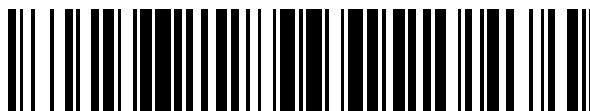


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 794 950**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/6883 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.03.2016 PCT/EP2016/055949**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.09.2016 WO16146811**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.03.2016 E 16710971 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.03.2020 EP 3271476**

54 Título: **Métodos, herramientas y sistemas para la evaluación, prevención, gestión y selección de tratamiento para diabetes de tipo 2**

30 Prioridad:

18.03.2015 GB 201504607

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

19.11.2020

73 Titular/es:

**PATIA BIOPHARMA, S.A. DE C.V. (100.0%)
Filadelfia 182 Int 403 Col. Napoles
Benito Juarez D.F. 03810, MX**

72 Inventor/es:

**SIMÓN BUELA, LAUREANO y
ZULUETA, MIRELLA G.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 794 950 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

Métodos, herramientas y sistemas para la evaluación, prevención, gestión y selección de tratamiento para diabetes de tipo 2

5

Campo de la invención

La presente invención se refiere a métodos para la genotipificación *in vitro* de variaciones genéticas asociadas a la diabetes de tipo 2 (T2D) y a métodos para la evaluación del riesgo, prevención, gestión y selección de tratamiento de T2D, que incluye uno o más de: evaluación del riesgo genético de T2D e intervenciones para respaldar la prevención, retraso y gestión de la diabetes, tal como juegos informales individuales móviles para reforzar hábitos alimenticios eficaces, juegos interactivos longitudinales virtuales y juegos informales con evaluación del comportamiento en la vida real, redes sociales y sistemas educativos.

15 **Antecedentes de la invención**

La epidemia mundial de la diabetes de tipo 2 (T2D) es un problema importante de salud pública, ya que esta enfermedad es la quinta causa principal de muerte en todo el mundo y una causa principal de morbilidad, enfermedad cardíaca coronaria prematura, accidente cerebrovascular, enfermedad vascular periférica, insuficiencia renal y amputación [1]. Se predice que el número de individuos que viven con diabetes en todo el mundo aumentará de 366 millones en 2011 a 552 millones para 2030 [2].

La T2D es una diabetes no dependiente de insulina que se caracteriza por hiperglucemia debido a la alteración de la secreción de insulina y la resistencia a la insulina en tejidos diana. La T2D se diagnostica normalmente después de la edad de 40 años y se provoca por la acción combinada de susceptibilidad genética y factores ambientales. La T2D está asociada a obesidad, y también es una enfermedad poligénica.

Los estudios de asociación del genoma completo (GWAS) para formas típicas de T2D han identificado más de 70 loci genéticos distintos que llevan variantes comunes que están asociadas a diferencias modestas en la prevalencia de la enfermedad [3, 4, 5]. Debido a que estas variantes comunes explican una pequeña fracción de la heredabilidad estimada, se plantea como hipótesis que las variantes de baja frecuencia o raras de efectos fuertes no capturadas por estudios de asociación del genoma completo, pero susceptibles a enfoques de secuenciación, contribuyen en una proporción significativa a la arquitectura genética de la enfermedad. Hasta la fecha, no se han encontrado variantes de baja frecuencia con penetración casi completa en estudios de secuenciación del exoma completo de la diabetes de tipo 2, [6, 7] aunque un estudio reciente de secuenciación del genoma completo encontró variantes raras asociadas a la prevalencia de la diabetes de tipo 2 en una población islandesa [8].

Como la prevalencia de la diabetes de tipo 2 en poblaciones mexicanas y latinoamericanas es aproximadamente dos veces la de los blancos no hispanos de EE. UU. [9, 10], existe una necesidad médica sin cumplir para definir los factores genéticos que predisponen a los mexicanos y latinoamericanos a esta enfermedad para facilitar la intervención y medidas preventivas. También se necesitan métodos de selección de tratamiento y optimización de la pauta de tratamiento específica para poblaciones mexicanas y latinoamericanas.

Además, para prevenir la aparición o las complicaciones de la diabetes, los individuos deben gestionar su dieta, ejercicio y pautas de tratamiento. Las actuales estrategias de gestión de la diabetes se centran en la educación para conducir a un cambio de comportamiento. La Educación para el autocontrol de la diabetes (DSME) es una técnica que implica que el diabético aprenda las habilidades necesarias para gestionar su diabetes y controlar diariamente su nivel de glucemia. La DSME es una solución de cuidado preventivo que puede ayudar a gestionar las complicaciones relacionadas con la diabetes y reducir los costes de salud general. Las estrategias existentes de gestión de la diabetes reconocen la necesidad de regular el contacto, respaldo de la comunidad, apoyo y monitorización regular. La mayoría de los esfuerzos respaldan el cuidado preventivo con contacto semanal, mensual o incluso menos frecuente debido a que el contacto frecuente requiere el tiempo de caros profesionales médicos. Otros métodos de control de la diabetes incluyen medicación, programas de salud social y programas basados en internet para ayudar a las personas a gestionar la diabetes.

Sin embargo, existe un grave problema con la DSME. Como grupo, los diabéticos no se adhieren bien a los programas reglamentados. Además, los métodos que han demostrado ser eficaces en aumentar la adherencia de los pacientes a los programas de gestión de la diabetes no llegan a todos los pacientes. En realidad, los programas existentes logran el autocontrol eficaz (definido como un nivel de HbA1C (hemoglobina glucosilada) de 6,5 mmol/l) en solo 10-15 % de los diabéticos. Así, la mayoría de los diabéticos no se adhieren adecuadamente a los programas de gestión de la diabetes o fracasan en el autocontrol. Los programas existentes no cumplen completamente las necesidades de estos pacientes; por tanto, se necesitan herramientas y métodos adicionales para estimular el autocontrol eficaz.

El SIGMA Type 2 Diabetes Consortium, Nature (2014) 506:97-101 desvela SNPs asociados a la diabetes de tipo 2 en mejicanos.

Sumario de la invención

5 A grandes rasgos, los presentes inventores han encontrado que ciertas combinaciones de polimorfismos, particularmente polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), están asociadas a la predicción del riesgo de diabetes de tipo 2 (T2D) y la respuesta del tratamiento. Además, se han identificado en el presente documento las combinaciones de SNPs seleccionadas para idoneidad particular a las poblaciones mejicanas y latinoamericanas, entre otras. Además, los SNPs seleccionados para análisis incluyen variaciones asociadas a diversos linajes ancestrales, siendo dicha diversidad prevalente en la población mejicana. Por ejemplo, la población mejicana es étnicamente diversa, que comprende individuos mestizos, de descendencia europea, asiáticos mejicanos, afroamejicanos e indígenas nativos de México. Se han desarrollado herramientas y sistemas asociados para su uso en métodos como se describen, que incluyen para la predicción de susceptibilidad a T2D, selección de tratamiento, gestión y en algunos casos prevención de T2D.

15 Por consiguiente, la presente invención proporciona un método de evaluación de la susceptibilidad a diabetes de tipo 2 en un sujeto humano, comprendiendo el método determinar en una muestra la identidad de al menos un alelo en cada uno del siguiente polimorfismo de un solo nucleótido (SNP):

- 20 SLC16A11 - rs75493593;
- HNF1A - rs483353044, (HNF1A E508K);
- TCF7L2 - rs7903146;
- CDKN2A/B - rs10811661;
- CDKAL1 - rs7756992;
- 25 SLC30A8 - rs3802177;
- IGF2BP2 - rs4402960;
- FTO - rs9936385;
- PPARG - rs1801282;
- HHEX/IDE - rs1111875;
- 30 ADCY5 - rs11717195;
- JAZF1 - rs849135;
- WSF1 - rs4458523;
- INS-IGF2 - rs149483638;
- KCNQ1 - rs2237897; y
- 35 KCNJ11 - rs5219,

Los SNPs pueden ser como se desvela en el ensamblaje 37 de genoma de *Homo sapiens* de NCBI dbSNP.

Se describe un método que comprende determinar la identidad de al menos un alelo en cada uno de los siguientes SNPs:

- 40 SLC16A11 - rs75493593;
- HNF1A - rs483353044;
- KCNQ1 - rs2237897; y
- 45 TCF7L2 - rs7903146.

Los cuatro SNPs rs75493593, rs483353044, rs2237897 y rs7903146 representan un conjunto compacto y eficiente de SNPs para la predicción de susceptibilidad a T2D y respuesta a la terapia con sulfonilo bien adaptada para uso en una población étnicamente diversa, tal como una población mejicana. Se ha encontrado que SLC16A11 - rs75493593 SLC16A11 se asocia a un riesgo de T2D en individuos mejicanos y latinoamericanos. El haplotipo de riesgo está presente en ~50 % de frecuencia en muestras de americanos nativos y ~10 % en asiáticos del este, pero es raro en muestras europeas y africanas. KCNQ1 (que incluye rs2237897) participa como gen de susceptibilidad a T2D en poblaciones de ancestro coreano, chino y europeo, así como en dos poblaciones japonesas independientes. TCF7L2 - rs7903146 participa como un gen de susceptibilidad a T2D en poblaciones de ancestro europeo. Como se informa en el presente documento, estudios preliminares indican que HNF1A - rs483353044 (E508K) participa no solo como una susceptibilidad a T2D en una población latinoamericana, sino que también predice una gran respuesta hipoglucémica a fármacos de sulfonilurea, tales como glipizida, entre los que llevan la variante E508K. Por tanto, la combinación de los cuatro SNPs rs75493593, rs483353044, rs2237897 y rs7903146 en la herramienta de genotipificación de SNP como se describe proporciona ventajosamente susceptibilidad a T2D útil e información de respuesta al tratamiento a través de una población de sujetos amplia y étnicamente diversa.

También se describe un método que comprende determinar la identidad de al menos un alelo en cada uno de los siguientes SNPs:

- 65 SLC16A11 - rs75493593;
- HNF1A - rs483353044;

KCNQ1 - rs2237897;
TCF7L2 - rs7903146;
FTO - rs9936385; y
PPARG - rs1801282.

5 También se describe un método que comprende determinar la identidad de al menos un alelo en cada uno de los siguientes SNPs:

10 SLC16A11 - rs75493593;
HNF1A - rs483353044;
TCF7L2 - rs7903146;
CDKN2A/B - rs10811661;
CDKAL1 - rs7756992;
15 SLC30A8 - rs3802177;
IGF2BP2 - rs4402960;
FTO - rs9936385;
PPARG - rs1801282;
HHEX/IDE - rs1111875;
20 ADCY5 - rs11717195;
JAZF1 - rs849135;
WSF1 - rs4458523;
INS-IGF2 - rs149483638;
KCNQ1 - rs2237897; y
25 KCNJ11 - rs5219.

La determinación de alelos descrita se lleva a cabo en no más de 50, 40, 30, 25, 20, 19, 18, 17 o no más de 16 posiciones de SNP.

30 En algunos casos según la invención, la presencia de uno o más de los siguientes alelos de riesgo (es decir, alelo de riesgo heterocigótico u homocigótico) indica que el sujeto tiene mayor susceptibilidad a la diabetes de tipo 2:

35 T en rs75493593 en SLC16A11;
A en rs483353044 en HNF1A;
T en rs7903146 en TCF7L2;
T en rs10811661 en CDKN2A/B;
G en rs7756992 en CDKAL1;
G en rs3802177 en SLC30A8;
T en rs4402960 IGF2BP2;
40 C en rs9936385 en FTO;
C en rs1801282 en PPARG;
C en rs1111875 en HHEX/IDE;
T en rs11717195 en ADCY5;
G en rs849135 en JAZF1;
G en rs4458523 en WSF1;
45 C en rs149483638 en INS-IGF2;
C en rs2237897 en KCNQ1; y
T en rs5219 en KCNJ11.

50 En algunos casos según la invención, el método comprende determinar la identidad de ambos alelos en cada SNP para así obtener el genotipo del sujeto en cada SNP.

55 En algunos casos según la invención, se determina que el sujeto es heterocigótico o es homocigótico para el alelo de riesgo en al menos uno de dichos SNPs. En el caso en el que se encuentre que el sujeto tiene uno o más alelos de riesgo, se puede clasificar que el sujeto está en mayor riesgo de diabetes de tipo 2 en comparación con un sujeto que tiene alguno de dichos alelos de riesgo o que tiene menos de dichos alelos de riesgo.

60 En algunos casos según la invención, el método comprende ensayar una muestra que contiene ADN que ha sido previamente obtenida de dicho sujeto. En particular, la muestra se puede seleccionar del grupo que consiste en: sangre, pelo, piel, líquido amniótico, raspado bucal, saliva y heces. Una muestra particularmente preferida es sangre completa, de la que se ha aislado ADN genómico.

En algunos casos según la invención, el método comprende aislar y/o amplificar el ADN genómico de dicho sujeto.

65 En algunos casos según la invención, la determinación de la identidad de dicho al menos un alelo en cada SNP comprende: hibridación de sonda, PCR en tiempo real, análisis de matrices, análisis de perlas, extensión de cebadores, análisis de restricción y/o secuenciación de ADN.

