o comprimidos o cápsulas orales. Ejemplos de composiciones adecuadas que servirían como cargas de grasa son las siguientes:

Ejemplo 1 de Carga de grasa:

Productos alimenticios	Porción	Energía (kcal)	Carb. (g)	Proteínas (g)	Grasas (g)
Arroz	1 cuchara de helado (50 g)	65	15	1	0
Margarina (a añadir al arroz mientras que está caliente)	1 cuchara de postre al ras (10 g)	72	0,0	0,0	8,0
Alas de pollo fritas (cubiertas de harina)	1 ala (70 g)	223	6,7	19,1	13,3
Croquetas de patata	2 piezas (120 g)	378	33,0	2,9	26
Huevos de categoría A (fritos)	1 huevo (35 g)	90	0,1	5,7	7,4
Pepino en rodajas	5 rodajas (15 g)	2	0,5	0	0
Total		830	55	27	55

Calorías totales		830	229	108	495
% de Calorías			28%	13%	60%

Ejemplo 2 de Carga de grasa:

Menú	Proteína (g)	Grasas (g)	Carb. (g)	CAL Totales	% de Proteínas	% de Grasas	% de Carb.
1 tortilla de dos huevos	12	14	2	180			
30 ml de mantequilla de cacahuete	7	16	7	200			
2 rebanadas de pan tostado ligero	4	0,5	17	80			
237 ml de leche entera	8	8	12	150			
2 tiras de panceta	5	7	0	80			
30 ml de margarina	0	7	0	66			
Totales de comidas (servidas)	36	52,5	38	756	18,7%	61,5%	19,8%

- 5 **Ejemplo 3 de Carga de grasa:** Bebida: Volumen de crema o leche entera o una mezcla de las mismas para proporcionar la cantidad deseada de grasa. Por ejemplo, de aproximadamente 150 ml a aproximadamente 180 ml de nata montada. Se puede adicionar un agente aromatizante para mejorar la palatabilidad].

Medida de la concentración de TRL V6 o del número de partículas

10 La respuesta de TRL V6 puede medirse de cualquier manera adecuada. Un método actualmente conocido para medir selectivamente la concentración de TRL V6 o el número de partículas es la espectroscopía RMN de muestras de plasma seguida de análisis de deconvolución para diferenciar las contribuciones relativas de los diversos subtipos de lipoproteínas a la señal completa de RMN. Uno de dichos métodos de deconvolución es el análisis de partículas de subclase NMR LipoProfile®, NMR LipoProfile®-II y/o NMR LipoProfile® III, como el proporcionado por LipoScience, Inc., Raleigh, North Carolina. Análogamente, el tamaño medio de partícula de VLDL puede ser medido también con el análisis de partículas de subclase NMR LipoProfile®. Véase la patente de Estados Unidos No. 5.343.389 de Otvos, la patente de Estados Unidos No. 6.617.167, la patente de Estados Unidos No. 4.933.844, y la patente de Estados Unidos No. 7.243.030, para una descripción de esta técnica de análisis. Véase también la solicitud de patente en Estados Unidos US 2005-0222504 para una descripción de los analizadores clínicos de RMN. Véase también *Handbook of Lipoprotein Testing*, Chapter 31: "Measurement of lipoprotein subclass profiles by nuclear magnetic resonance spectroscopy", J.D. Otvos, AACCC Press, Washington DC, 2000, 2ª ed., pp 609-623; y Jeyarajah EJ, Cromwell WC, Otvos JD. *Lipoprotein particle analysis by nuclear magnetic resonance spectroscopy*. Clin Lab Med. 2006; 26:847-70.

25 Como ejemplo típico, se recogen muestras de sangre completa en tubos de recogida de sangre con EDTA de 2 ml, se invierten varias veces para mezclarlos bien, y se disponen sobre hielo. Las muestras se centrifugan después a aproximadamente 3000 rpm durante 10-15 minutos a 4 °C. Una vez finalizada la centrifugación, los tubos se disponen sobre hielo y el plasma se extrae. El plasma se coloca en un tubo de polipropileno y se mantiene a 4 °C hasta el análisis. Las muestras se pueden analizar en cualquier momento hasta aproximadamente 4 días después de la recogida. Las muestras se analizan para determinar la respuesta de TRL V6, tal como, por ejemplo, mediante análisis de lipoproteínas en plasma por RMN, tal como, por ejemplo, las pruebas de lipoproteínas NMR LipoProfile®, NMR LipoProfile®-II o NMR LipoProfile®-III proporcionadas por Lipo-Science, Inc. de Raleigh, North Carolina.

