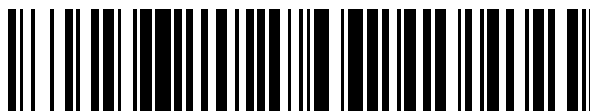


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 923**

51 Int. Cl.:

A61K 49/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.08.2008 PCT/US2008/010238**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.03.2009 WO09035510**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2008 E 08795688 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.01.2017 EP 2203188**

54 Título: **Biomarcador para medir la eficacia de un fármaco en enfermedad enteropática**

30 Prioridad:

11.09.2007 US 971435 P

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

05.07.2017

73 Titular/es:

**THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND
STANFORD JUNIOR UNIVERSITY (100.0%)
Office of the General Counsel Building 170, 3rd
Floor, Main Quad P.O. Box 20386
Stanford CA 94305-2038, US**

72 Inventor/es:

**KHOSLA, CHAITAN y
BETHUNE, MICHAEL**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 621 923 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

Biomarcador para medir la eficacia de un fármaco en enfermedad enteropática

5 **Derechos gubernamentales**

La presente invención se realizó con la subvención del Gobierno según el Convenio R01 DK063158 otorgado por the National Institutes of Health. El Gobierno tiene ciertos derechos sobre esta invención.

10 Las enzimas del citocromo P450 son una familia que contiene un grupo hemo que desempeña funciones principales en el metabolismo oxidativo, peroxidativo y reductor de numerosos compuestos endógenos y exógenos, entre los que se incluyen muchos agentes farmacéuticos. Las sustancias que se sabe que están metabolizadas por las enzimas de P450 incluyen esteroides, ácidos biliares, ácidos grasos, prostaglandinas, leucotrienos, aminas biogénicas, retinoides, hidroperóxidos lipídicos, fitoalexinas, compuestos farmacéuticos, compuestos químicos ambientales y contaminantes. Los sustratos de P450 también incluyen productos vegetales naturales implicados en el aroma, el olor y color de las flores, y en la respuesta a la cicatrización. Las enzimas de P450 y otras enzimas metabolizantes de fármacos, mantienen niveles constantes de ligandos endógenos implicados en la transcripción de genes, modulada por ligandos, que efectúan funciones de crecimiento, apoptosis, diferenciación, homeostasis celular y neuroendocrina. El metabolismo de agentes químicos exógenos por las enzimas de P450 puede producir metabolitos tóxicos, algunos de los cuales se han implicado como agentes responsables de defectos congénitos y del inicio y progresión tumoral.

25 La subclase CYP3A cataliza un extraordinario número de reacciones de oxidación de fármacos clínicamente importantes, tales como quinidina, warfarina, eritromicina, ciclosporina A, midazolam, lidocaína, nifedipina y dapsona. Las estimaciones actuales son que más del 60 % de los fármacos clínicamente utilizados se metabolizan mediante la enzima CYP3A4, incluyendo clases de fármacos principales tales como bloqueadores de canales de calcio, inmunosupresores, antibióticos macrólidos y fármacos contra el cáncer.

30 Además de en el hígado, las P450 se expresan apreciablemente en la mucosa del intestino delgado, en pulmón, riñón, cerebro, mucosa olfativa y piel. De estos tejidos, la mucosa intestinal es el sitio extrahepático más importante de biotransformación de fármacos. Como consecuencia, existe la posibilidad de un metabolismo presistémico sustancial y por tanto de una reducción potenciada en la biodisponibilidad a medida que pasa el fármaco, secuencialmente, a través del intestino delgado e hígado. Véase Lang *et al.* (1996) Clin Pharmacol Ther 59: 41-46; Kolars *et al.* (1992) J. Clin. Invest. 90: 1871-1887).

35 Al igual que en el hígado, la CYP3A es la subfamilia de P450 más abundante expresada en el intestino delgado, con un contenido específico promedio (o mediana) que representa del 50 al 70 % del contenido de P450 determinado con espectros. Al igual que la CYP3A hepática, la CYP3A entérica se localiza en un solo tipo de célula, especialmente dentro de las células epiteliales columnares absorptivas maduras (enterocitos) que componen la mayor parte del recubrimiento de la mucosa. El contenido de CYP3A microsomal entérico, así como la actividad catalítica asociada, es generalmente más elevado en la región proximal y después desciende bruscamente hacia el íleon distal.

45 Aunque se ha estimado que la masa total de CYP3A en todo el intestino delgado es de ~1 % de la que hay en el hígado, estudios realizados en seres humanos han demostrado que la CYP3A entérica puede contribuir significativamente, y en algunos casos del mismo modo, con la CYP3A hepática, al metabolismo del primer paso global de diversos fármacos, particularmente de los que se absorben por la vía transcelular. Una ventaja de la actividad de CYP3A como un biomarcador para enteropatía, es la rapidez con la que puede cambiar la actividad de CYP3A. Por ejemplo, en tan solo 7 días de tratamiento con rifampina, un inductor conocido de la CYP3A4, puede dar como resultado un aumento mayor de 5 veces en la actividad enzimática en el intestino delgado (Kolars, *et al.*, citado anteriormente). De manera similar, el zumo de pomelo, un regulador negativo conocido de CYP3A4, reduce más de 2 veces la concentración epitelial en el intestino delgado de esta enzima en tan solo 6 días (Lown *et al.*, J. Clin. Invest. 99, 2545, 1997). Por tanto, es posible minimizar la duración de la dolencia en pacientes en los que debe inducirse la enfermedad para fines de diagnóstico o relacionados.

55 Los enterocitos participan en diversas patologías. Por ejemplo, en 1953, se reconoció por primera vez, que la ingestión de gluten, una proteína habitual de la dieta, presente en trigo, cebada y centeno, causaba enfermedad en individuos sensibles. El gluten es una mezcla compleja de moléculas de glutamina - y prolina - rica en glutenina y gliadina, que se piensa que es responsable de la inducción de la enfermedad. La ingestión de dichas proteínas por individuos sensibles produce aplanamiento del recubrimiento epitelial, normalmente suculento, similar a una alfombra, del intestino delgado, que se sabe que es responsable de la digestión terminal eficiente y extensiva de péptidos y otros nutrientes.

65 Los síntomas clínicos del esprúe celiaco incluyen cansancio, diarrea crónica, mala absorción de nutrientes, pérdida de peso, distensión abdominal, anemia, así como un riesgo sustancialmente potenciado de desarrollar osteoporosis y neoplasias intestinales (linfoma y carcinoma). La enfermedad tiene una incidencia de aproximadamente 1 en 200

en la mayoría de las poblaciones. Aunque hasta ahora no se ha aprobado una terapia no dietética para el tratamiento del esprúe celiaco, se están realizando diversos esfuerzos para desarrollar terapias enzimáticas orales (a partir de ahora en el presente documento denominadas "glutenasas") que aceleren la digestión, la destoxificación y la asimilación de péptidos de gluten inmunotóxicos, proteolíticamente resistentes en el tracto gastrointestinal de pacientes celíacos. También se están considerando otros tipos de fármacos para el tratamiento del esprúe celiaco.

Una enfermedad relacionada es la dermatitis herpetiforme, que es una erupción crónica caracterizada por agrupaciones de vesículas intensamente pruríticas, pápulas y lesiones similares a urticaria. Se producen depósitos de IgA en casi toda la piel perilesional y de aspecto normal. La enteropatía asintomática sensible a gluten se descubrió en el 75 al 90 % de pacientes y en algunos de sus familiares. La aparición es normalmente gradual. El picor y el ardor son graves, y las rascaduras a menudo enmascaran las lesiones primarias con eccematización de piel adyacente, lo que conduce a un diagnóstico de eccema erróneo. La adherencia estricta a una dieta sin gluten durante períodos prolongados puede controlar la enfermedad en algunos pacientes, obviando o reduciendo la necesidad de terapia con fármacos. Algunas veces se prescribe dapsona, sulfapiridina y colchicinas para aliviar el picor, aunque la enfermedad subyacente no se ve afectada por estos fármacos. Dada la estrecha relación entre el esprúe celiaco y la patogénesis de la dermatitis herpetiforme, también se espera que las terapias anteriormente mencionadas sean útiles para el tratamiento de la dermatitis herpetiforme.

Hay una imperiosa necesidad de desarrollar biomarcadores sensibles, específicos y no invasivos, para evaluar la eficacia farmacológica en el tratamiento de pacientes con enfermedades enteropáticas tales como el esprúe celiaco. El biomarcador ideal no solo posibilitaría ensayos clínicos de candidatos farmacológicos, sino que también encontraría utilidad en el control de la enfermedad de pacientes a los que se prescriben dichas medicaciones. Los métodos de diagnóstico actuales para el esprúe celiaco, tales como métodos basados en ELISA, en los que se detectan anticuerpos anti-gliadina o anti-tTG en el suero del paciente o métodos basados en linfocitos T en los que se mide la proliferación celular o la secreción de γ -IFN después de estimulación con gliadina, son inadecuados para esta finalidad. Los ensayos con anticuerpos son inadecuados porque los pacientes deben exponerse a dosis relativamente altas de gluten durante períodos de tiempo prolongados antes de su seroconversión. Los ensayos de proliferación de linfocitos T son más sensibles, pero requieren procedimientos invasivos (por ejemplo, extracción de una biopsia del intestino delgado o de cantidades relativamente grandes de sangre para recoger números adecuados de células mononucleares de sangre periférica) y se considera que son demasiado costosos para su uso habitual. La presente invención aborda esta nueva necesidad médica aunque insatisfecha.

