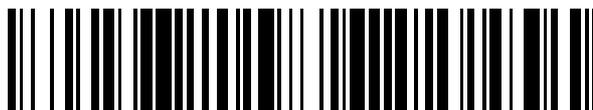


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 586 685**

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/68** (2006.01)

**C12N 15/12** (2006.01)

**C40B 40/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.11.2010 E 10832163 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.03.2016 EP 2501828**

54 Título: **Marcadores genéticos para la gestión del peso y métodos de uso de los mismos**

30 Prioridad:

**18.11.2009 US 621201**

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

**18.10.2016**

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;  
RAMAKRISHNAN, SHYAM y  
KREMPIN, DAVID**

74 Agente/Representante:

**SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro**

**ES 2 586 685 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 la gestión del peso y métodos de uso de los mismos

5 **Campo de la invención**

Esta solicitud se relaciona con métodos para determinar el genotipo metabólico de un sujeto y métodos para seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiado en función del perfil metabólico del sujeto y de la de susceptibilidad de obtener resultados desfavorables de la gestión del peso.

10

**Antecedentes**

15

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: alrededor de 1.700 millones de personas en todo el mundo tienen sobrepeso y 300 millones de ellas son obesas. En EE.UU. aproximadamente 127 millones de adultos tienen sobrepeso y 69 millones son obesos. Los sujetos obesos tienen un riesgo aumentado de desarrollar una o más afecciones médicas graves incluyendo diabetes, cardiopatía, hipertensión e hipercolesterolemia. La prevalencia de la obesidad se ha duplicado ampliamente en los últimos 25 años y ahora alcanza el 31 % entre los adultos de EE.UU. con 20 años de edad o más. Los mayores índices de obesidad se ven entre afroamericanos y americanos de origen hispano, especialmente entre las mujeres (de 30% a 50%).

20

25

El aumento de la prevalencia de la obesidad observado en todo el mundo en las últimas décadas se ha producido en un entorno cambiante caracterizado por una reducción progresiva del nivel de actividad física y la abundancia de alimentos muy sabrosos. El informe de la OMS identificó estos cambios como las dos principales características modificables del moderno estilo de vida que promueve el desarrollo de la obesidad. Sin embargo, a pesar del hecho de que las personas están expuestas al mismo entorno, no todas se convierten en obesas, lo que sugiere un papel del perfil genético del sujeto en el desarrollo de problemas de gestión del peso. Es decir, la genética determina la predisposición de un sujeto para convertirse en obeso cuando se expone a un entorno desfavorable, así como la manera en que él/ella puede responder a la dieta o el ejercicio.

30

35

Por consiguiente, hay una necesidad de un medio para establecer un programa de pérdida de peso personalizado que considere la predisposición genética de una persona a la obesidad a fin de mejorar los resultados de pérdida de peso y mantenimiento del peso en relación con un programa similar que no tenga en cuenta la información genética. Hay una necesidad de un medio para relacionar el genotipo metabólico de un sujeto con la respuesta a la dieta y/o el ejercicio.

40

**Sumario de la invención**

45

La presente divulgación proporciona métodos y kits para determinar el genotipo metabólico de un sujeto y seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiado para el sujeto. De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan métodos para determinar el genotipo metabólico de un sujeto, clasificando al sujeto dentro de una o más de una serie de categorías nutricionales y de ejercicio a las que es probable que responda el sujeto y comunicar al sujeto un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiados para el sujeto. De este modo, puede elegirse un programa de pérdida de peso personalizado basado en un genotipo metabólico del sujeto. Dicho programa de pérdida de peso personalizado tendrá beneficios obvios (p. ej., dará mejores resultados en cuanto a la pérdida de peso y mantenimiento del peso) sobre los programas de pérdida de peso tradicionales que no tienen en cuenta la información genética.