30 Los datos de los espectros de RMN se analizan tal y como se describe en Jeyarajah y col., *supra*. Las concentraciones de las subclases de lipoproteínas se dan en unidades de concentración de masa de lípidos (las subclases de TRL en unidades de mg/dl de triglicéridos) o, de modo alternativo, en unidades de concentración de partículas de nmol/l (nanomoles de partículas por litro). La información de la fuente (la amplitud de la señal de RMN de cada subclase) se transforma en estas unidades de concentración de partículas o de masa mediante un programa informático de análisis, usando una serie de factores de conversión obtenidos a partir de análisis químicos

35

de lípidos y de RMN de estándares aislados de las subclases de los quilomicrones, las VLDL, las LDL, y las HDL de composición lipídica normal.

La Figura 2 muestra un sistema analizador de RMN 7 ilustrativo que se puede usar para llevar a cabo el análisis de TRL V6 y/o las medidas de TRL V6 usando un módulo de evaluación de TRL V6 100. El módulo de evaluación de TRL V6 100 puede estar a bordo del sistema en un procesador de señales y/o controlador 11 o puede residir parcial o totalmente en un procesador diferente, local o remoto, tal como en un servidor, cliente y/u otro ordenador. Haciendo referencia ahora a la Figura 2, el sistema 7 incluye un espectrómetro de RMN 10 para tomar medidas de RMN de una biomuestra. En algunas realizaciones, el espectrómetro 10 se configura de modo que las medidas de RMN se efectúan a 400 MHz para señales de protón; en otras realizaciones, las medidas pueden llevarse a cabo a 360 MHz u otra frecuencia deseada. Esto es, se pueden emplear también otras frecuencias correspondientes a una intensidad de campo operacional deseada. Típicamente, se instala una sonda de flujo de protones, al igual que un controlador de la temperatura para mantener la temperatura de la muestra a 47 +/- 0,2 °C. La homogeneidad del campo del espectrómetro 10 se puede optimizar mediante compensación sobre una muestra de un 99,8 % de D₂O hasta que el ancho de la línea espectral de la señal RMN de HDO sea inferior a 0,6 Hz. El ancho del pulso de excitación de RF de 90° usado para la medida de D₂O es típicamente de aproximadamente 6-7 microsegundos.

Haciendo referencia de nuevo a la Figura 2, el espectrómetro 10 es controlado mediante un procesador digital de señales y/o controlador 11 u otra unidad de procesamiento de señales. El procesador/controlador 11 debe ser capaz de realizar rápidas transformaciones de Fourier y puede incluir para este fin una tabla de senos integrada y un circuito integrado de multiplicación y división. Puede incluir también un enlace de datos 12 a un ordenador externo o remoto 13, y un canal de acceso directo a memoria 14 que conecta con una unidad de almacenamiento electrónico 15.

El procesador/controlador 11 puede incluir también una serie de convertidores de analógico a digital, convertidores de digital a analógico y puertos I/O para dispositivos de baja velocidad que se conectan a través de un control de pulsos y un circuito de interfaz 16 a los elementos operativos del espectrómetro. Estos elementos incluyen un transmisor de RF 17 que produce un pulso de excitación de RF de duración, frecuencia y magnitud controladas por el ordenador digital 11, y un amplificador de la potencia de RF 18 que amplifica el pulso y lo acopla a la bobina de transmisión de RF 19 que rodea a la celda de muestras 20. La señal de RMN producida por la muestra excitada en presencia de campo magnético polarizante de 9,4 Teslas producido por imán superconductor 21 es recibida por una bobina 22 y aplicada a un receptor de RF 23. La señal de RMN amplificada y filtrada es desmodulada en 24 y las señales de cuadratura resultantes se aplican al circuito de interfaz 16 donde son digitalizadas y se introducen a través del ordenador digital 11 a un archivo en el almacenamiento de disco 15. El sistema 7 puede incluir un módulo de deconvolución localizado en el procesador de señales/controlador 11 y/o total o parcialmente en otro procesador de otro ordenador, servidor o cliente diferente que puede ser *in-situ* o remoto. Véase el documento US2005/0222504 para una descripción adicional de los analizadores RMN clínicos adecuados.

