

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 539 825**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.05.2009 E 09747650 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.04.2015 EP 2291543**

54 Título: **Marcadores genéticos para control de peso y métodos de uso de los mismos**

30 Prioridad:

16.05.2008 US 53888 P

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

06.07.2015

73 Titular/es:

INTERLEUKIN GENETICS, INC. (50.0%)

135 Beaver Street

Waltham, MA 02452, US y

**ACCESS BUSINESS GROUP INTERNATIONAL
LLC (50.0%)**

72 Inventor/es:

DRAPER, COLLEEN;

WILKINS, LEON;

BRETON, GARY;

PERUSSE, LOUIS;

DEBUSK, RUTH;

KREMPIN, DAVID y

RAMAKRISHNAN, SHYAM

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 539 825 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

Marcadores genéticos para control de peso y métodos de uso de los mismos

5 **Campo de la invención**

La presente solicitud se refiere a métodos para determinar el genotipo metabólico de un sujeto y métodos para seleccionar un régimen dietético/terapéutico apropiado o recomendaciones de estilo de vida basándose en el perfil metabólico del sujeto y su susceptibilidad a problemas de control de peso adversos.

10

Antecedentes

De acuerdo con un informe publicado en 1998 por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la obesidad ha alcanzado proporciones epidémicas en todo el mundo: aproximadamente 1.700 millones de personas en todo el mundo tienen sobrepeso y 300 millones de ellas están obesas. En los Estados Unidos aproximadamente 127 millones de adultos tienen sobrepeso y 69 millones están obesos. Los sujetos obesos tienen un riesgo aumentado de desarrollar una o más afecciones médicas graves incluyendo diabetes, enfermedad cardíaca, alta presión sanguínea y alto nivel de colesterol en sangre. La prevalencia de la obesidad ha aumentado más del doble en los últimos 25 años y alcanza ahora el 31 % entre los adultos de Estados Unidos de 20 años de edad y mayores. Se han visto mayores tasas de obesidad entre afroamericanos e hispanoamericanos, especialmente entre las mujeres (del 30 % al 50 %).

El aumento en la prevalencia de la obesidad observada en todo el mundo en las últimas décadas se ha producido en un ambiente cambiante caracterizado por una reducción progresiva del nivel de actividad física y la abundancia de alimentos altamente apetitosos. El informe de la OMS ha identificado estos cambios como las dos principales características modificables del estilo de vida moderno que promueven el desarrollo de la obesidad. Sin embargo, a pesar del hecho de que las personas están expuestas al mismo ambiente, no todo el mundo se hace obeso, lo que sugiere un papel para un perfil genético del sujeto en el desarrollo de los problemas de control de peso. Es decir, la genética determina la susceptibilidad de un sujeto a hacerse obeso cuando se expone a un ambiente desfavorable así como el modo en que puede responder a la dieta y el ejercicio.

Sorensen *et al*, 2006, (PLOS Clínica Trials Public Library of Science, US 1(2): p 1-14), presenta un método para investigar el efecto de un panel de 42 SNP en 26 genes candidatos en pérdida de peso inducida por dieta. Por lo tanto, se requiere el análisis de un conjunto relativamente grande de SNP.

Marti *et al*, 2008, (Proceedings of the Nutrition Society, 67: p 1-8) analiza el riesgo de obesidad dependiendo de (1) variantes genéticas (SNP) y (2) exposición a riesgos ambientales. Se analizan 22 genes que se cree que están implicados en la obesidad, incluyendo PPARy2 (Pro12Ala), β -adrenoceptor 2 (Gln27Glu) y proteínas de desacoplamiento 1, 2, 3.

El documento WO2005/079325 se refiere a un método para evaluar la susceptibilidad de un sujeto a una enfermedad relacionada genéticamente, incluyendo determinar la presencia o ausencia de factores de riesgo correlacionados con la enfermedad, asignando una puntuación de riesgo a cada uno de los factores de riesgo presentes y combinando puntuaciones de riesgos para calcular una puntuación de susceptibilidad general. En relación con la obesidad, se describen varios genes que afectan al equilibrio de energía.

De Luis *et al*, 2006, (Annals of Nutrition and Metabolism 50 (4): p 354-360) desvela la influencia del polimorfismo de FABP2 Thr54 (rs1799883) en respuesta a la modificación del estilo de vida, incluyendo en pacientes obesos. Se examina un único locus polimórfico y se relaciona con una dieta hipocalórica particular.

Memisoglu *et al*, 2003, (Human Molecular Genetics, 12(22): p 2923-9) analiza la interacción entre un polimorfismo de PPARG y el consumo de grasa en la dieta en relación con la masa corporal.

Marti *et al*, 2002, (Diabetes, Obesity and Metabolism 4/6: p 428-430) presenta resultados que sugieren que el polimorfismo de TRP64/ARG del gen de ADRB3 parece ser un factor de riesgo para obesidad que depende de un estilo de vida sedentario.

Ukkola *et al*, 2001, (International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity, 25(11): p 1604-8) indica que las variantes del receptor Beta-2 adrenérgico están asociadas con la acumulación de grasa subcutánea en respuesta a sobrealimentación a largo plazo.

En consecuencia, existe la necesidad de un medio para establecer un programa de pérdida de peso personalizado que considera la susceptibilidad genética de una persona a la obesidad para mejorar los resultados de pérdida de peso y mantenimiento de peso en relación con un programa similar no teniendo en cuenta la información genética. Existe la necesidad de un medio para ligar el genotipo metabólico de un sujeto a la respuesta a la dieta y/o ejercicio.

65

La descripción del presente documento de desventajas y problemas asociados con métodos conocidos no pretende de ningún modo limitar el alcance de las realizaciones descritas en el presente documento para su exclusión.

Sumario de la invención

5

La presente invención proporciona métodos y kits para determinar el genotipo metabólico de un sujeto y seleccionar un régimen terapéutico/dietético apropiado o recomendación de estilo de vida para el sujeto. De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan métodos para determinar el genotipo metabólico de un sujeto, clasificar el sujeto en una o más de una serie de categorías nutricionales y de ejercicio a las que el sujeto es probablemente sensible, y comunicar al sujeto un régimen terapéutico/dietético apropiado o recomendación de estilo de vida para el sujeto. De esta manera, puede elegirse un programa de pérdida de peso personalizado basándose en el genotipo metabólico de un sujeto. Dicho programa de pérdida de peso personalizado tendrá beneficios evidentes (por ejemplo, producirá mejores resultados con respecto a pérdida de peso y mantenimiento de peso) sobre los programas de pérdida de peso tradicionales que no tienen en cuenta la información genética.

10

15

La invención proporciona un método para seleccionar una recomendación de régimen dietético o terapéutico apropiado para un sujeto que comprende determinar el genotipo del sujeto con respecto a los loci polimórficos FABP2 (rs1799883; G/A); PPARG (rs1801282; C/G); y ADRB2 (rs1042714; C/G) y al menos uno del locus ADRB3 (rs 4994; C/T) y el locus ADRB2 (rs 1042713; A/G); en el que el genotipo del sujeto con respecto a dichos loci proporciona información acerca de la susceptibilidad aumentada del sujeto a problemas de control de peso adversos y permite la selección de un régimen terapéutico/dietético que es adecuado para el sujeto, y en el que portar el alelo ADRB2 Glu27, PPARG 12Pro/Pro y FABP2 54Thr/* clasifica al sujeto como sensible a restricción de grasas. Opcionalmente, el método comprende determinar el genotipo del sujeto con respecto tanto al locus de ADRB2 (rs4994; C/T) como al locus de ADRB2 (rs1042713; A/G).

20

25

Se desvela un método para seleccionar un régimen terapéutico/dietético apropiado o recomendación de estilo de vida para un sujeto que comprende: determinar el genotipo de un sujeto con respecto a dos cualesquiera, tres cualesquiera, o cuatro cualesquiera de loci polimórficos seleccionados del locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G), o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G), en el que el genotipo del sujeto con respecto a dichos loci proporciona información acerca de la susceptibilidad aumentada del sujeto a problemas de control de peso adversos, y permite la selección de un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida que es adecuado para la susceptibilidad del sujeto a problemas de control de peso adversos.

30

35

Se desvelan métodos para seleccionar un régimen terapéutico/dietético apropiado o recomendación de estilo de vida para un sujeto que comprenden: a) determinar el genotipo del sujeto con respecto al locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G), o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G), en los que el genotipo de un sujeto con respecto a dichos loci proporciona información acerca de la susceptibilidad aumentada del sujeto a problemas de control de peso adversos, y permite la selección de un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida que es adecuado para la susceptibilidad del sujeto a problemas de control de peso adversos.

40

45

Se desvelan métodos para seleccionar un régimen terapéutico/dietético apropiado o recomendación de estilo de vida para un sujeto que comprenden: a) determinar el genotipo del sujeto con respecto a dos cualesquiera, tres cualesquiera o cuatro cualesquiera de los loci polimórficos seleccionados del grupo que consiste en el locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G) y b) clasificar el genotipo del sujeto en una categoría de sensibilidad a nutrición y/o una categoría de sensibilidad a ejercicio. Una vez que el genotipo de un sujeto se ha clasificado o categorizado en una categoría de sensibilidad a nutrición y/o una categoría de sensibilidad de ejercicio, puede proporcionarse un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida al sujeto incluyendo, pero sin limitación, seleccionar una dieta apropiada y nivel de actividad para los que el sujeto sea probablemente más sensible.

50

55

Se desvelan métodos para seleccionar un régimen terapéutico/dietético apropiado o recomendación de estilo de vida para un sujeto que comprenden: a) determinar el genotipo del sujeto con respecto al locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G) y b) clasificar el genotipo del sujeto en una categoría de sensibilidad a nutrición y/o categoría de sensibilidad a ejercicio.

60

65

Se desvelan métodos para seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiados para un sujeto que comprenden: (a) detectar un patrón alélico de al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete o al menos ocho alelos seleccionados de los siguientes: locus FABP2 SNP rs1799883, alelo 1 (genotipo: G; aminoácido: Ala); FABP2 SNP rs1799883, alelo 2 (genotipo: A; aminoácido: Thr); PPARG SNP rs1801282, alelo 1 (genotipo: C; aminoácido: Pro); PPARG SNP rs1801282, alelo 2 (genotipo: G; aminoácido: Ala); ADRB3 SNP rs4994, alelo 1 (genotipo: T; aminoácido: Trp); ADRB3 SNP rs4994, alelo 2 (genotipo: C; aminoácido: Arg); ADRB2 SNP rs1042713, alelo 1 (genotipo: G; aminoácido: Gly); ADRB2 SNP

rs1042713, alelo 2 (genotipo: A; aminoácido: Arg); ADRB2 SNP rs1042714, alelo 1 (genotipo: C; aminoácido: Gln); y ADRB2 SNP rs1042714, alelo 2 (genotipo: G; aminoácido: Glu) en los que la presencia del patrón alélico es predictiva de la respuesta del sujeto a la dieta y/o ejercicio y (b) seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida que es adecuado para la respuesta predicha del sujeto a la dieta y/o el ejercicio.

Se desvelan métodos para identificar el genotipo metabólico de un sujeto que comprende: identificar el genotipo del sujeto con respecto a al menos dos, al menos tres o al menos cuatro del locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).

Se desvelan métodos para identificar el genotipo metabólico de un sujeto que comprende: identificar el genotipo del sujeto con respecto al locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).

Además se desvelan kits que incluyen un medio para determinar el genotipo de un sujeto con respecto al genotipo del sujeto con respecto al locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G). El kit también puede contener un medio de recogida de muestras. El kit también puede contener una muestra de control bien positiva o bien negativa o un dispositivo convencional y/o uno algorítmico para evaluar los resultados y reactivos y componentes adicionales.

Los kits pueden estar en forma de un ensayo de ADN que se usará para proporcionar una recomendación de dieta y ejercicio basándose en el genotipo de un sujeto con respecto al locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G). La información proporcionada por el genotipo de un sujeto puede ayudar a los profesionales de la salud a desarrollar intervenciones dietéticas y de ejercicio personalizadas que mejorarán la prevención y el tratamiento de la obesidad.

Otras realizaciones y ventajas de la invención se exponen en la siguiente descripción detallada y reivindicaciones.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Los métodos de la presente invención se basan al menos en parte en el hallazgo de que existe una asociación entre los patrones de alelos de ciertos genes metabólicos y la sensibilidad de un sujeto a un régimen de dieta y ejercicio particular. Es decir, existe una asociación entre los patrones de alelos de genes metabólicos y los resultados clínicos relacionados con el control del peso y los fenotipos. Ciertos genes influyen en diversas rutas que influyen en el peso corporal, y se han asociado con un riesgo elevado de obesidad y con respecto a su capacidad para diferenciar la respuesta del sujeto a intervenciones sobre control del peso por genotipo. Para los fines de la presente invención, dichos genes se denominarán "genes metabólicos" o "genes de control de peso". Estos genes incluyen, pero sin limitación, proteínas de unión a ácidos grasos 2 (FABP2); receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma (PPARG); receptor beta-2 adrenérgico (ADRB2); y receptor beta-3 adrenérgico (ADRB3).

La presente invención se refiere a ensayos de control de peso para determinar el "genotipo metabólico" de un sujeto, que implica determinar el genotipo de un sujeto para uno o más genes metabólicos (por ejemplo, 2, 3, 4, etc.). Los resultados de dicha genotipación metabólica pueden usarse para predecir la sensibilidad de un sujeto a cantidades relativas de macronutrientes y restricción calórica en la dieta, con o sin ejercicio, para pérdida al peso. La identificación del genotipo de un sujeto puede usarse para emparejar el sujeto con un producto terapéutico, o nutrición, o alteración del estilo de vida, o una combinación de los mismos para idear una estrategia para conseguir y/o mantener una pérdida de peso. Por lo tanto, de acuerdo con algunas realizaciones, los resultados de genotipación de polimorfismos (para polimorfismos individuales o combinaciones) pueden usarse para determinar 1) la influencia genética en la intervención en el control del peso/resultados y 2) sensibilidad a macronutrientes y restricción de energía en la dieta, con o sin ejercicio, para la pérdida de peso.

Colectivamente, la determinación de genotipo de un sujeto para uno o más genes metabólicos permite interpretaciones que proporcionan información aplicable para seleccionar un régimen terapéutico/dietético apropiado o recomendación de estilo de vida para un sujeto. El genotipo metabólico de un sujeto se determina a partir de un ensayo de control de peso diseñado para detectar el patrón de polimorfismo genético de un sujeto con respecto a uno o más genes metabólicos. Identificando los polimorfismos de genes relevantes y resultados de patrones de genotipos, el ensayo puede evaluar el riesgo para resultados de control de peso probables y proporcionar al sujeto orientación sobre la elección de intervenciones sobre nutrición y estilo de vida que coincidan con su composición genética personal.

Genes metabólicos

Los genes metabólicos incluyen, pero sin limitación, proteínas de unión a ácidos grasos 2 (FABP2); un receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma (PPARG); receptor beta-2 adrenérgico (ADRB2); y receptor beta-

3 adrenérgico (ADRB3). El patrón del polimorfismo genético de un sujeto con respecto a uno o más de estos genes revela el genotipo metabólico de un sujeto. Más preferentemente, el genotipo metabólico de un sujeto puede determinarse identificando el patrón de polimorfismos genéticos de ese sujeto con respecto a uno o más (es decir, 2, 3, 4 o 5) del locus FABP2 (rs1799883; G/A), locus PPARG (rs1801282; C/G), locus ADRB3 (rs4994; C/T), locus, ADRB2 (rs1042713; A/G) y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).

Polimorfismo de FABP2 rs1799883 (Ala54Thr; G/A)

El gen de FABP2 codifica la forma intestinal de la proteína de unión a ácidos grasos, una familia de proteínas que regula el transporte y metabolismo de lípidos. La proteína FABP2 se encuentra en células epiteliales del intestino delgado donde controla la absorción de grasas. *In vitro*, la forma de Thr54 de la proteína muestra una afinidad de unión dos veces mayor para ácidos grasos de cadena larga (Baier *et al.*, J Clin Invest 95: 1281-1287, 1995) y se ha mostrado que está asociada con la absorción de grasas potenciada en el intestino (Levy *et al.*, J Biol Chem 276: 39679-39684, 2001). La variante de Thr54 aumenta por lo tanto la absorción y/o el procesamiento de ácidos grasos de la dieta por el intestino y de este modo aumenta la oxidación de grasas. De acuerdo con el mapa génico de obesidad más reciente, un total de 5 estudios han mostrado pruebas de la asociación entre el gen de FABP2 y la obesidad; cuatro de ellos implicaron al polimorfismo Ala54Thr. La variante 54Thr se ha asociado con el IMC y la grasa corporal elevados (Hegele *et al.*, Clin Endocrinol Metab 81: 4334-4337, 1996), grasa abdominal aumentada en hombres japoneses (Yamada *et al.*, Diabetologia 40: 706-710, 1997) y obesidad así como mayores niveles de leptina entre mujeres (Albala *et al.*, Obes Res 12: 340-345, 2004).

Múltiples estudios han mostrado que el polimorfismo de Ala54Thr afecta a la respuesta a cambios de la grasa en la dieta en comidas de ensayo. Los ácidos grasos no esterificados (NEFA) fueron 20 % mayores 7 horas después de una comida alta en grasas en sujetos homocigotos para 54Thr/Thr en comparación con homocigotos para 54Ala/Ala (Pratley *et al.*, J Lipid Res 41: 2002-2008, 2000). Después de ingestión de grasas, también se descubrió que el alelo 54Thr estaba asociado con niveles aumentados de triglicéridos postprandiales (Agren *et al.*, Arterioscler Thromb Vasc Biol 18: 1606-1610, 1998) y ácidos grasos de cadenas de 14-18 carbonos (Agren *et al.*, Am J Clin Nutr 73: 31-35, 2001). Los perfiles metabólicos postprandiales después de comidas de ensayo enriquecidas con ácidos grasos trans en relación con una comida similar enriquecida con ácidos grasos cis mostró que los sujetos con al menos una copia del alelo Thr54 mostraba un mayor aumento en los niveles de glucosa postprandial y lipogénesis en comparación con los homocigotos para el alelo Ala54 (Lefevre *et al.*, Metabolism 54: 1652-1658, 2005). Un grupo de pacientes obesos, no diabéticos analizados antes y 3 meses después de un programa de modificación del estilo de vida, consistente en dieta hipocalórica (1520 kcal/día) y ejercicio aeróbico tres veces por semana (de Luis DA *et al.*, Ann Nutr Metab 50: 354-360, 2006) mostraron que los portadores del alelo 54Thr (en comparación con los homocigotos de tipo silvestre 54Ala/Ala) no consiguieron tener una reducción significativa de la masa grasa, niveles de colesterol LDL y niveles de leptina. Otros estudios han demostrado una asociación entre el genotipo de FABP2 y el consumo de grasa en la dieta, con un consumo de carbohidratos moderado (Marin *et al.*, Am J Clin Nutr 82: 196-200, 2005; Takakura *et al.*, Diabetes Research and Clinical Practice 67: 36-42, 2005).

Polimorfismo de PPARG rs1801282 (C/G; Pro12Ala)

Los receptores activados por proliferador de peroxisoma (PPAR) son miembros de la subfamilia de factores de transcripción del receptor de hormona nuclear. PPAR-gamma (PPARG) se expresa abundantemente en células grasas y desempeña un papel clave en la formación de células grasas, en el metabolismo de lípidos y en el desarrollo de diabetes de tipo 2. Los ratones con supresión de PPARG no han conseguido desarrollar tejido adiposo normal y, cuando se les alimenta con una dieta alta en grasas, presentaron un aumento de peso reducido y no desarrollaron resistencia a insulina (Jones *et al.*, PNAS 102: 6207-6212, 2005). La variante 12Ala se asocia con una reducción de la afinidad de unión del receptor con el elemento de respuesta a PPAR en sus genes diana y por lo tanto con una reducción en su capacidad para regular la expresión de estos genes diana (Deeb *et al.*, Nat Genet 20: 284-287, 1998). De acuerdo con el mapa génico de obesidad de 2006 (Rankinen *et al.*, Obesity 14: 529-644), un total de 30 estudios mostraron pruebas de la asociación entre el gen de PPARG y la obesidad, y la mayoría de los hallazgos positivos implicaron al polimorfismo Pro12Ala.

Un estudio de enfoque transversal grande, el estudio de la familia de Quebec (QFS) (Robitaille *et al.*, Clin Genet 63: 109-116, 2003), mostró que los sujetos que portan el alelo 12Pro eran más sensibles a la cantidad de grasa en la dieta. Un estudio similar (Memisoglu *et al.*, Human Molecular Genetics 12: 2923-2929, 2001) también mostró que los sujetos 12Pro/Pro que consumían altas cantidades de grasa tenían un mayor índice de masa corporal (IMC) que los que consumían bajas cantidades de grasa. Esta asociación entre consumo de grasa dietética y el IMC no se vio en portadores de 12Ala, lo que sugiere de nuevo que los sujetos 12Pro/* son más sensibles a la cantidad de grasa en la dieta. Se han obtenido pruebas sólidas con respecto a las diferencias genotípicas en respuesta a la intervención dietética del estudio de prevención de diabetes finlandesa (Lindi *et al.*, Diabetes 51: 2581-2586, 2002). En respuesta a una intervención de 3 años que implicaba dieta y ejercicio, la pérdida de peso era mayor en sujetos 12Ala/Ala (-8,3 kg) que en sujetos Pro12Ala (-4,0 kg) que en sujeto 12Pro/Pro (-3,4 kg). Un estudio de mujeres con sobrepeso y obesas no mostró diferencias en la pérdida de peso entre los portadores de 12Pro/pro y 12Ala/* en respuesta a una dieta baja en calorías durante 6 meses, pero la recuperación de peso durante el seguimiento (un año) fue mayor en mujeres con el alelo Ala que en mujeres homocigotos para el alelo 12Pro. En respuesta a esta intervención, los

portadores de Ala mostraron mayor aumento en la sensibilidad a insulina y oxidación de carbohidratos en ayunas y mayor reducción en la oxidación de lípidos en ayunas (Nicklas *et al.*, Diabetes 50: 2172-2176, 2001).

Los sujetos 12Pro/Pro (el genotipo más frecuente) son más sensibles a la cantidad de grasa en la dieta, más resistentes a la pérdida de peso y tienen un mayor riesgo de diabetes. Las pruebas de la interacción gen-dieta son sólidas para este gen. Los hallazgos a partir de los estudios de intervención en la dieta sugieren una mayor flexibilidad metabólica en el almacenamiento y movilización de la grasa en portadores de 12Ala que es coherente con los estudios que muestran un IMC aumentado, una mayor pérdida de peso en respuesta a intervención y una mayor sensibilidad a insulina y riesgo reducido de diabetes. Por lo tanto, los estudios muestran uniformemente que el alelo 12Pro es el alelo de alto riesgo.

