

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 551 877**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

A61K 31/56 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.10.2010 E 10807525 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.09.2015 EP 2490694**

54 Título: **Rostafuroxina para el tratamiento farmacocinético de afecciones cardiovasculares**

30 Prioridad:

19.10.2009 US 253020 P

25.11.2009 EP 09177111

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

24.11.2015

73 Titular/es:

ROSTAQUO S.P.A. (100.0%)

**Via Pontina, km 30,400
00040 Pomezia, (RM), IT**

72 Inventor/es:

**BIANCHI, GIUSEPPE;
FERRARI, PATRIZIA y
MACCIARDI, FABIO**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 551 877 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

Rostafuroxina para el tratamiento farmacocinético de afecciones cardiovasculares

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

5 La presente descripción está relacionada y reivindica prioridad sobre la Solicitud provisional de EE.UU. S/N 61/253.020 titulada "Methods and Systems for Pharmacogenomic Treatment of CardioVascular Conditions" presentada el 19 de octubre de 2009, y sobre la solicitud EP S/N 09177111.3 titulada "Methods and Systems for Pharmacogenomic Treatment of CardioVascular Conditions" presentada el 25 de noviembre de 2009.

CAMPO

10 La presente descripción se refiere a una clase de compuestos formados por 17β-(3-furil)-5β-androstano-3β,14β,17-triol, indicado en la presente memoria como rostafuroxina.

ANTECEDENTES

15 La rostafuroxina es un compuesto conocido por presentar una actividad biológica en individuos. En particular, se ha demostrado que la rostafuroxina es activa en el sistema cardiovascular de individuos y está en desarrollo para el tratamiento de trastornos cardiovasculares, tales como la hipertensión arterial y complicaciones en órganos relacionadas, que incluyen el fallo cardiaco, la enfermedad cardiaca coronaria (CHD), la apoplejía y el fallo renal.

Más particularmente, se ha demostrado que la rostafuroxina es un compuesto que normaliza la tensión sanguínea y las alteraciones de la bomba Na-K y Src provocado por, aunque no exclusivamente, ouabaína o variaciones genéticas en genes que codifican para la aducina citoesquelética tales como ADD1, ADD2, ADD3.

20 Adicionalmente, se ha demostrado que la rostafuroxina es capaz de normalizar las alteraciones de las proteínas de podocito que provocan una proteinuria excesiva, glomeruloesclerosis y fallo renal, y que antagonizan los procesos biológicos (formación de neointima y remodelación negativa) que producen estenosis arterial tras arteriotomía y angioplastia.

SUMARIO

25 Solo la materia objeto de acuerdo a las reivindicaciones es parte de la invención. Según un primer aspecto, la presente invención se refiere a rostafuroxina para uso en el tratamiento o la prevención de una afección cardiovascular en un individuo, donde dicho individuo ha sido seleccionado por ser un portador de: al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs2345088, rs16877182, rs16893522, rs2461911, rs5013093 y rs12513375 en una cualquiera de las secuencias de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 5, la SEQ ID NO: 7, la SEQ ID NO: 9 y la SEQ ID NO: 11; y al menos un genotipo seleccionado del grupo que
30 consiste en: genotipo TT para rs2345088, genotipo C/T para rs16877182, genotipo AA para rs16893522, genotipo AA para rs2461911, genotipo TT para rs5013093 y genotipo TT para rs12513375. En particular, el al menos un polimorfismo se selecciona del grupo que consiste en el nucleótido C ó T para rs2345088, el nucleótido C ó T para rs16877182, el nucleótido G ó A para rs16893522, el nucleótido G ó A para rs2461911, el nucleótido C ó T para rs5013093 y el nucleótido T ó G para rs12513375, donde dicho polimorfismo está en una cualquiera de las
35 secuencias de nucleótido de la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 5, la SEQ ID NO: 7, la SEQ ID NO: 9 y la SEQ ID NO: 11. Según una realización preferida de la invención, se ha seleccionado el individuo por ser un portador de un polimorfismo en al menos un gen CAND 1, un gen CAND 2 y/o un gen GWS.

40 Según una forma preferida de la invención, se ha seleccionado al individuo por ser un portador de al menos un polimorfismo en al menos un gen seleccionado del grupo que consiste en ADD1, ADD2, ADD3, CYP11A1, HSD3B1 LSS, ABCB/MDR1 y SLC04C1.

45 Según una forma adicional preferida de la invención, se ha seleccionado al individuo por ser un portador de al menos un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que consiste en rs4961, rs4984, rs3731566, rs914247 y rs1045642. Según una forma preferida adicional de la invención, se ha seleccionado al individuo por ser un portador de al menos un genotipo seleccionado del grupo que consiste en GT para rs4961, CT para rs4984, AG para rs3731566, GA para rs914247 y TC para rs 1045642.

Según una forma preferida adicional de la invención, se ha seleccionado al individuo por ser un portador de genotipo AA de rs914247.

50 Según una forma preferida adicional de la invención, se ha seleccionado al individuo por ser un portador de al menos un único polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que consiste en rs242093, rs1996396, rs10503806, rs13251780, rs17430706, rs10102024, rs526302, rs544104, rs3102087, rs5183, rs3772627, rs2276736, rs2131 127, rs3741559, rs2217342, rs10927888, rs6604909, rs945403, rs7117314, rs10790212, rs1 1216598, rs910682, rs13218316, rs4309483, rs13280307, rs4739037, rs17596774, rs2728108, rs17786456, rs7696304, rs2725222, rs17199565, rs2758152, rs1057293, rs16960712, rs759359, rs404214, rs1005213, rs17025453, rs2110923, rs1428571, rs435404, rs12908787, rs11647727, rs880054 y rs11064584.

- Según una forma preferida adicional de la invención, se ha seleccionado al individuo por ser un portador de al menos un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que consiste en rs12996186, rs9893372, rs7216331, rs7521668, rs188334, rs4998662, rs16893522, rs6457110, rs3893464, rs2517718, rs1362126, rs5013093, rs2345088, rs6718282, rs721207, rs2555500, rs2461911, rs8179654, rs1901 139, rs2427832, rs9361863, rs1998394, ga001619, rs2275531 , rs748140, rs4710592, rs2743951, rs10159569, rs3087816, rs10493940, rs16877182, rs2326912, rs1110446, rs12513375 y rs17414954.
- Según una forma adicional preferida de la invención, se ha seleccionado al individuo por ser un portador de al menos un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que consiste en rs4961, rs4984, rs10923835, rs947130, rs914247, rs1045642, rs880054, rs10502933, rs2131127, rs4309483 y rs4739037. Según una forma adicional preferida de la invención, se ha seleccionado al individuo por ser un portador de al menos un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que consiste en rs1045642, rs10923835, rs914247, rs4961, rs947130, rs4309483, rs2131127, rs10502933 y rs880054 (perfil 8).
- Según una forma adicional preferida de la invención, se ha seleccionado al individuo por ser un portador de al menos un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que consiste en rs1045642, rs10923835, rs914247, rs947130, rs4739037, rs43909483, rs4984, rs10502933 y rs880054 (perfil 9).
- Según una forma preferida adicional de la invención, la afección cardiovascular es hipertensión y/o una afección asociada a la misma, siendo elegidas dichas afecciones cardiovasculares de forma preferible del grupo que consiste en: hipertrofia cardíaca, insuficiencia cardíaca, fallo cardíaco, isquemia cardíaca, incremento de resistencias vasculares, incremento de reactividad vascular, rigidez vascular, incremento de espesor vascular, hipertrofia renal, fallo renal, glomeruloesclerosis, proteinuria, enfermedad renal policística, daño retinal, trastornos cerebrovasculares, apoplejía, síndrome de Meniere, trastornos cognitivos, trastornos bipolares.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere a la rostafuroxina para uso como medicamento en el tratamiento o la prevención de una afección cardiovascular en un individuo según la reivindicación 1 en una dosis de entre 0,005 mg/día y 5 mg/día.
- Preferiblemente, se ha seleccionado al individuo por ser un portador también de un polimorfismo en al menos un: gen CAND 1, seleccionado del grupo que consiste en ADD1, ADD2, ADD3, LSS, MDR1, HSD3B1, CYP11A1 y SLC04C1; gen CAND 2, seleccionado del grupo que consiste en ACTN 1, ADRA1A, AGTR1 , AQP2, ATP1A3, CLCNKA, CLCNKB, FXYD2, FXYD6, FYN, NEDD4L, NKAIN3, PKD1, PKD2, SCNN1B, SGK1, SLC12A1, SLC8A1, TJP1, UMOD y WNK1; y/o gen GWS, seleccionado del grupo que consiste en ARL5A, ATP2A3, COX10, DPH5, FAIM3, FAM46A, HCG9, HLA-A, HLA-F, HLA-G, KCNS3, LOCI 31691, LOC389174, LOC389970, LOC642727, LOC644192, LOC649458, LOC728360, LOC728316, PIGR, RCADH5, RP3-377H14.5, SH3PXD2A, SLC30A7, THSD7A, TMEM200A, TRIM31, TTC29 y VCAM1, y donde la administración o la prescripción de rostafuroxina al individuo da como resultado una bajada media de la tensión sanguínea que oscila entre aproximadamente 8 y aproximadamente 22,5 mmHg.
- Según una forma preferida adicional de la invención, el al menos un gen CAND 1, gen CAND 2 y gen GWS se selecciona del grupo que consiste en MDSR 2, HSD18, LSS2, HSD19, ADD2, WNK, donde el polimorfismo en al menos un gen CAND 1, gen CAND2 y/o gen GWS preferiblemente es un polimorfismo de nucleótido único.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere a un método para identificar un individuo con una respuesta mejorada a rostafuroxina, método que comprende detectar en una muestra de ADN aislado del individuo un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que consiste en rs2345088, rs16877182, rs16893522, rs2461911, rs5013093 y rs12513375, en una cualquiera de las secuencias de nucleótido de la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, la SEQ ID NO: 7, la SEQ ID NO: 9 y la SEQ ID NO: 11, donde la presencia del SNP se correlaciona con una respuesta mejorada a la rostafuroxina en dicho individuo, teniendo dicho individuo al menos un genotipo seleccionado del grupo que consiste en: genotipo TT para rs2345088, genotipo C/T para rs16877182, genotipo AA para rs16893522, genotipo AA para rs246191 1, genotipo TT para rs5013093 y genotipo TT para rs12513375.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere a un kit de partes para evaluar el tratamiento con rostafuroxina para un individuo, kit que comprende: una sonda para el al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs2345088, rs16877182, rs16893522, rs246191 1, rs5013093 y rs12513375; y una composición farmacéutica que comprende rostafuroxina en una dosis que varía entre 0,005 mg y 5 mg/día y en particular entre 0,05 y 0,5 mg/día y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde la sonda comprende al menos un polinucleótido aislado seleccionado del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 6, la SEQ ID NO: 8, la SEQ ID NO: 10 y la SEQ ID NO: 12 ó un fragmento de las mismas, siendo el fragmento capaz de hibridarse específicamente con una secuencia complementaria a la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 6, la SEQ ID NO: 8, la SEQ ID NO: 10 ó la SEQ ID NO: 12.
- Preferiblemente, el kit comprende además una sonda para al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs4961, rs4984, rs10923835, rs947130, rs914247, rs1045642, rs880054, rs10502933, rs2131127, rs4309483 y rs4739037, donde la sonda preferiblemente comprende al menos un polinucleótido aislado seleccionado del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 26, la SEQ ID NO: 28, la SEQ ID NO: 30, la SEQ ID NO: 32,

la SEQ ID NO: 34, la SEQ ID NO: 36, la SEQ ID NO: 38, la SEQ ID NO: 40, la SEQ ID NO: 42, la SEQ ID NO: 44 y la SEQ ID NO: 46 ó un fragmento de las mismas, fragmento que sea capaz de hibridarse específicamente con una secuencia complementaria a la SEQ ID NO: 26, la SEQ ID NO: 28, la SEQ ID NO: 30, la SEQ ID NO: 32, la SEQ ID NO: 34, la SEQ ID NO: 36, la SEQ ID NO: 38, la SEQ ID NO: 40, la SEQ ID NO: 42, la SEQ ID NO: 44 ó la SEQ ID NO: 46.

Los detalles de una o más realizaciones de la descripción se fijan en las figuras acompañantes y en la descripción presentada a continuación. Otras características, objetivos y ventajas serán evidentes a partir de la descripción y las figuras, y a partir de las reivindicaciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las figuras acompañantes, que se incorporan a la presente especificación y forman parte de ella, ilustran una o más realizaciones de la presente descripción y, junto con la descripción detallada y los ejemplos, sirven para explicar los principios y las implementaciones de la descripción.

La **Figura 1** muestra una distribución gaussiana detectada en relación al análisis genético descriptivo llevado a cabo en individuos tratados con rostafuroxina y placebo. En particular, el **Panel A** muestra un diagrama que ilustra la distribución de cambios de tensión sanguínea (DSBP5_0) en individuos tras 5 semanas de tratamiento con rostafuroxina y placebo, o con ambos (todos los pacientes). El **Panel B** muestra un diagrama que ilustra la distribución de cambios en la tensión sanguínea (DSBP5_0) en individuos tras 5 semanas de tratamiento con rostafuroxina (rostafuroxina). El **Panel C** muestra un diagrama que ilustra la distribución de cambios de tensión sanguínea (DSBP5_0) en individuos tras 5 semanas de tratamiento con placebo (Placebo).

La **Figura 2** muestra una distribución gaussiana detectada en relación al análisis descriptivo genético llevado a cabo en individuos tratados con rostafuroxina. En particular,

la **Figura 2** muestra un diagrama que ilustra la distribución de cambios de tensión sanguínea (DSBP5_0) tras 5 semanas de tratamiento con rostafuroxina mostrada en la Figura 1B subdividida en terciles.

La **Figura 3** muestra resultados del análisis estadístico llevado a cabo en relación a un análisis descriptivo genético llevado a cabo en individuos tratados con rostafuroxina. En particular, la **Figura 3** muestra los dos ejes superiores de variación del Análisis de Componente Principal (PCA1 y PCA2) de Eigensoft para 193 pacientes para ilustrar la relación genética entre individuos. Cada punto representa un individuo. En el gráfico, se puede detectar un ligero agrupamiento heterogéneo de individuos distribuidos alrededor del cero.

La **Figura 4** muestra un diagrama que ilustra los resultados de asociación de GXE para placebo y de la terapia de SNPs según algunas realizaciones descritas en la presente memoria. En el **Panel A**, el eje Y del gráfico representa el valor-P de significación (-log valor-P), mientras que el eje X representa la posición en el genoma. Cada punto representa un SNP y en particular los puntos rojos representan SNPs con un valor-P significativo ($p < 10^{-4}$). El **Panel B** muestra la comparación de las distribuciones de valores-P observados frente a esperados, generados mediante Test de asociación GXT (representación Q-Q). El ensanchamiento en la cola de la distribución representa asociaciones positivas verdaderas.

La **Figura 5** muestra diagramas que ilustran las etapas de selección de genotipos de interacciones de SNPs para rostafuroxina según algunas realizaciones de la presente descripción. En particular, la **Figura 5** muestra diagramas que indican la interacción entre diferentes genotipos de rs8899 y rs4678 con respecto a los cambios en la tensión sanguínea (DSBP5_0) en individuos tratados con rostafuroxina y placebo según se indique.

La **Figura 6** muestra un ejemplo de análisis univariable llevado a cabo para seleccionar genotipos que afectan a la respuesta a la rostafuroxina según algunas realizaciones descritas en la presente memoria.

La **Figura 7** muestra un diagrama que ilustra un ejemplo de interacción entre diferentes genotipos de un SNP hipotético y los cambios de tensión sanguínea (DSBP5_0) con rostafuroxina y placebo.

La **Figura 8** muestra un resumen de ejemplos de datos relacionados con perfiles genéticos según algunas realizaciones descritas en la presente memoria.

La **Figura 9** muestra un resumen de genes seleccionados relacionados con la modulación vascular, renal y nerviosa de la tensión sanguínea según algunas realizaciones descritas en la presente memoria.

La **Figura 10** muestra datos relativos a la eficacia y la seguridad de estrategias tradicionales y farmacocinéticas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

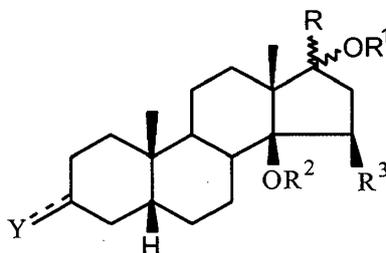
En la presente memoria se proporcionan métodos y sistemas basados en los efectos de las variaciones genéticas sobre la actividad biológica asociada a la rostafuroxina en un individuo.

En particular, los métodos y sistemas proporcionados en la presente memoria se basan en los polimorfismos de una región intergenética o intragenética de un gen seleccionado del grupo que consiste en KCNS3, THSD7A, FAM46A, LOC389970, HLA-G y TTC29, y/o una variación genética en el desequilibrio de enlace con los mismos.

- 5 Más particularmente, las composiciones, métodos y sistemas descritos en la presente memoria se basan en la influencia identificada en la respuesta de un individuo a la rostafuroxina de uno o más polimorfismos seleccionados del grupo que consiste en rs2345088, rs16877182, rs16893522, rs2461911, rs5013093 y rs12513375, y/o una variación genética en el desequilibrio de enlace con los mismos.

- 10 Las palabras "variación genética" o "polimorfismo" tal como se usan en la presente memoria indican una diversidad genética en una población de individuos y en particular es un estado alterado de una región de ADN o de un cromosoma. Los ejemplos de polimorfismos comprenden VNTR (número variable de repeticiones en tándem, también conocido como minisatélite y microsatélite), sustituciones de pares base, inserciones de pares base, eliminaciones de pares base, cambios de cariotipo (aneuploide, poliploide) y reestructuraciones de cromosomas (eliminación, traslocalización, inversión).

- 15 El término "rostafuroxina" tal como se usa en la presente memoria indica uno cualquiera de los compuestos de una clase formada por 17 β -(3-furil)-5 β -androstano-3 β ,14 β ,17 α -triol, y los derivados del mismo. Más particularmente, los compuestos de rostafuroxina comprenden compuestos de fórmula I.



(I)

- 20 donde: el símbolo α/β significa que los sustituyentes de la posición 17 pueden presentar una configuración α ó β ; el símbolo --- representa un enlace sencillo o un enlace doble; Y es oxígeno o guanidinoimino, donde --- en la posición 3 es un doble enlace; Y es hidroxilo, OR⁴ ó SR⁴, donde --- en la posición 3 es un enlace sencillo y puede presentar una configuración α ó β ;

R es un grupo 3-furilo o 4-piridacnilo sustituido o no sustituido;

R¹ es hidrógeno; metilo; etilo o *n*-propilo sustituido con OH ó NR⁵R⁶;

R² es hidrógeno o junto con R³ es un enlace de un anillo de oxirano;

- 25 R³ es hidrógeno o junto con R² es un enlace de un anillo de oxirano;

R⁴ es hidrógeno; metilo; alquilo C2-C6 ó alquenilo C3-C6 ó acilo C2-C6, estando dichos grupos alquilo, alquenilo o acilo no sustituidos o sustituidos con un grupo de amonio cuaternario o uno o más OR⁷, NR⁸R⁹, formilo, amidino, guanidinoimino ó NR⁸R⁹ e hidroxilo;

- 30 R⁵, R⁶ son de forma independiente hidrógeno; metilo; alquilo C2-C6 no sustituido o sustituido con NR¹⁰R¹¹, ó NR¹⁰R¹¹ e hidroxilo, ó R⁵ y R⁶ considerados junto al átomo de nitrógeno forman un anillo penta- o hexa-monoheterocíclico saturado o insaturado, sustituido o no sustituido, que opcionalmente contiene otro heteroátomo seleccionado entre oxígeno o azufre o nitrógeno;

R⁷ es hidrógeno, metilo o alquilo C2-C4, estando dicho alquilo no sustituido o sustituido con uno o más NR¹⁰R¹¹ ó con NR¹⁰R¹¹ e hidroxilo;

- 35 R⁸, R⁹ son de forma independiente hidrógeno; metilo; alquilo C2-C6 ó alquenilo C3-C6, estando dichos grupos alquilo y alquenilo sin sustituir o sustituidos con uno o más NR¹⁰R¹¹, ó NR¹⁰R¹¹ e hidroxilo, o R⁸ y R⁹ considerados junto con el átomo de nitrógeno forman un anillo penta- o hexa-monoheterocíclico saturado o insaturado, sustituido o sin sustituir, que contiene opcionalmente otro heteroátomo seleccionado entre oxígeno o azufre o nitrógeno, o R⁸ es hidrógeno y R⁹ es amidino;

- 40 R¹⁰, R¹¹ son de forma independiente hidrógeno, alquilo C1-C6, o R¹⁰ y R¹¹, junto con el átomo de nitrógeno forman un anillo penta- o hexa-monoheterocíclico saturado o insaturado.

En particular, el término rostafuroxina tal como se usa en la presente memoria incluye todos los posibles estereoisómeros, en particular los isómeros Z y E, los isómeros ópticos y sus mezclas, así como los metabolitos y los precursores metabólicos de los compuestos de fórmula (I). El término "derivado" tal como se usa en la presente memoria indica un compuesto modificado químicamente de fórmula (I) que retiene al menos una de las actividades biológicas asociadas al compuesto de Fórmula (I). Las modificaciones químicas pueden incluir, por ejemplo, la sustitución de hidrógeno por un grupo alquilo, acilo, hidroxilo o amino, y otras modificaciones adicionales identificables por parte de un especialista.

También se hace referencia a la Patente de EE.UU. nº 5.591.734, Bianchi et al., 2003, y Quadri et al 1997 [Ref. 4, 5] y la información de apoyo relacionada (incorporadas todas ellas en su totalidad a la presente memoria a modo de referencia), que describen la síntesis y la actividad biológica de los compuestos de rostafuroxina.

Otras actividades biológicas adicionales asociadas a la rostafuroxina se describen en Ferrari P. et al., 1998 [Ref. 6], también incorporada a la presente memoria en su totalidad a modo de referencia.

La expresión "actividad biológica" tal como se usa en la presente memoria en referencia a la rostafuroxina indica la cualidad o el estado de cualesquier efectos de la rostafuroxina, o relativos a la rostafuroxina, en una materia viva. Las actividades biológicas de la rostafuroxina incluyen, aunque sin limitación, la inhibición selectiva del efecto hipertensivo de la ouabaína, la normalización de las alteraciones en la bomba Na-K y Src provocadas por la ouabaína, y la normalización en las formas de hipertensión sostenida por el aumento concomitante de los niveles de ouabaína endógenos y las alteraciones de la bomba Na-K y Src. En particular, las actividades biológicas de la rostafuroxina comprenden un antagonismo selectivo del efecto hipertensivo asociado a las variaciones genéticas de los genes que codifican para aducina u otras enzimas implicadas en la síntesis y transporte de ouabaína endógena, la normalización de alteraciones de la bomba Na-K y Src provocadas por variaciones genéticas de aducina [Ref. 1, 2, 3], y la normalización de las formas de hipertensión sostenida por los efectos concomitantes de las variaciones genéticas de aducina y las alteraciones de la bomba Na-K y Src. Las actividades biológicas de la rostafuroxina también incluyen, aunque sin limitación, la normalización de las alteraciones de las proteínas de podocito que provocan una proteinuria excesiva, glomeruloesclerosis y fallo renal y antagonismo de los procesos biológicos que producen estenosis arterial tras arteriotomía y angioplastia y actividades adicionales identificables por un especialista tras leer la presente descripción.

Tal como se describe en la presente descripción, las actividades biológicas asociadas a la rostafuroxina se ven afectadas por variaciones genéticas en individuos, de tal modo que en varias realizaciones el tratamiento con rostafuroxina produce un aumento de la actividad biológica con respecto a la actividad biológica generada en individuos que no presentan las variaciones genéticas.

Adicionalmente, puesto que la actividad de la rostafuroxina es dependiente de la dosis, los métodos y sistemas incorporados en la presente memoria permiten en varias realizaciones la administración efectiva de la rostafuroxina a individuos portadores de variaciones genéticas con la correspondiente reducción de los posibles efectos secundarios.

Las actividades biológicas detectables asociadas a la rostafuroxina en un individuo definen la respuesta del individuo a la rostafuroxina. Las actividades biológicas pueden detectarse con métodos y técnicas identificables por un especialista, que incluyen, aunque sin limitación, la detección de biomarcadores asociados a la actividad biológica, y la detección de signos vitales y otras informaciones clínicas asociadas a la actividad biológica en el individuo, con referencia particular a la tensión sanguínea del individuo.

En varias realizaciones de la presente descripción, la administración de rostafuroxina a un individuo que porte una variación genética según la presente descripción da como resultado una respuesta mejorada a la rostafuroxina en el individuo.

En particular, una "respuesta mejorada" en el sentido de la presente descripción indica un aumento de las actividades de la rostafuroxina detectadas en el individuo, las cuales en varias realizaciones comprenden al menos una de las siguientes, prevención de la hipertensión, reducción de la tensión sanguínea, normalización de la tensión sanguínea, y prevención de daños cardiovasculares, renales, vasculares, oculares y nerviosos, o de complicaciones asociadas a la hipertensión. En particular, una respuesta mejorada se puede definir, en varias realizaciones, a través del descenso medio de la tensión sanguínea sistólica en consulta desde aproximadamente 23 mmHg hasta aproximadamente 12 mmHg con respecto a la tensión sanguínea medida en el individuo antes de comenzar el tratamiento.

En varias realizaciones se puede definir una respuesta mejorada a través de una reducción media de la tensión sanguínea sistólica en consulta y/o la tensión sanguínea nocturna de al menos aproximadamente 15 y aproximadamente 9 mmHg, respectivamente en comparación con la tensión sanguínea medida en el individuo antes del comienzo del tratamiento. También en varias realizaciones se puede definir una respuesta mejorada a través de una reducción media de la tensión sanguínea sistólica en consulta y/o de la tensión sanguínea nocturna, al menos de una reducción de la tensión sanguínea sistólica en consulta que sea significativamente mayor (p.ej., 40% o

mayor) que la reducción media correspondiente detectada en el individuo tras la administración de otro antihipertensivo tal como Hidroclorotiazide (HCTZ) o Losartan.

La expresión "reducción media" o "caída media" tal como se usa en la presente memoria en referencia a la tensión sanguínea indica una disminución del valor medio o esperado de un conjunto de medidas de tensión sanguínea llevadas a cabo en un individuo en un periodo de tiempo predeterminado según las guías médicas a fin de detectar la tensión sanguínea (p.ej., tensión sanguínea en consulta o nocturna). El calendario y horario específicos de las medidas y la estadística descriptiva que puede usarse como medida de la tendencia central de las mediciones de tensión sanguínea para calcular la reducción media pueden ser identificadas por un especialista a partir de la lectura de la presente descripción.

El término "tensión sanguínea en consulta" tal como se usa en la presente memoria indica el nivel de tensión sanguínea medido por el médico en su consulta mediante un equipamiento adecuado tal como un esfigmomanómetro, un registro de BP electrónico u otro equipamiento adicional identificable por un especialista.

La expresión "tensión sanguínea nocturna" tal como se usa en la presente memoria indica los niveles de tensión sanguínea registrados durante la noche, típicamente entre 12 p.m. y 6 a.m., mediante un equipamiento adecuado, tal como un registro de tensión sanguínea electrónico, en particular según el método de Holter) u otro equipamiento adicional identificable por un especialista.

El término "hidroclorotiazide" tal como se usa en la presente memoria indica un fármaco diurético de primera línea de la clase tiazide que actúa inhibiendo la capacidad del riñón para retener agua y que tiene la fórmula 6-cloro-1,1-dioxo-3,4-dihidro-2*H*-1,2,4-benzotiadiazina-7-sulfonamida. El término "losartan" tal como se usa en la presente memoria indica un fármaco antagonista de receptor de angiotensina II usado principalmente para tratar la tensión sanguínea elevada y que tiene la fórmula (2-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1*H*-tetrazol-5-il)bifenil-4-il]metil]-1*H*-imidazol-5-il)metanol.

Según la presente descripción, la respuesta de un individuo a la rostafuroxina se ve afectada por determinadas variaciones genéticas y en particular por polimorfismos de nucleótido único que son detectables en el genotipo del individuo. La expresión "polimorfismo de nucleótido único" o "SNP" tal como se usa en la presente memoria indica una variación genética formada por una única sustitución de par base, también denominada mutación puntual. Según la presente descripción, los SNPs o mutaciones puntuales pueden estar localizadas en una región intragénica de un gen (p.ej., en regiones intrónicas o exónicas del gen) o en regiones intergénicas que flanqueen a un gen, y que están compuestas típicamente por regiones genómicas con funciones reguladoras o con una función desconocida.

El término "individuos" tal como se usa en la presente memoria indica un único organismo biológico, tal como un animal superior y en particular un vertebrado, tal como un mamífero y más particularmente un ser humano.

El término "genotipo" tal como se usa en la presente memoria indica la combinación de alelos localizados en cromosomas homólogos para cada una de las variaciones genéticas consideradas. En particular, en la presente descripción, el genotipo 1 (g1) para un gen o posición específicos indica la asociación del genotipo homocigoto menos frecuente para dicho gen o posición específicos, el genotipo 2 (g2) para un gen o posición específicos indica la asociación al genotipo heterocigoto para dicho gen o posición específicos, y el genotipo 3 (g3) para un gen o posición específicos indica la asociación al genotipo homocigoto más frecuente para dicho gen o posición específicos.

En varias realizaciones, las variaciones genéticas que afectan a las actividades de rostafuroxina en un individuo comprenden al menos un SNP seleccionado del grupo que consiste en rs2345088, rs16877182, rs16893522, rs2461911, rs5013093 y rs12513375 (también indicados en la presente memoria como "SNPs de núcleo") y/o una variación genética en el desequilibrio de enlace con los mismos. Los SNPs de núcleo, así como otros SNPs, a menudo se indican en la presente memoria usando los identificadores rsID de dbSNP establecidos por el "National Center for Biotechnology Information" (NCBI) y disponibles por ejemplo en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>, en la fecha de presentación de la presente solicitud. La expresión "desequilibrio de enlace" tal como se usa en la presente memoria indica la asociación no aleatoria de alelos en dos o más localizaciones, no necesariamente en el mismo cromosoma, y se refiere a una situación en la que una combinación de alelos o marcadores genéticos se produce más o menos frecuentemente en una población de lo que sería esperable a partir de una formación aleatoria de haplotipos procedentes de alelos en base a sus frecuencias. Las asociaciones no aleatorias entre polimorfismos en diferentes localizaciones se miden a través del grado de desequilibrio de enlace (LD, del inglés "linkage disequilibrium"). Las variaciones genéticas en el desequilibrio de enlace indicadas en la presente descripción tienen un alto grado de desequilibrio de enlace r^2 que varía entre 0,9 y 1 y que puede ser identificado por un especialista usando fuentes del GenBank en vista de la presente descripción.