Tras haber adquirido los datos de RMN de la muestra en la celda de medida 20, el procesamiento de la señal produce un archivo de datos que es una representación digital del espectro de desplazamientos químicos y que puede ser almacenado en el almacenamiento de registros médicos del archivo electrónico 25. El ordenador 13, que puede ser personal, portátil, de sobremesa, u otro ordenador, procesa el espectro de desplazamientos químicos y puede proporcionar un informe del paciente, que se transmite a una impresora 26 o se almacena electrónicamente y se envía una dirección de correo electrónico o URL deseada. Los expertos en esta materia reconocerán que se pueden emplear también otros dispositivos de salida, tales como una pantalla, para proporcionar los resultados.

Debe ser evidente para los expertos en la materia que las funciones llevadas a cabo por el ordenador 13 y su almacenamiento 25 pueden ser incorporadas también en las funciones llevadas a cabo por el procesador/controlador de señales digitales 11 del espectrómetro o en circuitos adicionales en comunicación con el espectrómetro de RMN 10 y/o procesador 11. Se pueden emplear también otras interfaces y dispositivos de salida, como es bien conocido por los expertos en esta materia.

La Figura 3 ilustra un ejemplo del módulo de evaluación de TRL V6 100a que puede comunicarse con el sistema 7, estar a bordo del sistema 7, y o analizar los datos de TRL V6 medidos por el sistema 7 u otros sistemas de medida que puedan proporcionar los datos de TRL V6. Tal y como se presenta, la Figura 3 muestra una realización ilustrativa de los sistemas de procesamiento de datos que se pueden incorporar o proporcionar como sistemas, procedimientos, y/o productos de programas informáticos. El procesador 410 (que opcionalmente puede ser o estar en comunicación con el procesador 11 y/o el ordenador 13 en la Figura 2) se comunica con la memoria 414 a través de un bus de direcciones/datos 448. El procesador 410 puede ser cualquier microprocesador comercial o adaptado. La memoria 414 es representativa de la jerarquía global de los dispositivos de memoria que contienen los programas informáticos y los datos usados para implementar la funcionalidad del sistema de procesamiento de datos 405. La memoria 414 puede incluir, si bien no se limita a los mismos, los siguientes tipos de dispositivos: cache, ROM, PROM, EPROM, EEPROM, memoria de destello (*flash*), SRAM, y DRAM.

Tal y como se muestra en la Figura 3, la memoria 414 puede incluir diversas categorías de programas informáticos y datos usados en el sistema de procesamiento de datos 405: el sistema operativo 452; los programas de aplicación 454; los controladores de los dispositivos de entrada/salida (I/O) 458; el Modulo Predictor del Riesgo de aumento de

peso por TRL V6 **100a (Figura 3)**; y los datos **456**.

Los datos **456** pueden incluir los datos de la señal RMN de la subclase TRL (constituyente y/o forma de línea del espectro compuesto) **462** que pueden ser obtenidos a partir de un sistema de adquisición de datos o señales **420** (tales como el sistema **7** mostrado en la **Figura 2**). Para cada biomuestra del paciente, los datos pueden incluir los valores de los datos específicos de TRL V6, o TRL V6 con otros datos de subfracciones (por ejemplo, quilomicrones y/o TRL V5). Como apreciarán los expertos en la materia, el sistema operativo **452** puede ser cualquier sistema operativo adecuado para usar con un sistema de procesamiento de datos, tales como OS/2, AIX o OS/390 de International Business Machines Corporation en Armonk, NY, Windows CE, Windows NT, Windows 95, Windows 98, Windows 2000, o Windows XP de Microsoft Corporation, Redmond, WA, Palm OS de PalmSource, Inc., Sunnyvale, CA, Mac OS de Apple Computer, Inc, UNIX, FreeBSD, o Linux, sistemas operativos de marca registrada o sistemas operativos dedicados, por ejemplo, para sistemas de procesamiento de datos integrados.

