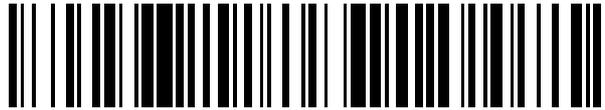


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 433 691**

51 Int. Cl.:

G01N 33/53 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2009 E 09790605 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2013 EP 2321647**

54 Título: **Biomarcadores para la insulinoresistencia y disfunción de células beta**

30 Prioridad:

17.07.2008 US 81647 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.12.2013

73 Titular/es:

**IKFE INSTITUT FÜR KLINISCHE FORSCHUNG
UND ENTWICKLUNG GMBH (100.0%)
Parcusstrasse 8
55116 Mainz, DE**

72 Inventor/es:

**PFUETZNER, ANDREAS y
FORST, THOMAS**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 433 691 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

Biomarcadores para la insulinoresistencia y disfunción de células beta

5 **Campo de la invención**

La invención proporciona composiciones y métodos para determinar en un sujeto insulinoresistencia y/o disfunción de células β pancreáticas. La invención también proporciona composiciones y métodos para tratar a un sujeto según su insulinoresistencia y/o disfunción de células β pancreáticas.

10

Antecedentes de la invención

El síndrome metabólico comprende diversos componentes que se han asociado con un riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular. Un tipo de síndrome metabólico se denomina síndrome de insulinoresistencia o síndrome X, y es un grupo de factores de riesgo que desempeña una función en la morbilidad de enfermedades cardiovasculares entre pacientes con sobrepeso y obesos y en personas con diabetes mellitus de tipo 2. (Véase, en líneas generales, Deen, American Family Physician, 2004, 69: 2875-2882). Un informe del National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel (NCEP-ATP III) identificó el síndrome metabólico como un factor de riesgo independiente para enfermedades cardiovasculares.

15

20

La insulinoresistencia, la obesidad abdominal, la tensión arterial elevada y los trastornos lipídicos (es decir, niveles elevados de triglicéridos y niveles bajos de colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL)) son características indicativas del síndrome metabólico. De acuerdo con el NCEP-ATP III, se considera que un sujeto padece síndrome metabólico si tiene tres de estas anomalías anteriores. La Tabla 1 proporciona un resumen de dos definiciones diferentes para clasificar a un sujeto como que tiene síndrome metabólico.

25

El documento WO 2007/044860 divulga marcadores biológicos asociados con un riesgo aumentado de desarrollar diabetes, así como métodos de uso de dichos marcadores en el diagnóstico y pronóstico de diabetes.

30

TABLA 1

Componente	Criterios de diagnóstico de la OMS (insulinoresistencia más dos de los siguientes)	Criterios de diagnóstico del ATP III (tres de los siguientes)
Obesidad abdominal/central	Proporción de cintura con respecto a cadera: > 0,90 (hombres), > 0,85 (mujeres), o IMC > 30 kg por m ²	Perímetro de cintura: > 102 cm (40 pulgadas) en hombres, > 88 cm (35 pulgadas) en mujeres
Hipertrigliceridemia	mg por dl (\geq 1,7 mmol por l)	\geq 150 mg por dl
Colesterol HDL bajo	< 35 mg por dl (< 0,9 mmol por l) para hombres, < 39 mg por dl (< 1,0 mmol por l) para mujeres	< 40 mg por dl (< 1,036 mmol por l) para hombres, < 50 mg por dl (< 1,295 mmol por l) para mujeres
Tensión arterial elevada	\geq 140/90 mm Hg o uso documentado de terapia antihipertensiva	\geq 130/85 mm Hg o uso documentado de terapia antihipertensiva
glucosa en ayunas elevada	Tolerancia alterada a glucosa, tolerancia alterada en ayunas, insulinoresistencia, o diabetes	\geq 110 mg por dl (\geq 6,1 mmol por l)
Microalbuminuria	Proporción de albúmina con respecto a creatinina en orina: 30 mg por g, o tasa de excreción de albúmina: 20 mcg por minuto	

(Copiado de Deen, citado anteriormente)

Sumario de la invención

Los pacientes con insulinoresistencia y disfunción de células β sin elevación de glucemia no están identificados como que padecen diabetes mellitus. Sin embargo, estos pacientes normoglucémicos padecen el mismo riesgo cardiovascular elevado, que está predominantemente relacionado con la insulinoresistencia vascular. Recientemente a esta afección se la denomina "cardiodiabetes" o "cardiocardiodiabetes". La expresión "síndrome metabólico" también puede usarse en el presente documento para referirse a esta afección. Un sujeto cardiadiabético puede no presentar uno o más de los síntomas normales de la diabetes incluyendo, pero sin limitación, hiperglucemia, fatiga, pérdida de peso inexplicable, sed excesiva, micción excesiva, sobrealimentación, mala cicatrización de heridas, infecciones, estado mental alterado y visión borrosa. Un sujeto cardiadiabético tiene un riesgo elevado de padecer una enfermedad cardiovascular y puede padecer episodios tales como infarto de miocardio e ictus. Es decir, la diabetes mellitus, la cardiadiabetes y el síndrome metabólico son fenotipos de una patofisiología común subyacente.

35

40

45

La población de pacientes cardiadiabéticos ha experimentado un desenlace desfavorable en estudios epidemiológicos previos en comparación con los pacientes que se han identificado y tratado como diabéticos. Los

biomarcadores de laboratorio clásicos para la diabetes no pueden identificar a estos pacientes cardiometabólicos. Debido a cuestiones patofisiológicas, los marcadores indirectos para el metabolismo de glucosa pueden ser insuficientes para describir el riesgo cardiovascular de pacientes con cardiometabólica, y son insuficientes para describir este riesgo para pacientes cardiometabólicos.

5 Un factor clave en la etiología de la diabetes de tipo 2 es la disfunción de células β . Diversos métodos de determinación conocidos de la función de células β pueden implicar realizar ensayos individuales de insulina, péptido C y glucosa, a menudo mediante una puntuación según el modelo de evaluación homeostático (HOMA, *Homeostatic Model Assessment*). Sin embargo, no se considera el posible impacto de fármacos y la influencia del tejido adiposo sobre las células β .

10 La presente invención proporciona composiciones y métodos que implican paneles biomarcadores que pueden describir una insulinoresistencia y función de células β en un sujeto en el contexto metabólico. Se conoce una gran cantidad de biomarcadores para una variedad de afecciones metabólicas, diabéticas y cardiovasculares. Véase la Publicación US/2008/0057590. Sin embargo, se ha descubierto que la adiponectina, el péptido C, la insulina y la proinsulina intacta en combinación son particularmente útiles como biomarcadores para la insulinoresistencia y disfunción de células β , debido en parte a que cada uno de ellos permite evaluar un aspecto diferente de enfermedad. Cada uno de estos biomarcadores en solitario no conduce a ningún entendimiento global del riesgo de un sujeto a la insulinoresistencia. La medición de la adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta proporciona la máxima cantidad de información relacionada con la patología de un sujeto a través de un número mínimo de biomarcadores. Diversos biomarcadores, tales como adiponectina y proinsulina intacta, tienen también la práctica ventaja de ser marcadores físicamente estables. Esto permite recoger y medir después las muestras, por ejemplo, en lotes, o como alternativa que no sea necesario usar ninguna manipulación especial de las muestras (tal como congelamiento inmediato, por ejemplo).

25 Por consiguiente, la presente invención proporciona composiciones y métodos para la detección y/o cuantificación de un conjunto de biomarcadores particulares (incluyendo, pero sin limitación, cualquier combinación de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta, así como combinaciones que incluyan otros marcadores, indicados más adelante) que permitan determinar la insulinoresistencia en un sujeto. Sin dicha determinación, el tratamiento, y por tanto la reducción de episodios cardiovasculares graves, no podrían producirse de otro modo.

30 La invención también proporciona selección eficaz de tratamiento y terapia en la reducción del riesgo para impedir complicaciones cardiovasculares. La invención proporciona marcadores biológicos que, en diversas combinaciones, pueden usarse en métodos para controlar a sujetos que están sometidos a terapias que influyen en la insulinoresistencia. Los síntomas de insulinoresistencia permiten a un cuidador seleccionar o modificar terapias o intervenciones para el tratamiento de sujetos. Se han desarrollado diversos fármacos para el tratamiento de la diabetes y están disponibles en el comercio. Los biomarcadores divulgados en el presente documento permiten determinar un nivel de respuesta en un sujeto a fármacos tales como fármacos antidiabéticos u otros fármacos descritos en el presente documento, y controlar la eficacia del tratamiento farmacológico. La presente invención se refiere particularmente al uso de un número mínimo de biomarcadores para proporcionar una cantidad de información máxima en lo que respecta a la patología de un sujeto.

45 Un panel de biomarcadores que consiste en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta puede opcionalmente combinarse con mediciones de otros biomarcadores para evaluar la insulinoresistencia.

50 La práctica actual no diferencia las causas de la diabetes de tipo 2 cuando se selecciona una terapia. Las directrices actuales se basan exclusivamente en la elevación de la glucemia y de la HbA_{1c}. Como una consecuencia, fármacos tales como sulfonilurea, que tienen la posibilidad de causar daños a las células β , no se diferencian de los fármacos con efectos protectores de las células β . El tratamiento actual de la diabetes tiende por tanto a conducir a una progresión crónica de la enfermedad. La invención proporciona diversos fármacos y combinaciones farmacológicas que pueden administrarse a un sujeto para tratar la insulinoresistencia. Una ventaja de las composiciones y métodos de la invención es que pueden permitir la selección de un tratamiento protector de células β . Como resultado, el riesgo cardiovascular de un sujeto puede mejorarse enormemente.

55 La invención proporciona adicionalmente métodos para determinar la falta de idoneidad de determinadas terapias farmacológicas. Esto es, que dependiendo de las mediciones de un panel biomarcador, diversos fármacos y combinaciones farmacológicas no se administran o no deben administrarse a un sujeto para tratar la insulinoresistencia. La bibliografía, en algunos casos, divulga la administración de determinados fármacos a un sujeto cuyos niveles biomarcadores cumplen determinados criterios como se describe en el presente documento, mientras que de acuerdo con la presente invención, a estos sujetos no se les administra o no deben administrarse estos fármacos.

60 A menudo, los sujetos pueden presentar niveles de glucosa normales pero sin embargo padecen disfunción de células β , insulinoresistencia, inflamación sistémica y lipostatis. La invención por tanto proporciona la detección precoz de sujetos con insulinoresistencia vascular normoglucémica a alto riesgo para infarto de miocardio e ictus.

En un aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un soporte sólido que comprende: (a) un ligando de unión de captura selectivo para la adiponectina; (b) un ligando de unión de captura selectivo para el péptido C, (c) un ligando de unión de captura selectivo para la insulina y (d) un ligando de unión de captura selectivo para la proinsulina intacta.

5 En una realización, uno de los ligandos de unión de captura comprende un anticuerpo.

En una realización, la composición comprende adicionalmente: (a) un ligando de captura soluble selectivo para la adiponectina, (b) un ligando de captura soluble selectivo para el péptido C, (c) un ligando de captura soluble selectivo para la insulina, y (d) un ligando de captura soluble selectivo para la proinsulina intacta.

En una realización, cada uno de los ligandos de captura solubles comprende un marcador detectable.

15 En una realización, un marcador detectable es un fluoróforo.

En una realización, un marcador detectable es una enzima conjugada.

En una realización, la enzima conjugada es peroxidasa de rábano picante.

20 En una realización, la composición comprende un detector.

De acuerdo con un aspecto adicional, se proporciona el uso de una composición de la invención para determinar una terapia para un sujeto que padece insulinoresistencia.

25 También se divulga un método de tratamiento de insulinoresistencia en un sujeto que comprende (a) medir la concentración de un panel biomarcador en una muestra del sujeto, consistiendo el panel biomarcador en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta; y (b) efectuar una terapia con respecto al sujeto.

30 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, alto, alto y alto; (b) alto, bajo, alto y alto; (c) medio, alto, alto y alto, entonces se administra una glitazona y un análogo de insulina.

35 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y alto; (b) alto, alto, bajo y alto; y (c) medio, alto, bajo y alto, entonces se administra una glitazona y una insulina.

40 También se divulga que, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, medio, medio y alto; (b) alto, bajo, medio y alto; (c) medio, medio, medio y alto; (d) medio, bajo, medio y alto; (e) alto, medio, bajo y alto; y (f) medio, medio, bajo y alto, entonces al sujeto se le administra una glitazona y un fármaco o una combinación de fármacos seleccionados de una insulina y un análogo de GLP-1.

45 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, bajo y alto; y (b) medio, bajo, bajo y alto, entonces se administra glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor de DPP-IV.

50 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina, y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) bajo, alto, alto y alto; (b) bajo, bajo, alto y alto; (c) alto, alto, alto y bajo; (d) bajo, alto, bajo y alto, entonces se administra una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina y un análogo de GLP-1.

55 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta es, respectivamente, bajo, bajo, bajo y alto, entonces se administra una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor de DPP-IV.

60 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, alto y bajo; (b) medio, alto, alto y bajo; (c) bajo, alto, alto y bajo; y (d) alto, alto, bajo y bajo, entonces se administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor de DPP-IV, un análogo de GLP-1 y una glitazona.

65 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y bajo; (b) bajo, bajo, alto y bajo; (c) alto, bajo, bajo y bajo, (d) medio, alto, bajo y bajo; (e) medio, bajo, bajo y bajo; (f) bajo, alto, bajo y bajo; y (g) bajo, bajo, bajo y bajo, entonces se administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionado de metformina,

un inhibidor de DPPIV, un análogo de GLP-1 y una glitazona.

En realización, al sujeto no se le administra ningún fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida.

5 En una realización, al sujeto se le administra adicionalmente uno o más fármacos adicionales que comprenden uno o más fármacos hipoglucemiantes.

En una realización, una muestra comprende sangre.

10 En una realización, el método comprende adicionalmente tomar una medición de al menos un biomarcador adicional.

15 En otra realización, el biomarcador adicional se selecciona del grupo que consiste en leptina, ARNm, NFκB, IL-6, MMP-9, TNFα, NFκB, eNOS, PPARγ, MCP-1, PAI-1, ICAM/VCAM, E-selectina, P-selectina, factor de von Willebrand, sCD40L, insulina, glucosa, HbA1c, ácidos grasos libres, triglicéridos, VLDL, LDL de baja densidad, LDL oxidado, resistina, HDL, NO, IκB-α, IκB-β p105, RelA, TNFα, MIF, citocinas inflamatorias y moléculas implicadas en rutas de señalización.

20 En una realización, el método comprende poner en contacto la muestra con una composición divulgada anteriormente o en el presente documento.

En un aspecto, la invención proporciona el uso de la composición divulgada anteriormente o en el presente documento para determinar una terapia para un sujeto que padece insulinoresistencia.

25 En una realización, el uso comprende poner en contacto la composición con una muestra del sujeto y medir las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta.

30 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, alto, alto y alto; (b) alto, bajo, alto y alto; (c), medio, alto, alto y alto, entonces se administra una glitazona y un análogo de insulina.

35 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y alto; (b) alto, alto, bajo y alto; y (c), medio, alto, bajo y alto, entonces se administra una glitazona y una insulina.

40 También se divulga que, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina, y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, medio, medio y alto; (b) alto, bajo, medio y alto; (c) medio, medio, medio y alto; (d), medio, bajo, medio y alto; (e) alto, medio, bajo y alto; y (f) medio, medio, bajo y alto, entonces la terapia comprende administrar una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina y un análogo de GLP-1.

45 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, bajo y alto; y (b), medio, bajo, bajo y alto, entonces se administra una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor de DPPIV.