En algunas realizaciones, los efectos de variaciones genéticas sobre la respuesta de un individuo a la rostafuroxina se consideran en los métodos para llevar a cabo o evaluar una terapia con rostafuroxina como la descrita en la presente memoria. Los términos "terapia", "terapéutico", "terapéuticamente" y relacionados, tal como se usan en la presente memoria, indican un elemento de, o son relativos a, el tratamiento o la prevención de una afección en un

individuo, y en particular en referencia a rostafuroxina indican un elemento de, o son relativos a, el tratamiento o la prevención de una afección asociada a cualquier actividad biológica asociada a la rostafuroxina en el individuo. El término "afección" tal como se usa en la presente memoria indica, como es habitual, el estatus físico del cuerpo de un individuo (en su totalidad o de una o más de sus partes) que no es conforme al estatus físico del individuo (en su totalidad o de una o más de sus partes) que está asociado a un estado de bienestar físico, mental y posiblemente social, completo. Las afecciones descritas en la presente memoria incluyen, aunque sin limitación, trastornos y enfermedades donde el término "trastorno" indica una afección del individuo vivo que está asociada a una anomalía funcional del cuerpo o de cualquiera de sus partes, y el término "enfermedad" indica una afección del individuo vivo que altera el funcionamiento normal del cuerpo o de cualquiera de sus partes, y que se manifiesta típicamente a través de signos y síntomas distintivos. Los ejemplos de afecciones incluyen, aunque sin limitación, lesiones, discapacidades, trastornos (que incluyen trastornos mentales y físicos), síndromes, infecciones, comportamientos desviados del individuo y variaciones atípicas de estructura y funciones del cuerpo de un individuo o de partes del mismo. La expresión "asociado a" tal como se usa en la presente memoria en referencia a dos elementos indica una relación entre los dos elementos, de tal modo que la existencia de un primer elemento viene acompañada de la existencia del segundo elemento, que incluye, aunque sin limitación, una relación causa-efecto y una relación signos/síntomas-enfermedad.

Las afecciones asociadas a una actividad biológica que está asociada a la rostafuroxina en un individuo incluyen, aunque sin limitación, afecciones cardiovasculares (p.ej., hipertensión, que incluye hipertensión primaria, hipertrofia cardíaca, aumento de resistencias vasculares y restenosis arterial), fallo renal, glomeruloesclerosis, proteinuria, enfermedad renal policística, daño retinal, trastornos cerebrovasculares, síndrome de Meniere, trastornos cognitivos, trastornos bipolares y complicaciones cardiovasculares asociadas a hipertensión primaria, tales como fallo cardíaco, apoplejía, isquemia, daño retinal y otras afecciones adicionales identificables por el especialista. La expresión "hipertensión primaria" indica una afección clínica que afecta al 25-30% de la población adulta en sociedades industrializadas y que, a través de sus complicaciones cardíacas, cerebrales y renales, es responsable de gran parte de las cargas y costes de salud, e incluye el grado I, II, III y IV de hipertensión en base al nivel de tensión sanguínea y de la presencia de complicaciones vasculares y retinales asociadas, identificables por un especialista.

El término "tratamiento" tal como se usa en la presente memoria indica cualquier actividad que sea parte de una atención sanitaria, o que trate una afección médicamente o quirúrgicamente. El término "prevención" tal como se usa en la presente memoria indica cualquier actividad que reduzca la carga de mortalidad de una afección en un individuo. Esto tiene lugar a nivel de prevención primaria, secundaria y terciaria, donde: a) la prevención primaria evita el desarrollo de una enfermedad; b) las actividades de prevención secundaria están dirigidas al tratamiento temprano de la enfermedad, incrementando de este modo las oportunidades de intervención para prevenir la progresión de la enfermedad y la aparición de síntomas; y c) la prevención terciaria reduce el impacto negativo de una enfermedad ya establecida a través de la restauración de la función y la reducción de complicaciones relacionadas con la enfermedad.

En particular, en algunas realizaciones, la información relativa a SNPs en un genotipo de un individuo se usa como método para tratar o prevenir una afección cardiovascular en el individuo. En dichas realizaciones, la rostafuroxina se administra o se prescribe al individuo que ha sido determinado como portador de al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en los SNPs de núcleo rs2345088, rs16877182, rs16893522, rs2461911, rs5013093 y rs12513375, o de una variación genética en el desequilibrio de enlace con los mismos.

En particular, en varias realizaciones, los individuos que portan uno o más de los SNPs de núcleo exhiben una respuesta mejorada a la rostafuroxina en el individuo, que puede calcularse en base al fenotipo cuantitativo formado por la reducción media de la tensión sanguínea en un individuo medida tras terapia con respecto al tratamiento con placebo (DSBP5_0) de al menos 15 mmHg, tal como se ilustra ampliamente en la sección de Ejemplos.

En base a un DSBP5_0 de fenotipo cuantitativo en varias realizaciones, los individuos que portan uno o más de los SNPs de núcleo exhiben una respuesta mejorada definida a través de una magnitud de la caída media de tensión sanguínea (comparada de forma significativa con los valores previos al tratamiento) obtenida con rostafuroxina que es de aproximadamente el 40% o más, y en particular de aproximadamente 40% a 50% o más, respecto a la caída media de la tensión sanguínea obtenida con otros agentes antihipertensivos tales como HCTZ Losartan en pacientes nunca tratados.

En varias realizaciones, los individuos que portan uno o más de los SNPs de núcleo exhiben una respuesta mejorada a la rostafuroxina en el individuo, que puede calcularse en base al fenotipo cuantitativo formado por la reducción media de la tensión sanguínea nocturna en un individuo medida tras terapia con respecto al tratamiento con placebo (DSBP5_0) de al menos 9 mmHg, tal como se ilustra ampliamente en la sección de Ejemplos.

Adicionalmente, puesto que la DSBP5_0 es el fenotipo cuantitativo del análisis estadístico y experimental presentado en la sección de Ejemplos, la respuesta mejorada a la rostafuroxina definida a través de la caída media de la tensión sanguínea se considera representativa de cualquier respuesta mejorada por cualesquier actividades biológicas asociadas a la rostafuroxina que sean detectables usando biomarcadores o informaciones clínicas diferentes a la medida de tensión sanguínea. Por lo tanto, las respuestas mejoradas definidas por las actividades biológicas de rostafuroxina detectables usando biomarcadores o informaciones clínicas diferentes a la medida de la

tensión sanguínea quedan abarcadas por el alcance de la presente descripción y son identificables por un especialista.

5 En algunas realizaciones de los métodos y sistemas descritos en la presente memoria se alcanza una respuesta mejorada a la rostafuroxina mediante la administración o la prescripción de rostafuroxina a un individuo que porta uno o más de los siguientes SNPs de núcleo: nucleótido C ó T en la posición 18079898 del cromosoma 6 (rs2345088), nucleótido C ó T en la posición 11753617 del cromosoma 7 (rs16877182), nucleótido G ó A en la posición 82560511 del cromosoma 6 (rs16893522), nucleótido G ó A en la posición 57078480 del cromosoma 10 (rs2461911), nucleótido C ó T en la posición 29928565 del cromosoma 6 (rs5013093) y nucleótido T ó G en la posición 148244380 del cromosoma 4 (rs12513375).

10 En algunas realizaciones de los métodos y sistemas descritos en la presente memoria se administra o prescribe rostafuroxina a un individuo que es portador de al menos uno de los siguientes genotipos solo o en combinación con otros: genotipo TT o genotipo 1 para rs2345088, genotipo C/T o genotipo 2 para rs16877182, genotipo AA o genotipo 1 para rs16893522, genotipo AA o genotipo 1 para rs2461911, genotipo TT o genotipo 1 para rs5013093, y genotipo TT o genotipo 1 para rs12513375.

15 En particular, la presencia de al menos un genotipo relevante para cualquiera de los anteriores SNPs, solo o en combinación con otros, se asocia a una reducción media de la tensión sanguínea sistólica DSNBP5_0 en los individuos que oscila entre 23 y 12 mmHg según las dosis o la combinación de genotipos (perfiles, véase la sección de Ejemplos más adelante).

20 En varias realizaciones, uno o más de los SNPs de núcleo y/o variaciones genéticas en el desequilibrio de enlace con los mismos se pueden asociar a una o más variaciones genéticas adicionales que también afectan a la respuesta a la rostafuroxina en un individuo, variaciones genéticas que también afectan a la respuesta a la rostafuroxina en un individuo y que se ejemplifican a través de los SNPs identificados como CAND 1, CAND 2 y GWS descritos en los detalles de la sección de Ejemplos. En particular, las variaciones genéticas adicionales que afectan a la respuesta a rostafuroxina en los individuos comprenden grupos de genes implicados directa o indirectamente en la expresión de Aducina y en la síntesis y transporte de Ouabaína Endógena (OE). Dichos genes incluyen, aunque sin limitación, genes de CAND 1 tales como ADD1, ADD2, ADD3, LSS, CYP11A1, HSD3B1-2
25 SLCO4C1, MDR1 y polimorfismo relacionados.

30 En varias realizaciones de los métodos y sistemas descritos en la presente memoria, se detecta una respuesta mejorada a la rostafuroxina en conexión a la administración o la prescripción de rostafuroxina a un individuo que porta al menos uno de los siguientes SNPs de CAND 1 relevantes adicionales solo o en combinación con los SNPs de núcleo: rs4961, rs4984, rs3731566, rs914247 y rs1045642 y/o de una variación genética en el desequilibrio de enlace con los mismos.

35 En particular, en algunas realizaciones de los métodos y sistemas descritos en la presente memoria una respuesta mejorada a la rostafuroxina se detecta en relación a la administración o la prescripción de rostafuroxina a un individuo que es un portador de al menos uno de los siguientes genotipos de CAND 1 solo o en combinación con un genotipo para SNPs de núcleo: GT para rs4961, CT para rs4984, AG para rs3731566, GA para rs914247, y TC para rs1045642. En particular, una respuesta mejorada a la rostafuroxina se detecta en conexión con la administración o la prescripción de rostafuroxina a un individuo que es portador de genotipo de CAND 1 AA para rs914247.

40 En varias realizaciones de los métodos y sistemas descritos en la presente memoria, se detecta una respuesta mejorada a la rostafuroxina en conexión a la administración o la prescripción de rostafuroxina a un individuo que porta al menos uno de los siguientes SNPs de CAND 2 relevantes adicionales solo o en combinación con los SNPs de núcleo: rs242093, rs1996396, rs10503806, rs13251780, rs17430706, rs10102024, rs526302, rs544104, rs3102087, rs5183, rs3772627, rs2276736, rs2131127, rs3741559, rs2217342, rs10927888, rs6604909, rs945403, rs7117314, rs10790212, rs11216598, rs910682, rs13218316, rs4309483, rs13280307, rs4739037, rs17596774,
45 rs2728108, rs17786456, rs7696304, rs2725222, rs17199565, rs2758152, rs1057293, rs16960712, rs759359, rs404214, rs1005213, rs17025453, rs2110923, rs1428571, rs435404, rs12908787, rs11647727, rs880054 y rs11064584 y/o de una variación genética en el desequilibrio de enlace con los mismos.

50 En varias realizaciones de los métodos y sistemas descritos en la presente memoria, se detecta una respuesta mejorada a la rostafuroxina en conexión a la administración o la prescripción de rostafuroxina a un individuo que porta al menos uno de los siguientes SNPs de GWS relevantes adicionales, solo o en combinación con los SNPs de núcleo: rs12996186, rs9893372, rs7216331, rs7521668, rs188334, rs4998662, rs16893522, rs6457110, rs3893464, rs2517718, rs1362126, rs5013093, rs2345088, rs6718282, rs721207; rs2555500, rs2461911, rs8179654, rs1901139, rs2427832, rs9361863, rs1998394, ga001619, rs2275531, rs748140, rs4710592, rs2743951, rs10159569, rs3087816, rs10493940, rs16877182, rs2326912, rs1110446, rs12513375, rs17414954 ó de una
55 variación genética en el desequilibrio de enlace con los mismos.

En algunas realizaciones de los métodos y sistemas descritos en la presente memoria, se detecta una respuesta mejorada a la rostafuroxina en conexión a la administración o la prescripción de rostafuroxina a un individuo que porta al menos uno de los siguientes SNPs relevantes adicionales, solo o en combinación con los SNPs de núcleo:

Rs4961, Rs4984, Rs10923835, Rs947130, Rs914247, Rs1045642, Rs880054, Rs10502933, Rs2131127, Rs4309483, y Rs4739037 ó de una variación genética en el desequilibrio de enlace con los mismos.

5 Más particularmente, en algunas realizaciones de los métodos y sistemas descritos en la presente memoria, se logra una respuesta mejorada a la rostafuroxina mediante la administración o la prescripción de rostafuroxina a un individuo que porta al menos uno de los siguientes SNPs relevantes adicionales, solo o en combinación con los SNPs de núcleo: nucleótido G ó T para Rs4961, nucleótido G ó A para Rs4984, nucleótido A ó T para Rs10923835, nucleótido C ó T para Rs947130, nucleótido A ó G para Rs914247, nucleótido C ó T para Rs1045642, nucleótido C ó T para Rs880054, nucleótido C ó T para Rs10502933, nucleótido C ó T para Rs2131127, nucleótido C ó A para Rs4309483, y nucleótido G ó A para Rs4739037.

10 Más particularmente, en algunas realizaciones de los métodos y sistemas descritos en la presente memoria la rostafuroxina se administra o se prescribe a un individuo que es portador de al menos uno de los siguientes genotipos solos o en combinación con un genotipo para SNPs de núcleo: genotipo GT ó genotipo TT para Rs4961, genotipo CC para Rs4984, genotipo AT ó genotipo TT para Rs10923835, genotipo GG para Rs947130, genotipo AA para Rs914247, genotipo TT para Rs1045642, genotipo AG ó genotipo GG para Rs880054, genotipo CT para Rs10502933, genotipo CC para Rs2131127, genotipo AA para Rs4309483, y genotipo GA para Rs4739037.

15 En particular, en varias realizaciones se describe el método para tratar un individuo con rostafuroxina. El método comprende: administrar o prescribir rostafuroxina al individuo en una dosis de entre 0,005 mg/día y 5 mg/día, preferiblemente de 0,01 y 1,5 mg/día, lo más preferiblemente de 0,05 mg/día y 0,5 mg/día. El tratamiento de dosis se puede llevar a cabo con un calendario de dosis única o con un calendario de dosis múltiples, según la evaluación del médico.

20 En particular, en varias realizaciones, dosis menores (tal como de 0,05 mg/día; 0,15 mg/día; 0,5 mg/día) pueden ser más eficientes para reducir la tensión sanguínea sistólica que las dosis elevadas (1,5 mg/día; 5,0 mg/día) en el subconjunto de individuos que portan las variaciones genéticas descritas en la presente memoria, con una reducción media de la tensión sanguínea sistólica de aproximadamente 18 mmHg en comparación con los -12 mmHg inducidos por las dosis elevadas.

25 En particular, en varias realizaciones de individuos hipertensivos que portan genotipos identificados previamente que comprenden al menos un polimorfismo seleccionado entre los SNPs de núcleo, las dosis de rostafuroxina comprendidas entre 0,05 y 0,5 mg/día producen una caída de tensión sanguínea que oscila entre -12 y -34 mmHg, y las dosis comprendidas entre 1,5 mg/día y 5 mg/día producen una caída de tensión sanguínea de entre -0,6 y -23 mmHg.

30 Por consiguiente, en varias realizaciones, en individuos que portan todos los SNPs de núcleo, dosis bajas proporcionan una mayor respuesta (-23 mmHg de media) con respecto a las dosis altas (-15 mmHg de media).

35 En varias realizaciones, después del tratamiento con rostafuroxina los individuos que portan variaciones genéticas descritas en la presente memoria exhiben una reducción de la tensión sanguínea de al menos un 10% con respecto a la tensión sanguínea detectada antes del tratamiento con rostafuroxina.

En varias realizaciones, después del tratamiento con rostafuroxina los individuos que portan variaciones genéticas descritas en la presente memoria exhiben una reducción media de la tensión sanguínea en consulta y/o de la tensión sanguínea nocturna del individuo de al menos aproximadamente 15 y aproximadamente 9 mmHg, respectivamente.

40 En varias realizaciones, los individuos que portan las variaciones genéticas descritas en la presente memoria exhiben una normalización de la tensión sanguínea por debajo de 140 mmHg para la tensión sanguínea sistólica y por debajo de 90 mmHg para la tensión sanguínea diastólica.

45 En varias realizaciones, después del tratamiento con rostafuroxina los individuos que portan las variaciones genéticas descritas en la presente memoria exhiben una reducción media de la tensión sanguínea que es aproximadamente un 40% mayor que la reducción de la tensión sanguínea media obtenida con HCTZ o Losartan (véase el Ejemplo 2).

50 En los métodos y sistemas descritos en la presente memoria la rostafuroxina puede estar incluida en composiciones que se administran individualmente a un paciente y/o que pueden administrarse en combinación con otros agentes, fármacos u hormonas. En particular, en algunas realizaciones el medicamento también puede contener un vehículo farmacéuticamente aceptable, seleccionado entre los vehículos adecuados para la administración de un agente terapéutico. Una amplia discusión sobre vehículos farmacéuticamente aceptables se puede encontrar en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., N. J. 1991), que se incorpora a modo de referencia en su totalidad a la presente memoria.

55 Los vehículos farmacéuticamente aceptables en composiciones terapéuticas pueden contener adicionalmente líquidos tales como agua, disolución salina, glicerol y etanol. Adicionalmente, en dichas composiciones puede haber presentes sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes, sustancias tamponantes de pH,

y otras similares. Dichos vehículos permiten que las composiciones farmacéuticas sean formuladas como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, suspensiones, y similares, para ingestión por parte del individuo.

5 El medicamento que comprende rostafuroxina puede administrarse en métodos descritos en la presente memoria a través de una serie de rutas que incluyen, aunque sin limitación, oral, intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intramedular, intratecal, intraventricular, aplicaciones transdérmicas o transcutáneas, subcutánea, intraperitoneal, intranasal, enteral, tópica, sublingual, medios rectales, o localmente sobre el tejido enfermo tras una operación quirúrgica. El compuesto de la invención también se puede aplicar (recubriendo) sobre el stent, incluso incorporado en una matriz de liberación controlada.

10 En varias realizaciones, los efectos terapéuticos esperados en términos de tratamiento y prevención tras la administración de rostafuroxina en individuos que portan al menos uno de los SNPs de núcleo y/o una variación genética en el desequilibrio de enlace con los mismos pueden incluir, aunque sin limitación: la prevención o la reducción de la hipertrofia y la insuficiencia cardíaca, la isquemia cardíaca, del aumento de la reactividad vascular, la rigidez vascular, el aumento del espesor vascular, la hipertrofia renal, el fallo renal, la glomeruloesclerosis, la proteinuria, el daño cerebrovascular, la apoplejía, los trastornos cognitivos, el daño retinal. Dichos efectos son esperables ya que todos los trastornos mencionados son consecuentes directa o indirectamente con el aumento patológico de la tensión sanguínea (hipertensión de grado III y IV), que es normalizada por la rostafuroxina en individuos que portan los SNPs de núcleo solos o en combinación unos con otros, con SNPs de CAND1, SNPs de CAND2, SNPs de GWS seleccionados y/o variaciones genéticas en el desequilibrio de enlace con los mismos.

15 Adicionalmente, debido a la capacidad de la rostafuroxina para antagonizar algunos mecanismos de hipertensión tales como el aumento de la reabsorción de sodio renal y la activación del mecanismo de transducción de señal Src, los daños en órganos diferentes a los directamente provocados por la tensión sanguínea elevada pueden prevenirse con el tratamiento. Por ejemplo, los individuos que portan la variante genética Trp460 de ADD1, para el mismo nivel de tensión sanguínea, presentan una mayor incidencia de complicaciones cardiovasculares que los portadores de la variante Gly460 de ADD1. Asimismo, los individuos hipertensivos con elevados niveles de ouabaína en plasma presentan una mayor tasa de complicaciones cardiovasculares que los individuos con un bajo nivel de ouabaína en plasma pero con similares niveles de tensión sanguínea. A pesar de que se desconocen los mecanismos precisos del aumento de la caída de tensión sanguínea con la rostafuroxina en individuos que portan uno de los SNPs de núcleo seleccionados, deben estar relacionados con los mecanismos activados por las dianas moleculares de la

20 rostafuroxina. Como consecuencia, es de esperar obtener beneficios más allá de los relacionados con la caída de la tensión sanguínea inducida por la rostafuroxina en individuos que portan al menos uno de los genotipos de SNPs de núcleo.

En algunas realizaciones, en los individuos que portan al menos uno de los SNPs de núcleo, es de esperar que las dosis de rostafuroxina que oscilan entre 0,05 y 0,15 mg/día (dosis bajas) induzcan una mayor caída de la tensión sanguínea que dosis más altas, tales como las que oscilan entre 1,5 y 5 mg/día (dosis altas). En particular, es de esperar que las dosis bajas produzcan una caída media de la tensión sanguínea de aproximadamente 23 mmHg, mientras que es de esperar que las dosis altas produzcan una caída media de la tensión sanguínea de aproximadamente 15 mmHg. Adicionalmente, en los individuos que portan al menos uno de los SNPs de núcleo, es de esperar que dichas dosis de rostafuroxina prevengan el desarrollo de las complicaciones cardiovasculares asociadas, pero no solo a la hipertensión, tales como la hipertrofia cardíaca, el fallo cardíaco, el aumento de resistencias vasculares, el fallo renal, la glomeruloesclerosis, la proteinuria, la enfermedad renal policística, el daño retinal, los trastornos cerebrovasculares, el síndrome de Meniere, los trastornos cognitivos, los trastornos bipolares.

35

En algunas realizaciones, el tratamiento de rostafuroxina a un individuo que porta al menos uno de los SNPs de núcleo se puede llevar a cabo en una dosis de μg por día que oscila entre 5 μg y 50000 μg , preferiblemente de 10 μg a 15000 μg , lo más preferiblemente de 50 μg a 500 μg . De acuerdo a las dosis, las dosis bajas que oscilan entre 0,05 y 0,50 mg/día (dosis bajas) dan como resultado una respuesta mayor (+50%) en términos de caída de tensión sanguínea en comparación con las dosis altas que oscilan entre 1,5 y 5 mg/día (dosis altas). Adicionalmente, las dosis bajas producen una caída de la tensión sanguínea nocturna relativamente mayor que las dosis altas.

40

En algunas realizaciones, en la administración de rostafuroxina a un individuo que porta al menos uno de los SNPs de núcleo en combinación con otros y/o con otros SNPs relevantes tales como los incluidos en los SNPs de CAND1, 2 y GWSA (ver el perfil 8 y 9, ejemplo 2), es de esperar que la rostafuroxina induzca una reducción media de la tensión sanguínea que oscila entre aproximadamente 8 y aproximadamente 22,5 mmHg.

45

En algunas realizaciones, en la administración de rostafuroxina a un individuo que porta al menos uno de los SNPs de núcleo en combinación con otros y en asociación con otros SNPs relevantes tales como los incluidos en los SNPs de CAND 1, CAND2 y GWS (ver los perfiles 8 y 9, Ejemplo 2), es de esperar que la rostafuroxina induzca una caída media de la tensión sanguínea en la tensión sanguínea en consulta (sistólica, diaria) de 23 mmHg, y de la tensión sanguínea nocturna de aproximadamente 9 mmHg.

50

En algunas realizaciones, la administración de rostafuroxina a un individuo que porta al menos uno de los SNPs de núcleo solo en combinación con otros, o con SNPs relevantes adicionales, da como resultado una respuesta mejorada a la rostafuroxina si se compara con la respuesta del individuo a otros fármacos hipertensivos tales como

55

60

Losartan o Hidroclotiazide. En particular, es de esperar que la administración de rostafuroxina a individuos que portan al menos uno de los SNPs de núcleo solo o en combinación con otros (o con SNPs relevantes adicionales) produzca una caída de la tensión sanguínea al menos un 40% mayor que la producida por Losartan o HCTZ, respectivamente (ver Ejemplo 2) en pacientes no tratados nunca.

- 5 En algunas realizaciones, un método para evaluar la terapia descrita en la presente memoria comprende la obtención de la información de secuencia relativa a al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en los SNPs de núcleo: rs16877182, rs5013093, rs2461911, rs12513375, rs16893522, rs2345088, donde la información es predictiva de la eficacia de la rostafuroxina en el individuo.

- 10 En algunas realizaciones, la información de secuencia también se puede obtener para variaciones genéticas relevantes adicionales que afecten a la respuesta a rostafuroxina, tal como los SNPs de los genes CAND1, los genes CAND2 y/o los genes GWS, que incluyen, aunque sin limitación, rs4961 (ADD1), rs4984 (ADD2), rs3731566 (ADD3), rs914247 (LSS2), rs1045642 (MDR2), rs10502933, rs2131127, rs4309483, rs4739037 y otros SNPs adicionales identificables por un especialista a la luz del contenido de la presente descripción (SNPs adicionales de los perfiles 8-9: rs10923835 (HSD18), rs947130 (HSD19), rs880054 (WNK1).

- 15 En algunas realizaciones, la información de secuencia comprende al menos una de las secuencias de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, la SEQ ID NO: 7, la SEQ ID NO: 9 y la SEQ ID NO: 11, y se puede predecir una respuesta mejorada a la rostafuroxina con la correspondiente información de secuencia detectada tal como la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 6, la SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 y la SEQ ID NO: 12, respectivamente.

- 20 Más particularmente, en las realizaciones en las que la información de secuencia comprende al menos una de las secuencias de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, la SEQ ID NO: 7, la SEQ ID NO: 9 y la SEQ ID NO: 11, y se puede predecir una respuesta mejorada a rostafuroxina con la correspondiente información de secuencia alélica detectada que comprende las SEQ ID NOs: 13 y 14 para la SEQ ID NO: 1, las SEQ ID NOs: 15 y 16 para la SEQ ID NO: 3, las SEQ ID NOs: 17 y 18 para la SEQ ID NO: 5, las SEQ ID NOs: 19 y 20 para la SEQ ID NO: 7, las SEQ ID NOs: 21 y 22 para la SEQ ID NO: 9, y las SEQ ID NOs: 23 y 24 para la SEQ ID NO: 11.

- 25 En varias realizaciones, el método comprende la obtención de la información de secuencia correspondiente a al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs4961, rs4984, rs10923835, rs947130, rs914247, rs1045642, rs880054, rs10502933, rs2131127, rs4309483 y rs4739037. En particular, en varias realizaciones, la información de secuencia relevante adicional comprende además la SEQ ID NO: 25, la SEQ ID NO: 27, la SEQ ID NO: 29, la SEQ ID NO: 31, la SEQ ID NO: 33, la SEQ ID NO: 35, la SEQ ID NO: 37, la SEQ ID NO: 39, la SEQ ID NO: 41, la SEQ ID NO: 43 y la SEQ ID NO: 45, y se puede predecir una respuesta mejorada a rostafuroxina con la correspondiente información de secuencia detectada tal como la SEQ ID NO: 26, la SEQ ID NO: 28, la SEQ ID NO: 30, la SEQ ID NO: 32, la SEQ ID NO: 34, la SEQ ID NO: 36, la SEQ ID NO: 38, la SEQ ID NO: 40, la SEQ ID NO: 42, la SEQ ID NO: 44 y la SEQ ID NO: 46, respectivamente.

- 35 Más particularmente, en las realizaciones en la que la información de secuencia comprende al menos una de las secuencias SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43 y SEQ ID NO: 45, se puede predecir una respuesta mejorada a rostafuroxina con la correspondiente información de secuencia alélica detectada que comprende las SEQ ID NOs: 47 y 48 para la SEQ ID NO: 25, las SEQ ID NOs: 49 y 50 para la SEQ ID NO: 27, las SEQ ID NOs: 51 y 52 para las SEQ ID NO: 29, las SEQ ID NOs: 53 y 54 para las SEQ ID NO: 31, las SEQ ID NOs: 55 y 56 para la SEQ ID NO: 33, las SEQ ID NOs: 57 y 58 para la SEQ ID NO: 35, las SEQ ID NOs: 59 y 60 para la SEQ ID NO: 37, las SEQ ID NOs: 61 y 62 para la SEQ ID NO: 39, las SEQ ID NOs: 63 y 64 para la SEQ ID NO: 41, las SEQ ID NOs: 65 y 66 para la SEQ ID NO: 43, y las SEQ ID NOs: 67 y 68 para la SEQ ID NO: 45.

- 45 En particular, se puede obtener la información de secuencia usando un análisis de genotipo: GenChip de ILLUMINA, o métodos y sistemas adicionales identificables por un especialista. En algunas realizaciones, el método para evaluar la terapia de rostafuroxina descrita en la presente memoria se puede llevar a cabo mediante un sistema que comprende sondas para la información de secuencia de los SNPs de núcleo, o de una porción de los mismos, tal como los cebadores de la SEQ ID NO: 35 a la SEQ ID NO: 58, presentados más adelante en el Ejemplo 8.

- 50 En algunas realizaciones, el método para evaluar el tratamiento con rostafuroxina comprende la selección de los pacientes hipertensivos, que deben ser hombres o mujeres, con una edad de al menos 18 años, de varias etnias que incluyan caucásicos pero también africanos, asiáticos o afroamericanos, preferentemente, aunque sin limitación, con hipertensión primaria de grado I ó II, no tratados o en tratamiento con un único fármaco o con una combinación de comprimidos que no contengan más de dos agentes antihipertensivos, sin hipertensión severa o maligna o hipertensión secundaria (que incluye un historial de enfermedad arterial renal), sin afecciones asociadas y con no más de dos factores de riesgo cardiovasculares adicionales, sin cirugía o enfermedades del sistema gastrointestinal que pudieran influir en la absorción o en la eliminación hepática de la rostafuroxina, que no hayan estado en tratamiento con ningún otro fármaco experimental en al menos los últimos 6 meses antes de la administración de rostafuroxina. Los pacientes pueden ser tratados según las guías de 2003 de la "European Society of Hypertension and the European Society of Cardiology" [Ref. 7].

