

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 573 500**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/70 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.11.2012 E 12790564 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.04.2016 EP 2785875**

54 Título: **Polimorfismo de nucleótido único en el cromosoma 15 que predice las respuestas al tratamiento del VHC**

30 Prioridad:

28.11.2011 US 201161564032 P

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

08.06.2016

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**BENAYED, RYMA;
ESSIOUX, LAURENT;
NAVARRO, MERCIDITA T.;
PALERMO, GIUSEPPE;
RILEY-GILLIS, BRIDGET y
ZHU, YONGHONG**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 573 500 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

Polimorfismo de nucleótido único en el cromosoma 15 que predice las respuestas al tratamiento del VHC

5 La presente invención se refiere a métodos que resultan útiles para predecir la respuesta de los pacientes infectados por el virus de la hepatitis C (VHC) al tratamiento farmacológico.

10 El virus de la hepatitis C (VHC) es responsable de una gran proporción de las enfermedades hepáticas crónicas en todo el mundo y explica el 70% de los casos de hepatitis crónica en los países industrializados. La prevalencia global de la hepatitis C crónica (HCC) se estima de promedio en 3% (comprendida entre 0,1% y 5%), con 170 millones de portadores crónicos estimados en todo el mundo (2,7 millones en los EUA y 5 millones en Europa Occidental [1, 2]. Aproximadamente un quinto de los pacientes infectados crónicamente con VHC finalmente desarrollan cirrosis, que pueden conducir a insuficiencia cardiaca y carcinoma hepatocelular [2]. La insuficiencia hepática relacionada con el VHC es uno de los motivos principales de trasplante de hígado actualmente.

15 El estándar de cuidado (EDC) actual para el tratamiento de pacientes previamente no tratados que presentan infección crónica de hepatitis C es la terapia de combinación con interferón alfa conjugado con polietilenglicol (PEG-IFN) más ribavirina (RBV) [3]. En pacientes infectados crónicamente con VHC genotipo 1, que representa la mayoría de los pacientes infectados por VHC, las respuestas a PEG-IFN siguen siendo subóptimas, con tasas de respuesta virológica sostenida (RVS) de entre 42% y 52% [4, 5, 6]. Existe una necesidad sustancial de nuevas opciones terapéuticas para esta población de pacientes. El interferón alfa (IFN) fue el primer fármaco que se demostró que presentaba bioactividad contra el VHC. Hoffmann-La Roche Inc. ha modificado químicamente la molécula de interferón alfa-2a mediante unión covalente de una fracción de metoxi-polietilenglicol ramificado [9]. PEG-IFN presenta una tasa de eliminación sistémica reducida y un incremento de aproximadamente 10 veces de la semivida en suero en comparación con el interferón alfa-2a, y como resultado PEG-IFN circula en la sangre durante mucho más tiempo que el compuesto parental. La evaluación posterior de PEG-IFN, con 180 µg una vez a la semana (qw) en tres ensayos clínicos de gran tamaño en más de 1.400 pacientes ha demostrado que el tratamiento con PEG-IFN resulta más eficaz que el tratamiento con IFN tres veces a la semana [10].

20 La ribavirina es un análogo de guanosina que inhibe la replicación in vitro de un amplio abanico de virus de ARN y de ADN [11]. El mecanismo por el que la RBV actúa como antivírico no ha sido definida por completo, aunque se cree que podría implicar la alteración de los pools celulares de nucleótidos y la inhibición de la síntesis vírica de ARN [12]. La monoterapia de RBV presenta poco o ningún efecto sobre la replicación del VHC, pero puede resultar en la normalización de la actividad sérica de la alanina aminotransferasa (ALT) y la mejora de la histología del hígado. Sin embargo, se produce la recaída en la prácticamente todos los pacientes tratados con sólo RBV [13, 14]. La combinación de RBV con PEG-IFN se ha encontrado que resulta más eficaz que la monoterapia de PEG-IFN en el tratamiento de la HCC. En un ensayo clínico de gran tamaño de 1.121 pacientes de todos los genotipos, se consiguió una respuesta virológica sostenida (RVS) en 53% de los pacientes tratados con PEG-IFN en combinación con RBV, comparado con 29% de los pacientes tratados con PEG-IFN únicamente [10].

25 La probabilidad de conseguir una respuesta virológica sostenida (VRS) varía de acuerdo con un conjunto de factores del paciente y víricos. Por ejemplo, los pacientes más jóvenes, caucásicos y asiáticos, y los individuos con fibrosis hepática avanzada es más probable que eliminen la infección por VHC tras el tratamiento [15-18]. De manera similar, los pacientes infectados con VHC de genotipo 2 o 3, y no de genotipo 1, y aquellos con niveles de ARN del VHC de línea base reducidos en el suero presentan una mejor probabilidad de curación [4-6, 16, 18].

30 Actualmente resulta posible una predicción más exacta de la VRS únicamente tras el inicio del tratamiento. Con independencia del genotipo del VHC, los individuos que eliminan el ARN del VHC tras 4 o 12 semanas de tratamiento presentan una probabilidad mucho más elevada de conseguir una VRS que aquellos con viremia persistente [19]. La respuesta virológica rápida (RVR, ARN del VHC indetectable en la semana 4) es un indicador fuerte de VRS; a la inversa, el fracaso en la consecución de una respuesta virológica temprana (RVT, reducción superior a dos log en el ARN del VHC en la semana 12) es un indicador fuerte de falta de respuesta, con independencia de las características del pretratamiento [20].

35 La capacidad de diferenciar prospectivamente entre respondedores potenciales y no respondedores al estándar de cuidado podría presentar un gran impacto sobre el cuidado de los pacientes con hepatitis C crónica. Además de los factores del huésped y víricos, la diversidad genética del huésped también influye sobre la respuesta al tratamiento con el estándar de cuidado [21]. Existen datos recientes de estudios de asociación genómicos que sugieren que los polimorfismos de nucleótido único (PNU) en la región del promotor del gen IL-28b ejercen una fuerte influencia sobre la probabilidad de RVS en pacientes tratados con peg-interferón en combinación con ribavirina [22-24].

40 Recientemente se ha encontrado que en pacientes infectados por virus de la hepatitis C de genotipo 1 (VHC-1) o de genotipo 4 (VHC-4), puede predecirse una respuesta beneficiosa a un tratamiento que incluye interferón-alfa, ribavirina y un inhibidor de polimerasa del VHC (triple terapia) en el caso de que el nivel de ARN del VHC en el paciente se vuelve indetectable en tan sólo dos semanas tras el tratamiento.