Los controladores de los dispositivos de I/O **458** típicamente incluyen rutinas de programas a los que se accede a través del sistema operativo **452** mediante los programas de aplicación **454** para comunicarse con dispositivos tales como el puerto o los puertos de datos de I/O, el almacenamiento de datos **456** y ciertos componentes de la memoria **414** y/o el sistema de adquisición de datos **420**. Los programas de aplicación **454** son ilustrativos de los programas que implementan las diversas características del sistema de procesamiento de datos **405** y, preferiblemente, incluyen al menos una aplicación que soporta las operaciones de acuerdo con realizaciones de la presente invención. Finalmente, los datos **454** representan los datos estáticos y dinámicos usados por los programas de aplicación **454**, el sistema operativo **452**, los controladores de los dispositivos de I/O **458**, y otros programas informáticos que pueden residir en la memoria **414**.

Mientras que los ejemplos de la presente descripción son ilustrativos, por ejemplo, con respecto al Módulo **100a**, que es un programa de aplicación en la **Figura 3**, se pueden usar también otras configuraciones, tal y como apreciarán los expertos en la materia. Por ejemplo, el Módulo **100a** puede ser incorporado también en el sistema operativo **452**, los controladores de los dispositivos de I/O **458**, u otra división lógica del sistema de procesamiento de datos **405**. Por tanto, los ejemplos no deben interpretarse como una limitación a la configuración de la **Figura 3**, la cual pretende abarcar cualquier configuración capaz de llevar a cabo las operaciones descritas en el presente documento. El Módulo **100a** puede incluir un código de programa de ordenador para comunicarse con un sistema de control remoto (local o externo).

Ejemplo 1: Estudio en humanos con un antipsicótico atípico - olanzapina (Zyperxa®)

La literatura informa que tratamientos con diversos antipsicóticos atípicos han observado un aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento en las subpoblaciones de pacientes. (por ejemplo olanzapina, clozapina, quetiapina, ziprasidona, amisolprida, aripiprazol, asenapina, iloperidona, melperona, paliperidona, perospirona, risperidona, sertindol, y sulpirida, y similares.) Para demostrar el uso de la respuesta de TRL V6 para identificar aquellos pacientes con riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento, se efectúa un estudio de biomarcadores exploratorios empleando un diseño paralelo, abierto, randomizado y unicéntrico, que compara los cambios metabólicos observados tras la administración de olanzapina (Zyperxa®) en voluntarios sanos.

Antes de la administración de olanzapina a los sujetos, se recoge una muestra de plasma en ayunas previa a la dosis. A los sujetos se les administra entonces 5 mg de olanzapina diariamente durante 2 días, seguida de 10 mg de olanzapina oral diariamente durante el resto del estudio. Los sujetos son admitidos en una clínica 4 días después del tratamiento y se recoge una muestra de sangre en ayunas para la evaluación de una respuesta de V6. Las visitas posteriores repitieron los mismos procedimientos y se han programado para cada 8-11 días de tratamiento. Los sujetos están en terapia durante al menos 3 semanas, hasta un máximo de 26 días. Durante cada período de evaluación de V6 se registra el peso del sujeto. Se recogen muestras de sangre en tubos de recogida de sangre con EDTA de 2 ml, se invierten varias veces para mezclarlos bien, y se disponen sobre hielo. Las muestras se centrifugan después a aproximadamente 3000 rpm durante 10-15 minutos a 4 °C. Una vez finalizada la centrifugación, los tubos se disponen sobre hielo y el plasma se extrae. El plasma se coloca en un tubo de polipropileno y se mantiene a 4 °C hasta el análisis. Las muestras se pueden analizar en cualquier momento hasta aproximadamente 4 días después de la recogida. Las muestras se analizan para determinar la respuesta de TRL V6, tal como, por ejemplo, mediante análisis de lipoproteínas en plasma por RMN, tal como, por ejemplo, las pruebas de lipoproteínas NMR LipoProfile®, NMR LipoProfile®-II o NMR LipoProfile®-III proporcionadas por LipoScience, Inc. de Raleigh, North Carolina.