- En algunos casos, el método emplea una pluralidad de sondas de oligonucleótidos, pluralidad que incluye un par de sondas de oligonucleótidos específicas de alelo para cada SNP, englobando cada sonda de oligonucleótidos específica de alelo la posición polimórfica como se expone en la columna de secuencias contexto de la Tabla 2. En general, dichos oligonucleótidos serán de 10-50 nucleótidos de longitud, preferentemente 12-20 nucleótidos y más preferentemente 13-18 nucleótidos. El experto es fácilmente capaz de diseñar sondas que engloban los SNPs, por ejemplo, haciendo uso del contexto de secuencias mostrado en la Tabla 2. Normalmente, una sonda de oligonucleótidos comprenderá consistirá en una secuencia contigua de las longitudes anteriormente mencionadas del contexto de secuencias mostrado en la Tabla 2 estando la posición polimórfica normalmente localizada en una posición central en cada una de las sondas específicas de alelo, o su complemento inverso o que se hibrida con el mismo (por ejemplo, en condiciones de alta rigurosidad).
- En algunos casos, la determinación de la identidad de dicho al menos un alelo en cada SNP comprende la genotipificación de SNP TaqMan®. En particular, el método puede emplear genotipificación de SNP TaqMan® OpenArray®.
- En algunos casos, la determinación de la identidad de dicho al menos un alelo en cada SNP comprende el uso de una plataforma basada en un sistema de circuitos fluidicos integrados (IFCs), para la genotipificación. Dichas plataformas están disponibles de, por ejemplo, Fluidigm. En ciertos casos, la plataforma es una plataforma de genotipificación IFC de matriz dinámica.
- En algunos casos según la invención, el método comprende determinar el número y la identidad de alelos de riesgo de SNP, y en donde el método comprende además calcular una puntuación de riesgo de diabetes de tipo 2 para dicho sujeto.
- En algunos casos, el método comprende entrar las determinaciones de alelos de riesgo de SNP en una función de probabilidad para calcular dicha puntuación de riesgo.
- En algunos casos según la divulgación, dichos SNPs incluyen el polimorfismo E508K en HNF1A, y la presencia de al menos un alelo A en dicho polimorfismo E508K, rs483353044, indica que el sujeto tendrá una mayor respuesta hipoglucémica a terapia antidiabética con una sulfonilurea en comparación con una biguanida. En particular, la sulfonilurea puede ser glipizida, gliclazida, glibenclamida, gliburida (micronasa), glibornurida, gliquidona, glisoxepida, gliclopiramida, glimepirida (amarillo), carbutamida, acetohexamida, clorpropamida o tolbutamida. Preferentemente, la sulfonilurea es glipizida.
- En algunos casos, el método descrito es un método de tratamiento o selección de tratamiento, y comprende además administrar, o recomendar la administración de, terapia de sulfonilurea a un sujeto diabético de tipo 2 que lleva al menos un alelo A del polimorfismo E508K en HNF1A. En particular, la sulfonilurea puede ser glipizida.
- En algunos casos según la invención, el sujeto es de origen o linaje mejicano o latinoamericano.
En algunos casos el sujeto es de origen o linaje europeo, asiático del este, africano o indígena mejicano.
- En algunos casos según la invención, el sujeto tiene al menos un pariente de primer grado que ha sido o ha sido previamente diagnosticado con diabetes de tipo 2.
- En algunos casos según la invención, el sujeto tiene uno o más factores de riesgo clínico para diabetes de tipo 2 seleccionados de: índice de masa corporal > 30, perímetro de la cintura > 80 cm para mujeres o > 94 cm para hombres, edad > 40, alteración de la regulación de la glucosa, elevada glucemia en ayunas y resistencia a la insulina.
- En algunos casos según la invención, se determina que el sujeto lleva uno o más de dichos alelos de riesgo a uno o más (por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16) de dichos SNPs y, por tanto, está en mayor riesgo de diabetes de tipo 2, comprendiendo el método además una intervención seleccionada del grupo que consiste en:
- diseñar un videojuego electrónicamente accesible al sujeto, teniendo dicho videojuego objetivos de juego predeterminados seleccionados para reforzar hábitos alimenticios saludables que evitan o minimizan el consumo de comida y bebida diabetogénica y/o para reforzar los hábitos de ejercicio;
 - poner a disposición del sujeto un monitor de actividad del movimiento, siendo dicho monitor de actividad del movimiento capaz de grabar y/o de informar datos de actividad del movimiento del sujeto a una interfaz de visualización que presenta los datos de actividad del movimiento o un resumen o una puntuación derivada de dichos datos;
 - poner a disposición del sujeto un dispositivo de recuento calórico, siendo dicho dispositivo capaz de grabar y/o de informar datos nutricionales dietéticos sobre la comida y/o sobre la bebida consumida por el sujeto; y
 - poner a disposición del sujeto una red social, teniendo dicha red consejos de autocontrol de la diabetes de tipo 2, una pluralidad de participantes diabéticos en la red y un sistema de recompensa que estimula la alimentación saludable y/o el ejercicio.
- En algunos casos, el videojuego comprende un personaje jugador al que se le presentan elecciones de comida y/o de bebida, en donde el juego recompensa la selección de comida y/o de bebida saludable por el personaje jugador.

En algunos casos, el monitor de actividad del movimiento comprende un pedómetro que comunica o se puede configurar para comunicarse con un ordenador o dispositivo electrónico móvil (por ejemplo, un teléfono móvil tal como un teléfono inteligente).

5 En algunos casos, el dispositivo de recuento calórico comprende un dispositivo electrónico móvil (por ejemplo, un teléfono móvil que ejecuta una aplicación para el seguimiento del consumo de calorías) programado para recibir información sobre la ingesta alimentaria del sujeto y para mostrar valores calóricos correspondientes a la ingesta alimentaria.

10 En algunas realizaciones, el sujeto se clasifica en una de las tres siguientes categorías de riesgo según el valor de cambio en veces (FC):

15 riesgo bajo: FC entre 0 y 1,00
 riesgo moderado: FC entre 1,01 y 1,5;
 riesgo intermedio: FC entre 1,51 y 2,0; y
 riesgo alto: FC superior a 2,0.

20 En particular, el valor de cambio en veces para el sujeto se puede calcular asignando una puntuación de riesgo a cada SNP, en donde el valor de cambio en veces se da multiplicando las puntuaciones de riesgo de cada uno de los SNPs juntos. Así, por ejemplo, a la presencia de un alelo de riesgo se le puede asignar una puntuación de riesgo superior a 1, mientras que a la presencia de un alelo no de riesgo se le asigna una puntuación de riesgo de 1. En particular, para cada SNP la puntuación de riesgo se puede asignar del siguiente modo:

25 a la ausencia de marcador de riesgo, es decir, genotipo de alelo no de riesgo homocigótico, en el SNP se le asigna un valor de 1,
 a la presencia de un único marcador de riesgo, es decir, genotipo heterocigótico, en el SNP se le asigna un valor igual a la razón de probabilidades (OR) para el alelo de riesgo en ese SNP,
 a la presencia de dos marcadores de riesgo, es decir, genotipo de alelo no de riesgo homocigótico se le asigna
 30 un valor igual al cuadrado de la razón de probabilidades (OR)².

En algunos casos, el valor de cambio en veces se obtiene multiplicando juntas las puntuaciones de riesgo para cada SNP y luego dividiendo entre la razón de probabilidades (OR) media para un grupo de control, es decir, un grupo de
 35 pacientes que se ha determinado previamente que no tiene T2D.

En algunos casos, la OR para el alelo de riesgo en cada SNP es del siguiente modo:

40 T en rs75493593 en SLC16A11 = $1,29 \pm 0,05$;
 A en rs483353044 en HNF1A = $5,48 \pm 0,05$;
 T en rs7903146 en TCF7L2 = $1,37 \pm 0,05$;
 T en rs10811661 en CDKN2A/B = $1,08 \pm 0,05$;
 G en rs7756992 en CDKAL1 = $1,05 \pm 0,05$;
 G en rs3802177 en SLC30A8 = $1,12 \pm 0,05$;
 45 T en rs4402960 IGF2BP2 = $1,12 \pm 0,05$;
 C en rs9936385 en FTO = $1,17 \pm 0,05$;
 C en rs1801282 en PPARG = $1,1 \pm 0,05$;
 C en rs1111875 en HHEX/IDE = $1,06 \pm 0,05$;
 T en rs11717195 en ADCY5 = $1,14 \pm 0,05$;
 G en rs849135 en JAZF1 = $1,16 \pm 0,05$;
 50 G en rs4458523 en WSF1 = $1,13 \pm 0,05$;
 C en rs149483638 en INS-IGF2 = $1,28 \pm 0,05$;
 C en rs2237897 en KCNQ1 = $1,31 \pm 0,05$; y
 T en rs5219 en KCNJ11 = $1,08 \pm 0,05$.

55 En particular, la OR puede ser como se expone en la Tabla 3.

Se describe además una herramienta de genotipificación para su uso en un método del primer aspecto de la invención, comprendiendo dicha herramienta una matriz que tiene una pluralidad de pares de sondas de oligonucleótidos, comprendiendo cada uno de dichos pares de sondas una primera sonda específica para un primer
 60 alelo de un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) y una segunda sonda específica para un segundo alelo del SNP, en donde dicha pluralidad de pares de sondas de oligonucleótidos comprende pares de sondas que interrogan a al menos tres SNPs seleccionados del grupo que consiste en:

65 SLC16A11 - rs75493593;
 HNF1A - rs483353044;
 TCF7L2 - rs7903146;

5 CDKN2A/B - rs10811661;
 CDKAL1 - rs7756992;
 SLC30A8 - rs3802177;
 IGF2BP2 - rs4402960;
 FTO - rs9936385;
 PPARG - rs1801282;
 HHEX/IDE - rs1111875;
 ADCY5 - rs11717195;
 10 JAZF1 - rs849135;
 WSF1 - rs4458523;
 INS-IGF2 - rs149483638;
 KCNQ1 - rs2237897; y
 KCNJ11 - rs5219,

15 y/o un SNP en desequilibrio de enlace con uno cualquiera de dichos SNPs en $r^2 > 0,8$, $r^2 > 0,9$, $r^2 > 0,95$, $r^2 > 0,99$ o $r^2 = 1,0$.

20 En algunos casos, las sondas de oligonucleótidos de la matriz que interrogan los SNPs seleccionados de: rs75493593; rs483353044; rs7903146; rs10811661; rs7756992; rs3802177; rs4402960; rs9936385; rs1801282; rs1111875; rs11717195; rs849135; rs4458523; rs149483638; rs2237897; y rs5219, constituyen al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 99 % del número total de sondas de ácido nucleico en la matriz, o esencialmente todas las sondas de ácido nucleico en la matriz. De esta forma, la herramienta de genotipificación está enriquecida en sondas que interrogan SNPs informativos para la predicción de riesgo de diabetes de tipo 2 en poblaciones mejicanas y latinoamericanas. Evitando una alta proporción de sondas que interrogan otros SNPs (por ejemplo, como se observa normalmente en micromatrices de SNP a gran escala), la herramienta de genotipificación como se describe puede proporcionar una herramienta más eficiente para la evaluación de la predicción de riesgo de diabetes de tipo 2, por lo que se minimiza el uso de sondas innecesarias y otros reactivos.

30 En algunos casos, dicha pluralidad de pares de sondas de oligonucleótidos comprende pares de sondas que interrogan a al menos:

35 SLC16A11 - rs75493593;
 HNF1A - rs483353044;
 KCNQ1 - rs2237897; y
 TCF7L2 - rs7903146.

40 En algunos casos, dicha pluralidad de pares de sondas de oligonucleótidos comprende pares de sondas que interrogan a al menos:

45 SLC16A11 - rs75493593;
 HNF1A - rs483353044;
 KCNQ1 - rs2237897;
 TCF7L2 - rs7903146;
 FTO - rs9936385; y
 PPARG - rs1801282.

50 En algunos casos, dicha pluralidad de pares de sondas de oligonucleótidos comprende pares de sondas que interrogan a al menos:

55 SLC16A11 - rs75493593;
 HNF1A - rs483353044;
 TCF7L2 - rs7903146;
 CDKN2A/B - rs10811661;
 CDKAL1 - rs7756992;
 SLC30A8 - rs3802177;
 IGF2BP2 - rs4402960;
 FTO - rs9936385;
 PPARG - rs1801282;
 60 HHEX/IDE - rs1111875;
 ADCY5 - rs11717195;
 JAZF1 - rs849135;
 WSF1 - rs4458523;
 INS-IGF2 - rs149483638;
 65 KCNQ1 - rs2237897; y
 KCNJ11 - rs5219.

En algunos casos, el número total de SNPs diferentes para los que se proporcionan sondas específicas de alelo no supera 50, 40, 30, 25, 20, 19, 18, 17 o 16.

5 En algunos casos, las sondas específicas de alelo de oligonucleótidos se unen cada una covalentemente a un fluoróforo, a un extintor y/o a un dominio de unión al surco menor (MGB). Preferentemente, cada miembro de un par de sondas específicas de alelo está conjugado con un fluoróforo diferente que permite la detección específica de los miembros de pares de sondas por longitud de onda de fluorescencia.

10 En algunos casos, la secuencia de nucleótidos de cada una de las sondas específicas de alelo es:

(i) una secuencia de nucleótidos contigua de 10-25, preferentemente 13-18 nucleótidos, del contexto de secuencia expuesto para cada SNP en la Tabla 2, en donde la secuencia de sondas engloba la posición polimórfica; o

15 (ii) el complemento de (i).

En algunos casos, la matriz comprende además un par de cebadores para cada uno de dichos SNPs, comprendiendo dicho par de cebadores para cada SNP un cebador de oligonucleótidos que se hibrida con una secuencia diana en la dirección 5' del SNP y un cebador de oligonucleótidos que se hibrida con una secuencia diana en la dirección 3' del SNP.

20 En algunos casos, la herramienta comprende además uno o más reactivos para la amplificación de ADN que comprende dichos SNPs y/o para la detección de dichas sondas específicas de alelo. En particular, los reactivos de la herramienta pueden incluir ADN polimerasa Taq.

25 En algunos casos, la herramienta comprende además uno o más reactivos para la amplificación de ADN que comprende dichos SNPs y/o para la detección de dichas sondas específicas de alelo. En particular, los reactivos de la herramienta pueden incluir ADN polimerasa Taq.

En algunos casos, la matriz comprende una OpenArray® de entre 1000 y 10000 posiciones de matriz. Por ejemplo, la matriz puede comprender 3072 orificios pasantes, cada uno de los cuales actúa de reactor a escala de nanolitros (por ejemplo, 33 nl).

30 Preferentemente, la herramienta está en forma de una plataforma de genotipificación de SNP TaqMan® OpenArray® o una plataforma de genotipificación de circuitos fluidicos integrados (IFC).

También se describe un sistema de evaluación del riesgo de diabetes de tipo 2 para su uso en un método del primer aspecto de la invención, comprendiendo el sistema una herramienta de genotipificación como se describe y un ordenador calculado para calcular una puntuación de riesgo de diabetes de tipo 2 a partir de los datos de genotipo del sujeto en cada uno de los al menos tres SNPs seleccionados de los SNPs expuestos en la Tabla 1 y/o Tabla 2.

35 En algunos casos, el ordenador calcula la puntuación de riesgo a partir de los datos de genotipo aplicando una ponderación o coeficiente a cada alelo de riesgo de SNP que se encuentra que está presente de forma que la contribución a la puntuación de riesgo sea proporcional a esa contribución de SNP al riesgo de diabetes de tipo 2, por ejemplo una ponderación proporcional a una razón de probabilidades para la asociación del SNP a diabetes de tipo 2, como se expone en la Tabla 1.

Breve descripción de los dibujos

45 La **Figura 1** muestra los gráficos de discriminación alélica para cada uno de los 16 SNPs empleados en la matriz de genotipificación de SNP DIABETESpredict. Los SNPs genotipificados son (en el sentido de las agujas del reloj desde arriba-izquierda): **A**) SLC16A11, INS-IGF2, KCNJ11, HHEX/IDE; **B**) HNF1A, WFS1, TCF7L2, KCNQ1; **C**) FTO, CDKN2A/B, ADCY5, CDKAL1; y **D**) PPARG, IGFBP2, SLC30A8, JAZF1.

50 La **Figura 2** muestra un árbol de decisión del diagrama de flujo que indica la aplicación de la herramienta DIABETESpredict para determinar el riesgo genético de diabetes de tipo 2 y, por tanto, el nivel apropiado de intervención, que incluye cuidados personales para la gestión de la diabetes.

55 La **Figura 3** muestra **A**) una curva de eficacia diagnóstica (ROC) en la que se representa la susceptibilidad (eje y) frente a la 1-especificidad (eje x) para FC1 (curva azul) y FC2 (curva verde). Se muestra una línea de referencia en amarillo. Los segmentos diagonales se producen por los dibujos. **B**) Se determina el área bajo la curva (ABC) para FC1 y FC2. **C**) Se muestran las clasificaciones de riesgo FC1 0,5, 0,51-1,0 (inferior a la medida de la población), 1,01-1,5 riesgo bajo, 1,51-2,0 riesgo medio y >2,0 riesgo alto.

60 La **Figura 4** muestra un espectro de riesgo genético bajo (<1), moderado (1-1,5), intermedio (1,5-2) y alto (>2). Se representa una puntuación de ejemplo "Su puntuación" por la punta de flecha indicando hacia la región de riesgo genético más alto a mano derecha del espectro de riesgo genético.

Descripción detallada

65 **Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs)**

Se identifican en el presente documento SNPs usando los números identificadores rs según la base de datos NCBI dbSNP, que está públicamente disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>. Como se usa en el presente documento, los números rs se refieren al ensamblaje 37.1 de *Homo sapiens* dbSNP disponible desde el 2 de febrero de 2010.