Polimorfismos de ADRB2 rs 1042713 (G/A; Arg16Gly) y ADRB2 rs 1042714 (C/G; Gln27Glu)

El receptor beta-2 adrenérgico (ADRB2) es la forma predominante del receptor expresada en células grasas, que desempeña un papel clave en la degradación de la grasa a partir de las células grasas para energía en respuesta a catecolaminas. Se han identificado varios polimorfismos de este gen que dan como resultado cambios de aminoácidos, siendo los polimorfismos Arg16Gly y Gln27Glu los más comunes en caucásicos, y los que se han investigado más frecuentemente en relación con la obesidad. Los dos polimorfismos tienen un fuerte desequilibrio de enlace (Meirhaeghe *et al.*, Intnl J Obesity 24: 382-87, 2000). Un estudio *in vitro* de la expresión recombinante de estos receptores en fibroblastos de hámster chino han mostrado la influencia funcional de los dos polimorfismos (Green *et al.*, Biochemistry 33: 9414-9419, 1994). En comparación con sus alelos respectivos normales, el alelo 16Gly se ha asociado con la regulación negativa potenciada de la expresión de ADRB2 en respuesta a tratamiento con agonistas (isoproteranol), y 27Glu se ha asociado con algo de aumento (es decir, resistente a regulación negativa) en la expresión de ADRB2. Resulta interesante que la combinación de ambos alelos mutantes (16Gly y 27Glu) dio como resultado la regulación negativa potenciada de la producción de receptores. De acuerdo con el mapa génico de obesidad reciente (Rankinen *et al.*, The human obesity gene map: The 2005 update. Obesity 14: 529-644), un total de 20 estudios han mostrado pruebas de la asociación entre el gen de ADRB2 y la obesidad, implicando la mayoría de los hallazgos positivos a los polimorfismos Arg16Gly o Gln27Glu y alguna indicación de que la asociación más fuerte existe con el alelo 27Glu. Algunos estudios han demostrado una diferencia de sexo en el riesgo para la obesidad con estos polimorfismos (22. Hellstrom *et al.*, J Intern Med 245: 253-259, 1999; Garenc *et al.*, Obes Res 11: 612-618, 2003) pero la preponderancia de las pruebas no favorece realizar interpretaciones genotípicas específicas de sexo en este panel.

Múltiples estudios muestran pruebas de que se ha descubierto que el alelo 27Glu está asociado positivamente con la obesidad abdominal (Lange *et al.*, Int J Obes (Lond) 29: 449-457, 2005; Gonzalez *et al.*, Clin Endocrinol (Oxf) 59: 476-481, 2003), así como estudios que observan alelos tanto 27Glu como 16Gly con respecto a riesgo de obesidad y masa grasa elevada (Masuo *et al.*, Am J Hypertens, 19:1084-91, 2006). Estudios longitudinales han mostrado que el aumento de peso desde la infancia a la adultez (Ellsworth *et al.* Int J Obes Relat Metab Disord 26: 928-937, 2002) y el aumento de peso durante la adultez (Masuo *et al.*, Circulation 111: 3429-3434, 2005; van Rossum *et al.*, Int J Obes Relat Metab Disord 26: 517-528, 2002) fueron mayores en sujetos que portaban el alelo 16Gly en comparación con los sujetos 16Arg/Arg.

Se descubrió un riesgo aumentado de obesidad (RO = 2,56) en mujeres con 27Gln/Glu que tenían un consumo de carbohidratos alto (CHO > 49 % del consumo de energía total) mientras que no se observó ninguna asociación en mujeres con 27Gln/Gln (Martínez *et al.*, J Nutr 133: 2549-2554, 2003). En algunos casos, las interpretaciones alélicas para determinar el mejor polimorfismo y alelo para realizar elecciones de dieta vienen de estudios de intervención opuesta (sobrealimentación) y la elección del alelo opuesto. Por ejemplo, los resultados de un estudio de sobrealimentación (1000 kcal extra/día durante 100 días) realizados en pares de gemelos idénticos masculinos mostró que los sujetos con 27Gln/Gln aumentaban más de peso y grasa subcutánea que los portadores del alelo 27Glu (Ukkola *et al.*, Int J Obes Relat Metab Disord 25: 1604-1608, 2001). En un estudio de hombres japoneses con sobrepeso admitidos en un programa de pérdida de peso de 24 meses (dieta baja en calorías (1600 kcal/día) y ejercicio aeróbico una hora al día) se mostró una mayor frecuencia del alelo 16Gly en hombres resistentes a la pérdida de peso (definido como cambio de IMC menor del 10 %; n = 81) y los que recuperaban el peso corporal después de una pérdida de peso inicial exitosa a los 6 meses (Masuo *et al.*, Circulation 111: 3429-3434, 2005). Las mujeres que estaban más activas durante su tiempo libre y eran portadoras del alelo 27Glu tenían mayor IMC en comparación con no portadoras, lo que sugiere que estas mujeres pueden ser más resistentes a la pérdida de peso (Corbalan *et al.*, Clin Genet 61: 305-307, 2002).

Polimorfismo de ADRB3 rs4994 (C/T; Arg64Trp)

El receptor beta-3 adrenérgico (ADRB3) está implicado en la regulación de lipólisis en tejido adiposo blanco, y se expresa principalmente en tejido adiposo visceral, el depósito es grasa que está estrechamente asociado con las complicaciones metabólicas relacionadas con la obesidad. Los estudios *in vitro* en adipocitos aislados han mostrado que la mutación da como resultado un deterioro de la lipólisis en respuesta a un agonista específico en células que portan el alelo 64Arg (Umekawa *et al.*, Diabetes 48: 117-120, 1999). Se ha descubierto que un haplotipo formado por tres variantes del gen de ADRB3, incluyendo la variante 64Arg, estaba asociado con IMC aumentado (n=208) y con

- una reducción décupla de la sensibilidad (lipólisis inducida) de adipocitos viscerales a un agonista del receptor $\beta 3$ selectivo (Hoffstedt *et al.*, Diabetes 48: 203-205, 1999). Las tres variantes están en desequilibrio de enlace, lo que sugiere que la variante de 64Arg está asociada con función receptora reducida. Un total de 29 estudios han mostrado pruebas de la asociación entre el gen de ADRB3 y la obesidad. Un meta análisis basado en 31 estudios con más de 9.000 sujetos mostró un IMC mayor (0,30 kg/m² mayor de media) en portadores de la variante 64Arg en comparación con sujetos 64Trp/Trp homocigotos (Fujisawa *et al.*, J Clin Endocrinol Metab 83: 2441-2444, 1998). Un segundo basado en más de 6.500 sujetos (principalmente sujetos japoneses) de 22 estudios también ha mostrado mayores valores de IMC en portadores de la variante 64Arg (0,26 kg/m² mayores de media) en comparación con no portadores (Kurokawa *et al.*, Obes Res 9: 741-745, 2001).
- Un estudio de casos y controles (158 obesos, 154 de peso normal) mostró un riesgo aumentado de obesidad (RO = 2,98) en portadores de 64Arg (mayor IMC) solamente entre sujetos sedentarios, pero no en sujetos físicamente activos en los que no se encontraron diferencias genotípicas en IMC (Marti *et al.*, Diabetes Obes Metab 4: 428-430, 2002). Un estudio de 61 mujeres obesas con diabetes de tipo 2 que se sometieron a una intervención de 3 meses que combinaba dieta baja en calorías y ejercicio mostró que las mujeres con la variante 64Arg perdían menos peso (4,6 kg frente a 8,3 kg) y masa corporal (1,9 kg/m² frente a 3,4 kg/m²) que las mujeres con 64Trp/Trp (Sakane *et al.*, Diabetes Care 20: 1887-1890, 1997). Un estudio realizado en 76 mujeres premenopáusicas que se sometieron a una intervención de 3 meses que combinaba ejercicio y dieta descubrió que el 48 % de las mujeres con la variante de 64Arg perdían peso en comparación con el 69 % de las mujeres sin la variante (Shiwaku *et al.*, Int J Obes Relat Metab Discord 27: 1028-1036, 2003). Estos dos estudios sugieren que la variante está asociada con dificultad en la pérdida de peso mediante la dieta y el ejercicio. Un estudio (Phares *et al.*, Obes Res 12: 807-815, 2004) realizado en 29 hombres y 41 mujeres mostró que los portadores de ADRB3 64Arg experimentaban mayor pérdida de masa grasa y grasa del tronco después de 24 semanas de entrenamiento de ejercicio aeróbico supervisado en comparación con no portadores. Estos resultados parecen demostrar una respuesta alélica opuesta al ejercicio, pero el nivel de ejercicio en este régimen de estudio fue entrenamiento de resistencia supervisado, más vigoroso. La interpretación de las diferencias genotípicas en respuesta a ejercicio puede complicarse adicionalmente en muchos estudios debido a que el estado obeso puede ser un factor de confusión que enmascare efectos moderados de la variante en el gasto de energía (Tchernof *et al.*, Diabetes 48:1425-1428, 1999).
- Por lo tanto, se desvela un método para identificar el genotipo metabólico de un sujeto que comprende identificar el genotipo del sujeto con respecto a uno o más (es decir, 2, 3 o 4) del locus FABP2, el locus PPARG, el locus ADRB3 y/o el locus ADRB2.
- Un método para identificar el genotipo metabólico de un sujeto comprende la identificación del genotipo del sujeto con respecto al acceso a genotipo del sujeto con uno o más (es decir, 2, 3, 4 o 5) del locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G), y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).
- Se desvela un método para identificar el genotipo metabólico de un único polimorfismo de un sujeto que comprende la identificación del genotipo con respecto a un alelo de un gen metabólico seleccionado del grupo que consiste en el locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).
- Un método para identificar el genotipo metabólico compuesto de un sujeto comprende la identificación del genotipo con respecto a al menos dos alelos de genes metabólicos seleccionados del grupo que consiste en el locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G), y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).
- Un método para identificar el genotipo metabólico de un sujeto comprende la identificación del genotipo de polimorfismo compuesto con respecto a al menos tres alelos de genes metabólicos seleccionados del grupo que consiste en el locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G), y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).
- La invención proporciona un método para identificar el genotipo metabólico de un sujeto que comprende la identificación del genotipo de polimorfismo compuesto con respecto a al menos cuatro alelos de genes metabólicos seleccionados del grupo que consiste en el locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T), el locus ADRB2 (rs1042713; A/G), y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G). En particular, el método de la invención comprende determinar el genotipo con respecto a los loci FABP2 (rs179983; G/A), PPARG (rs1801282; C/G); y ADRB2 (rs1042714; C/G) y al menos uno del locus ADRB3 (rs4994; C/T), y el locus ADRB2 (rs1042713; A/G).
- De acuerdo con algunas realizaciones se proporciona un método para identificar el genotipo metabólico de un sujeto que comprende identificar el genotipo de polimorfismo compuesto con respecto a cada uno de los alelos de genes metabólicos locus FABP2 (rs1799883; G/A), locus PPARG (rs1801282; C/G), locus ADRB3 (rs4994; C/T), locus ADRB2 (rs1042713; A/G) y/o locus (rs1042714; C/G).

5 Los resultados del genotipo metabólico de un único polimorfismo y/o genotipo metabólico compuesto de un sujeto pueden clasificarse de acuerdo con sus relaciones con el riesgo en el control de peso, incluyendo lo que constituye un resultado “menos sensible” o “más sensible” de las intervenciones en la dieta y/o ejercicio, 2) sus resultados de biomarcador clínico o relacionado con la salud asociados, 3) sus relaciones con las elecciones de intervención para el control de peso, y 4) la prevalencia de cada genotipo. Las tablas 1 y 2 a continuación definen los alelos de ciertos genes metabólicos y explican el riesgo aumentado para susceptibilidad a ciertos trastornos/parámetros metabólicos.

TABLA 1: Gen metabólico/polimorfismo del sujeto

GEN	Locus/SNP	GENOTIPO	Frec Pob.*
FABP2	FABP2 (+54) Ala54Thr	1.2 o 2.2 G/A o A/A (54Ala/Thr o 54Thr/Thr)	48 %
	Ala = G= alelo 1 Thr = A= alelo 2 rs1799883	1.1 G/G (54 Ala/Ala)	52 %
PPARG	PPARG (+12) Pro12Ala	1.1 C/C (12Pro/Pro)	81 %
	Pro = C = alelo 1 Ala = G = alelo 2 rs 1801282	1.2 o 2.2 C/G o G/G (12Pro/Ala o 12Ala/Ala)	19 %
ADRB2	ADRB2 (+27) Gln27Glu	1.2 o 2.2 C/G o G/G (27Gln/Glu o 27Glu/Glu)	63 %
	Gln = C = alelo 1 Gln = G = alelo 2 rs1042714	1.1 C/C (27Gln/Gln)	37 %
ADRB2	ADRB2 (+16) Arg16Gly	1.2 o 2.2 G/G o G/A (16Gly/Gly o 16Gly/Arg)	86 %
	Gly = G = alelo 1 Arg = A = alelo 2 rs 1042713	2.2 N/A (16Arg/Arg)	14 %
ADRB3	ADRB3 (+64) Arg64Trp	1.2 o 2.2 T/C o C/C (64Trp/Arg o 64Arg/Arg)	16 %
	Trp = T = alelo 1 Arg = C = alelo 2 rs4994	1.1 T/T (64Trp/Trp)	84 %

*Frec. Pob. = frecuencia de población, determinada para caucásicos usando la base de datos del Estudio de Familias de Quebec (QFS)

10

TABLA 2: Diagrama de susceptibilidad de sujetos basado en el genotipo metabólico

Genotipo	Riesgo de Enfermedad	Riesgo de Biomarcador**	Información aplicable***
FABP2 (+54; rs1799883) 1.2 o 2.2	Obesidad Resistencia a Insulina Síndrome metabólico	↑IMC ↑Grasa corporal ↑Grasa Abd ↑TG ↑Insulina ↑AS ↑TNF α ↓TMR	Los sujetos con este genotipo tienen una absorción potenciada de grasa de la dieta y un metabolismo más lento, lo que da como resultado una mayor propensión a aumento de peso y una capacidad reducida de pérdida de peso. Los estudios clínicos indican que los sujetos que este genotipo mejorarán sus riesgos de triglicéridos, insulina y azúcares en sangre elevados reduciendo las grasas saturadas y grasas trans, y aumentando las grasas monoinsaturada moderando al mismo tiempo los carbohidratos en la dieta.
FABP2 (+54; rs1799883) 1.1	Negativo	No	Los sujetos con este genotipo tienen absorción normal de la grasa en la dieta. Los estudios clínicos han demostrado que estos sujetos responden a una dieta baja en calorías, baja en grasas con pérdida de peso; grasa corporal reducida y menores niveles de colesterol LDL.

Genotipo	Riesgo de Enfermedad	Riesgo de Biomarcador**	Información aplicable***
PPARG (+12; rs1801282) 1.1	Obesidad Diabetes	↑IMC ↑Grasa Abd ↓HDL	PPARG desempeña un papel clave en la formación de células grasas y el metabolismo de las grasas. Los estudios clínicos indican que los sujetos con este genotipo tienen un alto riesgo de aumento de peso y son menos sensibles al efecto de una dieta baja en calorías en la pérdida de peso. Los que tienen un consumo de grasas totales y grasas poliinsaturadas alto tienden a tener un IMC significativamente mayor que el genotipo alternativo.
PPARG (+12; rs1801282) 1.2 o 2.2	Obesidad	↑IMC	Los sujetos con esta variante tienen variaciones en la formación de células grasas y metabolismo de grasas que aumentan su sensibilidad a los efectos de cambios en la dieta. Estos sujetos tienen más facilidad para perder peso a mediante una dieta baja en calorías; sin embargo, tienen riesgo de recuperarlo. Las mujeres tienen 5 veces más probabilidades que el genotipo alternativo de ser obesas si su consumo de carbohidratos habitual excede el 49 %. Por lo tanto, la modulación del consumo de carbohidratos será beneficiosa para estos sujetos para evitar su riesgo de obesidad. Tienen un mayor IMC como resultado de un consumo de grasas saturadas y monoinsaturadas alto. Por lo tanto, la calidad de la grasa en su dieta es también importante.
ADRB2 (+27; rs1042714) 1.2 o 2.2	Obesidad Diabetes	↑IMC ↑Grasa Abd ↑TG ↑Insulina ↑AS	Los sujetos con esta variante génica son menos capaces de movilizar sus almacenes de grasa para conseguir energía. Las mujeres con esta variante tienen 2½ veces el riesgo de obesidad y niveles de insulina elevados si su consumo de carbohidratos habitual excede el 49 % de calorías totales en comparación con sujetos con el genotipo alternativo. Se ha mostrado que la modulación del consumo de carbohidratos reduce los niveles de insulina y será beneficioso para estos sujetos para evitar su riesgo de obesidad y triglicéridos elevados. Tanto hombres como mujeres con este genotipo son más resistentes al efecto de pérdida de peso de una dieta baja en calorías y ejercicio aeróbico.
ADRB2 (+27; rs1042714) 1.1	Negativo	No	Los sujetos con este genotipo tienen una degradación normal de grasa para obtener energía. Un consumo alto de carbohidratos en la dieta no muestra un efecto específico en el peso corporal. Los hombres que realizan actividad física regular tienen un riesgo de obesidad significativamente reducido. En general, los sujetos con este genotipo probablemente respondan con cambio de peso y mejora en resultados de salud a los cambios en la dieta y el ejercicio aeróbico.
ADRB2 (+16; rs1042713) 1.1 o 1.2	Obesidad	↑IMC ↑Grasa corporal -Hombres ↓Grasa corporal- Mujeres	Los sujetos con esta variante génica son menos capaces de movilizar sus almacenes de grasa para obtener energía en respuesta a una tensión fisiológica, tal como el ejercicio. Como resultado movilizan menos grasa celular y pierden menos peso y grasa corporal de lo que se esperaría en respuesta a ejercicio aeróbico. Adicionalmente, tienen mayor riesgo de aumento de peso por rebote.
ADRB2 (+16; rs1042713) 2.2	Negativo	No	Los sujetos con este genotipo movilizan grasa de sus células grasas para obtener energía eficazmente como resultado de una dieta baja en calorías y ejercicio aeróbico para pérdida de peso. Tienen más probabilidad de perder el peso corporal y la grasa y mantenerlo.
ADRB3 (+64; rs4994) 1.2 o 2.2	Obesidad DM	↑IMC ↑Grasa Abd ↓TMR	Los sujetos con este genotipo no degradan la grasa abdominal para obtener energía en respuesta a una tensión fisiológica, tal como ejercicio. Como resultado, tienen un metabolismo energético más lento y no son tan sensibles a los efectos beneficiosos del ejercicio aeróbico (pérdida de peso, pérdida de grasa abdominal).

Genotipo	Riesgo de Enfermedad	Riesgo de Biomarcador**	Información aplicable***
ADRB3 (+64; rs4994) 1.1	Negativo	No	Los sujetos con este genotipo tienen una tasa metabólica y degradación de grasa corporal abdominal normales. Los estudios han mostrado que estos sujetos experimentan pérdida de peso realizando ejercicio aeróbico de ligero a moderado.
** IMC = índice de masa corporal, TG = triglicéridos, grasa abd = grasa abdominal, AS = azúcares en sangre, TNF α = factor de necrosis tumoral alfa, TMR = tasa metabólica en reposo, HDL = lipoproteína de alta densidad. *** Implicaciones de metabolismo, nutrición y ejercicio.			

Se desvelan métodos y kits para la medición de los niveles de lípidos en sangre en un sujeto para seleccionar o explorar sujetos con respecto a intervención terapéutica o dietética o cambio de estilo de vida.

- 5 Se miden los HDL, LDL y/o triglicéridos del sujeto. Se considera que el sujeto tiene un perfil de lípidos anómalo o dislipidemia cuando se detecta que tiene un nivel menor de HDL, aproximadamente 40 mg/dl o menor para hombres, y 50 mg/dl o menor para mujeres, o un nivel mayor de LDL, aproximadamente 100 mg/dl o superior, o un mayor de triglicéridos, aproximadamente 150 mg/dl o superior, o cualquier combinación de los mismos.
- 10 El nivel menor de HDL es 20-60 mg/dl, 50-59 mg/dl, 40-49 mg/dl, 30-39 mg/dl o <30 mg/dl; el nivel mayor de LDL es 100->190 mg/dl, 100-129 mg/dl, 130-159 mg/dl, 160-190 mg/dl o >190 mg/dl; y el nivel mayor de triglicéridos es 150->500 mg/dl, 150-199 mg/dl, 200-500 mg/dl o >500 mg/dl.
- 15 Los sujetos pueden explorarse para ensayos clínicos con respecto a respuesta a estrategia de control de peso, o intervenciones terapéuticas, lo que comprende identificar a los sujetos por su perfil alélico y/o genotipos compuestos de la presente invención y predecir su respuesta a terapia/dieta/estilo de vida recomendados o combinación de los mismos, con sus niveles predichos de HDL, LDL o triglicéridos.
- 20 Se describen métodos y kits para explorar sujetos con respecto a ensayos clínicos para el control del peso, en los que un sujeto con poco peso tiene un IMC <18,5; un sujeto con sobrepeso en el intervalo de 25-29,9, un sujeto obeso tiene un IMC de 30-39,9 e IMC de >40,0 se considera extremadamente obeso. La identificación del genotipo metabólico en estos sujetos podría proporcionar a los profesionales de la salud herramientas para analizar las dificultades de un sujeto con un IMC de 25 para alcanzar IMC de 22 con una dieta baja en calorías solamente.
- 25 La Tabla 3 proporciona la prevalencia étnica para ciertos genotipos metabólicos.