La presente invención se basa en el descubrimiento de una asociación entre un polimorfismo de nucleótido único en el cromosoma humano quince y una RVR2 en pacientes tratados con un régimen basado en interferón que incluía un agente antivírico de acción directa, tal como un inhibidor de proteasa del VHC. En una realización, la invención proporciona un método para predecir la respuesta de un sujeto humano infectado por el VHC a un tratamiento con peg-interferón alfa-2a, ribavirina y un agente antivírico de acción directa, proporcionar una muestra del sujeto humano e identificar el nucleótido presente en el polimorfismo de nucleótido único rs12148487, en el que la presencia de por lo menos un alelo A en rs12148487 en el sujeto indica una mayor probabilidad de que el sujeto presente una RVR2 al tratamiento en comparación con un sujeto que presenta dos alelos G presentes en rs12148487.

Figura 1. Diseño del estudio del ensayo clínico NV21075. PEG-IFN=peg-interferón alfa-2a; RBV=ribavirina; Q8h=tvd o tres veces al día; Q 12 h=dvd o dos veces al día.

Figura 2. Porcentaje de pacientes con respuesta virológica hasta la semana 12.

Figura 3. Cambio medio (log₁₀ IU/ml) en el ARN del VHC respecto a la línea base y la semana 12.

Figura 4. Porcentaje de pacientes de CC y pacientes no de CC en el PNU rs12979860 con respuesta virológica hasta la semana 12.

Figura 5. Resultados de asociación genómicos para (A) RVR2 y (B) RVR2 tras el ajuste para rs12979860 según cromosoma en la población del estudio NV21075.

Figura 6. Gráfico de columnas que muestra la asociación entre RVR2 y el genotipo rs12148487 entre los 4 grupos de tratamiento en el ensayo clínico NV21075.

Con el fin de facilitar la comprensión de la presente invención, se definen varios términos posteriormente. Los términos definidos en la presente memoria presentan los significados entendidos comúnmente por el experto ordinario en los campos relevantes a la presente invención. Algunos términos tales como "un" y "una" y "el" y "la" no pretenden referirse a únicamente una entidad singular, sino que incluyen la clase general de la que puede utilizarse un ejemplo específico a título ilustrativo. La terminología en la presente memoria se utiliza para describir realizaciones específicas de la invención, aunque su utilización no limita la invención, excepto tal como se perfila en las reivindicaciones.

El término "respuesta" al tratamiento con interferón es una respuesta deseable a la administración de un agente. Entre los criterios de valoración virológica se incluyen los siguientes: "respuesta virológica rápida-2 semanas" (RVR2), definida como ARN del VHC indetectable en el suero (mediante Cobas® AmpliPrep/Cobas® Taqman® HCV Test v1.0, límite de detección: 15 IU/ml) tras 2 semanas de tratamiento; "respuesta virológica rápida-4 semanas" (RVR4) definida como ARN del VHC indetectable en el suero (mediante Cobas® AmpliPrep/Cobas® Taqman® HCV Test v1.0, límite de detección: 15 IU/ml) tras 4 semanas de tratamiento; "respuesta virológica temprana" (RVT), definida como una caída de 2-log en el ARN del VHC en el suero entre la línea base y la semana 12 (mediante Cobas® AmpliPrep/Cobas® Taqman® HCV Test v1.0, límite de cuantificación: 43 IU/ml), RVT completa (RVTc), definida como ARN del VHC indetectable en el suero (mediante Cobas® AmpliPrep/Cobas® Taqman® HCV Test v1.0, límite de detección: 15 IU/ml) tras 12 semanas de tratamiento; y "respuesta virológica sostenida" (RVS), definida como ARN del VHC indetectable en el suero (<15 IU/ml) al final de un periodo de seguimiento sin tratamiento de 12 semanas (RVS-12) o un periodo de seguimiento sin tratamiento de 24 semanas (RVS-24). La expresión "respuesta virológica rápida extendida" (RVRe) se refiere a ARN del VHC indetectable (<15 IU/ml) durante el periodo de entre 4 y 20 semanas de tratamiento.

El término "muestra" o la expresión "muestra biológica" se refieren a una muestra de tejido o líquido aislada a partir de un individuo, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, por ejemplo, biopsia de tejido, plasma, suero, sangre completa, líquido espinal, líquido linfático, secciones externas de la piel, tracto respiratorio, intestinal y genitourinario, lágrimas, saliva, leche, células sanguíneas, tumores u órganos. Se encuentran incluidas además muestras de constituyentes de cultivos celulares in vitro (incluyendo, aunque sin limitación, medio condicionado que resulta del crecimiento de células en medio de cultivo, putativamente células infectadas víricamente, células recombinantes y componentes celulares).

Los términos "interferón" e "interferón-alfa" se utilizan intercambiamente en la presente memoria y se refieren a la familia de proteínas específicas de especie altamente homólogas que inhiben la replicación vírica y la proliferación celular y modulan la respuesta inmunológica. Entre los interferones adecuados típicos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, el interferón alfa-2b recombinante, tal como el interferón Intron® A disponible de Schering Corporation, Kenilworth, N.J., el interferón alfa-2a recombinante, tal como Roferon®-A disponible de Hoffmann-La Roche, Nutley, N.J., el interferón alfa-2C recombinante, tal como el interferón Berofer® alfa-2, disponible de Boehringer Ingelheim Pharmaceutical, Inc., Ridgefield, Conn., el interferón alfa-n1, una mezcla purificada de interferones alfa naturales, tal como Sumiferon®, disponible de Sumitomo, Japón, o como interferón alfa-n1

Wellferon® (INS) , disponible de Glaxo-Wellcome Ltd., London, Reino Unido, o un interferón alfa de consenso, tal como los indicados en las patentes US nº 4.897.471 y nº 4.695.623 (especialmente los Ejemplos 7, 8 o 9 de las mismas) y el producto específico disponible de Amgen, Inc., Newbury Park, Calif., o el interferón alfa-n3, una mezcla de alfa-interferones naturales fabricada por Interferon Sciences y disponible de la Purdue Frederick Co., Norwalk, Conn., bajo la marca comercial Alferon. La utilización de interferón alfa-2a o alfa-2b resulta preferente. Los interferones pueden incluir los interferones pegilados, tal como se define posteriormente.

Las expresiones "interferón pegilado", "interferón-alfa pegilado" y "peg-interferón" se utilizan en la presente memoria intercambiamente y se refieren a conjugados de interferón-alfa modificados con polietilenglicol, preferentemente interferón alfa-2a y alfa-2b. Entre los interferones-alfa pegilados adecuados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, Pegasys® y PegIntron®.

El término "ribavirina" se refiere al compuesto amida de ácido 1-((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-hidroximetil-tetrahydro-furán-2-il)-1H-[1,2,4]triazol-3-carboxílico, que es un análogo sintético de nucleósido antivírico de amplio espectro no inductor de interferón y que se encuentra disponible bajo los nombres Virazole® y Copegus®.