50

55

La presente invención proporciona un método para seleccionar un régimen apropiado para la pérdida y/o mantenimiento del peso para un sujeto que comprende:

a) determinar el genotipo del sujeto con respecto a los loci polimórficos FABP2 rs1799883; G/A; PPARG rs1801282; C/G; y ADRB2 rs1042714; y

60

b) clasificar al sujeto basándose en la determinación de tres loci polimórficos de la etapa (a) en una categoría nutricional, en la que es predecible que el sujeto con un genotipo combinado de FABP2 rs1799883 1.1 G/G, PPARG rs1801282 1.1 C/C, y ADRB2 rs1042714 1.1 C/C responda a una dieta equilibrada.

65

De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación se proporciona un método un método para seleccionar un régimen apropiado para la pérdida y/o mantenimiento del peso para un sujeto que comprende: a) determinar el genotipo del sujeto con respecto a los loci polimórficos seleccionados del grupo que consiste en: el locus FABP2 (rs1799883; G/A); el locus PPARG (rs1801282; C/G); y el locus ADRB2 (rs1042714; C/G); y b) clasificar al sujeto en una categoría nutricional seleccionada del grupo que consiste en una dieta baja en grasas; una dieta baja en

carbohidratos; una dieta rica en proteínas; y una dieta con restricción de calorías.

- 5 En algunas realizaciones de la divulgación, en las que se predice que el sujeto con un genotipo combinado de uno de FABP2 (rs1799883) 2.2 o 2.1 (A/A o A/G) y PPARG (rs1801282) 1.1 (C/C), responde a una dieta baja en grasas.
- 10 En algunas realizaciones de la divulgación, en las que es predecible que el sujeto con un genotipo combinado de uno de FABP2 (rs1799883) 2.2 o 2.1 (A/A o A/G) y uno de PPARG (rs1801282) 2.1 o 2.2 (G/C o G/G), responda a una dieta baja en carbohidratos.
- 15 En algunas realizaciones de la divulgación, en las que es predecible que el sujeto con un genotipo combinado de uno de PPARG (rs1801282) 2.1 o 2.2 (G/C o G/G) y uno de ADRB2 (rs1042714) 1.2 o 2.2 (C/G or G/G), responda a una dieta baja en grasas.
- 20 En algunas realizaciones de la divulgación, en las que es predecible que el sujeto con un genotipo combinado de FABP2 1.1 (G/G) y uno de PPARG (rs1801282) 2.1 o 2.2 (G/C o G/G), responda a una dieta baja en carbohidratos.
- 25 En algunas realizaciones de la invención, en las que es predecible que el sujeto con un genotipo combinado de FABP2 1.1 (G/G), PPARG (rs1801282) 1.1 (C/C) y uno de ADRB2 (rs1042714) 1.2 o 2.2 (C/G o G/G) responda a una dieta baja en carbohidratos.
- 30 En algunas realizaciones de la invención, en las que es predecible que el sujeto con un genotipo combinado de FABP2 (rs1799883) 1.1 (G/G), PPARG (rs1801282) 1.1 (C/C), y ADRB2 (rs1042714) 1.1 (C/C) responda a una dieta equilibrada.
- 35 En algunas realizaciones de la invención, 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; el locusG/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G) y el locusADRB2 (rs1042714; C/G).
- 40 De acuerdo con algunas realizaciones de la invención, se proporciona un método para seleccionar un régimen de ejercicio apropiado para un sujeto que comprende determinar el genotipo del sujeto con respecto a los loci polimórficos, seleccionados del grupo que consiste en: el locus ADRB2 (rs1042713; G/A; Gly16Arg); y ADRB3 (rs4994; C/T; Arg64Trp) clasificar al sujeto en una categoría de ejercicio seleccionada del grupo que consiste en ejercicio normal (moderado); y ejercicio vigoroso (intensivo).
- 45 En algunas realizaciones de la invención, en las que es predecible que el sujeto con un genotipo de uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 (G/G; 16 Gly/Gly) o 1.2 (G/A; responda menos al ejercicio, necesitando de ese modo ejercicio vigoroso (intensivo).
- 50 En algunas realizaciones de la invención, en las que es predecible que el sujeto con un genotipo de ADRB2 (rs1042713) 2.2 (A/A; 16 Arg/Arg) responda al ejercicio normal (moderado).
- 55 En algunas realizaciones de la invención, en las que es predecible que el sujeto con un genotipo de uno de ADRB3 (rs4994) 2.1 (C/T; 64 Arg/Trp) o 2.2 (C/C; 64 Arg/Arg) responda menos al ejercicio, necesitando de ese modo ejercicio vigoroso (intensivo).
- 60 En algunas realizaciones de la divulgación, en las que es predecible que el sujeto con un genotipo de ADRB3 (rs4994) 1.1 (T/T; 64 Trp/Trp) responda al ejercicio normal (moderado).
- 65 De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación se proporciona un *kit*, en las que el *kit* comprende reactivos para determinar el genotipo de un sujeto con respecto a los loci polimórficos seleccionados del grupo que consiste en: el locus FABP2 (rs1799883; G/A); el locus PPARG (rs1801282; C/G) y el locus ADRB2 (rs1042714; C/G); e instrucciones para determinar el genotipo metabólico del sujeto.
- De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación un *kit* comprende además un medio para clasificar al sujeto dentro de una categoría nutricional selecciona del grupo que consiste en una dieta baja en grasas; una dieta baja en carbohidratos; una dieta rica en proteínas; una dieta equilibrada y una dieta con restricción de calorías.
- De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación se proporciona un *kit* que comprende reactivos para determinar el genotipo de un sujeto con respecto a los loci polimórficos seleccionados del grupo que consiste en: el locus ADRB2 (rs1042713; G/A; Gly16Arg); y ADRB3 (rs4994; C/T; Arg64Trp); e instrucciones para determinar el genotipo metabólico del sujeto.
- De acuerdo con algunas realizaciones de la divulgación un *kit* comprende además un medio para clasificar al sujeto dentro de una categoría de ejercicio selecciona del grupo que consiste en ejercicio normal (moderado); y ejercicio vigoroso (intensivo).