TABLA 3: Prevalencia de los patrones de genotipo/riesgo (‡) por etnia

Resultado de gen/genotipo	Caucásico (QFS)	Negro	Hispano	Japonés	Chino	Coreano
FABP2rs1799883 1.2 o 2.2 ‡	48 %	35 %	59 %	58 %	54 %	55 %
FABP2 rs1799883 1.1	52 %	65 %	41 %	42 %	46 %	45 %
PPARG rs1801282 1.1 ‡	81 %	96 %	82 %	92 %	95 %	90 %
PPARGrs1801282 1.2 o 2.2	19 %	4 %	18 %	8 %	5 %	10 %
ADRB2rs1042714 1.2 o 2.2 ‡	63 %	35 %	59 %	12-18 %	41-59 %	21 %
ADRB2rs1042714 1.1	37 %	65 %	41 %	82-88 %	41-59 %	79 %
ADRB2rs1042713 1.1 o 1.2 ‡	86 %	74-80 %	70-81 %	71-81 %	63-73 %	61 %
ADRB2rs1042713 2.2	14 %	20-26 %	19-30 %	19-29 %	27-37 %	39 %
ADRB3rs4994 1.2 o 2.2 ‡	16 %	19-27 %	20-35 %	33 %	24-32 %	28 %
ADRB3rs4994 1.1	84 %	73-81 %	65-80 %	67 %	68-76 %	72 %
‡ = indica el genotipo o los genotipos de riesgo						

- 30 Las combinaciones de estas variaciones génicas afectan a 1) cómo los sujetos responden a macronutrientes específicos en su dieta y 2) sus tendencias diferentes en metabolismo de energía que influyen en última instancia en su capacidad para mantener o perder peso mediante el ejercicio. Una determinación de genotipo metabólico ayudará a los sujetos sanos a identificar un riesgo genético para problemas de control de peso adversos que aún no se han manifestado. El conocimiento temprano de los riesgos relacionados con los genes pueden ayudar a tomar decisiones de salud personalizadas (nutrición, estilo de vida) para conservar la salud futura, así como proporcionar directrices acerca de cómo priorizar mejor la atención de un sujeto a las elecciones de nutrición y de estilo de vida para controlar el peso corporal y la composición corporal óptimos.
- 35

- 40 La información aprendida del genotipo metabólico de un sujeto puede usarse para predecir el riesgo genético de un sujeto para problemas de control de peso adversos. El genotipo de sujeto puede usarse para evaluar el riesgo y permitir la selección de un régimen dietético/terapéutico apropiado o recomendación de estilo de vida. La identificación del genotipo de un sujeto puede usarse para combinar el sujeto con una alteración terapéutica, nutricional o del estilo de vida o una combinación de dos o tres cualesquiera para idear una estrategia para

- 5 conseguir y/o mantener la pérdida de peso. En general, el patrón alélico de un sujeto de uno o más genes metabólicos puede usarse para clasificar la sensibilidad predicha del sujeto a macronutrientes y la restricción energética en la dieta, con o sin ejercicio, en un programa de control de pérdida de peso. En consecuencia, puede seleccionarse un programa de control de peso personalizado para el sujeto basándose en la respuesta predicha del sujeto. Por ejemplo, un programa de control de peso puede clasificar el genotipo metabólico de un sujeto en una de una serie de categorías de nutrición y una de una serie de categorías de ejercicio basándose en la predisposición del sujeto a la sensibilidad a ciertos macronutrientes y grado de ejercicio. La categoría de nutrición, categoría de ejercicio o combinación de las mismas puede seleccionarse para un sujeto basándose en los patrones genéticos del sujeto.
- 10 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporciona un método para seleccionar un régimen dietético/terapéutico o recomendación de estilo de vida apropiados para un sujeto que comprende: determinar el genotipo de un sujeto con respecto a los loci polimórficos locus FABP2 (rs1799883; G/A), locus PPARG (rs1801282;C/G), locus y ADRB2 (rs1042714; C/G) y uno o ambos de los locus ADRB3 (rs4994; C/T) y locus ADRB2 (rs1042713; A/G) en los que el
- 15 genotipo del sujeto con respecto a dichos loci proporciona información acerca de la susceptibilidad aumentada del sujeto a problemas de control de peso adversos, y permite la selección de un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida que sea adecuado para la susceptibilidad del sujeto a problemas de control de peso adversos.
- 20 Se predice que el sujeto con un genotipo combinado de FABP2 (rs1799883) 1.1, PPARG (rs1801282) 1.1, ADRB2 (rs1042714) 1.1, y ADRB2 (rs1042713) 2.2, y ADRB3 (rs4994) 1.1 es sensible a: una dieta con calorías restringidas, baja en grasas o baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.
- 25 Se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno de FABP2 (rs1799883) 1.1 o 1.2 y PPARG (rs1801282) 1.1, y adicionalmente uno de ADRB2 (rs1042714) 1.1, 1.2 o 2.2, en combinación con ADRB2 (rs1042713) 2.2 y ADRB3 (rs4994) 1.1 es sensible a: una dieta baja en grasas, con calorías restringidas; ejercicio regular; o ambos.
- 30 Se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 1.2 o 2.2 y/o uno de ADRB2 (rs1042714) 1.2 o 2.2, en combinación con ADRB2 (rs1042713) 2.2 y ADRB3 (rs4994) 1.1 es sensible a: una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas; ejercicio regular, o ambos.
- 35 Se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 1.2 o 2.2 y uno de FABP2 (rs1799883) 1.1 o 1.2, en combinación con ADRB2 (rs1042713) 2.2 y ADRB3 (rs4994) 1.1 es sensible a: una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas, ejercicio regular; o ambos.
- 40 Se predice que un sujeto con un genotipo combinado de FABP2 (rs1799883) 1.1 y PPARG (rs1801282) 1.1, en combinación con uno de ADRB2 (rs1042713) 1.2 o 1.1 o uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 o 2.2 es sensible a una dieta baja en grasas o baja en carbohidratos, con calorías restringidas. Opcionalmente, se predice además que el sujeto es menos sensible a ejercicio regular.
- 45 Se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno de FABP2 (rs1799883) 1.1 o 1.2 y PPARG (rs1801282) 1.1, en combinación con uno de ADRB2 (rs1042714) 1.1, 1.2, o 2.2 y bien uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 o 1.2 o bien uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 o 2.2 es sensible a: una dieta baja en grasas, con calorías restringidas. Opcionalmente, se predice además que el sujeto es menos sensible a ejercicio regular.
- 50 Se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 1.2 o 2.2 y/o uno de ADRB2 (rs1042714) 1.2 o 2.2, en combinación con uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 o 1.2 o uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 o 2.2 es sensible a: una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas. Opcionalmente se predice además que el sujeto es menos sensible a ejercicio regular.
- 55 Se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 1.2 o 2.2 y uno de FABP2 (rs1799883) 1.1 o 1.2, en combinación con uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 o 1.2 o uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 o 2.2, es sensible a: una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas. Opcionalmente, se predice además que el sujeto es menos sensible a ejercicio regular.
- 60 De acuerdo con algunas realizaciones, el régimen terapéutico/dietético comprende administrar un nutraceutico.
- Opcionalmente, los métodos anteriores comprenden además clasificar al sujeto con respecto al beneficio probable de un régimen terapéutico/dietético o cambio de estilo de vida.
- 65 De acuerdo con algunas realizaciones, la dieta baja en grasa de los métodos descritos anteriormente no proporciona más de aproximadamente el 35 por ciento de las calorías totales de grasas.
- De acuerdo con algunas realizaciones, la dieta baja en carbohidratos de los métodos descritos anteriormente proporcionan menos de aproximadamente el 50 por ciento de calorías totales de carbohidratos.

De acuerdo con algunas realizaciones, la dieta con calorías restringidas de los métodos descritos anteriormente restringe las calorías totales a menos del 95 % del nivel del control de peso del sujeto.

5 Se desvela un método para identificar el genotipo metabólico de un sujeto que comprende: identificar el genotipo del sujeto con respecto a al menos tres de los locus FABP2 (rs1799883; G/A), locus PPARG (rs1801282; C/G), locus ADRB3 (rs4994; C/T), locus ADRB2 (rs1042713; A/G) y/o locus ADRB2 (rs1042714; C/G).

10 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporciona un método para identificar el genotipo metabólico de un sujeto que comprende: identificar el genotipo del sujeto con respecto al locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G) y el locus ADRB2 (rs1042714; C/G), más al menos uno del locus ADRB3 (rs4994; C/T), y el locus ADRB2 (rs1042713; A/G).

15 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan métodos para seleccionar un régimen terapéutico/dietético apropiado o recomendación de estilo de vida para un sujeto que comprende: a) determinar un genotipo de un sujeto con respecto a al menos cuatro de los loci polimórficos, seleccionados de: locus FABP2 (rs1799883; G/A); locus PPARG (rs1801282; C/G); y locus ADRB2 (rs1042714; C/G); y al menos uno de los locus ADRB3 (rs4994; C/T); y locus ADRB2 (rs1042713; A/G); y b) clasificar el sujeto en una categoría de nutrición y/o una categoría de ejercicio para la que se predice que el sujeto obtiene un beneficio probable, en el que la categoría de nutrición se selecciona de una dieta baja en grasas; una dieta baja en carbohidratos; una dieta alta en proteínas; y una dieta con calorías restringidas, y en el que la categoría de ejercicio se selecciona de: ejercicio ligero; ejercicio normal; y ejercicio vigoroso.

20 Se desvela un método para seleccionar un régimen era terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiados para un sujeto que comprende: (a) detectar un patrón alélico de al menos dos alelos seleccionados del grupo que consiste en FABP2 (rs1799883) alelo 1 (Ala o G), FABP2 (rs1799883) alelo 2 (Thr o A), PPARG (rs1801282) alelo 1 (Pro o C), PPARG (rs1801282) alelo 2 (Ala o G), ADRB3 (rs4994) alelo 1 (Trp o T), ADRB3 (rs4994) alelo 2 (Arg o C), ADRB2 (rs1042713) alelo 1 (Gly o G), ADRB2 (rs1042713) alelo 2 (Arg o A), ADRB2 (rs1042714) alelo 1 (Gln o C) y ADRB2 (rs1042714) alelo 2 (Glu o G), en el que la presencia del patrón alélico es predictiva de la respuesta del sujeto a la dieta y/o ejercicio y (b) seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida que es adecuado para la respuesta predicha del sujeto a la dieta y/o el ejercicio.

25 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado de (rs1799883) 1.1 (Ala/Ala o G/G), PPARG (rs1801282) 1.1 (Pro/Pro o C/C), ADRB2 (rs1042714) 1.1 (Gln/Gln o C/C), y ADRB2 (rs1042713) 2.2 (Arg/Arg o A/A), y ADRB3 (rs4994) 1.1 (Trp/Trp o T/T) es sensible a: una dieta baja en grasas o baja en carbohidratos, con calorías restringidas; ejercicio regular; o ambos.

30 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno de FABP2 (rs1799883) 1.1 (Ala/Ala o G/G) o 1.2 (Ala/Thr o G/A) y PPARG (rs1801282) 1.1 (Pro/Pro o C/C), y adicionalmente uno de ADRB2 (rs1042714) 1.1 (Gln/Gln o C/C), 1.2 (Gln/Glu o C/G), o 2.2 (Glu/Glu o G/G) en combinación con ADRB2 (rs1042713) 2.2 (Arg/Arg o A/A) y ADRB3 (rs4994) 1.1 (Trp/Trp o T/T) es sensible a: una dieta baja en grasas, con calorías restringidas; ejercicio regular; o ambos.

35 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 1.2 (Pro/Ala (C/G) o 2.2 (Ala/Ala o G/G) y/o uno de ADRB2 (rs1042714) 1.2 (Gln/Glu o C/G) o 2.2 (Glu/Glu o G/G), en combinación con ADRB2 (rs1042713) 2.2 (Arg/Arg o A/A) y ADRB3 (rs4994) 1.1 (Trp/Trp o T/T) es sensible a: una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas; ejercicio regular; o ambos.

40 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 1.2 (Pro/Ala o C/G) o 2.2 (Ala/Ala o G/G) y uno de FABP2 (rs1799883) 1.1 (Ala/Ala o G/G) o 1.2 (Ala/Thr o G/A), en combinación con ADRB2 (rs1042713) 2.2 (Arg/Arg o A/A) y ADRB3 (rs4994) 1.1 (Trp/Trp o T/T) es sensible a: una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas; ejercicio regular; o ambos.

45 Se predice que un sujeto con un genotipo combinado de FABP2 (rs1799883) 1.1 (Ala/Ala o G/G) y PPARG (rs1801282) 1.1 (Pro/Pro o C/C), en combinación con uno de ADRB2 (rs1042713) 1.2 (Gly/Arg o G/A) o 2.2 (Arg/Arg o A/A) o uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 (Arg/Trp o T/C) o 2.2 (Arg/Arg o C/C) es sensible a una dieta baja en grasas o baja en carbohidratos, con calorías restringidas. Opcionalmente, se predice además que el sujeto es menos sensible a ejercicio regular.

50 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno de FABP2 (rs1799883) 1.1 (Ala/Ala o G/G) o 1.2 (Ala/Thr o G/A) y PPARG (rs1801282) 1.1 (Pro/Pro o C/C), en combinación con uno de ADRB2 (rs1042714) 1.1 (Gln/Gln o C/C), 1.2 (Gln/Glu o C/G), o 2.2 (Glu/Glu o G/G) y bien uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 (Gly/Gly o G/G) o 1.2 (Gly/Arg o G/A) o bien uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 (Trp/Arg o T/C) o 2.2 (Arg/Arg o C/C) es sensible a: una dieta baja en grasas, con calorías restringidas. Opcionalmente, se predice además que el sujeto es menos sensible a ejercicio regular.

65

5 Se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 1.2 (Pro/Ala o C/G) o 2.2 (Ala/Ala o G/G) y/o uno de ADRB2 (rs1042714) 1.2 (Gln/Glu o C/G) o 2.2 (Glu/Glu o G/G), en combinación con uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 (Gly/Gly o G/G) o 1.2 (Gly/Arg o G/A) o uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 (Trp/Arg o T/C) o 2.2 (Arg/Arg o C/C) es sensible a: una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas. Opcionalmente, se predice además que el sujeto es menos sensible a ejercicio regular.

10 Se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 1.2 (Pro/Ala o C/G) o 2.2 (Ala/Ala o G/G) y uno de FABP2 (rs1799883) 1.1 (Ala/Ala o G/G) o 1.2 (Ala/Thr o G/A), en combinación con uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 (Gly/Gly o G/G) o 1.2 (Gly/Arg o G/A) o uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 (Trp/Arg o T/C) o 2.2 (Arg/Arg o C/C) es sensible a: una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas. Opcionalmente, se predice además que el sujeto es menos sensible a ejercicio regular.

15 Se describe un método para predecir el riesgo genético de un sujeto a problemas de control del peso adversos que comprende: detectar un patrón de polimorfismo genético que comprende al menos dos alelos seleccionados del grupo que consiste en FABP2 (rs1799883) alelo 1 (Ala o G), FABP2 (rs1799883) alelo 2 (Thr o A), PPARG (rs1801282) alelo 1 (Pro o C), PPARG (rs1801282) alelo 2 (Ala o G), ADRB3 (rs4994) alelo 1 (Trp o T), ADRB3 (rs4994) alelo 2 (Arg o C), ADRB2 (rs1042713) alelo 1 (Gly o G), ADRB2 (rs1042713) alelo 2 (Arg o A), ADRB2 (rs1042714) alelo 1 (Gln o C) y ADRB2 (rs1042714) alelo 2 (Glu o G), en el que la presencia del patrón de polimorfismo genético es predictiva de la respuesta del sujeto a la dieta y/o el ejercicio.

20 Opcionalmente, el régimen terapéutico/dietético comprende administrar un nutracéutico.

Opcionalmente, los métodos anteriores comprenden además clasificar al sujeto con respecto al beneficio probable de un régimen terapéutico/dietético o cambio en el estilo de vida.

25 Opcionalmente, la dieta baja en grasas de los métodos descritos anteriormente no proporciona más de aproximadamente el 35 por ciento de calorías totales de grasa.

30 Opcionalmente, la dieta baja en carbohidratos de los métodos descritos anteriormente proporciona menos de aproximadamente el 50 por ciento de calorías totales de carbohidratos.

Opcionalmente, la dieta con calorías restringidas de los métodos descritos anteriormente restringe las calorías totales a menos del 95 % del nivel de control de peso del sujeto.

35 Se describen kits que comprenden: a) reactivos para determinar el genotipo de un sujeto con respecto a cuatro cualesquiera de los loci polimórficos, seleccionados de los siguientes: locus FABP2 (rs1799883; G/A); locus PPARG (rs1801282; C/G); locus ADRB3 (rs4994; C/T); locus ADRB2 (rs1042713; A/G); y locus ADRB2 (rs1042714; C/G); y b) instrucciones para determinar el genotipo metabólico del sujeto, y medios para clasificar al sujeto en una categoría de nutrición y/o una categoría de ejercicio para las que se predice que el sujeto obtendrá un beneficio probable, en el que la categoría de nutrición se selecciona del grupo que consiste en una dieta baja en grasas; una dieta baja en carbohidratos; una dieta alta en proteínas; y una dieta con calorías restringidas, y en el que la categoría de ejercicio se selecciona del grupo que consiste en: ejercicio ligero; ejercicio normal; y ejercicio vigoroso.

45 Ocasionalmente, el kit clasifica además al sujeto con respecto al beneficio probable de un régimen terapéutico/dietético o cambio de estilo de vida.

Opcionalmente, el kit comprende reactivos para genotipar a un sujeto para un genotipo combinado de FABP2 (rs1799883) 1.1, PPARG (rs1801282) 1.1, ADRB2 (rs1042714) 1.1, y ADRB2 (rs1042713) 2.2, y ADRB3 (rs4994) 1.1 que se predice que es sensible a: una dieta baja en grasas o baja en carbohidratos, con calorías restringidas; ejercicio regular; o ambos.

50 Opcionalmente, el kit comprende reactivos para genotipar a un sujeto para un genotipo combinado de uno de FABP2 (rs1799883) 1.1 o 1.2 y PPARG (rs1801282) 1.1, y adicionalmente uno de ADRB2 (rs1042714) 1.1, 1.2, o 2.2 en combinación con ADRB2 (rs1042713) 2.2 y ADRB3 (rs4994) 1.1 que se predice que es sensible a: una dieta baja en grasas, con calorías restringidas; ejercicio regular; o ambos.

55 Se describe un kit que comprende reactivos para genotipar a un sujeto con un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 1.2 o 2.2 y/o uno de ADRB2 (rs1042714) 1.2 o 2.2, en combinación con ADRB2 (rs1042713) 2.2 y ADRB3 (rs4994) 1.1 que se predice que es sensible a: una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas; ejercicio regular; o ambos.

60 Opcionalmente, el kit comprende reactivos para genotipar a un sujeto para un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 1.2 o 2.2 y uno de FABP2 (rs1799883) 1.1 o 1.2, en combinación con ADRB2 (rs1042713) 2.2 y ADRB3 (rs4994) 1.1 que se predice que es sensible a: una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas; ejercicio regular; o ambos.

65

Opcionalmente, el kit comprende reactivos para genotipar a un sujeto para un genotipo combinado de FABP2 (rs1799883) 1.1 y PPARG (rs1801282) 1.1, en combinación con uno de ADRB2 (rs1042713) 1.2 o 1.1 o uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 o 2.2 que se predice que es sensible a una dieta baja en grasas o baja en carbohidratos, con calorías restringidas.

Opcionalmente, el kit comprende reactivos para genotipar a un sujeto para un genotipo combinado de uno de FABP2 (rs1799883) 1.1 o 1.2 y PPARG (rs1801282) 1.1, en combinación con uno de ADRB2 (rs1042714) 1.1, 1.2 o 2.2 y bien uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 o 1.2 o bien uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 o 2.2 que se predice que es sensible a: una dieta baja en grasas, con calorías restringidas.

Opcionalmente, el kit comprende reactivos para genotipar a un sujeto para un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 1.2 o 2.2 y/o uno de ADRB2 (rs1042714) 1.2 o 2.2, en combinación con uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 o 1.2 o uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 o 2.2 que se predice que es sensible a: una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas.

Opcionalmente, el kit comprende reactivos para genotipar a un sujeto para un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 1.2 o 2.2 y uno de FABP2 (rs1799883) 1.1 o 1.2, en combinación con uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 o 1.2 o uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 o 2.2 que se predice que es sensible a: una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas.

Opcionalmente, los kits comprenden: reactivos e instrucciones para determinar el genotipo metabólico de un sujeto, que comprende: identificar el genotipo del sujeto con respecto a al menos cuatro de los locus FABP2 (rs1799883; G/A), locus PPARG (rs1801282; C/G), locus ADRB3 (rs4994; C/T), locus ADRB2 (rs1042713; A/G) y/o locus ADRB2 (rs1042714; C/G).

Opcionalmente, los kits comprenden: reactivos e instrucciones para determinar el genotipo metabólico de un sujeto, que comprende: identificar el genotipo del sujeto con respecto a al menos tres de los locus FABP2 (rs1799883; G/A), locus PPARG (rs1801282; C/G), locus ADRB3 (rs4994; C/T), locus ADRB2 (rs1042713; A/G) y/o locus ADRB2 (rs1042714; C/G).

Categorías de nutrición

Las categorías de nutrición se clasifican generalmente basándose en la cantidad de macronutrientes (es decir, grasas, carbohidratos, proteínas) recomendada para un sujeto basándose en el genotipo metabólico de ese sujeto. El objetivo primario de seleccionar un régimen terapéutico/dietético apropiado o recomendación de estilo de vida para un sujeto es combinar el genotipo metabólico de un sujeto con la categoría nutricional a la que es más probable que sea sensible ese sujeto. Una categoría nutricional generalmente se expresa con respecto a las cantidades relativas de macronutrientes sugeridas para la dieta de un sujeto o con respecto a las restricciones calóricas (por ejemplo, restringiendo el número total de calorías que recibe un sujeto y/o restringiendo el número de calorías que recibe un sujeto de un macronutriente particular). Por ejemplo, las categorías nutricionales pueden incluir, pero sin limitación, 1) dietas bajas en grasas, bajas en carbohidratos; 2) dietas bajas en grasa, o 3) dietas bajas en carbohidratos. Como alternativa, las categorías nutricionales pueden clasificarse basándose en la restricción de ciertos macronutrientes recomendados para un sujeto basándose en el genotipo metabólico de ese sujeto. Por ejemplo, las categorías nutricionales pueden expresarse como 1) dietas equilibradas o con calorías restringidas; 2) dietas restrictivas para grasas o 3) dietas restrictivas para carbohidratos.

Los sujetos con un genotipo metabólico que es sensible a la dieta con restricción de grasas o baja en grasas tienden a absorber más grasas de la dieta en el cuerpo y tienen un metabolismo más lento. Tienen una mayor tendencia a aumento de peso. Los estudios clínicos han mostrado que estos sujetos tienen más facilidad para alcanzar un peso corporal sano reduciendo la grasa total en la dieta. Pueden tener un mayor éxito en la pérdida de peso siguiendo una dieta reducida en grasas y/o reducida en calorías. Además, se benefician del reemplazo de grasas saturadas con grasas monoinsaturadas dentro de una dieta reducida en calorías. Los estudios clínicos también han mostrado que estas mismas modificaciones dietéticas mejoran la capacidad del cuerpo para metabolizar azúcares y grasas.

Los sujetos con un genotipo metabólico que es sensible a la dieta con restricción de carbohidratos o baja en carbohidratos tienden a ser más sensibles al aumento de peso por consumo excesivo de carbohidratos. Tienen un mayor éxito en la pérdida de peso reduciendo los carbohidratos dentro de una dieta reducida en calorías. Los sujetos con este patrón genético son propensos a obesidad y tienen dificultad con la regulación del azúcar en sangre si su consumo de carbohidratos diario es alto, tal como cuando el consumo de carbohidratos diario excede, por ejemplo, aproximadamente el 49 % de las calorías totales. Se ha mostrado que la reducción de carbohidratos optimiza la regulación del azúcar en sangre y reduce el riesgo de mayor aumento de peso. Si tienen altas grasas saturadas y bajas grasas monoinsaturadas en su dieta, el riesgo de aumento de peso y azúcar en sangre elevado aumenta. Mientras se limitan las calorías totales, estos sujetos pueden beneficiarse de la restricción de consumo de carbohidratos total y el cambio de la composición de grasas de su dieta a grasas monoinsaturadas (por ejemplo, una dieta baja en grasas saturadas y baja en carbohidratos).

- 5 Los sujetos con un genotipo metabólico que es sensible a un equilibrio de grasas y carbohidratos no muestran una necesidad uniforme de una dieta baja en grasas o baja en carbohidratos. En estos sujetos los biomarcadores clave, tales como peso corporal, grasa corporal y perfil de lípidos en plasma, responden bien a una dieta equilibrada en grasas y carbohidratos. Para sujetos con este patrón genético que están interesados en la pérdida de peso, se ha descubierto que una dieta equilibrada restringida en calorías promueve la pérdida de peso y una reducción de la grasa corporal.
- 10 Una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que proporciona entre aproximadamente el 10 % y menos de aproximadamente el 40 % de calorías totales de la grasa. Una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que proporciona no más de aproximadamente el 35 por ciento (por ejemplo, no más de aproximadamente el 19 %, 21 %, 23 %, 22 %, 24 %, 26 %, 28 %, 33 %, etc.) de calorías totales de grasa.
- 15 Una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que no proporciona más de aproximadamente el 30 por ciento de calorías totales de grasa. Una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que proporciona no más de aproximadamente el 25 por ciento de calorías totales de grasa. Una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que no proporciona más de aproximadamente el 20 por ciento de calorías totales de grasa.
- 20 Una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que proporciona no más de aproximadamente el 15 por ciento de calorías totales de grasa. Una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que no proporciona más de aproximadamente el 10 por ciento de calorías totales de grasa.
- 25 En algunos casos, una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que está entre aproximadamente 10 gramos y aproximadamente 60 gramos de grasa al día.
- Una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que es de menos de aproximadamente 50 gramos (por ejemplo, menos de aproximadamente 10, 25, 35, 45, etc.) gramos de grasa al día.
- 30 Una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que es de menos de aproximadamente 30 gramos de grasa al día. Una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que es de menos de aproximadamente 20 gramos de grasa al día.
- 35 Las grasas contienen ácidos grasos tanto saturados como insaturados (monoinsaturados y poliinsaturados). La reducción de las grasas saturadas a menos del 10 por ciento de las calorías es una dieta baja en grasas saturadas.
- La reducción de las grasas saturadas a menos del 15 por ciento de las calorías es una dieta baja en grasas saturadas. La reducción de las grasas saturadas a menos del 20 por ciento de las calorías es una dieta baja en grasas saturadas.
- 40 Una dieta baja en carbohidratos (CHO) se refiere a una dieta que proporciona entre aproximadamente el 20 % y menos de aproximadamente el 50 % de las calorías totales de carbohidratos. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos (CHO) se refiere a una dieta que no proporciona más de aproximadamente el 50 por ciento (por ejemplo, no más de aproximadamente el 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, etc.) de las calorías totales de carbohidratos. Una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que no proporciona más de aproximadamente el 45 por ciento de las calorías totales de carbohidratos. Una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que no proporciona más de aproximadamente el 40 por ciento de las calorías totales de carbohidratos. Una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que no proporciona más de aproximadamente el 35 por ciento de las calorías totales de carbohidratos.
- 45 Una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que no proporciona más de aproximadamente el 30 por ciento de las calorías totales de carbohidratos.
- 50 Una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que no proporciona más de aproximadamente el 25 por ciento de las calorías totales de carbohidratos.
- 55 Una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que no proporciona más de aproximadamente el 20 por ciento de las calorías totales de carbohidratos.
- 60 Una dieta baja en carbohidratos (CHO) puede referirse a una dieta que restringe la cantidad de gramos de carbohidratos en una dieta tal como una dieta de aproximadamente 20 a aproximadamente 250 gramos de carbohidratos al día. Opcionalmente, una dieta baja en carbohidratos no comprende más de aproximadamente 220 (por ejemplo, no más de aproximadamente 40, 70, 90, 110, 130, 180, 210, etc.) gramos de carbohidratos al día. Opcionalmente, una dieta baja en carbohidratos no comprende más de aproximadamente 200 gramos de carbohidratos al día.
- 65

Opcionalmente, una dieta baja en carbohidratos no comprende más de aproximadamente 180 gramos de carbohidratos al día. Opcionalmente, una dieta baja en carbohidratos no comprende más de aproximadamente 150 gramos de carbohidratos al día.