La tensión sanguínea se puede monitorizar en condiciones ambulatorias según las recomendaciones de la "European Society of Hypertension for conventional and ambulatory blood-pressure measurement" [Ref. 8]. La medición de la tensión sanguínea se puede llevar a cabo empleando registradores oscilométricos o cualquier otro registrador ambulatorio validado o esfigmomanómetro. La tensión sanguínea debería monitorizarse en el brazo una vez que el paciente haya reposado durante al menos 5 minutos en posición sentada. El genotipo de los pacientes se puede medir en una muestra de sangre tomada en la vena braquial. El ADN se extraerá de la sangre de acuerdo a un procedimiento estándar [Ref. 9] o mediante el uso de un kit a medida (por ejemplo, Promega genomic DNA purification Cat. A2360 o Qiagen PAXgene Blood DNA Kit), se almacenará y se determinará el genotipo para el SNP de interés usando un ensayo de detección de nucleasa seleccionado (p.ej., ensayo ABI en demanda de discriminación alélica). En algunas realizaciones, la información de secuencia se puede derivar usando métodos identificables por un especialista.

Los individuos que portan al menos uno de los SNPs de núcleo, y en particular el genotipo seleccionado descrito en la presente memoria, solo o en asociación unos con otros, y/o SNPs relevantes adicionales que pertenezcan a los SNPs de CAND 1, CAND 2 y GWS, y en particular el genotipo seleccionado descrito en la presente memoria, y/o que tengan la información de secuencia relacionada, son tratados con rostafuroxina mediante la administración de la sustancia en una composición farmacéutica definida, una vez al día, por ruta oral, en una dosis que oscila entre 0,05 y 5 mg/día, preferiblemente por la mañana entre 7:00 y 9:00 a.m. El tratamiento puede durar al menos 5 semanas y hasta toda la vida del paciente.

En algunas realizaciones, los efectos de las variaciones genéticas sobre la actividad de la rostafuroxina forman la base de un método de predicción de la respuesta a la rostafuroxina en un individuo. El método comprende: detectar un genotipo en el individuo correspondiente a una región intergénica o intragénica de un gen seleccionado del grupo que consiste en KCNS3, THSD7A, FAM46A, LOC389970, HLA-G y TTC29, y comparar el genotipo detectado con genotipos identificados previamente asociados a una respuesta conocida a la rostafuroxina, los genotipos identificados previamente comprenden al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs2345088, rs16877182, rs16893522, rs2461911, rs5013093 y rs12513375.

Los términos "detectar" o "detección" y "detectable" tal como se usan en la presente memoria indican la determinación de la existencia, la presencia o el hecho de un compuesto, una secuencia o genotipo, en una porción de espacio limitada, que incluye, aunque sin limitación, una muestra de tejido, una mezcla de reacción, un complejo molecular y un sustrato. Una detección es "cuantitativa" cuando se refiere, está relacionada o implica la medida de la cantidad del compuesto (también denominado cuantificación), que incluye, aunque sin limitación, cualquier análisis diseñado para determinar las cantidades o las proporciones del compuesto. Una detección es "cualitativa" cuando se refiere, está relacionada o implica la identificación de una cualidad o tipo de compuesto en términos de abundancia relativa respecto a otra diana o señal, que no se cuantifica.

La detección de un genotipo se puede llevar a cabo según varias técnicas identificables por un especialista. En general, los métodos para un análisis de SNP sencillo son el análisis de PCR-RFLP, el secuenciamiento de ADN, en ensayo Taqman, cinética de PCR. Uno de estos métodos, el ensayo Taqman (ensayo por demanda y sonda MGB a medida y diseño de cebador de ABI) se usó en el presente informe para genotipar SNPs de CAND1 (Ejemplo 3) y los genes ADD1, ADD2, HSD18, HSD19, LSS2, MDR2, WNK (Ejemplo 4).

El ensayo para el análisis de SNP múltiples utiliza varias plataformas comerciales y Gene-Chip disponibles o a medida con un número variable de genes (de cientos a millones) para cada chip. En la presente descripción, se usó el chip HumanHap 1M Duo, el Chip genotyping Beads y la Tecnología Illumina Infinium II para genotipar los SNPs en el Ejemplo 4 (rs10502933, rs2131127, rs4309483, rs4739037) y los Ejemplos 5 y 6.

En el método, si el genotipo detectado en el individuo es el mismo genotipo asociado a la respuesta a rostafuroxina, la respuesta del individuo a la rostafuroxina se predice que es la respuesta conocida. El término "respuesta" tal como se usa en la presente memoria, en referencia a la rostafuroxina, indica cualquier hecho o cualquier acción o cambio de la condición del individuo que estén asociados a la administración de rostafuroxina al individuo. Los ejemplos de respuestas a la rostafuroxina en un individuo comprenden la caída de la tensión sanguínea clínicamente relevante. En particular, una caída de la tensión sanguínea significativamente mayor que la producida por el placebo y específicamente al menos igual al 10% del valor de tensión sanguínea antes del tratamiento, o capaz de llevar los valores de tensión sanguínea iguales o superiores a 140 mmHg para la tensión sistólica o a 90 mmHg para la tensión sanguínea diastólica. En algunas realizaciones, el método puede comprender además la detección, p.ej. en el ADN aislado del individuo, de un genotipo del individuo correspondiente a una región intergénica o intragénica de un gen seleccionado del grupo que consiste en ADD1, ADD2, ADD3, CYP11A1, HSD3B1, LSS, ABCB1/MDR1, SLCO4C; y comparar el genotipo detectado con genotipos identificados previamente asociados a una respuesta conocida a la Rostafuroxina, comprendiendo los genotipos identificados previamente al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs4961, rs4984, rs3731566, rs914247, rs1045642 y/o una variación genética en el desequilibrio de enlace con los mismos. En algunas realizaciones, el método puede comprender además la detección de un genotipo en el individuo correspondiente a una región intragénica o intergénica de un gen seleccionado del grupo que consiste en ACTN1, ADRA1A, AGTR1, AQP2, ATP1A3, CLCNKA, CLCNKB, FXYD2, FXYD6, FYN, NEDD4L, NKAIN3, PKD1, PKD2, SCNN1B, SGK1, SLC12A1, SLC8A1, TJP1, UMOD y WNK1; y comparar el genotipo detectado con genotipos identificados previamente asociados con una respuesta conocida a

- 5 Rostafuroxina, comprendiendo los genotipos identificados previamente al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs242093, rs1996396, rs10503806, rs13251780, rs17430706, rs10102024, rs526302, rs544104, rs3102087, rs5183, rs3772627, rs2276736, rs2131127, rs3741559, rs2217342, rs10927888, rs6604909, rs945403, rs7117314, rs10790212, rs11216598, rs910682, rs13218316, rs4309483, rs13280307, rs4739037, rs17596774, rs2728108, rs17786456, rs7696304, rs2725222, rs17199565, rs2758152, rs1057293, rs16960712, rs759359, rs404214, rs1005213, rs17025453, rs2110923, rs1428571, rs435404, rs12908787, rs11647727, rs880054 y rs11064584, y/o de una variación en el desequilibrio de enlace con los mismos. En algunas realizaciones, el método puede comprender además la detección de un genotipo en el individuo correspondiente a una región intergénica o intragénica de un gen seleccionado del grupo que consiste en ARL5A, ATP2A3, COX10, DPH5, FAIM3, FAM46A, HCG9, HLA-A, HLA-F, HLA-G, KCNS3, LOC131691, LOC389174, LOC389970, LOC642727, LOC644192, LOC649458, LOC728360, LOC728316, PIGR, RCADH5, RP3-377H14.5, SH3PXD2A, SLC30A7, THSD7A, TMEM200A, TRIM31, TTC29 y VCAM1; y comparar el genotipo detectado con genotipos identificados previamente asociados a una respuesta conocida a la Rostafuroxina, comprendiendo los genotipos identificados previamente al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs12996186, rs9893372, rs7216331, rs7521668, rs188334, rs4998662, rs16893522, rs6457110, rs3893464, rs2517718, rs1362126, rs5013093, rs2345088, rs6718282, rs721207, rs2555500, rs2461911, rs8179654, rs1901139, rs2427832, rs9361863, rs1998394, ga001619, rs2275531, rs748140, rs4710592, rs2743951, rs10159569, rs3087816, rs10493940, rs16877182, rs2326912, rs1110446, rs12513375 y rs17414954, y/o de una variación genética en el desequilibrio de enlace con los mismos.
- 10 En algunas realizaciones, el método para predecir una respuesta a la rostafuroxina descrito en la presente memoria puede llevarse a cabo mediante un sistema que comprende un primer componente para genotipado que se aplica solo una vez para la clasificación de pacientes entre los que responden y los que no, y una composición que comprende rostafuroxina y un vehículo farmacéuticamente aceptable en dosis que oscilan entre 50-500 y al día.
- 15 En algunas realizaciones, un sistema para predecir una respuesta de un individuo a la rostafuroxina puede comprender una sonda para al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs2345088, rs16877182, rs16893522, rs2461911, rs5013093 y rs12513375, y una tabla de comprobación que asocia los resultados de la hibridación de sondas y los genotipos identificados previamente.
- 20 En algunas de dichas realizaciones, la sonda comprende al menos un polinucleótido aislado seleccionado del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 6, la SEQ ID NO: 8, la SEQ ID NO: 10 y la SEQ ID NO: 12 ó un fragmento de las mismas, siendo el fragmento capaz de hibridarse específicamente con una secuencia complementaria a la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 6, la SEQ ID NO: 8, la SEQ ID NO: 10 ó la SEQ ID NO: 12.
- 25 En dichas realizaciones, el sistema puede comprender además una sonda para al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs4961, rs4984, rs10923835, rs947130, rs914247, rs1045642, rs880054, rs10502933, rs2131127, rs4309483 y rs4739037.
- 30 En particular, la sonda puede comprender al menos un polinucleótido aislado seleccionado del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 26, la SEQ ID NO: 28, la SEQ ID NO: 30, la SEQ ID NO: 32, la SEQ ID NO: 34, la SEQ ID NO: 36, la SEQ ID NO: 38, la SEQ ID NO: 40, la SEQ ID NO: 42, la SEQ ID NO: 44 y la SEQ ID NO: 46 ó un fragmento de las mismas, fragmento que sea capaz de hibridarse específicamente con una secuencia complementaria a la SEQ ID NO: 26, la SEQ ID NO: 28, la SEQ ID NO: 30, la SEQ ID NO: 32, la SEQ ID NO: 34, la SEQ ID NO: 36, la SEQ ID NO: 38, la SEQ ID NO: 40, la SEQ ID NO: 42, la SEQ ID NO: 44 ó la SEQ ID NO: 46. En algunas realizaciones, las sondas pueden tener una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 35 a la SEQ ID NO: 58.
- 35 En varias realizaciones el sistema puede comprender tubos para la toma de muestras de sangre, tampones para la extracción de ADN genómico, la amplificación de ADN (p.ej., cebadores, tampón, y/o enzimas dNTP) y componentes adicionales identificables por un especialista.
- 40 En varias realizaciones, se pueden usar varios procedimientos para el análisis de SNP individual que comprenden: a) Genotipado de SNP mediante PCR en tiempo real con sondas MGB específicas de alelo usando un ensayo de SNP Pre-Diseñado o un ensayo de Genotipado de SNP de ABI y un sistema de PCR en tiempo real para el análisis de datos; b) PCR específica de alelo de SNP con cebadores de transferencia de energía universales (tecnología Amplifluor) y sistema de PCR en tiempo real para el análisis de datos; c) Análisis PCR-RFLP y detección con gel de agarosa; d) PCR cinética; y e) secuenciamiento directo. Los procedimientos adicionales que son adecuados para llevar a cabo el análisis de SNP individuales son identificables por un especialista y no se discutirán con mayor detalle.
- 45 En varias realizaciones los sistemas que se pueden usar pueden comprender servicios a medida de gen-chip (micro-sistemas) de ILLUMINA, AFFIMETRIX o ABI u otras compañías especializadas. Para nuestro propósito, el número de SNPs a incluir en un gen-chip individual podría ser relativamente bajo (20-30). Los principales componentes para montar un gen-chip específico se basan en cinco procesos principales: purificación de ADN, amplificación mediante PCR de ADN purificado con un mix de cebadores específicos; fragmentación y etiquetado de los productos

amplificados; hibridación de los productos amplificados con el micro-sistema y tinción de los productos ligados, escaneo y análisis del micro-sistema.

5 En algunas realizaciones, los efectos de las variaciones genéticas sobre la actividad de la rostafuroxina forman la base para un método de identificación de un individuo con respuesta mejorada a la rostafuroxina. El método comprende la detección de un polimorfismo de nucleótido individual (SNP) en una cualquiera de las secuencias de nucleótidos de la SEQ ID NO 1, la SEQ ID NO 3, la SEQ ID NO 5, la SEQ ID NO 7, la SEQ ID NO 9 y la SEQ ID NO 11, en regiones intergénicas o intragénicas de los individuos, donde la presencia de los SNPs de núcleo se correlaciona con una respuesta mejorada a la rostafuroxina en dicho individuo. En varias realizaciones, SNPs relevantes adicionales descritos en la presente memoria también pueden detectarse en el método para identificar un individuo con una respuesta mejorada a la rostafuroxina.

10 En algunas realizaciones, los efectos de las variaciones genéticas sobre la actividad de la rostafuroxina forman la base de un método para mejorar una respuesta terapéutica a la rostafuroxina en un individuo con una afección cardiovascular. El método comprende la administración de rostafuroxina a dicho individuo, donde se ha determinado que dicho individuo es un portador de al menos uno de los SNPs de núcleo y/o de una variación genética en el desequilibrio de enlace con los mismos.

15 En algunas realizaciones, los efectos de las variaciones genéticas sobre la actividad de la rostafuroxina forman la base de un método para tratar a un individuo con rostafuroxina. El método comprende: obtener información que indica la presencia de los SNPs de núcleo y opcionalmente sobre los SNPs adicionales que afectan a la respuesta a la rostafuroxina en un individuo, y administrar la rostafuroxina para el individuo que tiene un genotipo asociado con la respuesta mejorada en una dosis que oscila entre 0,005 mg a 50 mg, preferiblemente entre 0,01 mg a 15 mg, lo más preferiblemente entre 0,05 mg y 5 mg.

20 En algunas realizaciones, los efectos de las variaciones genéticas sobre la actividad de la rostafuroxina forman la base de un método para tratar a un individuo con una afección cardiovascular. El método comprende: administrar o prescribir al paciente una cantidad efectiva de rostafuroxina, donde el paciente es un portador de al menos un SNP de núcleo y/o una variación genética en el desequilibrio de enlace con el mismo.

25 En algunas realizaciones, la afección cardiovascular es hipertensión y el método para tratar a un individuo se puede llevar a cabo mediante

a) obtener una muestra de ácido nucleico de un individuo que padece de hipertensión;

30 b) determinar la presencia en dicha muestra de ácido nucleico de uno o más de los polimorfismos seleccionados de los grupos que consisten en: los SNPs de núcleo descritos en la presente memoria;

c) administrar una cantidad farmacéuticamente activa de rostafuroxina a los pacientes que han demostrado poseer al menos un polimorfismo seleccionado de los grupos que consisten en los SNPs de núcleo descritos en la presente memoria.

35 En los métodos para tratar individuos descritos en la presente memoria, la rostafuroxina se administra típicamente en forma de composición farmacéutica. Dichas composiciones pueden prepararse de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica y comprenden al menos un compuesto activo y un vehículo. El término "vehículo" tal como se usa en la presente memoria indica cualquiera de una serie de medios que actúan normalmente como disolventes, portadores, aglomerantes, diluyentes o excipientes para un compuesto de rostafuroxina incluido en la composición como ingrediente activo. Los expertos en la técnica conocen una amplia diversidad de dichos disolventes vehículos, diluyentes o compuestos excipientes adecuados para formular una composición farmacéutica.

40 La rostafuroxina, junto con un adyuvante, vehículo, diluyente o excipiente empleado convencionalmente, se puede disponer en la forma de composiciones farmacéuticas y dosis unitarias de las mismas, y en dicha forma se puede emplear como sólido, tal como en comprimidos o cápsulas rellenas, o como líquido, tal como en disoluciones, suspensiones, emulsiones, elixires o cápsulas rellenas con el mismo, todo para uso oral, o en la forma de disoluciones inyectables esterilizadas para uso parenteral (que incluye uso subcutáneo). Dichas composiciones farmacéuticas y dosis de forma unitaria de las mismas pueden comprender ingredientes en proporciones convencionales, con o sin compuestos o principios activos adicionales, dichas formas de dosis unitarias pueden contener cualquier cantidad efectiva adecuada del ingrediente activo conmensurable con el rango de dosis diaria pretendido.

45 En algunas realizaciones se administra rostafuroxina en una "cantidad terapéuticamente efectiva". La cantidad del compuesto que realmente se va a administrar será determinada habitualmente por un médico, a la luz de las circunstancias pertinentes, que incluyen la afección que se va a tratar, la ruta de administración elegida, la combinación del fármaco, la edad, el peso corporal y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares. Generalmente, una dosis efectiva va entre 0,005 mg y 50 mg, preferiblemente entre 0,01 mg y 15 mg, lo más preferiblemente entre 0,05 mg y 5 mg en la forma de administración individual al día.

55

Las composiciones se pueden administrar individualmente a un paciente, o pueden administrarse en combinación con otros agentes, fármacos u hormonas. Las dosis efectivas de la composición que se va a administrar a un paciente oscilan entre 0,05 mg y 5 mg/día. Dependiendo de la ruta pretendida para la administración, la rostauroxina se formula preferiblemente como composiciones parenterales, tópicas u orales, más preferiblemente como una formulación oral. Las composiciones para administración oral pueden adoptar la forma de disoluciones o suspensiones líquidas en bruto, o polvos en bruto. Más comúnmente, sin embargo, las composiciones se presentan en formas de dosis unitarias para facilitar una dosificación precisa. La expresión "formas de dosis unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado. Las formas de dosis unitarias típicas incluyen ampollas o jeringas rellenas pre-medidas para las composiciones líquidas, o píldoras, comprimidos, cápsulas o similares, en el caso de composiciones sólidas. En dichas composiciones, el compuesto de la invención habitualmente es un componente minoritario (de entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 50% en peso, o preferiblemente entre aproximadamente 1 y aproximadamente 40% en peso) siendo el resto diversos vehículos o portadores y aditivos de procesado útiles para conformar la forma de dosis deseada.

El tratamiento de dosis puede ser un calendario de dosis única o un calendario de dosis múltiples.

Las formas líquidas adecuadas para administración oral pueden incluir un vehículo acuoso o no acuoso adecuado con tampones, agentes de suspensión o dispensión, colorantes, aromatizantes y similares.

Las formas sólidas pueden incluir, por ejemplo, cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de naturaleza similar: un aglomerante tal como celulosa microcristalina, goma arábica, goma tragacanto, gelatina o polivinil-pirrolidona; un excipiente, tal como almidón o lactosa; un agente disgregante, tal como ácido algínico, primogel, o almidón de patata o de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio, talco, polietileno glicol o sílice; un deslizante como el dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo, o aroma de naranja. Los comprimidos pueden estar revestidos según métodos muy conocidos por los expertos en la técnica de la práctica farmacéutica.

Las composiciones parenterales se basan habitualmente en salino esterilizado inyectable o salino tamponado con fosfato esterilizado inyectable, u otros vehículos inyectables conocidos en la técnica. Tal como se ha mencionado anteriormente, los compuestos de fórmula I de dichas composiciones son generalmente componentes minoritarios, oscilando frecuentemente entre 0,05 y 10% en peso siendo el resto el vehículo inyectable y otros similares.

La rostauroxina también puede administrarse en formas de liberación sostenida o partir de sistemas de administración de fármacos de liberación sostenida. También se puede encontrar una descripción de materiales de liberación sostenida representativos en los materiales incorporados en "Remington's Pharmaceutical Sciences".

Los componentes descritos anteriormente para composiciones parenterales o administradas oralmente son meramente representativos. Otros materiales, así como técnicas de procesado y similares, se presentan en la Parte 5 de "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20ª Edición, 2000, Marck Publishing Company, Easton, Pennsylvania, que se incorpora en su totalidad a la presente memoria a modo de referencia.

En algunas realizaciones se describe una molécula de ácido nucleico aislada que comprende al menos 100 nucleótidos contiguos, donde uno de los nucleótidos es un polimorfismo de nucleótido único (SNP) seleccionado de una cualquiera de las secuencias de nucleótido SEQ ID NO 1, SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 5, SEQ ID NO 7, SEQ ID NO 9 y SEQ ID NO 11, o un complemento de las mismas.

En algunas realizaciones se describen los efectos de las variaciones genéticas sobre la actividad de la rostauroxina forman la base de un método para identificar un agente útil en el tratamiento terapéutico o profiláctico de una afección cardiovascular.

El método comprende proporcionar un agente candidato; administrar el agente candidato a un individuo que porte al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs2345088, rs16877182, rs16893522, rs2461911, rs5013093, rs12513375 o un polimorfismo en desequilibrio de enlace con los mismos, y detectar la respuesta del individuo a dicho agente candidato.

En varias realizaciones, el agente candidato se administra a un individuo que también porta uno o más SNPs de CAND 1, CAND 2 y GWS indicados en la presente memoria.

En varias realizaciones, el método se puede llevar a cabo seleccionando pacientes hipertensivos y realizando mediciones y detecciones de acuerdo a los procedimientos usados para evaluar el tratamiento con rostauroxina en los individuos. En algunas de dichas realizaciones, la evaluación del tratamiento con rostauroxina en un individuo puede llevarse a cabo obteniendo información de secuencia relativa a al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs2345088, rs16877182, rs16893522, rs2461911, rs5013093 y rs12513375, donde la información es predictiva de la eficacia de la rostauroxina en el individuo.

5 En algunas de dichas realizaciones, la información de secuencia comprende al menos una de las secuencias de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 11, y se puede predecir una respuesta mejorada a la rostafuroxina con al menos una información de secuencia detectada correspondiente seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 12.

10 En algunas de dichas realizaciones, se puede predecir una respuesta mejorada a la rostafuroxina con al menos una información de secuencia alélica detectada correspondiente seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 13 y 14 para la SEQ ID NO: 1, las SEQ ID NOs: 15 y 16 para la SEQ ID NO: 3, las SEQ ID NOs: 17 y 18 para la SEQ ID NO: 5, las SEQ ID NOs: 19 y 20 para la SEQ ID NO: 7, las SEQ ID NOs: 21 y 22 para la SEQ ID NO: 9, y las SEQ ID NOs: 23 y 24 para la SEQ ID NO: 11.

15 En algunas de estas realizaciones, el método de evaluación puede comprender adicionalmente la obtención de la información de secuencia correspondiente a al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs4961, rs4984, rs10923835, rs947130, rs914247, rs1045642, rs880054, rs10502933, rs2131127, rs4309483 y rs4739037. En particular, la información de secuencia puede comprender al menos una de las secuencias SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43 y SEQ ID NO: 45. Para dichas informaciones de secuencia, se puede predecir una respuesta mejorada a la Rostafuroxina con al menos una información de secuencia detectada correspondiente seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 26, la SEQ ID NO: 28, la SEQ ID NO: 30, la SEQ ID NO: 32, la SEQ ID NO: 34, la SEQ ID NO: 36, la SEQ ID NO: 38, la SEQ ID NO: 40, la SEQ ID NO: 42, la SEQ ID NO: 44 y la SEQ ID NO: 46.

20

25 En algunas de dichas realizaciones, se puede predecir una respuesta mejorada a la rostafuroxina con al menos una información de secuencia alélica detectada correspondiente seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 47 y 48 para la SEQ ID NO: 25, las SEQ ID NOs: 49 y 50 para la SEQ ID NO: 27, las SEQ ID NOs: 51 y 52 para las SEQ ID NO: 29, las SEQ ID NOs: 53 y 54 para las SEQ ID NO: 31, las SEQ ID NOs: 55 y 56 para la SEQ ID NO: 33, las SEQ ID NOs: 57 y 58 para la SEQ ID NO: 35, las SEQ ID NOs: 59 y 60 para la SEQ ID NO: 37, las SEQ ID NOs: 61 y 62 para la SEQ ID NO: 39, las SEQ ID NOs: 63 y 64 para la SEQ ID NO: 41, las SEQ ID NOs: 65 y 66 para la SEQ ID NO: 43, y las SEQ ID NOs: 67 y 68 para la SEQ ID NO: 45.

30 En algunas realizaciones, el método para identificar un agente útil para el tratamiento terapéutico o profiláctico de una afección cardiovascular descrita en la presente memoria se puede llevar a cabo mediante un sistema que comprenda componentes adecuados para detectar e identificar las variaciones genéticas relevantes tal como se describe en la presente memoria.

35 En algunas realizaciones, se describe un sistema para detectar un polimorfismo de nucleótido único (SNP) en una región intergénica o intragénica de un gen seleccionado del grupo que consiste en KCNS3, THSD7A, FAM46A, LOC389970, HLA-G y TTC29. El sistema comprende un polinucleótido aislado que se hibrida específicamente con una molécula de ácido nucleico que contiene un polimorfismo de nucleótido único (SNP) en una cualquiera de las secuencias de nucleótido SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, y al menos uno de un tampón para la molécula de ácido nucleico (tal como tampón de hibridación y/o de polimerización), y una enzima para ser usada en combinación con la secuencia de ácido nucleico en la detección del SNP. En particular, la enzima puede ser una polimerasa capaz de catalizar una reacción en cadena de polimerasa para una o más de las regiones intergénicas y/o intragénicas que se están investigando.

40

45 El término hibridación tal como se usa en la presente memoria indica el proceso de estabilización de una interacción no covalente específica de secuencia entre dos o más cadenas complementarias de ácidos nucleicos en un único híbrido, que en el caso de dos cadenas se denomina dúplex. Una hibridación específica es una hibridación que da como resultado una interacción secuencia-secuencia específica. Los términos "específico", "específicamente" o "especificidad" tal como se usan en la presente memoria en relación a la unión de una molécula con otra se refieren al reconocimiento, el contacto y la formación de un complejo estable entre las moléculas, junto con un reconocimiento, contacto y formación de complejo estable sustancialmente menores o nulos entre cada una de las moléculas y otras moléculas. El término "específico" tal como se usa en la presente memoria en referencia a una secuencia de un polinucleótido se refiere a la asociación única de la secuencia con un polinucleótido individual que es la secuencia complementaria.

50

55 La expresión "reacción en cadena de polimerasa" tal como se usa en la presente memoria indica cualquier técnica adecuada para amplificar un único trozo, o unos pocos, de ácido nucleico en varios órdenes de magnitud, generando de miles a millones de copias de una secuencia de ADN particular. El método se basa en ciclos térmicos, que consisten en ciclos de calefacción y enfriamiento repetidos de la reacción para la fusión de ácido nucleico y replicación enzimática del ácido nucleico.

En algunas realizaciones, el sistema también puede comprender un polinucleótido aislado que se hibride específicamente con una molécula de ácido nucleico que contenga un polimorfismo de nucleótido único (SNP) en una cualquiera de las secuencias SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43 y SEQ ID NO: 45. Los sistemas

aquí descritos pueden proporcionarse en forma de kits de partes. En un kit de partes, las sondas, las composiciones farmacéuticas y otros componentes, y un sustrato, se incluyen de forma independiente en el kit. En particular, las sondas se pueden incluir en una o más composiciones, y cada sonda puede estar incluida en una composición junto con un vehículo adecuado o un agente auxiliar adecuado.

- 5 En algunas realizaciones, se pueden proporcionar los tampones, la enzima y un recipiente adecuado como componentes adicionales del kit. Otros componentes adicionales pueden incluir etiquetas (una molécula capaz de ser detectada, tal como isótopos radioactivos, fluoróforos, colorantes quimioluminiscentes, cromóforos, enzimas, sustratos enzimáticos, cofactores de enzimas, inhibidores de enzimas, colorantes, iones metálicos, nanopartículas, soles metálicos, ligandos (tal como biotina, avidina, estreptavidina o haptenos) y similares, chip microfluidico, patrones de referencia, y componentes adicionales identificables por un especialista a partir del contenido de la presente descripción. En particular, los componentes del kit pueden proporcionarse con instrucciones adecuadas y otros reactivos necesarios, a fin de llevar a la práctica los métodos descritos en la presente memoria. Normalmente, el kit contendrá las composiciones en recipientes separados. Normalmente, en el kit se incluirán las instrucciones, por ejemplo instrucciones escritas o de audio, en papel o en soporte electrónico tal como cintas o CD-ROMs, para llevar a cabo el ensayo. El kit también puede contener, dependiendo del método concreto usado, otros reactivos y materiales empaquetados (es decir, tampones de lavado y similares).

Otros detalles adicionales relativos a la identificación del vehículo adecuado o de los agentes auxiliares adecuados para las composiciones, y para la fabricación y embalado general del kit, pueden ser identificados por el especialista en la técnica tras leer el contenido de la presente descripción.

- 20 En la siguiente sección la presente descripción se ilustrará a través de algunos ejemplos, que no pretenden ser limitativos del alcance de la descripción.

EJEMPLOS

- Se llevó a cabo un estudio farmacogenómico para determinar el efecto de las variaciones genéticas sobre la respuesta de un individuo a la rostauroxina. La muestra para el estudio farmacogenómico consistió en 342 individuos de los cuales se determinó el genotipo con el sistema Human1M de Illumina usando el chip "Human1M Duo CHIP genotyping Bead Chip" según el procedimiento descrito en [Ref. 10, 11, 12]. De todos los individuos, a 169 se les administró el tratamiento con placebo y a 173 el fármaco activo (rostauroxina) en el primer periodo (5 semanas) con los datos demográficos de la [Ref. 13]. En particular, los pacientes fueron distribuidos aleatoriamente en una de las siguientes dosis orales de rostauroxina: 0,05, 0,15, 0,5, 1,5 ó 5 mg/día durante 5 semanas. Cada dosis tuvo que ser comparada con un placebo en un diseño cruzado. Puesto que estudios previos demostraron que un mes de eliminación puede ser insuficiente [Ref. 14-30], los 193 pacientes que no recibieron un tratamiento previo (NPT) fueron analizados separadamente de los 149 tratados previamente.