50 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) bajo, alto, alto y alto; (b) bajo, bajo, alto y alto; (c) alto, alto, alto y bajo; (d) bajo, alto, bajo y alto, entonces se administra una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina y un análogo de GLP-1.

55 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de bajo, bajo, bajo y alto, entonces la terapia comprende administrar una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor de DPPIV.

60 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, alto y bajo; (b) medio, alto, alto y bajo, (c) bajo, alto, alto y bajo; y (d) alto, alto, bajo y bajo, se administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor de DPPIV, un análogo de GLP-1 y una glitazona.

65 En una realización, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y bajo; (b) bajo, bajo, alto y bajo; (c) alto, bajo, bajo y bajo; (d) medio, alto, bajo y bajo; (e) medio, bajo, bajo y bajo; (f) bajo, alto, bajo y bajo; y (g) bajo, bajo, bajo y bajo, entonces se administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina,

un inhibidor de DPPIV, un análogo de GLP-1 y una glitazona.

En una realización, la terapia no comprende administrar ningún fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida.

5

En una realización, la terapia también comprende administrar uno o más fármacos hipoglucemiantes adicionales.

En un aspecto, la invención proporciona métodos para determinar si un sujeto pertenece a una población que se beneficiaría de una terapia, comprendiendo el método poner en contacto una muestra del sujeto con la composición divulgada anteriormente o en el presente documento; y medir las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta en la muestra.

10

En una realización, la terapia comprende administrar una glitazona y un análogo de insulina y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, alto, alto y alto; (b) alto, bajo, alto y alto; (c) medio, alto, alto y alto.

15

También se divulga cuando la terapia comprende administrar una glitazona y una insulina, y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y alto; (b) alto, alto, bajo y alto; y (c) medio, alto, bajo y alto.

20

En una realización, la terapia comprende administrar una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina y un análogo de GLP-1, y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, medio, medio y alto; (b) alto, bajo, medio y alto; (c) medio, medio, medio y alto; (d) medio, bajo, medio y alto; (e) alto, medio, bajo y alto; y (f) medio, medio, bajo y alto.

25

En una realización, la terapia comprende administrar una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina, un análogo de GLP-1, y un inhibidor de DPPIV y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, bajo y alto; y (b) medio, bajo, bajo y alto.

30

En una realización, la terapia comprende administrar una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina y un análogo de GLP-1 y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) bajo, alto, alto y alto; (b) bajo, bajo, alto y alto; (c) alto, alto, alto y bajo; (d) bajo, alto, bajo y alto.

35

En una realización, la terapia comprende administrar una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor DPPIV y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta es respectivamente bajo, bajo, bajo y alto.

40

En una realización, la terapia comprende administrar un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor DPPIV, un análogo de GLP-1 y una glitazona, y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, alto y bajo; (b) medio, alto, alto y bajo; (c) bajo, alto, alto y bajo; y (d) alto, alto, bajo y bajo.

45

En una realización, la terapia comprende administrar un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor DPPIV, un análogo de GLP-1 y una glitazona, y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y bajo; (b) bajo, bajo, alto y bajo; (c) alto, bajo, bajo y bajo; (d) medio, alto, bajo y bajo; (e) medio, bajo, bajo y bajo; (f) alto, bajo y bajo; y (g) bajo, bajo, bajo y bajo.

50

En una realización, la terapia no comprende administrar ningún fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida.

55

En una realización, la terapia también comprende administrar uno o más fármacos hipoglucemiantes adicionales.

Descripción de los dibujos

60

La Figura 1 muestra una matriz de decisión de terapia para un panel biomarcador que incluye adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta. El símbolo "&" significa "y" y "/" significa "o". Como ejemplos no limitantes se proporcionan fármacos específicos.

Descripción de las realizaciones

Biomarcadores

5 Los biomarcadores pueden proceder de estudios epidemiológicos, estudios con animales, cuestiones patofisiológicas y experimentos terminales con órganos. De manera ideal, un biomarcador tendrá un valor predictivo alto para una medición de resultado significativo, puede validarse o se valida en ensayos prospectivos diseñados apropiadamente, refleja un éxito terapéutico por cambios correspondientes en los resultados de marcadores indirectos y deben ser fáciles de evaluar en la práctica clínica.

10 La expresión "marcador indirecto", "marcador biomolecular", "biomarcador", "marcador" (algunas veces también denominado en el presente documento "analito diana", "especie diana" o "secuencia diana") se refiere a una molécula cuya medición proporciona información acerca del estado de un sujeto. En diversas realizaciones ejemplares, el biomarcador se usa para evaluar un estado patológico. Las mediciones del biomarcador pueden usarse en solitario o combinadas con otros datos obtenidos relativos a un sujeto para determinar el estado del sujeto. En una realización, el biomarcador está "diferencialmente presente" en una muestra extraída de un sujeto de un estado fenotípico (por ejemplo, que padece una enfermedad) en comparación con otro estado fenotípico (es decir, que no padece la enfermedad). En una realización, el biomarcador está "diferencialmente presente" en una muestra extraída de un sujeto no sometido a terapia o sometido a un tipo de terapia en comparación con otro tipo de terapia. Como alternativa, el biomarcador puede estar "diferencialmente presente" incluso si no hay diferencia fenotípica, por ejemplo, los biomarcadores pueden permitir la detección de riesgo asintomático. Un biomarcador puede determinarse que está "diferencialmente presente" en una diversidad de maneras, por ejemplo, entre diferentes estados fenotípicos si la media o el nivel medio (particularmente el nivel de expresión de los ARNm asociados como se describe más adelante) del biomarcador en los diferentes grupos se calcula que es estadísticamente significativo. Los ensayos habituales para el significado estadístico incluyen, entre otros, ensayo de la t, ANOVA, Kruskal-Wallis, Wilcoxon, Mann-Whitney y razón de probabilidades.

30 Como se describe en el presente documento, un biomarcador puede ser, por ejemplo, una molécula pequeña, un analito o analito diana, un lípido (incluyendo glucolípidos), un carbohidrato, un ácido nucleico, una proteína, cualquier derivado de los mismos o cualquiera y todas las combinaciones de estas moléculas, con proteínas y ácidos nucleicos encuentran particular uso en la invención. Como apreciarán los expertos en la técnica, usando los métodos de la presente invención puede detectarse una gran cantidad de analitos; básicamente, usando los métodos de la invención, puede fabricarse cualquier biomarcador para el cual pueda detectarse un ligando de unión, descrito más adelante.

35 En diversas realizaciones, los biomarcadores usados en los paneles de la invención pueden detectarse bien como proteínas o como ácidos nucleicos (por ejemplo transcritos de ARNm o de ADNc) en cualquier combinación. En diversas realizaciones, se mide la forma proteína de un biomarcador. Como apreciarán los expertos en la técnica, pueden realizarse ensayos con proteínas usando técnicas convencionales tales como ensayos ELISA. En diversas realizaciones, se mide la forma de ácido nucleico de un biomarcador (por ejemplo, el ARNm correspondiente). En diversas realizaciones ejemplares, usando un ensayo con proteínas se miden uno o más biomarcadores de un panel particular y usando un ensayo con ácido nucleico se miden uno o más biomarcadores del mismo panel.

45 Como apreciarán los expertos en la técnica, usando la presente invención, existe una gran cantidad de posibles analitos diana y especies diana proteináceos que pueden detectarse. El término "proteína", "polipéptido" u "oligopéptido" se refiere a al menos dos o más péptidos o aminoácidos unidos por uno o más enlaces peptídicos. Una proteína o un aminoácido puede ser de origen natural o no natural y también puede ser un análogo, un derivado, o una estructura peptidomimética.

50 El término "proteína" se refiere a secuencias de tipo silvestre, variantes de secuencias de tipo silvestre y cualquiera de estas que contengan aminoácidos análogos o derivatizados. Como ejemplos de aminoácidos derivatizados se incluyen, sin limitación, los que se han modificado por la unión de marcadores (descritos más adelante); acetilación; acilación; ADP-ribosilación; amidación; unión covalente de flavina, un resto hemo, un nucleótido, un lípido o fosfatidilinositol; reticulación, ciclación; formación de enlaces disulfuro; desmetilación; esterificación; formación de entrecruzamientos covalentes, cistina o piroglutamato; formilación; gamma carboxilación; glicosilación; formación de anclaje GPI; hidroxilación; yodación; metilación; miristoilización; oxidación; procesamiento proteolítico; fosforilación; prenilación; racemización; selenoilación; sulfatación; y ubiquitinación. Dichas modificaciones son bien conocidas por los expertos en la técnica y se han descrito con gran detalle en la bibliografía científica. Diversas modificaciones particularmente comunes tales como glicosilación, unión lipídica, sulfatación, gamma carboxilación, hidroxilación, y ADP-ribosilación, por ejemplo, se describen en textos básicos, tales como Creighton, Proteins - Structure and Molecular Properties, 2ª ed. (Nueva York: W. H. Freeman and Company, 1993). Se dispone de muchas revisiones detalladas sobre este tema, tales como en Johnson, ed., Posttranslational Covalent Modification of Proteins (Nueva York: Academic Press, 1983); Seifter et al., Meth. Enzymol., 1990, 182: 626-646; y Rattan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 663: 48-62. Una variante puede contener una o más adiciones, deleciones o sustituciones de uno o más péptidos en comparación con una secuencia variante de tipo silvestre o diferente. Las cadenas laterales de una proteína pueden estar en configuración (R) o (S). En una realización preferida, los aminoácidos están en

configuración (S) o (L). Como se describe más adelante, cuando la proteína se usa como un ligando de unión, puede ser deseable utilizar análogos de proteína que retrasen la degradación por contaminantes de la muestra.

- 5 En diversas realizaciones, como biomarcadores pueden usarse variantes de las secuencias descritas en el presente documento, incluyendo proteínas y ácidos nucleicos basados, por ejemplo, en variantes de corte y empalme, variantes que comprenden una delección, adición, sustitución, fragmentos, preproteína, preproteína procesada (por ejemplo, sin un péptido de señalización), proproteína procesada (que produce, por ejemplo, una forma activa), secuencias no humanas y secuencias no humanas variantes.
- 10 En diversas realizaciones ejemplares, el biomarcador es un ácido nucleico. La expresión "ácido nucleico" u "oligonucleótido", o equivalentes gramaticales del presente documento significan al menos dos nucleótidos unidos covalentemente entre sí. Un ácido nucleico de la presente invención generalmente contendrá enlaces fosfodiéster, aunque en algunos casos, como se indica más adelante, por ejemplo, en el uso de sondas de unión a ligando, se incluyen análogos de ácido nucleico que pueden tener estructuras alternativas, que comprenden, por ejemplo,
- 15 fosforamida (Beaucage et al., *Tetrahedron*, 49(10): 1925 (1993) y referencias en su interior; Letsinger, *J. Org. Chem.* 35: 3800 (1970); Sprinzl et al., *Eur. J. Biochem.* 81:579 (1977); Letsinger et al., *Nucl. Acids Res.* 14: 3487 (1986); Sawai et al., *Chem. Lett.* 13(5): 805 (1984); Letsinger et al., *J. Am. Chem. Soc.* 110:4470 (1988); y Pauwels et al., *Chemica Scripta* 26:141 (1986)), fosforotioato (Mag et al., *Nucleic Acids Res.* 19:1437 (1991); y Patente de Estados Unidos 5.644.048), fosforoditioato (Briu et al., *J. Am. Chem. Soc.* 111:2321 (1989), ligamientos O-metilfosforoamida (véase Eckstein, *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, (Oxford University Press, 1991), y estructuras y ligamientos de ácidos nucleicos peptídicos (véase Egholm, *J. Am. Chem. Soc.* 114: 1895 (1992); Meier et al., *Chem. Int. Ed. Engl.* 31: 1008 (1992); Nielsen, *Nature*, 365: 566 (1993); Carlsson et al., *Nature*, 380: 207 (1996). Otros ácidos nucleicos análogos incluyen lo que poseen estructuras positivas (Denpcy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 6097 (1995)), estructuras no iónicas (Patentes de Estados Unidos 5.386.023; 5.637.684; 5.602.240; 5.216.141 y 4.469.863; Kiedrowski et al., *Angew. Chem. Intl. Ed. English* 30: 423 (1991); Letsinger et al., *J. Am. Chem. Soc.* 110: 4470 (1988); Letsinger et al., *Nucleoside & Nucleotide* 13: 1597 (1994); capítulos 2 y 3, *ASC Symposium Series 580, "Carbohydrate Modifications in Antisense Research"*, Ed. Y.S. Sanghui y P. Dan Cook; Mesmaeker et al., *Bioorganic & Medicinal Chem. Lett.* 4: 395 (1994); Jeffs et al., *J. Biomolecular NMR* 34: 17 (1994); y Horn et al., *Tetrahedron Lett.* 37: 743 (1996)) y estructuras no-ribosa, incluyendo las descritas en las Patentes de Estados Unidos 5.235.033 y 5.034.506 y Capítulos 6 y 7, *ASC Symposium Series 580, "Carbohydrate Modifications in Antisense Research2"*, Ed. Y.S. Sanghui y P. Dan Cook. También se incluyen ácidos nucleicos que contienen uno o más azúcares carbocíclicos dentro de la definición de ácidos nucleicos (véase Jenkins et al., *Chem. Soc. Rev.*, 24: 169-176 (1995)). Diversos análogos de ácidos nucleicos se describen en Rawls, *C & E News*, 35 (2 de junio de 1997). Estas modificaciones de la estructura ribosa-fosfato pueden realizarse para aumentar la estabilidad y semi-vida de dichas moléculas en medios fisiológicos. Como apreciarán los expertos en la técnica, todos estos análogos de ácido nucleico pueden encontrar uso en la presente invención. Además, pueden prepararse mezclas de ácidos nucleicos y análogos de origen natural.

- 40 Se ha descubierto que los ensayos para la insulinoresistencia que implican la medición de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta tienen mayor valor determinando la insulinoresistencia que cualquiera de estos biomarcadores en solitario. Esta combinación particular de biomarcadores permite conseguir sensibilidad y especificidad clínicamente útil y la detección y estadificación de casos de enfermedades menos graves. Por consiguiente, las mediciones de un panel biomarcador que comprenden o consisten en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta pueden usarse para mejorar la sensibilidad y/o especificidad de un ensayo de diagnóstico en comparación con un ensayo que implica uno cualquiera de estos biomarcadores en solitario.

Adiponectina

- 50 En diversas realizaciones, la adiponectina se usa como un biomarcador. Los valores de adiponectina son útiles como un biomarcador predictivo para la insulinoresistencia y como una herramienta de control en el tratamiento de trastornos relacionados con la insulinoresistencia. La adiponectina de longitud completa (fAd, *full length adiponectin*) es una proteína sérica de 30 kDa específicamente secretada por adipocitos. (Véase, por ejemplo, el N° BAA08227 de Acceso al GenBank). Típicamente la adiponectina circula en la sangre humana a concentraciones que varían entre 5 y 12 mg/l, representando así aproximadamente el 0,01 % de las proteínas plasmáticas totales. Schondorf et al., *Clin. Lab.*, 2005, 51: 489-494. Los niveles de adiponectina tienen valores medios más altos en mujeres (aproximadamente 8,7 mg/l) que en hombres (aproximadamente 5,5 mg/l) y también pueden verse afectados por la edad. Los niveles de adiponectina se correlacionan negativamente con el IMC, masa adiposa visceral y niveles de insulina. Por consiguiente, la adiponectina disminuye en sujetos obesos y en pacientes que padecen diabetes de tipo 2, macroangiopatía u otros trastornos metabólicos. Los valores más bajos de adiponectina se han hallado en
- 60 pacientes obesos con diabetes de tipo 2 y cardiopatía coronaria. Las Tablas 2A y 2B muestran dos categorizaciones diferentes de diversas concentraciones de adiponectina en relación con el riesgo de arteriosclerosis e insulinoresistencia.

