

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 584 414**

51 Int. Cl.:

C07D 239/47 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.08.2012** **E 12766597 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.04.2016** **EP 2744914**

54 Título: **Uso de MAD2L2 como marcador de estratificación en el tratamiento de tumores de mama con nuevos inhibidores de pan-CDK**

30 Prioridad:

16.08.2011 DE 102011080992

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

27.09.2016

73 Titular/es:

BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH
(100.0%)

Alfred-Nobel-Strasse 10
40789 Monheim, DE

72 Inventor/es:

SIEMEISTER, GERHARD y
GROTH, PHILIP

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 584 414 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

Uso de MAD2L2 como marcador de estratificación en el tratamiento de tumores de mama con nuevos inhibidores de pan-CDK.

La invención se refiere al uso de MAD2L2 como marcador de estratificación en el tratamiento de tumores de mama con nuevos inhibidores de pan-CDK

El ciclo de división celular eucariota garantiza la duplicación del genoma y su distribución en las células hijas mediante el paso por una secuencia de eventos coordinada y regulada. El ciclo celular se divide en cuatro fases sucesivas: la fase G1 representa el tiempo antes de la replicación del ADN en la célula crece. En la fase S, la célula replica su ADN y en la fase G2 se prepara para ingresar en la mitosis. En la mitosis (fase M), el ADN replicado se separa y se efectúa la división celular. Las quinasas dependientes de ciclina (CDK), una familia de serina/treonina quinasas cuyos miembros necesitan la unión de una ciclina (Cyc) como subunidad reguladora para su activación, dirigen a la célula a través del ciclo celular. Hay diferentes pares de CDK/Cyc en las distintas fases del ciclo celular. Los pares de CDK/Cyc que son importantes para la función fundamental del ciclo celular son, por ejemplo, CDK4(6)/CycD, CDK2/CycE, CDK2/CycA, CDK1/CycA y CDK1/CycB. Así, por ejemplo, las actividades de los complejos CDK4(6)/CycD y CDK2/CycE dirigen la entrada de una célula en el ciclo celular y el paso por el "punto de restricción", que marca la independencia de una célula de las señales de crecimiento para la finalización de la división celular iniciada.

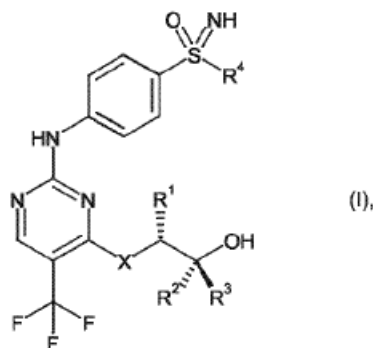
Una serie de mecanismos de control garantizan la progresión ordenada de las fases de la división celular y la correcta distribución del material genético duplicado en las células hija. Entre otros, la actividad de las CDK se ve afectada por proteínas inhibidoras tales como, por ejemplo, p21, p16 o p27, y se regula la expresión y la degradación de las ciclinas. Durante la fase de mitosis del ciclo de división celular, las proteínas del huso del punto de comprobación de ensamblaje aseguran una correcta adhesión del aparato del huso a los cromosomas duplicados y la correcta distribución de los cromosomas en las células hija. Proteínas esenciales del punto de comprobación de ensamblaje del huso son MAD1, MAD2, BUB1, BUBR1, TTK (Mps-1) y cdc20. En las células humanas, existen dos isoformas de la proteína MAD2, MAD2L1 y MAD2L2 (MAD2B).

Una expresión desregulada de la ciclina E y la aparición de fragmentos de ciclina E llevaban a una sobreactivación del complejo CDK2/CycE y a una estimulación del ciclo de división celular, lo cual condujo a la hipótesis de que pacientes con una sobreexpresión de la ciclina E tumoral podrían, con una gran probabilidad, beneficiarse de una terapia dirigida por CDK2 (Hunt, K.K., Keyomarsi, K., Sem. Cancer Biol. 15, 319, 2005).

Rimkus et al (Int. J. Cancer 120, 207, 2006) describen una expresión aumentada al menos 3 veces de MAD2L2 en 25 de 118 (21%) muestras examinadas de carcinoma de colon humano. La expresión elevada de MAD2L2 se correlacionaba con una reducción del tiempo de supervivencia de los pacientes.

Aunque los inhibidores de CDK han estado bajo desarrollo clínico desde hace más de 10 años, hasta el presente no se han descrito biomarcadores que permitan predecir la respuesta de un paciente a la terapia con inhibidores de CDK. Dichos marcadores de estratificación permiten la terapia dirigida de aquellos pacientes que, con gran probabilidad, podrían beneficiarse de una terapia con inhibidores de CDK. Aún más, con los marcadores de estratificación se aumenta la probabilidad de éxito de los estudios clínicos.

El documento WO2010/046035 divulga inhibidores de pan-CDK especialmente efectivos de fórmula (I)



en la que

X representa -O- o NH-, y

R¹ representa un grupo metilo, etilo, propilo o isopropilo, y

R² y R³ representan independientemente entre sí hidrógeno, un grupo metilo o etilo, y

R⁴ representa un grupo alquilo C₁-C₆ o un anillo de cicloalquilo C₃-C₇,

así como sus sales, diastereómeros y enantiómeros.
La solicitud se basa en las siguientes definiciones:

Alquilo C₁-C₆

- 5 Por un grupo alquilo C₁-C₆ se entiende en cada caso un resto alquilo de cadena lineal o ramificado, tal como por ejemplo un resto metilo, etilo, propilo isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo o un resto hexilo.

Cicloalquilo C₃-C₇

Por un anillo de cicloalquilo C₃-C₇ se entiende un anillo de ciclopropilo ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o un anillo cicloheptilo.

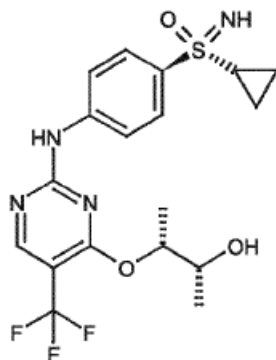
- 10 En la fórmula general (I) X puede representar -O- o -NH-. Preferentemente X representa -O-.

En la fórmula general (I) R¹ puede representar un grupo metilo, etilo, propilo o isopropilo. Preferentemente R¹ representa un grupo metilo.

- 15 En la fórmula general (I) R² y R³ pueden representar, independientemente entre sí, hidrógeno, un grupo metilo o etilo. Preferentemente, R² y R³ representan, independientemente entre sí, hidrógeno o un grupo metilo. De manera especialmente preferente, R² representa un grupo metilo y R³ representa hidrógeno o un grupo metilo.

En la fórmula general (I), R⁴ puede representar un resto alquilo C₁-C₆ o un anillo de cicloalquilo C₃-C₇. Preferentemente R⁴ representa un grupo metilo o etilo o representa un anillo de ciclopropilo.

Es especialmente interesante el compuesto (2R,3R)-3-[[2-[[4-(R-ciclopropilsulfonimidoil)fenil]amino]-5-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi]butan-2-ol (Compuesto A).



Compuesto A

- 20 Los diastereómeros de fórmula I se separaron a través de una cromatografía preparativa. Los detalles experimentales se exponen en el documento WO2010/046035A1.