5 Opcionalmente, una dieta baja en carbohidratos no comprende más de aproximadamente 130 gramos de carbohidratos al día. Opcionalmente, una dieta baja en carbohidratos no comprende más de aproximadamente 100 gramos de carbohidratos al día.

10 Opcionalmente, una dieta baja en carbohidratos no comprende más de aproximadamente 75 gramos de carbohidratos al día.

Una dieta con calorías restringidas o dieta equilibrada se refiere a una dieta que restringe las calorías totales consumidas por debajo del nivel de mantenimiento de peso (WML) de un sujeto, independientemente de ninguna preferencia por un macronutriente. Una dieta equilibrada o dieta con calorías restringidas busca reducir el consumo calórico general de un sujeto, por ejemplo, reduciendo el consumo calórico total de un sujeto por debajo del WML de ese sujeto sin centrarse particularmente en la restricción de las calorías consumidas de ningún macronutriente particular. Por lo tanto, una dieta equilibrada puede expresarse como un porcentaje del WML de un sujeto. Por ejemplo, una dieta equilibrada es una dieta que comprende un consumo calórico total de entre aproximadamente el 50 % y aproximadamente el 100 % de WML. Por ejemplo, una dieta equilibrada es una dieta que comprende un consumo calórico total de menos del 100 % (por ejemplo, menos de aproximadamente el 99 %, 97 %, 95 %, 90 %, 85 %, 80 %, 75 %, 70 %, 65 %, 60 %, 55 %) del WML. Dentro de este marco, una dieta equilibrada consigue un equilibrio sano o deseado de macronutrientes en la dieta y puede ser: baja en grasas; baja en grasas saturadas; baja en carbohidratos; baja en grasas y baja en carbohidratos; o baja en grasas saturadas y baja en carbohidratos. Por ejemplo, una dieta puede ser una dieta baja en grasas, con calorías restringidas (en la que baja en grasas tiene el significado proporcionado anteriormente en el presente documento). Una dieta puede ser una dieta baja en carbohidratos, con calorías restringidas (en la que baja en carbohidratos tiene el significado proporcionado anteriormente en el presente documento). Una dieta puede ser una dieta equilibrada, con calorías restringidas (por ejemplo, las partes relativas de macronutrientes pueden variar cuando las calorías totales consumidas estén por debajo del WML). Por ejemplo, una dieta baja en carbohidratos (Carb: 45 %, Proteína: 20 %, y Grasas: 35 %) comprende cualquiera de: dieta Atkins, Dieta de Impacto Glucémico, Dieta South Beach, Dieta Sugar Busters y/o dieta Zone.

Opcionalmente, una dieta baja en grasas (Carb: 65 %, Proteína: 15 %, Grasas: 20 %) comprende cualquiera de: Dieta Life Choice (Dieta Ornish Diet), Dieta Pritikin y/u otras dietas sanas para el corazón disponibles en el mercado.

Opcionalmente, una dieta equilibrada (Carb: 55 %, Proteína: 20 %, Grasas: 25 %) comprende cualquiera de: Dieta Life Best, Dieta Mediterránea, Dieta Sonoma, Dieta de Consumo Volumétrico, Dieta de Weight Watchers.

Otras dietas bajas en carbohidratos, bajas en grasas, equilibradas y dietas con calorías restringidas se conocen bien en la técnica, por lo tanto pueden recomendarse a un sujeto dependiendo del genotipo metabólico del sujeto y la respuesta predicha a dietas con calorías restringidas u otros tipos de dieta.

Categorías de ejercicio

45 Las categorías de ejercicio se clasifican en general basándose en lo sensible que es un sujeto al ejercicio dado su genotipo metabólico. Por ejemplo, un sujeto puede ser sensible a ejercicio ligero, ejercicio moderado, ejercicio intenso o ejercicio muy intenso.

Los sujetos con un genotipo metabólico que es sensible al ejercicio son capaces de degradar eficazmente la grasa corporal en respuesta a la actividad física. Tienden a responder al ejercicio con una pérdida de peso significativa y tienen más probabilidad de mantener esa pérdida de peso. Los sujetos quedan en esta categoría si son sensibles a un ejercicio ligero o moderado.

Los sujetos con un genotipo metabólico que es menos sensible al ejercicio son menos capaces de degradar la grasa corporal para obtener energía en respuesta al ejercicio que los que tienen el patrón genético alternativo. Tienden a perder menos peso y grasa corporal de lo esperado con ejercicio moderado. Estos sujetos requieren más ejercicio para activar la degradación de grasa corporal para obtener energía y pérdida de peso. También deben mantener un programa de ejercicio uniforme para mantener la pérdida de peso.

Una actividad ligera generalmente se refiere a un sujeto que se ejercita (realiza entrenamiento activo o deporte) 1-3 días por semana. La actividad moderada se refiere en general a un sujeto que se ejercita (realiza entrenamiento activo o deporte) 3-5 días por semana. Alta actividad se refiere en general a un sujeto que se ejercita (realiza un entrenamiento activo o deporte) 6-7 días por semana. Una actividad muy alta o extrema generalmente se refiere a un sujeto que se ejercita (realiza un entrenamiento activo o deporte) un promedio de más de una vez al día (por ejemplo dos veces al día). El ejercicio regular se refiere a actividad que es al menos ejercicio ligero o al menos ejercicio moderado.

De forma más precisa, el nivel de actividad puede expresarse con respecto a un porcentaje sobre la BMR. Por ejemplo, los multiplicadores de las fórmulas Harris-Benedict o Katch-McArdle pueden usarse como base para definir un nivel de actividad. En consecuencia, el ejercicio ligero se refiere a un nivel de actividad recomendado diseñado para aumentar el TDEE de un sujeto a aproximadamente 125 % de la BMR (es decir, aproximadamente un aumento del 25 %) a menos de aproximadamente 140 % (por ejemplo, aproximadamente 128 %, 130 %, 133 %, 135 %, 137,5 %, etc.) de BMR. El ejercicio moderado se refiere a un nivel de actividad recomendado diseñado para aumentar el TDEE de un sujeto a aproximadamente 140 % de la BMR a menos de aproximadamente 160 % (por ejemplo, aproximadamente 142 %, 145 %, 150 %, 155 %, 158 %, etc.) de BMR. El ejercicio intenso se refiere a un nivel de actividad recomendado diseñado para aumentar el TDEE de un sujeto a aproximadamente 160 % de la BMR a menos de aproximadamente 180 % (por ejemplo, aproximadamente 162 %, 165 %, 170 %, 172,5 %, 175 %, 178 %, etc.) de BMR. El ejercicio muy intenso o extremo se refiere a un nivel de actividad recomendado diseñado para aumentar el TDEE de un sujeto a aproximadamente 180 % de la BMR a más de aproximadamente 210 % (por ejemplo, próximamente 182 %, 185 %, 190 %, 195 %, 200 %, etc.) de BMR.

Como alternativa, de acuerdo con algunas realizaciones, una rutina de "ejercicio normal" comprende: 2,5 horas (150 minutos) de actividad de intensidad moderada por semana (las actividades de intensidad moderada se definen como 3,0 a 5,9 MET), una rutina de "ejercicio ligero" comprende: menos de 2,5 horas de actividad de intensidad moderada por semana, y una rutina de "ejercicio intenso" comprende: más de 13 MET por semana de actividades de alta intensidad (las actividades de alta intensidad se definen como de 6 MET o más). 1 MET es igual a 1 caloría/kg de masa corporal/hora. Las kcal totales gastadas por un sujeto = valor de MET de la actividad x peso corporal en kg x tiempo en horas.

El aumento o la pérdida de peso depende de un equilibrio entre las calorías consumidas y las calorías gastadas. Cuando la cantidad de calorías consumidas es mayor que el número de calorías gastadas, puede producirse aumento de peso. Por el contrario, si las calorías consumidas son menores que el número de calorías gastadas, puede producirse pérdida de peso. El WML de un sujeto se refiere al consumo calórico total que un sujeto necesita consumir para mantener el peso corporal actual. El WML de un sujeto puede determinarse o calcularse usando cualquier método conocido en la técnica. El WML se expresa con frecuencia como gasto de energía diario total (TDEE) o requisitos de energía estimados (EER). Aunque el significado de TDEE y EER como se usa en la técnica puede tener distinciones técnicas que reflejan la manera en que se calcula el nivel de mantenimiento del peso de un sujeto, estos términos pueden usarse indistintamente en su sentido general manteniendo al mismo tiempo sus distinciones técnicas. El WML puede calcularse usando cualquier método usado en la técnica (por ejemplo, TDEE o EER) para determinar el WML de un sujeto.

En promedio, para mujeres en los Estados Unidos el WML es de entre 2000-2100 calorías al día. Los hombres promedian un WML mayor a 2700-2900 calorías al día. Un método preferido para calcular el TDEE es usar el cálculo de Harris-Benedict o la fórmula de Katch-McArdle, que se conocen bien por los expertos habituales en la materia. Brevemente, la fórmula de Harris-Benedict determina en primer lugar la tasa metabólica basal (BMR) de un sujeto, que después es la base ajustada para el nivel de actividad para proporcionar el TDEE de un sujeto. Por ejemplo, la BMR para mujeres puede calcularse de acuerdo con la siguiente fórmula: $BMR_f = 65,51 + (9,563 \times kg) + (1,850 \times cm) - (4,676 \times edad)$. La BMR para los hombres puede calcularse de acuerdo con la siguiente fórmula: $BMR_m = 66,5 + (13,75 \times kg) + (5,003 \times cm) - (6,775 \times edad)$. La BMR se ajusta después multiplicando la BMR por un multiplicador asignado a un nivel de actividad particular. La tabla a continuación proporciona ejemplos de dichos multiplicadores. El resultado es el TDEE de un sujeto.

TABLA 4. Categorías de ejercicio

	TDEE	
	Mujeres	Hombres
Poco o ningún ejercicio	$BMR_f \times 1,2$	$BMR_m \times 1,2$
Ejercicio ligero	$BMR_f \times 1,375$	$BMR_m \times 1,375$
Ejercicio moderado	$BMR_f \times 1,55$	$BMR_m \times 1,55$
Ejercicio intenso	$BMR_f \times 1,725$	$BMR_m \times 1,725$
Ejercicio muy intenso	$BMR_f \times 1,9$	$BMR_m \times 1,9$

La fórmula de Katch y McArdle se basa en la masa corporal magra (LMB) de un sujeto. Por ejemplo, la BMR se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: $BMR \text{ (hombres y mujeres)} = 370 + (21,6 \times \text{masa magra en kg})$. Dado que la fórmula de Katch-McArdle tiene en cuenta LBM, esta única fórmula se aplica igualmente tanto a hombres como a mujeres. El TDEE se determina después usando los multiplicadores de actividad como se usa en el cálculo de Harris-Benedict (en la tabla anterior).

Clasificación

En general, el genotipo metabólico de un sujeto quedará dentro de una única categoría de nutrición y una única categoría de ejercicio. Por lo tanto, un sujeto se clasificará en una categoría de nutrición y categoría de ejercicio basándose en su genotipo metabólico. Por ejemplo, un sujeto puede clasificarse en una de las seis siguientes

categorías: 1) Sensible a la Restricción de Grasas y Sensible al Ejercicio; 2) Sensible a la Restricción de Grasas y Menos Sensible al Ejercicio; 3) Sensible a la Restricción de Carbohidratos y Sensible al Ejercicio; 4) Sensible a la Restricción de Carbohidratos y Menos Sensible al Ejercicio; 5) Equilibrio de Grasas y Carbohidratos y Sensible al Ejercicio; y 6) Equilibrio de Grasas y Carbohidratos y Menos Sensible al Ejercicio.

5 1) Sensible a Restricción de Grasas y Sensible al Ejercicio: Los sujetos con este patrón genético absorben más grasa de la dieta en el cuerpo y tienen un metabolismo más lento. Tienen una mayor tendencia a aumento de peso. Los estudios clínicos han mostrado que estos sujetos tienen más facilidad para alcanzar un peso corporal sano reduciendo la grasa en la dieta total. Pueden tener mayor éxito en la pérdida de peso siguiendo una dieta con grasas reducidas, con calorías reducidas. Además, se benefician del reemplazo de grasas saturadas con grasas monoinsaturadas dentro de una dieta con calorías reducidas. Los estudios clínicos también han mostrado que estas mismas modificaciones dietéticas mejoran la capacidad del cuerpo para metabolizar azúcares y grasas.

15 Los sujetos con este patrón genético son capaces de degradar eficazmente la grasa corporal en respuesta a actividad física. Tienden a responder al ejercicio con pérdida de peso significativa y es más probable que mantengan esa pérdida de peso. Dichos sujetos pueden beneficiarse de cualquier nivel de actividad aumentada tal como al menos ejercicio ligero o al menos ejercicio moderado.

20 2) Sensible a Restricción de Grasas y Menos Sensible al Ejercicio - Los sujetos con este patrón genético absorben más grasa de la dieta en el cuerpo y tienen un metabolismo más lento. Tienen una mayor tendencia al aumento de peso. Los estudios clínicos han mostrado que estos sujetos tienen más facilidad para alcanzar un peso corporal sano reduciendo la grasa de la dieta total. Pueden tener mayor éxito en la pérdida de peso siguiendo una dieta con grasas reducidas, con calorías reducidas. Además, se benefician del reemplazo de grasas saturadas con grasas monoinsaturadas dentro de una dieta de calorías reducidas. Los estudios clínicos han mostrado también que estas mismas modificaciones dietéticas mejoran la capacidad del cuerpo para metabolizar azúcares y grasas.

25 Los sujetos con ese patrón genético son menos capaces de degradar la grasa corporal para obtener energía en respuesta a ejercicio que los que tienen el patrón genético alternativo. Tienden a perder menos peso y grasa corporal de lo que se esperaría con ejercicio moderado. Estos sujetos requieren más ejercicio para activar la degradación de la grasa corporal para obtener energía y pérdida de peso. Deben mantener también un programa de ejercicio uniforme para mantener la pérdida de peso.

30 3) Sensible a Restricción de Carbohidratos y Sensible al Ejercicio - Los sujetos con este patrón genético son más sensibles al aumento de peso por un consumo de carbohidratos excesivo. Pueden tener mayor éxito en la pérdida de peso reduciendo los carbohidratos dentro de una dieta con calorías reducidas. Los sujetos con este patrón genético son propensos a la obesidad y tienen dificultad con la regulación del azúcar en sangre si su consumo de carbohidratos diario excede el 49 % de las calorías totales. Se ha mostrado que la reducción de carbohidratos optimiza la regulación de azúcar en sangre y reduce el riesgo de aumento de peso adicional. Si tienen alta cantidad de grasas saturadas y baja cantidad de grasas monoinsaturadas en su dieta, el riesgo de aumento de peso y azúcar elevado en sangre aumenta. Mientras se limitan las calorías totales, estos sujetos pueden beneficiarse de la restricción del consumo de carbohidratos total y el desplazamiento de la composición de grasas de su dieta a grasas monoinsaturadas.

35 Los sujetos con este patrón genético son capaces de degradar eficazmente la grasa corporal en respuesta a actividad física. Tienden a responder al ejercicio con una pérdida de peso significativa y es más probable que mantengan esa pérdida de peso.

40 4) Sensible a Restricción de Carbohidratos y Menos Sensible al Ejercicio - Los sujetos con este patrón genético son más sensibles al aumento de peso por consumo de carbohidratos excesivo. Pueden tener mayor éxito en la pérdida de peso reduciendo los carbohidratos dentro de una dieta con calorías reducidas. Los sujetos con este patrón genético son propensos a la obesidad y tienen dificultad con la regulación del azúcar en sangre si su consumo de carbohidratos diario excede el 49% de calorías totales. Se ha mostrado que la reducción de carbohidratos optimiza la regulación del azúcar en sangre y reduce el riesgo de aumento de peso adicional. Si tienen alta cantidad de grasas saturadas y baja cantidad de grasas monoinsaturadas en su dieta, el riesgo de aumento de peso y azúcar elevado en sangre aumenta. Mientras se limitan las calorías totales, estos sujetos pueden beneficiarse de la restricción del consumo de carbohidratos total y el desplazamiento de la composición de las grasas en su dieta a grasas monoinsaturadas.

45 Los sujetos con este patrón genético son menos capaces de degradar la grasa corporal para obtener energía en respuesta al ejercicio que los que tienen el patrón genético alternativo. Tienden a perder menos peso y grasa corporal de lo que se esperaba con ejercicio moderado. Estos sujetos requieren más ejercicio para activar la degradación de la grasa corporal para obtener energía y pérdida de peso. También deben mantener un programa de ejercicio uniforme para mantener la pérdida de peso.

50 5) Equilibrio de Grasas y Carbohidratos y Sensibles al Ejercicio - Los sujetos con este patrón genético no muestran una necesidad uniforme de una dieta baja en grasas o baja en carbohidratos. En estos sujetos, biomarcadores clave, tales como el peso corporal, la grasa corporal y el perfil de lípidos en plasma, responden bien a una dieta equilibrada de grasas y carbohidratos. Para sujetos con este patrón genético que están interesados en la pérdida de peso, se ha descubierto que una dieta equilibrada restringida en calorías promueve la pérdida de peso y una reducción de la grasa corporal.

65 Los sujetos con este patrón genético son capaces de degradar eficazmente la grasa corporal en respuesta a la

actividad física. Tienden a responder al ejercicio con pérdida de peso significativa y es más probable que mantengan esa pérdida de peso.

6) Equilibrio de Grasas y Carbohidratos y Menos Sensibles al Ejercicio - Los sujetos con este patrón genético no muestran una necesidad uniforme de una dieta baja en grasas o baja en carbohidratos. En estos sujetos, biomarcadores clave, tales como el peso corporal, la grasa corporal y el perfil de lípidos en plasma, responden bien a una dieta equilibrada en grasas y carbohidratos. Para sujetos con este patrón genético que están interesados en perder peso, se ha descubierto que una dieta equilibrada restringida en calorías promueve la pérdida de peso y una reducción de la grasa corporal.

Los sujetos con este patrón genético son menos capaces de degradar la grasa corporal para obtener energía en respuesta al ejercicio que los que tienen el patrón genético alternativo. Tienden a perder menos peso y grasa corporal de lo que se esperaría con el ejercicio moderado. Estos sujetos requieren más ejercicio para activar la degradación de la grasa corporal para obtener energía y pérdida de peso. También deben mantener un programa de ejercicio uniforme para mantener la pérdida de peso.

Además de las recomendaciones nutricionales y de ejercicio, el régimen terapéutico/dietético personalizado también puede incluir recomendación de complementos dietéticos, complementos alimentarios o nutracéuticos. Un "nutracéutico" es cualquier alimento funcional que proporciona un beneficio adicional distinto de su beneficio nutricional. Esta categoría puede incluir bebidas nutricionales, bebidas dietéticas (por ejemplo, Slimfast™ y similares) así como bebidas herbales deportivas y otras fortificadas.

Kits

Se describen kits para detectar el genotipo metabólico de un sujeto, que comprenden reactivos (oligonucleótidos, sales, enzimas, tampones, etc.) e instrucciones para usar el kit.

Opcionalmente, los kits comprenden un medio de recogida de muestras, incluyendo, pero sin limitación un hisopo para recoger saliva, medios de almacenamiento para almacenar la muestra recogida, y para su envío. El kit comprende además un CD o CD-ROM con instrucciones sobre cómo recoger la muestra, enviar la muestra y medios para interpretar la información genotípica recuperada del ADN de la muestra, y traducir la información a recomendaciones terapéuticas/dietéticas o de estilo de vida. Los patrones genotípicos pueden almacenarse, transmitirse y presentarse mediante redes informáticas e Internet. Las recomendaciones terapéuticas/dietéticas y de estilo de vida incluyen, pero sin limitación, las descritas en el presente documento.

Detección de alelos

Los patrones alélicos, patrones de polimorfismo, o patrones de haplotipo pueden identificarse detectando cualquiera de los alelos componentes usando cualquiera de una diversidad de técnicas disponibles, incluyendo: 1) realizar una reacción de hibridación entre una muestra de ácido nucleico y una sonda que es capaz de hibridar con el alelo; 2) secuenciar al menos una parte del alelo; o 3) determinar la movilidad electroforética del alelo o fragmentos del mismo (por ejemplo, fragmentos generados por digestión con endonucleasa). El alelo puede someterse opcionalmente a una etapa de amplificación antes de la realización de la etapa de detección. Los métodos de amplificación preferidos se seleccionan del grupo que consiste en: la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la reacción en cadena de la ligasa (LCR), amplificación por desplazamiento de cadena (SDA), clonación y variaciones de los anteriores (por ejemplo amplificación por RT-PCR y específica de alelo). Pueden seleccionarse oligonucleótidos necesarios para la amplificación, por ejemplo, de entre los loci de genes metabólicos, que bien flanquean al marcador de interés (según se requiera para amplificación por PCR) o bien se solapan directamente con el marcador (como en la hibridación de oligonucleótido específico de alelo (ASO)). En una realización particularmente preferida, la muestra se hibrida con un conjunto de cebadores, que hibridan 5' y 3' en una secuencia con sentido o antisentido con el alelo asociado a enfermedad vascular, y se somete a una amplificación por PCR.

También puede detectarse un alelo indirectamente, por ejemplo analizando el producto proteico codificado por el ADN. Por ejemplo, cuando el marcador en cuestión da como resultado la traducción de una proteína mutante, la proteína puede detectarse por cualquiera de una diversidad de métodos de detección de proteínas. Dichos métodos incluyen ensayos de inmunodetección y bioquímicos, tales como fraccionamiento por tamaño, en los que la proteína tiene un cambio en su peso molecular aparente bien mediante truncamiento, elongación, plegamiento alterado o modificaciones postraduccionales alteradas.

Una directriz general para diseñar cebadores para amplificación de secuencias genómicas cromosómicas humanas únicas es que posean una temperatura de fusión de al menos aproximadamente 50 °C, en la que una temperatura de fusión aproximada puede estimarse usando la fórmula $T_{\text{fusión}} = [2X(N^{\circ} \text{ de A o T}) + 4X(N^{\circ} \text{ de G o C})]$.