TABLA 2A

Concentración de adiponectina (mg/l)	Nivel de riesgo para Arteriosclerosis e Insulinorresistencia
> 10	bajo
7 - 10	medio
< 7	alto

TABLA 2B

Concentración de adiponectina (mg/l)	Nivel de riesgo para Arteriosclerosis e Insulinorresistencia
> 10	bajo
7 - 10	medio
4 - 7	alto
< 4	muy alto

5 Se ha demostrado que diversos compuestos influyen en los niveles de adiponectina en un sujeto. Pfützner et al., Diabetes, Stoffwechsel y Herz, 2007, 16: 91-97, han demostrado que la sulfonilurea, metformina, tiazolidinodiona, metformina + sulfonilurea, metformina + tiazolidinodiona, sulfonilurea + glitazona y metformina + sulfonilurea + tiazolidinodiona pueden tener un efecto sobre los niveles de adiponectina. Por tanto, en una realización, cualquiera de estos compuestos o combinaciones pueden administrarse a un sujeto.

10 Por consiguiente, como ligandos de unión de captura adecuados, como se describe más adelante en el presente documento, para la detección y/o cuantificación de adiponectina se incluyen, pero sin limitación, anticuerpos que son selectivos para adiponectina. Los anticuerpos de adiponectina se conocen y se encuentran en el comercio. En una realización ejemplar, la adiponectina tiene una secuencia peptídica de acuerdo con el N° de Acceso BAA08227 del GenBank o deriva de una secuencia de ácido nucleico de acuerdo con el N° D45371 de Acceso del GenBank.

Péptido C

20 En diversas realizaciones, el péptido C se usa como un biomarcador. El péptido C es un segmento central de la proinsulina que se encuentra entre la cadena B N terminal y la cadena A C terminal. A concentraciones fisiológicas, el péptido C humano estimula el transporte de glucosa de una manera dependiente de la dosis y comparte parcialmente una ruta común con la insulina estimulando el transporte de glucosa en el músculo esquelético. El péptido C no altera la unión de la insulina con el receptor de insulina ni tampoco se une específicamente a membranas brutas del músculo. El péptido C estimula el transporte de glucosa mediante un mecanismo independiente del receptor de insulina y de la actividad tirosina quinasa y, a diferencia de la insulina, las catecolaminas no tienen ningún efecto contra-regulador sobre el transporte de glucosa mediado por el péptido C. La Tabla 3 muestra la correlación entre la concentración del péptido C y el nivel de riesgo de enfermedad. En diversas realizaciones, 600 pmol/l puede clasificarse como alto o bajo.

TABLA 3

Concentración (en ayunas) del péptido C (pmol/l)	Nivel de riesgo de enfermedad
> 600	alto
< 600	bajo

30 Por consiguiente, los ligandos de unión de captura adecuados, como se describe adicionalmente en el presente documento, para la detección y/o cuantificación del péptido C incluyen, pero sin limitación, anticuerpos que son selectivos para el péptido C. Los anticuerpos del péptido C se conocen y se encuentran en el comercio. En una realización ejemplar, el péptido C tiene una secuencia peptídica de acuerdo con el N° 1T0C_A de Acceso al PDB.

Insulina

40 En diversas realizaciones, la insulina se usa como un biomarcador. La insulina es una hormona peptídica que tiene aproximadamente 51 restos de aminoácidos y un peso molecular de 5,8 kDa. La hormona es un miembro de una gran familia de moléculas todas ellas con algún grado de homología en su secuencia, por ejemplo, los factores de crecimiento similares a insulina (IGF-I e IGF-II). En algunos casos, la insulina puede experimentar glucación. La Tabla 4 muestra la correlación entre la concentración de insulina y el nivel de riesgo de enfermedad. En diversas realizaciones, 25 mU/l puede clasificarse como alto o como bajo.

TABLA 4

Concentración (en ayunas) de insulina (mU/l)	Nivel de riesgo de enfermedad
> 25	alto
< 25	bajo

Por consiguiente, como ligandos de unión de captura adecuados, como se analizará más adelante en el presente documento, para la detección y/o cuantificación de insulina se incluyen, pero sin limitación, anticuerpos que son selectivos para la insulina. En una realización ejemplar la insulina tiene una secuencia peptídica de acuerdo con el N° AAA72531 de Acceso a GenBank, donde la secuencia correspondiente al péptido C se ha delecionado y donde las cadenas A y B están unidas entre sí por enlaces disulfuro.

Proinsulina intacta

En diversas realizaciones, la proinsulina intacta se usa como un biomarcador. Como se usa en el presente documento, "proinsulina" se refiere al precursor prehormona a la insulina realizado en las células β de los islotes de Langerhans. La proinsulina puede escindir-se en los gránulos de las células β para producir dos moléculas distintas: el péptido C y la insulina. El procesamiento parcial de la proinsulina puede producir formas divididas o "des" de proinsulina. (Clark, Ann Clin Biochem, 1999, 36: 541-564). El término "proinsulina" como se usa en el presente documento se refiere preferentemente a una forma no procesada de proinsulina, es decir, "proinsulina intacta".

Las concentraciones de proinsulina intacta están relacionadas con aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares. Si la demanda de activar la insulina por insulinoresistencia alcanza un determinado umbral, una insuficiente capacidad de escisión de la carboxipeptidasa H en células β conduce a una mayor secreción de proinsulina intacta además de la molécula de insulina deseada. Sin embargo, se ha demostrado que la proinsulina intacta es un factor de riesgo cardiovascular independiente. La valoración de la función de células β por determinación de la proinsulina intacta facilita la selección de la terapia más prometedor y también sirve para controlar el éxito de tratamiento en el transcurso posterior de la enfermedad. La proinsulina intacta puede servir como un marcador para investigar la función de las células β y permite la estadificación de la diabetes de tipo 2 orientada por secreción. La Tabla 5 muestra la correlación entre la concentración de proinsulina intacta y la función de células β .

TABLA 5

Concentración de proinsulina intacta (pmol/l)	Nivel de riesgo de disfunción de células β
> 11	alto
\leq 11	bajo

La Tabla 5 muestra que, para concentraciones de proinsulina intacta de \leq 11 pmol/l, la función de las células β puede caracterizarse como buena, mientras que para concentraciones de proinsulina intacta de >11 pmol/l, la función de las células β puede caracterizarse como mala.

La quimioluminiscencia es una técnica que puede usarse para medir la proinsulina intacta y otros biomarcadores. Se dispone. Dos tipos de ensayos quimioluminiscentes pueden medir específicamente la proinsulina "intacta" no escindida y la proinsulina "total" (proinsulina y sus productos de degradación específicos e inespecíficos) en plasma humano (Proinsulina Intacta MLT y Proinsulina Total MLT; Sciema, Mainz, Alemania). Otros métodos adecuados para medir la proinsulina incluyen, sin limitación, cromatografía, particularmente HPLC, ensayos de espectrometría de masas con dilución de isótopos estables y ELISA. Véase, en líneas generales, *Clark*.

Por consiguiente, como ligandos de unión de captura adecuados, como se analiza más adelante en el presente documento, para la detección y/o cuantificación de la proinsulina se incluyen, pero sin limitación, anticuerpos que son selectivos para la proinsulina. Se conocen anticuerpos para la proinsulina intacta y están disponibles en el comercio. En una realización ejemplar, la proinsulina intacta tiene una secuencia peptídica de acuerdo con el N° AAA72531 de Acceso a GenBank o deriva de una secuencia de ácido nucleico de acuerdo con el Número M12913 de Acceso a GenBank.

Paneles biomarcadores

Para configurar un panel biomarcador, que se detecta o se mide como se describe en el presente documento, se usa cualquier combinación de los biomarcadores descritos en dicho documento. Como se sabe de manera general en la técnica, una combinación puede referirse a un conjunto completo o a cualquier subconjunto o subcombinación del mismo. La expresión "panel biomarcador", "perfil biomarcador" o "huella biomarcadora" se refiere a un conjunto de biomarcadores. Como se usa en el presente documento, estas expresiones también pueden referirse a cualquier forma del biomarcador que se mide. Por tanto, si la adiponectina es parte de un panel biomarcador, entonces la proteína adiponectina o el ARNm de adiponectina, por ejemplo, podría considerarse como parte del panel. Aunque los biomarcadores individuales son útiles para el diagnóstico, se ha descubierto que una combinación de biomarcadores puede proporcionar a veces mayor valor determinando un estado particular en comparación con biomarcadores sencillos en solitario. Específicamente, la detección de una pluralidad de biomarcadores en una muestra puede aumentar la sensibilidad y/o especificidad del ensayo. Por tanto, en diversas realizaciones, un panel biomarcador puede incluir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más tipos de biomarcadores. En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en un número mínimo de biomarcadores para generar una cantidad máxima de información. Por tanto, en diversas realizaciones, el panel biomarcador consiste en 3, 4, 5, 6, 7 u 8 tipos de biomarcadores. Cuando un panel biomarcador "consiste en" un conjunto de biomarcadores, ningún biomarcador

que no sea del conjunto está presente. En realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en 3 biomarcadores divulgados en el presente documento. En diversas realizaciones, el panel biomarcador consiste en 4 biomarcadores divulgados en el presente documento.

- 5 En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador comprende adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta. En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador comprende cualquier combinación de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta. En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta. En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en cualquier combinación de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta. En
- 10 diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en 2 biomarcadores seleccionados de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta. En diversas realizaciones ejemplares, la forma de proteína de adiponectina, el péptido C, la insulina y la proinsulina intacta se detecta usando un ensayo de proteína como se conoce en la técnica o se analiza en el presente documento.
- 15 En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador comprende, o consiste en, adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta y 1, 2, 3, 4 o más biomarcadores adicionales. Dichos biomarcadores adicionales pueden, por ejemplo, aumentar la especificidad y/o sensibilidad del ensayo. Como marcadores adicionales adecuados para paneles biomarcadores se incluyen, sin limitación, cualquier combinación de los biomarcadores seleccionados de lectina, ARNm, NF κ B, IL-6, MMP-9, TNF α , NF κ B, eNOS, PPAR γ , MCP-1, PAI-1, ICAM/VCAM, E-
- 20 selectina, P-selectina, factor de von Willebrand, sCD40L, insulina, glucosa, HbA1c, ácidos grasos libres, triglicéridos, VLDL, LDL de baja densidad, LDL oxidado, resistina, HDL, NO, I κ B- α , I κ B- β , p105, RelA, TNF α , MIF, citocinas inflamatorias, moléculas implicadas en rutas de señalización y cualquiera de los biomarcadores divulgados en la Publicación de Estados Unidos US/2008/0057590. Debe entenderse que en esta realización, el panel biomarcador puede incluir cualquier combinación de adiponectina, péptido C, insulina, proinsulina intacta y el resto de estos
- 25 marcadores.

Un biomarcador también puede ser un parámetro clínico. La expresión "parámetro clínico" se refiere a todos los biomarcadores no-muestra o no-análisis del estado de salud del sujeto u otras características, tales como, sin

30 limitación, edad, origen étnico, sexo, tensión arterial diastólica y tensión arterial sistólica, historial familiar, altura, peso, perímetro de cintura y cadera, índice de masa corporal, así como otros, tales como, Diabetes Melitus de Tipo I o de Tipo II o Diabetes Melitus Gestacional (en su conjunto denominado Diabetes en el presente documento), frecuencia cardíaca en reposo, evaluación del modelo homeostático (HOMA), insulinoresistencia HOMA (HOMA-IR), tolerancia a la glucosa intravenosa (SI(IVGT)), función de células β , función macrovascular, función microvascular, índice aterogénico, tensión arterial, proporción de lipoproteína de baja densidad/lipoproteína de alta densidad, espesor íntima-media y puntuación del riesgo del UKPDS (*United Kingdom Prospective Diabetes Study*). En la

35 Publicación US/2008/0057590 se divulgan otros parámetros clínicos.

Los biomarcadores de la invención presentan una diferencia estadísticamente significativa entre diferentes estados de insulinoresistencia. En diversas realizaciones, los ensayos de diagnóstico que usan estos biomarcadores en

40 solitario o en combinación presentan una sensibilidad y especificidad de al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 98% y aproximadamente 100 %.

Medición y detección de biomarcadores

45 Generalmente, los biomarcadores pueden medirse y detectarse a través de diversos ensayos, métodos y sistemas de detección conocidos por un experto en la técnica. El término "medir", "detectar" o la expresión "tomar una medición", se refiere a una determinación cuantitativa o cualitativa de una propiedad de una entidad, por ejemplo, la cuantificación de la cantidad o concentración de una molécula o del nivel de actividad de una molécula. El término

50 "concentración" o "nivel" puede referirse a una cantidad absoluta o relativa. La medición de una molécula también puede incluir determinar la ausencia o la presencia de la molécula. Diversos métodos incluyen, pero sin limitación, espectroscopia de índice de refracción (RI), espectroscopia ultravioleta (UV), análisis de fluorescencia, análisis radioquímico, espectroscopia infrarroja cercana (IR cercana), espectroscopia infrarroja (IR), espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), análisis de dispersión de luz (LD), espectrometría de masas, espectrometría

55 de masas y pirolisis, nefelometría, espectroscopia Raman dispersiva, cromatografía de gases, cromatografía líquida, cromatografía de gases combinada con espectrometría de masas, cromatografía líquida combinada con espectrometría de masas, desorción e ionización mediante láser asistida por matriz-tiempo de vuelo (MALDI-TOF) combinada con espectrometría de masas, espectroscopia de pulverización de iones combinada con espectrometría de masas, electroforesis capilar, colorimetría y resonancia de plasmón superficial (tal como de acuerdo con los

60 sistemas proporcionados por Biacore Life Sciences). Véanse también las Publicaciones PCT WO/2004/056456 y WO/2004/088309. En este sentido, los biomarcadores pueden medirse usando los métodos de detección mencionados anteriormente, u otros métodos conocidos por el experto en la técnica. Otros biomarcadores pueden detectarse de manera similar usando reactivos que están específicamente diseñados o adaptados para detectarlos.

65 En las composiciones y métodos de la presente invención pueden combinarse diferentes tipos de biomarcadores y sus mediciones. En diversas realizaciones, se mide la forma proteína de los biomarcadores. En diversas

realizaciones, se mide la forma ácido nucleico de los biomarcadores. En realizaciones ejemplares, la forma ácido nucleico es ARNm. En diversas realizaciones, se usan mediciones de biomarcadores proteína junto con mediciones de biomarcadores ácido nucleico.

5 En la técnica se conocen bien métodos para detectar ARNm, tales como RT-PCR, PCR en tiempo real, ADN ramificado, NASBA y otros. Usando información de secuencia proporcionada por las entradas de las bases de datos para las secuencias biomarcadoras, puede detectarse la expresión de las secuencias biomarcadoras (si están presentes) y medirse usando técnicas bien conocidas por un experto en la materia. Por ejemplo, las secuencias en las entradas de bases de datos de secuencias o las secuencias divulgadas en el presente documento pueden usarse para construir sondas para detectar secuencias de ARN biomarcadoras en, por ejemplo, análisis de hibridación por transferencia de Northern o métodos que específicamente, y, preferentemente, amplifican cuantitativamente secuencias específicas de ácido nucleico. Como otro ejemplo, las secuencias pueden usarse para construir cebadores para amplificar específicamente las secuencias biomarcadoras en, por ejemplo, métodos de detección basados en amplificación, tales como, reacción en cadena de la polimerasa basada en transcripción inversa (RT-PCR). Cuando las alteraciones en la expresión de genes están asociadas con amplificación, delección, polimorfismo y mutaciones génicas, pueden realizarse comparaciones de secuencias en poblaciones de ensayo y de referencia comparando cantidades relativas de las secuencias de ADN examinadas en las poblaciones celulares de ensayo y de referencia. Además de con transferencia de Northern y RT-PCR, el ARN también puede medirse usando, por ejemplo, otros métodos de amplificación diana (por ejemplo, TMA, SDA, NASBA), métodos de amplificación de señal (por ejemplo, ADN_b), ensayos de protección con nucleasa, hibridación *in situ* y similares.