Sumario de la invención

En el presente documento se describen métodos para el diagnóstico y la monitorización clínica de enfermedades enteropáticas, cuyas enfermedades incluyen, sin limitación, esprúe celiaco, enfermedad de Crohn y síndrome del intestino irritable. La invención proporciona un método para evaluar la eficacia de un agente terapéutico o de un régimen terapéutico en el tratamiento de un paciente individual con un trastorno enteropático, comprendiendo el método: cuantificar la presencia de un sustrato de CYP3A y/o de su metabolito (o metabolitos) en al menos una muestra que se ha obtenido del paciente, en el que dicho paciente es un individuo identificado como que tiene un trastorno enteropático y a dicho paciente se le ha administrado una dosis oral del sustrato de CYP3A. En algunas realizaciones, los métodos de la invención se utilizan para determinar la eficacia de una terapia para el tratamiento de una enfermedad enteropática, bien a un nivel individual, o en el análisis de un grupo de pacientes, por ejemplo, en un formato de ensayo clínico. Dichas realizaciones implican normalmente la comparación de dos o más instantes para un paciente o un grupo de pacientes. Se espera que el estado del paciente difiera entre los dos instantes como resultado de la administración de un agente terapéutico, de un régimen terapéutico o de una exposición del paciente que se somete a tratamiento, a un agente inductor de enfermedad. La respuesta de un paciente con una enfermedad enteropática a la terapia se evalúa detectando la capacidad del paciente para metabolizar un sustrato de CYP3A administrado por vía oral. El metabolismo del paciente puede monitorizarse de diversas maneras. Convenientemente, la aparición de un metabolito del sustrato de CYP3A se detecta en una muestra del paciente durante un período de tiempo después de administración oral, por ejemplo, en la orina, plasma, aliento, saliva, etc. El sustrato de CYP3A se marca opcionalmente, por ejemplo, con un marcador isotópico fluorescente, etc.

En los análisis farmacocinéticos pueden utilizarse diversos formatos. En algunas realizaciones, como control, una muestra del paciente se obtiene antes del tratamiento, y se compara con muestras del mismo paciente después del tratamiento. En otras realizaciones, la función de CYP3A se evalúa durante períodos de tiempo prolongados para monitorizar el estado del paciente.

Descripción detallada

La enfermedad enteropática se monitoriza clínicamente midiendo el comportamiento farmacocinético de sustancias que se metabolizan principalmente por citocromos de CYP3A. En realizaciones preferidas dichas sustancias se administran por vía oral, como una solución, formulación entérica, etc.

Los parámetros farmacocinéticos de un sustrato de CYP3A farmacológico administrado por vía oral se monitorizan como un sustituto no invasivo para enteropatía. Determinadas enzimas xenobióticas del citocromo P450, tales como

CYP3A4, son muy activas tanto en enterocitos así como en hepatocitos (Kolars, 1992). Sin embargo, a diferencia del hígado, donde el nivel de expresión es relativamente constante, los niveles de CYP3A4 pueden fluctuar significativamente en el intestino delgado. Por ejemplo, CYP3A4 es abundante en enterocitos próximos a las terminaciones vellosas, pero no en enterocitos próximos a las criptas (Kolars, 1992; Lang, 1996; Johnson, 2001), lo que sugiere que la actividad de CYP3A4 se correlaciona con la madurez de los enterocitos.

Se sabe que en los pacientes celíacos el gluten de la dieta induce una morfología y fisiología anómalas. (Kagnoff, 2007). Por consiguiente, los pacientes celíacos con enfermedad activa tienen niveles de actividad y de proteína CYP3A disminuidos en su intestino delgado, ambos de los cuales recuperan la normalidad tras la introducción de una dieta sin gluten (Lang, 1996; Johnson, 2001). Por tanto, la eficacia de los fármacos en pacientes celíacos se monitoriza convenientemente utilizando la actividad de CYP3A4 intestinal como un sustituto para la enteropatía inducida por gluten.

Definiciones

De la manera en la que se usa en el presente documento, la expresión “fármaco terapéutico” o “régimen terapéutico” se refiere a un agente que se utiliza en el tratamiento o en la prevención de una enfermedad o afección, particularmente una afección enteropática para los fines de la presente invención. Son de interés los ensayos clínicos que utilizan dichas terapias, y la monitorización de pacientes que se someten a las mismas.

En algunas realizaciones, la terapia implica el tratamiento de pacientes con esprúe celíaco con glutenasa. En otras realizaciones, la terapia implica el tratamiento de pacientes con esprúe celíaco con un inhibidor de transglutaminasa. La evaluación del tratamiento puede utilizar una exposición a gluten. En algunas realizaciones, para esta finalidad se utiliza una dosis moderada de gluten oral (de al menos aproximadamente 1 g/día, al menos aproximadamente 5 g/día, al menos aproximadamente 10 g/día, o más) durante 1-14 días. Los pacientes pueden ser pacientes de control que no se han tratado, o pacientes sometidos a un régimen clínico de interés, por ejemplo, restricción dietética de gluten, tratamiento con un inhibidor de transglutaminasa, tratamiento con glutenasa y similares.

Un “paciente”, de la manera en la que se usa en el presente documento, describe un organismo, incluyendo mamíferos, del cual se recogen muestras de acuerdo con la presente invención. Las especies de mamífero que se benefician de los sistemas y métodos desvelados para la monitorización farmacológica terapéutica incluyen, sin limitación, simios, chimpancés, orangutanes, seres humanos, monos; y animales domesticados (por ejemplo, animales de compañía) tales como perros, gatos, ratones, ratas, cobayas y hámsters.

La expresión “parámetros farmacocinéticos”, se refiere a la caracterización matemática de interacciones entre procesos fisiológicos normales y un fármaco terapéutico a lo largo del tiempo (es decir, efecto corporal sobre el fármaco). Determinados procesos fisiológicos (absorción, distribución, metabolismo y eliminación) afectarán a la capacidad del fármaco para proporcionar un efecto terapéutico deseado en un paciente. El conocimiento de los parámetros farmacocinéticos de los fármacos ayuda a interpretar la concentración del fármaco en la corriente sanguínea y es útil en la determinación de las dosificaciones de fármacos farmacológicamente eficaces.

Las expresiones “citocromo P450” y “CYP” pretenden referirse a una gran familia (a menudo denominada “superfamilia”) de enzimas de hemoproteína capaces de metabolizar xenobióticos tales como fármacos, carcinógenos y contaminantes ambientales, así como endobióticos, tales como esteroides, ácidos grasos y prostaglandinas. De la manera en la que se usa en el presente documento, estas expresiones pretenden incluir todos los miembros de la superfamilia de CYP. En algunas realizaciones, estas expresiones se refieren a las CYP de origen humano.

Todas las isoenzimas, o isoformas, dentro de la superfamilia de CYP, se contemplan dentro de las expresiones “citocromo P450” y “CYP” de la manera en la que se usa en el presente documento. Las isoformas de CYP particularmente contempladas incluyen, pero sin limitación, miembros de las familias CYP1A, CYP2B, CYP2C, CYP2D, CYP2E y CYP3A, ya que estas isoformas se han identificado como las más habitualmente responsables del metabolismo de fármacos en seres humanos.

Substrato de CYP3A. De la manera en la que se usa en el presente documento, el término se refiere a un compuesto que se transforma enzimáticamente por CYP3A en un compuesto, o metabolito, diferente. Para los fines de la presente invención, es deseable que el metabolito o metabolitos primarios sean detectablemente diferentes en comparación con el sustrato. Adicionalmente, es deseable que el sustrato se administre por vía oral, y que se absorba en el intestino.

Diversos fármacos disponibles en el comercio son metabolizados por CYP3A4 y pueden encontrar uso en los métodos de la invención. Como sustratos de interés se incluyen, sin limitación, los expuestos en la Tabla 1, con su metabolito(s) primario(s).

Tabla 1

Sustrato	Metabolito(s) Primario(s)
ciclosporina A	AM9 ¹ AM1 ¹ AM4N ¹
Midazolam	1'-hidroximidazolam, 4-hidroximidazolam
Triazolam	1'-hidroxitriazolam, 4-hidroxitriazolam
Lovastatina	forma (β)-hidroxiácido
Simvastatina	3'-hidroxi simvastatina, 6'-exometilen simvastatina, 3',5'-dihidrodiol simvastatina, (β)-hidroxiácido de simvastatina,
Terfenadina	azaciclónol y alcohol de terfenadina

5 En algunas realizaciones de la invención, el midazolam es el sustrato de CYP3A. El midazolam exhibe cambios de
tasas de eliminación grandes y relativamente reproducibles en seres humanos, pudiendo, en la mayoría de los
cuales, atribuirse a cambios en el metabolismo entérico (Thummel *et al.* (1996) Clin. Pharm Therap. 59: 491; Gorski
et al. (1998) Clin. Pharm Therap. 64: 133; Paine *et al.* Clin. Pharm Therap. 60: 14-24; Chung *et al.* (2006)
10 Pharmacokinetics & Drug Disposition 79: 350). Por tanto, la eficacia del tratamiento se evalúa monitorizando la C_{máx},
el ABC o la tasa de eliminación de una sola dosis de midazolam, por ejemplo, si midazolam se administra después
de una exposición a gluten en presencia de fármaco o placebo, durante tratamiento prolongado de un paciente
celíaco, etc.. En seres humanos, el midazolam se elimina principalmente del organismo por metabolismo a 1'-
hidroximidazolam y 4-hidroximidazolam por enzimas de la subfamilia 3A del citocromo P450, y menos del 1 % de la
dosis se excreta sin cambios en la orina. La eliminación de midazolam y la proporción en plasma de 1'-
15 hidroximidazolam con respecto a midazolam después de administración intravenosa ha demostrado tener índices
eficaces de actividad CYP3A en biopsias de hígado. Después de administración oral, el midazolam es útil para
evaluar la función enterocítica de CYP3A.