El tratamiento de primera línea actualmente recomendado para los pacientes con hepatitis C crónica es el interferón-alfa pegilado en combinación con ribavirina durante 48 semanas en pacientes portadores de virus de genotipo 1 o 4 y durante 24 semanas en pacientes portadores de virus de genotipo 2 o 3. Se ha encontrado que el tratamiento combinado con ribavirina resulta más eficaz que la monoterapia de interferón-alfa en pacientes que han recaído tras uno o más cursos de terapia de interferón-alfa, así como en pacientes previamente no tratados. Sin embargo, la ribavirina muestra efectos secundarios significativos, incluyendo teratogenicidad y carcinogenicidad. Además, la ribavirina causa anemia hemolítica, requiriendo una reducción de la dosis o la interrupción de la terapia de ribavirina en aproximadamente 10% a 20% de los pacientes, lo que podría estar relacionado con la acumulación de ribavirina trifosfato en los eritrocitos. Por lo tanto, para reducir el coste del tratamiento y la incidencia de sucesos adversos, resulta deseable ajustar el tratamiento a una duración más corta aunque sin comprometer su eficacia. Una "duración del tratamiento" más corta para los pacientes con genotipo 1 utilizando interferón-alfa pegilado en combinación con ribavirina sería, por ejemplo, 24 semanas. Una duración más corta del tratamiento para los pacientes con genotipo 1 utilizando interferón-alfa pegilado y ribavirina en combinación con un agente antivírico de acción directa podría ser de tan sólo 8 semanas, 12 semanas o 16 semanas.

Los términos "danoprevir", "RG7227", "RO5190591" e "ITMN-191" se utilizan intercambiamente y se refieren al inhibidor peptidomimético macrocíclico de la proteasa NS3/4A del VHC, (Z)-(1S,4R,6S,14S,18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0*4,6*]nonadec-7-en-18-il-éster de ácido 4-fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico.

Entre otros inhibidores de proteasa NS3 y NS3/4A del VHC se incluyen "boceprevir" o "SCH-503034": (1R,5S)-N-[3-amino-1-(ciclobutilmetil)-2,3-dioxopropil]-3-[2(S)-[[[(1,1-dimetiletil)amino]carbonil]amino]-3,3-dimetil-1-oxobutil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexán-(S)-carboxamida y "telaprevir" o "VX-950": (1S,3aR,6aS)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-ciclohexil]([pirazinilcarbonil]amino)acetil]amino]-3,3-dimetilbutanoil]-N-[(1S)-1-[[ciclopropilamino]oxoacetil]butil]octahidrociclopenta[c]pirrol-1-carboxamida; "vaniprevir" o "MK-7009": (1R,21S,24S)-21-terc-butil-N-((1R,2R)-1-[[ciclopropilsulfonil]amino]carbonil)-2-etilciclopropil)-16,16-dimetil-3,19,22-trioxo-2,18-dioxa-4,20,23-triazatetraciclo[21.2.1.1.0]heptacosa-6,8,10-trien-24-carboxamida; "MK-5172": ácido (1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-(1,1-dimetiletil)-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22a-tetradecahidrol-14-metoxi-3,6-dioxo-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]dioxadiazacilonadecino[11,12-b]quinoxalín-8-carboxílico; "TMC-435": (2R,13aR,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-2-(2-(4-isopropiltiazol-2-il)-7-metoxi-8-metilquinolín-4-iloxi)-6-metil-5,6-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[g]pirrolo[1,2-c][1,3,6]triazaciclopentadecín-14a-carboxamida; y "narlaprevir" o "SCH-900518": (1R,2S,5S)-3-((S)-2-(3-(1-(terc-butilsulfonil-metil)ciclohexil)ureido)-3,3-dimetilbutanoil)-N-((S)-1-(ciclopropilamino)-1,2-dioxoheptán-3-il)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexán-2-carboxamida.

La expresión "tratamiento de triple terapia" se refiere a un régimen de tratamiento para los pacientes infectados por el VHC que comprende peg-interferón, ribavirina y uno o más agentes antivíricos de acción directa. Los "agentes antivíricos de acción directa" ejercen efectos antivíricos específicos que son independientes de la función inmunológica. Entre los ejemplos de agentes antivíricos de acción directa para el VHC se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, los inhibidores de proteasa NS3/4A, los inhibidores de la polimerasa NS5B, los inhibidores de NS5A, los inhibidores de IRES y los inhibidores de helicasa. Un ejemplo de un tratamiento de triple terapia comprende peg-interferón, ribavirina y un inhibidor de polimerasa NS5B del VHC. Otro ejemplo de un tratamiento de triple terapia comprende peg-interferón, ribavirina y un inhibidor de proteasa NS3/4A del VHC. Un ejemplo adicional de un tratamiento de triple terapia comprende peg-interferón, ribavirina, un inhibidor de polimerasa NS5B del VHC y un inhibidor de proteasa NS3/4A del VHC (que también puede denominarse "tratamiento de cuádruple terapia").

Para pacientes con hepatitis C crónica (HCC), el tratamiento de primera línea actualmente recomendado, denominado "estándar de cuidado" o "EDC", es interferón-alfa pegilado en combinación con ribavirina durante una "duración de tiempo" de 48 semanas en pacientes portadores de virus de genotipo 1 o 4 y de 24 semanas en

pacientes portadores de virus de genotipo 2 o 3. Recientemente en determinados países (por ejemplo los Estados Unidos y los estados miembros de la Unión Europea), el EDC para los pacientes previamente no tratados con infección por hepatitis C crónica portadores de virus de genotipo 1 ha sido recomendado como terapia de combinación con un inhibidor de proteasa del VHC (boceprevir o telaprevir) e interferón-alfa pegilado (PEG-IFN) en combinación con ribavirina (RBV) (Ghany M.G. et al., "An Update on Treatment of Genotype 1 Chronic Hepatitis C Virus Infection: 2011 Practice Guideline de la American Association for the Study of Liver Diseases", *Hepatology* 54:1433-1444, 2011). Sin embargo, el término "EDC" tal como se utiliza en el presente documento se refiere al tratamiento con PEG-IFN en combinación con RBV únicamente.

El tratamiento combinado con ribavirina se ha encontrado que resulta más eficaz que la monoterapia de interferón-alfa en pacientes que han recaído tras uno o más cursos de terapia de interferón-alfa, así como en pacientes previamente no tratados. Sin embargo, la ribavirina muestra efectos secundarios significativos, entre ellos teratogenicidad y carcinogenicidad. Además, la ribavirina causa anemia hemolítica, requiriendo una reducción de la dosis o la interrupción de la terapia de ribavirina en aproximadamente 10% a 20% de los pacientes, lo que podría relacionarse con la acumulación de ribavirina trifosfato en los eritrocitos. Por lo tanto, para reducir el coste del tratamiento y la incidencia de sucesos adversos, resulta deseable ajustar el tratamiento a una duración más corta aunque sin comprometer su eficacia.