- Para la muestra anterior de individuos se llevó a cabo un análisis de asociación genética para asociar el fenotipo de los individuos evaluados con los SNPs detectados en los individuos. El fenotipo de interés seleccionado fue la respuesta de la tensión sanguínea. Los SNPs seleccionados para la detección fueron los SNPs 1111170 en cromosomas autosomales del individuo.

El análisis genético se llevó a cabo según un diseño de asociación genética cuantitativa donde el fenotipo de interés es una variable cuantitativa (QT), y las variables (factores) que afectan a la distribución del fenotipo de interés son SNPs, terapia (placebo, rostauroxina) y la interacción SNP*terapia.

- En particular, el fenotipo cuantitativo seleccionado para los análisis estadísticos fue la diferencia en mmHg entre la Tensión Sanguínea Sistólica (SBP, del inglés "Systolic Blood Pressure") en consulta al final del primer periodo de tratamiento (SBP_5) y la Tensión Sanguínea Sistólica de línea base tras un mes de seguimiento (SBP_0), y en la presente memoria se identifica también como DSBP5_0. El fenotipo QT seleccionado y otros factores que afectan a la distribución del fenotipo de interés fueron analizados a continuación según el siguiente ensayo de interacción de rasgos cuantitativo,

$$\text{Fenotipo} = \text{SNP} + \text{terapia} + \text{SNP} * \text{terapia}$$

tal como se ilustra a continuación más detalladamente.

Para realizar la asociación genética se llevó a cabo un análisis estadístico descriptivo y un análisis estadístico inferencial.

- 50 El análisis estadístico descriptivo se llevó a cabo para resumir y describir en primer lugar los parámetros principales de los datos y realizar controles de calidad.

La **Tabla 1** resume los procedimientos, parámetros y umbrales estadísticos seleccionados por los Solicitantes para llevar a cabo el análisis, así como los resultados obtenidos a partir de los mismos.

Tabla 1: Análisis Estadístico Descriptivo

Procedimiento	Análisis/umbrales	Resultados
Tasa de convocatoria	Número de SNPs convocados por muestra	Tasa de convocatoria media de 0.996651 para los 193 sujetos de NPT en SNPs 1M
Fallos individuales	Número de individuos con tasa de fallo por SNP	Individuos que fallan: 0 de 193 individuos fueron apartados por un bajo genotipado (MIND>0,1)
	Umbral de inclusión ≤ 10%	
	Número de SNPs con tasa de fallo por individuo	Fallo localizado (SNP): 6071 SNPs fallaron en el ensayo de fallo con una tasa de genotipado <0,9 y no se incluyeron en el análisis
	Umbral de inclusión ≤ 10%	
Frecuencia de alelo menor	Frecuencia del alelo menor en una localización específica observada en una población particular - umbral MAF de 0,05	MAF<0,05 para 258148 SNPs - excluidos del análisis
Ensayo de equilibrio de Hardy Weinberg (HWE)	HWE evaluado para cada SNP de toda la población usando el ensayo exacto, descrito e implementado por Wigginton et al. [Ref. 31]	2510 marcadores de SNPs fallaron en el ensayo HWE ($p \leq 0,001$)
		SNPs no eliminados en vista de la composición de muestra (solo casos) - alejamiento de HWE podría ser indicativo de que el fenotipo de asociación-SNPs es realmente causal.
Estratificación	Análisis de Componente Principal (PCA) para reducir las dimensiones de 1M SNPs que permiten la agrupación de individuos usando el eje superior de la variación	Es visible un agrupamiento heterogéneo ligero de individuos distribuidos alrededor del cero (véase la Figura 3)
	Factor de inflado genómico, λ calculado como se describe en Devlin et al. [Ref. 32]	El factor de inflado genómico, λ presentado es 1,005, lo que indica la ausencia de inflado debido a la estratificación, si se compara con el lambda (1,757) del ejemplo de población estratificada (población compuesta por europeos, africanos y otros, o por más de una categoría racial)

Los resultados del análisis descriptivo genético llevado a cabo también se muestran en la **Tabla 2** y en las **Figuras 1, 2 y 3** con más detalle.

5 **Tabla 2: Resultados del Análisis Estadístico Descriptivo**

Grupo de pacientes	SBP Basal \pm SD	Caída media de la tensión sanguínea, mmHg	Error estándar	[Interv. de conf. del 95%]
Total (193 IDs)	150,3+/-7,5	-6,73057	0,8542748	-8,415539 - 5,045601
Placebo (94 IDs)	150,0+/-7,5	-7,67766	1,174851	-10,01068 - 5,344638
Terapia (99 IDs)	150,6+/- 7,5	-5,831313	1,235603	-8,283328 - 3,379299

En particular, en la **Tabla 2** se presenta la estadística descriptiva de DSBP5_0 correspondiente a toda la muestra y a los pacientes tratados con placebo y rosfuroxina. El nivel basal de SBP relativamente modesto puede explicarse por el reclutamiento de pacientes con hipertensión "suave" (rango de SBP 140 - 179 mmHg), requerido por la inclusión de una rama de placebo. Una ilustración gráfica de los resultados incluidos en la **Tabla 2** se muestra en la **Figura 1** que muestra la distribución de DSBP5_0 en Total, Terapia y Placebo.

Para el grupo NPT, la tasa de genotipado total de los individuos restantes fue del 99,67%; 6071 SNP fallaron el test de fallo (tasa de convocatoria < 90%) y 258148 SNPs presentaron un MAF < 0,05. Tras el recorte de frecuencia y genotipado quedaron 848340 SNPs que seguían pasando el filtro usando el umbral MAF de 0,05 (datos no mostrados).

En vista de todo lo anterior, los Solicitantes seleccionaron un valor de corte para el QT DSBP5_0 de $\leq 11,7$ mmHg, relativo al tercil más bajo de la distribución de DSBP5_0 (-11,7 mmHg, es decir, 33 de 99 pacientes) para generar una variable de fenotipo binomial, la respuesta-no respuesta a la rosfuroxina. La selección del umbral de DSBP5_0 se llevó a cabo para proporcionar un parámetro que es indicativo de la relevancia tanto estadística como clínica de los resultados.

Una representación gráfica de los resultados del análisis estadístico descriptivo que muestra el umbral QT seleccionado se muestra en la **Figura 2**.

La **Figura 3** ilustra la relación genética entre los individuos evaluados detectada usando el eje superior de la variación, que muestra un agrupamiento heterogéneo ligero de individuos distribuidos alrededor del cero. La determinación (y la corrección) de la estratificación de la población es relevante para evitar las asociaciones significativas de falso positivo y falso negativo debidas a la presencia de diferencias genealógicas sistemáticas.

A continuación se realizó un análisis estadístico inferencial usando el QT calculado para detectar SNPs que están asociados significativamente a una respuesta diferente al tratamiento (placebo o fármaco activo).

Tabla 3: Análisis Estadístico Inferencial

Procedimiento	Análisis	Umbral seleccionado
Univariable	Análisis de punto sencillo se SNPs considerados uno a uno, determinación realizada en el test de interacción de rasgo cuantitativo (G*E, Gene*Environment) tal como está implementado en gPLINK [Ref. 33]	Asociación de <i>valor P</i> de SNP*terapia < 10^{-4}
	Valor P de parámetro relevante de la asociación SNP*terapia	
Interacción	Interacciones en los genes evaluados analizadas para evaluar la dependencia de las variaciones de genotipo QT en el efecto conjunto de los SNPs	Identificación únicamente de SNPs (y sus genotipos relativos) que presentan la mayor diferencia DSBP5_0 entre terapia y placebo, eligiendo un valor de corte de diferencia de SBP5_0 > 15mmHg
	Determinación realizada usando un modelo de regresión lineal sencilla, tal como está implementado en StataSE 9.2,	
	Parámetro: diferencia de SBP5_0 entre terapia y placebo	

La **Tabla 3** resume los procedimientos estadísticos, los umbrales y los análisis seleccionados por los Solicitantes en vista de los resultados del procedimiento estadístico descriptivo.

En particular, en referencia al análisis univariable, se llevó a cabo un análisis de punto único en el que los SNPs son considerados uno a uno. El test de interacción de rasgo cuantitativo (G*E, Gene*Environment) llevado a cabo evalúa la asociación como

$$\text{Fenotipo} = \text{SNP} + \text{terapia} + \text{SNP} * \text{terapia}$$

donde el énfasis del análisis recae en el componente de SNP*terapia, es decir, en la interacción más que en los efectos principales, ya que el efecto principal "terapia" corresponde a la evaluación de los ensayos clínicos per se, sin considerar el componente genético. El efecto principal "SNP" busca SNPs que afecten a la variación de la tensión sanguínea sin considerar la modificación inducida por la terapia. Solo el efecto de interacción (G*T) evalúa que SNPs (G=gen) afectan a la SBP en los sujetos que reciben fármaco activo o el placebo (T=terapia).

Se seleccionó un umbral de $p < 10^{-4}$ para realizar un escrutinio de las asociaciones más significativas que podrían formar una lista de los mejores SNPs. En particular, los Solicitantes seleccionaron a propósito un valor p "conservador" (frente a Falso Negativo) para descartar los resultados menos significativos [Ref. 34, 35]. Adicionalmente, todas las asociaciones positivas potenciales han sido verificadas concienzudamente con al menos dos programas estadísticos (plink y stata). Los resultados de los análisis univariable llevados a cabo según la estrategia anterior se muestran en la **Figura 4** (véase también el Ejemplo 6 mostrado más adelante).

En referencia al análisis de interacciones inferencial, se evaluaron las interacciones a lo largo de varios genes para determinar si las variaciones observadas de DSBP5_0 del fenotipo QT dependen del efecto de unión con más SNPs considerados conjuntamente.

En particular, a continuación se usó un único modelo de regresión lineal, implementado en StataSE 9.2, para evaluar el efecto de interacción (SNP1*SNP2*ter) entre un primer conjunto de SNPs (SNP1) y un segundo conjunto de SNPs (SNP2) además de los efectos marginales de SNP1 y SNP2, en rostafuroxina/placebo.

Los conjuntos de SNPs fueron establecidos teniendo en cuenta los genes en los que se detectaron los SNPs, y la implicación positiva de los genes en mecanismos identificados como responsables del fenotipo elegido (variación de la tensión sanguínea).

Dichos SNPs fueron seleccionados adicionalmente para identificar los genotipos con la mayor respuesta a la rostafuroxina en comparación con el placebo, llevando a cabo un análisis estadístico ANOVA con el software STATA en placebo y rostafuroxina con la DSBP5_0 como variable dependiente y los SNPs candidatos significativos como variables independientes. En particular, para seleccionar los genotipos de las interacciones entre dos SNPs con la mayor respuesta a la rostafuroxina en comparación con el placebo, los Solicitantes llevaron a cabo un análisis estadístico ANOVA en placebo y rostafuroxina con la DSBP5_0 como variable dependiente y las interacciones entre SNPs como variables independientes. Los Solicitantes presentan un ejemplo de este procedimiento en la **Figura 5**: interacción entre rs8899 y rs4678. Los Solicitantes seleccionaron la interacción entre el genotipo AA de rs8899 y el genotipo BB de rs4678 porque presenta el descenso más remarcable en el grupo de terapia y no en el grupo de placebo.

Como resultado de esta investigación, los Solicitantes seleccionaron los genotipos de interacciones de SNPs que presentan una reducción destacable de la DSBP5_0 de fenotipo QT en el grupo de rostafuroxina y no en el grupo de placebo, como en el ejemplo de rs8899 y rs4678 de la **Figura 5**.

Todos los análisis genéticos se llevaron a cabo usando el paquete de software gPLINK [Ref. 33]. El Análisis de Componente Principal (PCA) con el paquete Eigensoft (versión 2.0 para la plataforma Linux, "Department of Genetics", Harvard Medical School, Boston, EE.UU.). Se calculó el factor de inflamiento genómico λ usando el Control Genómico (GC) del paquete Eigensoft. Para completar los análisis genéticos estadísticos y para todos los análisis más allá de la estrategia genética puramente estadística, se usó el programa StataSE 9.2. El especialista en la técnica será capaz de identificar otros detalles adicionales de los análisis estadísticos tras leer la presente descripción.

Después de los análisis estadísticos descriptivo e inferencial, también se crearon perfiles de genotipo con el propósito de discriminar los que Responden (R) de los que No Responden (NR) al tratamiento activo usando el conjunto más pequeño posible de SNPs significativos. En este caso, un "perfil genético" es una combinación lineal de genotipos en SNPs individuales o en sus interacciones.

Para crear los perfiles, se consideraron diferentes genotipos para cada SNP como variable y en particular el genotipo homocigoto menos frecuente se identificó como genotipo 1 (g1), el genotipo heterocigoto se identificó como genotipo 2 (g2) y el genotipo homocigoto más frecuente se identificó como genotipo 3 (g3).

Por consiguiente, se construyeron perfiles genéticos que pudieran tener por ejemplo un g1 de un SNP1 (componente 1), un g2 de un SNP2 (componente 2) y la interacción del g1 de SNP3 con el g2 de SNP4 (componente 3) como factores. Un perfil puede tener cualquier número de componentes.

Cualquier perfil dado se codifica como 1 si al menos un componente presenta el genotipo asociado de forma significativa (p.ej., el g1 de SNP1 en el ejemplo anterior), en caso contrario el perfil se codificó como 0. A continuación todos los sujetos se clasifican como 0 ó 1, dependiendo de su ajuste al perfil, permitiendo que un perfil caracterice un subconjunto definido de pacientes.

La capacidad predictiva de los diferentes perfiles para clasificar sujetos en R o NR, es decir, para descubrir los perfiles genotípicos que discriminan R de NR para la rostafuroxina, fue evaluada a continuación usando una regresión logística llevada a cabo mediante procedimientos tales como los descritos en [Ref. 36, 37].

5 El parámetro seleccionado por los Solicitantes para evaluar los perfiles genéticos fue la Probabilidad (OR, del inglés "Odds Ratio") que es uno de los parámetros considerados informativos sobre el resultado de los tests farmacogenómicos según las directrices de la FDA [Ref. 38]. En particular, según las directrices de la FDA, la OR es un parámetro clínicamente relevante para evaluar el grado de discriminación según los diferentes perfiles genéticos entre pacientes que responden al fármaco en lugar de al placebo.

10 El valor de OR indica la relación de probabilidad en los pacientes positivos en el test (que responden) respecto a la probabilidad en los pacientes negativos en el test (que no responden), según el perfil genético definido. La relación de Probabilidad combina los Valores Predictivos Positivos (PPV) y Negativos (NPV) como se indica a continuación: $PPV \times NPV / [(100-PNV) \times (100-NPV)]$. Los valores Predictivos (tanto positivos como negativos) representan la proporción de pacientes con un resultado de test positivo o negativo que presentan la afección clínica de interés (es decir, respuesta al fármaco con un perfil genético definido). En otras palabras, la OR es la probabilidad de ser un sujeto que responde (PPV) o que no responde (NPV) al test. Una relación de Probabilidad de 1 indica que el test es no informativo, por tanto cuanto mayor es la relación de Probabilidad mayor es el poder predictivo del test.

En base a los resultados del anterior estudio, los Solicitantes identificaron varios SNPs y perfiles genotípicos relacionados que afectan de forma significativa al fenotipo cuantitativo seleccionado para detectar el efecto de la rostafuroxina.

20 En particular, algunos SNPs de núcleo localizados en genes no asociados previamente a mecanismos que afecten a la tensión sanguínea sorprendentemente mostraron una capacidad destacable para potenciar los efectos de la rostafuroxina, tal como se ilustra en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: los SNPs de núcleo afectan a la respuesta de los individuos a la rostafuroxina

25 Como resultado del estudio esbozado anteriormente, se identificó un grupo de SNPs como que afectan significativamente a la respuesta de los individuos a la rostafuroxina, que también se identifica en la presente memoria como SNPs de núcleo. Las principales características de los SNPs de núcleo descritos en la presente memoria se ilustran en la **Tabla 4**.

Tabla 4: SNPs de núcleo

ID de SNP	rs16877182	rs5013093	rs2461911	rs12513375	rs16893522	rs2345088
Crom	7	6	10	4	6	2
Alelo Principal	C	C	G	T	G	C
Alelo Secundario	T	T	A	G	A	T
P_GXE	2,89E-05	3,41 E-05	4,43E-05	6,91E-05	8,54E-05	9,63E-05
posición	11753617	29928565	57078480	148244380	82560511	18079898
GEN	THSD7A	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
Localización	Intrón	Intergénico	Intergénico	Intergénico	Intergénico	Intergénico
gen flanqueante más próximo (NF G)	N/A	HLA-G	LOC3899 70	TTC29	FAM46A	KCNS3
distancia entre SNP y	N/A	21 kb- Flanqueante_3'	18 kb Flanqueante_	150 kb- flanqueante	41 kb- Flanqueante_5'	102 kb Flanqueante_

ID de SNP	rs16877182	rs5013093	rs2461911	rs12513375	rs16893522	rs2345088
NFG			3'	5'		3'
nombre de proteína	Precursor de proteína 7A que contiene dominio tipo 1 de trombospondina.	Precursor de cadena alfa G de antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase I	Pseudogén	proteína 29 de repetición TPR	familia con similitud de secuencia 46, miembro A	Miembro 3 de subfamilia S de canal de puerta de voltaje de potasio

5 Los SNPs de núcleo rs2345088, rs16877182, rs16893522, rs2461911, rs5013093 y rs12513375 son polimorfismos de nucleótido único recientemente identificados, con una localización cromosómica exacta en el genoma humano, pero con una función actualmente desconocida, que han sido identificados en un Escaneo de Genoma Amplio y con análisis de asociación (GWAS) como el conjunto más pequeño de SNPs significativos asociados a la respuesta de tensión sanguínea a la rostafuroxina en el resultado del análisis estadístico descrito anteriormente.

10 En particular, dichos SNPs fueron identificados tras genotipado del genoma completo de los individuos evaluados, llevado a cabo según el Genotipado de Genoma Completo (WGG) en base a la plataforma Sentrix BeadChip [Ref. 10]. Más particularmente, se llevó a cabo el WGG usando el Ensayo "Human1M Duo CHIP - Infinium II" para interrogar a más de 1 millón de SNPs en todo el genoma completo de los pacientes, a través de una selección de localización sin restricción según el procedimiento descrito identificable por un especialista en la técnica, y que se describe, por ejemplo, en [Ref. 10, 11, 12] con mayor grado de detalle.

15 Los SNPs detectados en el resultado del genotipado fueron sometidos en primer lugar a un análisis univariable y después a un análisis adicional para seleccionar los genotipos de SNPs con la mayor respuesta a la rostafuroxina, como se ha ilustrado anteriormente.

En particular, para seleccionar los genotipos con la mayor respuesta a la rostafuroxina en comparación con el placebo, los Solicitantes llevaron a cabo un análisis estadístico ANOVA (de una dirección) en los grupos de placebo y rostafuroxina con la DSBP5_0 como variable dependiente y con los SNPs significativos como variables independientes.

20 El análisis llevado a cabo se ejemplifica en la **Figura 6**, donde se muestra un análisis para el SNP rs2461911 que se refiere a una variación de fenotipo significativa en los genotipos SNP g1, g2 y g3 mayor en el grupo de terapia ($p=0,002$) que en el grupo de placebo ($p=0,045$).

25 La variación de los valores de DSBP5_0 para los tres genotipos de SNP rs2461911 g1, g2 y g3 también se ilustra en la **Figura 7**, que muestra la representación de los valores de DSBP5_0 para los tres genotipos de SNP rs2461911 comparando los grupos de rostafuroxina y de placebo. A partir de la ilustración de la **Figura 7**, es evidente que en el genotipo 1 existe una clara reducción de la tensión sanguínea con la rostafuroxina, mientras que con placebo la tensión sanguínea aumenta ligeramente. De manera inversa, en el genotipo 3 la caída de la tensión sanguínea parece ser mayor con el placebo. Lo que es importante es la dirección de los cambios en la respuesta de la tensión sanguínea con placebo y rostafuroxina según estos genotipos, que claramente siguen tendencias opuestas. Esto puede analizarse y se puede establecer la significación estadística del modelo y de las interacciones entre la rostafuroxina y el placebo para dicho SNP particular. Un análisis estadístico apropiado proporciona la significación de la interacción (que solo es aceptada si la significación del modelo es $< 0,05$). Los valores p para la interacción se muestran en la tabla 4 como P-GXE.

35 Se aplicó una estrategia similar para analizar y seleccionar los otros SNPs de núcleo, de tal modo que al final de esta investigación los Solicitantes seleccionaron los genotipos de SNPs que presentan un descenso remarcable de la DSBP5_0 de fenotipo QT en el grupo de rostafuroxina y no en el de placebo, tal como el ejemplo rs2461911 de la **Figura 7**.

40 Un resumen de los datos relativos a la DSBP5_0 en individuos que presentan los SNPs de núcleo y tratados con rostafuroxina (Terapia) frente a los individuos que presentan los SNPs de núcleo y tratados con placebo (Placebo) se ilustra en la **Tabla 5**.

Tabla 5: Reducción de la DSBP5_0 correspondiente a SNPs de núcleo

ID de SNP	valor_p ANOVA	de	Genotipo Illumina	Genotipo relevante	DSBP5_0 Terapia	DSBP5_0 Placebo	Diferencia DSBP5_0
rs2345088	0,0002	1		TT	-30,5	3,43	33,93
rs16877182	0,0003	2		C/T	-21,67	-2,82	18,85
rs16893522	0,0048	1		AA	-22,43	4,60	27,03
rs2461911	0,0022	1		AA	-20,6	2,22	22,82
rs5013093	0,0022	1		TT	-20,49	1,60	22,09
rs12513375	0,0024	3		TT	-19,18	-3,25	15,93

En particular, los datos de la **Tabla 5** fueron obtenidos usando una regresión lineal por pasos usando la DSBP5_0 como variable dependiente y los SNPs como variables independientes para seleccionar los SNPs asociados de forma significativa a la DSBP5_0 de fenotipo QT.

Ejemplo 2: Un perfil genético que comprende SNPs de núcleo afecta a la Respuesta del individuo a la rosfuroxina

Después de la identificación de los SNPs, los Solicitantes investigaron la capacidad predictiva de los perfiles genéticos que comprenden los SNPs de núcleo del Ejemplo 1. La construcción de base racional de los perfiles genéticos se basa en la noción bien establecida de que el efecto fenotípico de un SNP dado también debe evaluarse dentro del contexto de los otros SNPs alojados en los genes que codifican para proteínas que interactúan con la proteína asociada al primer SNP (entramado genético). En este sentido, un análisis del entramado también implica el concepto de epistasia genética [Ref 39]. De hecho, los alelos de dos localizaciones pueden no presentar ningún efecto detectable cuando dichos alelos son analizados por separado, pero pueden revelarse como fenotípicamente relevantes cuando se analizan juntos, ya que co-existen en los mismos sujetos.

Los Solicitantes evaluaron si un perfil genético que comprende SNPs de núcleo solo en el grupo de terapia puede discriminar los sujetos que Responden de los que No Responden al tratamiento usando como modelo predictivo una regresión logística en la que la variable dependiente es el fenotipo dicotómico (R ó NR) y la variable independiente el perfil específico. Los solicitantes evaluaron entonces la bondad del modelo calculando los parámetros predictivos (relación de Probabilidad, PPV, NPV).

Ejemplos de datos relativos al perfil genético que incluyen todos los SNPs de núcleo del Ejemplo 1 se ilustran en la **Figura 8**. En particular, la **Figura 8** ilustra datos relativos a la relación de Probabilidad (OR) y los valores predictivos (valores-p) correspondientes a los SNPs de núcleo, que son parámetros considerados indicadores del resultado del test farmacogenómico según las directrices de la FDA [Ref.38].

En particular, el valor de OR indica la relación entre la probabilidad de los pacientes positivos en el test (que responden) y la probabilidad de los pacientes negativos en el test (que no responden) según el perfil genético definido. En particular, la relación de Probabilidad combina los Valores Predictivos Positivos (PPV) y Negativos (NPV) como se indica a continuación: $PPV \times NPV / [(100-PNV) \times (100-NPV)]$. En otras palabras, la OR es la probabilidad de ser un sujeto que responde (PPV) o que no responde (NPV) al test. Una relación de Probabilidad de 1 indica que el test es no informativo, por tanto cuanto mayor es la relación de Probabilidad mayor es el poder predictivo del test. Los valores-p (tanto positivos como negativos) representan la proporción de pacientes con un resultado de test positivo o negativo que presentan la afección clínica de interés (es decir, la respuesta al fármaco con un perfil genético definido).

El parámetro de valor-p se calcula en base a la puntuación z ("z score") e indica la significación de OR. El parámetro de puntuación z indica: $\ln(OR) / \text{Error Estándar}(\ln OR)$. La puntuación z tiene un valor negativo si la OR es menor de 1 y en ese caso el perfil no es capaz de predecir la respuesta al fármaco. Por otro lado, la puntuación z tiene un valor positivo si la $OR > 1$ y en ese caso el perfil es capaz de predecir la respuesta al fármaco: si la puntuación z es alta, la OR es más significativa debido a una menor varianza.

Entre los parámetros mencionados anteriormente, la relación de Probabilidad (OR) se considera clínicamente relevante para evaluar el grado de discriminación según los diferentes perfiles genéticos entre los pacientes que responden a la rosfuroxina en lugar del placebo [Ref.38].

- Los datos relativos a un perfil que comprende todos los SNPs de núcleo (Perfil 4) resumidos en la **Figura 8** fueron obtenidos considerando datos de todos los pacientes, que incluyen uno o más SNPs de los SNPs de núcleo enumerados en el perfil. Los criterios se justifican por la existencia de dos factores que normalmente apoyan la inclusión de pacientes que portan al menos un SNP en un único perfil: i) el alto poder de predicción de los SNP y ii) por un mecanismo biológico plausible común que une los SNPs en cuestión. En particular, el poder predictivo de los SNPs puede evaluarse a partir de la OR y los pacientes clasificados correctamente según los métodos identificables por un especialista. El correspondiente parámetro es un valor "correcto" que para los pacientes con perfil 4 es del 79,8% (véase la **Figura 8**). Este valor indica que en 80 pacientes de cada 100 el perfil proporciona una clasificación correcta de pacientes entre sujetos que responden y sujetos que no responden.
- En vista de los resultados anteriores, es posible concluir que los SNPs de núcleo afectan a la actividad farmacológica de la rosfuroxina con relevancia clínica. En particular, la relevancia clínica es debida a la magnitud de la diferencia de caída de la tensión sanguínea entre el fármaco (rosfuroxina) y el placebo, que oscila entre 23 y 15 mmHg con la rosfuroxina, mientras que, según la bibliografía, dicha diferencia oscila entre 4 y 6 mmHg con ARBs.
- Los datos preliminares en pacientes que portan el perfil 4 obtenidos en dos estudios separados demuestran que la caída de la tensión sanguínea obtenida con rosfuroxina es más de un 40% superior a la detectada entre los agentes antihipertensivos disponibles (véase la **Figura 8**, porción inferior). En particular, los individuos que portan el perfil 4 muestran una modificación en la tensión sanguínea de: $-12,3 \pm 1,5$ mmHg con HCTZ; $-11,3 \pm 1,7$ con Losartan y $-18,74 \pm 1,8$ mmHg con rosfuroxina; los individuos con perfil 8 muestran un descenso en la tensión sanguínea de $-11,3 \pm 1,2$ con HCTZ; $-11,6 \pm 1,3$ con Losartan y $-15,2 \pm 1,5$ mmHg con rosfuroxina; los individuos con perfil 9 muestran una reducción en la tensión sanguínea de $-11,9 \pm 1,2$ con HCTZ; $-11,4 \pm 1,4$ con Losartan y $-15,2 \pm 1,5$ mmHg con rosfuroxina.

Ejemplo 3: Un perfil genético que incluye SNPs de núcleo junto con SNPs relevantes afecta a la respuesta a rosfuroxina

- Las interacciones de los SNPs de núcleo con SNPs adicionales identificados en el transcurso del estudio farmacogenómico mencionado anteriormente fueron analizadas para verificar la posible identificación de perfiles genéticos adicionales adecuados para discriminar sujetos R de NR al tratamiento usando como modelo predictivo una regresión logística.
- En particular el perfil de SNPs de núcleo del Ejemplo 2 (Perfil 4) se combinó con SNPs relevantes adicionales identificados en el transcurso del estudio.
- Los SNPs relevantes, en el contexto de la presente descripción, indican SNPs adecuados para discriminar sujetos que Responden de sujetos que No Responden a la rosfuroxina.
- En particular, los SNPs relevantes fueron investigados en primer lugar en los siguientes tres grupos de genes: a) genes que están implicados directamente en los mecanismos de acción de la rosfuroxina (tal como los genes de Aducina y EO - ver el Ejemplo 4) también indicados en la presente memoria como CAND 1; b) genes que pueden estar implicados en el desarrollo de hipertensión y/o en un daño a órgano asociado a la hipertensión (tal como WNK - ver el Ejemplo 5) también denominados en la presente memoria CAND 2; y c) genes identificados llevando a cabo un escaneo genómico completo (tal como HLA-A, ver el Ejemplo 6) también indicados en la presente memoria como GWS.
- En particular, los SNPs de dichos genes fueron identificados primeramente mediante genotipado de genes seleccionados. A continuación se seleccionaron los SNPs relevantes sometiendo los SNPs detectados a análisis descriptivo e inferencial como se ilustra con más detalle en los Ejemplos 4 a 6.
- Los SNPs relevantes identificados de este modo fueron agrupados a continuación en perfiles genéticos junto a los SNPs de núcleo de perfil 4 del Ejemplo 2.
- Los resultados muestran que los perfiles genéticos que comprenden SNPs de núcleo y SNPs relevantes son incluso más efectivos para discriminar sujetos que Responden a rosfuroxina de sujetos que No Responden, tal como se ilustra en la **Figura 8**.
- En particular, en el resumen de la **Figura 8** la OR y el valor-p y la DSBP5_0 detectada para perfiles adicionales formados por los SNPs de núcleo (perfil 4) y SNPs adicionales de CAND 1, CAND 2 y/o GWS también se ilustran (ver en particular el perfil 8 y el perfil 9 de la **Figura 8**). A partir del análisis de los datos de la **Figura 8** parece que incluyendo SNPs adicionales en los perfiles, los valores de OR y el valor "correctamente" aumentan con respecto a los del perfil 4 (ver el perfil 8 y el perfil 9 de la **Figura 8**). Asimismo, la inclusión de dichos SNPs determina un aumento del tamaño de la población objetivo del 26% de la población total del perfil 4 al 44% de la población total del perfil 9.
- Una posible explicación del efecto sinérgico entre los SNPs de núcleo y los SNPs adicionales indicados en la **Figura 8**, proporcionados en la presente memoria con fines de guía y sin pretender ser limitativo, es la inclusión del SNP en

5 cuestión en un mismo entramado genético subyacente a enfermedades complejas como la hipertensión. Las evidencias experimentales obtenidas por los Solicitantes apoyan la conclusión de que dichos SNPs pueden interferir con otros genes o modularlos (tal como CAND 1 o CAND 2 ya asociados a mecanismos que afectan a la tensión sanguínea - ver los Ejemplos 4 y 5) en un entramado genético, o afectar a otros genes que pueden no estar relacionados con una lista de candidatos seleccionada *a priori* (ver perfil 4 en comparación con los perfiles 8 y 9).