- 25 El objetivo de la presente invención es hallar un marcador de estratificación para los inhibidores de pan-CDK del documento WO2010/046035, en particular para (2R,3R)-3-[[2-[[4-(S-ciclopropilsulfonimidoil)fenil]amino]-5-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi]butan-2-ol (Compuesto A).

Se descubrió ahora, sorprendentemente, que MAD2L2 es adecuado como marcador de estratificación para células de tumor de mama humanas en el tratamiento con los nuevos inhibidores de pan-CDK del documento WO2010/046035, en particular en el tratamiento con el Compuesto A y puede predecir la sensibilidad.

- 30 El procedimiento de acuerdo con la invención comprende una determinación de la expresión de MAD2L2 como marcador para la sensibilidad de células tumorales o de tumores frente al tratamiento con un inhibidor de CDK. Preferentemente, para ello se lleva a cabo una determinación cuantitativa, determinándose el nivel de expresión de MAD2L2 a nivel de ácidos nucleicos o/y a nivel de proteínas en el tejido tumoral o en células tumorales y opcionalmente se compara con el nivel de expresión en el tejido normal circundante.

- 35 El nivel de expresión de MAD2L2 se puede determinar mediante métodos convencionales. Una forma de realización preferida es una determinación a nivel de ácidos nucleicos, por ejemplo una determinación de la cantidad de transcritos. Las determinaciones cuantitativas de la expresión de MAD2L2 a nivel de ácidos nucleicos pueden comprender, por ejemplo, una hibridación con sondas marcadas específicas de MAD2L2, reacciones de amplificación de ácidos nucleicos, hibridaciones con chip de genes y/o secuenciación de transcritos. Métodos de determinación preferidos son PCR cuantitativa o PCR en tiempo real. Determinaciones cuantitativas a nivel de

proteínas pueden comprender procedimientos de detección inmunológicos usando anticuerpos anti-MAD2L2, por ejemplo en inmunotransferencia de tipo Western o un formato de ELISA.

La muestra en la que se determinará la expresión de MAD2L2 puede proceder, por ejemplo, de un cultivo celular o de un organismo, por ejemplo un mamífero, en particular un humano, pero también de un animal de experimentación. De manera particularmente preferente, la determinación se lleva a cabo en una muestra que proviene de un cultivo de células tumorales, en particular de células tumorales humanas, o de un tumor de un paciente, en particular de un paciente humano o de un animal de experimentación para la investigación de tumores. La muestra puede proceder del tumor propiamente dicho o de células tumorales desprendidas, por ejemplo células tumorales en la circulación de fluidos corporales, por ejemplo, la sangre.

En una forma de realización preferida, el procedimiento de acuerdo con la invención puede usarse para la selección de una terapia (decisión de terapia, estratificación) en el tratamiento de un paciente, en particular de un paciente humano, en el marco de un procedimiento de terapia. Aún más, el procedimiento de acuerdo con la invención puede servir, en el tratamiento de un animal de experimentación en el marco de la identificación o/y caracterización de nuevos principios activos. En una forma de realización preferida adicional, el procedimiento puede llevarse a cabo en un cultivo celular, por ejemplo en el marco de procedimientos de selección.

El procedimiento comprende una o más determinaciones. Preferentemente, antes de la primera administración del inhibidor de CDK, se lleva a cabo una determinación de la expresión de MAD2L2 en una muestra del cultivo celular que va a examinarse o del organismo que va a examinarse.

Ensayos de proliferación

Procedimiento 1

Este ensayo se usó para las siguientes líneas celulares: MCF 10A, SK-BR-3, MCF7, HCT 116, HT-29, SW480, Caco-2, MIAPaCa-2, DU145, PC3, HeLa, Caki2, 786-O, A-375, NCI-H460, NCI-H69, NCI-H1975, A549. Células tumorales humanas cultivadas (originalmente obtenidas de ATCC, HeLa-MaTu y HeLa-MaTu-ADR, originalmente obtenidas de Epo GmbH, Berlín) se sembraron en placa en una densidad de 1000 a 5000 células/punto de medición, en función de la velocidad de crecimiento de la línea celular, en una placa de multititulación de 96 pocillos en 200 μ l de medio de crecimiento (DMEM/HAMS F12, L-glutamina 2 mM, suero bovino fetal al 10%). Después de 24 horas se tiñeron las células de una placa (placa de punto cero) con violeta cristal (véase más adelante), mientras que el medio de las otras placas se sustituyó por medio de cultivo nuevo (200 μ l), al que se habían añadido las sustancias de prueba en distintas concentraciones (0 μ M, así como en el intervalo de 0,01 - 30 μ M; la concentración final del disolvente dimetilsulfóxido ascendió al 0,5%). Las células se incubaron durante 4 días en presencia de las sustancias de prueba. La proliferación celular se determinó mediante tinción de las células con violeta cristal: Las células se fijaron mediante adición de 20 μ l/punto de medición de una solución de glutaraldehído al 11% durante 15 min a temperatura ambiente. Después de lavar tres veces las células fijadas con agua se secaron las placas a temperatura ambiente. Las células se tiñeron mediante adición de 100 μ l/punto de medición de una solución de violeta cristal al 0,1% (pH ajustado a pH 3 mediante adición de ácido acético). Después de lavar tres veces las células teñidas con agua, se secaron las placas a temperatura ambiente. El colorante se disolvió mediante adición de 100 μ l/punto de medición de una solución de ácido acético al 10%. La extinción se determinó por fotometría a una longitud de onda de 595 nm. El cambio porcentual del crecimiento celular se calculó mediante la normalización de los valores de medición con respecto a los valores de extinción de la placa de punto cero (=0%) y la extinción de las células no tratadas (0 μ M) (=100%). Los datos de medición se normalizaron con respecto al 0% de inhibición (proliferación celular sin inhibidor) y 100% de inhibición (placa de punto cero). La determinación de los valores de CI_{50} se realizó por medio de un ajuste de 4 parámetros con el uso de software propio de la empresa.

Procedimiento 2

Este ensayo se usó para las siguientes líneas celulares: KPL-1, MDA-MB-453, Hs 578T, MDA-MB-231, MCF 10A, MDA-MB-468, ZR-75-1, T-47D, MDA-MB-435s, DU-4475, BT-20, BT-474, EVSA-T, BT-549, NCI-H460, NCIH810, NCI-H441, NCI-H1838, NCI-H69, NCI-H2030, NCI-H358, NCI-H1793, NCI-H1048, SK-MES-1, NCI-H2347, NCIH1975, A549, NCI-H23, NCI-H2170, NCI-H2228, NCI-H661, NCI-H1703, NCI-H1581, NCI-H226, NCI-H1563, NCI-H522, ChaGo-K-1, NCI-H1437. La inhibición de la proliferación celular mediante el compuesto A se determinó por medio del ensayo de proliferación celular Vybrant MTT en la empresa Firma Invitrogen.

Ensayo con chip de genes Affymetrix

Este ensayo se usó para determinar los niveles relativos de ARNm en las líneas celulares de tumores usadas.