Tal como se utiliza en la presente memoria, los términos "alelo" y "variante alélica" se refieren a formas alternativas de un gen que incluye intrones, exones, uniones intrón/exón y regiones no traducidas 3' y/o 5' que se encuentran asociadas a un gen o partes del mismo. Generalmente, los alelos ocupan el mismo locus o posición en cromosomas homólogos. En el caso de que un sujeto presente dos alelos idénticos de un gen, se dice que el sujeto es homocigótico para el gen o alelo. En el caso de que un sujeto presente dos alelos diferentes de un gen, se dice que el sujeto es heterocigótico para el gen. Los alelos de un gen específico pueden diferir entre sí en un único nucleótido, o en varios nucleótidos, y pueden incluir sustituciones, deleciones e inserciones de nucleótidos.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "polimorfismo" se refiere a la coexistencia de más de una forma de un ácido nucleico (por ejemplo una variante alélica). Una parte de un gen del que hay por lo menos dos formas diferentes, es decir, dos secuencias nucleótidas diferentes, se denomina región polimórfica de un gen. Una región polimórfica puede ser un único nucleótido, es decir, un "polimorfismo de nucleótido único" o "PNU", la identidad del cual difiere en diferentes alelos. Una región polimórfica también puede presentar una longitud de varios nucleótidos.

Se conocen numerosos métodos para la detección de polimorfismos que pueden utilizarse conjuntamente con la presente invención. Generalmente entre ellos se incluyen la identificación de una o más mutaciones en la secuencia de ácidos nucleicos subyacente, directamente (por ejemplo PCR específica de alelo) o indirectamente (identificación de cambios en una molécula secundaria, por ejemplo la secuencia de la proteína).

Un método bien conocido para genotipar polimorfismos de nucleótido único es la utilización de chips de perlas de PNU Illumina, en los que se hibridan muestras de ADN fragmentado y desnaturalizado con los oligómeros 50-meros correspondientes unidos a las perlas sobre el chip. Tras la hibridación, los chips se procesan para la extensión enzimática de bases individuales, seguido de la tinción fluorescente y la obtención de imágenes. Finalmente, se detectan las intensidades de fluorescencia y se utilizan para la identificación de PNU en el genotipo.

Los polimorfismos de nucleótido único, "rs12979860", "rs12980275" y "rs8099917" se refieren a los PNU identificados por sus números de acceso en la base de datos de PNU (bdPNU, www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/) y se encuentran situados en el cromosoma humano 19 en diversas regiones en torno al gen IL28b.

El polimorfismo de nucleótido único "rs12148487" se refiere al PNU identificado por su número de acceso en bdPNU y se encuentra situado en el cromosoma humano 15, en la región intrónica del gen SLCO3A1, que es un elemento de la familia de transportadores aniónicos orgánicos de portadores de solutos. Entre los términos sinónimos de SLCO3A1 se incluyen OATP-D, OATP3A1, OATPD y SLC21A11.

Ejemplos

Introducción

La proteasa del VHC, codificada por el gen no estructura 3/4A (NS3/4A), representa una diana anti-VHC clínicamente validada y resulta esencial para la modificación post-traducciona de polipéptidos del VHC y la replicación vírica. El danoprevir, también conocido como RO5190591, RG7227 o ITMN-191, es un compuesto peptidomimético macrocíclico que inhibe competitivamente la proteasa NS3/4A del VHC. Se seleccionó el danoprevir para el desarrollo de un agente oral para el tratamiento de pacientes con VHC crónica (HCC) debido a sus elevados potencia, especificidad y perfil de seguridad antivíricos.

Diseño del estudio

El estudio NV21075 es un estudio clínico de fase 2 multicéntrico aleatorizado de doble ciego que evalúa la eficacia y la seguridad del danoprevir en combinación con peg-interferón-alfa 2a y ribavirina (combinación de triple terapia) administrado durante doce semanas en pacientes no tratados previamente que presentan infección de hepatitis C crónica de genotipo 1, en comparación con la combinación actualmente aprobada de peg-interferón-alfa 2a y ribavirina (estándar de cuidado o EDC). Los pacientes incluidos en el estudio NV21075 se asignaron aleatoriamente a cuatro grupos de tratamiento (figura 1) (aproximadamente 60 pacientes para los grupos A-C, aproximadamente 30 pacientes para el grupo D). En los grupos de tratamiento guiados por la respuesta (tal como se indica posteriormente), los pacientes con una RVR extendida (RVRe, definida como ARN del VHC indetectable desde la semana 4-20) pararon toda terapia en la semana 24.

Grupos de tratamiento A, B y C: los pacientes recibieron un tratamiento experimental de doble ciego de danoprevir, a 300 mg tvd (grupo A), 600 mg dvd (grupo B) o 900 mg dvd (grupo C) y tratamiento de estándar de cuidado (EDC, Pegasys 180 g s.c. una vez a la semana + Copegus 1.000 mg (<75 kg) o 1.200 mg (≥75 kg) p.o. una vez al día) durante 12 semanas, seguido de EDC durante 12 semanas. Los pacientes que consiguieron una RVR, definida como ARN del VHC indetectable en la semana 4 y que permaneció indetectable hasta la semana 22 (es decir, consiguieron una RVRe) pararon todo tratamiento en la semana 24. Los pacientes que no consiguieron una RVRe, recibieron el EDC durante 24 semanas adicionales durante una duración total del tratamiento de 48 semanas. Grupo de tratamiento D: los pacientes recibieron un tratamiento de placebo ciego durante 12 semanas, seguido de EDC durante 36 semanas durante un periodo total de 48 semanas.

Población de pacientes del RCR con genotipado de IL28B y estudio de asociación genómica (GWAS)

El repositorio clínico de Roche (RCR) es un programa opcional que requiere un consentimiento separado; los datos se convirtieron en anónimos para garantizar la privacidad de los pacientes. Se utilizaron muestras de ADN del RCR para determinar el estatus de IL28B utilizando la PCR en tiempo real TaqMan® para rs12979860. Se resumieron los puntos de valoración de eficacia para los dos subgrupos, CC vs. no CC (CT y TT). Para el estudio NV21075, se disponía de datos de genotipado de 171 muestras de paciente. Además, dichas muestras de ADN del RCR se utilizaron para GWAS y se genotiparon mediante el chip de perlas OmniExpress humano de Illumina con un número total de 733.202 polimorfismos de nucleótido único (PNU). De los 733.202, 725.947 PNU pasaron el control de calidad (CdC). Se llevó a cabo un análisis de asociación genómica en 166 muestras con datos clínicos completos.