20 Un sustrato se CYP3A4 alternativo es la simvastatina oral, cuya biodisponibilidad es más dependiente del
metabolismo intestinal que el midazolam. Los cambios en la actividad de CYP3A4 intestinal pueden monitorizarse
con simvastatina midiendo la concentración en suero del fármaco 1-2 horas posteriores a la dosis, que se aproxima
razonablemente a la C_{máx} del fármaco. La ventaja de una medición fiable de un solo instante de actividad de
CYP3A4 intestinal es que puede utilizarse un análisis de orina o una punción digital para monitorizar a largo plazo el
cumplimiento en una dieta sin gluten o la adherencia a un régimen con fármacos.

25 La expresión "muestra de un paciente" o "muestra" de la manera en la que se usa en el presente documento, se
refiere a una muestra de un animal, más preferentemente de un ser humano, que busca el diagnóstico o el
tratamiento de una enfermedad, por ejemplo, una enfermedad enteropática. Las muestras de la presente invención
incluyen, sin limitación, orina, saliva, aliento y sangre, incluyendo derivados de sangre, por ejemplo, plasma, suero,
etc.

30 *Análisis de muestras.* Se analizaron muestras de pacientes para determinar el metabolismo de un sustrato de
CYP3A, normalmente un sustrato de CYP3A administrado por vía oral. La muestra puede analizarse
cuantitativamente para determinar la presencia del sustrato y/o de sus metabolitos mediante cualquier ensayo
adecuado, que sea muy conocido en la técnica. Los métodos de análisis incluyen espectroscopia de masas con
35 cromatografía líquida (véase Kanazawa *et al.* (2004) J. Chromatography 1031: 213-218, Gorski *et al.*, citado
anteriormente.); HPLC; cromatografía de gases con monitorización de iones/espectroscopia de masas (véase Paine
et al., citado anteriormente); cromatografía de gases; sensores semiconductores para la detección de gases;
inmunoensayos; espectrómetros de masas (incluyendo espectrometría de masas con reacción de transferencia de
40 protones), espectrómetros de infrarrojo (IR) o ultravioleta (UV) o de luz visible o fluorescente (es decir, espectrómetro
infrarrojo no dispersivo); ensayos de unión que implican aptámeros o proteínas modificadas genéticamente, etc.

En otras realizaciones, pueden utilizarse inmunoensayos de unión competitiva para ensayar una muestra de fluido
corporal para determinar la presencia del sustrato o metabolitos. Los análisis con inmunoensayo pueden incluir una
45 tira absorbente, fibrosa que tiene uno o más reactivos incorporados en zonas específicas en la tira. La muestra de
fluido corporal se deposita en la tira y por acción capilar la muestra migrará a lo largo de la tira, entrando en zonas
con reactivos específicas en las que puede tener lugar una reacción química. Se incluye al menos un reactivo que
manifieste una respuesta detectable, por ejemplo, un cambio de color, en presencia de una cantidad mínima de un
agente de señalización de interés.

50 En algunas realizaciones, la muestra biológica es aliento del paciente. Los sensores que pueden analizar
componentes del aliento exhalado del paciente para detectar, cuantificar y/o tender concentraciones de compuestos
en aliento exhalado, pueden correlacionarse con la concentración del compuesto en el cuerpo del paciente, en
particular en la sangre. Puede seleccionarse un sensor de diversos sistemas que se han desarrollado para su uso en

la recogida y monitorización de componentes del aliento exhalado, particularmente gases específicos. Por ejemplo, el sensor de la invención en cuestión puede seleccionarse de los descritos en las Patentes de Estados Unidos n.º 6.010.459; 5.081.871; 5.042.501; 4.202.352; 5.971.937 y 4.734.777. Adicionalmente, en la invención en cuestión pueden utilizarse sistemas sensores que tengan componentes de análisis de datos informatizados (es decir, Patente de Estados Unidos n.º 4.796.639).

En otras realizaciones, la muestra biológica es orina del paciente. La concentración del compuesto y de sus metabolitos puede monitorizarse en una recogida de orina de 6 horas. En los casos en los que cualquiera de estas concentraciones muestren una buena correlación con el ABC del compuesto en plasma, puede realizarse un análisis de orina para determinar la actividad CYP3A utilizando este biomarcador.

Como condiciones de interés para monitorizar los métodos de la presente invención se incluyen diversas afecciones enteropáticas, particularmente afecciones crónicas. En algunas realizaciones de la invención, a un paciente se le diagnostica que tiene una afección enteropática, para el cual se contempla el tratamiento. El paciente puede inicialmente someterse a ensayo con respecto a la actividad CYP3A entérica antes del tratamiento, para establecer un nivel de actividad inicial. Como alternativa, el paciente puede retirarse de un régimen de tratamiento durante un período de tiempo suficiente para inducir un estado enteropático, en el que el estado del paciente se ensaya con respecto a la actividad CYP3A entérica para establecer un nivel de actividad inicial. Las afecciones enteropáticas de interés incluyen, sin limitación, esprúe celiaco, dermatitis herpetiforme, síndrome del intestino irritable (SII); y Enfermedad de Crohn.

El esprúe celiaco es una enfermedad mediada inmunológicamente en individuos genéticamente susceptibles causada por intolerancia al gluten, dando como resultado inflamación de la mucosa, que causa mala absorción. Normalmente, los síntomas incluyen diarrea y molestias abdominales. Aparece generalmente en la niñez pero puede aparecer más tarde. No existe presentación típica. Algunos pacientes son asintomáticos o solamente tienen signos de deficiencia nutricional. Otros tienen síntomas GI significativos.

El esprúe celiaco puede presentarse en la infancia y en la niñez después de la introducción de cereales en la dieta. El niño tiene déficit de crecimiento, presenta apatía, anorexia, está pálido, tiene hipotonía generalizada, distensión abdominal y atrofia muscular. Las heces son blandas, voluminosas, arcillosas y de olor desagradable. Los niños más mayores pueden presentar anemia o no crecer normalmente. En adultos, la lasitud, debilidad y anorexia son más comunes. La diarrea leve e intermitente es algunas veces el síntoma que presentan. La esteatorrea varía de leve a grave (7 a 50 g de grasa/día). Algunos pacientes tienen pérdida de peso, rara vez bajo peso. En estos pacientes se observa generalmente anemia, glositis, estomatitis angular y úlceras aftosas. Las manifestaciones de déficits de vitamina D y Ca (por ejemplo, osteomalacia, osteopenia, osteoporosis) son habituales. Tanto en hombres como en mujeres puede haber fertilidad reducida.

El diagnóstico se sospecha clínicamente y por anomalías de laboratorio que sugieren una mala absorción. La incidencia familiar es una pista valiosa. El esprúe celiaco debe considerarse encarecidamente en un paciente con déficit de hierro sin sangrado GI obvio. Normalmente la confirmación implica una biopsia de intestino delgado de la segunda parte del duodeno. Los hallazgos incluyen ausencia o acortamiento de vellosidades (atrofia vellosa), aumento de células intraepiteliales, e hiperplasia críptica. Dado que los resultados de la biopsia pueden ser inespecíficos, los marcadores serológicos pueden ayudar al diagnóstico. Un anticuerpo anti gliadina (AGA) y un anticuerpo anti-endomisial (EMA, un anticuerpo contra una proteína del tejido conectivo intestinal) en combinación, tienen un valor predictivo positivo y negativo de casi 100 %. Estos marcadores también pueden utilizarse para explorar poblaciones con alta frecuencia de esprúe celiaco, incluyendo familiares de 1^{er} grado de los pacientes afectados y pacientes con enfermedades que se producen a una mayor frecuencia en asociación con esprúe celiaco. Si cualquiera de las pruebas es positiva, al paciente se le puede realizar una biopsia diagnóstica del intestino delgado. Si ambos son negativos, es improbable que se produzca un episodio celiaco. Con frecuencia se producen otras anomalías de laboratorio y pueden buscarse. Estas incluyen anemia (anemia ferropénica en niños y anemia por deficiencia de folato en adultos); bajas cantidades de albúmina, Ca, K y Na; y elevadas cantidades de fosfatasa alcalina y PT. Algunas veces se realizan pruebas de mala absorción, aunque no son específicas para el esprúe celiaco. Si se realizan, los hallazgos habituales incluyen esteatorrea de 10 a 40 g/día y D-xilosa anómala (en enfermedad grave del íleon) y pruebas de Schilling.

El tratamiento convencional es una dieta sin gluten (evitar alimentos que contengan trigo, centeno o cebada). El gluten se utiliza de una manera tan extendida que un paciente necesita una lista detallada de alimentos que debe evitar. Se recomienda a los pacientes que acudan a la consulta de un dietista y que se unan a un grupo de ayuda al celiaco. La respuesta a una dieta sin gluten es normalmente rápida, y los síntomas se resuelven al cabo de 1 a 2 meses. La ingestión, incluso de pequeñas cantidades de alimentos que contienen gluten, puede prevenir la remisión o inducir la enfermedad.

Las complicaciones incluyen esprúe refractario, esprúe colagenoso y el desarrollo de linfomas intestinales. Los linfomas intestinales afectan del 6 al 8 % de los pacientes con esprúe celiaco, presentándose normalmente en los pacientes de 50 años. La frecuencia de otras neoplasias del tracto GI (por ejemplo, carcinoma de esófago o de

orofaringe, adenocarcinoma de intestino delgado) aumenta. La adherencia a una dieta sin gluten puede reducir significativamente el riesgo de neoplasia.

5 La *dermatitis herpetiforme* es una erupción crónica caracterizada por agrupaciones de vesículas intensamente pruríticas, pápulas y lesiones similares a urticaria. La causa es autoinmunitaria. El diagnóstico es mediante una biopsia de la piel con ensayo de inmunofluorescencia directo. El tratamiento es normalmente con dapsona o con sulfapiridina.