Por tanto, son de particular interés en la presente invención los ensayos con biochip. En el presente documento “biochip” o “chip” se refiere a una composición que generalmente comprende un soporte o un sustrato sólido al cual se une un ligando de unión de captura (denominado también adsorbente, reactivo de afinidad o ligando de unión, o cuando se mide ácido nucleico, una sonda de captura) y puede unirse a proteínas, a ácidos nucleicos o a ambos. Generalmente, cuando se usa un biochip para mediciones de biomarcadores proteína y ácido nucleico, los biomarcadores proteína se miden en un chip distinto al que se usa para medir los biomarcadores ácido nucleico. Para ejemplos no limitantes de plataformas adicionales y métodos útiles para medir los ácidos nucleicos, véase las Publicaciones US/2006/0275782, US/2005/0064469 y DE10201463. En diversas realizaciones, los biomarcadores se miden sobre la misma plataforma, tal como un chip. En diversas realizaciones, los biomarcadores se miden usando diferentes plataformas y/o diferentes desarrollos experimentales.

En el presente documento por “ligando de unión”, “ligando de unión de captura”, “especies de unión de captura”, “sonda de captura” o equivalentes gramaticales se entiende un compuesto que se usa para detectar la presencia de o cuantificar, de manera relativa o absoluta, un analito diana, especie diana o secuencia diana (todos usados indistintamente) y que se unirá al analito diana, especie diana o secuencia diana. Generalmente, el ligando de unión de captura o sonda de captura permite la unión de una especie diana o secuencia diana a un soporte sólido para los fines de detección como se describe más adelante en el presente documento. La unión de la especie diana al ligando de unión de captura puede ser directa o indirecta. En realizaciones ejemplares, la especie diana es un biomarcador. Como apreciarán los expertos en la técnica, la composición del ligando de unión dependerá de la composición de biomarcador. Se conocen ligandos de unión para una amplia diversidad de biomarcadores o pueden encontrarse fácilmente usando técnicas conocidas. Por ejemplo, cuando el biomarcador es una proteína, los ligandos de unión incluyen proteínas (incluyendo particularmente anticuerpos o fragmentos de los mismos (FABs, etc.) como se analiza más adelante en el presente documento) o moléculas pequeñas. El ligando de unión también puede tener reactividad cruzada con proteínas de otras especies. Los pares antígeno-anticuerpo, receptor-ligando y carbohidratos y sus compañeros de unión son también pares de ligando de unión-analito adecuados. En diversas realizaciones, el ligando de unión puede ser ácido nucleico. Los ligandos de unión de ácido nucleico encuentran particular uso cuando las proteínas son las dianas; como alternativa, como se describe generalmente en las Patentes de Estados Unidos 5.270.163; 5.475.096; 5.567.588; 5.595.877; 5.637.459; 5.683.867; 5.705.337 y en patentes relacionadas, pueden desarrollarse “aptámeros” de ácidos nucleicos para unirse prácticamente a cualquier biomarcador. Los ligandos de unión de ácido nucleico también encuentran particular uso cuando los ácidos nucleicos son dianas de unión. Existe una gran cantidad de bibliografía relacionada con el desarrollo de compañeros de unión basada en métodos de química combinatoria. En estas realizaciones, cuando el ligando de unión es un ácido nucleico, las composiciones y técnicas preferidas se muestran en la publicación PCT WO/1998/020162.

En diversas realizaciones ejemplares, el ligando de unión de captura es un anticuerpo. Estas realizaciones son particularmente útiles para la detección de la forma proteína de un biomarcador.

La detección o medición del nivel (por ejemplo, del nivel de transcripción) de un biomarcador implica la unión del biomarcador a un ligando de unión de captura, denominado generalmente en el presente documento “sonda de captura” cuando va a detectarse el ARNm del biomarcador sobre un soporte sólido. En ese sentido, el biomarcador es una secuencia diana. La expresión “secuencia diana” o “ácido nucleico diana” o equivalentes gramaticales en el presente documento significa una secuencia de ácido nucleico que puede ser una parte de un gen, una secuencia reguladora, ADN genómico, ADNc, ARN incluyendo ARNm y ARNr y otros. Como se indica en el presente documento, la secuencia diana puede ser una secuencia diana de una muestra, o una diana secundaria tal como un producto de una reacción de amplificación tal como PCR, etc. En algunas realizaciones, medir un ácido nucleico

puede por tanto referirse a medir el complemento del ácido nucleico. Este puede tener cualquier longitud, entendiéndose que secuencias más largas son más específicas.

5 La secuencia diana también puede comprender diferentes dominios diana; por ejemplo, un primer dominio diana de la secuencia diana de la muestra puede hibridarse con una primera sonda de captura, un segundo dominio diana puede hibridarse con una sonda marcadora (por ejemplo, un formato de “ensayo de tipo sándwich”), etc. Los dominios diana pueden ser adyacentes o estar separados según se indique. Salvo que se especifique, los términos “primero” y “segundo” no significan conferir ninguna orientación de las secuencias con respecto a la orientación 5'-3' de la secuencia diana. Por ejemplo, suponiendo una orientación 5'-3' de la secuencia diana, el primer dominio diana puede estar localizado en posición 5' con respecto al segundo dominio, o en posición 3' con respecto al segundo dominio.

15 Cuando se usan ácidos nucleicos como el analito diana, los ensayos de la invención pueden adoptar diversas realizaciones. En una realización, los ensayos se realizan en formato en solución, usando cualquier cantidad de formatos basados en solución. En una realización, se usan formatos PCR de punto final o de tiempo real, como se conoce en la técnica. Estos ensayos pueden realizarse como un panel, en tubos o pocillos individuales, o como ensayos múltiples, usando conjuntos de cebadores y diferentes marcadores dentro de un solo tubo o pocillo. Además de los formatos en solución basados en PCR, pueden utilizarse otros formatos, incluyendo, pero sin limitación, por ejemplo, ensayos basados en ligamiento utilizando pares de colorantes FRET. En esta realización, sólo se genera una señal después del ligamiento de dos (o más) sondas hibridadas con la secuencia diana.

25 En muchas realizaciones, los ensayos se realizan sobre un soporte sólido, utilizando una sonda de captura asociada con la superficie. Como se indica en el presente documento, las sondas de captura (o ligandos de unión de captura, como se denominan a veces), pueden estar covalentemente unidas a la superficie, usando, por ejemplo, sondas de captura modificadas terminalmente con grupos funcionales, por ejemplo, grupos amino, que están unidos a superficies modificadas, tales como vidrio silanizado. Como alternativa, puede utilizarse enlace no covalente, tal como adhesión electrostática, hidrófoba/hidrófila. Como aprecian los expertos en la técnica y como se indica en el presente documento, es posible realizar una gran cantidad de uniones sobre una amplia diversidad de superficies.

30 En esta realización, los ensayos pueden adoptar diversos formatos. En una realización, la secuencia diana comprende un marcador detectable, como se describe en el presente documento. En esta realización, durante la amplificación de la diana el marcador se añade generalmente a la secuencia diana de una de dos maneras: durante la etapa de amplificación se utiliza cualquiera de los cebadores marcados o se usan los dNTP marcados, ambos bien conocidos en la técnica. El marcador puede ser un marcador primario o secundario como se indica en el presente documento. Por ejemplo, en una realización, el marcador en el cebador y/o un dNTP es un marcador primario tal como un fluoróforo. Como alternativa, el marcador puede ser un marcador secundario tal como biotina o una enzima; por ejemplo, en una realización, los cebadores o los dNTP se marcan con biotina y después se añade un complejo de estreptavidina/marcador. En una realización, el complejo estreptavidina/marcador contiene un marcador tal como un fluoróforo. En una realización alternativa, el complejo estreptavidina/marcador comprende un marcador enzimático. Por ejemplo, el complejo puede comprender peroxidasa de rábano picante y tras la adición de TMB, la acción de la peroxidasa de rábano picante hace que el TMB precipite, produciendo un fenómeno ópticamente detectable. Esto tiene un beneficio particular ya que los ópticos para detección no requieren el uso de un fluorímetro.

45 En realizaciones alternativas, el ensayo en fase sólida se basa en el uso de un ligando de captura soluble marcado, algunas veces denominado “sonda marcadora” o “sonda señalizadora” cuando el analito diana es un ácido nucleico. En este formato, el ensayo es un ensayo de tipo “sándwich”, donde la sonda de captura se une a un primer dominio de la secuencia diana y la sonda marcadora se une al segundo dominio. En esta realización, la sonda marcadora también puede ser un marcador primario (por ejemplo, un fluoróforo) o un marcador secundario (biotina o enzima). En una realización, la sonda marcadora comprende biotina, y se usa un complejo de estreptavidina/enzima como se describe en el presente documento. Como se ha indicado anteriormente, por ejemplo, el complejo puede comprender peroxidasa de rábano picante y después de la adición de TMB, la acción de la peroxidasa de rábano picante hace que el TMB produciendo un fenómeno ópticamente detectable.

55 En algunas realizaciones la detección de una especie diana requiere un “marcador” o un “marcador detectable” (como se describe más adelante) que puede incorporarse de diversas maneras. Por tanto, en diversas realizaciones, la composición comprende un “marcador” o un “marcador detectable”. En una realización, la especie diana (o analito diana o secuencia diana) está marcada; la unión de la especie diana proporciona de esta manera el marcador en la superficie del soporte sólido.

60 En realizaciones que encuentran particular uso en el presente documento, se utiliza un formato de tipo sándwich, donde la especie diana no está marcada. En estas realizaciones, un ligando de unión de “captura” o de “anclaje” está unido a la superficie de detección como se describe en el presente documento, y un ligando de unión soluble (frecuentemente denominado en el presente documento “sonda señalizadora”, “sonda marcadora” o “ligando de captura soluble”) se une independientemente a la especie diana y comprende directa o indirectamente al menos un marcador o un marcador detectable.

65

En el presente documento, por “marcador” o “marcado” se entiende que un compuesto tiene al menos una molécula, elemento, isótopo o compuesto químico unido que permite la detección del compuesto. En general, los marcadores se incluyen en cuatro clases: a) marcadores isotópicos que pueden ser radioactivos o isótopos pesados; b) magnéticos, eléctricos, térmicos; pigmentos colorantes o luminiscentes, y d) enzimas; aunque los marcadores incluyen partículas tales como partículas magnéticas también. Los pigmentos pueden ser cromóforos o fósforos pero son preferentemente pigmentos fluorescentes, que debido a su intensa señal proporciona una buena proporción de señal con respecto a interferencia para la descodificación. Los pigmentos adecuados para su uso en la invención incluyen, pero sin limitación, complejos lantánidos fluorescentes, incluyendo los de Europio y Terbio, fluoresceína, rodamina, tetrametilrodamina, eosina, eritrosina, coumarina, metilcumarinas, pireno, verde malacita, estilbena, amarillo Lucifer, azul cascada, rojo Texas, pigmentos Alexa y otros descritos en la sexta edición del Molecular Probes Handbook por Richard P. Haugland. Otros marcadores incluyen nanocristales o Q-dots como se describe en la Patente de Estados Unidos 6.544.732.

En diversas realizaciones, se usa un marcador detectable secundario. Un marcador secundario es uno que se detecta indirectamente; por ejemplo, un marcador secundario puede unirse o reaccionar con un marcador primario para la detección, puede actuar sobre un producto adicional para generar un marcador primario (por ejemplo, enzimas) o pueden permitir la separación del compuesto, que comprende el marcador secundario, de materiales no marcados, etc. Los marcadores secundarios incluyen, pero sin limitación, uno de un par de compañeros de unión; restos químicamente modificables; inhibidores de nucleasa, enzimas tales como peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, luciferasa, etc. Los marcadores secundarios también pueden incluir marcadores adicionales.

En diversas realizaciones, el marcador secundario es un par de compañeros de unión. Por ejemplo, el marcador puede ser un hapteno o un antígeno, que se unirá a su compañero de unión. Por ejemplo, los pares de compañeros de unión adecuados incluyen, pero sin limitación: antígenos (tales como proteínas (incluyendo péptidos)) y anticuerpos (incluyendo sus fragmentos (FABs, etc.)); proteínas, moléculas pequeñas, incluyendo biotina/estreptavidina; enzimas y sustratos o inhibidores; otros pares de interacción proteína-proteína; receptor-ligandos; y carbohidratos y sus compañeros de unión. También son útiles los pares de proteínas de unión ácido nucleico-ácido nucleico. En general, para la incorporación en el cebador el más pequeño del par está unido al NTP. Los pares compañeros de unión preferidos incluyen, pero sin limitación, biotina (o iminobiotina) y estreptavidina, digoxinina y Abs y reactivos ProLinX™.

En los formatos de tipo sándwich de la invención, una enzima actúa como el marcador secundario, unido al ligando de captura soluble. De particular uso en algunas realizaciones es el uso de peroxidasa de rábano picante, que cuando se combina con 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) forma un precipitado de color que después se detecta. En algunos casos, el ligando de captura soluble comprende biotina, que después se une a un complejo enzima-estreptavidina y forma un precipitado de color con la adición de TMB.

En diversas realizaciones, el marcador o marcador detectable es una enzima conjugada (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante). En diversas realizaciones, el sistema se basa en detectar la precipitación de un producto de reacción o en un cambio de, por ejemplo, las propiedades electrónicas para la detección. En diversas realizaciones, ninguno de los compuestos comprende un marcador.

Como se usa en el presente documento, la expresión “resto generador de señal fluorescente” o “fluoróforo” se refiere a una molécula o parte de una molécula que absorbe energía a una longitud de onda y vuelve a emitir energía a otra longitud de onda. Las propiedades fluorescentes que pueden medirse incluyen intensidad de fluorescencia, vida útil de fluorescencia, características de espectro de emisión, transferencia de energía y similares.

Las señales de moléculas sencillas pueden generarse y detectarse mediante diversos sistemas de detección, incluyendo, pero sin limitación, microscopía electrónica de barrido, microscopía óptica de barrido de campo cercano (NSOM), microscopía de fluorescencia por reflexión interna total (TIRFM) y similares. En la bibliografía se encuentra abundante ayuda para aplicar dichas técnicas para analizar y detectar estructuras a nanoescala sobre superficies, como lo muestran las siguientes referencias: Reimer et al, editors, Scanning Electron Microscopy: Physics of Image Formation and Microanalysis, 2ª Edición (Springer, 1998); Nie et al, Anal. Chem., 78: 1528-1534 (2006); Hecht et al, Journal Chemical Physics, 112: 7761-7774 (2000); Zhu et al, editors, Near-Field Optics: Principles and Applications (World Scientific Publishing, Singapore, 1999); Drmanac, Publicación PCT WO/2004/076683; Lehr et al, Anal. Chem., 75: 2414-2420 (2003); Neuschafer et al, Biosensors & Bioelectronics, 18: 489-497 (2003); Neuschafer et al, Patente de Estados Unidos 6.289.144; y similares.

Por lo tanto, un sistema de detección para fluoróforos incluye cualquier dispositivo que pueda usarse para medir las propiedades fluorescentes como se ha indicado anteriormente. En diversas realizaciones, el sistema de detección comprende una fuente de excitación, un fluoróforo, un filtro de longitud de onda para aislar fotones de emisión de fotones de excitación y un detector que registra fotones de emisión y produce una salida registrable, en algunas realizaciones como una señal eléctrica o una imagen fotográfica. Como ejemplos de dispositivos de detección se incluyen, sin limitación, espectrofluorómetros y lectores de micropelícula, microscopios de fluorescencia, escáneres de fluorescencia (incluyendo, por ejemplo, lectores de micromatriz) y citómetros de flujo.