Por consiguiente, una posible explicación de los datos presentados en la presente memoria es que la capacidad discriminadora de los SNPs de núcleo (perfil 4) se ve aumentada por el CAND 1 y 2 debido a la inclusión en un mismo entramado genético que combina/integra los efectos de GWS, SNPs de núcleo, CAND 1, CAND 2 y SNPs adicionales desconocidos que están comprendidos en el(los) entramado(s).

10 El aumento de la capacidad discriminadora y del tamaño de los pacientes seleccionados incluidos en el perfil que se ha alcanzado entre el perfil 4 y el perfil 9, apoya el concepto de entramado.

Genotipos específicos correspondientes a genes relevantes adicionales incluidos en los perfiles 8 y 9 de la **Figura 8** se describen adicionalmente en la **Tabla 6** y la **Tabla 7** incluidas a continuación.

Tabla 6: SNPs del Perfil 8 y del Perfil 9

Nombre de SNP	ID de SNP	Crom	Alelo Principal	Alelo Secundario	posición	GEN	Localización	nombre de proteína
ADD1	rs4961	4	G	T	2876505	ADD1	Exón (G460W contrasentido)	subunidad de aducina alfa
ADD2	rs4984	2	C	T	70753911	ADD2	Exón (silencioso)	subunidad de aducina beta
HSD18	rs10923835	1	A	T	119811854	HSD3B1	Intergénico	3-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa
HSD19	rs947130	1	G	A	119818255	HSD3B1	Intergénico	3-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa
LSS2	rs914247	21	G	A	46434105	LSS	3' UTR	lanosterol sintasa
MDR2	rs1045642	7	T	C	86976591	MDR1(A BCB1)	Exón (silencioso)	Resistencia multifármaco 1 (casete de unión a ATP, subfamilia B, miembro 1)
WNK1	rs880054	12	A	G	858819	WNK1	Intrón	Proteína quinasa deficiente en lisina WNK 1
rs10502933	rs10502933	18	C	T	47548901	desconocido	Intergénico	
rs2131127	rs2131127	3	C	T	149906833	AGTR1	Intrón	receptor de angiotensina II de tipo 1
rs4309483	rs4309483	18	C	A	54236897	LOC100134069	Desconocido	Proteína hipotética LOC100134069 (3' flanqueante)

Nombre de SNP	ID de SNP	Crom	Alelo Principal	Alelo Secundario	posición	GEN	Localización	nombre de proteína
								de NEDD4L)
rs4739037	rs4739037	8	G	A	64065878	NKAIN3	3' UTR	ATPasa de transporte Na+/K+ interaccionante 3

Tabla 7: Interacciones entre SNPs candidatos y superiores del Perfil 8 y del Perfil 9

SNP 1	ID de SNP1	Genotipo relevante de SNP1	Alelo de SNP1	SNP 2	ID de SNP2	Genotipo relevante de SNP2	Alelo de SNP2	DSB50 PLAC EBO	DSBP50 ROSTAF UROXIN A	Diferencia Rosta_placebo
MDR2	rs1045642	TT	T principal	HSD18	rs10923835	AT+TT	T secundario	-0,10	-17,40	17,30
LSS2	rs914247	GA+AA	A secundario	MDR2	rs1045642	CC	C secundario	-3,95	-16,91	12,96
LSS2	rs914247	AA	A secundario	ADD1	rs4961	GT+TT	T secundario	5,17	-22,32	27,49
HSD19	rs947130	GG	G principal	NEDD4L	rs4309483	AA	A secundario	10,3	-17,85	28,15
MDR2	rs1045642	TT	T principal	AGTR1	rs2131127	CC	C principal	-2,55	-16,9	14,34
ADD2	rs4984	CC	C principal	TOP	rs10502933	CT	C principal	5,52	-19,21	24,73
LSS2	rs914247	AA min	A secundario	WNK1	rs880054	AG+GG min	G secundario	0,48	-16	16,48
HSD19	rs947130	GG	G principal	NKAIN3	rs4739037	GA	G principal	-2,46	-18,18	15,72

5 En vista de los resultados anteriores, es posible concluir que los SNPs de núcleo comprendidos en un perfil junto con SNPs adicionales afectan a la actividad farmacológica de la rostafuroxina con relevancia clínica, que puede ser incluso mayor que la actividad de los SNPs de núcleo solos.

Ejemplo 4: SNPs relevantes que afectan a la respuesta a la rostafuroxina: genes CAND 1

Los Solicitantes investigaron la inclusión de SNPs relevantes adicionales en perfiles genéticos que incluyen también los SNPs de núcleo del Ejemplo 1 que identifican sujetos que responden a la rostafuroxina.

- 5 En una primera serie de experimentos, se investigaron los SNPs de genes implicados directamente en los mecanismos de acción de la rostafoxina (identificados en la presente memoria como genes CAND 1). En particular, los genes CAND 1 investigados incluyeron los genes que codifican para subunidades de aducina (ADD1, ADD2, ADD3), y genes implicados en la síntesis y metabolismo de EO (CYP11A1, HSD3B1, LSS, ABCB1/MDR1 y SLCO4C1). En la **Tabla 8** se presenta un resumen de las características de los genes investigados.

Tabla 8: Genes Candidatos Seleccionados (CAND 1)

N	Símbolo de gen	Crom	Nombre de gen
2	ADD1	4	aducina alfa
3	ADD2	2	aducina beta
4	ADD3	10	aducina gamma
5	CYP11A1	15	citocromo P450, familia 11, subfamilia A, polipéptido 1 (ruptura de cadena lateral de colesterol monooxigenasa)
6	HSD3B1	1	hidroxi-delta-5-esteroide deshidrogenasa, 3-beta y esteroide delta-isomerasa 1
7	LSS	21	lanosterol sintasa (2.3-oxidoscualeno-lanosterol ciclasa)
1	ABCB1/MDR1	7	casete de unión a ATP, sub-familia B (MDR/TAP), miembro 1
8	SLCO4C1	5	familia de transportador de anión orgánico soluto vehículo, miembro 4C1

En particular, la **Tabla 8** muestra los genes CAND 1 seleccionados y la localización de cromosoma relacionada, el símbolo génico y el nombre de Gen.

- 10 Para cada gen CAND 1 de la **Tabla 8**, los SNPs fueron detectados usando SNPs: análisis de SNP único con el Ensayo Taqman (ensayo a demanda o a medida MGB con sonda y diseño de cebador de ABI).

Los SNPs detectados fueron sometidos a análisis univariable y se seleccionaron los SNPs CAND 1 relevantes en base a la detección de la variación de la DSBP5_0 de fenotipo QT seleccionado para el estudio.

- 15 Los ejemplos de SNPs de CAND 1 relevantes se presentan en la **Tabla 9** y la **Tabla 10** junto con los resultados de asociación GXT relacionados. Un p_GXT significativo indica una respuesta diferente de DSBP5_0 significativa al tratamiento (rostafoxina/placebo).

Tabla 9: SNPs de CAND 1

ID de SNP	GEN	Crom	Alelo principal	Alelo Secundario	Posición de SNP	Posición de gen	Localización de SNP	de	valor_p
rs4961	ADD1	4	G	T	2876505		exón (contrasentido G460W)		NS
rs4984	ADD2	2	C	T	7075391	1	exón (silencioso)		NS
rs3731566	ADD3	10	A	G	1118760	79	Intrón		NS
rs914247 (LSS2)	LSS	21	G	A	4643410	5	3UTR		0,0027

ID de SNP	GEN	Crom	Alelo principal	Alelo Secundario	Posición de SNP	Posición de gen	Localización de SNP	de	valor_p
rs1045642 (MDR2)	MDR1	7	T	C	8697659	1	exón (silencioso)		NS
Varios	HSD3B1	1							Ns
Varios	CYP11A1	15							Ns
Varios	SLCO4C1	5							Ns

Tabla 10: SNPs de CAND 1

ID de SNP	valor_p ANOVA	de	Genotipo relevante	DSBP5_0 Terapia	DSBP5_0 Placebo	Diferencia DSBP5_0
rs914247 (LSS2)	0,0002		AA	-17	-6,16	10,87

En particular, la **Tabla 9** muestra los resultados del análisis univariable de ejemplos seleccionados de SNPs de CAND 1 junto con el símbolo génico relacionado, la localización cromosómica, la posición en el cromosoma, la localización en el gen y el valor p.

Los dos SNPs relevantes correspondientes al gen HSD3B1 (HSD18 y HSD19) se describen en detalle en la **Tabla 6** y su relevancia en la **Tabla 7**.

En la **Tabla 10** se presentan los datos correspondientes al SNP relevante rs 914247.

Tal como se explica en la descripción detallada, los genes de aducina incluidos en la tabla 9 son los sugeridos para codificar aducina y las enzimas implicadas en la síntesis y transporte de EO. La rostafuroxina en concentraciones picomolares "in vitro" o en dosis de nanomoles en animales es capaz de corregir de forma selectiva el efecto de la aducina o la ouabaína mutadas sobre la Bomba de Na-K y cSrc, sin bloquear el efecto de la aducina natural.

Ejemplo 5: SNPs relevantes que afectan a la respuesta a rostafuroxina en genes CAND 2

En una segunda serie de experimentos, se investigaron los SNPs de genes que pueden estar implicados en el desarrollo de hipertensión y/o en un daño orgánico asociado a la hipertensión (identificados en la presente memoria también como genes CAND 2).

En particular, se seleccionó un conjunto mayor de genes que son relevantes patofisiológicamente como genes CAND 2. Los criterios de selección incluyeron principalmente genes que codifican para las enzimas y los receptores de RAA, varias familias de canales iónicos y transportadores que regulan la reabsorción de sodio renal, receptores adrenérgicos, proteínas de podocito y factores de transcripción. El conjunto de genes resultante se resume en la ilustración de la **Figura 9**.

En particular, en la **Figura 9** se indican los Genes Candidatos Seleccionados "CAND2 junto con la localización cromosómica relevante, el símbolo de gen y el nombre de gen.

Un especialista en la técnica puede identificar información adicional relativa a dichos genes a la vista de la presente descripción.

Para cada gen CAND2 de la tabla de la **Figura 9**, se detectaron SNPs usando SNPs Tag presentes por todo el genoma y en el chip Illumina que podrían proporcionar la evaluación de la variación entre los genes candidatos para evaluar la influencia de dichos genes sobre la respuesta de tensión sanguínea a la rostafuroxina.

Los SNPs detectados fueron sometidos a análisis univariable y solo los SNPs con un valor-p GXT entre $1,78 \times 10^{-4}$ (rs7117314) y 5×10^{-2} (rs945403) fueron seleccionados con la misma metodología presentada para la selección de los SNPs de núcleo. Para tratar los genes candidatos solo se usó como umbral un $p < 0,05$ en lugar de $p < 0,0001$ en vista de los datos previos que apoyan la elección de genes candidatos.

En particular se seleccionaron los SNPs de CAND 2 relevantes en base a la variación detectada de la DSBP5_0 de fenotipo QT.

En la **Tabla 11** se presentan ejemplos de SNPs de CAND 2, junto con los resultados de asociación GXT relacionados. Un p_GXE significativo indica una respuesta significativa diferente de DSBP5_0 al tratamiento (rostafuroxina/placebo).

Tabla 11: Análisis univariable de SNPs de CAND 2 relevantes

N	SNP	nombre_gen	Crom	posición	P_GXE	Localización
	rs242093	ACTN1	14	68551096	0,007169	flanqueante_5U TR
2	rs1996396	ADRA1A	8	26918290	0,002707	flanqueante_5U TR
3	rs10503806	ADRA1A	8	26938920	0,00381	flanqueante_5U TR
4	rs13251780	ADRA1A	8	26950888	0,004704	flanqueante_5U TR
5	rs17430706	ADRA1A	8	26894087	0,007211	flanqueante_5U TR
6	rs10102024	ADRA1A	8	26841288	0,009325	flanqueante_5U TR
7	rs526302	ADRA1A	8	26746612	0,01782	Intrón
8	rs544104	ADRA1A	8	26767907	0,03642	Intrón
9	rs3102087	ADRA1A	8	26755854	0,04356	Intrón
10	rs5183	AGTR1	3	149942574	0,02	Codificación
11	rs3772627	AGTR1	3	149912944	0,04049	Intrón
12	rs2276736	AGTR1	3	149908563	0,04824	Intrón
13	rs2131127	AGTR1	3	149906833	0,04983	Intrón
14	rs3741559	AQP2	12	48631243	0,03534	Intrón
15	rs2217342	ATP1A3	19	47181356	0,008238	Codificación
16	rs10927888	CLCNKA	1	16226098	0,04384	Intrón
17	rs6604909	CLCNKB	1	16244519	0,03099	Intrón
18	rs945403	CLCNKB	1	16246917	0,04996	Intrón
19	rs7117314	FXVD2	11	117203972	0,0001782	5UTR
20	rs10790212	FXVD2	11	117207900	0,001169	flanqueante_5U TR
21	rs11216598	FXVD6	11	117253662	0,00677	flanqueante_5U TR
22	rs910682	FYN	6	112282428	0,0004279	flanqueante_5U TR
23	rs13218316	FYN	6	112189727	0,00389	Intrón

N	SNP	nombre_gen	Crom	posición	P_GXE	Localización
24	rs4309483	NEDD4L	18	54236897	0,006163	flanqueante_3U TR
25	rs13280307	NKAIN3	8	63586548	0,001652	Intrón
26	rs4739037	NKAIN3	8	64065878	0,002954	UTR
27	rs17596774	PKD1	16	2086474	0,04037	Intrón
28	rs2728108	PKD2	4	89180760	0,006608	Intrón
29	rs17786456	PKD2	4	89176586	0,03221	Intrón
30	rs7696304	PKD2	4	189179022	0,03269	Intrón
31	rs2725222	PKD2	4	89177516	0,03857	Intrón
32	rs17199565	SCNN1B	16	23181205	0,004757	flanqueante_5U TR
33	rs2758152	SGK1	6	134530606	0,008541	flanqueante_3U TR
34	rs1057293	SGK1	6	134535090	0,04496	Codificación
35	rs16960712	SLC12A1	15	46329907	0,01024	Intrón
36	rs759359	SLC8A1	2	40182609	0,007413	flanqueante_3U TR
37	rs404214	SLC8A1	2	40307852	0,02053	Intrón
38	rs1005213	SLC8A1	2	40245293	0,0303	Intrón
39	rs17025453	SLC8A1	2	40259918	0,03507	Intrón
40	rs2110923	SLC8A1	2	40211501	0,04026	Intrón
41	rs1428571	SLC8A1	2	140243974	0,04325	Intrón
42	rs435404	SLC8A1	2	40293896	0,04652	Intrón
43	rs12908787	TJP1	15	27878217	0,003622	Intrón
44	rs11647727	UMOD	16	20263666	0,0089	Intrón
45	rs880054	WNK1	12	2594827	0,03876	Intrón
46	rs11064584	WNK1	12	866932	0,04682	Intrón

En particular, en la **Tabla 11** se ilustran los resultados de asociación GXT correspondientes a los grupos de placebo y terapia. Un p_{GXT} significativo indica una respuesta diferente de DSBP5_0 significativa al tratamiento (rostafuroxina/placebo).

5 Ejemplo 6: SNPs relevantes que afectan a la respuesta a la rostafuroxina: genes de GWS

En una tercera serie de experimentos, también se investigaron los SNPs de genes detectados mediante escaneo de Genoma Completo (identificados también en la presente memoria como genes de GWS).

5 Se genotiparon SNPs genómicos con el sistema Human1M de Illumina usando el Chip "Human1M Duo CHIP genotyping Bead Chip" siguiendo el procedimiento descrito en [Ref. 10, 11, 12]. En particular, en total se analizaron 1111190 SNPs (92,66 % del total) porque los SNPs de los cromosomas X e Y, así como los SNPs (XY) de región pseudo-autosomal, no fueron considerados.

Los SNPs detectados fueron sometidos a análisis univariable en una estrategia para identificar SNPs relevantes según las metodologías descritas en la sección de ejemplos.

10 Los resultados del análisis univariable (Interacción de rasgo Cuantitativo -GxE) para genes GWS se ilustran en la **Figura 4**, que presenta resultados correspondientes a 848340 SNPs genotipados en una muestra de 193 Pacientes NPT con los 107 SNPs que tienen un valor p menor al umbral establecido de $p < 10^{-4}$ se presentan como puntos.

15 A continuación se llevó a cabo una anotación detallada de los 107 SNPs identificados dirigida a clarificar el papel de la región genómica específica de interés en asociación. Los 107 SNPs top identificados a partir de este GWAS se denotan en realidad mediante dichas posiciones genómicas: 7 en regiones codificadoras, 4 en 3'UTR, 30 en intrones y 66 en regiones intergénicas. Del último grupo mencionado, algunos SNPs están próximos a la región génica y podrían estar localizados en el promotor relativo, mientras que otros están demasiado lejos de un gen anotado como para ser considerados en regiones desiertas.

20 Por lo tanto, se ha llevado a cabo una anotación más detallada para los mejores SNPs incluidos en el Perfil 4 (SNPs top únicos) y en el Perfil 5 (SNPs top interaccionantes) solo, y se observó que la mayoría de ellos son variantes intergénicas con un conjunto mínimo de SNPs intrónicos. Todas estas variantes pueden pertenecer a las regiones denominadas "ADN inútil" [Ref. 40], tal como se ha mencionado en la Introducción - párrafo 1.3, representando por tanto un sustrato rico para innovaciones evolutivas de secuencias en eucariontes.

25 El procedimiento seguido para la anotación exhaustiva tuvo en cuenta: *i.* SNPs que presentan MAF >5%; *ii.* un mapeado más reciente con ayuda de diferentes bases de datos (NCBI Entrez Gene, HapMap, Ensembl); *iii.* selección de un grupo de SNPs en perfecto o fuerte LD entre ellos, con una posible localización en regiones génicas o funcionales; *iv.* análisis PubMed; *v.* anotación de secuencias de ARNm publicadas y de dianas genómicas relativas.

30 Para SNPs intragénicos, los Solicitantes no notaron variantes de codificación o división pero identificaron polimorfismos intrónicos comunes localizados en genes cuya función a menudo era desconocida. Se colocaron dos SNPs top (rs3893464 y rs 5013093) dentro de la región de complejo principal de histocompatibilidad de clase I del cromosoma 6, una región peculiar de LD extensivo y elevado que contiene varios genes. En este caso, una anotación génica precisa es más compleja, y la investigación de la expresión y la estructura funcional de los genes incluidos podría ayudar a definir la región correcta. Como los SNPs pueden presentar diferentes efectos también sobre la composición de la diana de ARNm, especialmente para 3'UTRs, todos los SNPs top fueron evaluados virtualmente en diferentes bases de datos (www.patrocles.org, microna.sanger.ac.uk, www.microna.org), pero no se obtuvo ningún resultado interesante. Los solicitantes también consideraron una búsqueda contra las secuencias precursoras intactas o simplemente los ARNm maduros. Sin embargo, la identificación con marcador de la respuesta a fármaco con fines predictivos, sin ninguna localización genética adicional de la fuente de la señal, sería un punto final suficiente para un estudio de GWA.

40 Tras la caracterización anterior, se seleccionaron los 107 SNPs de GWS iniciales para identificar los genotipos con la mayor respuesta a la rostafuroxina en comparación con el placebo, llevando a cabo un análisis estadístico ANOVA con el software STATA en los grupos de placebo y rostafuroxina con la DSBP5_0 como variable dependiente y los 107 SNPs significativos como variables independientes. Adicionalmente, con este análisis también se analizó la relevancia del genotipo de los SNPs mencionados anteriormente.

45 Finalmente, con esta estrategia solo se seleccionaron 35 SNPs (y sus respectivos genotipos) que presentaban una reducción de la DSBP5_0 en el grupo de terapia pero no en el grupo de placebo, para considerarlos como SNPs relevantes. En la **Tabla 12** se presenta una lista de los genes de GWS relevantes.

Tabla 12: Análisis univariable de SNPs de GWS relevantes

SNPs				TERAPIA			PLACEBO			DIFERENCIA
rs SNP	Gen	valor_p de ANOVA	genotipo	DSBP5_0 Terapia	SD	número de pacientes	DSBP5_0 Placebo	SD	Nº de pacientes	diferencia_Terapia_placebo
rs12996186	ARL5A	0,0001	2	-22,785714	16,342626	7	-4,822221	11,005428	9	17,9634919
rs9893372	ATP2A3	0,0002	3	-10,910638	12,081035	47	-6,4765957	10,579003	47	4,4340423
rs7216331	COX10	0,0023	2	-15,808333	1,150387	12	-1,8944444	9,5719856	18	13,9138886
rs7521668	DPH5	0,0004	1	-25	0	1	3,95	6,5760933	2	28,95
			2	-13,044	12,951707	25	-6,0227273	9,8237774	22	7,0212727
rs188334	FAIM3	0,0036	1	-11,819048	10,627776	21	-3,6727274	13,932941	22	8,1463206
rs4998662	FAM46A	0,0001	2	-15,805556	1,151048	18	-2,2666667	7,1477936	15	13,5388893
rs16893522	FAM46A	0,0048	1	-22,433333	14,654805	3	4,6000002	5,6568545	2	27,0333332
			2	-1,138125	11,911463	16	-4,0117647	12,26524	17	2,8736397
rs6457110	HCG9	0,0023	1	-10,351613	12,372035	31	-4,4896552	11,787019	29	5,8619578
rs3893464	HCG9	0,0086	1	-10,989474	13,815245	19	-1,9736842	8,6017337	19	9,0157898
rs2517718	HLA-A	0,0006	1	-11,825806	11,503274	31	-5,6137931	10,594464	29	6,2120129
rs1362126	HLA-F	0,0037	3	-10,294118	10,867241	34	-5,3636363	11,464342	33	4,9304817

ES 2 551 877 T3

SNPs				TERAPIA			PLACEBO			DIFERENCIA
rs SNP	Gen	valor_p de ANOVA	genotipo	DSBP5_0 Terapia	SD	número de pacientes	DSBP5_0 Placebo	SD	Nº de pacientes	diferencia_Terapia_placebo
rs5013093	HLA-G	0,0022	1	-20,485714	10,724182	7	1,5999999	2,8284271	2	22,0857139
rs2345088	KCNS3	0,0002	1	-30,5	96,166511	2	3,4333334	11,033736	3	33,9333334
			2	-10,693103	11,909148	29	-7,1814815	8,3223072	27	3,5116215
rs6718282	KCNS3	0,0028	1	-41,299999		1	/	/	0	
			2	-12,625	82,536465	8	1,2	12,445381	9	13,825
rs721207	LOC131691	0,0032	3	-11,584375	13,303943	32	-4,65	11,612437	24	6,934375
rs2555500	LOC389174	0,003	1	-10,517391	1,221436	23	-5,3172413	10,152799	29	5,2001497
rs2461911	LOC389970	0,0022	1	-20,6	1,267024	5	2,2166667	10,168268	6	22,8166667
rs8179654	LOC642727	0,0032	3	-10,953846	14,821472	13	-2,5117647	10,327686	17	8,4420813
rs1901139	LOC644192	0,0036	3	-12,107143	15,748087	14	-1,59	8,9522746	10	10,517143
rs2427832	LOC649458	0,0014	2	-10,384091	13,154536	44	-3,5387096	9,5961685	31	6,8453814
rs9361863	LOC728360	0,0013	1	-15	98,994949	2	4,6000002	5,6568545	2	19,6000002
			2	-13,477273	12,989443	22	-4,6444444	12,13712	18	8,8328286
rs1998394	LOC728316	0,0074	3	-10,51282	1,334078	39	-4,725	11,632855	44	5,78782

ES 2 551 877 T3

SNPs				TERAPIA			PLACEBO			DIFERENCIA
rs SNP	Gen	valor_p de ANOVA	genotipo	DSBP5_0 Terapia	SD	número de pacientes	DSBP5_0 Placebo	SD	Nº de pacientes	diferencia_Terapia_placebo
ga001619	PIGR	0,0004	1	-13,615	97,036224	20	-4,363158	14,582418	19	9,251842
rs2275531	PIGR	0,0024	3	-12,18	1,063176	20	-4,363158	14,582418	19	7,816842
rs748140	PIGR	0,0034	1	-11,279167	1,179624	24	-4,7727273	13,75234	22	6,5064397
rs4710592	RCADH5	0,0033	3	-23,825	12,273107	4	-3,75	12,094548	14	20,075
rs2743951	RP3-377H14,5	0,0015	3	-11,169697	10,505638	33	-5,5499999	11,596885	32	5,6196971
rs10159569	SH3PXD2A	0,0013	1	-13,169231	13,134071	26	-2,5413793	8,8390981	29	10,6278517
rs3087816	SLC30A7	0,0004	2	-13,044	12,951707	25	-6,0227273	9,8237774	22	7,0212727
rs10493940	SLC30A7	0,0003	2	-12,132258	1,197376	31	-6,1826087	9,6284924	23	5,9496493
			3	-25	0	1	3,9500002	6,5760933	2	28,9500002
rs16877182	THSD7A	0,0003	2	-21,671428	93,414332	7	-2,81875	13,817295	16	18,852678
rs2326912	TMEM200A	0,0008	1	-11,7	0	1	/	/	0	
rs1110446	TRIM31	0,003	1	-16,366667	77,860986	3	4,2249999	3,4451657	4	20,5916669
			2	-10,134211	14,101299	38	-6,6103448	12,376024	29	3,54
rs12513375	TTC29	0,0024	3	-19,1777	13,342392	9	-3,25	4,8086232	8	15,927778

SNPs				TERAPIA			PLACEBO			DIFERENCIA
rs SNP	Gen	valor_p de ANOVA	genotipo	DSBP5_0 Terapia	SD	número de pacientes	DSBP5_0 Placebo	SD	Nº de pacientes	diferencia_Terapia_p placebo
				78						
rs17414954	VCAM1	0,0003	2	-13,030769	1,203637	26	-5,8727273	9,7369782	2	7,1580417

Ejemplo 7: Variaciones genéticas en el desequilibrio de enlace con SNPs de núcleo

Incluso cuando las variaciones de ADN incluidas en el perfil 4, 8 y 9 tienen una elevada potencia genética para predecir los pacientes que Responden, no agotan toda la variabilidad genética que tiene la mejor capacidad discriminativa. Según el concepto de Desequilibrio de Enlace, una variación de ADN (SNP tag) puede representarse de forma general a través de un número variable de SNPs próximos capaces de tipificar la variación igual o similarmente en comparación con el SNP tag. Por tanto, se incluyen varias variaciones genéticas adicionales en el alcance de los métodos y sistemas descritos en la presente memoria. Los ejemplos de variaciones genéticas en el desequilibrio de enlace con los SNPs que afecta a la actividad biológica de la rostafuroxina se enumeran en la **Tabla 13**.

Tabla 13. SNPs próximos respecto a los SNPs de núcleo, SNPs del Perfil 8 y del Perfil 9, según los datos de CEU HapMap, Ref. 24.

Nombre de SNP	ID de SNP	Crom	SNPs próximos (r2 0,9-1)	Ventana de etiqueta (tag)
rs16877182	rs16877182	7	rs7341453, rs10499404, rs10499406, rs6957230, rs17165141, rs16877173, rs16877184, rs10499401, rs17165148, rs17165136	1Mb
rs5013093	rs5013093	6	rs2517861, rs2734981, rs2734984, rs9258606, rs2508051, rs2517870, rs9258610, rs1632882, rs3128910, rs2734985, rs5013088, rs35332866, rs2734980, rs5013087, rs2517860, rs2517850, rs1317834, rs2523760, rs5013091, rs1613062, rs7451408, rs9258690, rs2247719	750 kb
rs2461911	r2461911	10	rs2461899	750 kb
rs12513375	rs12513375	4	rs6844319, rs11735165, rs11722430, rs4543091	750 kb
rs16893522	rs16893522	6	rs9449367, rs17730252, rs17662598, rs10081038, rs9449368	750 kb
rs2345088	rs2345088	2	no hay próximos en el CEU HapMap	750 kb
ADD1	rs4961	4	rs1263345, rs2239728, rs1263347, rs4690001, rs4690000, rs4964, rs16843,523, rs2285084, rs2237004	750 kb
ADD2	rs4984	2	rs740389, rs740388, rs7559120, rs740391, rs740387, rs1048747, rs11894520, rs6750771, rs740390, rs7559225	750 kb
HSD18	rs10923835	1	no hay próximos en el CEU HapMap	750 kb
HSD19	rs947130	1	no hay próximos en el CEU HapMap	750 kb

Nombre de SNP	ID de SNP	Crom	SNPs próximos (r2 0,9-1)	Ventana de etiqueta (tag)
LSS2	rs914247	21	rs7282841, rs2839141, rs6518278, rs4819216, rs2839157, rs2280955, rs2839146, rs2254524, rs9717, rs999691, rs2839175, rs4818828, rs4819214, rs2330408	750 kb
MDR2	rs1045642*	7	rs4437575, rs2235048	750 kb
WNK1	rs880054 *	12	no hay próximos en nuestra población, sin información en el CEU HapMap	750 kb
rs10502933	rs10502933	18	rs12605208, rs3851123, rs10502932, rs17752711, rs12604658, rs1552090, rs2045748, rs8097074, rs17752681, rs1531686, rs12605843, rs12606532, rs17752449, rs17752602, rs17752743	1Mb
rs2131127	rs2131127	3	rs10935724, rs12695877	750 kb
rs4309483	rs4309483	18	rs9319930, rs11152071, rs3744868, rs4384676, rs4383234, rs7226817, rs8099014, rs7230036, rs4940711, rs4464160, rs4940393, rs6566970, rs9319929, rs11152077, rs4940697, rs17064977, rs4245268, rs4640266, rs7234602, rs4331413, rs4559989, rs4940701, rs4245271, rs6566972, rs11152073, rs4940698, rs1806761, rs8092072	750 kb
rs4739037	rs4739037	8	rs12542042, rs4739011, rs12541993, rs10957266, rs10464903, rs12549172, rs12681795, rs12543961, rs10464905, rs930840, rs12546361, rs4739047, rs4737629, rs3758147, rs12542282, rs12541047, rs10957270, rs10957269, rs4739046, rs12545230, rs9969662, rs10957272, rs4737627, rs10464904, rs10957261, rs12548172, rs12547772, rs10957268, rs12678214, rs1480115, rs16929963, rs12676348, rs10957248, rs10957265, rs16929988, rs10957260, rs4739028, rs7818582, rs4737616	750 kb
* el modelo LD se calcula en la población europea.				