Se sembraron células tumorales humanas cultivadas con el mismo número de células / cm^2 de superficie de placa en placas de cultivo celular de 10 cm, tal como se usó en los ensayos de proliferación, y se incubó durante 24 horas en medio de crecimiento a 37°C. Después de retiró el medio y las células se lavaron 2 x con, respectivamente, 5 ml de solución de cloruro de sodio tamponada con fosfato (PBS). A continuación se suspendieron las células en 600 μ l de tampón RLT (Qiagen) con beta-mercaptoetanol al 1%. La suspensión se homogeneizó con el uso de un equipo

QIASHredder de manera correspondiente a las instrucciones del fabricante. La extracción de ARN posterior se llevó a cabo con el uso del kit RNeasy Mini (Qiagen) de manera correspondiente a las instrucciones del fabricante. Además se llevó a cabo una digestión con ADNasa con el uso del kit de ADNasa libre de ARNasa (Qiagen) de manera correspondiente a las instrucciones de fabricante.

- 5 La concentración final de ARN se determinó mediante medición de la densidad óptica a 260 y 280 nm. Adicionalmente, se llevó a cabo un examen de calidad del ARN en un bioanalizador Agilent. Para análisis adicionales se usó solamente ARN con una relación de ARNr de 28S/18S de más de 1,0.

Se usaron 5 µg de las muestras de ARN para la síntesis de ADNc bicatenario con el kit de síntesis de ADNc One-Cycle (Affymetrix) en presencia de un cebador de oligonucleótido de ADN T7-oligo (dT)₂₄ de manera correspondiente a las instrucciones del fabricante. Después de la síntesis se purificó el ADNc con el uso del módulo de limpieza de muestras de Affymetrix GeneChip Sample Cleanup Modul. El ADNc purificado se transcribió entonces con el uso del kit de marcaje GeneChip IVT (Affymetrix) en presencia de ribonucleótidos biotinilados *in vitro*, obteniéndose ARNc marcado con biotina. El ARNc marcado se purificó entonces con el uso del módulo de limpieza de muestras GeneChip Sample Cleanup Modul (Affymetrix). El ARNc marcado se determinó cuantitativamente mediante mediciones de la densidad óptica a 260 y 280 nm y se sometió a un examen de calidad en el bioanalizador Agilent. Se fragmentaron 30 mg de ARNc marcado con el uso del tampón de fragmentación a partir del módulo de limpieza de muestras GeneChip Sample Cleanup Modul (Affymetrix). A continuación se hibridaron 10 mg de ARNc fragmentado en una micromatriz de tipo Human U133 Plus 2.0 (Affymetrix). La matriz se lavó entonces y se marcó con estreptavidina-R-ficoeritrina (SAPE, Molecular Probes). La señal se amplificó con el uso de un anticuerpo de cabra anti-estreptavidina biotinilado (Vector Laboratories) seguido de un marcaje adicional con SAPE. Las matrices se marcaron con el uso de GeneChip Fluidics Station 450 (Affymetrix). La matriz se escaneó entonces a 570 nm con el uso de un escáner láser confocal (escáner GeneChip-3000, Affymetrix) y se convirtió con el software de Affymetrix GeneChip en valores individuales cuantitativos (respectivamente 1 valor por señal, 40 valores individuales por gen). Los valores individuales se resumieron con el uso de una implementación del algoritmo Affymetrix MAS5 de Genedata REFINER® para dar un valor por gen.

El procedimiento se repite con el uso de, respectivamente, tres micromatrices (réplicas) para cada una de las líneas celulares. Los valores individuales resultantes de todos los genes y réplicas se normalizaron con respecto a la mediana de todos los valores. A continuación se resumió cada valor por gen y réplica por medio de cálculo de la media armónica para dar un valor por gen y línea celular. Entre los valores de expresión de ARNm así calculados y los valores de CI-50 descritos anteriormente a partir de los ensayos de proliferación se calculó el coeficiente de correlación según Pearson entre gen y sustancia de prueba en cada caso para todas las líneas celulares.

El Compuesto A se sometió a ensayo en las líneas celulares de la Tabla 1, que representan a modo de ejemplo las subindicaciones indicadas.

Tabla 1

Indicación tumoral	Línea celular
Carcinoma de mama	KPL-1, MCF 10A, SK-BR-3, MCF7, MDA-MB-453, Hs 578T, MDA-MB-231, MDA-MB-468, ZR-75-1, T-47D, MDA-MB-435s, DU-4475, BT-20, BT-474, EVSA-T, BT-549
Carcinoma de colon	HCT 116, HT-29, SW480, Caco-2
Carcinoma de páncreas	MIAPaCa-2
Carcinoma de próstata	DU145, PC3
Carcinoma cervicouterino	HeLa
Carcinoma renal	Caki2, 786-O
Carcinoma de pulmón	NCI-H460, NCI-H810, NCI-H441, NCI-H1838, NCI-H69, NCI-H2030, NCI-H358, NCI-H1793, NCI-H1048, SK-MES-1, NCI-H2347, NCI-H1975, A549, NCI-H23, NCI-H2170, NCI-H2228, NCI-H661, NCI-H1703, NCI-H1581, NCI-H226, NCI-H1563, NCI-H522, ChaGo-K-1, NCI-H1437
Melanoma	A-375

- 35 La Tabla 2 enumeraba 62 genes que codifican para proteínas que tienen una función reguladora en el ciclo de división celular y a los que se recurrió para el análisis de correlación.

Tabla 2

Símbolo del gen	ID del gen	Proteína codificada
CDK1	983	quinasa dependiente de ciclina 1
CDK2	1017	quinasa dependiente de ciclina 2
CDK3	1018	quinasa dependiente de ciclina 3
CDK4	1019	quinasa dependiente de ciclina 4
CDK6	1021	quinasa dependiente de ciclina 6
CDK7	1022	quinasa dependiente de ciclina 7
CDKN1A	1026	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1A (p21, Cip1)
CDKN1B	1027	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1B (p27, Kip1)
CDKN1C	1028	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1C (p57, Kip2)
CDKN2A	1029	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 2A (p 16)
CDKN2B	1030	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 2B (p15)
CDKN2C	1031	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 2C (p 18)
CDKN2D	1032	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 2D (p 19)
CDKN3	1033	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 3
PLK1	5347	quinasa tipo polo 1
PLK2	10769	quinasa tipo polo 2
PLK3	1263	quinasa tipo polo 3
PLK4	10733	quinasa tipo polo 4
AURKA	6790	aurora quinasa A
AURKB	9212	aurora quinasa B
CHEK1	1111	homólogo del punto de comprobación CHK1
CHEK2	11200	homólogo del punto de comprobación CHK2
CCNA1	8900	ciclina A1
CCNA2	890	ciclina A2
CCNB1	891	ciclina B1
CCNB1IP1	57820	proteína 1 de interacción con ciclina B1
CCNB2	9133	ciclina B2
CCNB3	85417	ciclina B3
CCNC	892	ciclina C
CCND1	595	ciclina D1
CCND2	894	ciclina D2
CCND3	896	ciclina D3
CCNDBP1	23582	proteína de unión 1 tipo ciclina D
CCNE1	898	ciclina E1

(continuación)