En diversas realizaciones ejemplares, la unión de biomarcador al ligando de unión es específica o selectiva y el ligando de unión es parte de un par de unión. En el presente documento, por “se une específicamente” o “se une selectivamente” o “selectivo por” un biomarcador se refiere a que el ligando se une al biomarcador con una especificidad suficiente para diferenciar entre el biomarcador y otros componentes o contaminantes de la muestra de ensayo.

La expresión “soporte sólido” o “sustrato” se refiere a cualquier material que puede modificarse para contener sitios individuales distintos apropiados para la unión o asociación de un ligando de unión de captura. Como sustratos adecuados se incluyen superficies metálicas tales como oro, electrodos, vidrio y vidrio modificado o funcionalizado, plásticos (incluyendo acrílicos, poliestireno y copolímeros de estireno y otros materiales, polipropileno, polietileno, polibutileno, policarbonato, poliuretanos, teflón, derivados de los mismos, etc.), polisacáridos, nylon o nitrocelulosa, resinas, mica, sílice o materiales basados en sílice incluyendo silicio y silicio modificado, carbono, metales, vidrios inorgánicos, fibra de vidrio, cerámica, GETEK (una combinación de óxido de polipropileno y fibra de vidrio) y diversos otros polímeros. De particular uso en la presente invención son los materiales ClonDiag descritos más adelante.

Frecuentemente, la superficie de un biochip comprende una pluralidad de emplazamientos localizables, comprendiendo cada uno de ellos un ligando de unión de captura. Un “emplazamiento de matriz,” “emplazamiento localizable,” “almohadilla” o “sitio” en el presente documento significa una localización sobre el sustrato que comprende un ligando de unión de captura unido covalentemente. Una “matriz” en el presente documento significa una pluralidad de ligandos de unión captura en un formato regular, ordenado, tal como una configuración. El tamaño de la matriz dependerá de la composición y del uso final de la matriz. Pueden fabricarse matrices que contengan aproximadamente dos o más ligandos de unión de captura diferentes hasta muchos miles. Generalmente, la matriz comprenderá 3, 4, 5, 6, 7 o más tipos de ligandos de unión de captura dependiendo del uso final de la matriz. En la presente invención, la matriz puede incluir controles, copias de los marcadores y similares. Son intervalos ejemplares de aproximadamente 3 a aproximadamente 50. En algunas realizaciones, las composiciones de la invención pueden no ser estar en un formato de matriz; es decir, para algunas realizaciones, también pueden realizarse composiciones que comprendan un solo ligando de captura. Además, en algunas matrices, pueden usarse sustratos múltiples de diferentes o idénticas composiciones. Por tanto, por ejemplo, matrices grandes pueden comprender una pluralidad de sustratos más pequeños.

Por consiguiente, en un aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un soporte sólido que comprende un ligando de unión de captura para cada biomarcador de un panel biomarcador. En diversas realizaciones, el ligando de unión de captura es un anticuerpo. En diversas realizaciones, la composición comprende adicionalmente un ligando de unión soluble para cada biomarcador de un panel biomarcador.

Como se sabe en la técnica pueden usarse diferentes plataformas biochip de tipo matriz. Por ejemplo, las composiciones y métodos de la presente invención pueden implementarse con plataformas de tipo matriz tales como GeneChip (Affymetrix), CodeLink Bioarray (Amersham), Expression Array System (Applied Biosystems), micromatrices SurePrint (Agilent), Sentrix LD BeadChip o Sentrix Array Matrix (Illumina) y Verigene (Nanosphere).

En diversas realizaciones ejemplares, la detección y medición de biomarcadores utiliza métodos y sistemas colorimétricos para proporcionar una señal de unión de un analito diana o especie diana. En los métodos colorimétricos, la presencia de una especie diana unida, tal como un biomarcador, dará como resultado un cambio en la absorbancia o transmisión de luz por una muestra o sustrato en una o más longitudes de onda. La detección de la absorbancia o transmisión de luz a dichas longitudes de onda proporciona así una señal de la presencia de la especie diana.

Un sistema de detección para métodos colorimétricos incluye cualquier dispositivo que pueda usarse para medir las propiedades colorimétricas como se ha indicado anteriormente. Generalmente, el dispositivo es un espectrofotómetro, un colorímetro o cualquier dispositivo que mida la absorbancia o transmisión de luz a una o más longitudes de onda. En diversas realizaciones, el sistema de detección comprende una fuente de luz; un filtro de longitud de onda o un monocromador; un envase para muestra tal como una cubeta o un vial de reacción; un detector, tal como un fotoresistor, que registra luz transmitida; y un elemento visualizador o de formación de imágenes.

En diversas realizaciones ejemplares, se usa una plataforma ClonDiag chip para la detección colorimétrica de biomarcadores. En diversas realizaciones, se usa un ClonDiag ArrayTube (AT). Una característica exclusiva del ArrayTube es la combinación de una matriz de microsonda (el biochip) y un vial de micro reacción. En diversas realizaciones, cuando una secuencia diana es un ácido nucleico, la detección de la secuencia diana se realiza amplificando y marcando con biotina la secuencia diana contenida en una muestra y opcionalmente digiriendo los productos de amplificación. Después, se deja que el producto de amplificación se hibride con sondas contenidas en el ClonDiag chip. Una solución de un conjugado estreptavidina-enzima, tal como la solución de conjugado Poli peroxidasa de rábano picante (HRP), se pone en contacto con el ClonDiag chip. Después de lavar, una solución colorante tal como la solución sustrato de o-dianisidina se pone en contacto con el chip. La oxidación del colorante da como resultado la precipitación que puede detectarse colorimétricamente. Una descripción adicional de la

- plataforma ClonDiag se encuentra en Monecke S, Slickers P, Hotzel H et al., *Clin Microbiol Infect* 2006, 12: 718-728; Monecke S, Berger-Bächli B, Coombs C et al., *Clin Microbiol Infect* 2007, 13: 236-249; Monecke S, Leube I y Ehricht R, *Genome Lett* 2003, 2: 106-118; Monecke S y Ehricht R, *Clin Microbiol Infect* 2005, 11: 825-833; Ptente Alemana DE 10201463; Publicación de Estados Unidos US/2005/0064469 y ClonDiag, ArrayTube (AT) Experiment Guideline for DNA-Based Applications, versión 1.2, 2007. Un experto en la técnica apreciará que pueden utilizarse numerosos colorantes distintos que reaccionen con una peroxidasa para producir un cambio colorimétrico, tal como 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Para información sobre protocolos de ensayo específicos, véase www.clondiag.com/technologies/publications.php.
- 5
- 10 En diversas realizaciones, cuando una especie diana es una proteína, el biochip ArrayTube comprende ligandos de unión de captura tales como anticuerpos. Una muestra se pone en contacto con el biochip, y cualquier especie diana presente en la muestra se permite unir con los anticuerpos ligando de unión de captura. Un ligando de unión de captura soluble o un compuesto de detección, tal como un anticuerpo conjugado con peroxidasa de rábano picante, se permite unir a la especie diana. Después se añade un colorante, tal como TMB, y se permite que reaccione con la peroxidasa de rábano picante, ocasionando la precipitación y el cambio de color que se detecta mediante un dispositivo de detección adecuado. Descripción adicional de detección de proteínas usando ArrayTube se encuentra, por ejemplo, en Huelseweh B, Ehricht R y Marschall H-J, *Proteomics*, 2006, 6, 2972-2981; y ClonDiag, ArrayTube (AT) Experiment Guideline for Protein Based Applications, versión 1.2, 2007.
- 15
- 20 La detección de transmisión y análisis se realiza con un instrumento lector ClonDiag AT. Como instrumentos lectores y dispositivos de detección adecuados se incluyen la estación de trabajo ArrayTube ATS y la ATR 03.
- Además de ArrayTube, puede usarse ClonDiag ArrayStrip (AS). El ArrayStrip proporciona un formato de 96 pocillos para ensayos a gran volumen. Cada ArrayStrip consiste en una tira convencional de 8 pocillos con una micromatriz integrada en la parte superior de cada pocillo. Pueden insertarse hasta 12 ArrayStrips en una microplaca lo que permite el ensayo multiparamétrico paralelo de hasta 96 muestras. El ArrayStrip puede procesarse usando el procesador ArrayStrip ASP, que realiza todas las etapas de manipulación de líquidos, incubación y detección necesarias en análisis basados en matriz. En diversas realizaciones, cuando se detecta una proteína, un método de uso de la ArrayStrip para detectar la proteína comprende acondicionar la matriz AS con tampón o solución de bloqueo; cargar hasta 96 soluciones de muestra en los pocillos AS para permitir la unión de la proteína; lavar 3 veces; conjugar con un anticuerpo secundario unido a HRP; lavar 3 veces; teñir con TMB la precipitación; y formación de imágenes de matriz AS y opcionalmente almacenar los datos.
- 25
- 30 Los expertos en la técnica conocerán numerosos formatos de inmunoensayo adicionales y variaciones de los mismos que pueden ser útiles para realizar el método descrito en el presente documento. Véase generalmente E. Maggio, *Enzyme-immunoassay* (CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla, 1980); véanse también las Patentes de Estados Unidos 4.727.022; 4.659.678; 4.376.110; 4.275.149; 4.233.402; y 4.230.767.
- 35
- 40 En general, los inmunoensayos realizados de acuerdo con la presente invención pueden ser ensayos homogéneos o ensayos heterogéneos. En un ensayo homogéneo la reacción inmunológica normalmente implica el anticuerpo específico (por ejemplo, anticuerpo anti-proteína biomarcadora), un analito marcado y la muestra de interés. La señal producida por el marcador se modifica, directa o indirectamente, después de la unión del anticuerpo al analito marcado. Tanto la reacción inmunológica como la detección del alcance de la misma pueden realizarse en una solución homogénea. Los marcadores inmunológicos que pueden emplearse incluyen radicales libres, radioisótopos, pigmentos fluorescentes, enzimas, bacteriófagos o coenzimas.
- 45
- En una estrategia de ensayo heterogéneo, los reactivos son normalmente la muestra, el anticuerpo y medios para producir una señal detectable. Pueden usarse muestras como las descritas anteriormente. El anticuerpo puede inmovilizarse sobre un soporte, tal como una perla (tal como perlas de agarosa de proteína A y proteína B), placa o portaobjetos y ponerse en contacto con la muestra de ensayo que se supone que contiene el antígeno en una fase líquida. Después, el soporte se separa de la fase líquida y la fase soporte o la fase líquida se examina con respecto a una señal detectable que emplea medios para producir dicha señal. La señal está relacionada con la presencia del analito en la muestra. Como medios para producir una señal detectable se incluye el uso de marcadores radiactivos, marcadores fluorescentes o marcadores enzimáticos. Por ejemplo, si el antígeno a detectar contiene un segundo sitio de unión, un anticuerpo que se une a ese sitio puede conjugarse con un grupo detectable y añadirse a la solución de reacción de fase líquida antes de la etapa de separación. La presencia del grupo detectable sobre el soporte sólido indica la presencia del antígeno en la muestra de ensayo. Como ejemplos de inmunoensayos adecuados se incluyen métodos de inmunotransferencia, inmunofluorescencia, inmunoprecipitación, métodos de quimioluminiscencia, electroquimioluminiscencia (ECL) o inmunoensayos relacionados con enzimas.
- 50
- 55 Los anticuerpos pueden conjugarse con un soporte sólido adecuado para un ensayo de diagnóstico (por ejemplo, perlas tales como agarosa de proteína A o proteína G, microesferas, placas, portaobjetos o pocillos formados a partir de materiales tales como látex o poliestireno) de acuerdo con técnicas conocidas, tal como unión pasiva. Los anticuerpos, como se describe en el presente documento, pueden conjugarse del mismo modo con marcadores o grupos detectables tales como radiomarcadores (por ejemplo, ³⁵S, ¹²⁵I, ¹³¹I), marcadores enzimáticos (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina) y marcadores fluorescentes (por ejemplo, fluoresceína, Alexa, proteína verde fluorescente, rodamina) de acuerdo con técnicas conocidas.
- 60
- 65

Como se usa en el presente documento, el término “anticuerpo” significa una proteína que comprende uno o más polipéptidos sustancialmente codificada por todos o parte de los genes de inmunoglobulina reconocidos. Los genes de inmunoglobulina reconocidos, por ejemplo, en seres humanos incluyen los loci genéticos de cadena pesada y kappa (κ), lambda (λ), que juntos constituyen la miríada de genes de la región variable y los genes de la región constante mu (μ), delta (δ), gamma (γ), épsilon (ϵ) y alfa (α) que codifican, respectivamente, los isotipos de IgM, IgD, IgG, IgE e IgA. En el presente documento, anticuerpo significa que incluye anticuerpos de longitud completa y fragmentos de anticuerpos y pueden referirse a un anticuerpo natural de cualquier organismo, a un anticuerpo modificado genéticamente o a un anticuerpo generado de manera recombinante con fines experimentales, terapéuticos u otros, como se define adicionalmente más adelante. Los fragmentos de anticuerpos incluyen Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv u otras subsecuencias de anticuerpos de unión a antígeno y pueden incluir las producidas por la modificación de anticuerpos completos o las sintetizadas de nuevo usando tecnología de ADN recombinante. El término “anticuerpo” se refiere a anticuerpos monoclonales y policlonales. Los anticuerpos pueden ser antagonistas, agonistas, neutralizantes, inhibidores o estimuladores.

Usando cualquiera de los métodos y composiciones descritos en el presente documento, puede ensayarse una muestra para determinar los niveles de un panel biomarcador. Por tanto, en un aspecto, la invención proporciona un método de ensayo de una muestra de un paciente para determinar concentraciones de un panel biomarcador en la muestra. En algunas realizaciones, el método comprende poner en contacto la muestra con una composición que comprende un soporte sólido que comprende un ligando de unión de captura o una sonda de captura para cada biomarcador de un panel biomarcador.

También se divulgan kits para uso en la determinación de la insulinoresistencia y disfunción de células β pancreáticas para diversas aplicaciones médicas (incluyendo de diagnóstico y terapéuticas) industriales, forenses y en investigación. Los kits pueden comprender un soporte, tal como una caja, cartón, tubo o similar, que en su interior, en un espacio reducido, tiene uno o más envases, tales como viales, tubos, ampollas, frascos, bolsitas, sobres y similares. En diversas realizaciones, los kits comprenden uno o más componentes seleccionados de uno o más medios o ingredientes y reactivos de medios para la medición de los diversos biomarcadores y paneles biomarcadores divulgados en el presente documento. Por ejemplo, los kits de la invención también pueden comprender, en el mismo o diferente envase, una o dos ADN polimerasas, uno o dos cebadores, uno o más tampones adecuados, uno o más nucleótidos (tales como desoxinucleósido trifosfatos (dNTP) y preferentemente dNTP marcados con fluorescencia) y componentes marcadores. Uno o más componentes pueden estar incluidos dentro del mismo envase o pueden estar en envases separados para mezclarse antes de su uso. Los kits de la presente invención también pueden comprender una o más instrucciones o protocolos para realizar los métodos de la presente invención. Los kits también pueden comprender un ordenador o un componente de un ordenador, tal como un medio o dispositivo de almacenamiento legible por ordenador. Como ejemplos de medios de almacenamiento se incluyen, sin limitación, discos ópticos tales como CD, DVD y discos Blu-ray (BD); discos magneto ópticos, medios magnéticos tales como cintas magnéticas y discos duros internos y discos extraíbles; dispositivos de memoria semiconductores tales como EPROM, EEPROM y memoria flash; y RAM. El medio de almacenaje legible por ordenador puede comprender un soporte lógico que codifique referencias para las diversas terapias y regímenes de tratamiento divulgados en el presente documento. El soporte lógico puede interpretarse por un ordenador para proporcionar al médico los tratamientos de acuerdo con las diversas concentraciones de biomarcadores medidas como se proporciona en el presente documento. En diversas realizaciones, el kit comprende un ensayo biomarcador que implica un ensayo rápido en el lugar de atención médica basado en flujo lateral con la detección de umbrales de riesgo, o un biochip con ensayos cuantitativos para los biomarcadores constituyentes.