5 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan métodos para seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiados para un sujeto que comprenden: determinar el genotipo de un sujeto con respecto cualquiera de dos, cualquiera de tres, o cualquiera de cuatro de los loci polimórficos seleccionados de entre 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), en las que el genotipo del sujeto con respecto a dichos loci proporciona información sobre la predisposición aumentada del sujeto a problemas de gestión del peso desfavorable, y permite la selección de un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida que sean apropiados para predisposición del sujeto a problemas de gestión del peso desfavorable.

10 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan métodos para seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiados 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 las que el genotipo del sujeto con respecto a dichos loci proporciona información sobre la predisposición aumentada del sujeto a problemas de gestión del peso desfavorable y permiten la selección de un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida que sean apropiados para predisposición del sujeto a problemas de gestión del peso desfavorable.

20 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan métodos para seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiados para un sujeto que comprenden: a) determinar el genotipo del sujeto con respecto a cualquiera de dos, cualquiera de tres, o cualquiera de cuatro 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 dentro de una categoría de capacidad de respuesta a nutrición y/o una categoría de capacidad de respuesta al ejercicio. Una vez que el genotipo de un sujeto se clasifica o categoriza dentro de una categoría de capacidad de respuesta a nutrición y/o una categoría de capacidad de respuesta al ejercicio, puede proporcionarse al sujeto un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida que incluye, pero no se limita a, seleccionar una dieta y nivel de actividad apropiados para los cuales es probable que el sujeto responda más.

30 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan métodos para seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiados 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 dentro de una categoría de capacidad de respuesta a nutrición y/o una categoría de capacidad de respuesta al ejercicio.

35 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan 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 entre los siguientes: 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 locus ADRB2 SNP rs1042714, alelo 2 (genotipo: G; aminoácido: Glu), en los que la presencia de un 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 sea adecuado para la respuesta predicha del sujeto a la dieta y/o ejercicio.

50 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan métodos para identificar el genotipo metabólico de un sujeto que comprenden: 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).

55 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan métodos para identificar el genotipo metabólico de un sujeto que comprenden: 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).

60 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan 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 muestra. El kit también puede contener una muestra de control, bien positivo o bien negativo, o un dispositivo convencional y/o algorítmico para evaluar los resultados y reactivos y componentes adicionales.