Están disponibles muchos métodos para detectar alelos específicos en loci polimórficos humanos. El método preferido para detectar un alelo polimórfico específico dependerá, en parte, de la naturaleza molecular del polimorfismo. Por ejemplo, las diversas formas alélicas del locus polimórfico pueden diferir en un único par de bases del ADN. Dichos polimorfismos de un único nucleótido (o SNP) son contribuyentes importantes a la variación genética, comprendiendo aproximadamente el 80 % de todos los polimorfismos conocidos, y se estima que su

densidad en el genoma humano es de un promedio de 1 por cada 1.000 pares de bases. Los SNP son más frecuentemente de aparición bialélica solamente en dos formas diferentes (aunque hasta cuatro formas diferentes de un SNP, correspondientes a las cuatro bases nucleotídicas diferentes que aparecen en ADN, son teóricamente posibles). No obstante, los SNP son mutacionalmente más estables que otros polimorfismos, haciéndolos adecuados para estudios de asociación en los que se usa el desequilibrio de enlace entre marcadores y una variante desconocida para mapear las mutaciones causantes de enfermedad. Además, debido a que los SNP típicamente tienen solamente dos alelos, estos pueden genotiparse por un ensayo sencillo más/menos en lugar de una medición de longitud, haciéndolos más susceptibles a automatización.

Están disponibles una diversidad de métodos para detectar la presencia de un alelo polimórfico de un único nucleótido particular en un sujeto. Los avances en este campo han proporcionado una genotipación de SNP a gran escala precisa, fácil y económica. Más recientemente, por ejemplo, se han descrito varias técnicas nuevas incluyendo la hibridación específica de alelo dinámica (DASH), electroforesis en gel diagonal de matriz de microplacas (MADGE), pirosecuenciación, ligamiento específico de oligonucleótidos, el sistema TaqMan, así como diversas tecnologías de "microplacas" de ADN tales como las microplacas de SNP Affymetrix. Estos métodos requieren la amplificación de la región genética diana, típicamente por PCR. Otros métodos recién desarrollados adicionales, basados en la generación de moléculas señal pequeñas por escisión invasiva seguido de espectrometría de masas o sondas de candado inmovilizadas y amplificación de círculo rodante, podrían eliminar con el tiempo la necesidad de la PCR. Varios de los métodos conocidos en la técnica para detectar polimorfismos de un único nucleótido específico se resumen posteriormente. Se entiende que el método de la presente invención incluye todos los métodos disponibles.

Se han desarrollado varios métodos para facilitar el análisis de polimorfismos de un único nucleótido. El polimorfismo de una única base puede detectarse usando un nucleótido resistente a exonucleasa especializada, como se desvela, por ejemplo, en Mundy, C. R. (Patente de Estados Unidos N° 4.656.127). De acuerdo con el método, se permite que un cebador complementario de la secuencia alélica inmediatamente 3' del sitio polimórfico hibride con una molécula diana obtenida a partir de un animal o ser humano particular. Si el sitio polimórfico en la molécula diana contiene un nucleótido que es complementario del derivado de nucleótido resistente a exonucleasa particular presente, entonces ese derivado se incorporará en el extremo de cebador hibridado. Dicha incorporación hace al cebador resistente a exonucleasa, y de este modo permite su detección. Ya que la identidad del derivado resistente a exonucleasa de la muestra se conoce, un hallazgo de que el cebador se ha vuelto resistente a exonucleasas revela que el nucleótido presente en el sitio polimórfico de la molécula diana era complementario al del derivado nucleotídico usado en la reacción. Este método tiene la ventaja de que no requiere la determinación de grandes cantidades de datos de secuencias ajenas.

Como alternativa, se usa un método basado en solución para determinar la identidad del nucleótido de un sitio polimórfico. Cohen, D. *et al.* (Patente Francesa 2.650.840; Solicitud de PCT N° WO91/02087). Como en el método de Mundy de la Patente de Estados Unidos N° 4.656.127, se emplea un cebador que es complementario de secuencias alélicas inmediatamente 3' de un sitio polimórfico. El método determina la identidad del nucleótido de ese sitio usando derivados didesoxinucleotídicos marcados, que, si, son complementarios del nucleótido del sitio polimórfico se incorporarán en el extremo del cebador.

Se describe un método alternativo, conocido como Análisis de Bits Genéticos o GBA™ en Goelet, P. *et al.* (Publicación de PCT N° WO92/15712). El método de Goelet, P. *et al.* usa mezclas de terminadores marcados y un cebador que es complementario de la secuencia 3' de un sitio polimórfico. El terminador marcado que se incorpora se determina por lo tanto mediante, y es complementario del, nucleótido presente en el sitio polimórfico de la molécula diana que se evalúa. A diferencia del método de Cohen *et al.* (Patente Francesa 2.650.840; Publicación de PCT N° WO91/02087), el método de Goelet, P. *et al.* es preferentemente un ensayo de fase heterogénea, en el que el cebador o la molécula diana se inmoviliza en una fase sólida.

Recientemente, se han descrito varios procedimientos de incorporación de nucleótidos guiados por cebador para ensayar sitios polimórfico en ADN (Komher, J. S. *et al.*, Nucl. Acids. Res. 17: 7779-7784 (1989); Sokolov, B. P., Nucl. Acids Res. 18: 3671 (1990); Sanen, A.-C., *et al.*, Genómicas 8: 684-692 (1990); Kuppawamy, M. N. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A) 88: 1143-1147 (1991); Prezant, T. R. *et al.*, Hum. Mutat. 1: 159-164 (1992); Ugozzoli, L. *et al.*, GATA 9: 107-112 (1992); Nyren, P. *et al.*, Anal. Biochem. 208: 171-175 (1993)). Estos métodos difieren de GBA™ en que todos se basan en la incorporación de desoxinucleótidos marcados para diferenciar entre bases en un sitio polimórfico. En dicho formato, ya que la señal es proporcional al número de desoxinucleótidos incorporados, los polimorfismos que aparecen en ciclos del mismo nucleótido pueden dar como resultado señales que son proporcionales a la longitud del ciclo (Sanen, A.-C., *et al.*, Amer. J. Hum. Genet. 52: 46-59 (1993)).

Para mutaciones que producen terminación prematura de la traducción de proteínas, el ensayo de truncamiento de proteínas (PTT) ofrece un enfoque de diagnóstico eficaz (Roest, *et al.*, (1993) Hum. Mol. Genet. 2: 1719-2 1; van der Luijt, *et al.*, (1994) Genómicas 20: 1-4). Para PTT, se aísla inicialmente ARN de tejido disponible y se transcribe de forma inversa, y el segmento de interés se amplifica por PCR. Los productos de PCR de transcripción inversa se usan después como un molde para amplificación por PCR anidada con un cebador que contiene un promotor de ARN polimerasa y una secuencia para iniciar la traducción eucariota. Después de la amplificación de la región de

interés, los motivos únicos incorporados en el cebador permiten la transcripción y traducción *in vitro* secuencial de los productos de PCR. Tras electroforesis en gel de poliacrilamida-dodecil sulfato sódico de productos de traducción, la aparición de polipéptidos truncados marca la presencia de una mutación que provoca terminación prematura de la traducción. En una variación de esta técnica, se usa ADN (a diferencia de ARN) como un molde de PCR cuando la

5 región de interés diana deriva de un único exón.

Puede utilizarse cualquier tipo celular o tejido para obtener muestras de ácido nucleico para su uso en los diagnósticos descritos en el presente documento. Preferentemente, la muestra de ADN se obtiene de un fluido corporal, por ejemplo, sangre, obtenido por técnicas conocidas (por ejemplo punción venosa) o saliva. Como

10 alternativa, pueden realizarse ensayos de ácidos nucleicos en muestras secas (por ejemplo piel o pelo). Cuando se usa ARN o proteína, las células o tejidos que pueden utilizarse deben expresar un gen de interés metabólico.

También pueden realizarse procedimientos de diagnóstico *in situ* directamente sobre secciones tisulares (fijas y/o congeladas) de tejido del paciente obtenido de biopsias o resecciones, de modo que no sea necesaria ninguna purificación de ácido nucleico. Pueden usarse reactivos de ácido nucleico como sondas y/cebadores para dichos procedimientos *in situ* (véase, por ejemplo Nuovo, G. J., 1992, PCR *in situ* hybridization: protocols and applications, Raven Press, NY).

15 Además de métodos que se centran principalmente en la detección de una secuencia de ácido nucleico, los perfiles también pueden evaluarse en dichos esquemas de detección. Pueden generarse perfiles de identificación genética, por ejemplo, utilizando un procedimiento de presentación diferencial, análisis de Northern y/o RT-PCR.

Un método de detección preferido es la hibridación específica de alelo usando sondas que solapan con una región de al menos un alelo de un gen metabólico o haplotipo y que tienen aproximadamente 5, 10, 20, 25 o 30 nucleótidos

25 alrededor de la mutación o región polimórfica. En una realización preferida de la invención, varias sondas capaces de hibridar específicamente con otras variantes alélicas de genes metabólicos clave se unen con un soporte de fase sólida, por ejemplo, una "microplaca" (que puede contener hasta aproximadamente 250.000 oligonucleótidos). Los oligonucleótidos pueden unirse con un soporte sólido por una diversidad de procesos, incluyendo litografía. El análisis de detección de mutación usando estas microplacas que comprenden oligonucleótidos, también

30 denominada "matrices de sondas de ADN" se describe por ejemplo, en Cronin *et al.* (1996) Human Mutation 7: 244. Opcionalmente, una microplaca comprende todas las variantes alélicas de al menos una región polimórfica de un gen. El soporte de fase sólida se pone en contacto después con un ácido nucleico de ensayo y se detecta la hibridación con las sondas específicas. En consecuencia, puede identificarse la identidad de numerosas variantes alélicas de uno o más genes en un experimento de hibridación sencillo.

35 Esas técnicas también pueden comprender la etapa de amplificar el ácido nucleico antes de su análisis. Los expertos en la materia conocen técnicas de amplificación que incluyen, pero sin limitación, clonación, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), reacción en cadena de la polimerasa de alelos específicos (ASA), reacción en cadena de la ligasa (LCR), reacción en cadena de la polimerasa anidada, replicación de secuencia automantenida (Guatelli, J. C. *et al.*, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 1874-1878), sistema de amplificación transcripcional (Kwoh, D. Y. *et al.*, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 1173-1177), y Q- Beta Replicasa (Lizardi, P. M. *et al.*, 1988, Bio/Technology 6: 1197).

40 Los productos de amplificación pueden ensayarse de diversas maneras, incluyendo análisis de tamaño, digestión de restricción seguida de análisis de tamaño, detección de cebadores oligonucleotídicos marcados específicos en los productos de reacción, hibridación de oligonucleótidos específicos de alelo (ASO), detección de exonucleasa 5' específica de alelo, secuenciación, hibridación y similares.

Los medios de detección basados en PCR pueden incluir amplificación múltiple de una pluralidad de marcadores simultáneamente. Por ejemplo, se conoce bien en la técnica la selección de cebadores de PCR para generar

50 productos de PCR que no solapan en tamaño y pueden analizarse simultáneamente. Como alternativa, es posible amplificar diferentes marcadores con cebadores que están marcados diferencialmente y por lo tanto cada uno puede detectarse diferencialmente. Por supuesto, los medios de detección basados en hibridación permiten la detección diferencial de múltiples productos de PCR en una muestra. Se conocen otras técnicas en este campo que permiten

55 análisis múltiples de una pluralidad de marcadores.

Por ejemplo, el método incluye las etapas de (i) recoger una muestra de células de un paciente, (ii) aislar ácido nucleico (por ejemplo, genómico, ARNm o ambos) de las células de la muestra, (iii) poner en contacto la muestra de ácido nucleico con uno o más cebadores que hibridan específicamente 5' y 3' de al menos un alelo de un gen metabólico o haplotipo en condiciones tales que se produzca hibridación y amplificación del alelo, y (iv) detectar el producto de amplificación. Estos esquemas de detección son especialmente útiles para la detección de moléculas de ácido nucleico si dichas moléculas están presentes en números muy bajos.

60 Preferentemente, en el ensayo descrito, el alelo de un gen metabólico o haplotipo se identifica por alteraciones en patrones de escisión de enzimas de restricción. Por ejemplo, se aísla ADN de muestra y de control, se amplifica (opcionalmente), se digiere con una o más endonucleasas de restricción, y se determinan los tamaños de longitud

65

de fragmento por electroforesis en gel.

Puede usarse cualquiera de una diversidad de reacciones de secuenciación conocidas en la técnica para secuenciar directamente el alelo. Las reacciones de secuenciación ejemplares incluyen las basadas en técnicas desarrolladas por Maxim y Gilbert ((1977) Proc. Natl Acad Sci USA 74: 560) o Sanger (Sanger *et al* (1977) Proc. Nat. Acad. Sci USA 74: 5463). También se contempla que puede utilizarse cualquiera de una diversidad de procedimientos de secuenciación automáticos cuando se realicen los ensayos objeto (véase, por ejemplo Biotechniques (1995) 19: 448), incluyendo secuenciación por espectrometría de masas (véase, por ejemplo publicación de PCT WO 94/16101; Cohen *et al.* (1996) Adv Chromatogr 36: 127-162; y Griffin *et al.* (1993) Appl Biochem Biotechnol 38: 147-159). Resultará evidente para un experto en la materia que, para ciertas realizaciones, es necesario determinar la aparición de solamente una, dos o tres de las bases de ácido nucleico en la reacción de secuenciación. Por ejemplo, puede llevarse a cabo seguimiento de A o similares, por ejemplo, cuando solamente se detecta un ácido nucleico.

Opcionalmente, puede usarse protección de agentes de escisión (tales como una nucleasa, hidroxilamina o tetróxido de osmio y con piperidina) para detectar bases desapareadas en heterodúplex de ARN/ARN o ARN/ADN o ADN/ADN (Myers, *et al.* (1985) Science 230: 1242). En general, la técnica de este campo de "escisión de desapareamiento" comienza proporcionando heterodúplex formados por hibridación de ADN o ARN (marcado) que contiene el alelo de tipo silvestre con la muestra. Los dúplex bicatenarios se tratan con un agente que escinde regiones monocatenarias del dúplex tales como las que existirán debido a desapareamientos de pares de bases entre las cadenas de control y de muestra. Por ejemplo, pueden tratarse dúplex de ARN/ADN con RNasa y tratarse híbridos de ADN/ADN con S1 nucleasa para digerir enzimáticamente las regiones desapareadas. En otras realizaciones, pueden tratarse dúplex de ADN/ADN o ARN/ADN con hidroxilamina o tetróxido de osmio y con piperidina para digerir las regiones desapareadas. Después de digestión de las regiones desapareadas, el material resultante se separa después por tamaño en geles de poli(acrilamida) desnaturizantes para determinar el sitio de mutación. Véase, por ejemplo, Cotton *et al* (1988) Proc. Natl Acad Sci USA 85: 4397; y Saleeba *et al* (1992) Methods Enzymol. 217: 286-295. Preferentemente, el ADN o ARN de control pueden marcarse para detección.

La reacción de escisión de desapareamiento puede emplear una o más proteínas que reconocen pares de bases desapareados en ADN bicatenario (denominadas enzimas de "reparación de desapareamiento de ADN"). Por ejemplo, la enzima mutY de *E. coli* escinde A en desapareamientos G/A y la ADN glicosilasa de timidina de células HeLa escinden T en desapareamientos G/T (Hsu *et al.* (1994) Carcinogenesis 15: 1657-1662). Por ejemplo, una sonda basada en un alelo de un haplotipo de locus de gen metabólico se hibrida con un ADNc u otro producto de ADN de una célula o células de ensayo. El dúplex se trata con una enzima de reparación de desapareamiento de ADN y los productos de escisión, si los hubiera, pueden detectarse a partir de protocolos de electroforesis o similares. Véase, por ejemplo, Patente de Estados Unidos N° 5.459.039.

Como alternativa, se usarán alteraciones en la movilidad electroforética para identificar un alelo del locus de gen metabólico. Por ejemplo, puede usarse el polimorfismo de conformación monocatenaria (SSCP) para detectar diferencias en la movilidad electroforética entre ácidos nucleicos mutantes y de tipo silvestre (Orita *et al.* (1989) Proc Natl. Acad. Sci USA 86: 2766, véase también Cotton (1993) Mutat Res 285: 125-144; y Hayashi (1992) Genet Anal Tech Appl 9: 73-79). Se desnaturizan fragmentos de ADN monocatenarios de alelos de locus metabólico de control y de muestra y se permite que se renaturalicen. La estructura secundaria de ácidos nucleicos monocatenarios varía de acuerdo con la secuencia, la alteración resultante en la movilidad electroforética permite la detección incluso de un cambio de una única base. Los fragmentos de ADN pueden marcarse o detectarse con sondas marcadas. La sensibilidad del ensayo puede potenciarse usando ARN (en lugar de ADN), en el que la estructura secundaria es más sensible a un cambio en la secuencia. Preferentemente, el método objeto utiliza análisis de heterodúplex para separar moléculas de heterodúplex bicatenarias basándose en cambios en la movilidad electroforética (Keen *et al.* (1991) Trends Genet 7: 5).

Como alternativa, el movimiento de los alelos en geles de poli(acrilamida) que contienen un gradiente de desnaturizante se ensaya usando electroforesis en gel de gradiente desnaturizante (DGGE) (Myers *et al.* (1985) Nature 313: 495). Cuando se usa DGGE como el método de análisis, el ADN se modificará para asegurar que no se desnaturalice completamente, por ejemplo añadiendo una pinza de GC de aproximadamente 40 pb de ADN rico en GC de alto punto de fusión por PCR. Como alternativa, se usa un gradiente de temperatura en lugar de un gradiente de agente desnaturizante para identificar diferencias en la movilidad del ADN de control y de muestra (Rosenbaum y Reissner (1987) Biophys Chem 265: 12753).

Los ejemplos de otras técnicas para detectar alelos incluyen, pero sin limitación, hibridación de oligonucleótidos selectiva, amplificación selectiva o extensión de cebadores selectiva. Por ejemplo, pueden prepararse cebadores oligonucleótidos en los que la mutación o diferencia de nucleótido conocida (por ejemplo, en variantes alélicas) se coloca en el centro y después hibrida con ADN diana en condiciones que permiten la hibridación solamente si se encuentra una coincidencia perfecta (Saiki *et al.* (1986) Nature 324: 163); Saiki *et al* (1989) Proc. Natl Acad. Sci USA 86: 6230). Dichas técnicas de hibridación de oligonucleótidos específicas de alelos pueden usarse para ensayar una mutación o región polimórfica por cada reacción cuando los oligonucleótidos se hibridan con ADN diana amplificado por PCR o varias mutaciones diferentes o regiones polimórficas cuando los nucleótidos se unen con la membrana de hibridación y se hibridan con ADN diana marcado.

Como alternativa, puede usarse tecnología de amplificación específica de alelo que depende de la amplificación por PCR selectiva. Los oligonucleótidos usados como cebadores para amplificación específica pueden portar la mutación o región polimórfica de interés en el centro de la molécula (de modo que la amplificación depende de la hibridación diferencial) (Gibbs *et al* (1989) *Nucleic Acids Res.* 17: 2437-2448) o en el extremo 3' terminal de un cebador donde, en condiciones apropiadas, el desapareamiento puede evitar o reducir la extensión por polimerasa (Prossner (1993) *Tibtech* 1 1: 238). Además puede ser deseable introducir un nuevo sitio de restricción en la región de la mutación para crear detección basada en escisión (Gasparini *et al* (1992) *Mol. Cell Probes* 6: 1). Se anticipa que en ciertos casos también puede realizarse amplificación usando Taq ligasa para amplificación (Barany (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 88: 189). En dichos casos, se producirán ligamientos solamente si hay una coincidencia perfecta en el extremo 3' de la secuencia 5' haciendo posible detectar la presencia de una mutación conocida en un sitio específico buscando la presencia o ausencia de amplificación.

Puede llevarse a cabo identificación de la variante alélica usando un ensayo de ligamento de oligonucleótidos (OLA), como se describe, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N° 4.998.617 y en Landegren, U. *et al.* ((1988) *Science* 241: 1077-1080). El protocolo de OLA usa dos oligonucleótidos que se diseñan para ser capaces de hibridar con secuencias adyacentes de una única cadena de una diana. Uno de los oligonucleótidos está unido con un marcador de separación, por ejemplo, biotilado, y el otro está marcado de forma detectable. Si la secuencia complementaria precisa se encuentra en una molécula diana, los oligonucleótidos hibridarán de modo que sus extremos entren en contacto, y creen un sustrato de ligamiento. El ligamiento permite después que el oligonucleótido marcado se recupere usando avidina, u otro ligando de biotina. Nickerson, D. A. *et al* han descrito un ensayo de detección de ácido nucleico que combina atributos de PCR y OLA (Nickerson, D. A. *et al.* (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 8923-27). En este método, se usa PCR para conseguir amplificación exponencial de ADN diana, que después se detecta usando OLA.

Se han desarrollado varias técnicas basadas en este método de OLA y pueden usarse para detectar alelos de un haplotipo de locus de gen metabólico. Por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 5.593.826 desvela un OLA usando un oligonucleótido que tiene un grupo amino 3' y un oligonucleótido 5' fosforilado para formar un conjugado que tiene un enlace de fosforamidato. En otra variación de OLA descrita en Tobe *et al.* ((1996) *Nucleic Acids Res* 24: 3728), OLA combinado con PCR permite la tipificación de los alelos en un único pocillo de microtitulación. Marcando cada uno de los cebadores específicos de alelos con un hapteno único, es decir, digoxigenina y fluoresceína, cada reacción de OLA puede detectarse usando anticuerpos específicos de hapteno que están marcados con diferentes indicadores enzimáticos, fosfatasa alcalina o peroxidasa de rábano rústico. Este sistema permite la detección de los dos alelos usando un formato de alto rendimiento que conduce a la producción de dos colores diferentes.

También se desvelan kits para realizar los ensayos anteriormente descritos. Los kits pueden incluir un medio para determinar el genotipo de un sujeto con respecto a uno o más genes metabólicos. El kit también puede contener un medio de recogida de muestras de ácido nucleico. El kit también puede contener una muestra de control bien positiva o bien negativa o un patrón y/o un dispositivo algorítmico para evaluar los resultados y reactivos adicionales y componentes incluyendo: reactivos de amplificación de ADN, ADN polimerasa, reactivos de amplificación de ácido nucleico, enzimas restrictivas, tampones, un dispositivo de toma de muestras de ácido nucleico, dispositivo de purificación de ADN, desoxinucleótidos, oligonucleótidos (por ejemplo sondas y cebadores), etc.

Para uso en un kit, los oligonucleótidos pueden ser cualquiera de una diversidad de composiciones naturales y/o sintéticas tales como oligonucleótidos sintéticos, fragmentos de restricción, ADNc, ácidos nucleicos peptídicos (PNA) sintéticos y similares. El kit y método de ensayo también pueden emplear oligonucleótidos marcados para permitir una facilidad de identificación en los ensayos. Los ejemplos de marcadores que pueden emplearse incluyen radiomarcadores, enzimas, compuestos fluorescentes, estreptavidina, avidina, biotina, restos magnéticos, restos de unión a metales, restos de antígeno o anticuerpo, y similares.

Como se ha descrito anteriormente, el control puede ser un control positivo o negativo. Además, la mezcla de control puede contener los productos positivos (o negativos) de la técnica de detección de alelos empleada. Por ejemplo, cuando la técnica de detección de alelos es amplificación por PCR, seguida de fraccionamiento por tamaño, la muestra de control puede comprender fragmentos de ADN del tamaño apropiado. De forma similar, cuando la técnica de detección de alelo implica detección de una proteína mutada, la muestra de control puede comprender una muestra de proteína mutada. Sin embargo, se prefiere que la muestra de control comprenda el material para ensayar. Por ejemplo, los controles pueden ser una muestra de ADN genómico o una parte clonada de un gen metabólico. Preferentemente, sin embargo, la muestra de control es una muestra altamente purificada de ADN genómico en la que la muestra para ensayar es ADN genómico.