También se divulgan métodos de diagnóstico y tratamiento

Las composiciones y métodos de la presente invención pueden usarse en el pronóstico, diagnóstico y tratamiento de enfermedades en un sujeto. La invención proporciona composiciones y métodos de laboratorio y ensayos en el lugar de atención médica para medir biomarcadores en una muestra de un sujeto. La invención puede aplicarse generalmente a diversas enfermedades. En realizaciones ejemplares, la enfermedad es cardiometabólica. En realizaciones ejemplares, la enfermedad es insulinoresistencia. En realizaciones ejemplares, la enfermedad es disfunción de células β . En realizaciones ejemplares, la enfermedad es una enfermedad cardiovascular.

Los biomarcadores y paneles biomarcadores divulgados en el presente documento pueden usarse en métodos para diagnosticar, identificar o explorar sujetos que tienen, no tienen o están en riesgo de tener la enfermedad; para realizar el seguimiento de sujetos que están sometidos a terapias por enfermedad; para determinar o sugerir una nueva terapia o un cambio de terapia; para diagnosticar diferencialmente patologías asociadas con la enfermedad de otras enfermedades o en subclasificaciones de enfermedad; para evaluar la gravedad o los cambios en cuanto a la gravedad de la enfermedad en un paciente; para estadificar la enfermedad de un sujeto y para seleccionar o modificar terapias o intervenciones para su uso en el tratamiento de sujetos con la enfermedad. En una realización ejemplar, los métodos de la presente invención se usan para identificar y/o diagnosticar sujetos que son asintomáticos o presintomáticos para una enfermedad. En este contexto, “asintomático” o “presintomático” significa que no presenta los síntomas tradicionales o suficientemente anómalos de la enfermedad. En realizaciones ejemplares, el sujeto es normoglucémico.

También se divulga un método de determinación del pronóstico de una enfermedad en un sujeto, diagnosticando una enfermedad en un sujeto o tratando una enfermedad en un sujeto que comprende tomar una medición de un panel biomarcador en una muestra del sujeto, consistiendo, opcionalmente, el panel biomarcador en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta.

5 El término “patología” incluye cualquier manifestación diferenciable de la enfermedad, incluyendo la no enfermedad. Por ejemplo, patología incluye, sin limitación, la presencia o ausencia de enfermedad, el riesgo de desarrollar enfermedad, el estado de la enfermedad, la progresión de la enfermedad (por ejemplo, progreso de enfermedad o remisión de enfermedad a lo largo del tiempo), la gravedad de la enfermedad y la eficacia o respuesta al tratamiento de la enfermedad.

15 Un “sujeto” en el contexto de la presente invención es un animal, preferentemente un mamífero. El mamífero puede ser un ser humano, un primate no humano, un ratón, una rata, un perro, un gato, un caballo o una vaca, pero no se limita a estos ejemplos. En diversas realizaciones ejemplares, un sujeto es un ser humano y puede denominarse paciente. Los mamíferos que no son seres humanos pueden usarse ventajosamente como sujetos que representan modelos animales de una enfermedad o para aplicaciones veterinarias. Un sujeto puede ser uno al que previamente se le ha diagnosticado una enfermedad o se ha identificado que padece una enfermedad, y opcionalmente ya se ha sometido, o se está sometiendo, a intervención terapéutica para una enfermedad. Como alternativa, un sujeto también puede ser uno al que previamente no se le ha diagnosticado que padece una enfermedad. Por ejemplo, un

20 sujeto puede ser uno que presente uno o más factores de riesgo de una enfermedad, o uno que no presente ningún factor de riesgo de enfermedad o uno que sea asintomático para una enfermedad. Un sujeto también puede ser uno que padece un riesgo de desarrollar una enfermedad. En determinadas realizaciones, el sujeto puede estar ya sometido a terapia o puede ser un candidato para una terapia.

25 Como apreciarán los expertos en la técnica, los biomarcadores pueden medirse usando diversas técnicas diseñadas para conseguir variabilidad de referencia y analítica más previsible. Sobre la variabilidad de referencia, muchos de los biomarcadores anteriores se miden normalmente en ayunas, normalmente por la mañana, proporcionando un nivel reducido de variabilidad de referencia debido tanto al consumo y metabolismo de alimento como a la variación diurna. Todos los procedimientos de muestreo basados en el ayuno y a lo largo del tiempo que usan los biomarcadores descritos en el presente documento pueden ser útiles para realizar la invención. Para reducir este efecto, también se pretende ajustar el pre-procesamiento de los resultados del biomarcador.

35 El término “muestra” se refiere a una muestra de ensayo o cultivo obtenido de un sujeto e incluye líquidos, gases y sólidos, incluyendo, por ejemplo, tejido. En diversas realizaciones ejemplares, la muestra comprende sangre. Como líquidos obtenidos de un sujeto se incluyen, por ejemplo, sangre completa o un derivado de sangre (por ejemplo, suero, plasma, células sanguíneas), líquido de quiste ovárico, líquido ascítico, linfático, cerebroespinal o intersticial, saliva, moco, esputo, sudor, orina o cualquier otra secreción, excreción u otros líquidos corporales. Como apreciarán los expertos en la técnica, en la muestra puede realizarse prácticamente cualquier manipulación experimental o etapas de preparación de muestras. Por ejemplo, a una muestra pueden aplicarse etapas de lavado y/o de fragmentación. En diversas realizaciones, un panel biomarcador se mide directamente en un sujeto sin necesidad de obtener una muestra distinta del paciente.

45 También se divulga un método de diagnóstico de enfermedad de un sujeto que comprende tomar una medición de un panel biomarcador; y correlacionar la medición con la enfermedad. El término “correlacionar” se refiere generalmente a determinar una relación entre un tipo de datos con otro o con un estado. En diversas realizaciones, correlacionar la medición con una enfermedad comprende comparar la medición con un perfil biomarcador de referencia o con algún otro valor de referencia. En diversas realizaciones, correlacionar la medición con una enfermedad comprende determinar si el sujeto se encuentra actualmente en un estado de enfermedad.

50 La cantidad o actividad de mediciones de un panel biomarcador puede compararse con un valor de referencia. Después, se identifican diferencias en las mediciones de biomarcadores en la muestra del sujeto comparadas con el valor de referencia. En realizaciones ejemplares, el valor de referencia viene dado por una categoría de riesgo como también se describe más adelante.

55 En diversas realizaciones, el valor de referencia es un valor inicial. Un valor inicial es una muestra compuesta de una cantidad eficaz de biomarcadores de uno o más sujetos que no padecen ninguna enfermedad, que son asintomáticos para una enfermedad o que tienen un determinado nivel de una enfermedad. Un valor inicial también puede comprender las cantidades de biomarcadores en una muestra procedente de un sujeto que ha mostrado una mejoría en cuanto a los factores de riesgo de una enfermedad como resultado de tratamientos o terapias. En estas realizaciones, para establecer comparaciones con la muestra procedente del sujeto, las cantidades de biomarcadores se calculan de manera similar. Un valor de referencia también puede comprender las cantidades de biomarcadores procedentes de sujetos que tienen una enfermedad confirmada por una técnica invasiva o no invasiva, o que tienen un alto riesgo de desarrollar una enfermedad. Opcionalmente, los sujetos identificados como que tienen una enfermedad, o que tienen un alto riesgo de desarrollar una enfermedad, se seleccionan para recibir un régimen terapéutico para reducir la progresión de una enfermedad o disminuir o prevenir el riesgo de desarrollar una enfermedad. Se considera que una enfermedad es progresiva (o, como alternativa, el tratamiento no impide la

progresión) si la cantidad de biomarcador varía a lo largo del tiempo con respecto al valor de referencia, mientras que una enfermedad no es progresiva si la cantidad de biomarcadores se mantiene constante a lo largo del tiempo (con respecto a la población de referencia, o “constante” como se usa en el presente documento). El término “constante”, como se usa en el contexto de la presente invención, se entiende que incluye variaciones a lo largo del tiempo con respecto al valor de referencia.

Los biomarcadores de la presente invención pueden usarse para generar un “perfil biomarcador de referencia” de aquellos sujetos que no tienen ninguna enfermedad de acuerdo con un determinado umbral, que no están en riesgo de tener ninguna enfermedad o sujetos de los que no se espera que pueda desarrollarse ninguna enfermedad. Los biomarcadores divulgados en el presente documento también pueden usarse para generar un “perfil biomarcador de sujeto” tomado de sujetos que tienen una enfermedad o están en riesgo de tener una enfermedad. Los perfiles biomarcadores de sujetos pueden compararse con un perfil biomarcador de referencia para diagnosticar o identificar sujetos en riesgo de desarrollar una enfermedad, para controlar la progresión de la enfermedad, así como la velocidad de progresión de la enfermedad y controlar la eficacia de las modalidades de tratamiento de la enfermedad. Los perfiles biomarcadores de referencia y del sujeto de la presente invención pueden estar incluidos en un medio legible por un aparato, tal como, pero sin limitación, cintas analógicas como las legibles por un VCR; medios ópticos tales como CD-ROM, DVD-ROM y similares; y una memoria en estado sólido, entre otros.

Las mediciones de los paneles biomarcadores de la invención pueden conducir a un médico a efectuar una terapia con respecto a un sujeto. También se divulgan métodos de tratamiento de una enfermedad en un sujeto que comprenden tomar una medición de un panel biomarcador en una muestra del sujeto, y efectuar una terapia con respecto al sujeto. Los términos “terapia” y “tratamiento” pueden usarse indistintamente. En determinadas realizaciones, la terapia puede seleccionarse, sin limitación, de terapia de inicio, terapia de continuación, terapia de modificación o terapia final. Una terapia también incluye cualquier medida profiláctica que pueda tomarse para prevenir una enfermedad.

Opcionalmente, tratamiento comprende administrar a un sujeto un fármaco modulador de enfermedad. El fármaco puede tener un uso terapéutico o profiláctico en sujetos a los que se ha diagnosticado o identificado una enfermedad o que están en riesgo de padecer la enfermedad. En determinadas realizaciones, terapia de modificación se refiere a modificar la duración, frecuencia o intensidad de la terapia, por ejemplo, modificar niveles de dosificación.

Opcionalmente, efectuar una terapia comprende hacer que un sujeto, o informar a un sujeto que, es necesario que cambie su estilo de vida, por ejemplo, aumentando el ejercicio, cambiando la dieta, reduciendo o eliminando el consumo de tabaco y etcétera. La terapia también puede incluir cirugía, por ejemplo, cirugía bariátrica.

Medir los niveles de los biomarcadores permite controlar el transcurso del tratamiento de una enfermedad. La eficacia de un régimen de tratamiento para una enfermedad puede controlarse detectando uno o más biomarcadores en una cantidad efectiva de muestras obtenidas de un sujeto a lo largo del tiempo y comparando la cantidad de biomarcadores detectados. Por ejemplo, puede obtenerse una primera muestra antes de que el sujeto reciba tratamiento y después o durante el tratamiento del sujeto se toman una o más muestras posteriores. Los cambios en cuanto a los niveles de los biomarcadores a través de las muestras pueden proporcionar una señal en cuanto a la eficacia de la terapia.

Para identificar agentes terapéuticos o fármacos que sean apropiados para un sujeto específico, también puede exponerse una muestra de ensayo del sujeto a un agente terapéutico o a un fármaco, y puede determinarse el nivel de uno o más biomarcadores. Los niveles de los biomarcadores pueden compararse con una muestra procedente del sujeto antes y después del tratamiento o exposición a un agente terapéutico o a un fármaco, o pueden compararse con muestras procedentes de uno o más sujetos que han demostrado mejoras con respecto a una enfermedad como resultado de dicho tratamiento o exposición. También se divulga un método de evaluación de la eficacia de una terapia con respecto al sujeto que comprende tomar una primera medición de un panel biomarcador en una primera muestra del sujeto; efectuar la terapia con respecto al sujeto; tomar una segunda medición del panel biomarcador en una segunda muestra del sujeto y comparar la primera y segunda medición para evaluar la eficacia de la terapia.

Adicionalmente, pueden identificarse agentes terapéuticos o profilácticos, adecuados para la administración a un sujeto particular, detectando un biomarcador (que pueden ser dos o más) en una cantidad eficaz de una muestra obtenida de un sujeto y exponer la muestra procedente del sujeto a un compuesto de ensayo que determine la cantidad de biomarcador (o biomarcadores) en la muestra procedente del sujeto. Por consiguiente, pueden seleccionarse tratamientos o regímenes terapéuticos para su uso en sujetos que tiene una enfermedad o en sujetos que están en riesgo de desarrollar una enfermedad basándose en las cantidades de biomarcadores en las muestra obtenidas de los sujetos y compararse con un valor de referencia. Pueden evaluarse dos o más tratamientos o regímenes terapéuticos en paralelo para determinar que tratamiento o régimen terapéutico sería el más eficaz para su uso en un sujeto para retrasar la aparición, o detener la progresión de una enfermedad. En diversas realizaciones, se realiza una recomendación sobre si iniciar o continuar el tratamiento de una enfermedad.

También se divulgan tratamientos farmacológicos

Opcionalmente, efectuar una terapia comprende administrar al sujeto un fármaco modulador de la enfermedad. El sujeto puede tratarse con uno o más fármacos moduladores de la enfermedad hasta que los niveles modificados de los biomarcadores medidos regresen a un valor inicial medido en una población que no padece la enfermedad, padeciendo una fase o forma de una enfermedad menos grave o mostrando mejoras en los biomarcadores de la enfermedad como resultado del tratamiento con un fármaco modulador de la enfermedad. Adicionalmente, las mejoras relacionadas con un nivel de un biomarcador o parámetro clínico modificado puede ser el resultado del tratamiento con un fármaco modulador de la enfermedad y puede incluir, por ejemplo, una reducción del índice de masa corporal (IMC), una reducción de los niveles de colesterol total, una reducción de los niveles de LDL, un aumento de los niveles de HDL, una reducción de la tensión arterial sistólica y/o diastólica, o combinaciones de los mismos.

Pueden usarse diversos compuestos, tales como un fármaco modulador de la enfermedad, para tratar un sujeto y para controlar el progreso. En determinadas realizaciones, el fármaco modulador de la enfermedad comprende un fármaco antiobesidad, un β bloqueante, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), un diurético, un bloqueante de los canales de calcio, un bloqueante del receptor de angiotensina II, un agente antiplaquetario, un agente anticoagulante, una sulfonilurea (SU), una biguanida, una insulina, una glitazona (tiazolidinodiona (TZD)), un nitrato, un agente antiinflamatorio no esteroideo, una estatina, cilostazol, pentoxifilina, buflomedil o naftidrofurilo. Además, puede administrarse cualquiera y todas las combinaciones de estos fármacos.

Los efectos beneficiosos de estos y otros fármacos pueden observarse evaluando biomarcadores clínicos y de laboratorio. Por ejemplo, resultados de metanálisis PROactive (Pfützner et al., Expert Review of Cardiovascular Therapy, 2006, 4: 445-459) y recientes han mostrado que estos cambios sustitutivos pueden traducirse en una relación eficaz de riesgo macrovascular en pacientes con diabetes mellitus de tipo 2.