10 Normalmente esta enfermedad se presenta en pacientes de 30 a 40 años y es rara en personas de raza negra y asiáticos del este. Es una enfermedad autoinmunitaria. El esprúe celiaco está presente en el 75 al 90 % de los pacientes con dermatitis herpetiforme y en algunos de sus familiares, pero es asintomático en la mayoría de los casos. La frecuencia de la enfermedad tiroidea también se incrementa. Los yoduros pueden exacerbar la enfermedad, incluso cuando los síntomas están bien controlados. La expresión "herpetiforme", se refiere a la aparición agrupada de las lesiones en vez de a una relación con el herpesvirus.

15 A los pacientes se les puede realizar una biopsia de piel de una lesión y de piel adyacente de aspecto normal. Normalmente suele haber deposición de IgA en las terminaciones papilares dérmicas y es importante para el diagnóstico. Los pacientes deben evaluarse con respecto al esprúe celiaco.

20 La adherencia estricta a una dieta sin gluten durante períodos prolongados (por ejemplo de 6 a 12 meses) controla la enfermedad en algunos pacientes, obviando o reduciendo la necesidad de terapia con fármacos. Cuando se necesitan los fármacos, la dapsona puede proporcionar una mejora sintomática. Se comienza con 50 mg po (por vía oral) una vez al día, aumentando hasta dos o tres veces al día (o a una dosis de 100 mg una vez al día); normalmente esto alivia drásticamente los síntomas, incluyendo el picor, al cabo de 1 a 3 días; si es así, se continúa con esta dosis. Si no se produce mejora, la dosis puede aumentarse cada semana, hasta 100 mg cuatro veces al día. La mayoría de los pacientes puede mantenerse en 50 a 150 mg/día, y algunos requieren tan solo 25 mg/semana. Aunque es menos eficaz, la sulfapiridina puede utilizarse como una alternativa para los que no pueden tolerar la dapsona. La dosificación oral inicial es de 500 mg dos veces al día, aumentando en 1 g/día cada 1 a 2 semanas hasta que se controla la enfermedad. La dosificación de mantenimiento varía de 500 mg dos veces/semana a 1000 mg una vez/día. La colchicina es otra opción de tratamiento. El tratamiento continúa hasta que se resuelven las lesiones.

35 La enfermedad de Crohn (enteritis regional; ileitis o ileocolitis granulomatosa) es una enfermedad inflamatoria transmural crónica que normalmente afecta al íleon distal y al colon pero puede producirse en cualquier parte del tracto GI. Los síntomas incluyen diarrea y dolor abdominal. Pueden surgir abscesos, fístulas internas y externas y obstrucción intestinal. Pueden aparecer síntomas extraintestinales, particularmente artritis. El diagnóstico es por colonoscopia y con estudios de contraste con bario. El tratamiento es con ácido 5-aminosalicílico, corticosteroides, inmunomoduladores, anticitocinas, antibióticos y a menudo cirugía.

40 La presentación inicial más habitual es diarrea crónica con dolor abdominal, fiebre, anorexia y pérdida de peso. El abdomen es blando, y puede palparse una masa o inflamación. La hemorragia rectal es inusual, excepto en enfermedad colónica aislada, que puede manifestarse de forma similar a la colitis ulcerosa. Algunos pacientes presentan un abdomen agudo que simula apendicitis aguda u obstrucción intestinal. Alrededor del 33 % de los pacientes tienen enfermedad perianal (especialmente fisuras y fístulas), que a veces es la dolencia más prominente o incluso inicial. En niños, con frecuencia predominan las manifestaciones extraintestinales sobre los síntomas GI; pudiendo ser la artritis, fiebre de origen desconocido, anemia, o retraso del crecimiento, un síntoma de presentación, mientras que puede no presentarse dolor abdominal o diarrea.

50 Con enfermedad recurrente, los síntomas varían. El dolor es más habitual y se produce con tanto con recurrencia simple como con formación de abscesos. Los pacientes con brotes o abscesos graves probablemente tienen dolor agudo con la palpación, espasmos musculares y rebotes y un aspecto general tóxico. Los segmentos estenóticos pueden producir obstrucción intestinal, con dolor por cólicos, distensión, estreñimiento y vómitos. Las adhesiones de cirugía previa también pueden producir obstrucción intestinal, que comienzan rápidamente, sin el pródromo de fiebre, dolor y malestar típico de obstrucción debido a un brote de enfermedad de Crohn. Una fístula enterovesical puede producir burbujas de aire en la orina (neumatúria). Pueden aparecer fístulas de drenaje cutáneas. La perforación con aire libre en la cavidad peritoneal es inusual.

60 La enfermedad de Crohn debe sospecharse en un paciente con síntomas inflamatorios u obstructivos o en un paciente sin síntomas GI prominentes pero con fístulas o abscesos perianales o, de otra manera, con artritis indeterminada, eritema nodoso, fiebre, anemia, o (en un niño) raquitismo. Un antecedente familiar de enfermedad de Crohn también aumenta el índice de sospecha. Los pacientes que presenten abdomen agudo (inicialmente o en recaída) deben hacerse radiografías abdominales en posición horizontal y vertical y una tomografía axial computarizada (CT scan) abdominal. Estos estudios demuestran obstrucción, abscesos o fístulas y otras posibles causas de un abdomen agudo (por ejemplo, apendicitis). La ecografía puede distinguir mejor la patología ginecológica en mujeres con dolor pélvico y abdominal inferior.

Si la presentación inicial es menos aguda, se prefieren series GI superiores con películas instantáneas y de seguimiento del intestino delgado del íleon terminal sobre la CT convencional. Sin embargo, en algunos centros las técnicas de enterografía con CT más novedosas, que combinan la CT de alta resolución con grandes volúmenes de contraste ingerido, se están convirtiendo en los procedimientos de elección. Estos estudios de formación de imágenes son prácticamente diagnósticos si muestran estenosis o fístulas características acompañadas de separación de asas intestinales. Si los hallazgos son cuestionables, la enteroclisia por tomografía computarizada o la enteroscopia con cápsula de video, pueden mostrar úlceras aftosas y lineales superficiales. Puede utilizarse rayos X con enema de bario si aparecen síntomas predominantemente colónicos (por ejemplo diarrea) y pueden mostrar refluo de bario en el íleon terminal con un lumen irregular, nodular, rígido, con espesamiento en la pared y estrechado. Como diagnósticos diferenciales en pacientes con hallazgos de rayos X similares se incluyen, cáncer de intestino ciego, carcinóide de íleon, linfosarcoma, vasculitis sistémica, enteritis por radiación, TB ileocecal y ameboma.

La enfermedad de Crohn establecida se cura raramente pero se caracteriza por exacerbaciones y remisiones intermitentes. Algunos pacientes padecen enfermedad grave con periodos frecuentes de debilitamiento de dolor. Sin embargo, con una terapia médica prudente y, cuando sea apropiado, terapia quirúrgica, la mayoría de los pacientes se recuperan y se adaptan satisfactoriamente. La mortalidad relacionada con la enfermedad es muy baja. El cáncer GI, incluyendo cáncer de colon y de intestino delgado, es la causa principal del exceso de mortalidad relacionada con la enfermedad de Crohn.

El ácido 5-aminosalicílico (5-ASA, mesalamina) se utiliza habitualmente como tratamiento de primera línea, aunque sus beneficios para la enfermedad del intestino delgado son modestos en el mejor de los casos. Algunos médicos consideran que los antibióticos son un agente de primera línea, o que pueden reservarse para pacientes que no responden a un tratamiento de 4 semanas con 5-ASA; su uso es estrictamente empírico. Con cualquiera de estos fármacos, se requiere un tratamiento de 8 a 16 semanas. Los pacientes con enfermedad más grave pueden necesitar corticosteroides, por vía oral o parenteral, dependiendo de la gravedad de los síntomas y de la frecuencia de los vómitos. Los pacientes que no responden a los corticosteroides, o aquellos cuyas dosis no pueden reducirse, deben recibir azatioprina, o posiblemente metotrexato. Algunos prefieren 6-mercaptopurina como un agente de segunda línea después de los corticosteroides, e incluso como un agente de primera línea en preferencia a los corticosteroides, pero está contraindicado en infección activa incontrolada.

El *síndrome de intestino irritable* consiste en síntomas recurrentes del tracto GI inferior y superior, incluyendo grados variables de dolor abdominal, estreñimiento o diarrea y distensión abdominal. El diagnóstico es clínico. El tratamiento es generalmente sintomático, que consiste en controlar la dieta y en fármacos, incluyendo anticolinérgicos y agentes activos en los receptores de serotonina.

No hay anomalías de motilidad consecuentes. Algunos pacientes tienen un reflejo gastrocolónico anómalo, con actividad colónica retardada, prolongada. Puede haber vaciamiento gástrico reducido o motilidad del yeyuno trastornada. Algunos pacientes no tienen anomalías demostrables, y en los que las hay, estas pueden no correlacionarse con los síntomas. El tránsito varía en el intestino delgado: algunas veces el intestino delgado proximal parece ser hiperreactivo a los alimentos o a los fármacos parasimpaticomiméticos. Estudios de presión intraluminal del sigmoide muestran que puede producirse estreñimiento funcional con segmentación haustral hiperreactiva (es decir, frecuencia y amplitud de contracciones aumentadas). Por otro lado, la diarrea se asocia con función motora disminuida. Por tanto, las fuertes contracciones pueden, a veces, acelerar o retrasar el tránsito.