Desequilibrio de enlace (LD)

En algunos aspectos de la divulgación, los SNPs en desequilibrio de enlace con los SNPs asociados a la invención son útiles para obtener resultados similares. Como se usa en el presente documento, el desequilibrio de enlace se refiere a la asociación no aleatoria de SNPs en dos o más loci. Se conocen en la técnica técnicas para la medición del desequilibrio de enlace. Como dos SNPs están en desequilibrio de enlace si se heredan juntos, la información que proporcionan se correlaciona hasta un cierto punto. Los SNPs en desequilibrio de enlace con los SNPs incluidos en los modelos se pueden obtener de bases de datos tales como HapMap u otras bases de datos relacionadas, a partir de configuraciones experimentales ejecutadas en laboratorios o a partir de experimentos informáticos asistidos por ordenador. La determinación del genotipo de un sujeto a una posición de SNP como se especifica en el presente documento, por ejemplo como se especifica por el identificador rs de NCBI dbSNP, puede comprender genotipificar directamente, por ejemplo determinando la identidad del nucleótido de cada alelo en el locus de SNP, y/o genotipificar indirectamente, por ejemplo determinando la identidad de cada alelo con uno o más loci que están en desequilibrio de enlace con el SNP en cuestión y que permiten inferir la identidad de cada alelo en el locus de SNP en cuestión con un grado de confianza sustancial. En algunos casos, la genotipificación indirecta puede comprender determinar la identidad de cada alelo en uno o más loci que están en desequilibrio de enlace suficientemente alto con el SNP en cuestión para permitir inferir la identidad de cada alelo en el locus de SNP en cuestión con una probabilidad de al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 99 % de certeza.

Como será apreciado por el lector, en algunos casos uno o más polimorfismos o alteraciones en desequilibrio de enlace con un polimorfismo o alteración desvelada en el presente documento pueden encontrar uso en los métodos como se describen.

El desequilibrio de enlace (LD) es un fenómeno en la genética por el cual dos o más mutaciones o polimorfismos están en tal proximidad genética que se heredan conjuntamente. Esto significa que en la genotipificación, la detección de un polimorfismo como presente deduce la presencia del otro. Así, un polimorfismo o alteración en dicho desequilibrio de enlace actúa de marcador sustituto de un polimorfismo o alteración como se desvela en el presente documento. Preferentemente, la referencia en el presente documento a un polimorfismo o alteración en desequilibrio de enlace con otro significa que $r^2 > 0,8$, preferentemente $r^2 > 0,9$, más preferentemente $r^2 > 0,95$ o incluso $r^2 > 0,99$. En realizaciones particularmente preferidas, se considera que un SNP está en LD con un SNP expuesto en la Tabla 1 si presenta $r^2 = 1,0$ y $D' = 1,0$.

Como se usa en el presente documento, LD se determina preferentemente en una población mejicana o latinoamericana.

En un ejemplo, se cree que HNF1A E508K SNP (rs483353044) está en fuerte LD con el SNP rs143592417 (que codifica Q511R), de forma que rs143592417 se puede usar en algunos casos en representación de SNP para rs483353044.

Ensayos de genotipificación

Los aspectos de la invención se refieren a determinar la presencia de SNPs mediante la obtención de una muestra de ADN del paciente y la evaluación de la muestra del paciente para la presencia de los SNPs denominados en las reivindicaciones. Se debe apreciar que una muestra de ADN de paciente se puede extraer, y se puede detectar un SNP en la muestra, mediante cualquier medio conocido por un experto habitual en la técnica. Algunos ejemplos no limitantes de técnicas conocidas incluyen la detección mediante análisis de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), micromatrices planas, matrices de perlas, secuenciación, análisis de polimorfismos de conformación de cadena simple (SSCP), escisión química de desapareamiento (CCM) y cromatografía líquida de alta resolución desnaturalizante (DHPLC).

En algunas realizaciones, se detecta un SNP mediante amplificación por PCR y secuenciación de la región de ADN que comprende el SNP. En algunas realizaciones, los SNPs se detectan usando micromatrices. Las micromatrices para la detección de polimorfismos genéticos, cambios o mutaciones (en general, variaciones genéticas) tales como un SNP en una secuencia de ADN, comprenden una superficie sólida, normalmente vidrio, sobre la que se depositan un alto número de secuencias genéticas (las sondas), complementarias a las variaciones genéticas a estudiar. Usando impresoras robóticas estándar para aplicar sondas a la matriz se puede obtener una alta densidad de características de sondas individuales, por ejemplo, normalmente se pueden alcanzar densidades de sonda de 600 características por cm^2 o más. El posicionamiento de las sondas sobre una matriz se controla con precisión por el dispositivo de impresión (robot, impresora de chorro de tinta, máscara fotolitográfica, etc.) y las sondas están alineadas en una rejilla. La organización de sondas sobre la matriz facilita la posterior identificación de interacciones

específicas sonda-diana. Además, es común, pero no necesario, dividir las características de matriz en sectores más pequeños, también en forma de rejilla, que son posteriormente denominados submatrices. Las submatrices normalmente comprenden 32 características de sondas individuales, aunque cada una puede comprender menores (por ejemplo 16) o mayores (por ejemplo 64 o más) características de submatrices.

5 En algunas realizaciones, la detección de la variación genética, tal como la presencia de un SNP, implica la hibridación con secuencias que reconocen específicamente el alelo normal y de riesgo en un fragmento de ADN derivado de una muestra de prueba. Normalmente, el fragmento se ha amplificado, por ejemplo, usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y marcado, por ejemplo, con una molécula fluorescente. Se puede usar un láser
10 para detectar fragmentos marcados unidos sobre el chip y así un individuo que es homocigótico para el alelo normal se puede distinguir específicamente de los individuos heterocigóticos (en el caso de condiciones dominantes autosómicas, entonces estos individuos se denominan portadores) o los que son homocigóticos para el alelo de riesgo. En algunas realizaciones, la reacción de amplificación y/o la reacción de extensión se llevan a cabo en la propia micromatriz o perla.

15 En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento pueden implicar hibridación. Para los métodos basados en hibridación diferencial existen varios métodos para analizar los datos de hibridación para la genotipificación:

20 Aumento en el nivel de hibridación: Se comparan los niveles de hibridación de sondas complementarias a los alelos normales y mutantes.

Disminución en el nivel de hibridación: Se pueden identificar diferencias en la secuencia entre una muestra de control y una muestra de prueba por una disminución en el nivel de hibridación de los oligonucleótidos totalmente complementarios con una secuencia de referencia. Se produce una pérdida de aproximadamente 100 % en individuos homocigóticos mutantes, mientras que solo existe una pérdida de aproximadamente 50 % en heterocigotos. En micromatrices para examinar todas las bases de una secuencia de "n" nucleótidos ("oligonucleótido") de longitud en ambas cadenas, es necesario un mínimo de "2n" oligonucleótidos que se solapan con el oligonucleótido previo en toda la secuencia, excepto en el nucleótido. Normalmente, el tamaño de los oligonucleótidos es aproximadamente 25 nucleótidos. Sin embargo, se debe apreciar que el oligonucleótido puede ser de cualquier longitud que sea apropiada, como sería entendido por un experto habitual en la técnica. En particular, el uso de un dominio de unión al surco menor (MBD) permite secuencias de sondas más cortas, mientras que retienen la alta discriminación entre el apareamiento perfecto y el desapareamiento. El aumento del número de oligonucleótidos usado para la reconstrucción de la secuencia reduce los errores derivados de la fluctuación del nivel de hibridación. Sin embargo, no se puede identificar el cambio exacto en la secuencia con este método; en algunas realizaciones, este método se combina con secuenciación para identificar la mutación.

Donde la amplificación o extensión se lleve a cabo en la micromatriz o la propia perla, se presentan tres métodos a modo de ejemplo:

40 En la estrategia de minisequenciación, se fija un cebador específico de mutación sobre el portaobjetos y después de una reacción de extensión con didesoxinucleótidos fluorescentes, se captura la imagen de la micromatriz con un escáner.

45 En la estrategia de extensión de cebadores, se diseñan dos oligonucleótidos para la detección de las secuencias no mutantes y mutantes, respectivamente. La reacción de extensión se lleva a cabo posteriormente con un nucleótido fluorescentemente marcado y los restantes nucleótidos no marcados. En cualquier caso, el material de partida puede ser cualquiera de una muestra de ARN o un producto de ADN amplificado por PCR.

50 En la estrategia de matrices de marca, se lleva a cabo una reacción de extensión en disolución con cebadores específicos, que llevan una secuencia de 5' determinada o "marca". El uso de micromatrices con oligonucleótidos complementarios a estas secuencias o "marcas" permite la captura de los productos resultantes de la extensión. Los ejemplos de esto incluyen la micromatriz de alta densidad "Flex-flex" (Affymetrix).

55 Para diagnóstico genético rentable, en algunas realizaciones, la necesidad de reacciones de amplificación y purificación presenta desventajas para los métodos de extensión/amplificación en chip o en perla en comparación con los métodos basados en hibridación diferencial. Sin embargo, todavía se pueden usar técnicas para detectar y diagnosticar condiciones según la invención.

60 Normalmente, el análisis de micromatrices o perlas se lleva a cabo usando técnicas de hibridación diferencial. Sin embargo, la hibridación diferencial no produce especificidad o sensibilidad tan alta como los métodos asociados a la amplificación en portaobjetos de vidrio. Por este motivo, se necesita el desarrollo de algoritmos matemáticos, que aumenta la especificidad y sensibilidad de la metodología de hibridación (Cutler DJ, Zwick ME, Carrasquillo MN, Yohn CT, Tobi KP, Kashuk C, Mathews DJ, Shah N, Eichler EE, Warrington JA, Chakravarti A. Genome Research; 11 :1913-1925 (2001). Se conocen en la técnica los métodos de genotipificación usando micromatrices y perlas.

65 La plataforma de genotipificación para su uso en los métodos de la presente invención se puede basar en el sistema de genotipificación de SNP TaqMan® OpenArray® SNP disponible de Life Technologies. Más detalles del sistema

de genotipificación TaqMan® y el formato OpenArray® están disponibles de la página web de Life Technologies, Applied Biosystems, por ejemplo, TaqMan® OpenArray® Genotyping Getting Started Guide, © 2010 Life Technologies Corporation.

- 5 Alternativamente o además, la plataforma de genotipificación para su uso en los métodos de la presente invención se puede basar en el sistema de genotipificación de IFCs de matriz dinámica de Fluidigm. Más detalles del sistema de genotipificación de IFCs de matriz dinámica están disponibles de la página web de Fluidigm.

Ejemplos

10 **Ejemplo 1 - Selección de 16 polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) para una herramienta de predicción genética de diabetes de tipo 2 en poblaciones mejicanas (y latinas)**

15 Se priorizaron SNPs de los metanálisis más grandes de los estudios de asociación del genoma completo (GWAS) existentes realizados en poblaciones europeas y otras poblaciones, con las suposiciones de que: (1) sus efectos en otras poblaciones eran generalizables y (2) el tamaño de muestras más grande disponible proporcionó las estimaciones más robustas del tamaño de efecto verdadero. Se usó el conjunto de datos SIGMA1 GWAS para garantizar que los SNPs propuestos tuvieran efectos coherentes en la población mejicana. Se tomaron en consideración las frecuencias alélicas en mejicanos, para maximizar la potencia predictiva de un SNP al nivel de población (tamaño del efecto × frecuencia alélica). Para maximizar la flexibilidad y minimizar el coste, se eligió una única matriz de 16 SNPs. Se decidió que la matriz no incluiría marcadores informativos del linaje.

20 Se clasificaron los SNPs por su razón de probabilidades en el conjunto de datos más grande disponible (Morris et al., Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes. Nature Genetics (2012) 44:981-990), seguido por su valor de P para asociación en ese conjunto de datos de GWAS. Se alinearon con los mismos SNPs o con representantes en los mismos loci en los otros dos conjuntos de datos de GWAS. Se buscó concordancia con el conjunto de datos transétnico de DIAGRAM Consortium (DIAGRAM Consortium. Genome-wide trans-ancestry meta-analysis provides insight into the genetic architecture of type 2 diabetes susceptibility. Nature Genetics (2014) 46:234-244).

25 Se ha informado de una variante de baja frecuencia en *HNF1A* (c. 1522G>A[p.E508K]) que se asocia a diabetes de tipo 2 en una población latina (The SIGMA Type 2 Diabetes Consortium, JAMA, 2014; 311(22), pp. 2305-2314).

30 Se rechazaron SNPs si tenían frecuencias alélicas <8 % en mejicanos (con la excepción de HNF1A E508K), o una dirección divergente de efecto en SIGMA GWAS (The SIGMA Consortium: Sequence variants in SLC16A11 are a common risk factor for type 2 diabetes in Mexico. Nature (2014) 506:97-101); en cambio, se promovieron si tuvieron una $P < 0,003$ (modelo de responsabilidad sin ajuste de IMC) con una razón de probabilidades constante en SIGMA (The SIGMA Consortium, Nature (2014) 506:97-101).

35 La lista se modificó basándose en los siguientes criterios adicionales: (1) donde el SNP ensayado en publicaciones previas estuvo en fuerte desequilibrio de enlace con otro SNP, para lo que sirvió un representante casi perfecto, se seleccionó en su lugar el SNP que codificó un cambio de aminoácido o que tuvo efectos ligeramente más fuertes en mejicanos (por ejemplo, *SLC30A8*, *KCNJ11*, *JAZF1*).

40 También se incluyó una variante recientemente descubierta por SIGMA, localizada en un supuesto sitio de corte y empalme para un gen candidato altamente relevante (*INS-IGF2*), que tiene un efecto sustancial en poblaciones mejicanas.

45 En *KCNQ1*, se eligió el SNP asociado a T2D en asiáticos del este y mejicanos en lugar del SNP europeo debido a que el SNP europeo no era un buen representante para el SNP asiático del este/mejicano.

50 Se generó una lista consenso de SNPs (Tabla 1). La fuente en azul indica las razones de probabilidad y los valores de P obtenidos para un representante del mismo SNP/locus en SIGMA. La posición se indica según el ensamblaje 36, a menos que se especifique de otro modo.

55 La Tabla 2 muestra genes diana, identificadores rs de SNP, localización de cromosomas y nucleótidos (ensamblaje 37) y secuencia contexto de SNP para cada uno de los 16 SNPs.