Las variaciones genéticas enumeradas en la **Tabla 13** son los correspondientes SNP próximos para cada SNP de núcleo o candidato mencionado anteriormente derivado a partir de un ejemplo de mapa genético relativo a datos genéticos de la población europea. La información derivada del Proyecto HapMap nos proporciona la mejor cobertura de SNPs próximos en la población europea. Otras fuentes adicionales de información para la variación genética en el desequilibrio de enlace para la población europea y/u otras poblaciones se pueden obtener a través de fuentes identificables por el especialista en la técnica, que incluyen, por ejemplo, los datos de genotipo Illumina BeadChip 1Million de nuestra población. En referencia a fuentes tales como HapMap, se necesita una actualización continua con respecto a la publicación de la fuente para asegurar una inclusión completa de todas las variaciones genéticas relevantes para la presente descripción.

Ejemplo 8: Información de secuencia relativa a SNPs de núcleo y SNPs adicionales que afectan a la respuesta a la rostafuloxina

En algunas realizaciones de la presente descripción, la terapia se puede evaluar en base a la detección de la información de secuencia correspondiente a varias variaciones genéticas que afectan a la respuesta del individuo a la rostafuloxina. La información de secuencia relativa a los SNPs de núcleo y genotipos seleccionados relacionados se presenta en las **Tablas 14 y 15**.

Tabla 14: información de secuencia de SNPs de núcleo

ID de rs	Secuencia	Variación de nucleótido	SEQ ID NO	Variación de nucleótido seleccionada	SEQ ID NO
rs16877182	TTTGAGAATACCAAAATACAGAAAA TTCAATCAAATTTAAAGTTGGTANTA ATTATACTTGTATTGGAATGTAATTT AGTTTTCTTAATTTAGTTTCT	N = A, C, G, T	1	N=CorT	2
rs5013093	GGAAAAACCCAGTGCCCTCCCCTCC TCTCAAGCCTGGCCAGCTCTGACAG N GGGAGGACTCCCCAAAGAGA GGCTCTGGCCCTGGCTCCATGTCCT TCCAG	N= A, C, G, T	3	N= C ó T	4
rs2461911	GTCCAAATGTAATGTTCTAACTTAGTA CATTTGGAAAATTCTTTCTAACNCCT CTGGGAAAACACAAAATATTACTTAC AAAAATAAATGCATAAAAAATG	N= A, C, G, T	5	N= G ó A	6
rs12513375	GCTCGCCTTGGTCCACTGTGACACA CAGGCTGCTTTGCTGGGAAAGTTCTN CCTGACTCACTGGGGCTGCATGAAG CCTGGGGAGGCAAGCTTCTGGCGTG	N= A, C, G, T	7	N= G ó T	8
rs16893522	TGACACATGTGGCAGTCTGAAAAGTT CTTATTGAGCCAGACTGTAGAGTTCT TGGAATCNCATACCATCTTCATGGG AATTATGATTCTACTCAGGCTGGGAG GAGTACATTAAGTGAAG	N= A, C, G, T	9	N= A ó G	10
rs2345088	CAACATTTGGATTATGGCATTGGGA TTCTGATTTTCAGAATTATGATTGGCA ATTTAANTAATTCTGGCTCGGTATAT TAATAATGCAATGCTTTTTTCAAGCTA TTTGAAGTGATTC	N= A, C, G, T	11	N= C ó T	12

Tabla 15: información de secuencia de genotipos seleccionados de SNPs de núcleo

ID de rs	Secuencia	Alelo principal de variación de nucleótido seleccionada	SEQ ID NO	Alelo secundario de variación de nucleótido seleccionada	SEQ ID NO
rs16877182	TTTGAGAATACCAAAATACAGAAAA TTCAATCAAATTTAAAGTTGGTANTA ATTATACTTGTATTGGAATGTAATTT AGTTTTCTTAATTTAGTTTCT	N=C	13	N=T	14
rs5013093	GGAAAAACCCAGTGCCCTCCCCTCC TCTCAAGCCTGGCCAGCTCTGACAG N GGGAGGACTCCCCAAAGAGAGGCT CTGGCCCTGGCTCCATGTCCTTCCA G	N=T	15	N=T	16
rs2461911	GTCCAAATGTAATGTTCTAACTTAGTA CATTTGGAAAATTCTTTCTAACNCCT CTGGGAAAACACAAAATATTACTTAC AAAAATAAATGCATAAAAAATG	N=A	17	N=A	18

ID de rs	Secuencia	Alelo principal de variación de nucleótido seleccionada	SEQ ID NO	Alelo secundario de variación de nucleótido seleccionada	SEQ ID NO
rs12513375	GCTCGCCTTGGTCCACTGTGACACA CAGGCTGCTTTGCTGGGAAAGTTCTN CCTGACTCACTGGGGCTGCATGAAG CCTGGGGAGGCAAGCTTCTGGCGTG	N=T	19	N=T	20
rs16893522	TGACACATGTGGCAGTCTGAAAAGTT CTTATTGAGCCAGACTGTAGAGTTCT TGGAAATCNCATAACCATCTTCATGGG AATTATGATTCTACTCAGGCTGGGAG GAGTACATTAAGTGAAG	N=A	21	N=A	22
rs2345088	CAACATTTGGATTATGGCATTGGGA TTCTGATTTTCAGAAATTATGATTGGCA ATTTAANTAATTCTGGCTCGGTATAT TAATAATGCAATGCTTTTTTCAAGCTA TTTGTAAAGTGATTC	N=T	23	N= T	24

La información de secuencia correspondiente a ejemplos de SNPs adicionales que afectan a la respuesta a la rostafuloxina, y genotipos seleccionados relacionados se presenta en las **Tablas 16 y 17**.

Tabla 16: información de secuencia de SNPs adicionales que afectan a la respuesta

ID de rs	Secuencia	Variación de nucleótido	SEQ ID NO	Variación de nucleótido seleccionada	SEQ ID NO
Rs 4961	AGAAGACAAGATGGCTGAACTCT GGCCGGGGCGACGAAGCTTCCG AGGAANGGCAGAATGGAAGCAGT CCCAAGTCGAAGACTAAGGTGTG GACGAACATT	N= A, C, G, T	25	N=G ó T	26
Rs 4984	CTTCATCAAAACACACCTAC CAATATGTTACTCCAGATGT GGAGGGCAACNCTGAAGAACTC GCACACGGCCGGACCAGAGCCT GGCTCTCGTTCCTGTCC	N= A, C, G, T	27	N=G ó A	28
Rs 10923835	CTACAAGTCTTTTATGCTCTGAAG CTTTTGTCTTGGCAATTGCTTTA CANCATTCACAAAGGACAGCATT TACCTGGAGACCTCACCAGTGGG TCCCTGC	N= A, C, G, T	29	N=A ó T	30
Rs 947130	TCTGAACAATTTGGGATCTTTTT AACTTGAGGGTCTTTTCGACTA CTANAGCTCCATTTCCCCTCTTAA ATGAGAAGGG ATTTCTTTTCTTTAAATCT	N= A, C, G, T	31	N= C ó T	32
Rs 914247	GCCAGGGACTGCTACCTGCCCA GAAGGCGGCAGGGAGGGGAAGA GCAGATNAGGAGGTATAGGGTGT GCCCTGGGCAAGGCAGCAGGGG TAACGAAGCTCT	N= A, C, G, T	33	N= A ó G	34

ID de rs	Secuencia	Variación de nucleótido	de SEQ ID NO	Variación de nucleótido seleccionada	SEQ ID NO
Rs 1045642	GAGAACATTGCCTATGGAGACAA CAGCCGGGTGGTGTACAGGAA GAGATNGTGAGGGCAGCAAAGG AGGCCAACATACATGCCTTCATC GAGTCACTGCC	N= A, C, G, T	35	N= C ó T	36
Rs 880054	ACAGTAATAGTCTATTTAGCCTCT TTCTCTCCTGCTCTCCTTTCCATA TTNTTATGTGGCATATTAACCTAA CACTAATGT ATGCAGGGTTTTGTTGGTTT	N= A, C, G, T	37	N= C ó T	38
Rs 10502933	AATGTGATTTTTGATATAATTCTC ATGTTTTAGCTTTTCTAGTTTAAAA ANCTGCATACTGGAAAATAAGGA AAAAATTCTAGAGGTTGTATGAGA AGGA	N= A, C, G, T	39	N= C ó T	40
Rs 2131127	AACCAACTTTAGCATACCAAGTTT AGCATTTAGGCATACCAACTTTAG CANTGTTATACAGAATAATGTTAG CATTGGAAGGATCTATTAACAAAA GAAAG	N= A, C, G, T	41	N= C ó T	42
Rs 4309483	CCTCATGCAAAGCACTTGCTCAC ACACTGTCTCATTTCAACATCACC GCCNCTTAAGGAGATGCTATGAT CAACCCCACTTTGCAGATGAGGA AACTTCAG	N= A, C, G, T	43	N= C ó A	44
Rs 4739037	CTGGAGCTCGCCTTACACCAAAC AGACACAATCGATCCATTGGAAG TGCNTAATTACACATTGAGGGA CCAACTAGACCTTTTCTCATTGTA AACTTGGA	N= A, C, G, T	45	N= G ó A	46

Tabla 17: información de secuencia de genotipos seleccionados de respuesta efectiva de SNPs adicionales

ID de rs	Secuencia	Alelo principal de variación de nucleótido seleccionada	SEQ ID NO	Alelo secundario de variación de nucleótido seleccionada	SEQ ID NO
Rs 4961	AGAAGACAAGATGGCTGAACTCT GGCCGGGGCGACGAAGCTTCCG AGGAANGGCAGAATGGAAGCAGT CCCAAGTCGAAGACTAAGGTGTG GACGAACATT	N= G ó T	47	N=T	48
Rs 4984	CTTCATCAAAACACACCTAC CAATATGTTACTCCAGATGT GGAGGGCAACNCTGAAGAACTC GCACACGGCCGGACCAGAGCCT GGCTCTCGTTCCTGTCC	N=C	49	N=C	50
Rs 10923835	CTACAAGTCTTTTATGCTCTGAAG CTTTTGTCTTGGCAATTGCTTTA CANCATTACAAAAGGACAGCATT TACCTGGAGACCTCACCAGTGGG TCCCTGC	N=A ó T	51	N=T	52

ID de rs	Secuencia	Alelo principal de variación de nucleótido seleccionada	SEQ ID NO	Alelo secundario de variación de nucleótido seleccionada	SEQ ID NO
Rs 947130	TCTGAACAATTTGGGATCTCTTTT AACTTGAGGGTCTCTTTTCGACTA CTANAGCTCCATTTCCCCTCTTAA ATGAGAAGGG ATTTCTTTTCTTTTAAATCT	N=G	53	N=G	54
Rs 914247	GCCAGGGACTGCTACCTGCCCA GAAGGCGGCAGGGAGGGGAAGA GCAGATNAGGAGGTATAGGGTGT GCCCTGGGCAAGGCAGCAGGGG TAACGAAGCTCT	N=A	55	N=A	56
Rs 1045642	GAGAACATTGCCTATGGAGACAA CAGCCGGGTGGTGTACAGGAA GAGATNGTGAGGGCAGCAAAGG AGGCCAACATACATGCCTTCATC GAGTCACTGCC	N=T	57	N=T	58
Rs 880054	ACAGTAATAGTCTATTTAGCCTCT TTCTCTCCTGCTCTCCTTTCCATA TTNTTATGTGGCATATTAACCTAA CACTAATGT ATGCAGGGTTTTGTTGGTTT	N= A ó G	59	N=G	60
Rs 10502933	AATGTGATTTTTGATATAATTCTC ATGTTTTAGCTTTTCTAGTTTAAAA ANCTGCATACTGGAAAATAAGGA AAAAATTCTAGAGGTTGTATGAGA AGGA	N=C	61	N=T	62
Rs 2131127	AACCAACTTTAGCATACCAAGTTT AGCATTTAGGCATACCAACTTTAG CANTGTTATACAGAATAATGTTAG CATTGGAAGGATCTATTAACAAAA GAAAG	N=C	63	N=C	64
Rs 4309483	CCTCATGCAAAGCACTTGCTCAC ACACTGTCTCATTTCAACATCACC GCCNCTTAAGGAGATGCTATGAT CAACCCCACTTTGCAGATGAGGA AACTTCAG	N=A	65	N=A	66
Rs 4739037	CTGGAGCTCGCCTTACACCAAAC AGACACAATCGATCCATTCGAAG TGTCNTAATTACACATTGAGGGA CCAAGTAGACCTTTTCTCATTGTA AACTTGGA	N=G	67	N=A	68

En la **Tabla 18** se muestran ejemplos de sondas adecuadas para uso en la detección de información de secuencia en los métodos y sistemas descritos en la presente memoria.

Tabla 18: ejemplos de sondas para SNPs de núcleo

ID de rs	Cebador directo	SEQ ID NO	Cebador inverso	SEQ ID NO
rs1687 7182	TTTGAGAATACCAAAATACAGAAAA ATTCAATCAAATTTTAAAGTTGGTA	69	ATTAATATGAACAATAAC CTTATCATTAAATCAAAA GAATTAATCAAAGA	70

ID de rs	Cebador directo	SEQ ID NO	Cebador inverso	SEQ ID NO
	TAATTATACTTGTTATTGGAATGTA ATTTAGTTTTCTTAATTTAGTTTCT	71	AAACTCTTATGGTTTTAT GACTCTTTTATTGTTAGT TTAAAATTTCAACCAT	72
rs5013 093	GGAAAAACCCAGTGCCCTCCCCTC CTCTCAAGCCTGGCCAGCTCTGAC AG	73	CCCTCCTGAGGGGTTTT CTCTCCGAGACCGGGA CCGAGGTACAGGAAGG TC	74
	GGGAGGACTCCCCAAAGAGA GGCTCTGGCCCTGGCTCCATGTC CTTCCAG	75	CCTTTTTGGGTCAAGGG AGGGGAGGAGAGTTCCG GAGCGTTCGAGACTGTC	76
rs2461 911	GTCCAAATGTAATGTTCTAACTTAG TACATTTGGAAAATTTCTTCTAAC	77	GGAGACCCTTTTGTGTT TTATAATGAATGTTTTTA TTTACGTATTTTTAC	78
	CCTCTGGGAAAACACAAAATATTA CTTACAAAATAAATGCATAAAAAT G	79	CAGGTTTACATTACAAG ATTGAATCATGTAAACCT TTAAGAAAGGATTG	80
rs1251 3375	GCTCGCCTTGGTCCACTGTGACAC ACAGGCTGCTTTGCTGGGAAAGTT CT	81	GGAAGTGTGACCCCG ACGTAATTCGGACCCCT CCGTTGAAAGACCGCAC	82
	CCTGACTCACTGGGGCTGCATGAA GCCTGGGGAGGCAAGCTTCTGGC GTG	83	CGAGCGGAACCAGGTG ACACTGTGTGTCCGACG AAACGACCCTTTCAAGA	84
rs1689 3522	TGACACATGTGGCAGTCTGAAAAG TTCTTATTGAGCCAGACTGTAGAG TTCTTGAAAATC	85	GTATGGTAAAGTACCCT TAATACTAAGATGAGTC CGACCCTCCTCATGTAA TTGTCTTC	86
	CATACCATCTTCATGGGAATTATG ATTCTACTCAGGCTGGGAGGAGTA CATTAACTGAAG	87	ACTGTGTACACCGTCAG ACTTTTCAAGAATAACTC GGTCTGACATCTCAAGA ACCTTTAG	88
rs2345 088	CAACATTTGGATTATGGCATTGG GATTCTGATTTTTCAGAATTATGATT GGCAATTTTAA	89	ATTAAGACCGAGCCATA TAATTATTACGTTACGAA AAAAGTTCGATAAACATT CACTAAG	90
	TAATTCTGGCTCGGTATATTAATAA TGCAATGCTTTTTTCAAGCTATTTG TAAGTGATTG	91	GTTGTAAACCTAATACC GTAAACCCTAAGACTAA AAGTCTTAATACTAACC GTTAAAATT	92

5 Algunos de los métodos y sistemas mostrados en la presente memoria pueden superar determinadas limitaciones de uso terapéutico no farmacogenómico de la rosfuroxina proponiendo: la selección de un subconjunto de pacientes según sus características genéticas (SNPs). En particular, los SNPs en cuestión parecen resaltar la respuesta en la tensión sanguínea a la rosfuroxina (SNPs de núcleo) solos y en combinación con otros SNPs (CAND 1, CAND 2) implicados en mecanismos que conducen a hipertensión y complicaciones orgánicas y que también son atacadas por la rosfuroxina.

10 En particular, tanto los SNPs de núcleo como los SNPs de CAND 1 y CAND 2 contribuyen a los dos fenotipos de interés: a) respuesta al fármaco selectivo, b) desarrollo de hipertensión y sus complicaciones orgánicas. Además, desde un punto de vista práctico, ambos grupos de SNPs contribuyen a discriminar entre sujetos que responden y sujetos que no responden.

Este descubrimiento puede tener dos implicaciones importantes en el reto de encontrar el fármaco adecuado para el paciente adecuado, y para abrir una nueva línea de investigación dirigida a aplicar el concepto de entramado a una enfermedad (estudiado hasta el momento en modelos animales) a pacientes humanos. Los resultados de estudios sobre enfermedades poligénicas-multifactoriales en modelos animales sugieren que el paradigma actual: "una alteración molecular genética (o una variante génica o SNP)" "un mecanismo patofisiológico", y "un síntoma clínico o enfermedad", debería abandonarse en favor de un concepto más amplio de entramado de mecanismos de entorno genético. Una enfermedad puede surgir de una perturbación de dicho entramado. A continuación esta perturbación puede ser la diana de una nueva terapia "causal". Este nuevo concepto en desarrollo en modelos animales no es fácilmente aplicable a humanos debido a la indisponibilidad o a los tejidos u órganos específicos cuyas anomalías pueden activar la enfermedad de interés.

Los métodos descritos en la presente memoria aplican, por vez primera, esta estrategia en humanos. De hecho, la combinación de la perturbación genética (definida por los grupos de SNPs) con la perturbación funcional (medida como la respuesta de la tensión sanguínea a un agente antihipertensivo muy potente y selectivo, la rostafuroxina) da lugar a una nueva estrategia para la identificación de un entramado genético peculiar relacionado con la hipertensión y sus complicaciones orgánicas en un subconjunto clínicamente relevante de pacientes (aproximadamente un 25%), que tan solo en Europa supondrían 20 millones de personas.

En varias realizaciones, los métodos y sistemas descritos en la presente memoria tratan sobre la heterogeneidad genética del individuo paciente en un perfil y con la epistasia de un gen de interés. La heterogeneidad y la epistasia genética son dos problemas importantes a solventar para demostrar la causalidad de un mecanismo genético dado en enfermedades multifactoriales poligénicas. El término heterogeneidad genética indica que el mismo fenotipo (bioquímico, fisiológico o síntomas) se puede producir a través de diferentes mecanismos genéticos. El término epistasia indica que el efecto de la misma variante génica puede ser modulado (tanto truncado como magnificado) por otra variante procedente de un gen distante del gen de interés.

Estos dos fenómenos genéticos bien aceptados están dificultando todos los intentos de aplicar la genética al estudio de los mecanismos que subyacen en enfermedades humanas o en la respuesta a la terapia.

Por ejemplo, si se postula que una hormona dada (específicamente, ouabaina) o una proteína dada (específicamente, aducina) están implicadas en el origen de una enfermedad (específicamente, hipertensión), se debe admitir que los mecanismos genéticos implicados en la síntesis, transporte o excreción de la hormona también están implicados en la determinación de su nivel de tejido crítico y su efecto biológico.

De forma análoga, todos los genes que codifican para las proteínas implicadas en la modulación de la función celular de dicha proteína particular deberían ser considerados. Por supuesto, cada uno de estos mecanismos bioquímicos pueden verse afectados de forma diferente por el fondo genético del paciente individual.

En varias realizaciones, en los métodos y sistemas descritos en la presente memoria los descubrimientos comunes que unen los diversos SNPs del perfil son: a) la capacidad de SNPs para ser asociados a la respuesta de tensión sanguínea a la rostafuroxina (SNPs de núcleo); y b) la capacidad de los SNPs para afectar a la actividad de la rostafuroxina en estudios preclínicos y para ser asociados a mecanismos bioquímicos subyacentes a la hipertensión y sus complicaciones orgánicas (SNPs de CAND 1 y de CAND 2). Las ventajas prácticas de varias realizaciones de los métodos y sistemas descritos en la presente memoria sobre la terapia antihipertensiva actual incluyen un control de la tensión sanguínea obtenido de forma más rápida (a través de la reducción del periodo de ensayo y error) en el 25% de los pacientes, un 85% de probabilidad de clasificar sujetos que responden y sujetos que no responden frente al 30-40% de la estrategia actual, y una buena tolerancia y calidad de vida en el individuo tratado, tal como demuestran los resultados del ensayo para rostafuroxina, y, de forma más importante, un intervalo mucho más amplio de dosis de rostafuroxina entre las dosis activas y la dosis NOAEL (nivel de eventos no adversos) en animales (al menos 100.000 veces con rostafuroxina, pero solo 20-50 veces con el fármaco disponible). Adicionalmente, en varias realizaciones, los métodos y sistemas descritos en la presente memoria se pueden asociar a una prevención eficaz predecible de complicación orgánica, ya que la identidad entre los mecanismos afectados por la rostafuroxina y el subyacente en el daño a órganos en el subconjunto de pacientes seleccionados por algunos métodos y sistemas se describe en la presente memoria.

Esta eficacia mejorada predecible tiene 3 claras implicaciones sobre la estrategia actual: a) proporcionar un razonamiento (o argumento) de mayor peso para convencer a los pacientes de que sigan el tratamiento para la hipertensión que es solo un factor de riesgo, aunque no una enfermedad que provoque síntomas clínicos de alteración, b) reducir la carga a los pacientes que experimenten una complicación cardiovascular que al contrario que la hipertensión per se, pueda producir un alto grado de discapacidad, c) reducir el coste sanitario ya que la terapia antihipertensiva puede focalizarse en el subconjunto de pacientes con mayor riesgo de desarrollar complicaciones cardiovasculares y renales, que son el origen más importante de los costes sanitarios.

Finalmente, en el subconjunto de pacientes seleccionados con el perfil 4, la magnitud de la caída de la tensión sanguínea con la rostafuroxina es aproximadamente un 40% mayor que la obtenida con HCTZ o Losartan. Esta diferencia es mucho más grande que la detectada hasta la fecha en los diferentes fármacos antihipertensivos.

En general, los métodos y sistemas descritos en la presente memoria permiten, en varias realizaciones, una mejora de la terapia de afecciones cardiovasculares tales como la hipertensión. En la actualidad, solo el 30-40% de los pacientes hipertensivos no tratados nunca responden a la terapia con una caída clínicamente resuelta de la tensión sanguínea. Esto genera frustración en los médicos, requiere múltiples cambios de la terapia y reduce la conformidad de los pacientes. En consecuencia, la mayoría de los pacientes no son tratados de forma adecuada y esto limita la prevención de las complicaciones orgánicas asociadas a una tensión sanguínea elevada. Los métodos y sistemas descritos en la presente memoria permiten clasificar de forma correcta como sujetos que responden a la terapia de rostafuroxina a hasta un 85% de los pacientes, reduciendo de este modo la carga de encontrar un tratamiento activo. Una primera mejora de varias realizaciones está relacionada con la seguridad: la dosis efectiva de rostafuroxina en los pacientes seleccionados es muy baja y puede oscilar entre 50 y 500 µg/día. Las dosis efectivas en modelos animales relevantes van desde 0,1 hasta 100 µg/kg, mientras que la dosis máxima tolerada que no produce ningún efecto en animales (NOAEL) es de 100 mg/kg. Esto significa que el intervalo entre la dosis activa y la dosis máxima tolerada de rostafuroxina en animales es superior a 100.000 veces en comparación con las terapias antihipertensivas disponibles, para las cuales dicho intervalo oscila entre 20 y 50 veces. Algunos datos relativos a la eficacia y la seguridad de nuevas terapias antihipertensivas y en particular de estrategias terapéuticas tradicionales en comparación con las estrategias farmacogenómicas se muestra en la **Figura 10**.

En resumen, los usos y sistemas descritos en la presente memoria (genotipado + rostafuroxina) combinan una elevada seguridad con la predicción más precisa de la actividad antihipertensiva, anticipando de este modo un grado elevado de prevención de las complicaciones cardiovasculares cuyos mecanismos se ven obstaculizados por la rostafuroxina.

Incluso aunque se desconocen los mecanismos precisos del aumento de la caída de tensión sanguínea por rostafuroxina en individuos que portan al menos uno de los SNPs de núcleo seleccionados, es de esperar que estén relacionados con los mecanismos activados por las dianas moleculares afectadas por la rostafuroxina. Como consecuencia, es de esperar obtener beneficios más allá de los relacionados con la reducción de la tensión sanguínea por la rostafuroxina en individuos que portan los genotipos de SNPs de núcleo incluidos en los perfiles.

Los ejemplos establecidos anteriormente en la presente memoria se proporcionan para conferir a los especialistas en la técnica una descripción completa de cómo realizar y usar las realizaciones de los usos y sistemas de la descripción. Se pretende que las modificaciones de los modos descritos anteriormente para llevar a cabo la descripción que son evidentes para los especialistas en la técnica entren dentro del alcance de las reivindicaciones presentadas más adelante. Todas las patentes y publicaciones mencionadas en la especificación son indicativas de los niveles de habilidad de los especialistas en la técnica a la cual pertenece la presente descripción.

También debe entenderse que la terminología usada en la presente memoria tiene el propósito únicamente de describir realizaciones particulares. Tal como se usa en esta especificación y en las reivindicaciones anexas, las formas singulares "un", "uno", "una" y "el", "la" incluyen los referentes en plural a menos que el contenido claramente indique lo contrario. El término "pluralidad" incluye dos o más referentes a menos que el contenido claramente indique lo contrario. A menos que se defina de otro modo, todos los términos científicos y técnicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado utilizado habitualmente por los especialistas en la técnica a la cual pertenece la descripción.

Varios métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria pueden usarse en la práctica para evaluar los ejemplos específicos de materiales y métodos apropiados descritos en la presente memoria y son identificables por un especialista.

Se ha descrito una serie de realizaciones de la descripción.

REFERENCIAS

[1] Ferrari P, Ferrandi M, Tripodi G, Torielli L, Padoani G, Minotti E. PST 2238: a new antihypertensive compound that modulates Na,K-ATPase in genetic hypertension, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999; 288:1074 -1083.

[2] Ferrari P, Ferrandi M, Valentini G, Bianchi G. Rostafuroxin: an ouabain antagonist that corrects renal and vascular Na⁺-K⁺-ATPase alterations in ouabain and adducin-dependent hypertension. *Am J Physiol. Regul Integr Comp Physiol* 2006; 290:529 -535.

[3] Ferrari P, Ferrandi M, Torielli L, Tripodi G, Melloni P, Bianchi G. PST 2238: a new antihypertensive compound that modulates Na⁺,K⁺-ATPase and antagonizes the pressor effect of OLF. *Cardiovasc Drug Rev* 1999; 17:39-57.)

[4] Bianchi G. et al., *Pharmacogenomics* 2003 Mayo; 4(3):279-96.

[5] *J. Med. Chem.*, 1997; 40(11); 1561-1564.

[6] Ferrari P et al. *JPET* 1998; 285: 83-94.