Existe hipersensibilidad a cantidades normales de distensión intraluminal e intensificación de la percepción del dolor en presencia de cantidades normales de gas intestinal. El dolor parece estar causado por fuertes contracciones anómalas del músculo liso intestinal y por un aumento de sensibilidad del intestino a la distensión. También puede existir hipersensibilidad a las hormonas gastrina y colecistoquinina. Sin embargo, las fluctuaciones hormonales no se correlacionan con los síntomas. Las comidas de alta densidad calórica pueden aumentar la magnitud y la frecuencia de actividad mioeléctrica y la motilidad gástrica. La ingestión de grasas puede producir un pico de actividad motora retrasado, que puede exagerarse en el SII. Los primeros días de la menstruación pueden conducir a prostaglandina E2 transitoriamente elevada, dando como resultado un aumento del dolor y diarrea, probablemente por la liberación de prostaglandinas.

Se han descrito dos tipos clínicos principales de SII. En el SII con predominio de estreñimiento, la mayoría de los pacientes tiene dolor en al menos un área del colon y periodos de estreñimiento que alternan con una frecuencia de heces más normal. A menudo las heces contienen mucosidad clara o blanca. El dolor es bien por cólico, que aparece en brotes, o es un dolor seco continuo; que puede aliviarse con un movimiento intestinal. Comer desencadena normalmente los síntomas. También puede producirse distensión, flatulencia, náuseas, dispepsia y pirosis.

El SII con predominio de diarrea se caracteriza por una diarrea precipitada que se produce inmediatamente al levantarse o durante o inmediatamente después de comer, especialmente una comida rápida. La diarrea nocturna es inusual. El dolor, la distensión y urgencia rectal son habituales y puede producirse incontinencia. La diarrea indolora no es típica.

El diagnóstico se basa en patrones intestinales característicos, tiempo y carácter del dolor, y exclusión de otros procesos de la enfermedad, a través de un examen físico y de pruebas diagnósticas habituales. Las pruebas diagnósticas deben ser más exhaustivas cuando hay "señales de peligro": edad avanzada, pérdida de peso, sangrado rectal, vómitos. Debe realizarse proctosigmoidoscopia con un instrumento de fibra óptica flexible. La introducción del sigmoidoscopio y la insuflación de aire suelen desencadenar espasmos intestinales y dolor. Los patrones mucosales y vasculares en el SII a menudo parecen normales. La colonoscopia es la técnica preferida para los pacientes mayores de 40 años con un cambio en los hábitos intestinales, en particular aquellos sin síntomas previos de SII, para excluir pólipos y tumores colónicos.

En los pacientes con diarrea crónica, particularmente en mujeres de edad avanzada, la biopsia de la mucosa puede descartar posible colitis microscópica.

Métodos de la invención

La capacidad de un individuo para metabolizar un sustrato de CYP3A a través de una vía intestinal, se analiza administrando una dosis oral de un sustrato de CYP3A a un individuo que padece un trastorno enteropático, y cuantificando la presencia del sustrato de CYP3A y/o de su metabolito (o metabolitos) en al menos una muestra del paciente.

En algunas realizaciones, el método comprende identificar a un paciente que tiene un trastorno enteropático, por ejemplo, mediante criterios descritos anteriormente para patologías específicas; administrando una dosis oral de un sustrato de CYP3A a un individuo identificado que tiene un trastorno enteropático, y cuantificando la presencia del sustrato de CYP3A y/o de su metabolito (o metabolitos) en al menos una muestra del paciente.

Las muestras de los pacientes incluyen diversos fluidos corporales en los que el sustrato y/o metabolitos de CYP3A estaban presentes, por ejemplo, sangre y sus derivados, orina, saliva, aliento, etc. Las muestras se tomarán antes de la administración del sustrato, a instantes adecuados después de la administración, por ejemplo, a los 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 1,5 horas, 2 horas, 2,5 horas, 3 horas, 4 horas, 6 horas, etc., después de la administración.

En algunas realizaciones preferidas, los métodos de la invención se usan para determinar la eficacia de una terapia para el tratamiento de una enfermedad enteropática, bien a nivel individual, o en el análisis de un grupo de pacientes, por ejemplo, en un formato de ensayo clínico. Dichas realizaciones normalmente implican la comparación de dos instantes de un paciente o grupo de pacientes. Se espera que el estado del paciente difiera entre los dos instantes como resultado de la administración de un agente terapéutico, de un régimen terapéutico, o de una exposición a la enfermedad de un paciente que se somete a tratamiento.

Como ejemplos de formatos para dichas realizaciones pueden incluirse, sin limitación, la prueba de metabolismo entérico de CYP3A a dos o más instantes, en el que en primer instante es un paciente diagnosticado pero no tratado; y un segundo o más instantes adicionales, es un paciente tratado con un agente o régimen terapéutico candidato. Un instante adicional puede incluir un paciente tratado con un agente o régimen terapéutico candidato, y exponerle a la enfermedad, particularmente a esprúe celiaco y/o a dermatitis herpetiforme, que puede exponerse con la administración de gluten.

En otro formato, un primer instante es un paciente diagnosticado en remisión de enfermedad, por ejemplo, según lo determinado mediante criterios clínicos actuales, como resultado de un agente o régimen terapéutico candidato. Un segundo o más instantes adicionales, es un paciente tratado con un agente o régimen terapéutico candidato, y exponerle a un agente inductor de enfermedad, particularmente a esprúe celiaco y/o a dermatitis herpetiforme, que puede exponerse con la administración de gluten.

En dichos formatos de ensayo clínico, cada conjunto de instantes puede corresponder a un solo paciente, a un grupo de pacientes, por ejemplo, a un grupo de cohorte, o a una mezcla de datos individuales o grupales. También pueden incluirse datos de control adicionales, en dichos formatos de ensayo clínico, por ejemplo, un grupo tratado con placebo, un grupo sin enfermedad, y similar, como se sabe en la técnica. Los formatos de interés incluyen estudios cruzados, aleatorizados, doble ciego, controlados con placebo, ensayos clínicos de grupos paralelos, que también pueden ensayar la eficacia de fármacos y similares. Véase, por ejemplo *Clinical Trials: A Methodologic Perspective Second Edition*, S. Piantadosi, Wiley-Interscience; 2005, ISBN-13: 978-0471727811; and *Design and Analysis of Clinical Trials: Concepts and Methodologies*, S. Chow y J. Liu, Wiley-Interscience; 2003; ISBN-13: 978-0471249856.

Los ensayos clínicos específicos de interés incluyen análisis de agentes terapéuticos para el tratamiento de esprúe celiaco y/o dermatitis herpetiforme, en el que un paciente se identifica como que tiene esprúe celiaco mediante indicios clínicos convencionales. Por ejemplo, en esprúe celiaco una dosis diaria de 5-10 g de gluten (equivalente a 2-3 rebanadas de pan) durante dos semanas puede inducir mala absorción, medido con una recogida de grasa fecal cuantitativa de 72 horas o un ensayo urinario de D-xilosa (Pyle, 2005), que proporciona un medio para poner a prueba la eficacia del tratamiento.

En una realización, se utiliza un formato de ensayo clínico cruzado, ciego. Un paciente alterna durante un periodo de tiempo establecido, por ejemplo, una semana, dos semanas, tres semanas o de alrededor de aproximadamente 7 a 14 días, o de alrededor de aproximadamente 10 días, entre un fármaco de ensayo y placebo, con un periodo de eliminación de 4-8 semanas. El paciente se expone a gluten durante periodos de tiempo alternos con alrededor de aproximadamente 1 g de gluten, aproximadamente 5 g de gluten, aproximadamente 10 g de gluten, o más, normalmente no más de aproximadamente 25 g de gluten al día. Los sujetos se ensayan con un sustrato de CYP3A, como se ha descrito anteriormente, al inicio y al final de cada uno de los periodos de tiempo alternos. Se tiene cuidado para garantizar que los sujetos no consuman otros fármacos u artículos alimentarios (por ejemplo zumo de pomelo) que se sabe que son inhibidores de CYP3A4 durante un tiempo apropiado antes de los ensayos del sustrato de CYP3A. La duración de la exposición a gluten puede ser de aproximadamente 1, aproximadamente 3, aproximadamente 5, aproximadamente 7, aproximadamente 10 días, aproximadamente 14 días, dado que los cambios en los enterocitos en las terminaciones vellosas son normalmente una de las consecuencias precoces de la exposición al gluten. Disminuyendo la duración de la exposición al gluten o la magnitud de la dosis de gluten diaria, pueden minimizarse los síntomas adversos.

En otra realización, se utiliza un ensayo clínico de grupos paralelos, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, para ensayar la eficacia del fármaco. En una realización, los individuos identificados como que tienen espúrceliaco, que están con una dieta sin gluten, se a tres periodos de tratamiento secuenciales, cada uno de ellos de 1-14 días de duración. Los sujetos se evaluarán con el sustrato de CYP3A al inicio y al final de cada periodo de tratamiento. Durante todo el estudio, los sujetos consumirán comidas sin gluten regulares más fármaco o placebo según se indique. Durante el primer periodo de tratamiento (de tanteo), todos los sujetos recibirán placebo. Durante el segundo periodo de tratamiento, los sujetos se asignaran al azar en grupos de tratamiento con fármaco o con placebo. Durante el tercer periodo de tratamiento los sujetos permanecerán con el mismo tratamiento (fármaco o placebo) que en el segundo periodo. Además, todos los sujetos recibirán 1-5 g de gluten con cada comida. Los fármacos que son eficaces mostrarán una frecuencia estadísticamente más baja de recaída en el grupo de tratamiento frente al grupo del estudio que recibe placebo.

En todos estos métodos, el sustrato de CYP3A se administra a una dosis que es suficiente para monitorizar el metabolismo a lo largo del tiempo, que variará con el sustrato específico que se seleccione. Cuando el sustrato es midazolam, la dosis puede ser al menos de aproximadamente 0,5 mg, al menos aproximadamente 1 mg, al menos aproximadamente 2 mg al menos aproximadamente 4 mg, al menos aproximadamente 5 mg, al menos aproximadamente 7,5 mg y no más de aproximadamente 10 mg.