Los oligonucleótidos presentes en dicho kit pueden usarse para amplificación de la región de interés o para hibridación de oligonucleótido específico de alelo (ASO) directa con los marcadores en cuestión. Por lo tanto, los oligonucleótidos pueden flanquear el marcador de interés (como se requiere para la amplificación por PCR) o solapar directamente con el marcador (como en la hibridación de ASO).

La información obtenida usando los ensayos y kits descritos en el presente documento (sola o junto con información sobre otro defecto genético o factor ambiental, que contribuye a la osteoartritis) es útil para determinar si un sujeto

no sintomático tiene o es probable que desarrolle la enfermedad o afección particular. Además, la información puede permitir un enfoque más adaptado para prevenir la aparición o progresión de la enfermedad o afección. Por ejemplo, esta información puede permitir que un especialista clínico recete de forma más eficaz una terapia que aborde la base molecular de la enfermedad o afección.

5 El kit puede, opcionalmente, también incluir medios para tomar muestras de ADN. Los medios para tomar muestras de ADN se conocen bien por los expertos en la materia y pueden incluir, pero sin limitación, sustratos, tales como papeles de filtro, el AmpliCard™ (Universidad de Sheffield, Sheffield, Inglaterra S10 2JF; Tarlow, J W, *et al.*, J. of Invest. Dermatol. 103: 387-389 (1994)) y similares; reactivos de purificación de ADN tales como kits Nucleon™,
10 tampones de lisis, soluciones de proteinasa y similares; reactivos de PCR, tales como tampón de reacción 10X, polimerasa termoestable, dNTP, y similares; y medios de detección de alelos tales como la enzima de restricción de HinfI, oligonucleótidos específicos de alelos, cebadores oligonucleotídicos degradados para PCR anidada de sangre seca.

15 También se desvelan kits para detectar una predisposición a sensibilidad a ciertas dietas y/o niveles de actividad. Este kit puede contener uno o más oligonucleótidos, incluyendo oligonucleótidos 5' y 3' que hibridan 5' y 3' de al menos un alelo de un locus de gen metabólico o haplotipo. Los oligonucleótidos de amplificación por PCR deberían hibridar a una distancia de entre 25 y 2500 pares de bases, preferentemente a una distancia de entre
20 aproximadamente 100 y aproximadamente 500 pares de bases, para producir un producto de PCR del tamaño conveniente para análisis posterior.

TABLA 5: Se enumeran los cebadores particularmente preferidos para su uso en el método de la invención incluido

Gen	SNP	Cebador de PCR	Posición	Secuencia	Posición	Tamaño de producto de PCR (pb)
FABP22	rs1799883	FA_F1	5'	TGTTCTTGTGCAAAAGGCAA TGCTACCG	3'	311
		FA_R1	5'	TCTTACCCCTGAGTTCAGTTC CGTCTGC	3'	
ADRB2	rs1042713	A1_F1	5'	GCCCCTAGCACCCGACAAG CTGAGTGT	3'	422
		A2_R1	5'	CCAGGCCCATGACCAGATC AGCACAG	3'	

ADRB23	rs4994	A3_F2	5'	AAGGTCGCTACTCTCC CCAAAGAGC	3'	569
		A3_R2	5'	GTCACACACAGCAGTCCA CCGAGGTC	3'	
PPARG	rs1801282	PP_F1	5'	TGCCAGCCAAATTCMAAGCC AGTCCIT	3'	367
		PP_R1	5'	TGCCAGCCAAATTCMAAGCC AGTCCIT	3'	
Gen		Cebador de SBE		Secuencia		
FABP2	rs1799883	SBE_FA_F1	5'	GAAGGAAAATAAAATTCACA GTCAAAGAATCAAAGC	3'	
		SBE_A1_F2	5'	AACGGCAGCGCCTTCTTGC TGGCAOCCAAAT	3'	
ADRB2	rs1042714	SBE_A2_F1	5'	AGCCATGGCGCGGACCACG ACGTCACGCAG	3'	
		SBE_A3_F3	5'	GGGAGGCAACCTGCTGGTC ATCGTGGCCATCGCC	3'	
PPARG	rs1801282	SBE_PP_R1	5'	GACAGTGATCAGTGAAGG AATCGCTTCTG	3'	
PCR= Reacción en cadena de la polimerasa						
SBE= Extensión de una única base						

El diseño de oligonucleótidos adicionales para su uso en la amplificación y detección de alelos polimórficos de genes metabólicos mediante el método de la invención se facilita por la disponibilidad tanto de información de secuencia actualizada del cromosoma humano 4q28-q31, que contiene el locus de FABP2 humano, como de información sobre polimorfismo humano actualizada disponible para este locus. Pueden diseñarse fácilmente cebadores adecuados para la detección de un polimorfismo humano en genes metabólicos usando esta información de secuencia y técnicas convencionales conocidas en este campo para el diseño y optimización de secuencias de cebadores. Puede conseguirse un diseño óptimo de dichas secuencias de cebadores, por ejemplo, mediante el uso de programas de selección de cebadores disponibles en el mercado tales como Cebador 2.1, Cebador 3 o GeneFisher (Véase también, Nicklin M. H. J., Weith A. Duff G. W., "A Physical Map of the Region Encompassing the Human Interleukin-1 α , interleukin-1 β , and Interleukin-1 Receptor Antagonist Genes" *Genomics* 19: 382 (1995); Nothwang H. G., *et al.* "Molecular Cloning of the Interleukin-1 gene Cluster: Construction of an Integrated YAC/PAC Contig and a partial transcriptional Map in the Region of Chromosome 2q13" *Genomics* 41: 370 (1997); Clark, *et al.* (1986) *Nucl. Acids. Res.*, 14: 7897-7914 [aparece una errata publicada en *Nucleic Acids Res.*, 15: 868 (1987) y el proyecto de Base de Datos del Genoma (GDB)).

También se describen kits para realizar los ensayos anteriormente descritos. Los kits pueden incluir un medio para determinar el genotipo de un sujeto con respecto a uno o más genes metabólicos. El kit también puede contener un medio de recogida de muestras de ácido nucleico. El kit también puede contener una muestra de control bien positiva o bien negativa o un patrón y/o un dispositivo algorítmico para evaluar los resultados y reactivos adicionales y componentes incluyendo: reactivos de amplificación de ADN, ADN polimerasa, reactivos de amplificación de ácido nucleico, enzimas de restricción, tampones, un dispositivo de toma de muestras de ácido nucleico, dispositivo de purificación de ADN, desoxinucleótidos, oligonucleótidos (por ejemplo sondas y cebadores, etc.).

Para su uso en un kit, los oligonucleótidos pueden ser cualquiera de una diversidad de composiciones naturales y/o sintéticas tales como oligonucleótidos sintéticos, fragmentos de restricción, ADNc, ácidos nucleicos peptídicos sintéticos (PNA), y similares. El kit y método de ensayo también puede emplear oligonucleótidos marcados para permitir una facilidad de identificación en los ensayos. Los ejemplos de marcadores que pueden emplearse incluyen radiomarcadores, enzimas, compuestos fluorescentes, estreptavidina, avidina, biotina, restos magnéticos, restos de unión a metales, restos de antígeno o anticuerpo, y similares.

Como se ha descrito anteriormente, el control puede ser un control positivo o negativo. Además, la muestra de control puede contener los productos positivos (o negativos) de la técnica de detección de alelos empleada. Por ejemplo, cuando la técnica de detección de alelos es amplificación por PCR, seguida de fraccionamiento por tamaño, la muestra de control puede comprender fragmentos de ADN del tamaño apropiado. De forma similar, cuando la técnica de detección de alelos implica la detección de una proteína mutada, la muestra de control puede comprender una muestra de proteína mutada. Sin embargo, se prefiere que la muestra de control comprenda el material para ensayar. Por ejemplo, los controles pueden ser una muestra de ADN genómico o una parte clonada de un gen metabólico. Preferentemente, sin embargo, la muestra de control es una muestra altamente purificada de ADN genómico en la que la muestra para ensayar es ADN genómico.

Los oligonucleótidos presentes en dicho kit pueden usarse para amplificación de la región de interés o para hibridación de oligonucleótido específico de alelo (ASO) directa con los marcadores en cuestión. Por lo tanto, los oligonucleótidos pueden flanquear el marcador de interés (como se requiere para amplificación por PCR) o solapar directamente con el marcador (como en la hibridación de ASO).

La información obtenida usando los ensayos y kits descritos en el presente documento (sola o junto con información sobre otro defecto genético o factor ambiental, que contribuye a la osteoartritis) es útil para determinar si un sujeto no sintomático tiene o es probable que desarrolle la enfermedad o afección particular. Además, la información puede permitir un enfoque más adaptado para prevenir la aparición o progresión de la enfermedad o afección. Por ejemplo, esta información puede permitir que un especialista clínico prescriba de forma más eficaz una terapia que aborde la base molecular de la enfermedad o afección.

El kit puede, opcionalmente, incluir medios de toma de muestras de ADN. Los medios de toma de muestras de ADN se conocen bien por los expertos en la materia y pueden incluir, pero sin limitación, sustratos, tales como papeles de filtro, el AmpliCard™ (Universidad de Sheffield, Sheffield, Inglaterra S10 2JF; Tarlow, J W, *et al.*, *J. of Invest. Dermatol.* 103: 387-389 (1994)) y similares; reactivos de purificación de ADN tales como kits Nucleon™, tampones de lisis, soluciones de proteinasa y similares; reactivos de PCR, tales como tampones de reacción 10X, polimerasa termoestable, dNTP, y similares; y medios de detección de alelos tales como la enzima de restricción de HinfI, oligonucleótidos específicos de alelos, cebadores oligonucleotídicos para PCR anidada a partir de sangre seca.

Definiciones

A no ser que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que se entiende habitualmente por un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención. Aunque pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o ensayo de la presente invención, se describen posteriormente métodos y

materiales adecuados.

En caso de que haya conflicto, la presente memoria descriptiva, incluyendo definiciones, tendrá prioridad. Además, los materiales, métodos, y ejemplos son solamente ilustrativos y no se pretende que sean limitantes. Otras características y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y reivindicaciones.

Para los fines de promover un entendimiento de las realizaciones descritas en el presente documento, se hará referencia a realizaciones preferidas y se usará el lenguaje específico para describirlas. La terminología usada en el presente documento es para el fin de describir solamente realizaciones particulares, y no se pretende que limite el alcance de la presente invención. Como se usa a lo largo de la presente divulgación, las formas singulares “un” y “el” incluyen referencia plural a no ser que el contexto claramente dicte otra cosa. Por lo tanto, por ejemplo, una referencia a “una composición” incluye una pluralidad de dichas composiciones, así como una única composición, y una referencia a “un agente terapéutico” es una referencia a uno o más agentes terapéuticos y/o farmacéuticos y equivalentes de los mismos conocidos por los expertos en la materia, y así sucesivamente.

El término “alelo” se refiere a las variantes de secuencia diferentes halladas en diferentes regiones polimórficas. Las variantes de secuencia pueden ser cambios de una o múltiples bases, incluyendo sin limitación inserciones, deleciones o sustituciones, o pueden ser un número variable de repeticiones de secuencia.

La expresión “patrón alélico” se refiere a la identidad de un alelo o alelos en una o más regiones polimórficas. Por ejemplo, un patrón alélico puede consistir en un único alelo en un sitio polimórfico, como para el alelo 1 de PPARG (rs1801282). Como alternativa, un patrón alélico puede consistir en un estado homocigoto o heterocigoto en un único sitio polimórfico. Por ejemplo, el alelo 2.2 de PPARG (rs1801282) es un patrón alélico en el que hay dos copias del segundo alelo y corresponde al estado de alelo 2 de PPARG (rs1801282) homocigoto. Como alternativa, un patrón alélico puede consistir en la identidad de alelos en más de un sitio polimórfico.

Las expresiones “control” o “muestra de control” se refieren a cualquier muestra apropiada para la técnica de detección empleada. La muestra de control puede contener los productos de la técnica de detección de alelos empleada o el material para ensayar. Además, los controles pueden ser controles positivos o negativos. Como ejemplo, cuando la técnica de detección de alelos es amplificación por PCR, seguida de fraccionamiento por tamaño, la muestra de control puede comprender fragmentos de ADN de un tamaño apropiado. De forma similar, cuando la técnica de detección de alelos implica la detección de una proteína mutada, la muestra de control puede comprender una muestra de una proteína mutante. Sin embargo, se prefiere que la muestra de control comprenda el material para ensayar. Por ejemplo, los controles pueden ser una muestra de ADN genómico o una parte clonada que contiene uno o más genes metabólicos. Sin embargo, cuando la muestra para ensayar es ADN genómico, la muestra de control es preferentemente una muestra altamente purificada de ADN genómico.

Las expresiones “alteración del gen” y “alteración dirigida” o cualquier frase similar se refieren a la interrupción específica del sitio de una secuencia de ADN nativa para prevenir la expresión de ese gen en la célula en comparación con la copia de tipo silvestre del gen. La interrupción puede estar provocada por deleciones, inserciones o modificaciones del gen, o cualquier combinación de las mismas.

Se entiende que el término “haplotipo” como se usa en el presente documento se refiere a un conjunto de alelos que se heredan juntos como un grupo (están en desequilibrio de enlace) a niveles estadísticamente significativos ($P_{corr} < 0,05$). Como se usa en el presente documento, la expresión “haplotipo metabólico” se refiere a un haplotipo de loci de genes metabólicos.

“Riesgo aumentado” se refiere a una frecuencia estadísticamente mayor de aparición de la enfermedad o afección en un sujeto que porta una alelo polimórfico particular en comparación con la frecuencia de aparición de la enfermedad o afección en un miembro de una población que no porta el alelo polimórfico particular.

El término “aislado” como se usa en el presente documento con respecto a ácidos nucleicos, tales como ADN o ARN, se refiere a moléculas separadas de otros ADN, o ARN, respectivamente, que están presentes en la fuente natural de la macromolécula. El término aislado como se usa en el presente documento también se refiere a un ácido nucleico o péptido que está sustancialmente sin material celular, material viral o medio de cultivo cuando se produce por técnicas de ADN recombinante, o precursores químicos u otros productos químicos cuando se sintetiza químicamente. Además, se entiende que un “ácido nucleico aislado” incluye fragmentos de ácido nucleico que no son de origen natural como fragmentos y no se encontrarían en el estado natural. El término “aislado” también se usa en el presente documento para hacer referencia a polipéptidos que se aíslan de otras proteínas celulares y se entiende que abarcan polipéptidos tanto purificados como recombinantes.

“Desequilibrio de enlace” se refiere a la herencia conjunta de dos alelos a frecuencias mayores de lo que se esperaría de las frecuencias separadas de aparición de cada alelo en una población de control dada. La frecuencia esperada de aparición de dos alelos que se heredan de forma independiente es la frecuencia del primer alelo multiplicada por la frecuencia del segundo alelo. Los alelos que aparecen conjuntamente a frecuencias esperadas se

dice que están en “desequilibrio de enlace”. La causa del desequilibrio de enlace con frecuencia no está clara. Puede deberse a la selección de ciertas combinaciones de alelos o a reciente mezcla de poblaciones genéticamente heterogéneas. Además, en el caso de marcadores que están muy estrechamente ligados a un gen de enfermedad, una asociación de un alelo (o grupo de alelos ligados) con el gen de enfermedad se espera si la mutación de enfermedad ha aparecido en el pasado reciente, de modo que no ha transcurrido suficiente tiempo para conseguir un equilibrio mediante acontecimientos de recombinación en la región cromosómica específica. Cuando se hace referencia a patrones alélicos que están comprendidos por más de un alelo, un primer patrón alélico está en desequilibrio de enlace con un segundo patrón alélico si todos los alelos que comprenden el primer patrón alélico están en desequilibrio de enlace con al menos uno de los alelos del segundo patrón alélico.

El término “marcador” se refiere a una secuencia del genoma que se sabe que varía entre sujetos.

Un “gen mutado” o “mutación” o “mutación funcional” se refiere a una forma alélica de un gen, que es capaz de alterar el fenotipo de un sujeto que tiene el gen mutado en relación con un sujeto que no tiene el gen mutado. El fenotipo alterado provocado por una mutación puede corregirse o compensarse por ciertos agentes. Si un sujeto debe ser homocigoto para esta mutación para tener un fenotipo alterado, se dice que la mutación es recesiva. Si una copia del gen mutado es suficiente para alterar el fenotipo del sujeto, se dice que la mutación es dominante. Si un sujeto tiene una copia del gen mutado y tiene un fenotipo que es intermedio entre el de un homocigoto y el de un sujeto heterocigoto (para ese gen), se dice que la mutación es co-dominante.

Como se usa en el presente documento, la expresión “ácido nucleico” se refiere a polinucleótidos u oligonucleótidos tales como ácido desoxirribonucleico (ADN) y, cuando sea apropiado, ácido ribonucleico (ARN). También debería entenderse que la expresión incluye, como equivalentes, análogos de ARN o ADN realizados a partir de análogos de nucleótidos (por ejemplo, ácidos nucleicos peptídicos) y según sea aplicable a la realización que se describe, polinucleótidos mono (con sentido o antisentido) y bicatenarios.

El término “polimorfismo” se refiere a la coexistencia de más de una forma de un gen o parte (por ejemplo, variante alélica) del mismo. Una parte de un gen del que hay al menos dos formas diferentes, es decir, dos secuencias de nucleótidos diferentes, se denomina “región polimórfica de un gen”. Una secuencia genética específica en una región polimórfica de un gen es un alelo. Una región polimórfica puede ser un nucleótido individual, cuya identidad difiere en diferentes alelos. Una región polimórfica también puede ser de varios nucleótidos de longitud.

La expresión “propensión a la enfermedad”, también “predisposición” o “susceptibilidad” a la enfermedad o cualquier expresión similar, significa que se ha descubierto por la presente que ciertos alelos están asociados con o son predictivos de la incidencia en un sujeto del desarrollo de una enfermedad particular (por ejemplo una enfermedad vascular). Los alelos están por lo tanto sobrerrepresentados en su frecuencia en sujetos con enfermedad en comparación con sujetos sanos. Por lo tanto, estos alelos pueden usarse para predecir la enfermedad incluso en sujetos pre-sintomáticos o pre-enfermos.

Como se usa en el presente documento, la expresión “hibrida específicamente” o “detecta específicamente” se refiere a la capacidad de una molécula de ácido nucleico para hibridar con al menos aproximadamente 6 nucleótidos consecutivos de un ácido nucleico de muestra.

“Secuencia reguladora de la transcripción” es una expresión genérica usada en toda la memoria descriptiva para hacer referencia a secuencias de ADN, tales como señales de inicio, potenciadores y promotores, que inducen o controlan la transcripción de secuencias codificantes de proteínas con las que están unidas operativamente.

El término “vector” se refiere a una molécula de ácido nucleico, que es capaz de transportar otro ácido nucleico con el que se ha unido. Un tipo de vector preferido es un episoma, es decir, un ácido nucleico con capacidad de replicación extra cromosómica. Son vectores preferidos los que tienen capacidad de replicación autónoma y/o expresión de ácidos nucleicos con los que están unidos. Los vectores capaces de dirigir la expresión de genes con los que están unidos operativamente se denominan en el presente documento “vectores de expresión”. En general, los vectores de expresión útiles en técnicas de ADN recombinante están con frecuencia en forma de “plásmidos” que se refieren en general a bucles de ADN bicatenarios circulares que, en su forma de vector no están unidos al cromosoma. En la presente memoria descriptiva, “plásmido” y “vector” se usan indistintamente ya que plásmido es la forma más habitualmente usada de vector. Sin embargo, se pretende que la invención incluya dichas otras formas de vectores de expresión que cumplen funciones equivalentes y que se conozcan en la técnica posteriormente a la presente.

La expresión “alelo de tipo silvestre” se refiere a un alelo de un gen que, cuando está presente en dos copias en un sujeto da como resultado un fenotipo de tipo silvestre. Puede haber varios alelos de tipo silvestre diferentes de un gen específico, ya que ciertos cambios de nucleótidos en un gen pueden no afectar al fenotipo de un sujeto que tiene dos copias del gen con los cambios de nucleótidos.

Los siguientes ejemplos son ilustrativos, pero no limitantes, de los métodos y composiciones de la presente invención.

Ejemplo 1

Se ha desarrollado un ensayo de control del peso a partir de una revisión exhaustiva de estudios clínicos que identifican correlaciones entre genes y variaciones en el metabolismo relacionado con el control de peso; estableciendo criterios de aceptación para identificar qué variaciones genéticas afectan a rutas metabólicas de manera que sean potencialmente modificables por cambios en la dieta y el estilo de vida; que determinan qué genotipos se ha mostrado que aumentan el riesgo y que sugieren un riesgo que puede ser modificable por intervención en la dieta y/o el estilo de vida; y que acumulan pruebas para apoyar la configuración de ensayo elegida, interpretaciones de resultados de ensayo, intervenciones dietéticas/de estilo de vida y análisis de beneficios/riesgos.

Los criterios de selección de gen/polimorfismo requerían pruebas de que: el polimorfismo tiene una asociación significativa con un fenotipo de control del peso, (por ejemplo, peso, grasa corporal, índice de masa corporal) como se ve en las pruebas de tres o más estudios independientes, similares, que han mostrado la misma asociación genotípica; el gen tiene un papel biológicamente plausible en el control del peso; el polimorfismo está asociado con un impacto funcional bien al nivel genético molecular o bien como se determina por la medición de biomarcadores que se sabe que influyen en el peso y/o resultados de la salud; y se ha mostrado que una respuesta a la intervención (por ejemplo, dieta o ejercicio) difiere según el genotipo, como se ve en pruebas de dos o más estudios independientes, similares, del genotipo de polimorfismo que conduce a una categoría de recomendación específica.

Base científica para el panel de ensayo.

La base científica para este ensayo se basa en una revisión exhaustiva de la bibliografía científica disponible hasta abril de 2007. Las pruebas publicadas se han evaluado frente a un conjunto articulado de forma prospectiva de criterios de aceptación. Estas pruebas se han ensamblado en la jerarquía de gen > polimorfismo > genotipo compuesto para definir y justificar la interpretaciones de los resultados de ensayo para el panel.

El proceso de evaluación incluyó:

1. Establecer genes candidatos identificando implicación significativa en rutas metabólicas relacionadas con homeostasis del peso.
2. Establecer criterios de aceptación para decidir qué variaciones genéticas afectan a rutas metabólicas de manera que sean potencialmente modificables por cambios en la dieta y patrones de ejercicio. Estos incluyeron pruebas de que:
 - a) El polimorfismo tiene una asociación significativa con un fenotipo relevante (peso, grasa corporal o índice de masa corporal) como se demuestra por tres o más estudios independientes que han mostrado la misma asociación genotipo-fenotipo.
 - b) El gen tiene un papel biológicamente plausible en el control del peso.
 - c) El polimorfismo se asocia con un impacto funcional bien al nivel de ADN o como se determina por medición de biomarcadores que se sabe que están asociados con rutas fisiológicas que afectan a la homeostasis del peso.
 - d) La respuesta de sujetos a las intervenciones tales como dieta o ejercicio pueden estratificarse por genotipo. Dichas pruebas deben presentarse en al menos dos independientes.
3. Realizar una búsqueda exhaustiva de la biografía científica para evaluar el impacto de variaciones genéticas en: a) mecanismos metabólicos; b) control de obesidad/peso y asociaciones de resultado de salud, y c) respuestas a la intervención como se miden por el cambio en el peso o adiposidad o cambios de biomarcadores.
4. Determinar qué genotipos se ha mostrado que predisponen a un sujeto a aumento de peso y que el aumento pueda ser modificable por una estrategia dietética o de ejercicio particular.
5. Recopilar pruebas para apoyar la configuración de ensayo elegida, interpretaciones de resultados de ensayo, intervenciones dietéticas/de estilo de vida y análisis de beneficios/riesgos.