- [7] 2003 European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. Guidelines Committee Journal of Hypertension. 21(6):1011-1053, June 2003.
- [8] O'Brien, Eoin; Asmar, Roland; Beilin, Lawrie; Imai, Yutaka; Mallion, Jean-Michel; Mancia, Giuseppe; Mengden, Thomas; Myers, Martin; Padfield, Paul; Palatini, Paolo; Parati, Gianfranco; Pickering, Thomas; Redon, Josep; Staessen, Jan; Stergiou, George; Verdecchia, Paolo en representación de la European Society of Hypertension Working Group on Blood Pressure Monitoring. European Society of Hypertension recommendations for conventional, ambulatory and home blood pressure measurement. Journal of Hypertension. 21(5):821-848, May 2003.
- [9] Sambrook J, Russell DW. Molecular cloning, A laboratory manual. (Capítulo 6). Cold Spring Harbor Laboratory Press 2001.
- [10] [10] Steemers FJ, Gunderson KL. Illumina Inc. Pharmacogenomics 2005; 6:777-782.
- [11] Phase I HapMap, 2005. The international HapMap Consortium. A Haplotype Map of The Human Genome 2005; 437:1299-1320.
- [12] Phase II HapMap, 2007. The international HapMap Consortium, A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. Nature 2007; 449: 851-861.
- [13] Report Valentini.
- [14] Page IH, Dustan HP. Persistence of normal blood pressure after discontinuing treatment in hypertensive patients. Circulation 1962; 25:433-436.
- [15] Fletcher AE, Franks PJ, Bulpitt CJ. The effect of withdrawing antihypertensive therapy: a review. J Hypertens 1988; 6:431-436.
- [16] Veterans Administration Cooperative Study Group on Antihypertensive Agents. Return of elevated blood pressure after withdrawal of antihypertensive drugs. Circulation 1975; 51:1107-1113.
- [17] Levinson PD, Khatri Im, Freis ED. Persistence of normal blood pressure after withdrawal of drug treatment in mild hypertension. Arch Int Med 1982; 142:2265-2268.
- [18] Nelson MR, Reid CM, Krum H, Ryan P, Wing LMH, McNeil JJ. Short-term predictors of maintenance of normotension after withdrawal of antihypertensive drugs in the second Australian national blood pressure study (ANBP2). American Journal Hypertens 2003; 16:39-45.
- [19] Takata Y, Yoshizumi T, Ito Y, Ueno M, Tsukashima A, Iwase M et al. Comparison of withdrawing antihypertensive therapy between diuretics and angiotensin converting enzyme inhibitors in essential hypertensives. American Heart Journal 1992; 124:1574-1580.
- [20] Blaufox MD, Langford HG, Oberman A, Hawkins CM, Wassertheil-Smoller S, Cutter GR. Effect of dietary change on the return of hypertension after withdrawal of prolonged antihypertensive therapy (DISH). J Hypertens 1984; 2 (supl. 3):179-181.
- [21] Ho GYF, Blaufox MD, Wassertheil-Smoller S, Oberman A, Langford HG. Plasma renin predicts success of antihypertensive drug withdrawal. American Journal Hypertens 1994; 7:679-684.
- [22] Swart S, Bing RF, Swales JD, Thurston H. Plasma renin in long-term diuretic treatment of hypertension: effect of discontinuation and restarting therapy. Clin Sci 1982; 63:121-125.
- [23] Fagerberg B, Wikstrand J, Berglund G, Hartford M, Ljungman S, Wendelhag I. Withdrawal of antihypertensive drug treatment: time-course for redevelopment of hypertension and effects upon left ventricular mass. J Hypertens 1992; 10:587-593.
- [24] Zanchetti A, Mancia G. The dilemma of placebo controlled studies: scientific evidence, guidelines, ethics and regulatory recommendations. J Hypertens 2009; 27:1-2.
- [25] Farquharson CAJ, Struthers AD. Gradual reactivation over time of vascular tissue angiotensin I to angiotensin II conversion during chronic lisinopril therapy in chronic heart failure. J Am Coll Cardiol 2002; 39:767-775.
- [26] Chevillard C, Brown NL, Jouquey S, Mathieu MN, Laliberté F, Hamon G. Cardiovascular actions and tissue-converting enzyme inhibitory effects of chronic enalapril and trandolapril treatment of spontaneously hypertensive rats. J Cardiovasc Pharmacol 1989; 14:297-301.
- [27] Unger T, Ganten D, Lang RE, Schölkens A. Persistent tissue converting enzyme inhibition following chronic treatment with Hoe498 and MK421 in spontaneously hypertensive rats. J Cardiovasc Pharmacol 1985; 7:36-41.

- [28] Paull JRA, Widdop RE. Persistent cardiovascular effects of chronic renin-angiotensin system inhibition following withdrawal in adult spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2001; 19:1393-1402.
- [29] Guerrero EI, Ardanaz N, Sevilla MA, Arèvalo MA, Montero MJ. Cardiovascular effects of nebivolol in spontaneously hypertensive rats persist after treatment withdrawal. *J Hypertens* 2006; 24:151-158.
- 5 [30] Dukacz SAW, Adams MA, Kline RL. The persistent effect of long-term enalapril on pressure natriuresis in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 1997; 273 0 42:F104-F112.
- [31] Wigginton JE, Cutler DJ, Abecasis GR. A note on exact tests of Hardy-Weinberg equilibrium. *Am J Hum Genet.* 2005; 76:887-893.
- [32] Devlin B, Bacanu B, Roeder K: Genomic Control in the Extreme. *Nature Genetics* 2004; 36:1129-1130.
- 10 [33] Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D. A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *Am. J. Hum Gen* 2007; 81:559-575.
- [34] The Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447:661-678.
- 15 [35] Potkin S, Turner J, Guffanti G, Lakatos A, Torri F, Keator DB, Macciardi F. Genome-wide Strategies for Discovering Genetic Influences on Cognition and Cognitive Disorders: Methodological Consideration. Submitted to *Cognitive Psychiatry Cogn Neuropsychiatry*. 2009;14(4-5):391-418
- [36] Agresti A. 1984. *Analysis of Ordinal Categorical Data* - New York: John Wiley & Sons, Inc.
- [37] Ressom HW, Varghese RS, Zhang Z, Xuan J, Clarke R. Classification algorithms for phenotype prediction in genomics and proteomics. *Front Biosci.* 2008; 1;13:691-708.
- 20 [38] Guidance for Industry: Pharmacogenomics data submission; informe de la FDA, marzo de 2005; <http://www.fda.aov/cder/guidance/index.htm>).
- [39] Phillips PC. Epistasis the essential role of gene interactions in the structure and evolution of genetic systems. *Nar Rev Genet* 2008; 9:855-867.
- 25 [40] Pheasant M, Mattick JS. Raising the estimate of functional human sequences. *Genome Res.* 2007 Sep;17(9):1245-53.

Listado de secuencias

<110> SIGMA-TAU BIANCHI, Giuseppe FERRARI, Patrizia MACCIARDI, Fabio

5 <120> MÉTODOS Y SISTEMAS PARA EL TRATAMIENTO FARMACOGÉNOMICO DE AFECCIONES CARDIOVASCULARES

<130> P310-USP

10 <140> 61/253.020

<141> 19-10-2009

<160> 92

15 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 101

20 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<221> características_misceláneas

25 <222> (51)..(51)

<223> N= A, C, G ó T

<400> 1

tttgagaata ccaaaatata gaaaaattca atcaaatttt aaagttggta ntaattatac 60

30 ttgttattgg aatgtaattt agttttctta atttagtttc t 101

<210> 2

<211> 101

<212> ADN

35 <213> Homo sapiens

<220>

<221> características_misceláneas

40 <222> (51)..(51)

<223> N= C ó T

<400> 2

tttgagaata ccaaaatata gaaaaattca atcaaatttt aaagttggta ntaattatac 60

45 ttgttattgg aatgtaattt agttttctta atttagtttc t 101

<210> 3

<211> 101

<212> ADN

50 <213> Homo sapiens

<220>

<221> características_misceláneas

55 <222> (51)..(51)

<223> N= A, C, G ó T

<400> 3

ggaaaaacc agtgccctcc cctcctctca agcctggcca gctctgacag ngggaggact 60

ccccaaagag aggctctggc cctggctcca tgtccttcca g 101

60 <210> 4

ES 2 551 877 T3

<211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <220>
 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= C ó T

10 <400> 4

ggaaaaaacc agtgcctcc cctcctctca agcctggcca gctctgacag ngggaggact 60

ccccaaagag aggctctggc cctggctcca tgccttcca g 101

<210> 5

15 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

20 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A, C, G ó T

<400> 5

25 gtccaaatgt aatgttctaa cttagtagat ttggaaaatt ctttcctaac ncctctggga 60

aaacacaaaa tattacttac aaaataaat gcataaaaat g 101

<210> 6

30 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

35 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= G ó A

<400> 6

gtccaaatgt aatgttctaa cttagtagat ttggaaaatt ctttcctaac ncctctggga 60

40 aaacacaaaa tattacttac aaaataaat gcataaaaat g 101

<210> 7

45 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

50 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A, C, G ó T

<400> 7

gctcgccttg gtccactgtg acacacaggc tgctttgctg ggaaagttct ncctgactca 60

ctggggctgc atgaagcctg gggaggcaag cttctggcgt g 101

55 <210> 8
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

ES 2 551 877 T3

<220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= G ó T

5

<400> 8

gctcgcttg gtccactgtg acacacaggc tgctttgctg ggaaagttct ncctgactca 60

ctggggctgc atgaagcctg gggaggcaag cttctggcgt g 101

10

<210> 9
 <211> 121
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

15

<220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (61)..(61)
 <223> N= A, C, G ó T

20

<400> 9

tgacacatgt ggcagtctga aaagttctta ttgagccaga ctgtagagtt cttggaaatc 60

ncataccatc ttcattggaa ttatgattct actcaggctg ggaggagtac attaactgaa 120

g 121

25

<210> 10
 <211> 121
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

30

<220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (61)..(61)
 <223> N= A ó G

35

<400> 10

tgacacatgt ggcagtctga aaagttctta ttgagccaga ctgtagagtt cttggaaatc 60

ncataccatc ttcattggaa ttatgattct actcaggctg ggaggagtac attaactgaa 120

g 121

40

<210> 11
 <211> 121
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

45

<220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (61)..(61)
 <223> N= A, C, G ó T

<400> 11

caacatttgg attatggcat ttgggattct gattttcaga attatgattg gcaattttaa 60

ntaattctgg ctcggtatat taataatgca atgctttttt caagctattt gtaagtgatt 120

50

c 121

<210> 12
 <211> 121

ES 2 551 877 T3

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 5 <221> características_misceláneas
 <222> (61)..(61)
 <223> N= C ó T

<400> 12

10 caacatttgg attatggcat ttgggattct gatcttcaga attatgattg gcaattttaa 60
 ntaattctgg ctcggtatat taataatgca atgctttttt caagctattt gtaagtgatt 120
 c 121

<210> 13
 <211> 101
 15 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 20 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=C

<400> 13

25 tttgagaata caaaatata gaaaattca atcaaatttt aaagttggta ntaattatac 60
 ttgttattgg aatgtaattt agttttctta atttagtttc t 101

<210> 14
 <211> 101
 30 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 35 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=T

<400> 14

40 tttgagaata caaaatata gaaaattca atcaaatttt aaagttggta ntaattatac 60
 ttgttattgg aatgtaattt agttttctta atttagtttc t 101

<210> 15
 <211> 101
 45 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 50 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=T

<400> 15

55 ggaaaaacc agtgcctcc cctcctctca agcctggcca gctctgacag ngggaggact 60
 ccccaaagag aggctctggc cctggctcca tgtccttcca g 101

<210> 16
 <211> 101

ES 2 551 877 T3

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 5 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=T

<400> 16

10 ggaaaaaccc agtgcctcc cctcctctca agcctggcca gctctgacag ngggaggact 60
 ccccaaagag aggctctggc cctggctcca tgtccttcca g 101

<210> 17
 <211> 101
 15 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 20 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A

<400> 17

25 gtccaaatgt aatgttctaa cttagtagat ttggaaaatt ctttcctaac ncctctggga 60
 aaacacaaaa tattacttac aaaataaat gcataaaaat g 101

<210> 18
 <211> 101
 30 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 35 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A

<400> 18

40 gtccaaatgt aatgttctaa cttagtagat ttggaaaatt ctttcctaac ncctctggga 60
 aaacacaaaa tattacttac aaaataaat gcataaaaat g 101

<210> 19
 <211> 101
 45 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 50 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=T

<400> 19

55 gctcgccttg gtccactgtg acacacaggc tgctttgctg ggaaagttct ncctgactca 60
 ctggggctgc atgaagcctg gggaggcaag cttctggcgt g 101

<210> 20
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

ES 2 551 877 T3

<220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 5 <223> N=T

 <400> 20
 gctcgccttg gtccactgtg acacacaggc tgctttgctg ggaaagttct nctgactca 60
 ctggggctgc atgaagcctg gggaggcaag cttctggcgt g 101
 10
 <210> 21
 <211> 121
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 15
 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (61)..(61)
 <223> N= A
 20
 <400> 21
 tgacacatgt ggcagtctga aaagttctta ttgagccaga ctgtagagtt cttggaaatc 60
 ncataccatc ttcattggaa ttatgattct actcaggctg ggaggagtac attaactgaa 120
 g 121
 25
 <210> 22
 <211> 121
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 30
 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (61)..(61)
 <223> N= A
 35
 <400> 22
 tgacacatgt ggcagtctga aaagttctta ttgagccaga ctgtagagtt cttggaaatc 60
 ncataccatc ttcattggaa ttatgattct actcaggctg ggaggagtac attaactgaa 120
 g 121
 40
 <210> 23
 <211> 121
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 45
 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (61)..(61)
 <223> N=T
 50
 <400> 23
 caacatttgg attatggcat ttgggattct gattttcaga attatgattg gcaattttaa 60
 ntaattctgg ctcggtatat taataatgca atgctttttt caagctatgt gtaagtgatt 120
 c 121

ES 2 551 877 T3

<210> 24
 <211> 121
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 5
 <220>
 <221> características_misceláneas
 <222> (61)..(61)
 <223> N=T
 10
 <400> 24
 caacatttgg attatggcat ttgggattct gattttcaga attatgattg gcaattttaa 60
 ntaattctgg ctccgtatat taataatgca atgctttttt caagctattt gtaagtgatt 120
 c 121
 15
 <210> 25
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 20
 <220>
 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A, C, G ó T
 25
 <400> 25
 agaagacaag atggctgaac tctggccggg gcgacgaagc ttccgaggaa nggcagaatg 60
 gaagcagtcc caagtcgaag actaaggtgt ggacgaacat t 101
 30
 <210> 26
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 35
 <220>
 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= G ó T
 40
 <400> 26
 agaagacaag atggctgaac tctggccggg gcgacgaagc ttccgaggaa nggcagaatg 60
 gaagcagtcc caagtcgaag actaaggtgt ggacgaacat t 101
 45
 <210> 27
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 50
 <220>
 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A, C, G ó T
 <400> 27
 cttcatcaaa acacacctac caatatgtta ctccagatgt ggagggaac nctgaagaac 60
 55
 tcgcacacgg ccggaccaga gcctggctct cgttcctgtc c 101

ES 2 551 877 T3

<210> 28
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 5
 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= G ó A
 10
 <400> 28
 ctt'catcáaa acacacctac caatatgtta ctccagatgt ggagggcaac nctgaagaac 60
 tcgcacacgg cggaccaga gcctggctct cgttcctgtc c 101
 15
 <210> 29
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 20
 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A, C, G ó T
 25
 <400> 29
 ctacaagtct tttatgctct gaagcttttt gtcttggcaa ttgctttaca ncattcacia 60
 aggacagcat ttacctggag acctcaccag tgggtccctg c 101
 30
 <210> 30
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 35
 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51).
 <223> N= A ó T
 40
 <400> 30
 ctacaagtct tttatgctct gaagcttttt gtcttggcaa ttgctttaca ncattcacia 60
 aggacagcat ttacctggag acctcaccag tgggtccctg c 101
 45
 <210> 31
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 50
 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A, C, G ó T
 <400> 31
 tctgaacaat ttgggatctc ttttaacttg agggctctctt tcgactacta nagctccatt 60
 tcccctotta aatgagaagg gatttctttt cttttaaatc t 101
 55
 <210> 32
 <211> 101

ES 2 551 877 T3

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 5 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= C ó T

<400> 32

10 tctgaacaat ttgggatctc ttttaacttg aggggtctctt tcgactacta nagctccatt 60
 tcccccttta aatgagaagg gattttctttt cttttaaatc t 101

<210> 33
 15 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 20 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A, C, G ó T

<400> 33

25 gccagggact gctacctgcc cagaaggcgg cagggagggg aagagcagat naggaggtat 60
 aggggtgtgcc ctgggcaagg cagcaggggt aacgaagctc t 101

<210> 34
 30 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 35 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A ó G

<400> 34

40 gccagggact gctacctgcc cagaaggcgg cagggagggg aagagcagat naggaggtat 60
 aggggtgtgcc ctgggcaagg cagcaggggt aacgaagctc t 101

<210> 35
 45 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 50 <221> características_misceláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A, C, G ó T

<400> 35

55 gagaacattg cctatggaga caacagccgg gtggtgtcac aggaagagat ngtgagggca 60
 gcaaaggagg ccaacataca tgccttcac gagtcactgc c 101

<210> 36
 60 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

ES 2 551 877 T3

<220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= C ó T
 5 <400> 36
 gagaaçattg cctatggaga caacagccgg gtggtgtcac aggaagagat ngtgagggca 60
 gcaaaggagg ccaacataca tgccttcac gagtcactgc c 101
 10 <210> 37
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 15 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A, C, G ó T
 20 <400> 37
 acagtaatag tctathtagc ctctttctct cctgctctcc tttccatatt nttatgtggc 60
 atattaactt aactaatg tatgcagggt tttgttggtt t 101
 <210> 38
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 25 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= C ó T
 30 <400> 38
 35 acagtaatag tctathtagc ctctttctct cctgctctcc tttccatatt nttatgtggc 60
 atattaactt aactaatg tatgcagggt tttgttggtt t 101
 <210> 39
 <211> 100
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 40 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A, C, G ó T
 45 <400> 39
 aatgtgattt ttgatataat tctcatgttt tagcttttct agtttaaaaa nctgcatact 60
 50 ggaaaataag gaaaaattc tagaggttgt atgagaagga 100
 <210> 40
 <211> 100
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 55 <220>

ES 2 551 877 T3

<221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= C ó T

5 <400> 40

aatgtgattt ttgatataat tctcatgttt tagcttttct agtttaaaaa nctgcatact 60

ggaaaataag gaaaaaattc tagaggttgt atgagaagga 100

<210> 41
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10

<220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A, C, G ó T

15

<400> 41

20

aaccaacttt agcataccaa gtttagcatt taggcatacc aactttagca ntggtataca 60

gaataatggt agcattggaa ggatctatta acaaaagaaa g 101

<210> 42
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25

<220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (5-1)..(51)
 <223> N= C ó T

30

<400> 42

aaccaacttt agcataccaa gtttagcatt taggcatacc aactttagca ntggtataca 60

35 gaataatggt agcattggaa ggatctatta acaaaagaaa g 101

<210> 43
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

40

<220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A, C, G ó T

45

<400> 43

cctcatgcaa agcaacttgt cacacactgt ctcatittcaa catcaccgcc ncttaaggag 60

atgctatgat caaccccact ttgcagatga ggaaacttca g 101

50

<210> 44
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

55

<220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)

ES 2 551 877 T3

<223> N= C ó A

<400> 44

cctcatgcaa agcacttgct cacacactgt ctcatittcaa catcaccgcc ncttaaggag 60

5 atgctatgat caaccccact ttgcagatga ggaaacttca g 101

<210> 45
<211> 101
<212> ADN
10 <213> Homo sapiens

<220>
<221> características_miscláneas
<222> (51)..(51)
15 <223> N= A, C, G ó T

<400> 45

ctggagctcg ccttacacca aacagacaca atcgatccat tcgaagtgtc ntaattacac 60

20 attgagggac caactagacc ttttctcatt gtaaacttgg a 101

<210> 46
<211> 101
<212> ADN
25 <213> Homo sapiens

<220>
<221> características_miscláneas
<222> (51)..(51)
30 <223> N= G ó A

<400> 46

ctggagctcg ccttacacca aacagacaca atcgatccat tcgaagtgtc ntaattacac 60

35 attgagggac caactagacc ttttctcatt gtaaacttgg a 101

<210> 47
<211> 101
<212> ADN
40 <213> Homo sapiens

<220>
<221> características_miscláneas
<222> (51)..(51)
45 <223> N= G ó T

<400> 47

agaagacaag atggctgaac tctggccggg gcgacgaagc ttccgaggaa nggcagaatg 60

gaagcagtc caagtcgaag actaaggtgt ggacgaacat t 101

<210> 48
50 <211> 101
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
55 <221> características_miscláneas
<222> (51)..(51)
<223> N=T

<400> 48

ES 2 551 877 T3

agaagacaag atggctgaac tctggccggg gcgacgaagc ttccgaggaa nngcagaatg 60

gaagcagtcc caagtcgaag actaaggtgt ggacgaacat t 101

5 <210> 49
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=C

<400> 49

cttcatcaaa acacacctac caatatgtta ctccagatgt ggagggcaac nctgaagaac 60

15 tgcacacgg cggaccaga gcttggtct cgttcctgtc c 101

20 <210> 50
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=C

<400> 50

cttcatcaaa acacacctac caatatgtta ctccagatgt ggagggcaac nctgaagaac 60

30 tgcacacgg cggaccaga gcttggtct cgttcctgtc c 101

35 <210> 51
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

40 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A ó T

<400> 51

ctaçaagtct tttatgctct gaagcttttt gtottggcaa ttgctttaca ncattcacia 60

aggacagcat ttacctggag acctcaccag tgggtccctg c 101

45 <210> 52
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

50 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=T

55 <400> 52

ES 2 551 877 T3

ctacaagtct tttatgctct gaagcttttt gtcttggcaa ttgctttaca ncattcacia 60
 aggacagcat ttacctggag acctcaccag tgggtccctg c 101

5 <210> 53
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=G

<400> 53

tctgaacaat ttgggatctc ttttaacttg aggggtctctt tcgactacta nagctccatt 60
 15 tcccctctta aatgagaagg gatttctttt cttttaaatc t 101

20 <210> 54
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=G

<400> 54

tctgaacaat ttgggatctc ttttaacttg aggggtctctt tcgactacta nagctccatt 60
 30 tcccctctta aatgagaagg gatttctttt cttttaaatc t 101

35 <210> 55
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

40 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A

<400> 55

gccagggact gctacctgcc cagaaggcgg cagggagggg aagagcagat naggaggtat 60
 aggggtgtgcc ctgggcaagg cagcaggggt aacgaagctc t 101

45 <210> 56
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

50 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A

55 <400> 56

ES 2 551 877 T3

gccagggact gctacctgcc cagaagggcg cagggagggg aagagcagat naggaggtat 60
 aggggtgtgcc ctgggcaagg cagcaggggt aacgaagctc t 101

<210> 57
 <211> 101
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> características_miscláneas
 10 <222> (51)..(51)
 <223> N=T

<400> 57

gagaacattg cctatggaga caacagccgg gtggtgtcac aggaagagat ngtgagggca 60
 15 gcaaaggagg ccaacataca tgccttcac gagtcactgc c 101

<210> 58
 <211> 101
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 25 <223> N=T

<400> 58

gagaacattg cctatggaga caacagccgg gtggtgtcac aggaagagat ngtgagggca 60
 30 gcaaaggagg ccaacataca tgccttcac gagtcactgc c 101

<210> 59
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 35

<220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N= A ó G
 40

<400> 59

acagtaatag tctathtagc ctctttctct cctgctctcc tttccatatt nttatgtggc 60
 átattaactt aactaatg tatgcaggggt tttgttggtt t 101

45 <210> 60
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

50 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=G

55 <400> 60

ES 2 551 877 T3

acagtaatag tctathtagc ctctttctct cctgctctcc tttccatatt nttatgtgga 60

atattaactt aacactaatg tatgcagggt tttggttggt t 101

5 <210> 61
 <211> 100
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=C

<400> 61

aatgtgattt ttgatataat tctcatgttt tagcttttct agtttaaaaa nctgcatact 60

15 ggaaaataag gaaaaaattc tagaggttgt atgagaagga 100

20 <210> 62
 <211> 100
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=T

<400> 62

aatgtgattt ttgatataat tctcatgttt tagcttttct agtttaaaaa nctgcatact 60

30 ggaaaataag gaaaaaattc tagaggttgt atgagaagga 100

35 <210> 63
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

40 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=C

<400> 63

aaccaacttt agcataccaa gtttagcatt taggcatacc aactttagca ntggtataca 60

45 gaataatggt agcattggaa ggatctatta acaaaagaaa g 101

50 <210> 64
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

55 <220>
 <221> características_miscláneas
 <222> (51)..(51)
 <223> N=C

<400> 64

ES 2 551 877 T3

aaccaacttt agcataccaa gtttagcatt taggcatacc aactttagca ntggtataca 60
gaataatggt agcattggaa ggatctatta acaaaagaaa g 101

<210> 65
<211> 101
5 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<221> características_miscláneas
10 <222> (51)..(51)
<223> N= A

<400> 65

cctcatgcaa agcacttgct cacacactgt ctcatctcaa catcaccgcc ncttaaggag 60
15 atgctatgat caaccccact ttgcagatga ggaaacttca g 101

<210> 66
<211> 101
20 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<221> características_miscláneas
25 <222> (51)..(51)
<223> N= A

<400> 66

cctcatgcaa agcacttgct cacacactgt ctcatctcaa catcaccgcc ncttaaggag 60
30 atgctatgat caaccccact ttgcagatga ggaaacttca g 101

<210> 67
<211> 101
35 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<221> características_miscláneas
40 <222> (51)..(51)
<223> N=G

<400> 67

ctggagctcg ccttacacca aacagacaca atcgatccat tcgaagtgtc ntaattacac 60
attgagggac caactagacc ttttctcatt gtaaacttgg a 101

<210> 68
<211> 101
45 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<221> características_miscláneas
50 <222> (51)..(51)
<223> N= A

<400> 68

ES 2 551 877 T3

ctggagctcg ccttacacca aacagacaca atcgatccat tçgaagtgtc ntaattacac 60
attgagggac caactagacc ttttctcatt gtaaacttgg a 101

<210> 69
<211> 50
5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético
10 <400> 69

ttgagaata ccaaaatata gaaaaattca atcaaattt aaagttgta 50

15 <210> 70
<211> 51
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Polinucleótido sintético
<400> 70

25 attaatatga acaataacct tatcattaa tcaaaagaat taaatcaaag a 51

<210> 71
<211> 50
<212> ADN
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético

35 <400> 71

taattatact tçttattgga atgtaattta gtttcttaa ttagtttct 50

<210> 72
40 <211> 52
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
45 <223> Polinucleótido sintético
<400> 72

aaactcttat ggtttatga ctctttatt gttagttaa aattcaacc at 52

50 <210> 73
<211> 50
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

55 <220>
<223> Polinucleótido sintético
<400> 73

60 ggaaaaaacc agtgcctcc cctcctca agcctggcca gctctgacag 50

<210> 74
<211> 51

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Polinucleótido sintético

 <400> 74

 ccctcctgag gggtttctc tccgagaccg ggaccgaggt acaggaaggt c 51
 10
 <210> 75
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Polinucleótido sintético

 <400> 75
 20
 gggaggactc cccaaagaga ggctctggcc ctggctccat gtcctccag 50

 <210> 76
 <211> 50
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Polinucleótido sintético
 30
 <400> 76

 ccttttggg tcacgggagg ggaggagagt tccgaccggt cgagactgtc 50
 35
 <210> 77
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Polinucleótido sintético

 <400> 77
 45
 gtccaaatgt aatgttctaa ctagtacat ttggaaaatt cttcctaac 50

 <210> 78
 <211> 50
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Polinucleótido sintético

 <400> 78
 55
 ggagaccctt ttgtgttta taatgaatgt tttatttac gtattttac 50

 <210> 79
 60 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 65 <223> Polinucleótido sintético

<400> 79
cctctgggaa aacacaaaat attacttaca aaaataaatg cataaaaatg 50

5 <210> 80
<211> 50
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Polinucleótido sintético

<400> 80

15 caggttaca ttacaagatt gaatcatgta aacctttaa gaaaggattg 50

<210> 81
<211> 50
<212> ADN

20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético

25 <400> 81

gctcgccttg gtccactgtg acacacaggc tgctttgctg ggaaagtct 50

<210> 82
<211> 50
<212> ADN

30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético

35 <400> 82

ggactgagtg accccgacgt actcggacc cctccgttcg aagaccgcac 50

40 <210> 83
<211> 50
<212> ADN

45 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético

<400> 83

50 cctgactcac tggggctgca tgaagcctgg ggaggcaagc ttctggcgtg 50

<210> 84
<211> 50

55 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético

60 <400> 84

cgagcggaac caggtgacac tgtgtgtccg acgaaacgac ctttcaaga 50

65 <210> 85
<211> 60

ES 2 551 877 T3

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Polinucleótido sintético

 <400> 85

 10 tgacacatgt ggcagtctga aaagttcta ttgagccaga ctgtagagtt cttggaaatc 60
 <210> 86
 <211> 59
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Polinucleótido sintético

 <400> 86
 20 gtatggtaa gtaccctaa tactaagatg agtccgacc tcctcatgta attgtctc 59
 <210> 87
 <211> 60
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Polinucleótido sintético
 30
 <400> 87

 cataccatct tcatgggaat tatgattcta ctcaggctgg gaggagtaca ttaactgaag 60
 35 <210> 88
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Polinucleótido sintético

 <400> 88
 45 actgtgtaca ccgtcagact ttcaagaat aactcggctc gacatctcaa gaaccttag 60
 <210> 89
 <211> 60
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Polinucleótido sintético
 55
 <400> 89

 caacattgg attatggcat ttgggattct gatttcaga attatgattg gcaatttaa 60
 60 <210> 90
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 65 <223> Polinucleótido sintético

ES 2 551 877 T3

<400> 90

attaagaccg agccatataa ttattacggt acgaaaaaag ttcgataaac attcactaag 60

5 <210> 91
<211> 60
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Polinucleótido sintético

<400> 91

15 taattctggc tcggtatatt aataatgcaa tgctttttc aagctatttg taagtgattc 60

<210> 92
<211> 60
<212> ADN
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético

25 <400> 92

gttgtaaacc taataccgta aaccctaaga ctaaaagtct taatactaac cggtaaaatt 60

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Rostafuroxina para uso en el tratamiento o la prevención de una afección cardiovascular en un individuo, donde dicho individuo ha sido seleccionado por ser un portador de: al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs2345088, rs16877182, rs16893522, rs2461911, rs5013093 y rs12513375 en, respectivamente, las secuencias de nucleótido de SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 7, y donde al menos un genotipo se selecciona del grupo que consiste en: genotipo TT para rs2345088, genotipo heterocigoto C/T para rs16877182, genotipo AA para rs16893522, genotipo AA para rs2461911, genotipo TT para rs5013093 y genotipo TT para rs12513375.
- 10 **2.** La rostafuroxina para uso según la reivindicación 1, donde el individuo ha sido seleccionado adicionalmente por ser un portador de un polimorfismo en al menos un gen CAND 1 seleccionado del grupo que consiste en ADD1, ADD2, ADD3, LSS, MDR1, HSD3B1, CYP11A1 y SLC04C1, un gen CAND 2 seleccionado del grupo que consiste en ACTN 1, ADRA1A, AGTR1, AQP2, ATP1A3, CLCNKA, CLCNKB, FXYD2, FXYD6, FYN, NEDD4L, NKAIN3, PKD1, PKD2, SCNN1 B, SGK1, SLC12A1, SLC8A1, TJP1, UMOD y WNK1, y/o un gen GWS seleccionado del grupo que
15 consiste en ARL5A, ATP2A3, COX10, DPH5, FAIM3, FAM46A, HCG9, HLA-A, HLA-F, HLA-G, KCNS3, LOCI 31691, LOC389174, LOC389970, LOC642727, LOC644192, LOC649458, LOC728360, LOC728316, PIGR, RCADH5, RP3-377H14.5, SH3PXD2A, SLC30A7, THSD7A, TMEM200A, TRIM31, TTC29 y VCAM1.
- 3.** La rostafuroxina para uso según la reivindicación 2, donde el individuo ha sido seleccionado adicionalmente por ser también un portador de al menos un polimorfismo en al menos un gen seleccionado del grupo que consiste en ADD1, ADD2, ADD3, CYP1 1A1, HSD3B1, LSS, ABCB/MDR1 y SLC04C1.
- 20 **4.** La rostafuroxina para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el individuo ha sido seleccionado adicionalmente por ser un portador de al menos un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que consiste en rs4961, rs4984, rs3731566, rs914247 y rs1045642.
- 5.** La rostafuroxina para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el individuo ha sido seleccionado adicionalmente por ser un portador del genotipo AA para rs914247.
- 25 **6.** La rostafuroxina para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el individuo ha sido seleccionado adicionalmente por ser un portador de al menos un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que consiste en rs242093, rs1996396, rs10503806, rs13251780, rs17430706, rs10102024, rs526302, rs544104, rs3102087, rs5183, rs3772627, rs2276736, rs2131127, rs3741559, rs2217342, rs10927888, rs6604909, rs945403, rs7117314, rs10790212, rs11216598, rs910682, rs13218316, rs4309483, rs13280307, rs4739037, rs17596774,
30 rs2728108, rs17786456, rs7696304, rs2725222, rs17199565, rs2758152, rs1057293, rs16960712, rs759359, rs404214, rs1005213, rs17025453, rs2110923, rs1428571, rs435404, rs12908787, rs11647727, rs880054 y rs11064584.
- 7.** La rostafuroxina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el individuo ha sido seleccionado adicionalmente por ser un portador de al menos un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que
35 consiste en rs12996186, rs9893372, rs7216331, rs7521668, rs188334, rs4998662, rs16893522, rs6457110, rs3893464, rs2517718, rs1362126, rs5013093, rs2345088, rs6718282, rs721207, rs2555500, rs2461911, rs8179654, rs1901139, rs2427832, rs9361863, rs1998394, ga001619, rs2275531, rs748140, rs4710592, rs2743951, rs10159569, rs3087816, rs10493940, rs16877182, rs2326912, rs1110446, rs12513375 y rs17414954.
- 8.** La rostafuroxina para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el individuo ha sido seleccionado adicionalmente por ser un portador de al menos un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que
40 consiste en rs4961, rs4984, rs10923835, rs947130, rs914247, rs1045642, rs880054, rs10502933, rs2131127, rs4309483 y rs4739037.
- 9.** La rostafuroxina para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el individuo ha sido seleccionado adicionalmente por ser un portador de al menos un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que
45 consiste en rs1045642, rs10923835, rs914247, rs4961, rs947130, rs4309483, rs2131127, rs10502933 y rs880054 (perfil 8).
- 10.** La rostafuroxina para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el individuo ha sido seleccionado adicionalmente por ser un portador de al menos un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del grupo que consiste en rs1045642, rs10923835, rs914247, rs947130, rs4739037, rs4309483, rs4984, rs10502933 y
50 rs880054 (perfil 9).
- 11.** La rostafuroxina para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde la afección cardiovascular es hipertensión y/o una afección asociada a la misma, siendo elegida dicha afección cardiovascular preferiblemente del grupo que consiste en: hipertrofia cardiaca, insuficiencia cardiaca, fallo cardiaco, isquemia cardiaca, incremento de resistencias vasculares, incremento de reactividad vascular, rigidez vascular, incremento de espesor vascular,
55 hipertrofia renal, fallo renal, glomeruloesclerosis, proteinuria, enfermedad renal policística, daño retinal, trastornos cerebrovasculares, apoplejía, síndrome de Meniere, trastornos cognitivos, trastornos bipolares.