Resultados

Para el análisis preliminar de NV21075, se midió la eficacia durante las primeras 12 semanas de tratamiento mediante el porcentaje de pacientes con respuesta virológica (ARN del VHC indetectable según medición con el ensayo de VHC Roche Cobas® AmpliPrep/Cobas® Taqman® v.1.0 [límite de detección: 15 IU/ml]). Los pacientes se consideraron no respondedores en una visita programada en el caso de que presentasen datos faltantes que podrían deberse a una evaluación faltante o que caía fuera de la ventana permisible para esa visita, o un abandono temprano del tratamiento con ausencia de la evaluación de seguimiento.

Los resultados preliminares indican que 88,1%, 89,2% y 92,0% de los pacientes en los grupos de tratamiento A, B y C, respectivamente, presentaban niveles de ARN del VHC indetectables al final de las 12 semanas de tratamiento en comparación con 43,3% de los pacientes que recibieron EDC (figura 2). Los pacientes tratados con danoprevir experimentaron una caída acusada de los niveles medios de ARN del VHC en las primeras 2 a 4 semanas de tratamiento y permanecieron consistentemente inferiores a los de los pacientes que recibieron EDC hasta la semana 12 (figura 3).

De las 171 muestras de paciente de las que se disponía de datos de genotipado para el PNU rs12979860 en el gen IL28B, 56 pacientes presentaban el genotipo CC (favorable al tratamiento), mientras que 115 pacientes portaban el genotipo no CC (desfavorable al tratamiento). Con independencia del grupo de tratamiento en el que se encontrasen, los pacientes CC mostraron tasas de respuesta virológica mejores que los pacientes no CC, en particular en las primeras dos semanas de tratamiento (figura 4).

Para el subgrupo de pacientes de los grupos de tratamiento A y B de los que se disponía de los niveles de ARN del VHC en las 12 semanas de seguimiento post-tratamiento (es decir, 12 semanas después de parar el tratamiento), se determinaron las correlaciones entre los que consiguieron mediciones tempranas de respuesta, RVR2, RVR4, RVRe, y los que consiguieron RVS-12. Entre los 68 pacientes en los grupos de tratamiento A y B que consiguieron RVR2, 64 pacientes consiguieron RVS-12, que rindió un valor predictivo positivo (VPP) de la RVR2 para RVS-12 de 94%. En comparación, de los 97 pacientes que consiguieron RVR4, 87 pacientes consiguieron RVS-12, rindiendo un VPP de RVR4 para RVS-12 de 90%. El VPP de la RVRe para RVS-12 también fue de 90%, ya que 84 pacientes de entre los 93 pacientes que consiguieron RVRe también consiguieron RVS-12. Estos resultados demuestran que las medidas tempranas de respuesta, especialmente RVR2, se encuentran altamente correlacionadas con RVS-12.

5 Con el fin de identificar polimorfismos de nucleótido único adicionales que pudiesen encontrarse asociados a
criterios de valoración de eficacia clínica en el tratamiento del VHC en respuesta a la terapia triple de danoprevir y
EDC o a la terapia de EDC únicamente, se genotiparon muestras de los pacientes en el chip Illumina OmniExpress.
Tras el control de calidad, se habían identificado 725.947 PNU en el genotipo. Se utilizó un modelo de regresión
logística para someter a ensayo las asociaciones entre PNU individuales y la respuesta virológica rápida-2 semanas
10 (RVR-2) tras el ajuste para la carga vírica en la línea base y la etnicidad de la muestra. No resultó inesperado que el
PNU rs12979860 mostrase una asociación marcada con RVR2, con un valor de p de 6×10^{-8} (figura 5A). Tras el
ajuste para rs1979860, se observaron PNU adicionales en el cromosoma 15 con $p < 10^{-5}$ (figura 5B), siendo el PNU
más prominente, rs12148487, que se encuentra en el intrón del gen codificante del transportador aniónico orgánico
de portador de soluto, SLCO3A1. En la población NV21075, la asociación entre RVR2 y el alelo menor de
rs12148487, A, se observa con un cociente de riesgos (CR) superior a 21 (CR=21,87, IC al 95% [6,30, 96,88],
p= $5,6 \times 10^{-8}$). Estos resultados se obtuvieron utilizando un modelo dominante en la regresión logística para
rs12148487, con los genotipos AA y GA codificados '1' y el genotipo GG codificado como '0'. La figura 6 muestra el
15 gráfico de columnas de la asociación entre RVR2 y rs12148487.

Todas las composiciones y/o métodos dados a conocer y reivindicados en la presente memoria pueden prepararse y
ejecutarse sin necesidad de experimentación indebida a la luz de la presente exposición.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método para predecir la respuesta de un sujeto humano infectado por el VHC a un tratamiento con conjugados modificados con polietilenglicol de interferón-alfa 2a, ribavirina y un agente antivírico de acción directa, que comprende:
- 10 identificar el nucleótido presente en el polimorfismo de nucleótido único rs12148487 en una muestra procedente de dicho sujeto humano, en el que la presencia de por lo menos un alelo A en rs12148487 en dicho sujeto indica una mayor probabilidad de respuesta virológica rápida en dos semanas (RVR2) conseguido por dicho sujeto frente a dicho tratamiento respecto a un sujeto que presenta dos alelos G presentes en rs12148487.
- 15 2. Método según la reivindicación 1, en el que dicho sujeto está infectado por el VHC de genotipo 1 o el VHC de genotipo 4.
3. Método según la reivindicación 2, en el que dicho agente antivírico de acción directa es un inhibidor de proteasa del VHC.
- 20 4. Método según la reivindicación 3, en el que dicho inhibidor de proteasa del VHC se selecciona de entre un grupo que consiste de danoprevir, boceprevir, telaprevir, vaniprevir, MK-5172, TMC-435 y narlaprevir.
5. Método según la reivindicación 4, en el que dicho inhibidor de proteasa del VHC es danoprevir.