Las respuestas de TRL V1, V2, V3, V4, V5 y V6 y la respuesta de tamaño de VLDL se miden durante cada visita junto con los aumentos de peso. El tratamiento con olanzapina en promedio muestra un aumento estadísticamente significativo en la respuesta de TRL V6 de aproximadamente un 63 %. La relación del cambio de TRL V6 con respecto al cambio de peso se analiza usando un análisis de modelos de efectos mixtos. Se encuentra una relación estadísticamente significativa entre el cambio individual de TRL V6 y el cambio de peso. La relación del cambio de concentraciones de cualquiera de los subtipos de TRL: V1, V2, V3, V4, o V5 con respecto al peso no se encuentra significativa. El tamaño de VLDL también es significativo, si bien la pendiente de esta relación se encuentra que es menor que el cambio de la respuesta de TRL V6. En la mayoría de los sujetos, la administración de olanzapina aumenta la magnitud de la respuesta de TRL V6 y la respuesta de tamaño de VLDL en comparación con la

5 concentración previa a la dosis. Una respuesta predictiva del aumento de peso producido por el tratamiento en este estudio es aproximadamente un aumento del 360 % o un aumento de 3,6 veces con un cambio de 6,5 mg/dl con relación al nivel basal con un CI del 90 % de (3,77, 9,13) mientras que el sujeto con menos riesgo tiene un aumento de 1,1 veces con un cambio de 0,38 mg/dl con relación al nivel basal con un CI del 90 % de (-0,24, 2,0). Por tanto, el aumento de la respuesta de TRL V6 y la respuesta de tamaño de VLDL inducido por la olanzapina se correlaciona con el aumento de peso observado producido por el tratamiento con antipsicóticos atípicos en humanos.

Análisis estadístico de la relación entre el cambio de peso respecto al cambio de variable con relación al nivel basal en voluntarios sanos que recibieron Zyprexa®.

Variable	Pendiente	Valor p
Jugo	-0,02351	0,839
TRL V1	0,1044	0,736
TRL V2	-0,08345	0,248
TRL V3	-0,07896	0,180
TRL V4	-0,00949	0,390
TRL V5	0,007301	0,505
TRL V6	0,1652	0,050
Tamaño de VLDL	0,08075	0,001
V5 + V6	0,04860	0,181
V5 + V6 + Jugo	0,04521	0,188
NTG	-0,00093	0,879

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un procedimiento de determinación del riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico que comprende determinar en una biomuestra aislada del paciente si hay un aumento de la concentración de partículas grandes de lipoproteínas ricas en triglicéridos de la subclase V6 (TRL V6) en respuesta a una o más dosis del agente farmacéutico, en la que un aumento significativo de la concentración de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.
- 10 2. Un procedimiento de determinación del riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico que comprende:
- medir la respuesta de TRL V6 a una o más dosis del agente farmacéutico en una biomuestra aislada del paciente al que se administra dicha una o más dosis del agente farmacéutico;
- en el que una respuesta significativa de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.
- 15 3. Un procedimiento de determinación del riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico que comprende las etapas de:
- 1) medir la respuesta de TRL V6 a una primera carga de grasa en una biomuestra aislada del paciente al que se administra la primera carga de grasa;
- 20 2) medir la respuesta de TRL V6 a una segunda carga de grasa en una biomuestra aislada del paciente al que se administra una dosis del agente farmacéutico en conjunción con la administración de la segunda carga de grasa;
- 3) determinar si hay un aumento de la respuesta de TRL V6 a la segunda carga de grasa en comparación con la respuesta de TRL V6 a la primera carga de grasa;
- en el que un aumento significativo de la respuesta de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.
- 25 4. Un procedimiento de determinación del riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento en un paciente humano durante el tratamiento con un agente farmacéutico que comprende las etapas de:
- 1) medir la respuesta de TRL V6 a una carga de grasa en una biomuestra aislada del paciente al que se administra una dosis del agente farmacéutico en conjunción con la administración de la carga de grasa;
- 30 2) determinar si hay un aumento de la respuesta de TRL V6 a la carga de grasa en comparación con una respuesta estándar de TRL V6 a la carga de grasa sin el agente farmacéutico;
- en el que un aumento significativo de la respuesta de TRL V6 indica que el paciente presenta riesgo de aumento de peso producido por el tratamiento durante el tratamiento con el agente farmacéutico.
- 35 5. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el que el agente farmacéutico es un fármaco antipsicótico atípico.
- 40 6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5 en el que el agente farmacéutico es olanzapina o una sal de la misma.
7. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 en el que la respuesta de TRL V6 se mide mediante espectroscopía RMN.