Opcionalmente, una glitazona (también denominada, tiazolidinediona (TZD)) se administra a un sujeto para tratar una enfermedad. Las glitazonas forman una clase de fármacos que se han usado para tratar a sujetos con diabetes mellitus (tipo 2) y enfermedades relacionadas. Las glitazonas actúan uniéndose a los PPAR (receptores activados por proliferadores de peroxisomas), un grupo de moléculas receptoras dentro del núcleo celular, específicamente PPAR γ (gamma). Los ligandos normales para estos receptores son ácidos grasos libres (AGL) y eicosanoides. Cuando se activan, el receptor migra al ADN, activando la transcripción de diversos genes específicos.

Como ejemplos de glitazonas que pueden ser útiles se incluyen, pero sin limitación, rosiglitazona (AvandiaTM), pioglitazona (ActosTM) y troglitazona (RezulinTM). Se ha demostrado que, las glitazonas y otros fármacos administrados para tratar a un sujeto, influyen en los niveles de diversos biomarcadores. Opcionalmente, se administra pioglitazona a un sujeto.

Adicionalmente, una glitazona, tal como pioglitazona, también puede administrarse con otros fármacos. Opcionalmente, la pioglitazona se administra con una estatina, incluyendo, pero sin limitación, simvastatina. Opcionalmente, la pioglitazona puede administrarse con otra glitazona, tal como rosiglitazona. Opcionalmente, la pioglitazona puede administrarse con un fármaco oral antidiabético, incluyendo, pero sin limitación, una sulfonilurea (tal como glimepirida) o una biguanida (tal como metformina).

Opcionalmente, para tratar una enfermedad, a un sujeto se le administra un análogo del péptido 1 similar a glucagón (GLP-1). Como ejemplos de análogos de GLP-1 se incluyen, pero sin limitación, exenatida y liraglutida.

Opcionalmente, para tratar una enfermedad, a un sujeto se le administra un inhibidor de dipeptidil peptidasa IV (DPPIV). Como ejemplos de inhibidores de DPPIV se incluyen, pero sin limitación, sitagliptina, vildagliptina y saxagliptina.

Opcionalmente, para tratar una enfermedad, a un sujeto se le administra metformina.

Opcionalmente, para tratar una enfermedad, a un sujeto se le administra una glinida. Como ejemplos de glinidas se incluyen, pero sin limitación, repaglinida y nateglinida.

Opcionalmente, para tratar una enfermedad, a un sujeto se le administra una sulfonilurea. Como ejemplos de sulfonilureas se incluyen, pero sin limitación, gliclazida y glimepirida.

Opcionalmente, para tratar una enfermedad, a un sujeto se le administra un inhibidor de α -glucosidasa. Un ejemplo de un inhibidor de α -glucosidasa es la acarbosa.

Opcionalmente, para tratar una enfermedad, a un sujeto se le administra una insulina. El término "insulina" se refiere de por sí a cualquier forma de insulina de origen natural así como a cualquiera de sus derivados y análogos. Diferentes tipos de insulina pueden variar en cuanto a la aparición, frecuencia máxima y duración de sus efectos. Como ejemplos de insulina que pueden ser útiles se incluyen, pero sin limitación, insulina humana regular, insulina

humana regular de acción intermedia (por ejemplo, insulina humana NPH), insulina Zn retardada, análogo de insulina de acción rápida y análogo de insulina de acción prolongada. Como ejemplos de insulina Zn retardada se incluyen, pero sin limitación, lenta y ultralenta. Como ejemplos de análogos de insulina de acción rápida se incluyen, pero sin limitación, lispro, aspart y glulisina. Como ejemplos de análogos de insulina de acción prolongada se incluyen, pero sin limitación, glargina y levemir.

Cualquier fármaco o combinación de fármacos divulgada en el presente documento puede administrarse a un sujeto para tratar una enfermedad. Los fármacos del presente documento pueden formularse de diversas maneras, a menudo de acuerdo con diversas formulaciones conocidas en la técnica o como se divulga o se menciona en el presente documento.

Opcionalmente, a un sujeto se le administra una glitazona y una insulina (donde en algunas realizaciones la insulina es un análogo de insulina). Opcionalmente, a un sujeto se le administra una glitazona y una insulina. Opcionalmente, a un sujeto se le administra una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina y un análogo de GLP-1. Opcionalmente, a un sujeto se le administra una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor DPPIV. Opcionalmente, a un sujeto se le administra una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina y un análogo de GLP-1. Opcionalmente, a un sujeto se le administra una glitazona y un fármaco o combinaciones de fármacos seleccionados de metformina, una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor DPPIV. Opcionalmente, a un sujeto se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor DPPIV, un análogo de GLP-1 y una glitazona.

Opcionalmente, a un sujeto se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una glitazona y una insulina (donde en algunas realizaciones la insulina es un análogo de insulina). Opcionalmente, a un sujeto se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una glitazona y una insulina. Opcionalmente, a un sujeto se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una glitazona, una insulina y un análogo de GLP-1. Opcionalmente, a un sujeto se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una glitazona, una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor DPPIV. Opcionalmente, a un sujeto se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una glitazona, metformina, una insulina y un inhibidor DPPIV. Opcionalmente, a un sujeto se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una glitazona, metformina, una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor DPPIV.

Opcionalmente, cualquier fármaco o combinación de fármacos divulgados en el presente documento no se administra al sujeto para tratar una enfermedad. Opcionalmente, el médico puede abstenerse de administrar el fármaco o combinación de fármacos, puede recomendar que al sujeto no se le administre el fármaco o combinación de fármacos o puede impedir que al sujeto se le administre el fármaco o combinaciones de fármacos.

Opcionalmente, al sujeto no se le administra una glinida. Opcionalmente, al sujeto no se le administra sulfonilurea. Opcionalmente, al sujeto no se le administra ningún fármaco o combinación de fármacos seleccionados de glinida y sulfonilurea.

Opcionalmente, puede administrarse uno o más fármacos adicionales, opcionalmente además de los que están recomendados o se han administrado. Un fármaco adicional no será típicamente ningún fármaco que no esté recomendado o que deba evitarse. Opcionalmente, uno o más fármacos adicionales comprenden uno o más fármacos hipoglucemiantes.

Opcionalmente, uno o más fármacos adicionales comprenden uno o más fármacos hipoglucemiantes. Opcionalmente, uno o más fármacos adicionales comprenden uno o más fármacos hipoglucemiantes que comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una glitazona, un análogo de GLP-1, un inhibidor DPPIV, metformina, una glinida, una sulfonilurea, un inhibidor de α -glucosidasa y una insulina. Opcionalmente, la insulina se selecciona de una insulina humana regular, una insulina humana regular de acción intermedia, una insulina Zn retardada, un análogo de insulina de acción rápida y un análogo de insulina de acción prolongada. Opcionalmente, uno o más fármacos adicionales comprenden uno o más fármacos hipoglucemiantes excluyendo un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea, una glinida y una insulina humana regular.

Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de un análogo de GLP-1, un inhibidor de DPPIV, metformina y un inhibidor de α -glucosidasa. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de un inhibidor de DPPIV, metformina y un inhibidor de α -glucosidasa. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina y un inhibidor de α -glucosidasa. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de un inhibidor de DPPIV y un inhibidor de α -glucosidasa. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un inhibidor de α -glucosidasa. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un fármaco o combinación de

fármacos seleccionados de una insulina y un inhibidor de α -glucosidasa. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea, una glinida, una insulina y un inhibidor de α -glucosidasa.

- 5 Opcionalmente, uno o más fármacos se combinan con uno o más regímenes de tratamiento tales como dieta, ejercicio y etc.

10 El concepto de una terapia patofisiológica orientada de la diabetes tipo 2 con tratamiento eficaz de insulinoresistencia muestra efectos antiinflamatorios y antitrombóticos beneficiosos y claramente debe preferirse para cuantificar la “cosmética de la glucosa”. Los paneles marcadores que describen la insulinoresistencia, disfunción de células β , adipogénesis y aterosclerosis pueden ser más predictivos y significativos que la HbA1c.

Matrices de decisión

15 La terapia seleccionada por un médico puede depender de las concentraciones de biomarcadores determinadas en una muestra. En diversas realizaciones ejemplares, la terapia depende de en qué categoría se encuentra la concentración medida de cada biomarcador a partir de un intervalo de categorías particular. En diversas realizaciones ejemplares, la terapia depende de la combinación de niveles de riesgo para diferentes síntomas o enfermedades que está indicada por un panel biomarcador.

20 Con respecto a mediciones de concentración de un biomarcador, el término “categoría” se refiere a un subconjunto de una partición de las posibles concentraciones que un biomarcador pueda tener. Cada categoría puede asociarse con un marcador o clasificación que el médico selecciona. Los marcadores pueden referirse, por ejemplo, al nivel de riesgo de un individuo para tener, o ser objeto de, una patología. Las categorías y marcadores pueden derivar de la bibliografía actual o de acuerdo con los descubrimientos del médico. Por ejemplo, en la técnica se sabe que un individuo con una concentración en suero de adiponectina mayor de 10 mg/l tiene un riesgo bajo de arteriosclerosis e insulinoresistencia, mientras que un individuo con una concentración en suero de 7-10 mg/l tiene un riesgo medio de padecer estos trastornos. Por tanto, una concentración de adiponectina mayor de 10 mg/l puede identificarse como una concentración de “riesgo bajo” y la de 7-10 mg/l puede identificarse como una concentración de “riesgo medio” o “riesgo moderado”. La Tabla 2A muestra que las concentraciones de adiponectina pueden dividirse en tres categorías para los fines de los métodos descritos en el presente documento. El número de categorías y los límites que las dividen pueden variar. Por ejemplo, la Tabla 2B muestra una categorización alternativa para la adiponectina. El número de categorías y los límites que las dividen para cualquier biomarcador no está limitado a los específicamente divulgados en el presente documento y pueden encontrarse en la técnica.

35 Cada biomarcador de un panel biomarcador puede por tanto asociarse con un conjunto de categorías distinto, por ejemplo, categorías de riesgo. La combinación de una categoría de cada biomarcador forma un “punto de decisión”. En diversas realizaciones ejemplares, el conjunto completo de puntos de decisión comprende todas las n -tuples categorías posibles, donde n es el número de biomarcadores en el panel biomarcador. Este conjunto completo tendrá $m_1 \times m_2 \times \dots \times m_n$ puntos de decisión posibles, donde m_i es el número de categorías para el biomarcador i .

45 Cada punto de decisión puede asociarse con una afección o una patología, que no es necesariamente exclusiva. Es decir, uno o más puntos de decisión pueden asociarse con la misma patología. La asociación de cada punto de decisión posible con una afección o patología puede denominarse “matriz de clasificación de enfermedad” o “árbol de clasificación de enfermedad.” Por tanto, correlacionando una medición de un panel biomarcador con un punto de decisión, el médico puede clasificar la afección o patología de un paciente.

50 Cada punto de decisión también puede asociarse con una terapia particular, que no es necesariamente exclusiva. Es decir, uno o más puntos de decisión pueden asociarse con la misma terapia. La asociación de cada punto de decisión posible con una o más terapias puede denominarse “matriz de decisión de terapia” o “árbol de decisión de terapia”

55 Cada punto de decisión puede asociarse con más de un tipo de información. Por ejemplo, un punto de decisión puede significar tanto una patología como una terapia.

60 En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta. En diversas realizaciones ejemplares, posibles concentraciones de adiponectina en una muestra se dividen en 3 categorías de riesgo. En diversas realizaciones ejemplares, posibles concentraciones de péptido C en una muestra se dividen en 3 categorías de riesgo. En diversas realizaciones ejemplares, posibles concentraciones de insulina en una muestra se dividen en 3 categorías de riesgo. En diversas realizaciones ejemplares, posibles concentraciones de proinsulina intacta en una muestra se dividen en 2 categorías de riesgo. En diversas realizaciones ejemplares, la matriz de decisión de terapia consiste en 54 puntos de decisión, cada uno asociado con una terapia que puede ser o no exclusiva a través del conjunto de todas las terapias.

65

En diversas realizaciones ejemplares, las categorías de riesgo para la adiponectina se proporcionan en la Tabla 2A. En diversas realizaciones ejemplares, las categorías de riesgo para el péptido C se proporcionan en la Tabla 3. En diversas realizaciones ejemplares, las categorías de riesgo para la insulina se proporcionan en la Tabla 4. En diversas realizaciones ejemplares, las categorías de riesgo para la proinsulina intacta se proporcionan en la Tabla 5.

5 En diversas realizaciones ejemplares, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta en una muestra es respectivamente (a) alto, alto, alto y alto; (b) alto, bajo, alto y alto; (c) medio, alto, alto y alto, entonces se administra una glitazona y una insulina (donde en algunas realizaciones la insulina es un análogo de insulina). En diversas realizaciones ejemplares, no se administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto debe administrarse opcionalmente uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto opcionalmente se le administra uno o más fármacos hipoglucemiantes que comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de un análogo de GLP-1, un inhibidor de DPPIV, metformina y/o un inhibidor de α -glucosidasa.

15 En diversas realizaciones ejemplares, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta en una muestra se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y alto; (b) alto, alto, bajo y alto y (c) medio, alto, bajo y alto, entonces al sujeto se le administra una glitazona y una insulina. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto no se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos hipoglucemiantes que comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de un análogo de GLP-1, un inhibidor de DPPIV, metformina y un inhibidor de α -glucosidasa.

25 También se divulga que, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta en una muestra se selecciona respectivamente de (a) alto, medio, medio y alto; (b) alto, bajo, medio y alto, (c) medio, medio, medio y alto, (d), medio, bajo, medio y alto; (e) alto, medio, bajo y alto; y (f) medio, medio, bajo y alto, entonces al sujeto se le administra una glitazona y un fármaco o una combinación de fármacos, seleccionados de una insulina y un análogo de GLP-1. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto no se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos hipoglucemiantes que comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de un inhibidor de DPPIV, metformina y un inhibidor de α -glucosidasa.

35 En diversas realizaciones ejemplares, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta en una muestra se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, bajo y alto; y (b) medio, bajo, bajo y alto, entonces al sujeto se le administra una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor de DPPIV. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto no se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos hipoglucemiantes que comprenden metformina y un inhibidor de α -glucosidasa.

45 En diversas realizaciones ejemplares, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) bajo, alto, alto y alto, (b) bajo, bajo, alto y alto; (c) alto, alto, alto y bajo; (d) bajo, alto, bajo y alto, entonces al sujeto se le administra una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina y un análogo de GLP-1. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto no se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos hipoglucemiantes que comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de un inhibidor de DPPIV y un inhibidor de α -glucosidasa.

50 En diversas realizaciones ejemplares, donde si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta en una muestra se selecciona respectivamente de bajo, bajo, bajo y alto, entonces al sujeto se le administra una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor de DPPIV. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto no se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos hipoglucemiantes que comprenden un inhibidor de α -

glucosidasa.

En diversas realizaciones ejemplares, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta en una muestra se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, alto y bajo; (b) medio, alto, alto y bajo, (c) bajo, alto, alto y bajo y (d) alto, alto, bajo y bajo, entonces el sujeto se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor de DPP-IV, un análogo de GLP-1 y una glitazona. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto no se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos hipoglucemiantes que comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina y un inhibidor de α -glucosidasa.

En diversas realizaciones ejemplares, si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta en una muestra se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y bajo, (b) bajo, bajo, alto y bajo, (c) alto, bajo, bajo y bajo, (d) medio, alto, bajo y bajo, (e) medio, bajo, bajo y bajo, (f) bajo, alto, bajo y bajo y (g) bajo, bajo, bajo y bajo, entonces al sujeto se le administra un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor de DPPIV, un análogo de GLP-1 y una glitazona. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. En diversas realizaciones ejemplares, al sujeto se le administra opcionalmente uno o más fármacos hipoglucemiantes que comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea, una glinida, una insulina y un inhibidor de α -glucosidasa.