El sustrato puede administrarse en cualquier formulación convencional, por ejemplo, solución, suspensión, comprimidos, polvos, gránulos o cápsulas, por ejemplo, con aditivos convencionales, tales como lactosa, manitol, almidón de maíz o almidón de patata; con aglutinantes, tales como celulosa cristalina, derivados de celulosa, goma arábica, almidón de maíz o gelatinas; con disgregantes, tales como almidón de maíz, almidón de patata o carboximetilcelulosa de sodio; con lubricantes, tales como talco o estearato de magnesio; y si se desea, con diluyentes, agentes tampón, agentes humectantes, conservantes y agentes aromatizantes.

En una realización de la invención, las formulaciones orales comprenden recubrimientos entéricos, de tal manera que el agente activo se libera al tracto intestinal. Dichas formulaciones se crean recubriendo una forma de dosificación sólida con una película de un polímero que es insoluble en entornos ácidos, y soluble en entornos básicos. Son ejemplos de películas el acetato ftalato de celulosa, el acetato ftalato de polivinilo, el ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa y el acetato de hidroxipropilmetilcelulosa succinato, los copolímeros de metacrilato y el ftalato de acetato de celulosa. Otras formulaciones entéricas comprenden microesferas poliméricas diseñadas técnicamente fabricadas con polímeros biológicamente erosionables, que presentan fuertes interacciones adhesivas con recubrimientos mucosos y celulares gastrointestinales y que pueden atravesar tanto el epitelio absortivo mucoso como el epitelio asociado a folículos que cubre el tejido linfoide de las placas de Peyer. Los polímeros mantienen contacto con el epitelio intestinal durante periodos de tiempo prolongados y de hecho lo atraviesan, a través y entre las células. Véase, por ejemplo Mathiowitz *et al.* (1997) *Nature* 386 (6623): 410-414. Los sistemas de liberación de fármacos también pueden utilizar un núcleo de hidrogel superporoso (SPH) y compuestos de SPH (SPHC), como describe Dorkoosh *et al.* (2001) *J Control Release* 71(3): 307-18.

Bases de datos de análisis farmacocinéticos

También se proporcionan bases de datos de análisis farmacocinéticos. Dichas bases de datos comprenderán normalmente perfiles de análisis de diversos individuos siguiendo un protocolo clínico de interés, etc., en el que dichos perfiles se describen con detalle más adelante.

Los perfiles y sus bases de datos pueden proporcionarse en diversos medios para facilitar su uso. Los "medios" se refieren a una fabricación que contiene la información del perfil de expresión de la presente invención. Las bases de datos de la presente invención pueden registrarse en medios legibles por ordenador, por ejemplo, cualquier medio que pueda leer y acceder directamente un ordenador. Dichos medios incluyen, pero sin limitación: medios de almacenamiento magnético, tales como discos flexibles, medios de almacenamiento de disco duro, y cintas magnéticas; medios de almacenamiento óptico, tales como CD-ROM; medios de almacenamiento eléctrico tales

como RAM y ROM; e híbridos de estas categorías tales como medios de almacenamiento magnético/óptico. Un experto en la técnica puede apreciar fácilmente como puede utilizarse cualquiera de los medios legibles por ordenador conocidos actualmente para crear una fabricación que comprenda un registro de la presente información de bases de datos. “Registrado” se refiere a un proceso para almacenar información en un medio legible por ordenador, utilizando cualquiera de dichos métodos como los conocidos en la técnica. Cualquier estructura de almacenamiento de datos conveniente puede seleccionarse, basándose en los medios que se utilicen para acceder a la información almacenada. Para el almacenamiento puede utilizarse diversos programas y formatos procesadores de datos, por ejemplo, archivos de texto de procesamiento Word, formatos de bases de datos, etc.

De la manera en la que se usa en el presente documento, “un sistema basado en ordenador” se refiere a medios hardware, medios software y medios de almacenamiento de datos utilizados para analizar la información de la presente invención. El hardware mínimo de los sistemas basados en ordenador de la presente invención comprende una unidad de procesamiento central (CPU), medios de entrada, medios de salida, y medios de almacenamiento de datos. Un experto en la técnica puede apreciar fácilmente que cualquiera de los sistemas basados en ordenador disponibles actualmente es adecuado para su uso en la presente invención. Los medios de almacenamiento de datos pueden comprender cualquier fabricación que comprenda un registro de la presente información como se describe anteriormente, o medios de acceso a memoria al que pueda acceder dicha fabricación.

Para los medios de entrada y salida pueden utilizarse diversos formatos estructurales que pueden utilizarse para introducir y obtener la información en los sistemas basados en ordenador de la presente invención. Dicha presentación proporciona al experto en la técnica una clasificación de similitudes e identifica el grado de similitud contenido en el perfil de expresión del ensayo.

Reactivos y kits

También se proporcionan reactivos y kits de los mismos para la realización práctica de uno o más de los métodos descritos anteriormente. Los reactivos en cuestión y kits de los mismos pueden variar enormemente. Los reactivos de interés incluyen reactivos especialmente diseñados para su uso en la producción de los análisis descritos anteriormente. Los kits pueden incluir un sustrato de CYP3A, reactivos para el análisis del sustrato y/o metabolitos, y envases se requieren para la recogida de muestras.

Los kits pueden incluir adicionalmente un paquete de software para el análisis estadístico de uno o más fenotipos. Además de los componentes anteriores, los kits en cuestión incluirán adicionalmente instrucciones para llevar a la práctica los métodos en cuestión. Estas instrucciones pueden estar presentes en los kits en cuestión de diversas formas, una o más de las cuales pueden estar presentes en el kit. Una forma en la que estas instrucciones pueden estar presentes es una información impresa en un medio o sustrato adecuado, por ejemplo, una o más hojas de papel en las que se imprime la información, en el envase del kit, en un prospecto, etc. Otro medio más sería un medio legible por ordenador, por ejemplo un disquete, un CD, etc., en el que se ha registrado la información. Incluso aún otro medio que puede haber es una dirección de página web que puede utilizarse mediante Internet para acceder a la información en un lugar distante. Cualquiera de los medios convenientes puede estar presente en los kits.

Se ofrecen los siguientes ejemplos para proporcionar al experto habitual en la técnica una divulgación y descripción completas de cómo realizar y utilizar la presente invención, y no pretenden limitar el alcance de la invención o representar que los siguientes experimentos sean todos o los únicos experimentos realizados. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números utilizados (por ejemplo cantidades, temperatura y similares), pero puede haber algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique otra cosa, las partes son partes en peso, el peso molecular es peso molecular promedio en peso, la temperatura es en grados centígrados y la presión es la atmosférica o próxima a ella.

Ejemplo 1

Materiales y métodos

Sujetos. Después de la aprobación de la junta de revisión institucional, se seleccionaron ocho voluntarios adultos sanos y ocho pacientes adultos con esprúe celiaco con diagnóstico de mala absorción intestinal en curso. Después del ensayo inicial basal, los pacientes celíacos se trataron con glutenasa durante un tiempo suficiente para aliviar los síntomas de la mala absorción, y después volvieron a ensayarse como se hizo para el análisis inicial basal.

Diseño del estudio. Después de que los sujetos ayunasen durante la noche, se colocó un catéter intravenoso en el antebrazo de cada sujeto para extraer sangre. Antes de recibir la dosis de midazolam, cada sujeto vació su vejiga y se obtuvo una muestra de sangre basal. Cada sujeto recibió 4,0 mg de midazolam por vía oral como una solución. Se obtuvieron muestras de sangre a los 5, 15, 30 y 45 minutos y 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 y 24 horas después de la administración del fármaco. Se obtuvo suero y se congeló a -20 °C hasta el análisis. Se recogió orina durante los intervalos de 0 a 2, 2 a 4, 4 a 6, 6 a 12 y 12 a 24 horas después de la dosis y se congeló a -20 °C hasta el análisis. El tiempo de sueño inducido por midazolam se determina como el intervalo entre el momento en que el

sujeto ya no puede ser excitado por estímulos auditivos leves y el momento en que el sujeto permanece despierto y consciente en respuesta a estímulos auditivos leves. Un estímulo auditivo leve se define como hablar en una voz conversacional normal.

5 **Análisis de las muestras.** Las muestras de suero se procesaron utilizando una técnica de extracción líquido-líquido y se cuantificaron después de la derivatización con espectrometría de masas y cromatografía de gases (detector selectivo de masa Hewlett-Packard 597 1 y cromatógrafo de gases 5890A) como describen Thummel *et al.* (1994) J. Pharmacol. Exp. Ther. 271:549-546. Los iones monitorizados incluyen 310 y 398, que se utilizan para cuantificar los niveles de midazolam, y de 1'-hidroximidazolam. Como patrones internos para el precursor y metabolito se utiliza diazepam y temazepam respectivamente y los iones monitorizados son 256 y 357 respectivamente, después de la derivatización con N-metil-N-t-butildimetilsilil trifluoroacetamida que contiene t-butildimetilclorosilano al 1 % (Regis Technologies, Morton Grove, Ill.)

15 El ensayo se utiliza para medir habitualmente concentraciones de midazolam y metabolitos de 1 ng/ml. Las muestras de orina se procesaron como se describe después de la desconjugación con P-glucuronidasa (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.). La concentración de midazolam en la solución infundida se calcula mediante HPLC (véase Gorski *et al.* (1994) Biochem Pharmacol 47: 1643-1657). Las muestras de suero se procesaron a través de un método de extracción líquido-líquido.