Tabla 1 - 16 SNPs de la herramienta DIABETESpredict

| Locus | Lead SNP | Cr | Posición | Riesgo | Alt | RAF Eur | RAF Mex | OR Eur Metabochip | P Eur Metabochip | OR Eur transétnico | Meta P transétnico | SIGMA OR no BMI | SIGMA P no BMI |
|----------|-------------|----|---|--------|-----|---------|---------|---------------------------------|------------------------|---------------------------------|-----------------------|---------------------------------|-----------------------|
| SLC16A11 | rs75493593 | 17 | 6,945,087 (ensamblaje 37) 121,437,091 | T | G | 0,02 | 0,30 | N/A | N/A | N/A | N/A | 1,29 (1,20-1,38) | 5,5x10 ⁻¹² |
| HNF1A | E508K | 12 | 114,748,339 | A | G | N/A | <0,01 | N/A 1,39 | N/A | N/A 1,40 | N/A | (2,83-10,61) 1,37 | 4,4x10 ⁻⁷ |
| TCF7L2 | rs7903146 | 10 | 22,124,094 | T | C | 0,30 | 0,23 | (1,35-1,42) 1,18 | 1,2x10 ⁻¹³⁹ | (1,35-1,46) 1,18 | 7,8x10 ⁻⁷⁵ | (1,27-1,48) 1,08 | 3,6x10 ⁻¹⁵ |
| CDKN2A/B | rs10811661 | 9 | 20,787,688 | T | C | 0,82 | 0,89 | (1,15-1,22) 1,17 | 3,7x10 ⁻²⁷ | (1,13-1,24) 1,20 | 1,1x10 ⁻²⁷ | (0,98-1,20) 1,05 | 1,3x10 ⁻¹ |
| CDKAL1 | rs7756992 | 6 | 20,787,688 | G | A | 0,26 | 0,34 | (1,14-1,20) 1,14 | 7,0x10 ⁻³⁵ | (1,16-1,25) 1,16 | 1,6x10 ⁻²⁶ | (0,98-1,13) 1,12 | 1,7x10 ⁻¹ |
| SLC30A8 | rs3802177 | 8 | 118,254,206 | G | A | 0,70 | 0,75 | (1,11-1,17) 1,13 | 1,3x10 ⁻²¹ | (1,11-1,22) 1,13 | 1,8x10 ⁻¹⁸ | (1,05-1,21) 1,12 | 1,8x10 ⁻³ |
| IGF2BP2 | rs4402960 | 3 | 186,994,381 | T | G | 0,31 | 0,25 | (1,10-1,16) 1,13 | 2,4x10 ⁻²³ | (1,09-1,17) 1,13 | 9,5x10 ⁻¹⁸ | (1,04-1,20) 1,17 | 2,3x10 ⁻³ |
| FTO | rs9936385 | 16 | 52,376,670 | C | T | 0,39 | 0,27 | (1,10-1,16) 1,13 | 2,6x10 ⁻²³ | (1,09-1,18) 1,16 | 1,2x10 ⁻¹² | (1,08-1,27) 1,10 | 1,1x10 ⁻⁴ |
| PPARG | rs1801282 | 3 | 12,368,125 | C | G | 0,88 | 0,91 | (1,09-1,17) 1,11 | 1,1x10 ⁻¹² | (1,10-1,23) 1,15 | 5,7x10 ⁻¹⁰ | (1,00-1,21) 1,06 | 4,0x10 ⁻² |
| HHEX/IDE | rs1111875 | 10 | 94,452,862 | C | T | 0,58 | 0,64 | (1,09-1,14) 1,11 | 2,0x10 ⁻¹⁹ | (1,11-1,19) 1,09 | 3,2x10 ⁻¹⁹ | (0,99-1,13) 1,14 | 9,0x10 ⁻² |
| ADCY5 | rs11717195 | 3 | 124,565,088 | T | C | 0,78 | 0,73 | (1,08-1,14) 1,11 | 6,5x10 ⁻¹⁴ | (1,05-1,14) 1,12 | 2,2x10 ⁻⁸ | (1,06-1,22) 1,16 | 2,7x10 ⁻⁴ |
| JAZF1 | rs849135 | 7 | 28,162,938 | G | A | 0,52 | 0,67 | (1,08-1,13) 1,10 | 3,1x10 ⁻¹⁷ | (1,08-1,17) 1,09 | 1,7x10 ⁻⁹ | (1,08-1,24) 1,13 | 2,3x10 ⁻⁵ |
| WFS1 | rs4458523 | 4 | 6,340,887 2,161,530 | G | T | 0,59 | 0,76 | (1,07-1,12) | 2,0x10 ⁻¹⁵ | (1,06-1,13) | 2,1x10 ⁻⁹ | (1,05-1,21) 1,28 | 1,2x10 ⁻³ |
| INS-IGF2 | rs149483638 | 11 | (ensamblaje 37) | C | T | N/A | 0,92 | N/A | N/A | N/A | N/A | (1,08-1,51) 1,31 | 3,5x10 ⁻³ |
| KCNQ1 | rs2237897 | 11 | 2,815,122 | C | T | 0,95 | 0,73 | 1,09 | 1,2x10 ⁻¹¹ | 1,09 | 1,7x10 ⁻¹⁴ | (1,22-1,41) 1,08 (1,01-1,15) | 8,0x10 ⁻¹³ |
| KCNJ11 | rs5219 | 11 | 17,365,206 | T | C | 0,39 | 0,39 | (1,06-1,11) 1,07 (1,05-1,10) | 8,5x10 ⁻¹⁰ | (1,04-1,13) 1,08 (1,04-1,12) | 3,2x10 ⁻¹¹ | (1,22-1,41) 1,08 (1,01-1,15) | 2,3x10 ⁻² |

Tabla 2 Secuencia contexto de SNP

| Diana | ID de rs | Localización (ens. 37) | Secuencia contexto de SNP | SEQ ID NO: |
|----------|-------------|---------------------------|---|---------------|
| TCF7L2 | rs7903146 | c. 10: 114758349 | TAGAGAGCTAAGCACTTTTTAGATA[C/T] TATATAATTTAATTGCCGTATGAGG | 1 |
| - | rs10811661 | c. 9: 22134094 | CAGCTCACCTCCAGCTTTAGTTTTT[C/T] CATGACAGTAAGTCTATTACCCTCC | 2 |
| CDKAL1 | rs7756992 | c. 6: 20679709 | ATATCCCCCCTGTATTTTAGTTTT[A/G] GATCTACAGTTATGTAGCAATGAGC | 3 |
| SLC30A8 | rs3802177 | c. 8: 118185025 | TAAGGAACCAAAGGAAGAAATTCAT[A/G] TCATGGTGCAATGCACATTTTATCT | 4 |
| IGF2BP2 | rs4402960 | c. 3: 185511687 | AGTAAGGTAGGATGGACAGTAGATT[G/T] AAGATACTGATTGTGTTTGCAAACA | 5 |
| FTO | rs9936385 | c. 16: 53819169 | CATATGAAGAGGGATTTTTTGCCT[C/T] CTTGGTTCACATATCCAGTA | 6 |
| - | rs1111875 | c. 10: 94462882 | GACCCTGAGTGCAGGTTGACAGCTC[C/T] AGAGGAAATGACTTGATGGTACGGA | 7 |
| ADCY5 | rs11717195 | c. 3: 123082398 | TTGAACAGGGCTTTATGTCCGAGGA[C/T] GATTATAAAATTTAACAATTAGGAG | 8 |
| JAZF1 | rs849135 | c. 7: 28196413 | ACCACTGCTCTATAAGCAAGAGTAC[A/G] TCACCAAGAAATTTAAATTCAGATC | 9 |
| KCNQ1 | rs2237897 | c. 11: 2858546 | TCAGTGGTGCCAGGGAGCTGGGGA[C/T] GAGGGGCCTCATCCTTCCCCTGAGC | 10 |
| KCNJ11 | rs5219 | c. 11: 17409572 | CGCTGGCGGGCACGGTACCTGGGCT[C/T] GGCAGGGTCTCTGCCAGGCGTGTC | 11 |
| HNF1 | rs483353044 | c. 12: 121437101 | GCCAGCCCTCTACAGCCACAAGCCC[G/A] AGGTGGCCCAGTACACCCACACGGG | 12 |
| WFS1 | rs4458523 | c. 4: 6289986 | AATTTCTTTCTGACCTCACAGCCA[G/T] ATTGTACTTTAAAGTTCTCCACACA | 13 |
| SLC16A11 | rs75493593 | c. 17: 6945087 | GGAAGCAGCTCCCCGTCTCTGGGG[G/T] AGGCGTGGCTGGAGGGGAGGCTGGA | 14 |
| INS-IGF2 | rs149483638 | c. 11: 2161530 | TTTGGGGGTCTGGGGAAACCATCTC[C/T] TGGAGAGTTTGAACGATGTAAGAAA | 15 |
| PPARG | rs1801282 | c. 3: 12393125 | AACTCTGGGAGATTCTCCTATTGAC[C/G] CAGAAAGCGATTCTTCACTGATAC | 16 |

Se puede emplear el sistema de genotipificación TaqMan® OpenArray® (Life Technologies Corp., Calsbad, California) como una plataforma de alta resolución para la genotipificación de muestras de ADN derivadas de sujeto en cada uno de los 16 SNPs identificados en la Tabla 1.

Para cada SNP, se proporcionaron dos sondas específicas de alelo. Cada una de las sondas específicas de alelo está conjugada con un colorante fluorescente, un extintor y un dominio de unión al surco menor (MGB). Los colorantes indicadores fluorescentes se eligen de manera que la sonda específica para el alelo de riesgo sea distinguible de la sonda específica para el alelo no de riesgo en el SNP en cuestión. Por ejemplo, se emplearon los fluoróforos VIC y 6-FAM y se unieron covalentemente al extremo 5' de la sonda específica de alelo respectiva. Cerca del extremo 3' de la sonda específica de alelo, se unió un extintor no fluorescente. El MGB aumenta la temperatura de fusión (T_m) de las sondas proporcionando gran separación entre sondas apareadas y desapareadas y aumentando así la exactitud de genotipificación. También se proporcionan cebadores directos e inversos que flanquean el SNP de interés.

Están comercialmente disponibles cebadores prediseñados y sondas específicas de alelo para el sistema de genotipificación TaqMan®. Por ejemplo, están disponibles los reactivos de genotipificación TaqMan para rs7903146 en *TCF7L2* de Life Technologies con el código de producto C_29347861_10.

Más detalles del sistema de genotipificación TaqMan® la y el formato OpenArray® están disponibles de la pagina web de Life Technologies, Applied Biosystems, por ejemplo, TaqMan® OpenArray® Genotyping Getting Started Guide, © 2010 Life Technologies Corporation.

Se eligió el formato OpenArray® de 3072 orificios pasantes, actuando cada orificio pasante de reactor de 33 nl. Este formato de placa permite el examen de 144 muestras frente a los 16 SNPs únicos por placa.

Los resultados de genotipificación se muestran en la Figura 1. Cada uno del alelo 1 homocigótico, alelo 2 heterocigótico y homocigótico se distingue demostrando que la plataforma de genotipificación de SNP TaqMan® OpenArray® SNP es capaz de discriminar los posibles genotipos diferentes en cada una de las 16 dianas de SNP.

Ejemplo 2 - Estudio para determinar la genética de la respuesta aguda de glipizida y metformina en seres humanos con la variante HNF1A E508K

Como se describe en SIGMA Type 2 Diabetes Consortium, JAMA, 2014; 311(22), pp. 2305-2314, se identificó una mutación en *HNF1A*, que está presente en 2 % de personas con diabetes estudiadas en México. Esta mutación se localiza en el exón 8 (E508K), que provoca un defecto parcial en la función de la proteína. Este hallazgo está de acuerdo con lo que se ha observado en otras mutaciones descritas del exón 8; y está asociado a la diabetes de aparición tardía. La caracterización clínica y bioquímica inicial de sujetos con la mutación *HNF1A* E508K mostró que los portadores de la variante tenían perfiles clínicos indistinguibles de los de pacientes con diabetes de tipo 2. Se requieren estudios farmacogenéticos para demostrar que los portadores con la variante E508K responden selectivamente a sulfonilureas. El probar esta hipótesis tiene implicaciones prácticas, debido a que sería posible proponer una prueba genética simple y barata que ayudaría a los profesionales clínicos a seleccionar el tratamiento farmacológico apropiado en un número significativo de casos.

Hipótesis

Individuos con el alelo de riesgo E508K de *HNF1* alfa tendrán una mayor respuesta hipoglucémica a glipizida y una respuesta similar a la de metformina en comparación con los sujetos de control emparejados por edad y sexo.

Descripción del estudio en curso

Se medirá la respuesta aguda y a plazo medio a glipizida en pacientes con y sin la variante E508K de *HNF1A*. El estudio consistirá en dos fases. Se invitará a los pacientes a participar en ambos, pero el sujeto de la investigación tendrá la libertad de elegir solo una de las etapas del estudio.

Etapas 1

Estudio abierto de una dosis única de glipizida (5 mg) en pacientes con y sin la variante E508K de HNF1A

Objetivo principal: Comparar el cambio en glucosa entre portadores y no portadores después de una única administración por vía oral de 5 mg de glipizida. Los objetivos secundarios son: (1) Comparar el cambio de la concentración plasmática de insulina entre portadores y no portadores después de una única administración por vía oral de 5 mg de glipizida y (2) comparar el número de pacientes que padecen hipoglucemia sintomática entre portadores y no portadores después de una única administración por vía oral de 5 mg de glipizida.

Diseño del estudio

Será un estudio monocéntrico, abierto. Se incluirán en el estudio aproximadamente 100 sujetos elegibles con diabetes de tipo 2 en México en dos grupos. En el primer grupo, se incluirán 50 pacientes que llevan la mutación p.E508K en *HNF1A* ("portadores"). Los pacientes serán reclutados de las bases de datos existentes en las que ya han sido genotipificados como portadores de *HNF1A* p.E508K. En el segundo grupo, se invitará a 50 pacientes que no presentan la mutación en *HNF1A* p.E508K ("no portadores"). La inclusión del grupo de no portadores empezará después de que el grupo de portadores complete los procedimientos del estudio, para seleccionar los controles teniendo en cuenta características de sexo, IMC, edad y edad de aparición de la diabetes. Los pacientes en el grupo de no portadores se pueden identificar de la misma base de datos u otras fuentes. Se reclutará un grupo adicional de 25 pacientes con pérdida de función *MODY3* en *HNF1A* de Noruega y servirá de control positivo para la afección experimental (un aumento en la sensibilidad a sulfonilurea). Los pacientes serán elegibles para el estudio si tienen: (1) Diabetes de tipo 2; (2) se tratan ellos mismos con menos de dos agentes antidiabéticos orales; (3) pueden someterse de forma segura a un reposo de 7 días de fármacos antidiabéticos; (4) tienen HbA1c $\leq 7,5$ %; y (5) no tienen una alergia o intolerancia a glipizida u otras medicaciones con homología a sulfonilureas.

Los pacientes elegibles interrumpirán la terapia antidiabética e iniciarán un periodo de reposo de 7 días, durante el cual se monitorizarán para hiperglucemia que requiere el reinicio de la terapia antidiabética. Si la glucemia en ayunas es ≥ 250 mg/dl (13,9 mmol/l) durante el periodo de reposo, el paciente deberá ponerse en contacto con el centro del estudio en el plazo de 24 horas, y el investigador determinará si el participante debe intentar mejorar la dieta y el ejercicio para mantener el control glucémico o si el participante tiene que terminar su participación en el estudio y volver a empezar el tratamiento. El paciente se excluirá de la participación adicional si más de 2 valores de glucemia en ayunos consecutivos son ≥ 250 mg/dl. Los pacientes que no reciben el tratamiento con fármaco para hiperglucemia se saltarán el periodo de reposo y empezarán el tratamiento del estudio.

Los pacientes serán ingresados en el centro de investigación clínica después de ayunar durante 8 horas. Se insertará un angiocatóter intravenoso 20g o 22g para las extracciones de sangre en múltiples puntos de tiempo. Se obtendrán muestras durante los periodos en ayunas. Los pacientes con una glucemia en ayunas (basada en la evaluación hecha usando un glucómetro) de > 80 mg/dl recibirán glipizida 5 mg por vía oral. Los sujetos con glucemia < 80 mg/dl no recibirán la dosis de glipizida.

Se medirán las concentraciones de glucosa, insulina y otras hormonas (GLP1) y metabolitos 15, 30, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos después de la administración de 5 mg de glipizida.