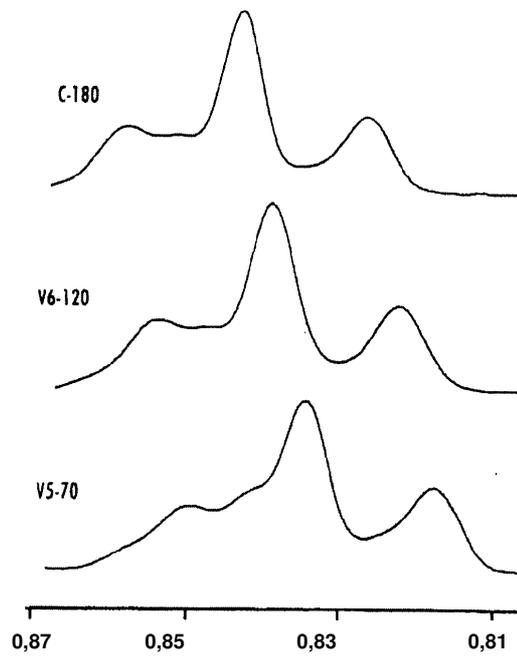


FIG. 1

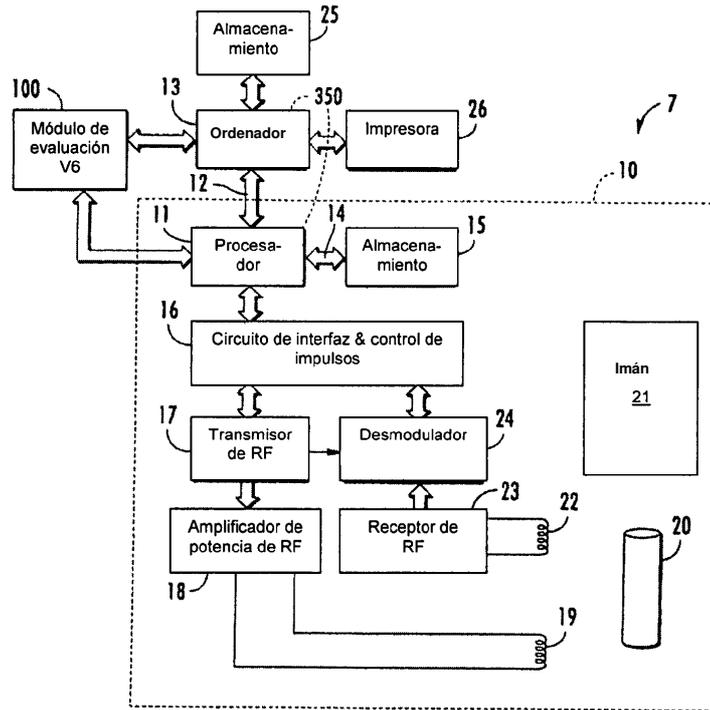


FIG. 2

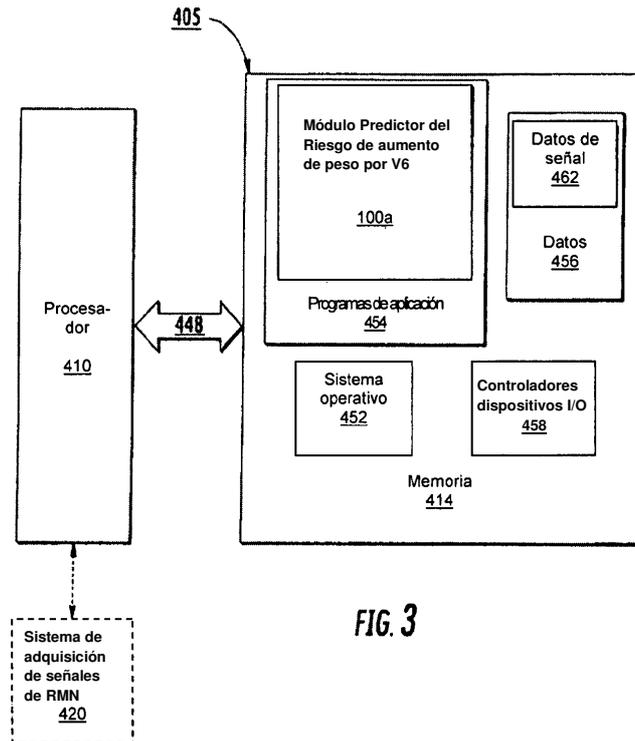


FIG. 3