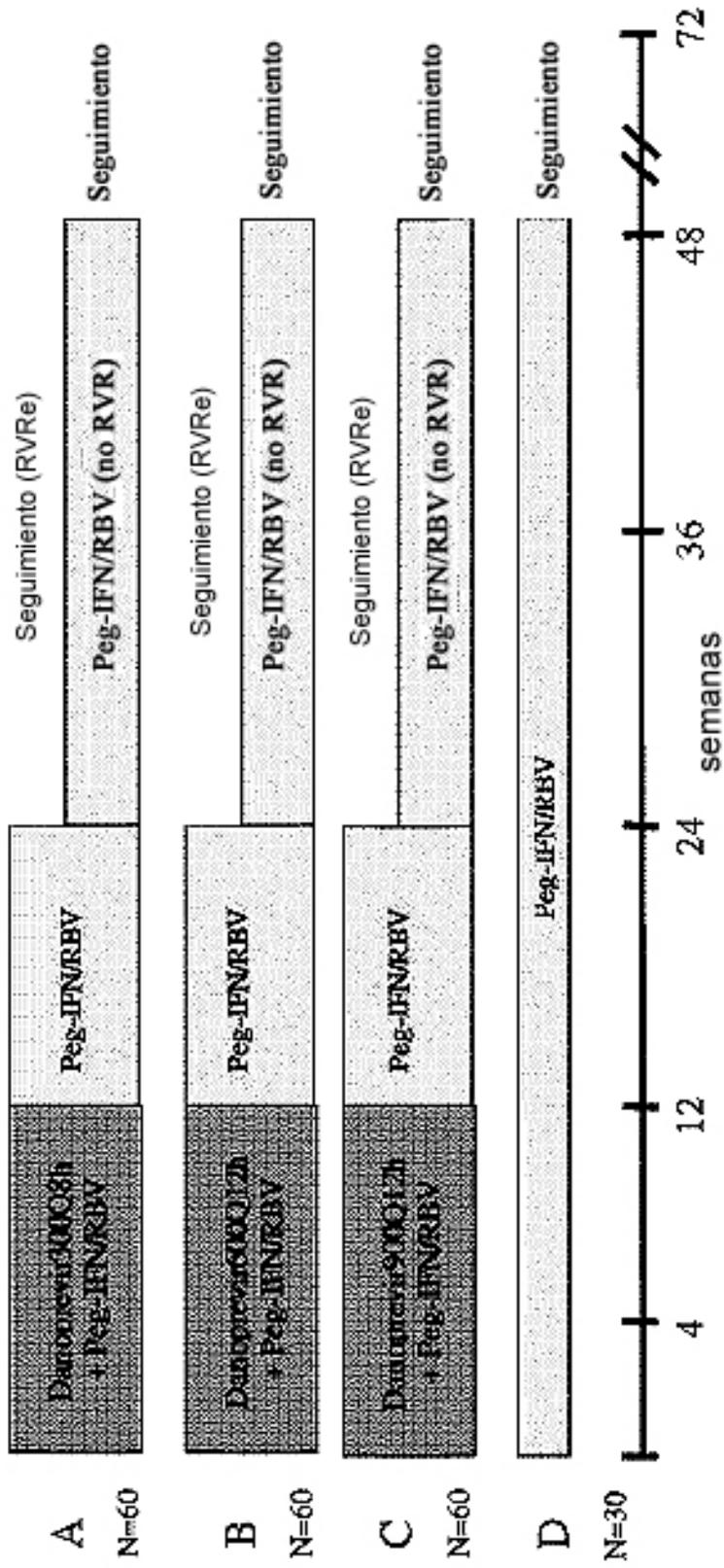


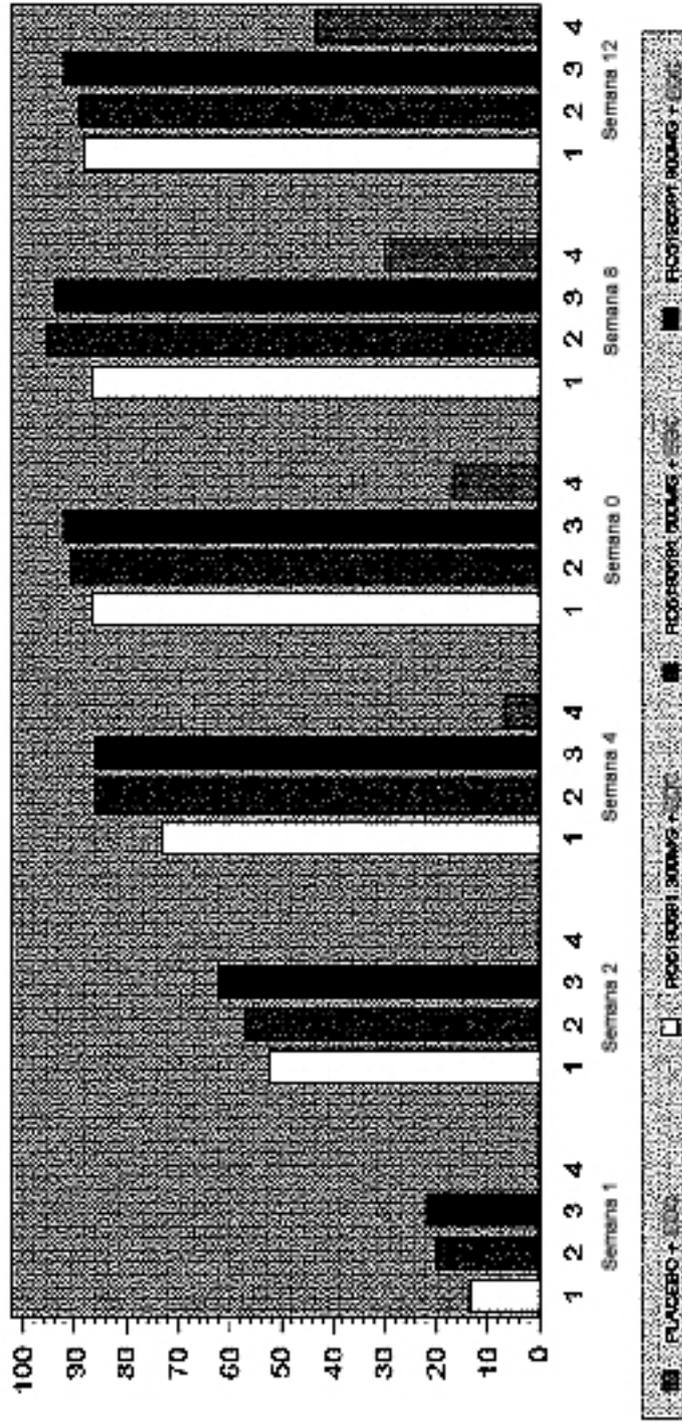
FIG. 1

Gráfico de columnas de respuesta virológica entre línea base y la semana 12

Fecha de base de datos: hasta final tratamiento clínico 25FEB2010

Protocolo(s): NV21075

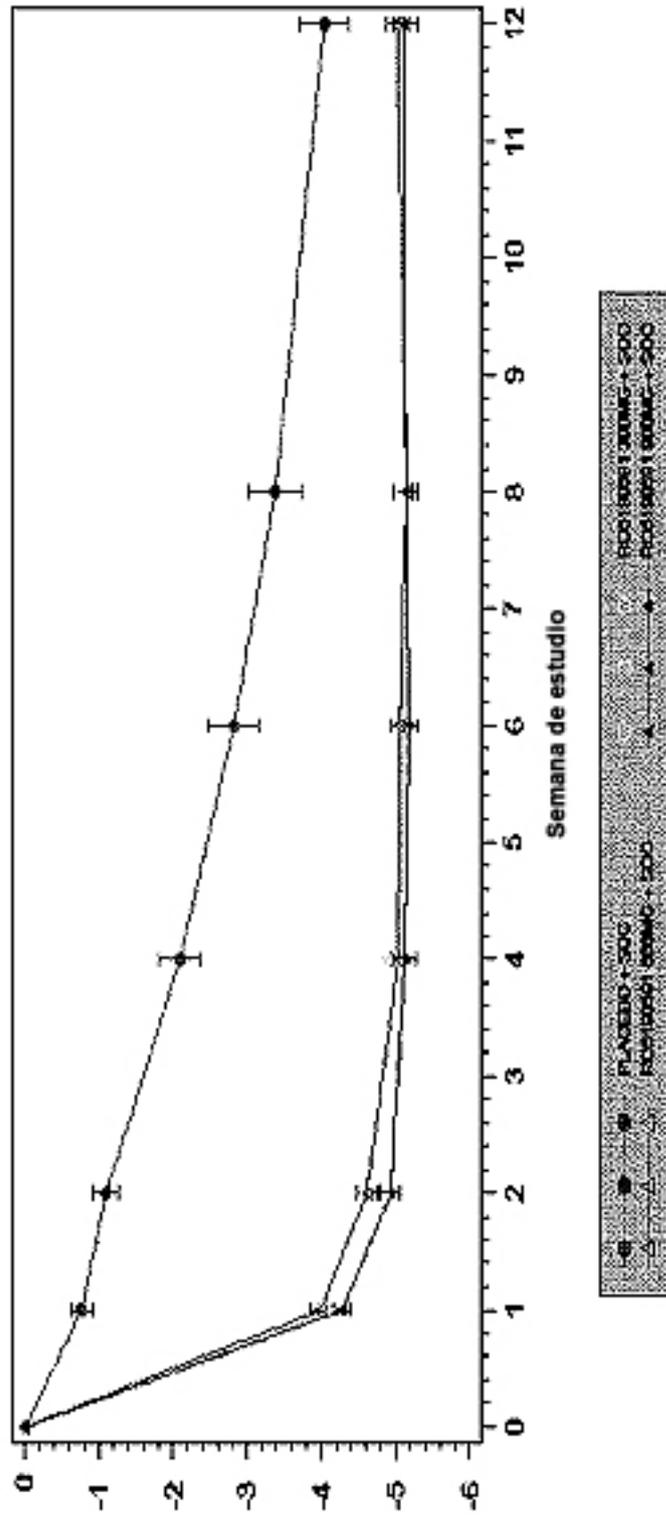
Análisis: población de eficacia



Programa: lop0810STAT1prod/vd/p17227/mv21075/eg_per_bar_wk12.989
 Salida: \$PROD/cdt/227/mv21075/gr/resps/eg_per_bar_wk12_at.pdf run on 03APR2010 7:33

FIG. 2

Gráfico de cambio medio (\pm S.E.) respecto a línea base de Log-10 ARN (IU/ml) entre línea base y semana 12
 Fecha de base de datos: hasta final tratamiento clínico 25FEB2010
 Protocolo(s): NV21075