Los siguientes genes han cumplido los criterios perfilados anteriormente. Se han seleccionado con respecto a su impacto en diversas rutas que influyen en el peso corporal y se han asociado con riesgo elevado de obesidad. También se han seleccionado porque puede usarse para diferenciar la respuesta a intervenciones de control de peso por genotipo. Son: Proteína de Unión a Ácidos Grasos 2 (FABP2), Receptor Gamma Activado por Proliferador de Peroxisoma (PPARG); Receptor Adrenérgico Beta-2 (ADRB2); y Receptor Adrenérgico Beta-3 (ADRB3).

Fundamento para genotipos compuestos

Después de la identificación del gen/los polimorfismo que cumplieran o excedían los criterios desarrollados de forma prospectiva para inclusión en el panel de ensayo, se analizaron combinaciones para determinar si los genotipos compuestos encontrados para los cinco polimorfismos podrían dividirse en distintas categorías que apoyarían interpretaciones específicas. Los resultados se dividieron en tres categorías basándose en pruebas de respuesta a macronutrientes de la dieta (Sensible a Restricción de Grasas, Sensible a Restricción de Carbohidratos y Equilibrio de Grasas y Carbohidratos). También se dividieron en dos categorías separadas basándose en pruebas de respuesta a ejercicio (Sensible a Ejercicio y Menos Sensible a Ejercicio). La matriz de tres por dos (seis células) resultante de categorías o patrones de genotipo se muestra en la Tabla 7.

Sensibles a Dieta Restringida en Grasas

Esta categoría está compuesta de personas con los genotipos compuestos: FABP2 Ala54Thr y PPARG Pro12Ala. Los que tienen el genotipo PPARG 12Pro/Pro que también son portadores del alelo de FABP2 Thr54 también están en esta categoría. Estos sujetos demuestran dificultades en el control del peso sin restringir los consumos de grasa específicos. La variante de FABP2 Thr54 tiene una afinidad de unión dos veces mayor por ácidos grasos de cadena larga (1) y absorción de grasas potenciada y/o procesamiento de ácidos grasos de la dieta por el intestino (2). La variante Thr54 aumenta la absorción y/o el procesamiento de ácidos grasos de la dieta por el intestino. El PPARG desempeña un papel clave en la formación de células grasas (almacenamiento de grasas) y en el metabolismo de lípidos (movilización de grasas). El PPARG es un receptor localizado en el núcleo de células grasas. Cuando se activa por grasa en la dieta, el receptor PPARG se une con secuencias de ADN específicas que después “activan” ciertos genes que promueven el almacenamiento de grasas de la dieta en células grasas. En seres humanos, la actividad de PPARG potenciada está asociada con adiposidad aumentada. La variante Ala12 está asociada con una actividad de PPARG reducida (43, 44). Las personas que son 12Pro/Pro probablemente son más sensibles a la cantidad de grasa en la dieta que los portadores de 12 Ala. Los portadores de la variante de Ala12 tienen mayor flexibilidad metabólica en el almacenamiento y movilización de grasas en respuesta a intervención. Por lo tanto, los sujetos que son 12Pro/Pro son más eficaces en la acumulación de grasas de la dieta. En comparación con portadores de Ala12, los que tienen el genotipo 12Pro/Pro tienen unión potenciada de PPARG con ADN, que conduce a una actividad más eficaz del receptor y promueve el almacenamiento de grasas.

Sensibles a Restricción de Carbohidratos

Esta categoría incluye a las personas con una de dos combinaciones genéticas diferentes: PPARG Pro12Ala y ADRB2 Gln27Glu. Las personas que tienen el genotipo PPARG 12Ala/* (portadores del alelo Ala) y/o que portan el alelo ADRB2 Glu27 tienen dificultades en el control del peso a no ser que restrinjan el consumo dietético de carbohidratos. En dos estudios separados, cada uno centrado solamente en uno de los dos genes/SNP, los investigadores han descubierto una tendencia reducida a aumento de peso/obesidad en sujetos que portan el alelo variante cuando su consumo de carbohidratos se restringió a menos del 50 % de calorías totales en comparación con los que tenían los mismos genéticos cuyo consumo fue mayor del 50 % (30, 38). Esto sugiere que cada una de estas variaciones muestra diferencias en el riesgo para obesidad por restricción de carbohidratos. Además, uno de estos estudios demostró un riesgo reducido de resistencia a insulina en sujetos que portaban el alelo variante cuando su consumo de carbohidratos fue menor del 50 % de las calorías totales (30). Los resultados de los estudios de intervención con portadores de Ala12 indican que tienen mayor pérdida de peso (18) y mayores mejoras en sensibilidad a insulina en respuesta a una dieta baja en calorías (19) y entrenamiento de ejercicio (45-47) que los no portadores. Estos resultados pueden explicarse por la actividad de PPARG reducida asociada con la variante de Ala12, que da como resultado estimulación menos eficaz de genes diana de PPARG, provocando menos adiposidad (capacidad reducida para almacenar grasa) y a su vez mayor sensibilidad a insulina. Es apropiado recomendar una dieta restringida en carbohidratos a portadores de los alelos Ala12 o Glu27 porque ser un portador de uno de ellos aumenta el riesgo de obesidad con una dieta alta en carbohidratos, y estos genotipos se asocian con mejoras en la sensibilidad de insulina junto con intervenciones en la dieta/ejercicio.

Los resultados de los estudios de intervención que usan cambios en el peso y sensibilidad a insulina son fuertes para PPARG 12Ala/* y para ADRB2 27Glu/* (18, 30, 38, 45-47). Sin embargo, ningún estudio ha evaluado los efectos de ambos polimorfismos en una población. Por lo tanto, es más apropiado incluir los sujetos con genotipo PPARG 12Ala/* “y/o” ADRB2 27Glu/* en este patrón que requerir la combinación de ambos genotipos de SNP.

La única contradicción entre los 5 patrones de genotipos de SNP es cuando los sujetos que portan el alelo ADRB2 Glu27 también tienen la combinación de PPARG 12Pro/Pro y FABP2 54Thr/*, que los clasificaría para el patrón de “Sensibles a Restricción de Grasas”. El ensayo asigna a dichos sujetos al patrón de “Sensibles a la Restricción de Grasas”, debido a que la preponderancia de pruebas científicas para la interacción de genes-dieta de polimorfismos de PPARG y FABP2 en fenotipos relacionados con el peso corporal y/o la grasa corporal (1, 2, 9, 10, 16, 18) es mayor que la hallada para las interacciones de genes-dieta de ADRB2 para respuestas corporales a la modulación de carbohidratos (21, 30, 31).

Múltiples estudios han demostrado que los sujetos que portan el alelo FABP2 Thr54 están en riesgo de síndrome metabólico (48-50). Otros han demostrado una mejora de los factores de riesgo relacionados con el metabolismo de la glucosa (insulina, azúcar en sangre, triglicéridos) mediante la reducción del consumo de grasas saturadas (10, 11, 12). La investigación de intervención que se ha centrado en el tipo de grasa en la dieta también incluyó, en la mayoría de los casos, una cantidad moderada de carbohidratos en la dieta. Otra investigación que no implica directamente al genotipo de FABP2 demuestra una mejora en los niveles de insulina y control de la glucosa en sangre modulando el consumo de carbohidratos (51-53). En lugar de centrarse en la reducción de la grasa en su dieta; los sujetos con el genotipo de PPARG 12/Ala/* y FABP2 54Thr/* combinado se beneficiaría probablemente más de reducir su consumo de carbohidratos.

Menos Sensibles a Ejercicio

Las personas que tienen un genotipo específico en el gen de ADRB3 o el gen de ADRB2 tienen una predisposición genética que tiende a hacerlos menos sensibles al ejercicio como una estrategia para controlar el peso. Ambos de estos polimorfismos desempeñan un papel clave en la movilización de la grasa del tejido adiposo (lipólisis) mediante la respuesta a catecolaminas. La variante de ADRB2 Gly16 (incluso cuando se combina con la variante Glu27 durante estudios *in vitro*), se asocia con una sensibilidad de receptor adrenérgico menor (21). Estos dos polimorfismos están en desequilibrio de enlace estrecho. Por lo tanto, los ensayos para la variante Gly16 también identifican a la mayoría de los sujetos que portan la variante Glu27, que se ha asociado con la misma predisposición. La variante de ADRB3 Arg64 se asocia con función del receptor reducida y lipólisis reducida. Durante el ejercicio, los portadores de la variante probablemente muestren una lipólisis reducida y por tanto una capacidad reducida para quemar grasas, que daría como resultado menor pérdida de peso en respuesta al ejercicio. Múltiples estudios de intervención han mostrado uniformemente que las personas con la variante Arg64 tienen más dificultad para perder peso en respuesta a dieta/ejercicio que los no portadores. Los portadores de la variante Gly16 de ADRB2 tienen menos probabilidad que los no portadores de perder peso mediante el ejercicio (23) o una combinación de dieta y ejercicio (28). Considerando que ambos receptores adrenérgicos influyen en la respuesta a catecolaminas durante el ejercicio, y que tanto ADRB2 Gly16 como ADRB3 Arg64 tienen función de receptor reducida, los sujetos con uno de estos polimorfismos deberían incluirse en el patrón compuesto menos sensible a ejercicio.

Los resultados se dividieron en tres categorías separadas basándose en pruebas de respuesta a macronutrientes en la dieta, y en dos categorías separadas basándose en pruebas de respuesta a ejercicio. La matriz de tres por dos resultante de categorías o patrones de genotipo se muestra a continuación (Tabla 6).

TABLA 6. Patrones de riesgo de genotipo compuesto

Sensibilidad a Ejercicio		Sensible a Restricción en la Composición de la Dieta		
	Compuestos de Genotipo ‡	Dieta equilibrada, sana (dieta para patrón genético por defecto)	Baja en grasas	Baja en carbohidratos (Baja en CHO)
Sensible a Ejercicio	Todos los genotipos que no están en las categorías "Menos sensibles a Ejercicio" a continuación (por defecto) 12 %	Todos los genotipos que no cumplen bajo en grasas O bajo en CHO 2 % Patrón N° 1	FABP2 54Thr/* Y PPARG 12Pro/Pro 5 % Patrón N° 2	PPARG 12 Ala/* Y FABP2 54Thr/* O ADRB2 27Glu/* Y/O PPARG 12 Ala/* 5 % Patrón N° 3
Menos Sensible a Ejercicio	ADRB216Gly/* O ADRB3 64Arg/* 88 %	↓ 14% Patrón N° 4	↓ 34 % Patrón N° 5	↓ 40% Patrón N° 6
Total	100 %	16%	39%	45 %

Nota: Los porcentajes en cada categoría de genotipo compuesto representan frecuencias esperadas de la población caucásica en el Estudio de Familias de Quebec (QFS).

‡ Se han designado todos estos polimorfismos en este panel de acuerdo con el cambio de aminoácidos a la proteína que resulta de un cambio de nucleótidos en el ADN (por ejemplo "54Thr" indica que la variación de nucleótido en el

ADN da como resultado una sustitución de un aminoácido Treonina en la posición 54 de la secuencia de aminoácidos de la proteína FABP2). Un asterisco

5 Patrón de Genotipo Compuesto N° 1 – Sensible a un Equilibrio de Grasas y Carbohidratos. Sensible a Ejercicio: Los sujetos con un genotipo combinado de FABP2 rs1799883, 1.1 o G/G (54Ala/Ala), PPARG rs1801282, 1.1 o C/C (12Pro/Pro), y ADRB2 rs1042714, 1.1 o C/C (27Gln/Gln), y ADRB2 rs1042713 2.2 o A/A (16Arg/Arg), y ADRB3 rs4994 1.1 o T/T (64Trp/Trp). Esta categoría incluye genotipos de sujetos que se sabe que responden con diferencias de peso a dietas bajas en grasas o bajas en carbohidratos, con calorías restringidas. A partir de las variantes ensayadas en este panel, estos sujetos no muestran ninguna tendencia genética uniforme hacia respuesta alterada, aislada a grasas o carbohidratos en su dieta. Muestran una respuesta de metabolismo de energía normal al ejercicio regular para conseguir sus objetivos de control de peso. Este genotipo compuesto está presente en el 2 % de la población caucásica.

15 Patrón de Genotipo Compuesto N° 2 – Sensible a un Restricción de Grasas. Sensible al Ejercicio: Los sujetos con un genotipo combinado de FABP2 rs1799883, 2.2 o 1.2 (A/A o G/A) (54Thr/*) y PPARG rs1801282, 1.1 o C/C (12Pro/Pro), y bien ADRB2 rs1042714, 1.2 o 2.2 (C/G o G/G) (27Glu*) o ADRB2 rs1042714, 1.1 (C/C) (27Gln/Gln), en combinación con ADRB2 rs1042713, 2.2 (A/A) (16Arg/Arg) y ADRB3 rs4994, 1.1 (T/T) (64Trp/Trp). Estos sujetos absorben más de la grasa de su dieta y tienden a almacenarlas en células grasas, en lugar de movilizarla durante el metabolismo. Muestran una respuesta de metabolismo de energía normal al ejercicio regular para conseguir sus objetivos de control del peso. Este genotipo compuesto se espera en aproximadamente el 5 % de la población caucásica.

25 Patrón de Genotipo Compuesto N° 3 – Sensible a un Restricción de Carbohidratos. Sensible al Ejercicio: Los sujetos cuyos genotipos incluyen PPARG rs1801282 (12Ala/*) 1.2 o 2.2 (C/G o G/G) y/o ADRB2 rs1042714 (27Glu/*) 1.2 o 2.2 (C/G o G/G), así como sujetos con un genotipo combinado de PPARG rs1801282 (12Ala/*) 1.2 o 2.2 (C/G o G/G) y FABP2 rs1799883 (54Thr/*) 2.2 o 1.2 (A/A o G/A). Todos los genotipos de clasificación anteriores estarán en combinación con ADRB2 rs 1042713 (16 Arg/Arg) 2.2 (A/A) y ADRB3 rs4994 (64 Trp/Trp) 1.1 (T/T) para cumplir los requisitos de la categoría sensible al ejercicio. Estos sujetos tienden a aumentar o conservar el peso a partir de alto consumo de carbohidratos en la dieta, y muestran señales de metabolismo de la glucosa y la insulina alteradas. Muestran una respuesta de metabolismo de energía normal al ejercicio regular para conseguir sus objetivos de control de peso. Este genotipo compuesto se espera en aproximadamente el 5 % de la población caucásica.

35 Patrones de Genotipo Compuesto N° 4 – Sensible a un Equilibrio de Grasas y Carbohidratos. Menos Sensible al Ejercicio: Los sujetos con un genotipo combinado de FABP2 rs 1799883 (54Ala/Ala) 1.1 (G/G) y PPARG rs1801282 (12Pro/Pro) 1.1 (C/C) y ADRB2 rs1042713 (16Gly*) 1.2 o 1.1 (G/G o G/A) o ADRB3 rs4994 (64Arg*) 1.2 o 2.2 (C/T o C/C). Esta categoría incluye genotipos de sujeto que se sabe que son sensibles con diferencias de peso de dietas bajas en grasas o bajas en carbohidratos, con calorías restringidas. A partir de las variantes ensayadas en este panel, estos sujetos no muestran ninguna tendencia genética uniforme hacia respuesta alterada, aislada a grasas o carbohidratos en su dieta. Tienden a tener un metabolismo de energía alterado y ser menos sensibles al ejercicio regular para conseguir sus objetivos de control de peso. Este genotipo compuesto está presente en el 14 % de la población caucásica.

45 Patrón de Genotipo Compuesto N° 5 – Sensible a Restricción de Grasas. Menos Sensible al Ejercicio: Los sujetos con un genotipo combinado de FABP2 rs1799883 (54Thr/*) 2.2 o 2.1 (A/A o A/G) y PPARG rs1801282 (12Pro/Pro) 1.1 (C/C), y bien ADRB2 rs1042714 (27Glu*) 1.2 o 2.2 (C/G o G/G) o ADRB2 rs1042714 (27Gln/Gln) 1.1 (C/C), en combinación con ADRB2 rs 1042713 (16Gly*) 1.2 o 1.1 (G/A o G/G) o ADRB3 rs4994 (64Arg*) 2.1 o 2.2 (C/T o C/C). Estos sujetos absorben más de la grasa de su dieta y tienden a almacenarla en células grasas, en lugar de movilizarla durante el metabolismo. Tienden a tener metabolismo de energía alterado y ser menos sensibles al ejercicio regular para conseguir sus objetivos de control de peso. Este genotipo compuesto se espera en aproximadamente el 34 % de la población caucásica.

55 Patrón de Genotipo de Compuesto N° 6 – Sensible a Restricción de Carbohidratos. Menos Sensible al Ejercicio: Los sujetos cuyos genotipos incluyen PPARG rs1801282 (12Ala/*) 1.2 o 2.2 (C/G o G/G) y/o ADRB2 rs1042714 (27Glu/*) 1.2 o 2.2 (C/G o G/G), así como sujetos con un genotipo combinado de PPARG rs1801282 (12Ala/*) 1.2 o 2.2 (C/G o G/G) y FABP2 rs1799883 (54Thr/*) 2.2 o 2.1 (A/A o A/G). Todos los genotipos de clasificación anteriores deberán estar también en combinación con ADRB2 rs1042713 (16Gly*) 1.2 o 1.1 (G/A o G/G) o ADRB3 rs4994 (64Arg*) 2.1 o 2.2 (C/T o C/C), para cumplir los requisitos de la categoría menos sensible al ejercicio. Estos sujetos tienden a aumentar o conservar su peso a partir de alto consumo de carbohidratos en la dieta, y muestran señales de metabolismo de glucosa e insulina alterados. Tienden a tender metabolismo de energía alterado y ser menos sensibles al ejercicio regular para conseguir sus objetivos de control de peso. Este genotipo compuesto se espera en aproximadamente el 40 % de la población caucásica.

TABLA 7. Genotipos compuestos de sujetos y patrones de riesgos

Genotipo ID N°	FABP2 A54T	PPARG P12A	ADRB3 R64W	ADRB2 R16G	ADRB2 Q27E	Patrón de Genotipo Compuesto
1	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G/*	27Glu/* G/*	Patrón N° 5
2	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 5
3	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Glu/* G/*	Patrón N° 5
4	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 5
5	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Trp/Trp T/T	16Gly/* G/*	27Glu/* G/*	Patrón N° 5
6	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Trp/Trp T/T	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 5
7	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Glu/* G/*	Patrón N° 2
8	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 2
9	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G/*	27Glu/* †† G/*	Patrón N° 6

Genotipo ID N°	FABP2 A54T	PPARG P12A	ADRB3 R64W	ADRB2 R16G	ADRB2 Q27E	Patrón de Genotipo Compuesto
10	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 6
11	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Glu/* †† G/*	Patrón N° 6
12	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 6
13	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Trp/Trp T/T	16Gly/* † G/*	27Glu/* †† G/*	Patrón N° 6
14	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Trp/Trp T/T	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 6
15	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Glu/* †† G/*	Patrón N° 3
16	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 3
17	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G/*	27Glu/* †† G/*	Patrón N° 6
18	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 4
19	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Glu/* †† G/*	Patrón N° 6
20	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 4
21	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Trp/Trp T/T	16Gly/* † G/*	27Glu/* †† G/*	Patrón N° 6
22	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Trp/Trp T/T	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 4
23	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Glu/* †† G/*	Patrón N° 3
24	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 1
25	54Ala/Ala G/G	12Ala/* †† G/*	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G/*	27Glu/* †† G/*	Patrón N° 6
26	54Ala/Ala G/G	12Ala/* †† G/*	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 6
27	54Ala/Ala G/G	12Ala/* †† G/*	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Glu/* †† G/*	Patrón N° 6
28	54Ala/Ala G/G	12Ala/* †† G/*	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón N° 6
29	54Ala/Ala G/G	12Ala/* †† G/*	64Trp/Trp T/T	16Gly/* † G/*	27Glu/* †† G/*	Patrón N° 6

	G/G	G/*	T/T	G/*	G/*	
30	54Ala/Ala	12Ala/*††	64Trp/Trp	16Gly/*	27Gln/Gln	Patrón N° 6
	G/G	G/*	T/T	G/*	C/C	
31	54Ala/Ala	12Ala/*††	64Trp/Trp	16Arg/Arg	27Gln/*††	Patrón N° 3
	G/G	G/*	T/T	A/A	G/*	
32	54Ala/Ala	12Ala/*††	64Trp/Trp	16Arg/Arg	27Gln/Gln	Patrón N° 3
	G/G	G/*	T/T	Λ/Λ	C/C	

† indica que PPARG Y FABP2 es un genotipo compuesto que conduce a una categoría “Sensible a Restricción de Grasas” para objetivos de control de peso

† indica un genotipo que conduce a una determinación “Menos Sensible al Ejercicio”

†† indica los genotipos compuestos PPARG, ADRB2, O PPARG + FABP2 que conducirán a una categoría “Sensible a Restricción de Carbohidratos” para objetivos de control de peso

Ejemplo 2. Método de genotipación clínico

5 Se extrajo ADN de hisopos bucales (SOP N° 12, versión 1.3) o se obtuvo de los Depósitos Celulares Coriell. El ADN aislado se usó para amplificar por PCR las regiones de secuencia que rodean a cinco SNP (SOP N° 29, versión 1.0). Los cuatro amplicones resultantes de cada muestra se trataron con exonucleasa I (Exo) y fosfatasa alcalina de camarón (SAP) para retirar los cebadores y nucleótidos en exceso (SOP N° 29, versión 1.0). Los amplicones purificados se usaron en la reacción de extensión de una única base (SBE) con cebadores específicos para su diana SNP (SOP N° 30, versión 1.0). Una vez que se completó la SBE, se añadió de nuevo SAP para retirar nucleótidos no incorporados (SOP N° 30, versión 1.0). El producto de SBE se analizó después en el Beckman Coulter CEQ8800 con un patrón de tamaño de migración conocido (SOP N° 15, versión 1.4 y SOP N° 16, versión 1.3). Todos los genotipos, con la excepción de PPARG (rs1801282), se ensayaron en la cadena de ADN directa. PPARG (rs1801282) se ensayó en la cadena de ADN inversa y se presentará como la base de complemento en las trazas de CEQ8800. Los genotipos resultantes se registraron y después se compararon con los genotipos generados por secuenciación de ADN en Agencourt Bioscience Corporation o con genotipos conocidos registrados en NCBI. Formato individual: los productos de PCR objeto se amplificaron por separado y se genotiparon individualmente por el cebador de SBE correspondiente. Formato agrupado: se amplificaron productos de PCR objeto por separado y después se agruparon entre sí. El ADN agrupado se genotipó con respecto a los cinco SNP en una única reacción usando una mezcla de cebadores de SBE. Formato múltiple: los cuatro productos de PCR se generaron en una única reacción. Los productos de PCR múltiples se genotiparon con respecto a los cinco SNP en una única reacción usando una mezcla de cebadores de SBE.

Normalización

25 Se procesó un patrón de tamaño disponible en el mercado (Beckman Coulter parte N° 608395) con las muestras como una referencia interna para genotipación.

Precisión y especificidad

30 Para asegurar que se estaban dirigiendo y genotipando con precisión los genes correctos, los productos de PCR se enviaron a un laboratorio independiente (Agencourt Bioscience Corporation) para secuenciación y genotipación. En Agencourt, la secuencia se comparó con la secuenciación genómica que flanqueaba el SNP, después se indicaron los genotipos de cada muestra a Interleukin Genetics. Los resultados de Agencourt e Interleukin se compararon después con respecto a concordancia.

Nombres y abreviaturas de SNP

40 Los siguientes nombres y abreviaturas de SNP se usan en esta validación de ensayo: ADRB2 (R16G), rs1042713 = A1; ADRB2 (Q27E), rs1042714 = A2; ADRB3 (R64W), rs4994 = A3; FABP2 (A54T), rs1799883 = FA; PPARG (P12A), rs1801282=PP.