Símbolo del gen	ID del gen	Proteína codificada
CCNE2	9134	ciclina E2
CCNF	899	ciclina F
CCNG1	900	ciclina G1
CCNG2	901	ciclina G2
CCNH	902	ciclina H
CCNI	10983	ciclina I
CCNI2	645121	familia de ciclina I, miembro 2
CCNJ	54619	ciclina J
CCNJL	79616	tipo ciclina J
CCNK	8812	ciclina K
CCNL1	57018	ciclina L1
CCNL2	81669	ciclina L2
CCNO	10309	ciclina O
CCNT1	904	ciclina T1
CCNT2	905	ciclina T2
CCNY	219771	ciclina Y
CCNYL1	151195	tipo ciclina Y 1
TTK	7272	proteína quinasa TTK
BUB1	699	homólogo de gemación no inhibida por benzimidazoles 1
BUB1B	701	homólogo de gemación no inhibida por benzimidazoles 1 beta
BUB3	9184	homólogo de gemación no inhibida por benzimidazoles 3
MAD1L1	8379	MAD1 de tipo deficiente en arresto mitótico1
MAD2L1	4085	MAD2 de tipo deficiente en arresto mitótico1
MAD2L1BP	9587	proteína de unión a MAD2L1
MAD2L2	10459	MAD2 de tipo deficiente en arresto mitótico2
CDC20	991	homólogo del ciclo de división celular 20
CDC20B	166979	homólogo B del ciclo de división celular
WEE1	7465	homólogo de WEE1

La Tabla 3 muestra los resultados de los ensayos de proliferación.

Tabla 3

	Compuesto A
	CI50 [nM]
Líneas celulares de tumor de mama	
KPL-1	6,44

(continuación)

	Compuesto A
	CI50 [nM]
Líneas celulares de tumor de mama	
MCF 10A	20
SK-BR-3	13
MCF7	15
MDA-MB-453	15,1
Hs 578T	16,8
MDA-MB-231	20,2
MDA-MB-468	28,8
ZR-75-1	32,5
T-47D	33,8
MDA-MB-435s	36,4
DU-4475	37,3
BT-20	38,1
BT-474	42,6
EVSA-T	45
BT-549	84,1
Líneas celulares de carcinoma de colon	
HCT 116	18
HT-29	29
SW480	15
Caco-2	16
Líneas celulares de carcinoma de páncreas	
MIAPaCa-2	21
Líneas celulares de carcinoma de próstata	
DU145	8
PC3	25
Líneas celulares de carcinoma cervicouterino	
HeLa	12
Líneas celulares de carcinoma de riñón	
Caki2	26
786-O	20

(Continuación)

	Compuesto A
	CI50 [nM]
Líneas celulares de tumor de mama	
Líneas celulares de melanoma	
A-375	14
Líneas celulares de carcinoma de pulmón	
NCI-H460 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	27
NCI-H810 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	9,01
NCI-H441 (carcinoma de pulmón papilar)	10
NCI-H1838 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	15,9
NCI-H69 (carcinoma de pulmón de células pequeñas)	27
NCI-H2030 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	17,7
NCI-H358 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	19,4
NCI-H1793 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	22,5
NCI-H1048 (carcinoma de pulmón de células pequeñas)	25
SK-MES-1 (carcinoma de células escamosas)	26,5
NCI-H2347 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	28
NCI-H1975 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	24
A549 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	31
NCI-H23 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	45,4
NCI-H2170 (carcinoma de pulmón de células pequeñas)	48,7
NCI-H2228 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	52,1
NCI-H661 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	53,1
NCI-H1703 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	53,6
NCI-H1581 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	53,8
NCI-H226 (mesotelioma)	54,6
NCI-H1563 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	59,1
NCI-H522 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	65,4
ChaGo-K-1 (carcinoma bronquial no diferenciado)	69,4
NCI-H1437 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas)	69,9

La Tabla 4 muestra las cantidades relativas de ARNm de los 62 genes reguladores del ciclo celular en las 51 líneas celulares examinadas determinadas en estudios de hibridación con el chip de genes Affymetrix.

Tabla 4

	AURKA	AURKB	BUB1B	BUB1	BUB3	CCNA1	CCNA2	CCNB1IP1	CCNB1	CCNB2	CCNB3	CCNC	CCND1	CCND2	CCNDBP1
KPL1	60087	19709	13265	10880	78630	491	18335	17308	40182	33709	708	20839	48200	654	11047
MCF10A	34913	8307	23706	14238	135711	6835	28358	42206	89275	53637	1021	125110	27295	25935	41515
SK-BR-3	127962	7888	33366	18758	114446	4324	41783	99234	99234	62103	1177	89742	25227	639	23071
MCF7	66402	16299	19440	13970	114589	893	21914	44705	82679	41645	938	85000	76589	381	17308
MDAMB453	35610	6310	44008	12952	163447	338	32659	19811	75501	86143	1012	83630	9022	556	10963
HS578T	52223	28323	50402	21942	171634	189	33270	39922	97045	75996	544	69587	52776	160	39611
MDAMB231	132277	46600	65257	63651	244291	2767	77385	36196	204466	95832	1552	90089	85794	689	41418
MDAMB468	73003	30792	53846	39361	175379	772	54628	86879	163813	103370	1046	208429	19589	101	22200
ZR751	73014	15433	35067	21684	137095	1018	36887	37929	107878	77971	1666	101304	62178	140	11607
T47D	79613	14780	53655	19656	119998	280	45386	15532	185519	115028	1913	66247	21505	464	14895
MDAMB435S	99910	22673	68619	37445	225787	108	40529	52837	179811	159076	1262	79039	69604	268	28254
DU4475	27257	17877	31276	27899	132503	361	26780	11136	61736	52202	1126	13965	5153	484	22204
BT20	59155	16032	35465	19235	54212	967	32077	22275	75663	67015	5004	59513	25778	962	23759
BT474	95568	8851	27409	12488	61323	734	18134	67693	46558	45940	1226	60702	25565	463	9236
EVSA1	132254	9140	27190	11748	168616	469	31774	20491	84263	57295	1146	171163	8719	161	19286
BT549	104992	30879	46425	28643	146073	4155	45392	40475	172233	41266	1046	128212	9447	335	2266
HCT116	66028	36907	87813	45667	273237	272	49299	64883	164167	94782	2284	136271	71527	209	30507
HT29	91034	22421	55594	35853	163773	463	55007	45582	166751	116312	1009	117943	15940	238	32229
SW480	72796	35221	37225	36785	119547	161	40022	29231	112696	85041	1102	93170	198818	13570	28414
CACO2	174500	37352	52965	54378	149417	276	82241	78729	243245	133942	1044	194111	43688	37183	29741
MIAPACA2	74575	33355	44046	43296	148303	267	34959	34158	169941	95169	1203	123640	19765	764	20678
DU145	73547	21613	55396	30225	117777	3343	25842	41263	111798	73889	2636	86219	34482	267	44471
PC3	61659	12697	55837	36970	159589	5657	23942	27195	100313	48892	722	72154	68926	307	23286
HELA	74457	21496	73701	22733	202199	563	52633	29953	158606	102931	855	95815	10189	339	22054
Cal2	45628	5675	39081	29085	90789	6407	35447	15429	65040	42794	1479	60949	24040	432	14974
7860	77549	26209	49205	43467	151043	3033	47113	34886	103593	82152	615	105183	68088	357	28043
A375	43673	20524	34099	15089	141130	4119	26523	18131	90572	50907	1203	46133	60715	734	18184
NCH226	18987	4771	5859	7639	37827	1040	13846	16170	26358	32041	1006	42815	30528	4643	11841
NCH460	89625	17579	32287	25536	132449	247	29198	56785	108118	52566	1986	68165	10759	177	18456
NCH810	53140	13687	32901	16399	54233	637	27197	44593	49505	52117	676	44269	2435	623	28322
NCH1838	32887	19843	32004	14252	38809	293	14462	21164	38211	37795	1988	31341	44366	656	23656
NCH2030	69179	25719	50663	31075	76930	1439	34599	13296	64336	44768	2225	30516	15321	668	24893
NCH358	7896	3918	9704	5131	26780	545	6113	31100	12239	15280	2986	19233	35286	319	11794
NCH1793	31869	5416	26253	10386	39172	1148	18832	13474	38759	25575	5233	23796	16101	703	11431
NCH2347	38717	10405	18367	16974	53179	730	27524	22373	81585	32726	1850	38105	76835	2645	21251
NCH1975	24095	10956	13161	8853	50520	3301	13028	19691	36185	17669	1812	30408	22628	919	18635
A549	85072	36346	40617	29470	145586	268	37058	28256	157943	98461	1233	78118	43552	278	20600
NCH123	3481	1041	1904	734	34821	554	1983	12402	2278	2392	940	22242	22776	1077	26398
NCH2228	10688	1429	8638	5243	35617	3023	9781	17870	24662	10757	1110	24504	24771	4302	20331
NCH1661	29728	12309	17537	12839	25077	722	36211	21546	23425	24205	4548	24684	3656	883	12882
NCH1703	41730	19655	38478	18648	59750	1601	36182	14451	79569	41934	8474	49850	6373	92426	15653
NCH1581	30583	13348	19860	15472	61848	1056	21693	18094	34744	21939	3052	38088	22083	59479	6609
NCH1563	33598	2063	8042	3942	34433	693	11431	17888	18305	10696	2026	39449	17891	875	16138
NCH522	22431	6567	17392	12945	39954	701	18687	9338	24099	15579	2037	20182	9779	606	5687
NCH1437	29997	8161	29979	11391	64269	1164	20668	11982	47843	30182	1162	26696	36427	735	8907
NCH441	35979	17896	28958	15971	57455	490	24281	26814	50870	33166	952	32001	37893	702	23983
NCH69	9410	28863	8578	40234	9193	20343	30090	51248	51248	40047	1320	21218	975	501	5518
NCH1048	32538	9479	39895	12935	76688	1937	37710	15422	53259	36826	3074	37329	8030	753	20986