12. Rostafuroxina para uso como medicamento en el tratamiento o la prevención de una afección cardiovascular en un individuo según la reivindicación 1, en una dosis de entre 0,005 mg/día y 5 mg/día.

5 **13.** La rostafuroxina para uso según la reivindicación 12, donde el individuo ha sido seleccionado adicionalmente por ser un portador también de un polimorfismo en al menos un: gen CAND 1, seleccionado del grupo que consiste en ADD1, ADD2, ADD3, LSS, MDR1, HSD3B1, CYP11A1 y SLC04C1; gen CAND 2 seleccionado del grupo que
10 consiste en ACTN1, ADRA1A, AGTR1, AQP2, ATP1A3, CLCNKA, CLCNKB, FXYD2, FXYD6, FYN, NEDD4L, NKAIN3, PKD1, PKD2, SCNN1 B, SGK1, SLC12A1, SLC8A1, TJP1, UMOD y WNK1; y/o gen GWS, seleccionado del grupo que consiste en ARL5A, ATP2A3, COX10, DPH5, FAIM3, FAM46A, HCG9, HLA-A, HLA-F, HLA-G, KCNS3, LOCI 31691, LOC389174, LOC389970, LOC642727, LOC644192, LOC649458, LOC728360, LOC728316,
15 PIGR, RCADH5, RP3-377H14.5, SH3PXD2A, SLC30A7, THSD7A, TMEM200A, TRIM31, TTC29 y VCAM1, y donde la administración o la prescripción de rostafuroxina al individuo da como resultado una bajada media de la tensión sanguínea que oscila entre aproximadamente 8 y aproximadamente 22,5 mmHg.

14. La rostafuroxina para uso según la reivindicación 13, donde al menos un gen CAND 1, un gen CAND 2 y un gen GWS se selecciona a partir del grupo que consiste en MDSR 2, HSD18, LSS2, HSD19, ADD2, WNK, donde el
15 polimorfismo en al menos un gen CAND 1, un gen CAND 2 y/o un gen GWS es preferiblemente un polimorfismo de nucleótido único.

15. Un método para identificar a un individuo con una respuesta mejorada a la rostafuroxina, método que comprende la detección en una muestra de ADN aislado del individuo de un polimorfismo de nucleótido único seleccionado del
20 grupo que consiste en rs234508, rs16877182, rs16893522, rs2461911, rs5013093 y rs12513375, en, respectivamente, las secuencias de nucleótido de SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 7, donde la presencia del SNP (polimorfismo de nucleótido único) se correlaciona con una respuesta mejorada a la rostafuroxina en dicho individuo, presentando dicho individuo al menos un genotipo
25 seleccionado del grupo que consiste en: genotipo TT para rs2345088, genotipo heterocigoto C/T para rs16877182, genotipo AA para rs16893522, genotipo AA para rs2461911, genotipo TT para rs5013093 y genotipo TT para rs12513375.

16. Un kit de partes para evaluar el tratamiento con rostafuroxina para un individuo, kit que comprende: una sonda para el al menos un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en rs2345088, rs16877182, rs16893522,
30 rs246191 1, rs5013093 y rs12513375; y una composición farmacéutica que comprende rostafuroxina en una dosis que varía entre 0,005 mg y 5 mg/día y en particular entre 0,05 y 0,5 mg/día y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde la sonda comprende al menos un polinucleótido aislado seleccionado del grupo que consiste, respectivamente, en las SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID
35 NO: 8 ó un fragmento de las mismas, siendo el fragmento capaz de hibridarse específicamente con una secuencia complementaria a SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 4 ó SEQ ID NO: 8.

17. El kit de partes de la reivindicación 16 comprende además una sonda para al menos un polimorfismo
35 seleccionado del grupo que consiste en rs4961, rs4984, rs10923835, rs947130, rs914247, rs1045642, rs880054, rs10502933, rs2131127, rs4309483 y rs4739037, donde la sonda comprende preferiblemente al menos un polinucleótido aislado seleccionado del grupo que consiste, respectivamente, en SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44 y SEQ ID NO: 46 ó un fragmento de las mismas, fragmento que sea capaz de hibridarse
40 específicamente con una secuencia complementaria a SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44 ó SEQ ID NO: 46.

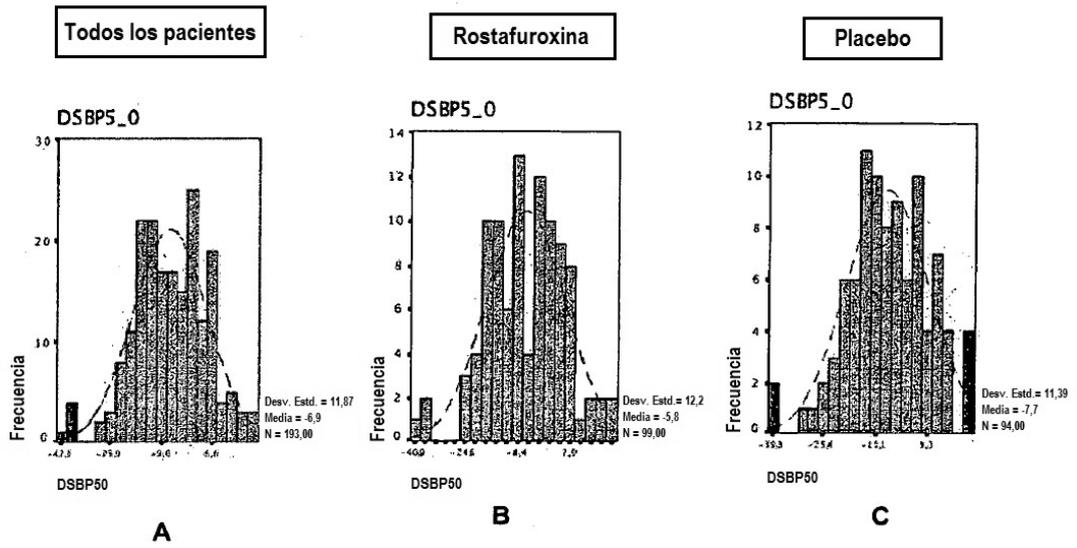


FIG. 1

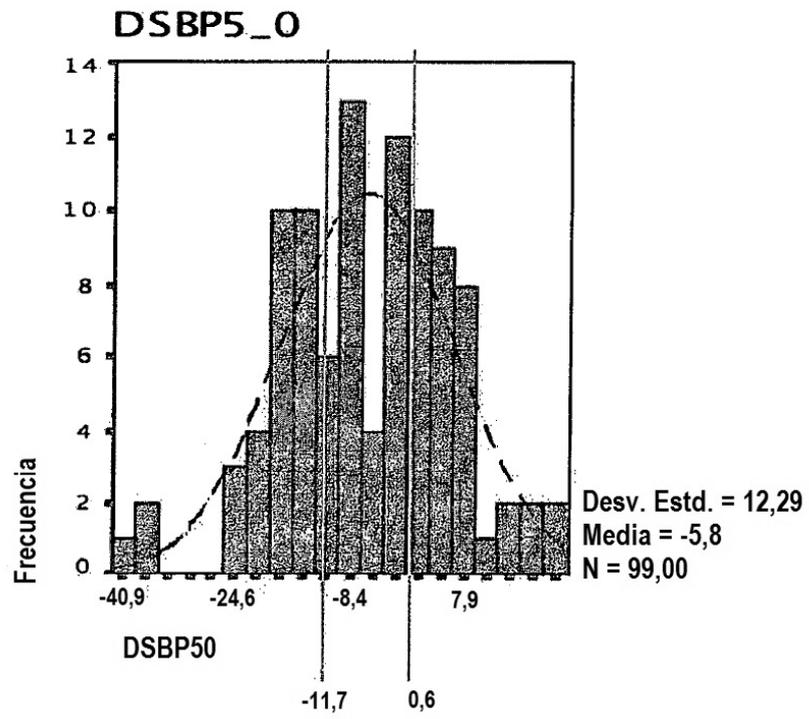


FIG. 2

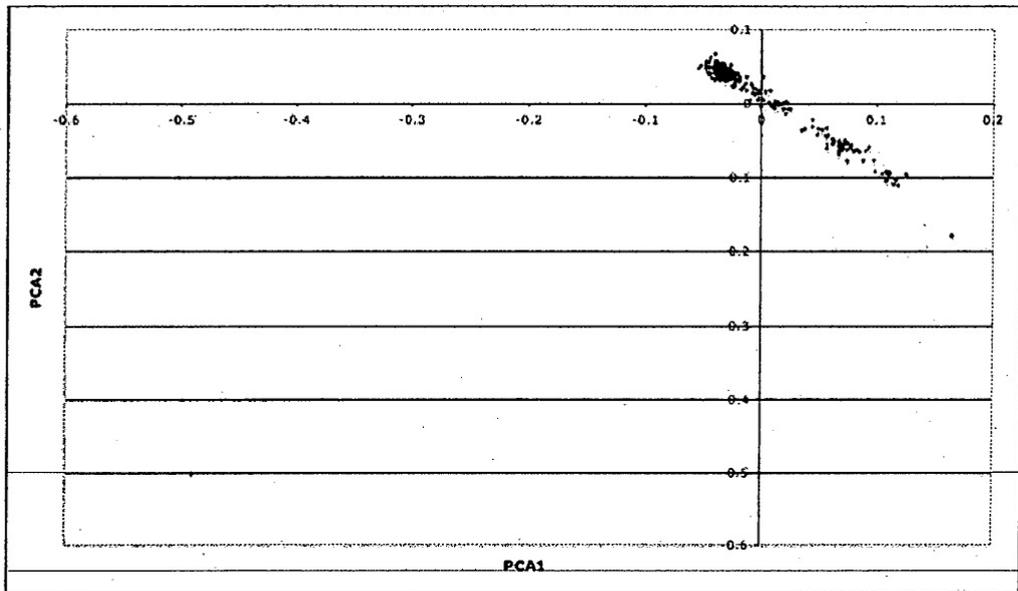


FIG. 3

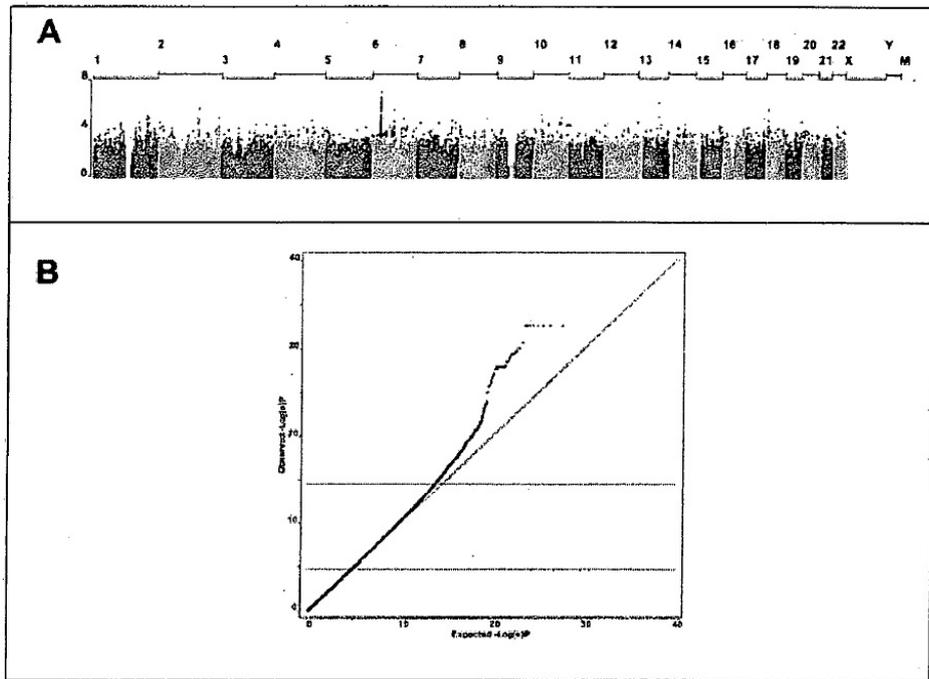


FIG. 4

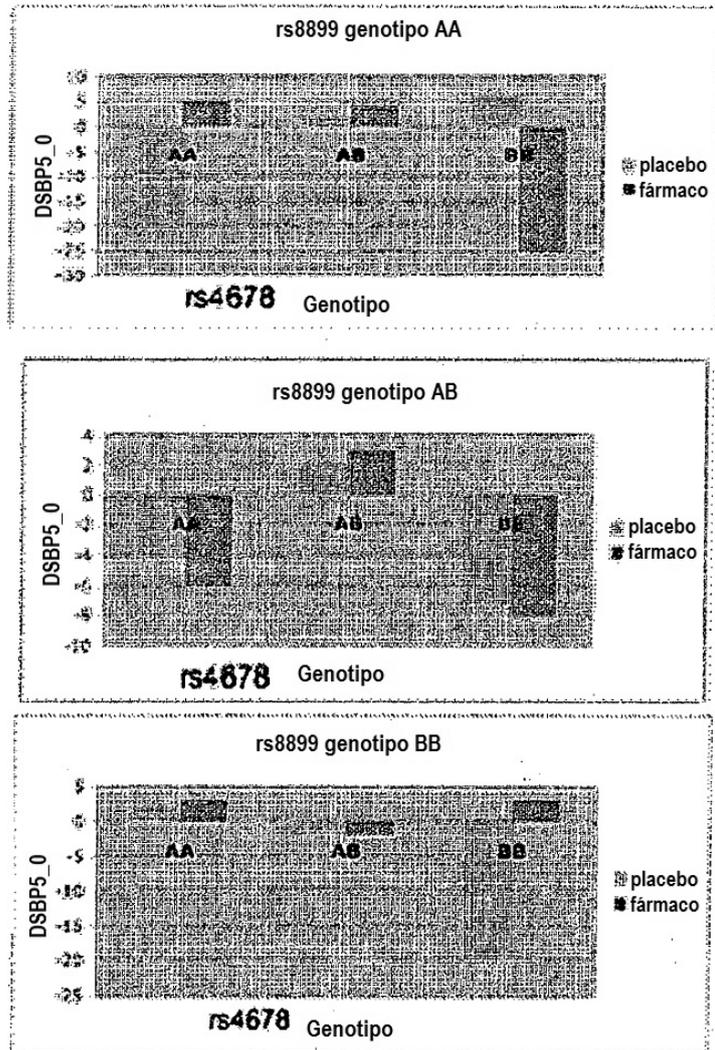


FIG. 5

2) Análisis ANOVA de rs2461911 para el grupo de terapia:

Resumen de DSBP50		Resumen de DSBP50	
rs2461911	Media	Desv. Estd.	Frec.
1	-20,6	12,67024	5
2	-7,9238095	12,361344	42
3	-2,7211539	10,96131	52
Total	-5,8313131	12,294097	99

1) Análisis ANOVA de rs2461911 para el grupo de placebo:

Resumen de DSBP50		Resumen de DSBP50	
rs2461911	Media	Desv. Estd.	Frec.
1	2,2166667	10,168268	6
2	-6,7055556	11,987897	36
3	-9,4923076	10,596815	52
Total	-7,6776596	11,390603	94

Análisis de Varianza		Análisis de Varianza	
Fuente	SS	df	MS
Entre grupos	792,638933	2	396,319467
Intragrupos	11273,7243	91	123,88708
Total	12066,3632	93	129,745841

Fuente	SS	df	MS	F	Prob >
Entre grupos	1777,46998	2	888,734988	6,55	0,0022
Intragrupos	13034,7227	96	135,778362		
Total	14812,1927	98	151,144824		

FIG. 6

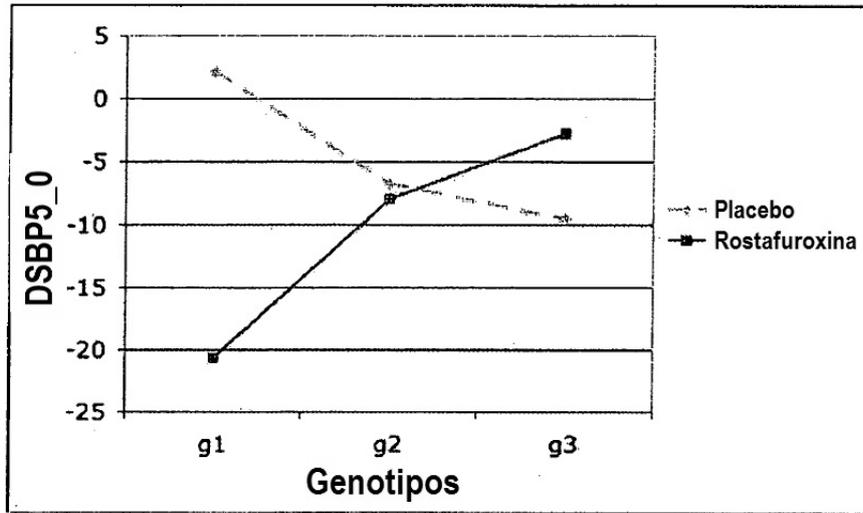


FIG. 7

Perfiles	Perfil 4	Perfil 8	Perfil 9
	rs16893522 rs5013093 rs2345088 rs2461911 rs16877182 rs12513375	MDR2-HSD18 LSS2-MDR2 LSS2-ADD1 HSD19-rs430948 MDR2-rs213112 ADD2-rs105029 LSS2-WNK	MDR2-HSD18 LSS2-MDR2 HSD19-rs473903 HSD19-rs430948 ADD2-rs105029 LSS2-WNK
Valor P	0,000	0,000	0,000
Probabilidad	14,64	32,62	69,76%
Sensibilidad (se)	54,5%	82%	82%
PPV	78,3%	93%	96%
correctamente	79,8%	83%	85%
# R verdadero	18/33	29/33	31/33
# NR verdadero	61/66	54/66	54/88
DSBP-5-0 (mmHg) en Terapia media ± SD (n)	-18,74 ± 1,8 (10) -23,12 ± 3,2 (13) -15,2 ± 3,0	-12,5 ± 1,5 (22) -17,9 ± 2,1 (19) -12,6 ± 2,4	-15,2 ± 1,5 (22) -18,0 ± 2,0 (21) -12,3 ± 2,2
DSBP-5-0 (mmHg) en Placebo (media)	-1,14 ± 1,9	-2,57 ± 1,5	-2,64 ± 1,5
Losartan	-11,37 ± 1,8	-11,83 ± 1,3	-11,43 ± 1,3
HCTZ	-12,34 ± 1,5	-11,36 ± 1,1	-11,96 ± 1,1
Nº Pacientes con perfil tratados vs. placebo	23 vs. 28	41 vs. 43	43 vs. 44
Nº tot de pacientes con perfil	51	84	87
% con perfil sobre total (196 pacientes)	26%	42,6%	44,4%

todos los pacientes con perfil tratados solo con dosis bajas tratados solo con dosis altas

FIG. 8

Nº	Simbolo Gen	Crom.	Nombre de gen
1	ACE1	17	enzima convertidora de angiotensina 1 (peptidil-dipeptidasa A) 1
2	ACE2	X	enzima convertidora de angiotensina 1 (peptidil-dipeptidasa A) 2
3	ACTA1	1	actina, alfa 1, músculo esquelético
4	ACTA2	10	actina, alfa 2, músculo liso, aorta
5	ACTN1	14	actinina, alfa 1
6	ADRA1A	8	adrenérgico, alfa-1A-, receptor
7	ADRA2B	2	adrenérgico, alfa-2B-, receptor
8	ADRB1	10	adrenérgico, beta-1-, receptor
9	ADRB2	5	adrenérgico, beta-2-, receptor
10	ADRB3	8	adrenérgico, beta-3-, receptor
11	AGT	1	angiotensinógeno
12	AGTR1	3	receptor de angiotensina II, tipo 1
13	AGTR2	X	receptor de angiotensina II, tipo 2
14	AQP2	12	acuaporina 2
15	ATP1A1	1	ATPasa, transporte Na ⁺ /K ⁺ , polipéptido alfa 1
16	ATP1A2	1	ATPasa, transporte Na ⁺ /K ⁺ , polipéptido alfa 2 (+)
17	ATP1A3	19	ATPasa, transporte Na ⁺ /K ⁺ , polipéptido alfa 3 (+)
18	ATP1A4	1	ATPasa, transporte Na ⁺ /K ⁺ , polipéptido alfa 4 (+)
19	ATP1B1	1	ATPasa, transporte Na ⁺ /K ⁺ , polipéptido beta 1
20	ATP1B2	17	ATPasa, transporte Na ⁺ /K ⁺ , polipéptido beta 2
21	ATP1B3	3	ATPasa, transporte Na ⁺ /K ⁺ , polipéptido beta 3
22	ATP1B4	X	ATPasa, transporte Na ⁺ /K ⁺ , polipéptido beta 4
23	BSND	1	Síndrome Bartter, Infantil, con sordera sensorineural
24	CLCNKA	1	Canal de cloruro Ka
25	CLCNKB	1	Canal de cloruro Kb
26	CLTA	12	datrina, cadena ligera (Lca)
27	CLTB	4	datrina, cadena ligera (Lcb)
28	CLTC	17	datrina, cadena pesada (Hc)
29	CLTCL1	22	datrina, polipéptido pesado-tipo 1
30	CYP11B2	8	citocromo P450, familia 11, subfamilia B, polipéptido 2
31	DRD1	5	receptor de dopamina D1
32	DRD3	3	receptor de dopamina D3
33	DRD4	11	receptor de dopamina D4
34	DRD5	4	receptor de dopamina D5
35	FXYP1	19	Dominio FXYP que contiene regulador de transporte de iones 1
36	FXYP2	11	Dominio FXYP que contiene regulador de transporte de iones 2
37	FXYP3	19	Dominio FXYP que contiene regulador de transporte de iones 3
38	FXYP4	10	Dominio FXYP que contiene regulador de transporte de iones 4
39	FXYP5	19	Dominio FXYP que contiene regulador de transporte de iones 5
40	FXYP6	11	Dominio FXYP que contiene regulador de transporte de iones 6
41	FXYP7	19	Dominio FXYP que contiene regulador de transporte de iones 7
42	FXYP8	X	Dominio FXYP que contiene regulador de transporte de iones 8
43	FYN	6	Oncogén FYN relativo a SRC, FGR, YES [
44	GNB3	12	proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), polipéptido beta 3
45	KCNJ1	11	canal rectificador interno v-yes-1, subfamilia J, miembro 1 (ROMK)
46	LYN	8	homólogo de oncogén relacionado con virus de sarcoma Yamaguchi v-yes-1
47	NCL	2	nucleolina
48	NEDD4	15	precursor neural expresado celularmente, regulado a la baja en desarrollo 4
49	NEDD4L	18	precursor neural expresado celularmente, regulado a la baja en desarrollo tipo 4
50	NKAIN1	1	ATPasa de transporte Na ⁺ /K ⁺ de interacción 1
51	NKAIN2	6	ATPasa de transporte Na ⁺ /K ⁺ de interacción 2
52	NKAIN3	8	ATPasa de transporte Na ⁺ /K ⁺ de interacción 3
53	NKAIN4	20	ATPasa de transporte Na ⁺ /K ⁺ de interacción 4
54	NOS3	7	óxido nítrico sintasa 3 (célula endotelial)
55	NPHS1	19	nefrosis 1, congénito, tipo Finés (nefrina)
56	NPHS2	1	nefrosis 2, idiopático, resistente a esteroide (podocina)
57	PKD1	16	enfermedad de riñón policístico 1 (dominante autosomal)
58	PKD2	4	enfermedad de riñón policístico 2 (dominante autosomal)
59	REN	1	renina
60	RFX1	19	factor regulador X, 1
61	RPH3A	12	homólogo de rabfilina 3A (ratón)
62	RPH3AL	17	tipo rabfilina 3A (sin dominios C2)
63	SCNN1A	12	canal de sodio, sin puerta de voltaje 1 alfa
64	SCNN1B	16	canal de sodio, sin puerta de voltaje 1 beta
65	SCNN1D	1	canal de sodio, sin puerta de voltaje 1 delta
66	SGK1	6	quinasa 1 regulada de suero/glucocorticoide
67	SLC12A1	15	vehículo soluto familia 12 (transportadores sodio/potasio/cloruro), miembro 1
68	SLC12A3	16	vehículo soluto familia 12 (transportadores sodio/cloruro), miembro 3
69	SLC8A1	2	vehículo soluto familia 8 (intercambiador sodio/calcio), miembro 1
70	SYNPO	5	sinaptopodina
71	SRC	20	homólogo de oncogén vírico (aviar) de sarcoma v-src (Schmidt-Ruppin A-2)
72	TJP1	15	proteína 1 de articulación rígida (zona occludens 1)
73	UMOD	16	uromodulina
74	WNK1	12	proteína quinasa 1 deficiente en lisina WNK
75	WNK4	17	proteína quinasa 4 deficiente en lisina WNK

FIG. 9

**Datos de eficacia y seguridad para nuevas Terapias Antihipertensivas:
comparación entre estrategias tradicionales y farmacogenómicas innovativas**

Parámetro	Tradicional	Farmacogenómica (datos de Rostafuroxina)
<u>Eficacia Antihipertensiva</u> (Δ BP sistólica mmHg, menos placebo)	-6 / -12	-14 / -23
<u>Superioridad entre Clases de Fármacos</u> (Δ SBP, mmHg, en pacientes nunca tratados)	0 / -3	-5 / -11
<u>Reducción de complicaciones CV</u>	20-30%	aún no determinado, pero se espera que sea superior *
<u>Ratio de seguridad</u> (en modelos preclínicos)	1:20 - 1:40	> 1: 10.000

n.b. La comparación entre la estrategia tradicional y la nueva, considera una duración de tratamiento y niveles de BP basales de los pacientes similares.

* se espera una prevención mejorada de complicaciones CV debido a un mejor control de BP y al tratamiento selectivo de las alteraciones genéticas (perfil genético) responsables de las complicaciones CV.

FIG. 10