En el caso de desarrollar síntomas de hipoglucemia, se medirá inmediatamente la glucemia. El paciente recibirá intervención de hipoglucemia ingiriendo hidratos de carbono si la glucemia es <50 mg/dl con o sin síntomas de hipoglucemia, o si la glucemia es < 70 con síntomas de hipoglucemia. A todos los pacientes se les dará una comida rica en hidratos de carbono y grasa al final de la visita del estudio. La visita terminará cuando: 1) el paciente complete un periodo de observación de 240 minutos o se haya intervenido debido a la hipoglucemia y 2) el valor de glucemia 30 minutos después de terminar la comida del estudio es > 80 mg/dl. Se les indicará a los participantes que coman más hidratos de carbono, si los valores de glucemia < 80 mg/dl. Después de completarse el protocolo del estudio, se les aconsejará a los pacientes que reanuden su terapia antidiabética.

Métodos estadísticos

El objetivo primario es comparar la respuesta a la glucosa entre portadores y no portadores después de la administración de glipizida. El criterio principal de valoración será la delta de la concentración de glucosa durante la prueba. Los criterios secundarios de valoración serán la menor glucosa (con o sin ajuste para glucosa del nivel inicial) y el área bajo la curva de la glucosa durante la curva (ajustada para glucosa en el nivel inicial). Otros criterios secundarios de valoración incluyen el cambio en la concentración de insulina y el número de pacientes que padecen hipoglucemia sintomática. El valor pico de insulina (ajustada para insulina basal) sirve de evaluador final del efecto de la secreción de insulina. Los presentes inventores suponen una diferencia de 18 mg/dl (1 mmol/l) en la delta de glucosa entre portadores y no portadores, una desviación estándar de 27 mg/dl (1,5 mmol/l) y alfa = 0,05. Por tanto, los presentes inventores tienen una potencia de 85 % con 41 sujetos en cada grupo. Se enrolarán cincuenta pacientes en cada grupo para garantizar un número suficiente de sujetos evaluables.

Etapa 2

Un estudio abierto para comparar el efecto del tratamiento de 12 semanas con glipizida o metformina en HbA1c en portadores del ensayo de variante p.E508K de HNF1A

Objetivo principal: Comparar la disminución en los niveles de HbA1c entre portadores y no portadores de la mutación p.E508K *HNF1A* después de 12 semanas de tratamiento con glipizida o metformina. Los objetivos secundarios son comparar las siguientes variables entre grupos de tratamiento y entre portadores y no portadores: glucemia en ayunas, glucemia posprandial e insulina, fructosamina, número de hipoglucemias sintomáticas, efectos adversos y casos que no toleraron la máxima dosis administrada.

Diseño del estudio

Este es un estudio monocéntrico, abierto, de grupos paralelos, aleatorizado, de 12 semanas, que pretende comparar el efecto de la glipizida y la metformina entre portadores de la mutación p.E508K *HNF1A*. Se enrolarán aproximadamente 100 pacientes con esta mutación en *HNF1A* p.E508K ("portadores"). Los pacientes se reclutarán de bases de datos existentes de personas ya genotipificadas como portadores de p.E508K *HNF1A*.

Los pacientes serán elegibles para el estudio si: (1) tienen diabetes de tipo 2; (2) se tratan con menos de dos agentes antidiabéticos orales; (3) pueden someterse de forma segura a un reposo de 6 días de fármacos antidiabéticos; (3) tienen HbA1c entre 7-10 %; (4) tienen tasa de filtración glomerular estimada superior a 60 ml/min/1,73 m² y tienen AST y ALT < 2,5 veces superior al límite normal; (5) ninguna alergia o intolerancia a glipizida, metformina u otras medicaciones con homología a sulfonilureas.

Los pacientes elegibles suspenderán su terapia antidiabética y tendrán un periodo de reposo de 6 semanas, durante el cual se monitorizarán oportunamente para detectar la presencia de hiperglucemia que requiera el reinicio de la terapia antidiabética. A todos los pacientes se les dará un plan de dieta y ejercicio al principio del periodo de lavado. A los pacientes se les enseñará a medir su glucosa capilar en plasma en ayunas. Si la glucemia es ≥ 250 mg/dl (13,9 mmol/l) durante el periodo de lavado, el paciente deberá ponerse en contacto con el centro del estudio en el plazo de 24 horas, y el investigador determinará si el participante debe empezar el tratamiento con un inhibidor farmacológico de DPP-IV para el control de glucosa. El paciente se excluirá de la participación adicional si, después de empezar la terapia con DPP-IV, tiene más de 2 valores de glucemia en ayunos consecutivos ≥250 mg/dl durante el periodo de reposo. Los pacientes con glucemia ≥ 250 mg/dl (13,9 mmol/l) y síntomas de hiperglucemia reanudarán su tratamiento antidiabético previo según el tratamiento habitual. Los pacientes que no reciben tratamiento con fármaco para hiperglucemia se saltarán el periodo de reposo y empezarán el tratamiento del estudio.

Al terminar el periodo de reposo, se sacarán 100 pacientes durante un periodo de tratamiento (1:1) con metformina y glipizida. Los participantes se estratificarán en cuatro grupos basándose en el valor inicial de HbA1c en el periodo de reposo (7,0-9,0 % o 9,1-10,5 %) y basándose en el estado de tratamiento al principio del periodo de tratamiento primario (no tratados frente a tratados con DPP-IV). Si el paciente está tomando un DPP-IV en la aleatorización, esta medicina puede continuar durante todo el periodo de tratamiento primario.

Antes de recibir la primera dosis de tratamiento, todos los pacientes serán referidos al centro de investigación después de 8 horas de ayuno (día de tratamiento 1). Se insertará un angiocatéter intravenoso 20g o 22g para las extracciones de sangre en múltiples puntos de tiempo. Se obtendrán muestras durante el ayuno. Los pacientes se someterán a una prueba para calibrar la tolerancia a alimentos mixtos, que se debe completar 15 minutos después de comenzar la comida. Se evaluarán la glucemia, insulina y la muestra para medidas de investigación adicionales 15, 30, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos después de empezar la comida. Al final del periodo de observación de 240 minutos, los pacientes recibirán una dieta rica en hidratos de carbono y grasa. La primera dosis de la medicación del estudio se administrará en el centro de investigación. Los pacientes recibirán glipizida (5 mg, por vía oral) o metformina (500 mg por vía oral). Los pacientes tendrán una evaluación de glucosa capilar 1 hora después de la comida rica en hidratos de carbono y grasa; y recibirán el alta si su glucemia es superior a 80 mg/dl.

Entonces, los pacientes empezarán la fase ambulatoria del tratamiento del estudio en el día 2. Para pacientes aleatorizados para recibir metformina, iniciarán una dosis de 500 mg dos veces al día durante 1 semana, luego 500 mg cada mañana y 500 mg cada noche durante una semana, y luego 1 g dos veces al día durante las 10 semanas restantes. Los pacientes empezarán a tomar glipizida a 5 mg dos veces al día durante 1 semana, seguido por 10 mg dos veces al día durante 1 semana, y 20 mg dos veces al día durante las 10 semanas restantes. La dosis de tratamiento se reducirá a la mitad si existen más de 2 episodios de hipoglucemia sintomática o cualquier otro efecto secundario relacionado con los fármacos del estudio administrados. Se le pedirá a los pacientes que midan su glucemia capilar en ayunas al menos dos días a la semana.

Los pacientes regresarán a la clínica después de 6 semanas y 12 semanas de tratamiento para que se les tome una muestra de sangre en condiciones en ayunas y revisión del cumplimiento y tolerancia de la medicación. Pacientes con más de 2 valores en glucemia consecutiva en ayunas ≥ 250 mg/dl o signos intensos y síntomas de hiperglucemia durante el tratamiento principal empezarán terapia antidiabética adicional. Se permitirán terapias distintas de metformina o sulfonilureas durante el tratamiento principal para el control de agentes de hiperglucemia intensa.

Después de 12 semanas de tratamiento se realizará una prueba de alimentos mixtos, similar a la realizada al principio del tratamiento. Se colocará un angiocatéter intravenoso 20g o 22g para extracciones de sangre en múltiples momentos de tiempo para obtener muestras durante el ayuno. Los pacientes se someterán a una prueba de tolerancia a alimentos mixtos que se debe completar 15 minutos después de empezar la comida. Tomarán la dosis apropiada asignada al principio del tratamiento de prueba. Se evaluarán la glucemia, insulina y la muestra para medidas de investigación adicionales 15, 30, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos después de empezar la comida. Al final del periodo de observación de 240 min, los pacientes recibirán una dieta rica en hidratos de carbono y grasa. Después de completarse el protocolo del estudio, los pacientes continuarán usando la terapia antidiabética antes del estudio.

Métodos estadísticos

El objetivo primario será comparar la reducción en HbA1c a las 12 semanas de glipizida o metformina. Se comparará la reducción en HbA1c en la semana 12 entre glipizida y metformina en el nivel inicial usando análisis de la covarianza (ANCOVA), ajustado para factores de estratificación en la aleatorización (estado al comienzo del periodo de tratamiento y tratamiento principal con HbA1c). Se realizará el análisis con respecto al criterio principal de valoración centrándose en un enfoque de intención para tratar y uno que incluye solo los casos que completaron el estudio. El objetivo secundario es comparar los cambios en la glucosa en ayunas, cambios en glucosa posprandial e insulina, cambio en fructosamina, peso, tasas de hipoglucemia, seguridad general y el número de pacientes que no llegan al tratamiento con dosis máxima. Estos criterios serán exploratorios y no se ajustarán para multiplicidad.

Para el criterio principal de valoración, se asume una reducción en HbA1c de -0,66 % en el grupo de glipizida frente al grupo de metformina, una desviación estándar de 1,1 %, y $\alpha = 0,05$. Por tanto, la potencia del estudio es 80 % con 45 sujetos en cada grupo. Se enrolarán cincuenta pacientes en cada grupo para garantizar un número suficiente de sujetos evaluables.

Posibles beneficios del estudio

Si el estudio obtiene resultados positivos, el estudio justificará estudios con monitorización a largo plazo que medirán desenlaces clínicos. El objetivo final es integrar los resultados de estos estudios genéticos en aplicaciones clínicas.

Justificación de fármacos del estudio

Se seleccionó glipizida debido a que tenía una alta velocidad de absorción oral, empieza actuando en el plazo de 30 minutos y su vida es corta (2-8 horas). La dosis propuesta (5 mg) es normalmente la dosis de partida usada en pacientes con diabetes de tipo 2. El riesgo de inducir hipoglucemia intensa es bajo (0,19-2,5 episodios por 1000 años-paciente). La metformina es la única biguanida disponible. Es la base del tratamiento farmacológico de la diabetes. La dosis propuesta está asociada a una baja tasa de acontecimientos adversos gastrointestinales. Los fármacos se proporcionarán a los participantes sin coste alguno.

Procedimientos de laboratorio

Se usarán reactivos comerciales para la medición de glucosa, insulina, C-péptido, creatinina y GLP1. Se hará una prueba de embarazo a mujeres que están dentro de su edad reproductiva usando la primera orina de la mañana.

5 Posibles riesgos y molestias:

10 Se incluirán poblaciones no vulnerables, mujeres embarazadas o pacientes con afecciones consideradas contraindicaciones para el uso de los fármacos del estudio (tales como insuficiencia hepática e insuficiencia renal (<60 ml/min/1,73 m²).

15 La molestia esperada es los síntomas de la hipoglucemia provocados por la venopunción, efectos gastrointestinales (diarrea y flatulencia) provocados por la metformina y el estrés de participar en un estudio de investigación o el conocimiento de la existencia de anomalías en el metabolismo de los hidratos de carbono. Para reducir el riesgo de hipoglucemia intensa repetida, se tomarán mediciones de glucosa capilar y el protocolo implementado reduce la exposición de pacientes a medicinas si se considera que su glucemia está en riesgo (véanse los párrafos previos). Estarán disponibles los recursos requeridos para tratar hipoglucemia administrando glucosa por vía oral o por vía intravenosa. El volumen de sangre total en la visita 1 es 167 ml y 118 ml en la visita 2. Las muestras se obtendrán por personal cualificado. Las molestias esperadas son lesiones en la piel, moretones y dolor. La metformina puede provocar hinchazón o diarrea. Si la diarrea es intolerable, se excluirá el paciente del estudio.

20 Los resultados preliminares del estudio que se han reunido hasta la fecha indican que la variante E508K HNF1A está de hecho asociada a una mayor respuesta a glipizida. El análisis estadístico de los resultados está en curso.

25 **Ejemplo 3 - Intervenciones para la gestión de la diabetes**

Creación de un juego informal individual móvil básico para reforzar hábitos alimenticios eficaces y la conciencia

30 El juego se desarrollaría para la plataforma Android usando una interfaz táctil. El objetivo didáctico sería reforzar los beneficios de comer los tipos adecuados de alimentos. Un propósito clave sería desarrollar un estilo de partida que fuera "adictivo" para estimular la partida a largo plazo.

35 Posible estilo de juego: Desplazamiento hacia adelante (por ejemplo, Minion Rush) o desplazamiento lateral (por ejemplo, Super Mario Bros), donde recolectar "buenos" alimentos te hace más fuerte y "malos" alimentos de hace más débil. Acciones simples (por ejemplo, deslizar un dedo hacia arriba para saltar). Quizás tener un "superalimento" especial que te permitiera aumentar el poder y contrarrestar el efecto negativo de un mal alimento. Refuerzo de conceptos relacionados con la glucemia mediante indicadores que suben y bajan con el tiempo o cambios en el aspecto visible del personaje. Refuerzo de los aspectos negativos de ciertos alimentos malos clave mediante monstruos relacionados/etc. que se deben vencer como parte del juego. Hasta un grado limitado, el jugador puede elegir opciones de comida y recompensas ofrecidas en la partida basándose en la selección de las opciones disponibles (por ejemplo, seleccionando ciertos niveles del juego a jugar - por ejemplo, jugar un nivel "rico en hidratos de carbono" - o mediante la selección de un "perfil de alimentación"). Estas opciones serían predeterminadas para reflejar hábitos alimenticios/comidas típicas y deseadas en la población objetivo. Los jugadores podrían elegir basándose en lo que les gusta comer o han comido recientemente, o simplemente explorar el impacto de diferentes preferencias. Éstos no tendrían la calidad de "autoinformar", pero se diseñarían para educar / reforzar los pros y los contras de diferentes elecciones (por ejemplo, elegir una dieta rica en azúcares / hidratos de carbono puede permitirles ir más rápido en el juego, pero hace que se ofrezcan menos opciones de recompensa en el juego y dificulta completar totalmente el nivel).

50 **Creación de un juego de interacción longitudinal virtual**

Esto implica la creación de un "amigo" electrónico al que el jugador cuidaría y con el que se podría identificar. El juego se desarrollaría probablemente para el ordenador personal para permitir que interrumpa las actividades normales del individuo (es difícil que un proceso interrumpa a otro en android, aunque puede enviar notificaciones simples). El objetivo didáctico sería reforzar los efectos a largo plazo de la comida buena o mala. Un objetivo de la evaluación sería recabar alguna información de autoinforme sobre los hábitos alimenticios y el conocimiento de la diabetes del propio individuo. Un propósito clave sería desarrollar una interacción con la que el jugador quisiera involucrarse en periodos breves durante un largo periodo de tiempo.