También se divulga que, la invención proporciona fármacos para el tratamiento del síndrome metabólico. En realizaciones ejemplares, estos fármacos se administran a un sujeto para el cual las concentraciones de cada biomarcador de un panel biomarcador en una muestra del sujeto corresponden a un punto de decisión proporcionado en el presente documento.

Opcionalmente, los fármacos comprenden una glitazona y una insulina (donde en algunas realizaciones la insulina es un análogo de insulina) para el tratamiento de una enfermedad en un sujeto para el que se miden las concentraciones de un panel biomarcador en una muestra del sujeto. En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta y el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, alto, alto y alto, (b) alto, bajo, alto y alto, (c), medio, alto, alto y alto. Opcionalmente, los fármacos no incluyen un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. Opcionalmente, los fármacos comprenden adicionalmente de manera opcional uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de un análogo de GLP-1, un inhibidor de DPPIV, metformina y un inhibidor de α -glucosidasa.

Opcionalmente, los fármacos comprenden una glitazona y una insulina para el tratamiento de una enfermedad en un sujeto para el que se miden las concentraciones de un panel biomarcador en una muestra del sujeto. En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta y el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y alto; (b) alto, alto, bajo y alto; y (c) medio, alto, bajo y alto. Opcionalmente, los fármacos no incluyen un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. Opcionalmente, los fármacos comprenden adicionalmente de manera opcional uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de un análogo de GLP-1, un inhibidor de DPPIV, metformina y un inhibidor de α -glucosidasa.

Opcionalmente, los fármacos comprenden una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina y un análogo de GLP-1 para el tratamiento de una enfermedad en un sujeto para el que se miden las concentraciones de un panel biomarcador en una muestra del sujeto. En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta y el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de, opcionalmente los fármacos no incluyen un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. Opcionalmente, los fármacos comprenden adicionalmente de manera opcional uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de un inhibidor de DPPIV, metformina y un inhibidor de α -glucosidasa.

Opcionalmente, los fármacos comprenden una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor de DPPIV para el tratamiento de una enfermedad en un sujeto para el que se miden las concentraciones de un panel biomarcador en una muestra del sujeto. En diversas realizaciones

ejemplares, el panel biomarcador consiste en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta y el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, bajo y alto; y (b) medio, bajo, bajo y alto. Opcionalmente, los fármacos no incluyen un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. Opcionalmente, los fármacos comprenden adicionalmente de manera opcional uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden metformina y un inhibidor de α -glucosidasa.

Opcionalmente, los fármacos comprenden una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina y un análogo de GLP-1 para el tratamiento de una enfermedad en un sujeto para el cual se miden las concentraciones de un panel biomarcador en una muestra del sujeto. En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta y el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) bajo, alto, alto y alto, (b) bajo, bajo, alto y alto; (c) alto, alto, alto y bajo, (d) bajo, alto, bajo y alto. Opcionalmente, los fármacos no incluyen un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. Opcionalmente, los fármacos comprenden adicionalmente de manera opcional uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de un inhibidor de DPPIV y un inhibidor de α -glucosidasa.

Opcionalmente, los fármacos comprenden una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor de DPPIV para el tratamiento de una enfermedad en un sujeto para el que se mide las concentraciones de un panel biomarcador en una muestra del sujeto. En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta y el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta es respectivamente bajo, bajo, bajo y alto. Opcionalmente, los fármacos no incluyen un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. Opcionalmente, los fármacos comprenden adicionalmente de manera opcional uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un inhibidor de α -glucosidasa.

Opcionalmente, los fármacos comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor de DPPIV, un análogo de GLP-1 y una glitazona para el tratamiento de una enfermedad en un sujeto para el que se miden las concentraciones de un panel biomarcador en una muestra del sujeto. En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta, y el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, alto y bajo, (b) medio, alto, alto y bajo, (c) bajo, alto, alto y bajo y (d) alto, alto, bajo y bajo. Opcionalmente, los fármacos no incluyen un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida. Opcionalmente, los fármacos comprenden adicionalmente de manera opcional uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina y un inhibidor de α -glucosidasa.

Opcionalmente, los fármacos comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor de DPPIV, un análogo de GLP-1, una glitazona para el tratamiento de una enfermedad en un sujeto para el que se miden las concentraciones de un panel biomarcador en una muestra del sujeto. En diversas realizaciones ejemplares, el panel biomarcador consiste en adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta y el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y bajo, (b) bajo, bajo, alto y bajo, (c) alto, bajo, bajo y bajo, (d) medio, alto, bajo y bajo, (e) medio, bajo, bajo y bajo, (f) bajo, alto, bajo y bajo y (g) bajo, bajo, bajo y bajo. Opcionalmente, los fármacos comprenden adicionalmente de manera opcional uno o más fármacos adicionales seleccionados de uno o más fármacos hipoglucemiantes. Opcionalmente, uno o más fármacos hipoglucemiantes comprenden un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea, una glinida, una insulina y un inhibidor de α -glucosidasa.

Los artículos "uno", "una", "un" y "el", "la" y "los" como se usa en el presente documento no excluyen un número plural del referente, salvo que el contexto indique claramente otra cosa. La conjunción "o" no es mutuamente exclusiva, salvo que el contexto indique claramente otra cosa. El término "incluye" se usa para referirse a ejemplos no limitantes.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende un soporte sólido que comprende:
 - 5 (a) un ligando de unión de captura selectivo para la adiponectina
 - (b) un ligando de unión de captura selectivo para el péptido C
 - (c) un ligando de unión de captura selectivo para la insulina, y
 - (d) un ligando de unión de captura selectivo para la proinsulina intacta.
- 10 2. La composición de la reivindicación 1, donde uno de los ligandos de unión de captura comprende un anticuerpo.
3. La composición de la reivindicación 1 o 2, donde la composición comprende adicionalmente:
 - 15 (a) un ligando de captura soluble selectivo para la adiponectina
 - (b) un ligando de captura soluble selectivo para el péptido C
 - (c) un ligando de captura soluble selectivo para la insulina, y
 - (d) un ligando de captura soluble selectivo para la proinsulina intacta.
- 20 4. La composición de la reivindicación 3, donde cada uno de los ligandos de captura soluble comprende un marcador detectable.
5. La composición de la reivindicación 4, donde un marcador detectable es un fluoróforo.
- 25 6. La composición de la reivindicación 4, donde un marcador detectable es una enzima conjugada.
7. La composición de la reivindicación 6, donde la enzima conjugada es peroxidasa de rábano picante.
8. La composición de cualquier reivindicación anterior que adicionalmente comprende un detector.
- 30 9. El uso de la composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para determinar una terapia para un sujeto que presenta una insulinoresistencia.
10. El uso de acuerdo con la reivindicación 9 que comprende poner en contacto la composición con una muestra del sujeto y medir las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta.
- 35 11. El uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, alto, alto y alto; (b) alto, bajo, alto y alto; (c) medio, alto, alto y alto, de acuerdo con las tablas 2A, 3, 4, 5, entonces la terapia comprende administrar una glitazona y un análogo de insulina.
- 40 12. El uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y alto; (b) alto, alto, bajo y alto; y (c) medio, alto, bajo y alto, de acuerdo con las tablas 2A, 3, 4, 5, entonces la terapia comprende administrar una glitazona y una insulina.
- 45 13. El uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, bajo y alto; y (b) medio, bajo, bajo y alto, de acuerdo con las tablas 2A, 3, 4, 5, entonces la terapia comprende administrar una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina, un análogo de
- 50 GLP-1 y un inhibidor de DPPIV.
14. El uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) bajo, alto, alto y alto; (b) bajo, bajo, alto y alto; (c) alto, alto, alto y bajo; y (d) bajo, alto, bajo y alto, de acuerdo con las
- 55 tablas 2A, 3, 4, 5, entonces la terapia comprende administrar una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina y un análogo de GLP-1.
15. El uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta es respectivamente bajo, bajo, bajo y alto
- 60 de acuerdo con las tablas 2A, 3, 4, 5, entonces la terapia comprende administrar una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor de DPPIV.
- 65 16. El uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, alto y bajo; (b) medio, alto, alto y bajo; (c) bajo, alto, alto y bajo; y (d) alto, alto, bajo y bajo, de acuerdo con las

tablas 2A, 3, 4, 5, entonces la terapia comprende administrar un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor de DPPIV, un análogo de GLP-1 y una glitazona.

5 17. El uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde si el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y bajo; (b) bajo, bajo, alto y bajo; (c) alto, bajo, bajo y bajo; (d), medio, alto, bajo y bajo, (e), medio, bajo, bajo y bajo, (f) bajo, alto, bajo y bajo, y (g) bajo, bajo, bajo y bajo, de acuerdo con las tablas 2A, 3, 4, 5, entonces la terapia comprende administrar un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor de DPPIV, un análogo de GLP-1 y una glitazona.

10 18. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9-16, donde la terapia comprende no administrar un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida.

15 19. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9- 18, donde la terapia comprende adicionalmente administrar uno o más fármacos hipoglucemiantes adicionales.

20 20. Un método para determinar si un sujeto pertenece a una población que se beneficiaría de una terapia, comprendiendo el método poner en contacto una muestra del sujeto con la composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-8; y medir en la muestra las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta.

25 21. El método de la reivindicación 20, donde la terapia comprende administrar una glitazona y un análogo de insulina y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, alto, alto y alto; (b) alto, bajo, alto y alto; (c) medio, alto, alto y alto de acuerdo con las tablas 2A, 3, 4, 5.

30 22. El método de la reivindicación 20, donde la terapia comprende administrar una glitazona y una insulina y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y alto; (b) alto, alto, bajo y alto; y (c) medio, alto, bajo y alto de acuerdo con las tablas 2A, 3, 4, 5.

35 23. El método de la reivindicación 20, donde la terapia comprende administrar una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor de DPPIV y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, bajo y alto; y (b), medio, bajo, bajo y alto de acuerdo con las tablas 2A, 3, 4, 5.

40 24. El método de la reivindicación 20, donde la terapia comprende administrar una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina y un análogo de GLP-1, y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) bajo, alto, alto y alto, (b) bajo, bajo, alto y alto, (c) alto, alto, alto y bajo y (d) bajo, alto, bajo y alto de acuerdo a las tablas 2A, 3, 4, 5.

45 25. El método de la reivindicación 20, donde la terapia comprende administrar una glitazona y un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, una insulina, un análogo de GLP-1 y un inhibidor de DPPIV y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta es respectivamente bajo, bajo, bajo y alto de acuerdo con las tablas 2A, 3, 4, 5.

50 26. El método de la reivindicación 20, donde la terapia comprende administrar un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor de DPPIV, un análogo de GLP-1 y una glitazona y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) alto, bajo, alto y bajo; (b) medio, alto, alto y bajo; (c) bajo, alto, alto y bajo, (d) alto, alto, bajo y bajo de acuerdo con las tablas 2A, 3, 4, 5.

55 27. El método de la reivindicación 20, donde la terapia comprende administrar un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de metformina, un inhibidor de DPPIV, un análogo de GLP-1 y una glitazona y donde el nivel de riesgo asociado con cada una de las concentraciones de adiponectina, péptido C, insulina y proinsulina intacta se selecciona respectivamente de (a) medio, bajo, alto y bajo; (b) bajo, bajo, alto y bajo; (c) alto, bajo, bajo y bajo, (d) medio, alto, bajo y bajo, (e) medio, bajo, bajo y bajo, (f) bajo, alto, bajo y bajo; y (g) bajo, bajo, bajo y bajo de acuerdo con las tablas 2A, 3, 4, 5.

60 28. El método de cualquiera de las reivindicaciones 20-26, donde la terapia no comprende administrar un fármaco o combinación de fármacos seleccionados de una sulfonilurea y una glinida.

65 29. El método de cualquiera de las reivindicaciones 20-28, donde la terapia comprende adicionalmente administrar uno o más fármacos hipoglucemiantes.

FIG 1A

Riesgo alto de proinsulina, Riesgo alto de adiponectina	Riesgo alto de insulina	Riesgo medio de insulina	Riesgo bajo de insulina
Riesgo alto del péptido C	sí: Glit&Ins(análogos preferidos) no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Ins(análogos preferidos) no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Ins no: SU, Glin posible: resto de fármacos
Riesgo medio del péptido C	sí: Glit&Ins(análogos preferidos) no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos
Riesgo bajo del péptido C	sí: Glit&Ins(análogos preferidos) no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Ins/GLP-1/DPPIV no: SU, Glin posible: resto de fármacos

Riesgo alto de proinsulina, Riesgo medio de adiponectina	Riesgo alto de insulina	Riesgo medio de insulina	Riesgo bajo de insulina
Riesgo alto del péptido C	sí: Glit&Ins(análogos preferidos) no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Ins(análogos preferidos) no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Ins no: SU, Glin posible: resto de fármacos
Riesgo medio del péptido C	sí: Glit&Ins(análogos preferidos) no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos
Riesgo bajo del péptido C	sí: Glit&Ins(análogos preferidos) no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Ins/GLP-1/DPPIV no: SU, Glin posible: resto de fármacos

Riesgo alto de proinsulina, Riesgo bajo de adiponectina	Riesgo alto de insulina	Riesgo medio de insulina	Riesgo bajo de insulina
Riesgo alto del péptido C	sí: Glit&Metf/Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Metf/Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Metf/Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos
Riesgo medio del péptido C	sí: Glit&Metf/Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Metf/Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Metf/Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos
Riesgo bajo del péptido C	sí: Glit&Metf/Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Metf/Ins/GLP-1/DPPIV no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Metf/Ins/GLP-1/DPPIV no: SU, Glin posible: resto de fármacos

Riesgo bajo de proinsulina, Riesgo alto de adiponectina	Riesgo alto de insulina	Riesgo medio de insulina	Riesgo bajo de insulina
Riesgo alto del péptido C	sí: Glit&Metf/Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Glit&Metf/Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: SU, Glin posible: resto de fármacos
Riesgo alto medio del péptido C	sí: Glit&Metf/Ins/GLP-1 no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos
Riesgo bajo del péptido C	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos

FIG 1B

Riesgo bajo de proinsulina, Riesgo medio de adiponectina	Riesgo alto de insulina	Riesgo medio de insulina	Riesgo bajo de insulina
Riesgo alto del péptido C	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos
Riesgo medio del péptido C	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos
Riesgo bajo del péptido C	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos

Riesgo bajo de proinsulina, Riesgo bajo de adiponectina	Riesgo alto de insulina	Riesgo medio de insulina	Riesgo bajo de insulina
Riesgo alto del péptido C	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos
Riesgo medio del péptido C	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: SU, Glin posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos
Riesgo bajo del péptido C	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos	sí: Metf/DPPIV/GLP-1/Glit no: - posible: resto de fármacos

Leyenda

Glit:	Glitazona (Pioglitazona, Rosiglitazona)	sí:	Terapia recomendada (si no hay contra indicaciones)
GLP-1	Análogo de GLP-1 (Exenatida, Liraglutida etc.)	no:	Debe evitarse, tiene impacto negativo
DPPIV	Inhibidor de DPPIV (Sitagliptina, Vildagliptina, Saxagliptina)	posible:	Si fuera necesario pueden añadirse fármacos hipoglucemiantes
Metf	Metformina		
Glin	Glinida (Repaglinida, Nateglinida)		
SU	Sulfonilurea (Gliclazida, Glimepirida etc.)		
Acarb	Inhibidor de Alfa-Glucosidasa (Acarbosa)		
resto de fármacos	Todas las clases posibles de hipoglucemiantes		
Ins	todos los tipos de insulina		
RHI	insulina humana regular		
NPH	insulina humana regular de acción intermedia		
(U)L	Insulina Zn retardada (lenta, Ultralenta)		
SIA	Análogos de insulina de acción corta (Lispro, Aspart, Glulisina)		
LIA	Análogos de insulina de acción prolongada (Glargina, Ilevmir)		