 Análisis: población de eficacia

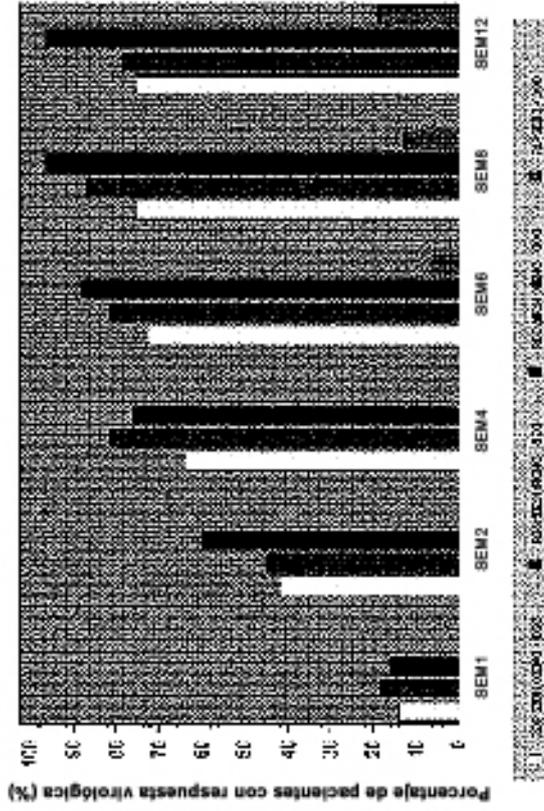


Programa: ApptVBIOSTAT/prod/cd/p17227/mv21075/eg_pcr_chg_wk12.sas
 Salida: \$PROD/cd/p17227/mv21075g/reporte/eg_pcr_chg_wk12_at.pdf run on 03/APR/2010: 7:33

FIG. 3

MoniQEC

SEPTOR, INC. for Central Virological Support from David G. Clark, II by Treatment for US311 (Campylobacter) (vaccine)
 Clinical Study ID: 15010101
 Protocol: 15010101
 Address: 10215
 Agency: 15010101
 Center: ALLCOTING



CC

SEPTOR, INC. for Central Virological Support from David G. Clark, II by Treatment for US311 (Campylobacter) (vaccine)
 Clinical Study ID: 15010101
 Protocol: 15010101
 Address: 10215
 Agency: 15010101
 Center: ALLCOTING