60 Posible estilo de juego: Una criatura virtual amistosa "aparece" de forma parcialmente aleatoria en el dispositivo del jugador pidiendo que la alimenten. Por ejemplo, este amigo podría ser un alienígena, un monstruo extraño, un personaje de tipo lego, un humano virtual, etc. (no un animal puesto que podría enviar mensajes confusos y provocar que los niños alimentaran a sus mascotas reales con comida para humanos que podría ser mala para ellos). La elección del avatar se haría a partir de un conjunto de opciones predeterminadas. Cuando el amigo aparece, el jugador tiene que elegir algunos alimentos que darle. En un enfoque de diseño, los presentes inventores usan esta acción como una oportunidad para recoger datos sobre qué han estado comiendo recientemente los

niños. En otras palabras, el amigo virtual es un imitador y siempre quiere comer lo que comió el niño. Cuando se alimenta bien, está "contento". En este estado de ánimo, puede aparecer ocasionalmente con una pregunta relacionada con la diabetes (por ejemplo, el amigo pregunta "¿es bueno que coma esto?" o "¿por qué no puede hacer xxx?"), o debido a que quiere jugar/llamar la atención (por ejemplo, ser acariciado). Si se alimenta mal (especialmente repetidamente con el tiempo), se pone triste (por ejemplo, gimotea) y no quiere jugar (es decir, aunque lo solicite el jugador - el jugador debe actuar ahora para rectificar la situación dándoles de comer bien). Los presentes inventores pueden reforzar la conciencia de ciertos comportamientos negativos en las acciones del amigo. Por ejemplo, queriendo siempre "más" de algo dulce y estimulando al niño para que le diga al amigo que no, es malo para ti.

Creación de un juego informal con evaluación del comportamiento en la vida real

Esto implica crear un juego con un marco de apoyo que permita la captura y el análisis de lo que un jugador está en realidad comiendo en la vida real. Usa un concepto de "pago por jugar" donde los jugadores deben hacer fotos de sus comidas y subirlas para desbloquear capacidades/avanzar más en el juego. Para evitar problemas con el análisis automático de imágenes, los presentes inventores hacen uso de una colaboración masiva mediante un servicio tal como Mechanical Turk de Amazon. El jugador necesita cargar, regular y frecuentemente, una foto que haya hecho con su dispositivo de su comida (por ejemplo, su desayuno). Los miembros del público evalúan la imagen de acuerdo con un conjunto de pautas de alimentación saludable para la diabetes y proporcionan una puntuación para la comida (se pueden usar múltiples miembros del público para cada imagen para proporcionar redundancia y mejorar la fiabilidad de la medida). Una vez han hecho una foto, juegan un juego informal. En un momento posterior - una vez se ha analizado la foto - ganan capacidades como recompensa en el juego si han estado comiendo bien (o quizás encuentran elevadas probabilidades de dificultades si han estado comiendo mal). El juego usa una arquitectura cliente-servidor para hacer un seguimiento de los datos y comportamientos del jugador.

Posible estilo de juego: La partida sería similar al juego de la Opción 2. Las opciones de alimentación y recompensas disponibles en el juego se generarían basándose en las imágenes tomadas por el jugador.

Elementos del sistema: Se desarrollarían varios elementos finales para respaldar la recogida y evaluación de los datos. El sistema implicaría múltiples interacciones juego-servidor, proporcionando el servidor los datos que influyen en el juego, así como recogiendo autoinformes y otros datos generados por el juego.

Creación de un juego casual con la evaluación del comportamiento en la vida real y condición social

Esto engloba los enfoques de juego descritos anteriormente con la adición de elementos de interfaz gráfica de usuario (GUI) que permiten a los jugadores mejorar las capacidades de su avatar en el juego e interacción social básica para proporcionar un medio de alto nivel de interacción entre jugadores, tales como por capacidades de intercambio social/marcador localizado/calificación compartida. No proporciona una capacidad de juego multijugador, pero puede permitir a los jugadores compartir avatares y perfiles alimenticios. El compartir entre padres e hijos por cuentas vinculadas permitirá a las familias proporcionar múltiples puntos de datos en sus hábitos alimenticios y compartir conciencia de los problemas de la diabetes.

Elementos de interacción: Los presentes inventores explorarán múltiples métodos de compartir entre jugadores para estimular un entusiasmo hacia comer de una forma más saludable. Los métodos pueden incluir: Clasificar sistemas para comidas favoritas, competiciones regionales de mejores hábitos alimenticios (por ejemplo, fotografía de comida con calificación más alta), emparejamiento para un aprendizaje conjunto potenciado y quizás incluso rescatar operaciones donde los jugadores pueden lanzarse a ayudar a un jugador a definir cómo hacer que se recupere su avatar triste/enfermo. El nivel de esfuerzo incluye múltiples rondas de diseño y múltiples iteraciones de desarrollo y despliegue para garantizar que los métodos usados tengan atractivo y sean eficaces para estimular la participación a largo plazo. Los presentes inventores explorarán visualizaciones divertidas del progreso, tales como visualizaciones "eres lo que comes" que usan caricaturas para destacar hábitos alimenticios negativos.

Elementos del sistema: Este esfuerzo implicaría la creación de un conjunto rico en interacciones entre jugadores fuera del juego. Por motivos de privacidad y seguridad, no se prevén capacidades de chat. Sin embargo, se prevé compartir "seudónimos"/apodos básicos de los jugadores y área geográfica aproximada. No se publicarán las imágenes tomadas por los usuarios sin la aprobación por un moderador para garantizar que sea apropiada y la privacidad.

Ejemplo 4 - Cálculo de la puntuación genética para el sistema DIABETESpredict

Se construyó un modelo teórico basado en casos y controles para calcular una puntuación para DIABETES predict, que incluye 16 marcadores genéticos.

Basándose en la prevalencia de diabetes mellitus de tipo 2 (DM2) en México (17 %), se incluyeron 170 casos de DM2 y 830 controles en el modelo. Basándose en la frecuencia del alelo de riesgo y la razón de probabilidades (OR), se calculó la frecuencia esperada de alelos de riesgo en los casos (a) y en los controles (c), así como la frecuencia esperada de los casos de alelo no de riesgo (b) y en controles (d), para cada uno de los marcadores incluidos en el chip "DIABETESpredict". Considerando que los marcadores están distribuidos en la población según la ley de Hardy-Weinberg, se calculó la frecuencia de genotipos homocigóticos y heterocigóticos basándose en la frecuencia alélica y según la siguiente fórmula:

$$(a + b)^2 = a^2 + 2ab + b^2.$$

5 Se construyó un algoritmo que asigna genotipos de riesgo al número de casos y controles, seleccionados al azar, según la frecuencia previamente calculada para cada marcador genético. Este algoritmo se construyó usando los programas Access / Visual Basic. Cuando un marcador de riesgo es positivo en un individuo (Caso o Control), se asigna la OR para ese marcador si es heterocigótico y OR² si es homocigótico. Cuando el genotipo es negativo para el alelo de riesgo se asigna un valor de 1. Para cada caso y control, la OR combinada se calcula multiplicando las ORs para cada uno de los 16 marcadores explorados. Finalmente, se calcula el "cambio en veces" (FC) dividiendo la OR combinada para cada caso y el control entre la mediana del valor OR del grupo de control. Con todas las FCs se genera una curva de eficacia diagnóstica (ROC), y se calcula el área bajo la curva (AUC); se calcula la mejor sensibilidad y especificidad del sistema.

15 Basándose en los datos se decidió establecer el punto de corte entre positivos y negativos en FC = 1. Los individuos con un FC ≤ 1 tienen un riesgo que es igual o inferior a la mediana del riesgo de la población general. Los individuos con un FC > 1 tienen un riesgo que es superior a la mediana de la población y los presentes inventores los dividen en 3 grupos:

- 20 Riesgo bajo: FC entre 1,01 y 1,5
- Riesgo intermedio: FC entre 1,51 y 2,0
- Riesgo alto: FC > 2,0

25 Se determinaron los siguientes valores para sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) para cada tercil:

| FC | Sensibilidad | Especificidad | VPP | VPN |
|------|--------------|---------------|------|------|
| >1 | 71,8 | 51,3 | 23,2 | 89,9 |
| >1,5 | 35,9 | 82,3 | 29,3 | 86,2 |
| >2 | 25,3 | 92,5 | 41,0 | 85,8 |

Tabla 3: Valores para OR, RAF, a, b, c y d y para 16 SNPs

| Muestra | SLC16A11 | INS-IGF2 | HNF1A | WFS1 | SLC30A8 | PPARG | IGF2BP2 | CDKAL1 | ADCY5 | JAZF1 | HHEX/IDE | KCNJ11 | KCNQ1 | TGF7L2 | FTO | CDKN2A/B |
|---------|----------|----------|-------|------|---------|-------|---------|--------|-------|-------|----------|--------|-------|--------|------|----------|
| OR | 1,29 | 1,28 | 5,48 | 1,13 | 1,12 | 1,1 | 1,12 | 1,05 | 1,14 | 1,16 | 1,06 | 1,08 | 1,31 | 1,37 | 1,17 | 1,08 |
| RAF | 0,3 | 0,92 | 0,02 | 0,76 | 0,75 | 0,91 | 0,25 | 0,34 | 0,73 | 0,67 | 0,64 | 0,39 | 0,73 | 0,23 | 0,27 | 0,89 |
| a | 177 | 468 | 50 | 391 | 385 | 459 | 135 | 177 | 377 | 351 | 327 | 204 | 390 | 145 | 150 | 449 |
| b | 323 | 32 | 450 | 109 | 115 | 41 | 365 | 323 | 123 | 149 | 173 | 296 | 110 | 355 | 350 | 51 |
| c | 150 | 460 | 10 | 380 | 375 | 455 | 125 | 170 | 365 | 335 | 320 | 195 | 365 | 115 | 135 | 445 |
| d | 350 | 40 | 490 | 120 | 125 | 45 | 375 | 330 | 135 | 165 | 180 | 305 | 135 | 385 | 365 | 55 |

30 **Referencias**

1. Shaw et al, 2010. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diabetes Research and Clinical Practice: 293-301.

2. International Diabetes Federation, 2013.

3. Morris et al., Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes. (2012) Nature Genetics, Vol. 44(9): 981-990.

35 4. Voight et al., Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. (2010) Nature Genetics, Vol. 42(7): 579-589.

5. Diabetes Genetics Replication and Meta-analysis (DIAGRAM) Consortium, Genome-wide trans-ancestry meta-analysis provides insight into the genetic architecture of type 2 diabetes susceptibility. (2014) Nature Genetics, Vol. 46(3): 234-244.

40 6. Albrechtsen et al., Exome sequencing-driven discovery of coding polymorphisms associated with common

metabolic phenotypes. (2013) *Diabetologica*, Vol. 56(2): 298-310.

7. Lohmueller et al., Whole-exome sequencing of 2000 Danish individuals and the role of rare coding variants in type 2 diabetes. (2013) *American Journal of Human Genetics*, Vol. 93(6): 1072-1086.

8. Steinthorsdottir et al., Identification of low-frequency and rare sequence variants with elevated or reduced risk of type 2 diabetes. (2014) *Nature Genetics*, Vol. 46(3): 294-298.

5 9. Villalpando et al., Prevalence and distribution of type 2 diabetes mellitus in Mexican adult population: a probabilistic survey. (2010) *Salud Pública de Mexico*, Vol 52: S19-S26.

10. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, 2011.

11. The SIGMA Type 2 Diabetes Consortium, Sequence Variants in SLC16A11 are a Common Risk Factor for Type 2 Diabetes in Mexico. *Nature*, Vol. 506 (7486): 97-101 (2013).

12. Patterson et al., Population Structure and Eigenanalysis. *PLoS Genetics*, Vol. 2(12): e190 (2006).

13. *Ibid.*

14. The 1000 Genomes Project Consortium, An Integrated Map of Genetic Variation from 1,092 Human Genomes. *Nature*, Vol. 491(7422): 56-65 (2012).

15 15. Williams et al., Phasing of Many Thousands of Genotyped Samples. *American Journal of Human Genetics*, Vol. 91(2): 238-251 (2012).

16. Howie et al., A Flexible and Accurate Genotype Imputation Method for the Next Generation of Genome-Wide Association Studies. *PLoS Genetics*, Vol. 5(6): e1000529 (2009).

17. Zaitlen, et al. Informed Conditioning on Clinical Covariates Increases Power in Case-Control Association Studies. *PLoS Genetics*, Vol. 8(11): e1003032 (2012).

20 18. Villalpando et al., Prevalence and Distribution of Type 2 Diabetes Mellitus in the Mexican Adult Population: A Probabilistic Survey. *Salud Pública de Mexico* 52, S19-S26 (2010).

19. Purcell et al., PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *The American Journal of Human Genetics*, Vol. 81: 559-575 (2007).

25 20. Devlin et al., Genomic Control for Association Studies. *Biometrics* Vol. 55(4): 997-1004 (1999).

21. Alexander et al., Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome research*, Vol. 19(9): 1655-1664 (2009).

22. Li et al., Worldwide Human Relationships Inferred from Genome-Wide Patterns of Variation. *Science*, Vol. 319(5866): 1100-1104 (2008).

30 23. Baran et al., Fast and Accurate Inference of Local Ancestry in Latino Populations. *Bioinformatics*, Vol. 28(10): 1359-1367 (2012).

24. Li 2008; Reich et al., Reconstructing Native American Population History. *Nature*, Vol. 488(7411): 370-374 (2012).

25. *Ibíd.*

35 26. Behar et al., The Genome-Wide Structure of the Jewish People. *Nature*, Vol. 466(7303): 238-242 (2010).

27. The International HapMap 3 Consortium, Integrating Common and Rare Genetic Variation in Diverse Human Populations. *Nature*, Vol. 467(7311): 52-58 (2010), Supplemental Information.

28. Delaneau et al., A Linear Complexity Phasing Method for Thousands of Genomes. *Nature Methods*, Vol. 9: 179-181, (2012).

40 29. Willer et al. METAL: Fast and Efficient Meta-Analysis of Genomewide Association Scans. *Bioinformatics*, Vol. 26: 2190-2191 (2010).

30. Prium et al. LocusZoom: Regional Visualization of Genome-Wide Association Scan Results. *Bioinformatics*, Vol. 26: 2336-2337 (2010).