(continuación)

	AURKA	AURKB	BUB1B	BUB1	BUB3	CCNA1	CCNA2	CCNB1IP1	CCNB1	CCNB2	CCNB3	CCNC	CCND1	CCND2	CCNDBP1
NCIH2170	24942	7775	27835	7596	30037	410	31153	13755	31099	20680	1318	46194	22041	582	9402
SKMES1	33277	7855	27593	12245	46034	594	32503	12895	39311	28313	1564	45079	48918	858	20602
CHAGOK1	55008	9057	30223	10735	26993	871	43567	18209	42782	32033	1481	34545	10716	1972	11709
	CCNE1	CCNE2	CCNF	CCNG1	CCNG2	CCNH	CCNI	CNJL	CCNJ	CCNK	CCNL1	CCNL2	CCNO	CCNT1	CCNT2
KPL1	7449	10202	8871	51799	10803	21255	62025	495	2582	28501	14840	23740	4545	3389	3559
MCF10A	5870	8917	6513	214311	46371	36521	116413	881	3918	19601	19360	43684	3926	3250	9435
SK-BR-3	11395	9917	11550	40298	25045	25747	93707	552	1630	11365	10480	21899	1443	2279	5827
MCF7	7982	27985	9084	114479	32786	38805	120523	1421	6153	41185	19297	22037	2471	3104	9067
MIDAMB453	3902	35004	12953	76736	63267	25735	109657	275	3102	23207	13118	18166	13179	814	9630
HS578T	9497	30371	7353	122062	42063	44285	112047	276	3067	18921	23818	37708	2371	2046	6298
MIDAMB231	12610	46334	10656	71751	24820	57429	102215	4203	6713	24617	12932	23517	4387	2164	6686
MIDAMB468	14018	32314	16590	200683	16788	45188	110454	2233	4752	27090	19304	16337	2769	1810	7644
ZR751	7913	33222	10848	120001	48045	37453	126774	773	4561	30143	20407	22858	2196	2661	15250
T47D	5209	51290	10496	106730	23705	53287	66332	1562	6148	30258	15232	18540	9622	3401	7187
MIDAMB435 S	9911	26574	9343	76112	7885	69644	45102	1937	2488	17254	26770	11611	9103	2255	5126
DU4475	12821	22050	10181	67147	5496	8263	16196	722	3048	11491	14112	12759	4848	2824	6297
BT20	8064	20885	7976	20197	8817	20775	66365	241	1525	21944	10685	11214	3110	2559	5657
BT474	3386	37458	8096	42635	91312	8382	160602	2035	6084	19793	14258	15422	1272	2314	9358
EVSAT	8746	89382	9298	80607	9277	19844	81986	529	2553	27309	10448	25481	4584	3189	8913
BT549	17171	111778	7348	69766	12548	57541	78890	667	8601	24518	13633	23912	945	1247	4265
HCT116	25789	31245	17540	191267	13514	63028	96242	1472	9666	33717	24582	28895	7116	3789	9434
HT29	12079	16979	11710	172609	17408	59099	104601	1864	6640	21458	14890	24108	4225	2654	10445
SW480	5985	19425	8542	98231	13603	38635	69164	2336	5009	27180	27006	29740	4290	1871	7659
CACO2	20296	19464	15387	244602	9948	62280	82075	3075	12189	33688	23952	25959	3639	4006	15584
MIAFACA2	16987	12615	10311	168313	7779	73449	86675	689	5850	26089	25892	35065	5496	2643	8573
DU145	7817	20946	5910	77921	7782	58070	85762	1967	4747	28433	22827	24339	3667	2729	6938
PC3	4748	26708	4891	78028	13221	87461	54438	2358	4231	21539	17765	39738	3323	2904	7894
HELA	10308	23960	11588	110737	12017	66020	71595	1688	3268	18645	11450	29199	4219	2729	7807
CaK2	8784	11005	5882	96877	17575	15795	65311	1572	2346	15165	10863	14418	2892	1270	4203
7860	6578	27305	10993	106597	14078	37659	117412	1138	5194	22106	13183	28445	2692	3506	8151
A375	6802	16588	7715	72888	4234	45503	42682	2150	5311	14694	13970	18289	5070	1861	2947
NCIH226	2092	3712	4330	49097	4425	21703	52648	203	1367	12448	12322	15985	3093	2494	4019
NCIH460	7347	14398	5507	157712	4716	54116	63949	1931	5807	21874	11758	16817	4538	3205	10418
NCIH810	79712	10930	20114	22510	12404	26656	86840	1344	11165	21196	16688	14667	1030	2892	6702
NCIH1838	4239	8895	4221	23900	12462	14388	56493	1521	3432	17065	10212	12636	5654	1175	1843
NCIH2030	10546	8709	6722	23169	20622	34637	72705	984	2391	22097	11908	14229	1068	2045	5731
NCIH358	1256	2504	1835	13800	25035	16565	69362	1578	1863	10432	8346	19168	2115	1161	2958
NCIH1793	6466	10129	3011	32761	10503	27326	59685	2999	2764	15195	10387	5361	4420	1668	2284
NCIH2347	8457	14631	5112	41312	48651	26550	87779	2999	3308	21535	11444	11349	4468	2575	3745
NCIH1975	4049	4237	3443	30031	16911	32740	55462	1033	3053	20000	6624	9230	1288	1199	4793
A549	17739	10115	9795	102327	4658	45722	53411	2739	6158	27901	15024	15727	3351	2510	6088
NCIH23	3118	772	1396	51588	6894	20820	84235	2319	4805	11906	17412	26304	7122	1050	6971
NCIH2228	7369	5549	2463	29830	6497	42934	78040	6555	4769	26117	11200	17110	4965	2814	5968
NCIH661	7143	1815	5024	21321	7234	5650	51006	1229	2787	11568	5807	12103	3402	1571	4718
NCIH1703	6553	16143	6937	60337	9326	27072	71597	1105	5361	20939	9632	21355	4100	1253	5248
NCIH1581	8770	7106	6765	20828	3270	11822	56179	557	7318	30563	7059	17103	1121	1978	5716
NCIH1563	9361	9513	3375	45050	25317	23017	62919	2298	2366	13930	8030	6496	1535	526	6381
NCIH522	23722	12804	4506	14899	3388	10975	50119	1121	5797	27379	7684	11692	3590	1162	4534
NCIH1437	6992	16572	6736	16872	2742	19023	62323	3196	3954	24478	10165	8057	4820	1669	4352