20 **Análisis farmacocinético.** Para determinar los parámetros farmacocinéticos de interés se utilizaron métodos independientes de modelos convencionales. La constante de la velocidad de eliminación terminal (p) se determina por regresión lineal. La semivida de eliminación ($t_{1/2}$) se determina como $t_{1/2} = 0,693/\beta$. La concentración máxima y el tiempo para alcanzar la concentración máxima se determinan por inspección visual de los datos. El área bajo la curva de concentración-tiempo (ABC de cero a concentración en suero de midazolam detectable final) después de administración oral se determina por una combinación de métodos trapezoidales lineales y logarítmicos con extrapolación al infinito.

30 La eficacia del tratamiento para los pacientes con esprúe celiaco se evaluó determinando la disminución de midazolam en el metabolismo entérico de CYP3A. Una glutenasa eficaz protegerá al paciente de enteropatía inducida por gluten; por consiguiente, la $t_{1/2}$ y el ABC para midazolam permanecerán sin cambios antes y después de la exposición al gluten. En cambio, el placebo dará como resultado una enteropatía inducida por gluten; por consiguiente la $t_{1/2}$ y el ABC para midazolam aumentarán después de la exposición al gluten en comparación con los valores correspondientes antes de la exposición al gluten.

35 Ejemplo 2

La administración de midazolam y los análisis de las muestras se realizaron como se ha descrito anteriormente.

Los pacientes se identificaron como que tenían esprúe celiaco mediante indicios clínicos convencionales.

40 La eficacia clínica de una propil endopeptidasa de *Aspergillus niger* (Stepniak, *et al.* Am. J. Physiol. GI Liver Physiol. 291, 621-629, 2006) se evaluó de la siguiente manera. Pacientes celíacos adultos clínicamente diagnosticados que estaban con una dieta sin gluten participaron en el estudio y se dividieron en dos grupos. Cada sujeto en el ensayo clínico se sometió a tres períodos de tratamiento secuenciales de una duración de 1 a 14 días. El metabolismo de CYP3A de cada sujeto se evaluó al principio y al final de cada período de tratamiento.

50 Durante todo el estudio, los sujetos consumieron comidas regulares sin gluten más una dosis de glutenasa o placebo con el desayuno, almuerzo y cena. El intervalo de dosis de la glutenasa a ensayar con respecto a la eficacia clínica es de 0,2-10 mg/kg. Durante el primer período (de tanteo), todos los sujetos recibieron glutenasa placebo. Se espera que la salud intestinal de un subconjunto de sujetos mejore debido a una mayor supervisión de la dieta por su parte. Durante el segundo período, los sujetos se aleatorizaron en grupos de glutenasa activa o placebo. Este período se diseñó para establecer si la salud intestinal de los sujetos que tomaban glutenasa activa mejoraba como resultado de su capacidad para detoxificar niveles de fondo de gluten en una dieta de paciente celiaco. Durante el tercer período, los sujetos permanecieron con el mismo tratamiento (fármaco o placebo) que el del segundo período.

55 Además, todos los sujetos recibieron 0,5-3 g de gluten con cada comida en forma de un artículo de ensayo apropiado (por ejemplo, una galleta o una rebanada de pan). La eficacia del tratamiento con glutenasa se evaluó principalmente basándose en los resultados de este período de tratamiento.

60 Un resultado estadísticamente significativo se basaba en las mediciones de la velocidad de eliminación y del ABC de midazolam. Un aumento en el ABC y una disminución en la velocidad de eliminación implican que la afección celiaca ha empeorado como resultado de la exposición a péptidos tóxicos de gluten. Esto se observa al final del tercer período de tratamiento en sujetos a los que se dosificó glutenasa placebo. Un ABC y una velocidad de eliminación estadísticamente sin cambios son indicativos de detoxificación de gluten por la glutenasa oral. Esto se observa al final del tercer período de tratamiento en sujetos a los que se dosificó glutenasa activa. En los sujetos que inician el estudio clínico con evidencia de enfermedad activa, puede observarse una disminución en el ABC y un aumento en

65

la velocidad de eliminación al final del segundo período con respecto al final del primer período. Para un significado estadístico, se espera un cambio multiplicado por dos o mayor en el ABC o en la eliminación entre las dos cohortes.

Ejemplo 3

5 Un método alternativo para evaluar la eficacia de la propil endopeptidasa de *Aspergillus niger* implica un ensayo clínico cruzado, controlado con placebo, doble ciego. La principal ventaja de este formato de ensayo clínico es que cada paciente sirve como su propio control. En el estudio participaron pacientes celíacos adultos, clínicamente diagnosticados, cuya enfermedad estaba en remisión (según una biopsia de intestino delgado normal, seronegatividad, y una medición de grasa fecal de 72 horas dentro del intervalo normal).

10 Cada sujeto en el ensayo clínico se sometió a dos períodos de tratamiento de 1-14 días de duración separados por un descanso de 4-8 semanas. El metabolismo de CYP3A de cada sujeto se evaluó al inicio y al final de cada período de tratamiento. Durante cada uno de los dos períodos de tratamiento, los sujetos recibieron 0,5-3 g de gluten con cada comida en forma de un artículo de ensayo apropiado. Cada sujeto recibió glutenasa activa y glutenasa placebo alternativamente en los dos períodos de tratamiento; el orden de la dosificación se asignó al azar. El intervalo de la dosis de la glutenasa a ensayar con respecto a la eficacia clínica es de 0,2-10 mg/kg.

15 Un resultado estadísticamente significativo se basa en mediciones del ABC de midazolam y de la velocidad de eliminación. Un aumento en el ABC y una disminución en la velocidad de eliminación implica que la afección celíaca ha empeorado como resultado de la exposición a péptidos tóxicos de gluten. Esto se observa al final del período de tratamiento con glutenasa placebo. Un ABC y una velocidad de eliminación estadísticamente sin cambios son indicativos de destoxificación de gluten por la glutenasa oral. Esto se observa al final del período de tratamiento con glutenasa activa.

25

Ejemplo 4

30 Una terapia alternativa con glutenasa es una glutenasa con dos enzimas que comprende proteasa EP-B2 de cebada y peptidasa SC PEP de *Sphingomonas capsulata* (Gass, *et al.*, Gastroenterology 133, 472-480, 2007). La eficacia clínica de esta enzima se evaluó mediante un ensayo clínico, como en el Ejemplo 2 o Ejemplo 3 anteriores. En una realización, las dosis de glutenasa en el intervalo de 0,2-10 mg/kg, con las dos proteínas presentes en una proporción de 1:1 masa, se evaluaron con respecto a su eficacia por los métodos de la invención.

Ejemplo 5

35 Un candidato farmacológico alternativo para el esprúe celíaco es el inhibidor de la permeabilidad intestinal, AT1001 (Paterson, *et al.*, Aliment. Pharm., 26, 757-766, 2007). La eficacia clínica de este fármaco se evaluó mediante un ensayo clínico, como en el Ejemplo 2 o Ejemplo 3 anteriores. En una realización, las dosis en el intervalo de 5 a 50 mg/kg (tvd, con las comidas) se evaluaron con respecto a su eficacia por los métodos de la invención.

40

Ejemplo 6

Materiales y métodos

45 **Sujetos.** Después de la aprobación de la junta de revisión institucional, se seleccionaron ocho voluntarios adultos sanos y ocho pacientes adultos con esprúe celíaco con diagnóstico de mala absorción intestinal en curso. Después del ensayo inicial basal, los pacientes celíacos se trataron con glutenasa durante un tiempo suficiente para aliviar los síntomas de la mala absorción, y después volvieron a ensayarse como se hizo para el análisis inicial basal.

50 **Diseño del estudio.** Después de que los sujetos ayunasen durante la noche, se colocó un catéter intravenoso en el antebrazo de cada sujeto para extraer sangre. Antes de recibir la dosis de midazolam, cada sujeto vació su vejiga y se obtuvo una muestra de sangre basal. Cada sujeto recibió de 20 a 100 mg de simvastatina por vía oral como una solución. Se obtuvieron muestras de sangre a los 5, 15, 30 y 45 minutos y 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 y 24 horas después de la administración del fármaco. Se obtuvo suero y se congeló a -20 °C hasta el análisis. Se recogió orina durante los intervalos de 0 a 2, 2 a 4, 4 a 6, 6 a 12 y 12 a 24 horas después de la dosis y se congeló a -20 °C hasta el análisis.

55 **Análisis de las muestras.** Las muestras de suero se procesaron utilizando una técnica de extracción líquido-líquido y se cuantificaron después de la derivatización con espectrometría de masas y cromatografía de gases (detector selectivo de masa Hewlett-Packard 597 1 y cromatógrafo de gases 5890A) como describen Thummel *et al.* (1994) J. Pharmacol. Exp. Ther. 271:549-546. Se monitorizó la simvastatina, la 3'-hidroxi simvastatina, la 6'-exometilen simvastatina, la 3',5'-dihidrodiol simvastatina y/o el (β)-hidroxiácido de simvastatina.

65 El ensayo se utilizó para medir habitualmente concentraciones de simvastatina y metabolitos de 1 ng/ml. Las muestras de orina se procesaron como se describe después de la desconjugación con P-glucuronidasa (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.). La concentración de simvastatina en la solución infundida se calcula mediante HPLC

(véase Gorski *et al.* (1994) *Biochem Pharmacol* 47: 1643-1657). Las muestras de suero se procesaron a través de un método de extracción líquido-líquido.

5 *Análisis farmacocinético.* Para determinar los parámetros farmacocinéticos de interés se utilizaron métodos independientes de modelos convencionales. La constante de la velocidad de eliminación terminal (λ) se determina por regresión lineal. La semivida de eliminación ($t_{1/2}$) se determina como $t_{1/2} = 0,693/\lambda$. La concentración máxima y el tiempo para alcanzar la concentración máxima se determinan por inspección visual de los datos. El área bajo la curva de concentración-tiempo (ABC de cero a concentración en suero de simvastatina detectable final) después de administración oral se determina por una combinación de métodos trapezoidales lineales y logarítmicos con
10 extrapolación al infinito.