45 LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> PATIA BIOPHARMA, S.A. de C.V.
SIMON BUELA, Laureano
- 50 <120> Métodos, herramientas y sistemas para la evaluación, prevención, gestión y selección de tratamiento para diabetes de tipo 2
- <130> CSC/FP7190846
- 55 <150> GB 1504607.1
<151> 18-03-2015
- <160> 16
- 60 <170> PatentIn versión 3.3
- <210> 1
<211> 51
<212> ADN
- 65 <213> *Homo sapiens*

ES 2 794 950 T3

<400> 1
tagagagccta agcacttttt agataytata taatttaatt gccgtatgag g 51

5 <210> 2
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 2
cagctcacct ccagcttttag ttttcycatg acagtaagtc tattaccctc c 51

15 <210> 3
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 3
atattcccc ctgtatttta gtttrgatc tacagttatg tagcaatgag c 51

25 <210> 4
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 4
taaggaacca aaggaagaaa ttcattrcoat ggtgcaatgc acattttatc t 51

35 <210> 5
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 5
agtaaggtag gatggacagt agattkaaga tactgattgt gtttgcaaac a 51

45 <210> 6
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 6
catatgaaga gggatttttt tgctycttg gttcactgca tattccocagt a 51

55 <210> 7
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 7
gaccctgagt gcaggttcag acgtcyagag gaaatgactt gatggtacgg a 51

65 <210> 8
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

70 <400> 8
ttgaacaggg ctttatgtcc gaggaygatt ataaaattta acaattagga g 51

75 <210> 9
 <211> 51

ES 2 794 950 T3

<212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 9
 5 **accactgctc tataagcaag agtacrtcac caagaaattt aaattcagat c** **51**

 <210> 10
 <211> 51
 <212> ADN
 10 <213> *Homo sapiens*

 <400> 10
tcagtgggtgc ccagggagct ggggaygagg ggcctcatcc ttccctgag c **51**

 <210> 11
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 15

 <400> 11
 20 **cgctggcggg cacggtacct gggctyggca gggctctctg ccaggcgtgt c** **51**

 <210> 12
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 25

 <400> 12
gccagccctc tacagccaca agcccraggt ggcccagtac acccacacgg g **51**
 30

 <210> 13
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 35

 <400> 13
aatttctttc ctgacctcac agccakattg tactttaaag ttctccac a **51**

 <210> 14
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 40

 <400> 14
 45 **ggaagcagct cccccgtctc tggggkaggc gtggctggag gggaggctgg a** **51**

 <210> 15
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 50

 <400> 15
tttgggggtc tggggaaacc atctcytga gagtttgaac gatgtaagaa a **51**

 <210> 16
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 55

 <400> 16
 60

aactctggga gattctccta ttgacscaga aagcgattcc ttcactgata c

51

REIVINDICACIONES

1. Un método de evaluación de la susceptibilidad a diabetes de tipo 2 en un sujeto humano, comprendiendo el método determinar en una muestra la identidad de al menos un alelo en cada uno de los siguientes polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs):

- SLC16A11 - rs75493593;
- HNF1A - rs483353044;
- TCF7L2 - rs7903146;
- CDKN2A/B - rs10811661;
- CDKAL1 - rs7756992;
- SLC30A8 - rs3802177;
- IGF2BP2 - rs4402960;
- FTO - rs9936385;
- PPARG - rs1801282;
- HHEX/IDE - rs1111875;
- ADCY5 - rs11717195;
- JAZF1 - rs849135;
- WSF1 - rs4458523;
- INS-IGF2 - rs149483638;
- KCNQ1 - rs2237897; y
- KCNJ11 - rs5219.

2. El método según la reivindicación 1, en el que la presencia de uno o más de los siguientes alelos de riesgo indica que el sujeto tiene mayor susceptibilidad a diabetes de tipo 2:

- T en rs75493593 en SLC16A11;
- A en rs483353044 en HNF1A;
- T en rs7903146 en TCF7L2;
- T en rs10811661 en CDKN2A/B;
- G en rs7756992 en CDKAL1;
- G en rs3802177 en SLC30A8;
- T en rs4402960 IGF2BP2;
- C en rs9936385 en FTO;
- C en rs1801282 en PPARG;
- C en rs1111875 en HHEX/IDE;
- T en rs11717195 en ADCY5;
- G en rs849135 en JAZF1;
- G en rs4458523 en WSF1;
- C en rs149483638 en INS-IGF2;
- C en rs2237897 en KCNQ1; y
- T en rs5219 en KCNJ11.

3. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el método comprende determinar el número y la identidad de alelos de riesgo de SNP, y en donde el método comprende además calcular una puntuación de riesgo de diabetes de tipo 2 para dicho sujeto.

4. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el sujeto tiene uno o más factores de riesgo clínico para diabetes de tipo 2, seleccionados de: índice de masa corporal > 30, perímetro de la cintura > 80 cm para mujeres o > 94 cm para hombres, edad > 40, alteración de la regulación de la glucosa, elevada glucemia en ayunas y resistencia a la insulina.

5. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que se determina que el sujeto lleva uno o más de dichos alelos de riesgo en uno o más de dichos SNPs y, por tanto, está en mayor riesgo de diabetes de tipo 2, comprendiendo el método además una intervención seleccionada del grupo que consiste en:

- poner electrónicamente a disposición del sujeto un videojuego, teniendo dicho videojuego objetivos de juego predeterminados, seleccionados para reforzar hábitos alimenticios saludables que evitan o minimizan el consumo de comida y de bebida diabetogénica, y/o para reforzar los hábitos de ejercicio;
- poner a disposición del sujeto un monitor de actividad del movimiento, siendo dicho monitor de actividad del movimiento capaz de grabar y/o de informar datos de actividad del movimiento del sujeto a una interfaz de visualización, que presenta los datos de actividad del movimiento o un resumen o una puntuación derivada de dichos datos;
- poner a disposición del sujeto un dispositivo de recuento calórico, siendo dicho dispositivo capaz de grabar y/o de informar datos nutricionales dietéticos sobre la comida y/o sobre la bebida consumidas por el sujeto; y
- poner a disposición del sujeto una red social, teniendo dicha red consejos de autocontrol de la diabetes de tipo 2,

una pluralidad de participantes diabéticos en la red y un sistema de recompensa que estimula la alimentación saludable y/o el ejercicio.

5 6. El método según la reivindicación 5, en el que el videojuego comprende un personaje jugador al que se le presentan elecciones de comida y/o de bebida, en el que el juego recompensa la selección de comida y/o de bebida saludable por el personaje jugador.

10 7. El método según la reivindicación 5, en el que el monitor de actividad del movimiento comprende un pedómetro que comunica o que se puede configurar para comunicarse con un ordenador o con un dispositivo electrónico móvil.

8. El método según la reivindicación 5, en el que el dispositivo de recuento calórico comprende un dispositivo electrónico móvil, programado para recibir información sobre la ingesta alimentaria del sujeto y para visualizar valores calóricos correspondientes a la ingesta alimentaria.

15 9. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que al sujeto se le clasifica en una de las tres siguientes categorías de riesgo según el valor de cambio en veces (FC):

riesgo bajo: FC entre 0 y 1,00
 riesgo moderado: FC entre 1,01 y 1,5;
 riesgo intermedio: FC entre 1,51 y 2,0; y
 riesgo alto: FC superior a 2,0.

25 10. El método según la reivindicación 9, en el que se calcula el valor de cambio en veces para el sujeto asignando una puntuación de riesgo a cada SNP, en donde el valor de cambio en veces se da multiplicando juntas las puntuaciones de riesgo de cada uno de los SNPs, y en donde para cada SNP la puntuación de riesgo se asigna del siguiente modo:

a la ausencia de marcador de riesgo, es decir, de genotipo de alelo no de riesgo homocigótico, en el SNP se le asigna un valor de 1,
 a la presencia de un único marcador de riesgo, es decir, de genotipo heterocigótico, en el SNP se le asigna un valor igual a la razón de probabilidades (OR) para el alelo de riesgo en ese SNP,
 a la presencia de dos marcadores de riesgo, es decir, de genotipo de alelo de riesgo homocigótico, se le asigna un valor igual al cuadrado de la razón de probabilidades (OR)².

35 11. El método según la reivindicación 10, en el que la OR para el alelo de riesgo en cada SNP es del siguiente modo:

T en rs75493593 en SLC16A11 = 1,29 ± 0,05;
 A en rs483353044 en HNF1A = 5,48 ± 0,05;
 T en rs7903146 en TCF7L2 = 1,37 ± 0,05;
 T en rs10811661 en CDKN2A/B = 1,08 ± 0,05;
 G en rs7756992 en CDKAL1 = 1,05 ± 0,05;
 G en rs3802177 en SLC30A8 = 1,12 ± 0,05;
 T en rs4402960 IGF2BP2 = 1,12 ± 0,05;
 C en rs9936385 en FTO = 1,17 ± 0,05;
 C en rs1801282 en PPARG = 1,1 ± 0,05;
 C en rs1111875 en HHEX/IDE = 1,06 ± 0,05;
 T en rs11717195 en ADCY5 = 1,14 ± 0,05;
 G en rs849135 en JAZF1 = 1,16 ± 0,05;
 G en rs4458523 en WSF1 = 1,13 ± 0,05;
 C en rs149483638 en INS-IGF2 = 1,28 ± 0,05;
 C en rs2237897 en KCNQ1 = 1,31 ± 0,05; y
 T en rs5219 en KCNJ11 = 1,08 ± 0,05.