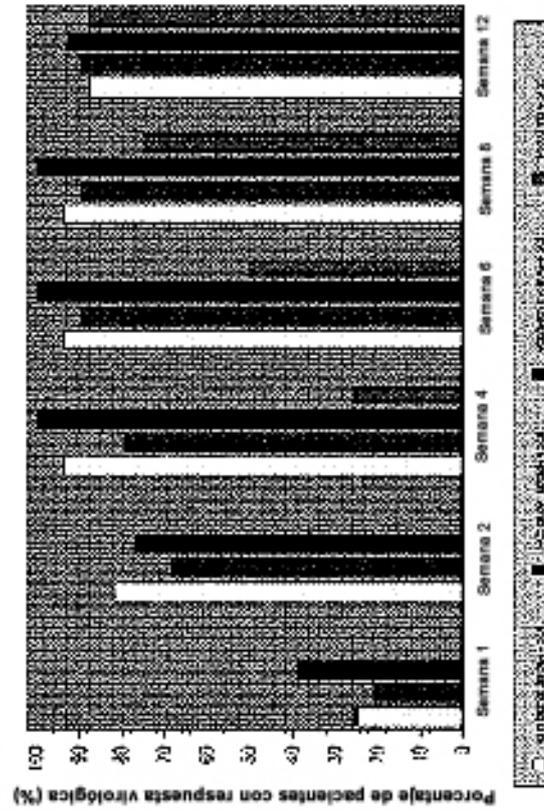
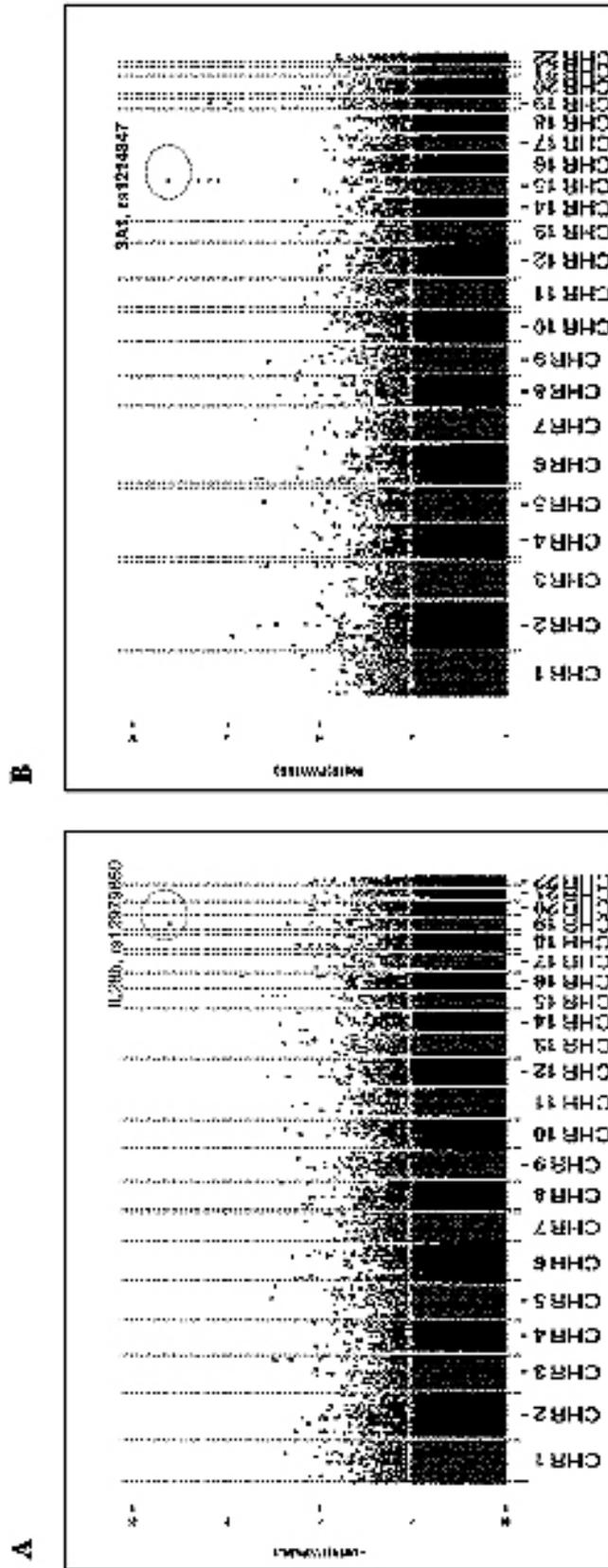


FIG. 4



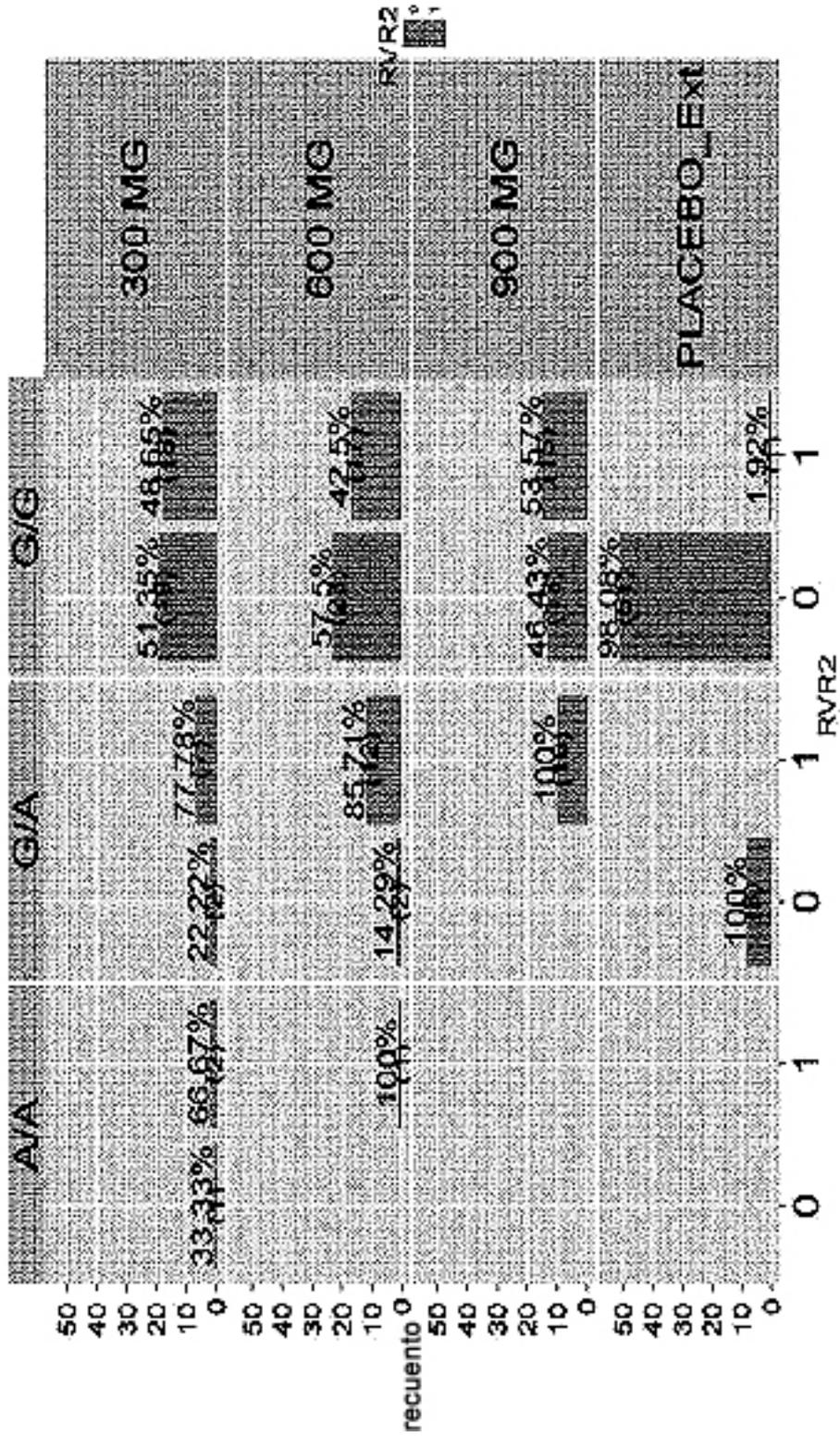


FIG. 6