La eficacia del tratamiento para los pacientes con esprúe celiaco se evaluó determinando la disminución de simvastatina en el metabolismo entérico de CYP3A. Una glutenasa eficaz protegerá al paciente de enteropatía inducida por gluten; por consiguiente, la $t_{1/2}$ y el ABC para simvastatina permanecerán sin cambios antes y después de la exposición al gluten. En cambio, el placebo dará como resultado una enteropatía inducida por gluten; por consiguiente la $t_{1/2}$ y el ABC para simvastatina aumentarán después de la exposición al gluten en comparación con los valores correspondientes antes de la exposición al gluten.
15

20 Ejemplo 7

La administración de simvastatina y los análisis de las muestras se realizaron como se ha descrito anteriormente.

Los pacientes se identificaron como que tenían esprúe celiaco mediante indicios clínicos convencionales.

25 La eficacia clínica de una propil endopeptidasa de *Aspergillus niger* (Stepniak, *et al.* *Am. J. Physiol. GI Liver Physiol.* 291, 621-629, 2006) se evaluó de la siguiente manera. Pacientes celíacos adultos clínicamente diagnosticados que estaban con una dieta sin gluten participaron en el estudio y se dividieron en dos grupos. Cada sujeto en el ensayo clínico se sometió a tres períodos de tratamiento secuenciales de una duración de 1 a 14 días. El metabolismo de CYP3A de cada sujeto se evaluó al principio y al final de cada período de tratamiento.
30

Durante todo el estudio, los sujetos consumieron comidas regulares sin gluten más una dosis de glutenasa o placebo con el desayuno, almuerzo y cena. El intervalo de dosis de la glutenasa a ensayar con respecto a la eficacia clínica es de 0,2-10 mg/kg. Durante el primer período (de tanteo), todos los sujetos recibieron glutenasa placebo. Se espera que la salud intestinal de un subconjunto de sujetos mejore debido a una mayor supervisión de la dieta por su parte. Durante el segundo período, los sujetos se aleatorizaron en grupos de glutenasa activa o placebo. Este período se diseñó para establecer si la salud intestinal de los sujetos que tomaban glutenasa activa mejoraba como resultado de su capacidad para detoxificar niveles de fondo de gluten en una dieta de paciente celiaco. Durante el tercer período, los sujetos permanecieron con el mismo tratamiento (fármaco o placebo) que el del segundo período. Además, todos los sujetos recibieron 0,5-3 g de gluten con cada comida en forma de un artículo de ensayo apropiado (por ejemplo, una galleta o una rebanada de pan). La eficacia del tratamiento con glutenasa se evaluó principalmente basándose en los resultados de este período de tratamiento.
35
40

Un resultado estadísticamente significativo se basaba en las mediciones de la velocidad de eliminación y del ABC de simvastatina. Un aumento en el ABC y una disminución en la velocidad de eliminación implican que la afección celiaca ha empeorado como resultado de la exposición a péptidos tóxicos de gluten. Esto se observa al final del tercer período de tratamiento en sujetos a los que se dosificó glutenasa placebo. Un ABC y una velocidad de eliminación estadísticamente sin cambios son indicativos de detoxificación de gluten por la glutenasa oral. Esto se observa al final del tercer período de tratamiento en sujetos a los que se dosificó glutenasa activa. En los sujetos que inician el estudio clínico con evidencia de enfermedad activa, puede observarse una disminución en el ABC y un aumento en la velocidad de eliminación al final del segundo período con respecto al final del primer período. Para un significado estadístico, se espera un cambio multiplicado por dos o mayor en el ABC o en la eliminación entre las dos cohortes.
45
50

55 Ejemplo 8

Un método alternativo para evaluar la eficacia de la propil endopeptidasa de *Aspergillus niger* implica un ensayo clínico cruzado, controlado con placebo, doble ciego. La principal ventaja de este formato de ensayo clínico es que cada paciente sirve como su propio control. En el estudio participaron pacientes celíacos adultos, clínicamente diagnosticados, cuya enfermedad estaba en remisión (según una biopsia de intestino delgado normal, seronegatividad, y una medición de grasa fecal de 72 horas dentro del intervalo normal).
60

Cada sujeto en el ensayo clínico se sometió a dos períodos de tratamiento de 1-14 días de duración separados por un descanso de 4-8 semanas. El metabolismo de CYP3A de cada sujeto se evaluó al inicio y al final de cada período de tratamiento. Durante cada uno de los dos períodos de tratamiento, los sujetos recibieron 0,5-3 g de gluten con cada comida en forma de un artículo de ensayo apropiado. Cada sujeto recibió glutenasa activa y glutenasa placebo
65

alternativamente en los dos períodos de tratamiento; el orden de la dosificación se asignó al azar. El intervalo de la dosis de la glutenasa a ensayar con respecto a la eficacia clínica es de 0,2-10 mg/kg.

Un resultado estadísticamente significativo se basa en mediciones del ABC, de la C_{máx} y de la velocidad de eliminación de simvastatina. Un aumento en el ABC y una disminución en la velocidad de eliminación implica que la afección celiaca ha empeorado como resultado de la exposición a péptidos tóxicos de gluten. Esto se observa al final del período de tratamiento con glutenasa placebo. Un ABC y una velocidad de eliminación estadísticamente sin cambios son indicativos de destoxificación de gluten por la glutenasa oral. Esto se observa al final del período de tratamiento con glutenasa activa.

Ejemplo 9

Una terapia alternativa con glutenasa es una glutenasa con dos enzimas que comprende proteasa EP-B2 de cebada y peptidasa SC PEP de *Sphingomonas capsulata* (Gass, *et al.*, Gastroenterology 133, 472-480, 2007). La eficacia clínica de esta enzima se evaluó mediante un ensayo clínico, como en el Ejemplo 7 o Ejemplo 8 anteriores. En una realización, las dosis de glutenasa en el intervalo de 0,2-10 mg/kg, con las dos proteínas presentes en una proporción de 1:1 masa, se evaluaron con respecto a su eficacia por los métodos de la invención.

Ejemplo 10

Un candidato farmacológico alternativo para el esprúe celiaco es el inhibidor de la permeabilidad intestinal, AT1001 (Paterson, *et al.*, Aliment. Pharm., 26, 757-766, 2007). La eficacia clínica de este fármaco se evaluó mediante un ensayo clínico, como en el Ejemplo 7 o Ejemplo 8 anteriores. En una realización, las dosis en el intervalo de 5 a 50 mg/kg (tvd, con las comidas) se evaluaron con respecto a su eficacia por los métodos de la invención.

Este y otros métodos diagnósticos de la invención pueden ponerse en la práctica utilizando los métodos proporcionados por la invención.

La presente invención se ha descrito en términos de realizaciones particulares encontradas o propuestas por el inventor que comprenden modos preferidos para la realización práctica de la invención. Se apreciará por los expertos en la técnica que, a la luz de la presente divulgación, pueden realizarse numerosas modificaciones y cambios en las realizaciones particulares ilustradas sin alejarse del alcance de la invención que se pretende. Además, debido a cuestiones de equivalencia funcional biológica, pueden realizarse cambios en los métodos, estructuras y compuestos sin afectar a la acción biológica en tipo o cantidad. Todas estas modificaciones pretenden incluirse, pero únicamente en cuanto a que queden cubiertas por las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un método para evaluar la eficacia de un agente terapéutico o de un régimen terapéutico en el tratamiento de un paciente individual con un trastorno enteropático, comprendiendo el método:
5 cuantificar la presencia de un sustrato de CYP3A y/o de su metabolito (o metabolitos) en al menos una muestra que se ha obtenido del paciente,
 en donde dicho paciente es un individuo identificado como afectado por un trastorno enteropático, y a dicho paciente se le ha administrado una dosis oral del sustrato de CYP3A.
- 10 2. El método de la reivindicación 1, en el que el grado de metabolismo del sustrato de CYP3A con respecto a su metabolito es indicativo de la salud de los enterocitos.
- 15 3. El método de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el trastorno enteropático se selecciona de esprúe celiaco, dermatitis herpetiforme, enfermedad de Crohn y síndrome del intestino irritable.
4. El método de la reivindicación 3, en el que el individuo es un ser humano.
- 20 5. El método de la reivindicación 1, en el que el sustrato de CYP3A es midazolam.
6. El método de la reivindicación 5, en el que la presencia de midazolam, de 1'-hidroximidazolam y/o de 4-hidroximidazolam se cuantifica en una muestra del paciente.
- 25 7. El método de la reivindicación 1, en el que el sustrato de CYP3A es simvastatina.
8. El método de la reivindicación 7, en el que la presencia de simvastatina, de 3'-hidroxi simvastatina, de 6'-exometilen simvastatina, de 3',5'-dihidrodiol simvastatina y/o de (β)-hidroxiácido de simvastatina se cuantifica en una muestra del paciente.
- 30 9. El método de la reivindicación 1, en el que la muestra del paciente se selecciona de sangre, saliva, orina y aliento.
10. El método de la reivindicación 1, en el que las etapas de administrar un sustrato de CYP3A y de cuantificar la presencia del sustrato de CYP3A y/o de su metabolito (o metabolitos) en al menos una muestra del paciente se realizan a dos o más instantes, en donde se espera que el estado de la enfermedad del individuo difiera entre los instantes como resultado de la administración de un agente terapéutico, de un régimen terapéutico o de una exposición del individuo a la enfermedad.
- 35 11. El método de la reivindicación 10, en el que el individuo es uno de un grupo de individuos de un ensayo clínico.
- 40 12. El método de la reivindicación 11, en el que el ensayo clínico es un ensayo cruzado.
13. El método de la reivindicación 11, en el que el ensayo clínico es un ensayo en paralelo doble ciego.