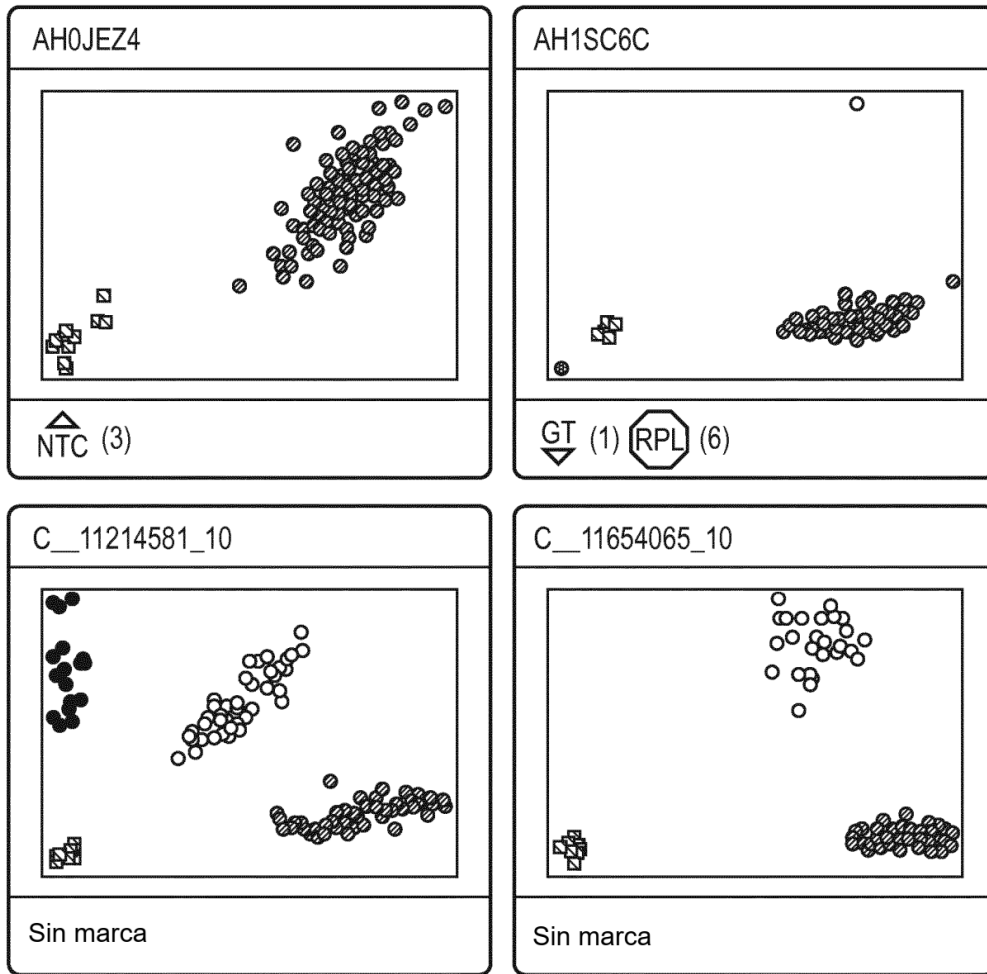


FIG. 1A

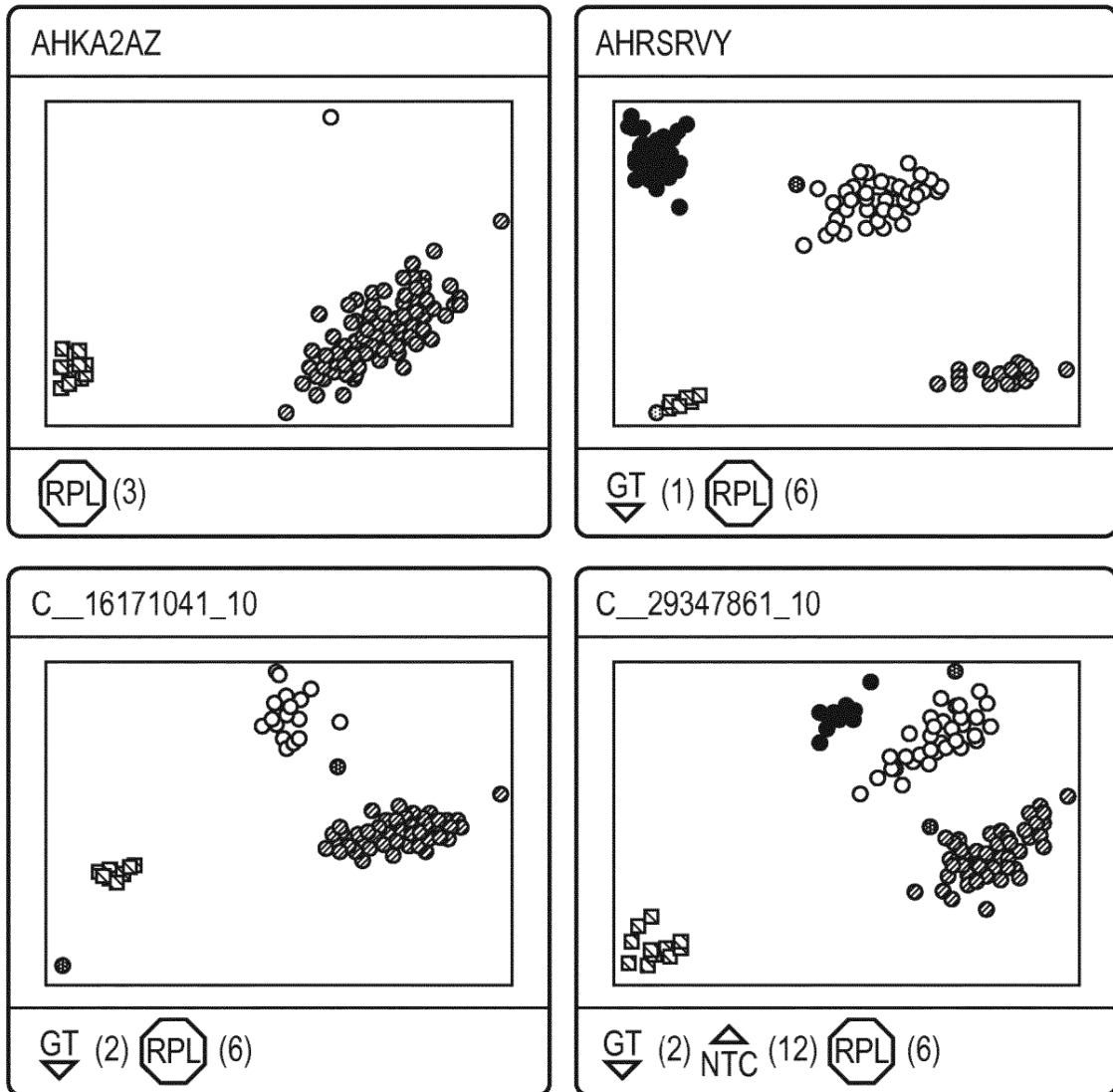


FIG. 1B

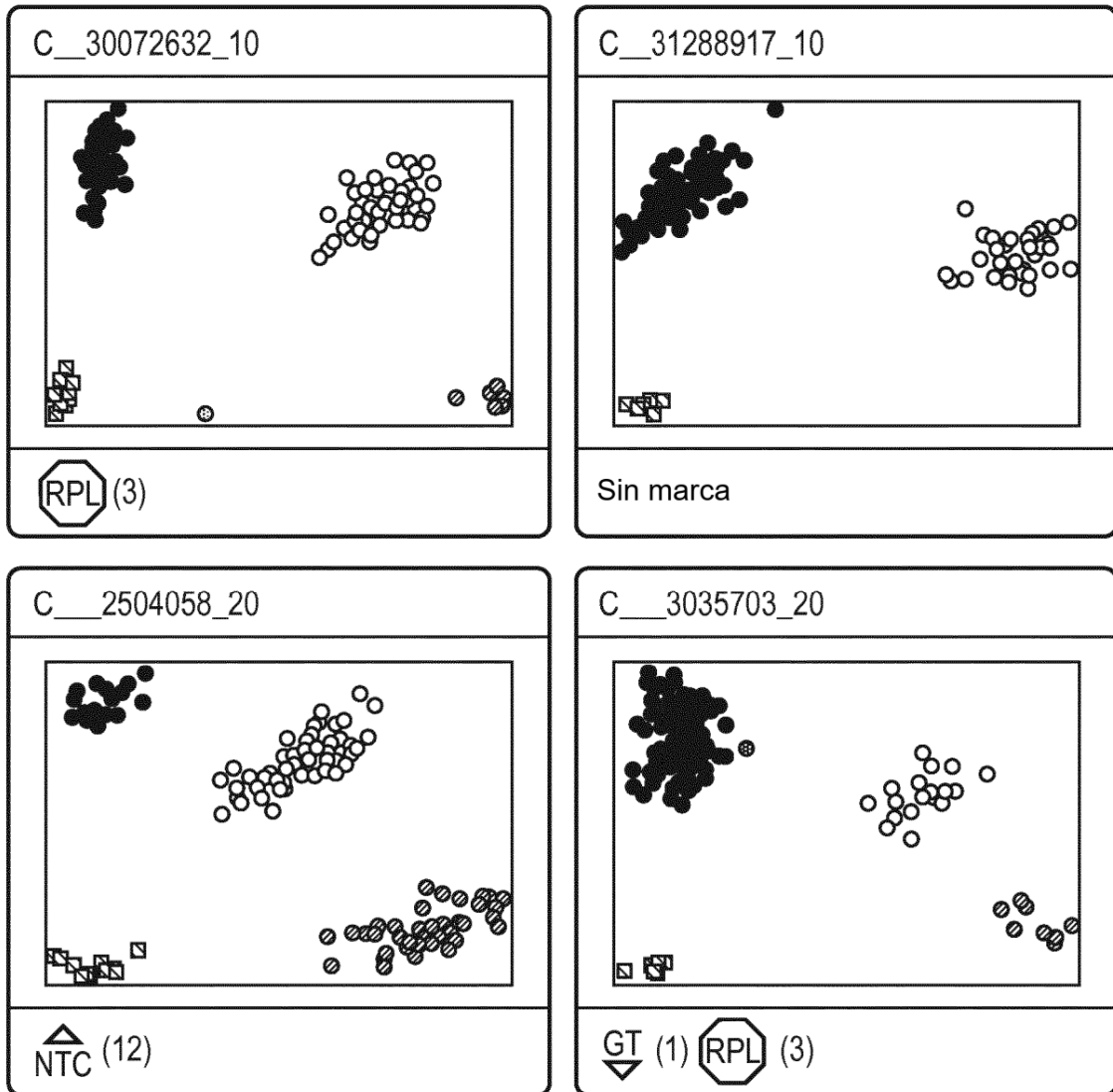


FIG. 1C

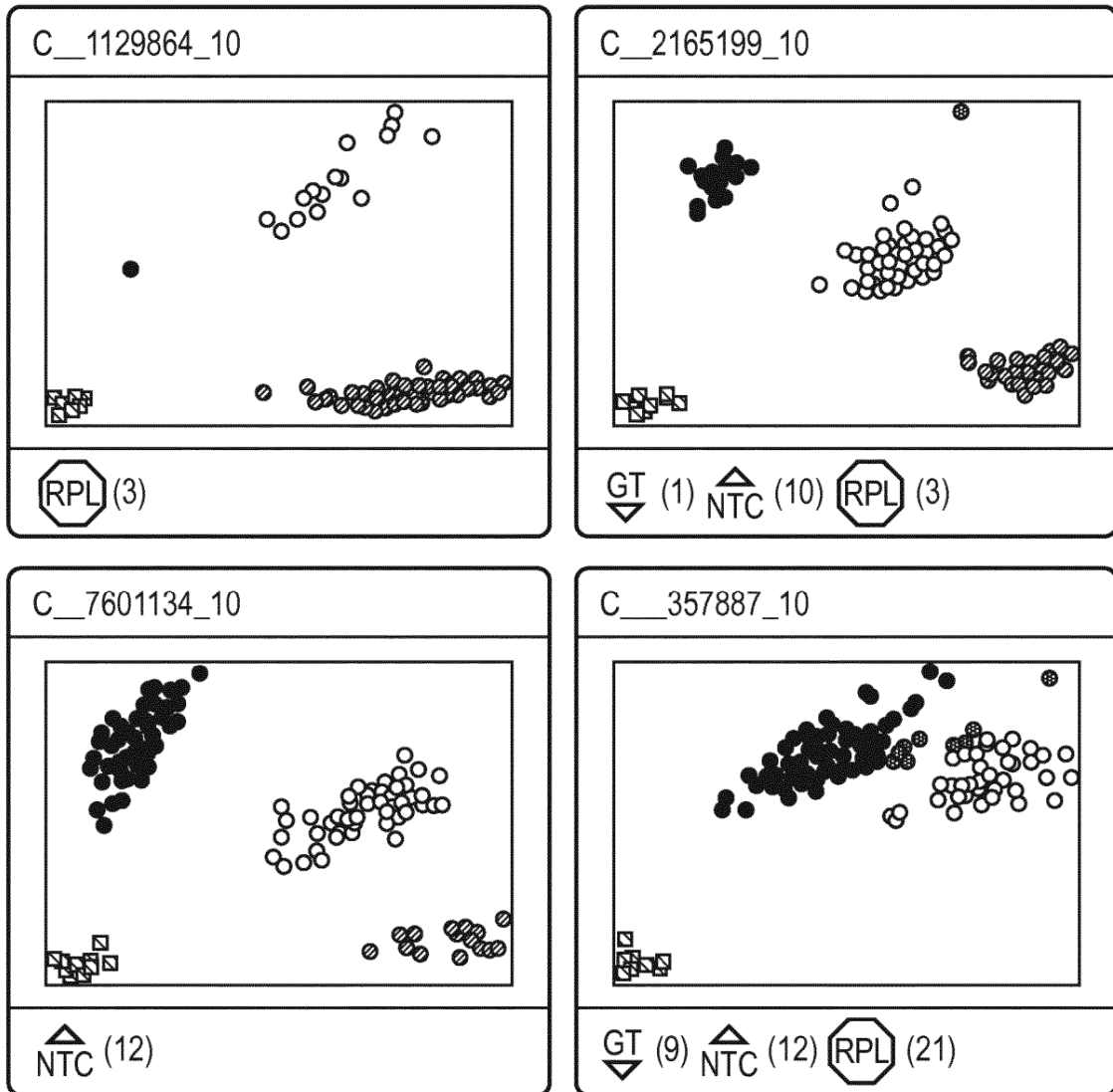


FIG. 1D

Impacto de la evaluación del riesgo genético de DT2 y la intervención técnico-educativa sobre el comportamiento de la salud en México
REVISIÓN

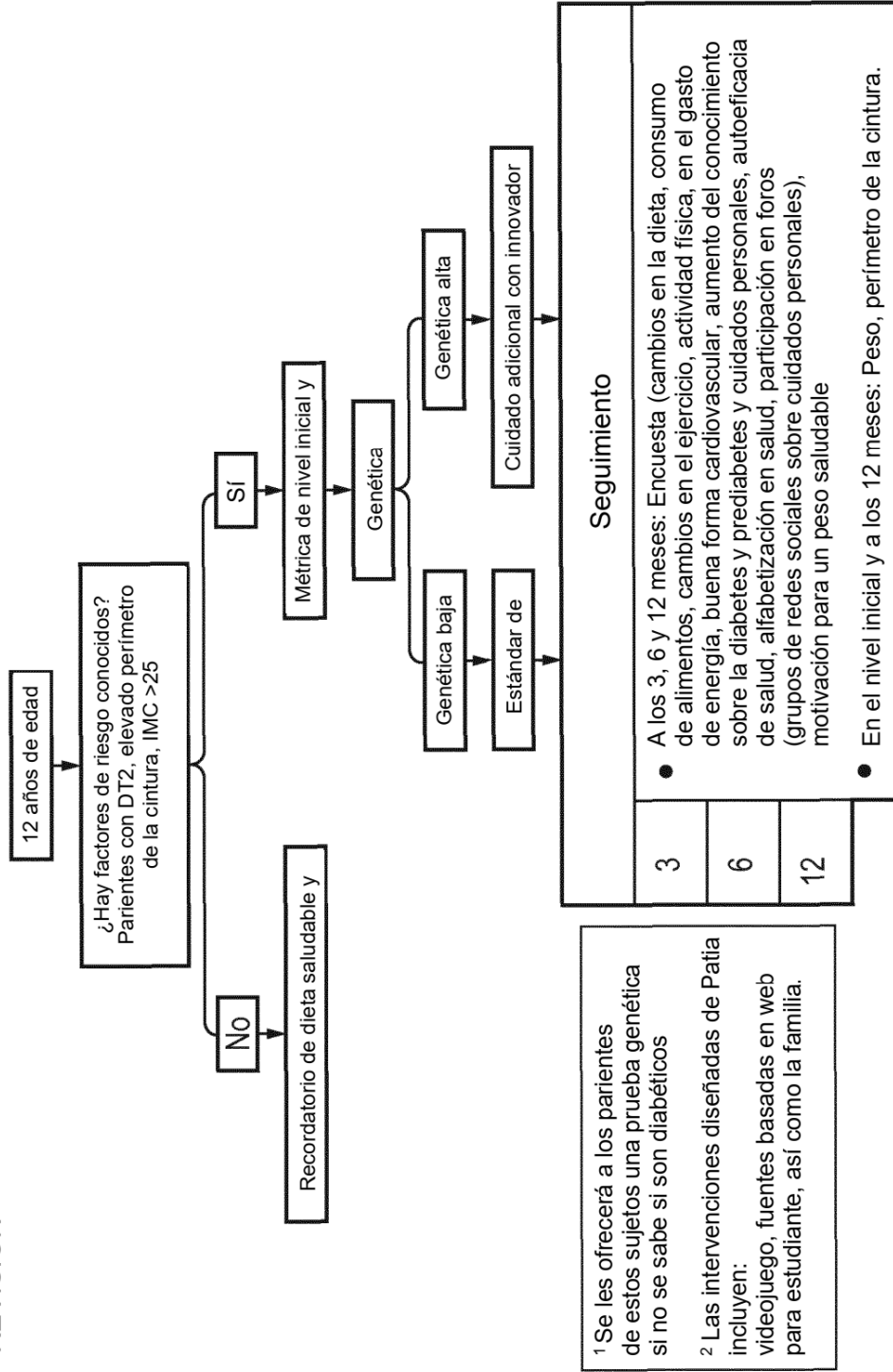


FIG. 2

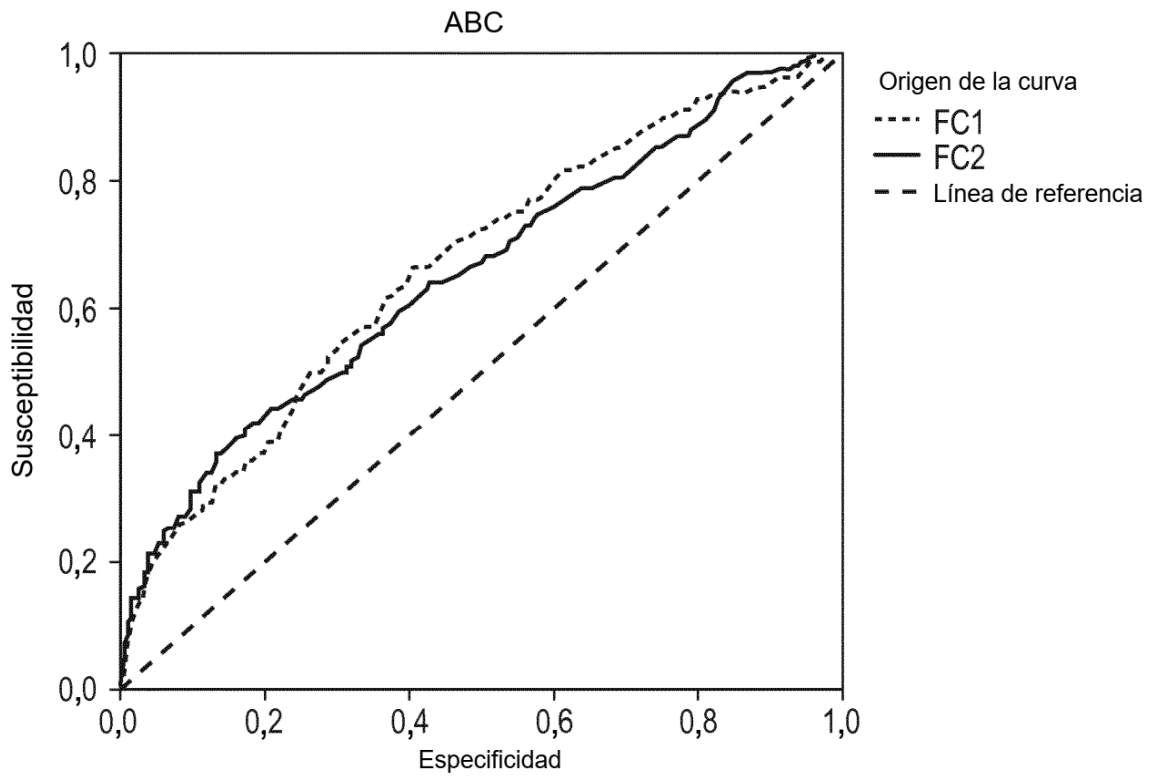


FIG. 3A

Área bajo la curva

| Resultado de la comparación | Área | error estándar (a) | asintótico (b) | Límite inferior del intervalo de confianza del 95 % | Límite superior del intervalo de confianza del 95 % |
|-----------------------------|-------|--------------------|----------------|---|---|
| FC1 | 0,666 | 0,023 | 0 | 0,62 | 0,711 |
| FC2 | ,652 | ,024 | ,000 | ,605 | ,700 |

En los resultados de la comparación, FC1 y FC2, hay al menos una correspondencia entre el grupo positivo real y el grupo negativo real.

- a. Según suposición no paramétrica
- b. Hipótesis nula: área verdadera = 0,5

FIG. 3B

| | | FC1 |
|--|-------|-----------|
| El riesgo es inferior a la media de la población | | 0,5 |
| | | 0,51-1,0 |
| El riesgo es más alto que la media de la población | bajo | 1,01-1,5 |
| | medio | 1,51- 2,0 |
| | alto | >2,0 |

FIG. 3C

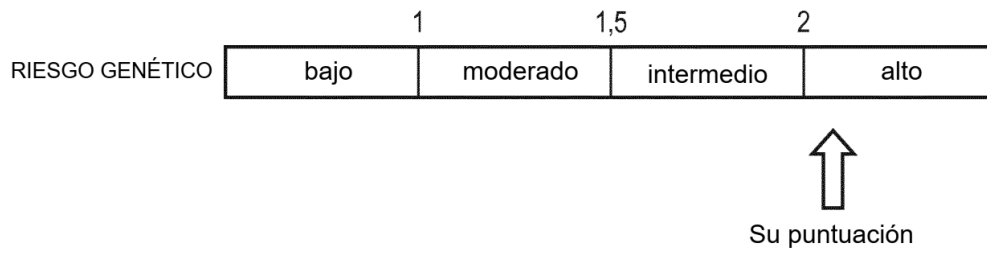


FIG. 4