Resultados

Resultados de PCR

5 Se amplificó por PCR ADN aislado usando los conjuntos de cebadores enumerados en el apéndice B. ADRB2 (rs1042713) y ADRB2 (rs1042714) están a 33 nucleótidos de distancia y se amplificaron en un único producto de PCR. Los productos de PCR se procesaron en geles de agarosa para verificar los tamaños de producto esperados de: A1/A2 = 422 pb, A3 = 569 pb, FA = 311 pb, PP = 367 pb.

10 Resultados de genotipación

Migración Pico

15 Cada cebador de extensión de una única base específico de SNP se diseñó a una única longitud para crear un pico o picos en una localización específica en relación con los patrones de tamaño conocidos cuando se procesaron en el instrumento de electroforesis capilar CEQ8800. Las localizaciones pico pueden no coincidir exactamente con los tamaños de los cebadores debido a los efectos de la movilidad de colorante, secuencia de cebadores y el software de análisis, pero sí migran uniformemente. Los cebadores de extensión de una única base se enumeran en el Apéndice C junto con sus migraciones pico esperadas.

20 Determinación de bases

25 La reacción de extensión de una única base añade una base marcada con fluorescencia al extremo 3' del cebador específico de SNP. Este producto se lee por dos láseres dentro del CEQ8800. Los resultados se analizan por el software de CEQ8800 y aparecen como picos de color, representando cada color una base diferente. La presencia de un pico de un único color en el locus específico indica un homocigoto mientras que dos picos de diferentes colores indican un heterocigoto. Dentro de las treinta y nueve muestras que se genotiparon en la validación hay representantes de casi todos los genotipos homocigotos y todos los heterocigotos para los cinco SNP. La única excepción es un genotipo C homocigoto para el SNP de PPARG. Esto no era inesperado ya que la frecuencia del alelo C en la población general es solamente de 0,1 (como se indica por la base de datos dbSNP para rsN^o1801282). Sin embargo, el genotipo C homocigoto se ha encontrado en otras muestras fuera del alcance de esta validación.

35 El software CDQ8800 presenta la capacidad para el usuario para especificar marcadores de locus de SNP. El usuario indica el tamaño de migración (en nucleótidos) basándose en la migración esperada del cebador específico de SNP. Esto permite al ordenador identificar un SNP basándose en su migración en relación con los marcadores normalizados procesados junto con la muestra. El ordenador también identificará la base o las bases dentro del SNP basándose en el indicador o los indicadores de colorante que detecta. Para esta validación, se permitió que el ordenador realizara la determinación inicial de cada SNP. Los datos se volvieron a analizar después
40 independientemente por dos técnicos para confirmación. En todos los casos las determinaciones por ordenador y las dos determinaciones independientes (manuales) estaban de acuerdo.

Muestras de Coriell

45 Después de realizarse la genotipación en el formato individual en las quince muestras de ADN Coriell, los resultados se compararon con los genotipos conocidos y eran concordantes al 100 % (véase Tabla 8).

TABLA 8: Resultados de genotipación para muestras de Coriell:

Dirección de Cebador de SBE	directo		inverso		directo		directo		directo	
Gen	FABP2	FABP2	PPARG	PPARG	ADRB2	ADRB2	ADRB2	ADRB2	ADRB3	ADRB3
rs N	rs1799883	rs1799883	rs1801282	rs1801282	rs1042713	rs1042713	rs1042714	rs1042714	rs4994	rs4994
Abreviatura	FA	FA	PP	PP	A1	A1	A2	A2	A3	A3
Muestra ID	Coriell	ILI SP	Coriell	ILI SP						
NA12547	GG	GG	CC	GG	AG	AG	CG	CG	nd	TT
NA10851	GG	GG	CC	GG	AG	AG	CG	CG	nd	TT
NA07349	AG	AG	CG	CG	AA	AA	CC	CC	nd	TT
NA07348A	AG	AG	CC	GG	GG	GG	GG	GG	nd	CC
NA10857	GG	GG	CC	GG	GG	GG	GG	GG	nd	TT
NA10858A	AG	AG	CC	GG	AG	AG	CC	CC	nd	TT
NA10853	AG	AG	CC	GG	AG	AG	CG	CG	nd	TT
NA10860	GG	GG	CG	CG	GG	GG	CG	CG	nd	CT
NA17101	nd	GG	CC	GG	nd	AA	nd	CC	nd	TT

NA17102	AA	AG	CC	GG	AA	AA	CC	CC	nd	TT
NA17103	CG	GG	CC	GG	AG	AG	CG	CG	nd	TT
NA17104	AG	AG	CC	GG	GG	GG	GG	GG	nd	CT
NA17116	GG	GG	CC	GG	AG	AG	CC	CC	nd	TT
NA17133	GG	GG	CC	GG	AG	AG	CC	CC	nd	TT
NA17135	GG	GG	CC	GG	AG	AG	CC	CC	nd	TT

Tabla 8: Una comparación de genotipos conocidos (Coriell) frente a genotipos obtenidos en Interleukin Genetics (IL) usando el formato individual con ADN de los Depósitos Celulares de Coriell. El cebador de extensión de una única base de PPARG hibrida en la cadena de ADN inversa. Por lo tanto, las bases de ILI PPARG (rs1801282) se enumeran como complemento del genotipo de cadena directa. Nd = genotipo no disponible a través de los Depósitos Celulares de Coriell.

5

10 **REFERENCIAS**

1. Baier LJ, Sacchettini JC, Knowler WC, Eads J, Paolisso G, Tataranni PA, Mochizuki H, Bennett PH, Bogardus C, y Prochazka M. An amino acid substitution in the human intestinal fatty acid binding protein is associated with increased fatty acid binding, increased fat oxidation, and insulin resistance. *J Clin Invest* 95: 1281-1287, 1995.

15

2. Levy E, Menard D, Delvin E, Stan S, Mitchell G, Lambert M, Ziv E, Feoli-Fonseca JC, y Seidman E. The polymorphism at codon 54 of the FABP2 gene increases fat absorption in human intestinal explants. *J Biol Chem* 276: 39679-39684, 2001.

20

3. Hegele RA, Harris SB, Hanley AJ, Sadikian S, Connelly PW, y Zinman B. Genetic variation of intestinal fatty acid-binding protein associated with variation in body mass in aboriginal Canadians. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 4334-4337, 1996.

25

4. Yamada K, Yuan X, Ishiyama S, Koyama K, Ichikawa F, Koyanagi A, Koyama W, y Nonaka K. Association between Ala54Thr substitution of the fatty acid-binding protein 2 gene with insulin resistance and intra-abdominal fat thickness in Japanese men. *Diabetologia* 40: 706-710, 1997.

30

5. Albala C, Santos JL, Cifuentes M, Villarroel AC, Lera L, Liberman C, Angel B, y Perez-Bravo F. Intestinal FABP2 A54T polymorphism: association with insulin resistance and obesity in women. *Obes Res* 12: 340-345, 2004.

35

6. Pratley RE, Baier L, Pan DA, Salbe AD, Storlien L, Ravussin E, y Bogardus C. Effects of an Ala54Thr polymorphism in the intestinal fatty acid-binding protein on responses to dietary fat in humans. *J Lipid Res* 41: 2002-2008, 2000.

40

7. Agren JJ, Valve R, Vidgren H, Laakso M, y Uusitupa M. Postprandial lipemic response is modified by the polymorphism at codon 54 of the fatty acid-binding protein 2 gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18: 1606-1610, 1998.

8. Agren JJ, Vidgren HM, Valve RS, Laakso M, y Uusitupa MI. Postprandial responses of subject fatty acids in subjects homozygous for the threonine- or alanine-encoding allele in codon 54 of the intestinal fatty acid binding protein 2 gene. *Am J Clin Nutr* 73: 31-35, 2001.
- 5 9. Lefevre M, Lovejoy JC, Smith SR, Delany JP, Champagne C, Most MM, Denkins Y, de Jonge L, Rood J, y Bray GA. Comparison of the acute response to meals enriched with cis- or trans-fatty acids on glucose and lipids in overweight subjects with differing FABP2 genotypes. *Metabolism* 54: 1652-1658, 2005.
- 10 10. de Luis DA, Aller R, Izaola O, Gonzalez Sagrado M, y Conde R. Influence of ALA54THR Polymorphism of Fatty Acid Binding Protein 2 on Lifestyle Modification Response in Obese Subjects. *Ann Nutr Metab* 50: 354-360, 2006.
- 15 11. Marin C, Perez-Jimenez F, Gomez P, Delgado J, Paniagua A, Lozano A, Cortes B, Jimenez-Gomez Y, Gomez M, Lopez-Miranda J. The ala54 polymorphism of the fatty acid-binding protein 2 gene is associated with a change in insulin sensitivity after a change in the type of dietary fat. *Am J Clin Nutr* 82: 196-200, 2005.
- 20 12. Takakura Y, Yohsioka K, Umekawa T, Kogure A, Toda H, Yoshikawa T, Yoshida T. Thr54 allele of the FABP2 gene affects resting metabolic rate and visceral obesity. *Diabetes Research and Clinical Practice* 67: 36-42, 2005.
- 25 13. Jones JR, Barrick C, Kim K-A, Linder J, Blondeau B, *et al*, Deletion of PPAR γ in adipose tissues of mice protects against high fat diet-induced obesity and insulin resistance. *PNAS* 102: 6207-6212, 2005.
- 30 14. Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, Pihlajamaki J, Mykkanen L, Kuusisto J, Laakso M, Fujimoto W, y Auwerx J. A Pro12Ala substitution in PPAR γ 2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 20: 284-287, 1998.
- 35 15. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel J, Argyropoulos G, *et al*. The human obesity gene map: The 2005 update. *Obesity* 14: 529-644.
- 40 16. Robitaille J, Despres JP, Perusse L, y Vohl MC. The PPAR-gamma P12A polymorphism modulates the relationship between dietary fat intake and components of the metabolic syndrome: results from the Quebec Family Study. *Clin Genet* 63: 109-116, 2003.
- 45 17. Memisoglu A, Hu PJ, Hankinson SE, Manson JE, De Vivo I, Willet WC, y Hunter DJ. Interaction between a peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene polymorphism and dietary fat intake in relation to body mass. *Human Molecular Genetics* 12: 2923-2929, 2001.
- 50 18. Lindi VI, Uusitupa MI, Lindstrom J, Louheranta A, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, Keinanen-Kiukkaanniemi S, Laakso M, y Tuomilehto J. Association of the Pro12Ala polymorphism in the PPAR γ 2 gene with 3-year incidence of type 2 diabetes and body weight change in the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes* 51: 2581-2586, 2002.
- 55 19. Nicklas BJ, van Rossum EF, Berman DM, Ryan AS, Dennis KE, y Shuldiner AR. Genetic variation in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene (Pro12Ala) affects metabolic responses to weight loss and subsequent weight regain. *Diabetes* 50: 2172-2176, 2001.
- 60 20. Meirhaeghe A, Helbecque N, Cottel D, Amouyel P. Impact of polymorphisms of the human β 2-adrenoreceptor gene on obesity in a French population. *Intntl J Obesity* 24: 382-87, 2000.
- 65 21. Green SA, Turki J, Innis M, y Liggett SB. Amino-terminal polymorphisms of the human beta 2-adrenergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. *Biochemistry* 33: 9414-9419, 1994.
22. Hellstrom L, Large V, Reynisdottir S, Wahrenberg H, Arner P. The different effects of a Gln27Glu B2-adrenoreceptor gene polymorphism on obesity in males and females. *J Intern Med* 245: 253-259, 1999.
23. Garenc C, Perusse L, Chagnon YC, Rankinen T, Gagnon J, Borecki IB, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC, y Bouchard C. Effects of beta2-adrenergic receptor gene variants on adiposity: the HERITAGE Family Study. *Obes Res* 11: 612-618, 2003.
24. Lange LA, Norris JM, Langefeld CD, Nicklas BJ, Wagenknecht LE, Saad MF, y Bowden DW. Association of adipose tissue deposition and beta-2 adrenergic receptor variants: the IRAS family study. *Int J Obes (Lond)* 29: 449-457, 2005.
25. Gonzalez Sanchez JL, Proenza AM, Martinez Larrad MT, Ramis JM, Fernandez Perez C, Palou A, y Serrano Rios M. The glutamine 27 glutamic acid polymorphism of the beta2-adrenoceptor gene is associated with abdominal obesity and greater risk of impaired glucose tolerance in men but not in women: a population-based

study in Spain. *Clin Endocrinol (Oxf)* 59: 476-481, 2003.

26. Masuo K, Katsuya T, Kawaguchi H, Fu Y, Rakuga H, *et al.* B2-adrenoreceptor polymorphisms relate to obesity through blunted leptin-mediated sympathetic activation. *Am J Hypertens*, 19:1084-91, 2006.

27. Ellsworth DL, Coady SA, Chen W, Srinivasan SR, Elkasabany A, Gustat J, Boerwinkle E, y Berenson GS. Influence of the beta2-adrenergic receptor Arg16Gly polymorphism on longitudinal changes in obesity from childhood through young adulthood in a biracial cohort: the Bogalusa Heart Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26: 928-937, 2002.

28. Masuo K, Katsuya T, Fu Y, Rakugi H, Ogihara T, y Tuck ML. Beta2- and beta3-adrenergic receptor polymorphisms are related to the onset of weight gain and blood pressure elevation over 5 years. *Circulation* 111: 3429-3434, 2005.

29. van Rossum CT, Hoebee B, Seidell JC, Bouchard C, van Baak MA, de Groot CP, Chagnon M, de Graaf C, y Saris WH. Genetic factors as predictors of weight gain in young adult Dutch men and women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26: 517-528, 2002.

30. Martinez JA, Corbalan MS, Sanchez-Villegas A, Forga L, Marti A, y Martinez-Gonzalez MA. Obesity risk is associated with carbohydrate intake in women carrying the Gln27Glu beta2-adrenoceptor polymorphism. *J Nutr* 133: 2549-2554, 2003.

31. Ukkola O, Tremblay A, y Bouchard C. Beta-2 adrenergic receptor variants are associated with subcutaneous fat accumulation in response to long-term overfeeding. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25: 1604-1608, 2001.

32. Corbalan MS. The 27Glu polymorphism of the beta2-adrenergic receptor gene interacts with physical activity influencing obesity risk among female subjects. *Clin Genet* 61: 305-307, 2002.

33. Umekawa T, Yoshida T, Sakane N, Kogure A, Kondo M, y Honjyo H. Arg64Trp mutation of beta3-adrenoceptor gene deteriorates lipolysis induced by beta3-adrenoceptor agonist in human omental adipocytes. *Diabetes* 48: 117-120, 1999.

34. Hoffstedt J, Poirier O, Thorne A, Lonnqvist F, Herrmann SM, Cambien F, y Arner P. Polymorphism of the human beta3-adrenoceptor gene forms a well-conserved haplotype that is associated with moderate obesity and altered receptor function. *Diabetes* 48: 203-205, 1999.

35. Allison DB, Heo M, Faith MS, y Pietrobelli A. Meta-analysis of the association of the Arg64Trp polymorphism in the beta3 adrenergic receptor with body mass index. *Int J Obes Relat Metab Disord* 22: 559-566, 1998.

36. Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, y Ogihara T. Meta-analysis of the association of Arg64Trp polymorphism of beta 3-adrenergic receptor gene with body mass index. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 2441-2444, 1998.

37. Kurokawa N, Nakai K, Kameo S, Liu ZM, y Satoh H. Association of BMI with the beta3-adrenergic receptor gene polymorphism in Japanese: meta-analysis. *Obes Res* 9: 741-745, 2001.

38. Marti A, Corbalan MS, Martinez-Gonzalez MA, y Martinez JA. ARG64TRP polymorphism of the beta 3-adrenergic receptor gene and obesity risk: effect modification by a sedentary lifestyle. *Diabetes Obes Metab* 4: 428-430, 2002.

39. Sakane N, Yoshida T, Umekawa T, Kogure A, Takakura Y, y Kondo M. Effects of Arg64Trp mutation in the beta 3-adrenergic receptor gene on weight loss, body fat distribution, glycemic control, and insulin resistance in obese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 20: 1887-1890, 1997.

40. Shiwaku K, Nogi A, Anuurad E, Kitajima K, Enkhmaa B, Shimono K, y Yamane Y. Difficulty in losing weight by behavioral intervention for women with Arg64Trp polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27: 1028-1036, 2003.

41. Phares DA, Halverstadt AA, Shuldiner AR, Ferrell RE, Douglass LW, Ryan AS, Goldberg AP, y Hagberg JM. Association between body fat response to exercise training and multilocus ADR genotypes. *Obes Res* 12: 807-815, 2004.

42. Tchernof A, Starling RD, Walston JD, Shuldiner AR, *et al.* Obesity-related phenotypes and the β 3-adrenoreceptor gene variant in postmenopausal women. *Diabetes* 48:1425-1428, 1999.

43. Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, Pihlajamaki J, Mykkanen L, Kuusisto J, Laakso M, Fujimoto W, y Auwerx J. APro12Ala substitution in PPARgamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 20: 284-287, 1998.
- 5 44. Masugi J, Tamori Y, Mori H, Koike T, y Kasuga M. Inhibitory effect of a proline-to-alanine substitution at codon 12 of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 on thiazolidinedione-induced adipogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 268: 178-182, 2000.
- 10 45. Kahara T, Takamura T, Hayakawa T, Nagai Y, Yamaguchi H, Katsuki T, Katsuki K, Katsuki M, y Kobayashi K. PPARgamma gene polymorphism is associated with exercise-mediated changes of insulin resistance in healthy men. *Metabolism* 52: 209-212, 2003.
- 15 46. Adamo KB, Sigal RJ, Williams K, Kenny G, Prud'homme D, y Tesson F. Influence of Pro12Ala peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 polymorphism on glucose response to exercise training in type 2 diabetes. *Diabetologia* 48: 1503-1509, 2005.
- 20 47. Weiss EP, Kulaputana O, Ghu IA, Brandauer J, Wohn CR, Phares DA, Shuldiner AR, y Hagberg JM. Endurance training-induced changes in the insulin response to oral glucose are associated with the peroxisome proliferator activated receptor-gamma2 Pro12Ala genotype in men but not in women. *Metabolism* 54: 97-102, 2005.
- 25 48. Guettier J, Georgopoulos A, Tsai M, Radha V, Shanthrani S, Deepa R, Gross M, Rao G, Mohan V. Polymorphisms in the fatty acid-binding protein 2 and apolipoprotein c-III genes are associated with the metabolic syndrome and dyslipidemia in a south Indian population. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 1705-1711, 2004.
- 30 49. Pollex R, Hanley A, Zinman B, Harris S, Khan H, Hegele R. Metabolic syndrome in aboriginal Canadians: prevalence and genetic associations. *Atherosclerosis* 184:121-129, 2006.
- 35 50. Karani S, Radha V, Mohan V. Thr54 allele carriers of the Ala54Thr variant of FABP2 gene have associations with metabolic syndrome and hypertriglyceridemia in urban South Indians. *Metabolism Clinical and Experimental* 55: 1222-12226, 2006.
- 40 51. Pereira M, Swain J, Goldfine A, Rifai N, Ludwig D. Effects of a low-glycemic load diet on resting energy expenditure and heart disease risk factors during weight loss. *JAMA* 292(20): 2482-2490, 2004.
- 45 52. Hallikainen M, Toppinen L, Mykkanen H, Agren J, Laaksonen D, Miettinen T, Niskanen L, Poutanen K, Gylling H. Interaction between cholesterol and glucose metabolism during dietary carbohydrate modification in subjects with the metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr* 84: 1385-1392, 2006.
- 50 53. Kallio P, Kolehmainen M, Laaksonen D, Kekalainen J, Salopuro T, Sivenius K, Pulkkinen L, Mykkanen H, Niskanen L, Uusitupa M, Poutanen K. Dietary carbohydrate modification induces alterations in gene expression in abdominal subcutaneous adipose tissue in persons with the metabolic syndrome: the FUNGENUT study. *Am J Clin Nutr* 85: 1417-1427, 2007.
- 55 54. Paradis A-M, Fontaine-Bisson B, Bosse Y, Robitaille J, Lemieux S, Jaques H, Lamarche B, Tchernof A, Couture P, Vohl M-C, The peroxisome proliferator-activated receptor α Leu162Val polymorphism influences the metabolic response to a dietary intervention altering fatty acid proportions in healthy men. *Am J Clin Nutr* 81: 523-30, 2005.
- 60 55. Macho-Azcarate T, Marti A, Gonzalez A, Martinez JA, Ibanez J. Gln27Glu polymorphism in the beta2 adrenergic receptor gene and lipid metabolism during exercise in obese women. *Int J Obesity* 26: 1434-41, 2002.
- 65 56. Kahara T, Hayakawa T, Nagai Y, Shimizu A, Takamura T. Gln27Glu polymorphism of the β 2 adrenergic receptor gene in healthy Japanese men is associated with the change of fructosamine level caused by exercise. *Diabet Res Clin Practice* 64: 207-12, 2004.
57. Marti A, Corbalan MS, Martinez-Gonzalez MA. CHO intake alters obesity risk associated with Pro12Ala polymorphism of PPARG gene. *J. Physiol. Biochem.*, 58(4): 219-220, 2002.
58. Centers for Disease Control and Prevention, disponible en <http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/obesitv/trend/maps/index.htm>. Accessed 10/21/07.
59. National Center for Health Statistics, disponible en <http://www.cdc.gov/nchs/fastat/overwt.htm>. accedido el 21/10/07.

60. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000. *JAMA*, 288:1723-1727, 2002.
- 5 61. Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA*, 295:1549-1555, 2006.
62. Ogden CL, Flegal KM, Carroll MD, Johnson CL. Prevalence and trends in overweight among US children and adolescents, 1999-2000. *JAMA* 288:1728-1732, 2002.
- 10 63. Centers for Disease Control and Prevention, disponible en <http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/obesity/consequences.htm>. Accessed 10/21/07.
64. Centers for Disease Control and Prevention, disponible en http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/obesity/economic_consequences.htm. Accessed 10/21/07.
- 15 65. Wolf AM, Colditz GA. Current estimates of the economic cost of obesity in the United States. *Obes Res* 6:97-106, 1998.
- 20 66. Finkelstein, EA, Fiebelkorn, IC, Wang, G. National medical spending attributable to overweight and obesity: How much, and who's paying? *Health Affairs Suppl. W3*; 219-226, 2003.
67. U.S. Department of Health and Human Services. The Surgeon General's Call to Action to Prevent and Decrease Overweight and Obesity. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Office of the Surgeon General; 2001.
- 25 68. Johnson R, Williams S, Spruill I. Genomics, nutrition, obesity and diabetes. *J Nurs Scholarsh* 38:11-18, 2006.
69. Frosch D, Mello P, Lerman C. Behavioral consequences of testing for obesity risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14:1485-1489, 2005.
- 30 70. Organización Mundial de la Salud. Clasificación del IMC.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para seleccionar una recomendación de régimen dietético/terapéutico apropiada para un sujeto que comprende determinar el genotipo del sujeto con respecto a los loci polimórficos FABP2 (rs1799883; G/A); PPARG (rs1801282; C/G); y ADRB2 (rs1042714; C/G) y al menos uno de locus ADRB3 (rs4994; C/T) y el locus ADRB2 (rs1042713; A/G), en el que el genotipo del sujeto con respecto a dichos loci proporciona información acerca de la susceptibilidad aumentada del sujeto a problemas de control de peso adversos, y permite la selección de un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida que es adecuado para la susceptibilidad del sujeto a problemas de control de peso adversos y en el que portar el alelo ADRB2 Glu27, PPARG 12Pro/Pro y FABP2 54Thr/* clasifica al sujeto como sensible a restricción de grasas.
- 10
2. El método de la reivindicación 1, que comprende determinar el genotipo del sujeto con respecto tanto al locus ADRB3 (rs4999 C/T) como al locus ADRB2 (rs1042713 A/G).
- 15 3. El método de la reivindicación 1, en el que el régimen terapéutico/dietético comprende administrar un nutracéutico.