(continuación)

	CCNE1	CCNE2	CCNF	CCNG1	CCNG2	CCNH	CCNI	CCNJL	CCNJ	CCNK	CCNL1	CCNL2	CCNO	CCNT1	CCNT2
NCIH441	5005	15168	7040	38753	47990	17369	80164	3972	2637	19322	10797	27111	2112	1581	5581
NCIH69	7943	31851	9302	25182	6495	43103	52174	1166	4430	10509	5265	7996	15777	910	2368
NCIH1048	16545	23224	5268	37928	26799	23556	75506	1868	5855	16666	7080	12469	3591	1626	5823
NCIH2170	9603	9859	3955	29639	9605	18626	85821	1173	4716	16668	9156	7773	6297	1177	6888
SKMES1	3782	7070	5691	22203	16785	24370	73256	3022	2729	21037	10514	15374	4872	918	3838
CHAGOK1	19286	6716	6549	27293	11383	12891	62833	722	117	16927	8711	23642	5816	18796	4704
	CCNY1	CCNY	CDC20B	CDC20	CDK1	CDK2	CDK3	CDK4	CDK6	CDK7	CDKN1A	CDKN1B	CDKN1C	CDKN2A	CDKN2B
KPL1	4381	8952	618	33235	40424	30789	2204	63959	11946	16233	17886	22503	627	2195	1521
MCF10A	22824	26926	245	38599	59001	16264	3729	66301	42299	38197	48775	29848	12411	941	49
SK-BR-3	4516	25848	300	54435	144149	22037	5111	72053	6951	31424	3404	42190	463	15080	5868
MCF7	8307	21784	564	22827	53922	34536	4038	118657	3580	33265	73843	74835	1137	970	3597
MDAMB453	9161	12474	642	34004	86036	24896	2719	81076	643	17398	1407	81115	2940	7086	211
HS578T	33991	38961	353	79236	113081	27550	2579	136997	66662	28058	19024	46542	1533	1324	16642
MDAMB231	20364	34496	429	89770	243209	43589	3563	96622	40513	53269	26918	47734	9120	577	131
MDAMB468	32925	15331	125	183758	246851	17121	6169	64686	17174	31187	7811	29242	2736	83704	8877
ZR751	8331	29683	317	27388	134235	23529	6044	140821	189	39275	40616	87423	485	3393	1155
T47D	5114	26514	3072	45820	202034	41399	5669	92379	1395	39341	11414	29061	1361	28830	3927
MDAMB435S	17920	25082	516	75099	117373	25968	3979	133857	22662	39980	6012	16144	4805	77563	2651
DU4475	4892	13443	1005	47589	84856	23132	1218	53383	49060	19713	12833	9337	40158	12537	505
BT20	14106	18946	1012	40625	72243	30606	4721	46717	4992	10775	4357	42073	2480	1476	77
BT474	2214	14111	471	31884	53753	27230	3984	74764	2401	15440	3156	60831	2520	5253	304
EVSAT	12778	27286	443	29702	92306	36609	4526	125415	85137	14140	3073	56488	1183	10447	1283
BT549	5762	34120	423	84470	22109	47654	2219	152880	27694	35473	8706	49098	1179	281653	6614
HCT116	11126	36816	236	120371	208297	72131	3398	168971	37281	59164	54992	44485	9732	35122	2066
SW480	19596	21710	424	58384	163524	39319	4528	130277	42756	43029	9195	39008	2614	18519	1281
CACO2	54684	38499	496	62658	312205	51182	4403	167659	61924	64311	4098	122817	8105	19216	1397
MIAPACA2	9339	25666	484	96197	85663	25787	4845	99734	14593	43369	5089	56844	2133	956	118
DU145	29595	22511	460	54735	114283	45604	4465	70300	5042	33665	16718	52334	3918	212852	7490
PC3	20138	56121	260	48606	170006	27756	5063	95333	22119	16253	9207	22520	5096	65026	11397
HELA	13064	15770	467	67694	132487	54138	2914	102373	52799	26141	16508	70677	21876	269053	18919
Caki2	39002	11400	726	34668	72476	28952	3832	90877	32888	12960	34120	31731	2094	2422	48
7860	28505	32078	705	93204	175500	30449	4491	131095	113604	15712	40389	50535	2067	978	49
A375	6063	15591	230	68098	55382	38886	3910	106783	52547	26831	18389	20029	3202	3200	69
NCIH226	33613	9383	1052	16134	22521	25029	3017	63673	40535	14649	46497	16403	7021	3020	5733
NCIH460	46119	10738	377	31250	118959	20679	3457	99639	31260	40611	16965	19523	520	940	82
NCIH810	3909	19495	512	53693	45896	28197	4596	78474	14729	10384	1064	39299	17439	42443	651
NCIH1838	12699	11087	916	22319	23503	16031	3673	78950	8906	8703	9049	24938	11398	1232	22
NCIH2030	31179	8922	803	56552	43601	43962	4754	52759	22531	15302	14066	21265	3391	20932	1865
NCIH358	5535	7668	510	7952	5090	12091	2225	43895	7823	9948	18077	14809	4313	21755	8232
NCIH1793	4702	5693	1072	18225	28882	32275	4238	58423	11879	12608	7921	14837	1707	1549	21194
NCIH2347	8619	11917	728	35534	32441	25349	5335	60657	9168	32867	22664	27749	10207	25842	7015
NCIH1975	11612	7709	735	18974	17172	16886	5056	59398	3716	18739	6270	22548	13419	9295	3985
A549	23016	21726	543	55076	135093	30920	4949	112191	35280	34367	31946	32216	1112	1146	95
NCIH23	4340	19972	820	1252	1749	9152	6186	54922	15207	12427	1089	21061	5559	24470	9133
NCIH2228	11660	11961	933	5327	8342	11627	5361	62607	955	16784	15211	30886	17106	1452	32
NCIH661	30038	12032	1031	21485	16109	20143	4672	53652	15138	7877	4228	13023	5662	17914	1549
NCIH1703	47804	14061	769	52930	47433	46288	7827	65652	12605	20916	3841	40597	2583	44867	2044
NCIH1581	10675	15903	777	29826	29103	31977	8731	81174	18862	7804	3113	21542	6209	20216	1005

(continuación)

	CCNYL1	CCNY	CDC20B	CDC20	CDK1	CDK2	CDK3	CDK4	CDK6	CDK7	CDKN1A	CDKN1B	CDKN1C	CDKN2A	CDKN2B
NCH1563	5829	11675	1111	11126	15374	11776	4762	30387	11549	9263	37245	22152	6741	1830	49
NCH522	8089	7826	959	31058	19561	29262	4532	54728	293	7803	11968	5846	1975	80732	4494
NCH1437	12776	13836	978	18398	50832	32876	7254	53515	5346	12071	4730	24149	1538	1215	14
NCH441	18398	17188	518	31378	34901	23962	4971	49473	9511	13934	10841	34381	3838	10589	2317
NCH69	2065	8741	2025	9531	24613	29635	4387	62350	8083	7868	45686	23232	3708	44704	1288
NCH1048	3243	9072	604	36219	43358	40307	5162	44135	6357	9158	14920	33676	18523	61651	8772
NCH2170	10278	8593	907	16078	39879	12108	2316	33518	14734	7986	3099	37263	512	2025	29
SKMES1	11376	11238	711	29731	24094	21436	5260	41812	11924	11796	2154	27678	5405	1067	52
CHAGOK1	7092	18339	591	33236	3856	21646	6313	31918	17577	18319	2154	27678	5405	12925	1386
CDKN2C	CDKN2D	CDKN3	CDKN3	CDKN3	CHEK1	CHEK2	MAD2L1	MAD2L1BP	MAD2L1	MAD2L2	PLK1	PLK2	PLK3	PLK4	WEE1
KPL1	5301	592	33679	4449	1632	4841	8948	21176	14196	13342	70636	2389	7400	8079	9022
MCF10A	7953	886	30518	17467	7251	3052	17355	56760	12673	10151	40414	3521	8129	18357	25568
SK-BR-3	50475	1758	72086	14959	15066	5870	14552	84768	15033	14681	5745	1434	11059	27120	53706
MCF7	10087	1026	48465	11110	8704	5092	20952	69586	16809	11125	35947	1073	10308	16215	20028
MDAMB453	21494	3350	71765	20120	13517	3215	16317	90782	17475	16154	51545	967	15148	18763	18784
HS578T	95283	5973	59812	24882	8391	28612	28412	63817	44555	16739	57018	2159	14428	33352	32375
MDAMB231	53073	14064	128476	33045	6317	12959	29722	134623	28981	23060	133894	1810	33258	46790	48909
MDAMB468	44520	16944	97918	48012	12291	14557	24655	64734	17338	41705	77176	1365	17402	72655	39782
ZR751	18986	2400	55498	10010	15010	4841	26278	85402	18598	22831	13121	853	14573	22615	28583
T47D	36520	2050	118007	39527	12071	4150	16084	69423	20773	15848	79611	354	11907	31549	29847
MDAMB435S	27417	4978	84390	32073	13132	46533	43056	106676	38135	32740	20664	709	20888	71378	37345
DJ4475	4305	7774	39818	11659	2880	30419	7945	44753	47627	16735	7491	1915	10075	14073	13893
BT20	24453	1003	53910	12882	5640	4834	13954	59566	17156	9937	28290	758	10014	19635	40096
BT474	10043	1151	44173	13646	6666	4360	15007	43592	21612	7568	17469	510	9343	19375	40387
EV5AT	23948	1495	68301	25554	26731	3212	27993	90825	48301	7636	3201	718	16233	31021	50256
BT549	194081	2428	69592	23070	15953	6370	19238	113278	74131	21315	136091	1637	17477	40632	17143
HCT116	6043	2432	61149	30911	17912	6212	26003	142163	42807	28728	33560	5623	25083	49463	68026
HT29	10348	1468	61685	30958	16409	4686	17715	142199	20390	24951	70335	2365	23088	28163	40607
SW480	10928	1460	89492	27923	5250	11118	12309	86735	34576	16381	17143	2054	16663	38854	30307
CACO2	2789	1039	79792	56214	15305	5458	26333	126843	25147	27243	6094	788	19952	48037	66877
MIAPACA2	26051	2026	90363	17241	19901	15437	20673	84369	48139	21334	220992	2593	10082	27472	22020
DJ145	37692	1264	74630	23958	16146	3283	29583	59734	23923	13762	34232	1090	17158	28659	20380
PC3	44158	3135	138850	21906	8125	4682	16238	82311	23028	14902	16218	1699	13666	29622	20872
HELA	121220	1472	58582	13764	12594	5549	13497	98598	26449	32021	34040	1418	15962	33338	36371
Cal2	38288	456	55322	5236	3638	1368	10154	82337	12493	7692	91219	1494	10381	18825	53870
7860	61859	2019	60653	21260	9191	4275	17497	126796	35884	26449	99063	1487	19024	31310	37510
A375	23971	1896	21361	15167	5261	4876	9670	54050	14856	17504	30583	2379	10226	13748	15661
NCH226	12000	457	12715	4480	1936	3631	6463	29207	10843	5495	68710	3729	7042	12122	18752
NCH460	15460	861	52204	13749	16543	3770	12572	70461	18076	15136	37452	1791	10080	18243	18752
NCH810	26361	4148	28540	9799	6610	13164	13379	82085	17351	14805	24670	1170	6683	12546	17568
NCH1838	19457	2385	37599	11013	6007	10721	18382	38632	14779	7356	12274	929	5222	11945	14544
NCH2030	31745	1316	77476	17810	11256	4315	16730	63120	20314	14020	17601	768	9569	19200	14457
NCH358	2978	811	10373	4377	2687	2302	7778	28761	5790	2502	11214	2965	2668	3651	9326
NCH1793	29263	757	37528	4437	4627	2706	3998	39807	6678	6456	33713	564	3473	8382	14439
NCH2347	9414	2273	46740	11895	2861	3715	9649	51794	10778	10672	36595	2670	9197	13434	15359
NCH1975	11153	860	22119	9259	3351	4156	6866	28054	9920	7841	18737	1055	3644	7567	14079
A549	15550	754	72577	18539	7978	3631	12320	87282	17876	27484	71674	2117	14901	28781	27668
NCH23	591	314	1730	2410	2863	2910	8499	6803	5496	684	23491	3220	560	652	13043
NCH2228	3683	454	20158	7261	2784	4287	10381	14942	12681	5687	33141	1758	2147	2899	15074

(continuación)

	CDKN2C	CDKN2D	CDKN3	CHEK1	CHEK2	MAD1L1	MAD2L1BP	MAD2L1	MAD2L2	PLK1	PLK2	PLK3	PLK4	TTK	WEE1
NCIH661	14055	349	25401	7646	3631	6124	7484	51939	22198	9237	22777	847	5371	11217	12406
NCIH1703	22165	1306	51213	14004	10886	6446	16155	58119	32471	19185	47070	1016	9976	27116	12854
NCIH1581	27076	281	35495	14836	5182	3738	10878	57567	30903	11933	237	1092	4047	11377	17791
NCIH1563	23670	731	19393	4992	3926	2293	7637	21475	4905	6563	56499	520	1627	3645	14726
NCIH522	25713	770	14011	15357	4046	2734	16046	47912	26801	6326	2517	1574	5067	5606	15596
NCIH1437	7590	1149	48497	19166	4238	2805	7674	52435	10532	20575	34322	1506	7952	7466	13929
NCIH441	16038	1345	54481	11813	5527	3062	11044	54583	13096	10804	2698	1320	7427	11949	17031
NCIH69	62350	4890	30152	11463	5383	1824	9499	57809	19871	11820	5823	493	4486	8939	22812
NCIH1048	33156	3199	45362	6950	3987	2675	11361	59474	20308	12581	55503	710	8813	19372	27484
NCIH2170	4690	572	31098	10264	5525	1885	8737	79720	6074	8374	1405	578	7187	9461	19383
SKMES1	16719	1311	30074	11612	4508	7353	8146	54256	17518	14253	110152	2088	8000	18861	14543
CHAGOK1	13277	1276	32460	11366	7571	2689	6736	63418	19372	13970	16762	881	6436	15806	13886

Ejemplo

Tabla 5. Resultados de los análisis de correlación

Gen	Todas las líneas celulares	Todas las líneas celulares de pulmón	Líneas celulares de mama
CCNE2	no hay correlación	no hay correlación	$r = 0,79$ $P = 0,0003$ altamente significativo
MAD2L2	no hay correlación	no hay correlación	$r = 0,74$ $P = 0,00097$ altamente significativo

- 5 La sensibilidad de 51 líneas celulares de tumores humanas frente al Compuesto A se determinó en ensayos de proliferación. Los valores de CI50 determinados se correlacionaron con las cantidades relativas de ARNm de 62 proteínas reguladoras del ciclo celular que se habían determinado en estudios de hibridación independientes con chip de genes (tecnología Affymetrix). Los genes para los que se hallaron correlaciones estadísticamente significativas ($P < 0,05$) dentro de las líneas celulares de tumor de mama se resumen en la Tabla 5. Los coeficientes de correlación y los valores de significancia se calcularon con ayuda de Microsoft Excel 2003 y SigmaStat 3.0.
- 10 Considerando todas las líneas celulares analizadas, así como en los grupos parciales de las líneas celulares de pulmón, no hay correlación entre la cantidad de ARNm de los genes CCNE2 (ciclina E2) o MAD2L2 y la CI50 de las líneas celulares frente al Compuesto A. Sorprendentemente, para el grupo parcial de las 16 líneas celulares de tumor de mama, el análisis de correlación muestra una correlación estadísticamente muy significativa entre la
- 15 cantidad ARNm de los genes CCNE2 o MAD2L2 y la sensibilidad de las células, determinada como CI50, frente al Compuesto A (Tabla 5).

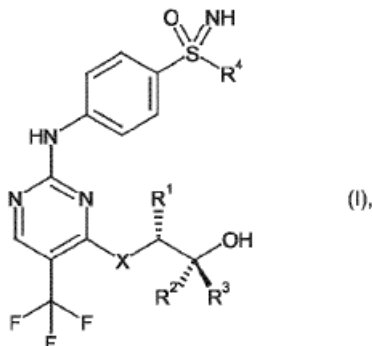
Estos datos prueban que las cantidades relativas de ARNm de los genes CCNE2 y/o MAD2L2 podrían indicar la sensibilidad de las células de tumor de mama humanas frente al Compuesto A. Una elevada cantidad relativa de ARNm de los genes CCNE2 y/o MAD2L2, para la que se observó un coeficiente de correlación positivo, muestra una CI50 más alta, equivalente a una menor sensibilidad de las células frente al Compuesto A.

20 Figuras

Fig. 1. Representación gráfica de la sensibilidad de las líneas celulares de tumor de mama humanas frente al Compuesto A determinada como CI50 [nM] en ensayos de proliferación frente a la cantidad relativa de ARNm del gen MAD2L2. La línea continua representa el grado de correlación.

REIVINDICACIONES

1. Uso de MAD2L2 como marcador de estratificación en el tratamiento de tumores de mama con un compuesto de fórmula general (I)



5 en la que

X representa -O- o NH- y

R¹ representa un grupo metilo, etilo, propilo o isopropilo y

R² y R³ representan, independientemente entre sí, hidrógeno, un grupo metilo o etilo y

R⁴ representa un grupo alquilo C₁-C₆ o un anillo de cicloalquilo C₃-C₇,

10 o con uno de sus sales, diastereómeros o enantiómeros fisiológicamente compatibles.

2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 en el tratamiento con un compuesto de fórmula general (I), en la que

X representa -O- o NH- y

R¹ representa un grupo metilo y

R² representa un grupo metilo y

15 R³ representa hidrógeno o un grupo metilo y

R⁴ representa un grupo metilo o etilo o un anillo de ciclopropilo o

o con uno de sus sales, diastereómeros o enantiómeros fisiológicamente compatibles.

3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 en el tratamiento con (2R,3R)-3-[[2-[[4-(R-ciclopropilsulfonimidoil)fenil]amino]-5-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi]butan-2-ol.

20 4. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3 en el tratamiento de tumores de mama en monoterapia o en terapia de combinación.

5. Procedimiento para la selección de pacientes con tumor de mama, que podrían responder a un tratamiento con un compuesto de fórmula (I), **caracterizado porque** se determina el nivel de expresión de MAD2L2.

25 6. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado porque** el nivel de expresión de MAD2L2 se determina a nivel de ácidos nucleicos.

7. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado porque** el nivel de expresión de MAD2L2 se determina a nivel de proteínas.

8. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado porque** el nivel de expresión de MAD2L2 se determina en una muestra del cultivo celular.

30 9. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado porque** el nivel de expresión de MAD2L2 se determina en una muestra de un organismo mamífero.

10. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado porque** el nivel de expresión de MAD2L2 se determina en una muestra de un paciente humano.

35 11. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado porque** el nivel de expresión de MAD2L2 se determina en una muestra de un cultivo de células o de un animal de experimentación.

Fig 1.