65 Los kits de la presente divulgación pueden estar en forma de un análisis de ADN que se usará para proporcionar la recomendación de dieta y ejercicio basada 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 sanitarios a desarrollar intervenciones dietéticas y de ejercicio que mejorarán la prevención y tratamiento de la obesidad. La invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

- 5
- Breve descripción de los dibujos**
- 10 La FIG. 1 representa la pérdida de peso media durante un periodo de 12 meses. Se compararon grupos en asignaciones dietéticas con genotipo apropiado frente a genotipo inapropiado. "N" es el número de sujetos en cada punto de medición para los dos grupos en comparación. Los valores para la "p" muestran la significación estadística de cada medición.
- 15 La FIG. 2 representa la pérdida de peso media durante un periodo de 12 meses. Se compararon grupos en asignaciones dietéticas con genotipo apropiado frente a genotipo inapropiado. "N" es el número de sujetos en cada punto de medición para los dos grupos en comparación. Los valores para la "p" muestran la significación estadística de cada medición.
- 20 La FIG. 3 representa el cambio porcentual de la proporción de la cintura con respecto a la cadera. Se compararon grupos en asignaciones dietéticas con genotipo apropiado frente a genotipo inapropiado. "N" es el número de sujetos en cada punto de medición para los dos grupos en comparación. Los valores para la "p" muestran la significación estadística de cada medición.
- 25 La FIG. 4 representa que la asignación dietética de acuerdo con las categorías genotípicas de respuesta resultó en una pérdida de peso 2-3 veces mayor. Se compararon grupos en asignaciones dietéticas con genotipo apropiado frente a genotipo inapropiado. La asignación dietética de acuerdo con las categorías genotípicas de respuesta da como resultado una pérdida de peso 2-3 veces mayor. "N" es el número de sujetos en cada punto de medición para los dos grupos en comparación. Los valores para la "p" muestran la significación estadística de cada medición.
- 30 La FIG. 5 representa el cambio porcentual del perímetro de la cintura: Se compararon grupos en asignaciones dietéticas con genotipo apropiado frente a genotipo inapropiado. Los individuos a los que se prescribieron dietas de acuerdo con categorías genotípicas de respuesta tuvieron como resultado una reducción del perímetro de la cintura 2-3 veces mayor. "N" es el número de sujetos en cada punto de medición para los dos grupos en comparación. Los valores para la "p" muestran la significación estadística de cada medición.
- 35 La FIG. 6 representa el cambio porcentual de la proporción de la cintura con respecto a la cadera: Se compararon grupos en asignaciones dietéticas con genotipo apropiado frente a genotipo inapropiado. Los individuos a los que se prescribieron dietas de acuerdo con categorías genotípicas de respuesta tuvieron como resultado una reducción del perímetro de la cintura 2-3 veces mayor. "N" es el número de sujetos en cada punto de medición para los dos grupos en comparación. Los valores para la "p" muestran la significación estadística de cada medición.
- 40 La FIG. 7 representa la pérdida de peso media en kg en todos los sujetos (independientemente del genotipo) con las dietas Atkins, Ornish, LEARN y Zone durante entre 2-12 meses.
- 45 La FIG. 8 representa la pérdida de peso media en kg en los sujetos de los grupos de respuesta a CHO bajos y a grasas bajas con la dieta Atkins entre 2-12 meses. Los individuos en los grupos dietéticos de carbohidratos bajos y grasas bajas se clasificaron en dos grupos: i) genotipo de respuesta a carbohidratos bajos (GCB); y ii) genotipo de respuesta a grasas bajas (GGB).
- 50 La FIG. 9 representa la pérdida de peso media en kg en los sujetos de los grupos de respuesta a CHO bajos y a grasas bajas con la dieta Ornish entre 2-12 meses. Los individuos en los grupos dietéticos de carbohidratos bajos y grasas bajas se clasificaron en dos grupos: i) genotipo de respuesta a carbohidratos bajos (GCB); y ii) genotipo de respuesta a grasas bajas (GGB).
- 55 La FIG. 10 representa la pérdida de peso media en kg en los sujetos de los grupos de respuesta a CHO bajos y a grasas bajas con las dietas Ornish y LEARN entre 2-12 meses. Los individuos en los grupos dietéticos de las dietas Ornish y LEARN se clasificaron en dos grupos: i) genotipo de respuesta a carbohidratos bajos (GCB); y ii) genotipo de respuesta a grasas bajas (GGB). Se realizó el análisis mediante la prueba T para comparar la pérdida de peso media de los dos grupos.
- 60 La FIG. 11 representa la pérdida de peso media en kg de los sujetos con genotipo de respuesta a grasas bajas con las dietas Atkins, Ornish, LEARN y Zone durante entre 2-12 meses.
- 65 La FIG. 12 representa la pérdida de peso media en kg de los sujetos con genotipo de respuesta a carbohidratos bajos con las dietas Atkins, Ornish, LEARN y Zone durante entre 2-12 meses.

### Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Los kits y métodos de la presente divulgación residen, al menos en parte, en el hallazgo de que existe una asociación entre los patrones de alelos de ciertos genes metabólicos y la capacidad de respuesta de un sujeto a un régimen particular de dieta y ejercicio. Es decir, existe una asociación entre los los patrones de alelos de genes metabólicos y los resultados clínicos y fenotipos relacionados con la gestión del peso. Algunos genes tienen un impacto sobre diversas vías que influyen sobre el peso corporal y se han asociado con riesgo elevado de obesidad y por su capacidad para diferenciar la respuesta del sujeto a intervenciones de la gestión del peso mediante el genotipo. Para los fines de esta divulgación, dichos genes se denominarán como "genes metabólicos" o "genes de gestión del peso". Estos genes incluyen, pero no se limitan a, proteína 2 de unión a ácidos grasos (FABP2, por sus siglas en inglés); receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma (PPARG); receptor beta 2 adrenérgico (ADRB2); y receptor beta 3 adrenérgico (ADRB3).

La presente divulgación proporciona pruebas de gestión del peso para determinar el "genotipo metabólico" de un sujeto, que implica determinar el "genotipo metabólico" de un sujeto para uno o más (p. ej., 2, 3, 4, etc.) genes metabólicos. Los resultados de dicha genotipificación metabólica pueden usarse para predecir la capacidad de respuesta de un sujeto a cantidades relativas de restricción de macronutrientes y calorías en la dieta, con o sin ejercicio, para la pérdida de peso. La identificación del genotipo de un sujeto puede usarse para emparejar el sujeto con una alteración terapéutica, o nutricional, o del estilo de vida, o una combinación de las mismas para trazar una estrategia para lograr y/o mantener la pérdida de peso. Por tanto, de acuerdo con algunas realizaciones, los resultados de la genotipificación de polimorfismos (para polimorfismos individuales o combinaciones) puede usarse para determinar 1) influencia genética sobre la intervención/resultados de la gestión del peso y 2) capacidad de respuesta a la restricción de macronutrientes y energía en la dieta, con o sin ejercicio, para la pérdida de peso.

De forma colectiva, la determinación del genotipo de un sujeto para uno o más genes metabólicos permite interpretaciones que proporcionan información procesable para seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiado para un sujeto. El genotipo metabólico de un sujeto se determina a partir de una prueba de gestión del peso diseñada para detectar el patrón de polimorfismo genético de un sujeto con respecto a uno o más genes metabólicos. Mediante la identificación polimorfismos genéticos y patrones de genotipo pertinentes, la prueba puede evaluar el riesgo de resultados de gestión del peso probables y proporcionar al sujeto una guía en la elección de las intervenciones en la nutrición y el estilo de vida que se adapten a su constitución personal y genética.

### GENES METABÓLICOS

Los genes metabólicos incluyen, pero no se limitan a, proteína 2 de unión a ácidos grasos (FABP2, por sus siglas en inglés); receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma (PPARG); receptor beta 2 adrenérgico (ADRB2); y receptor beta 3 adrenérgico (ADRB3). El patrón de polimorfismo genético de un sujeto con respecto a uno o más de estos genes revela un genotipo metabólico del sujeto. Más preferentemente, el genotipo metabólico de un sujeto puede determinarse identificando ese patrón de polimorfismo genético del sujeto con respecto a 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).

Polimorfismo FABP2 rs1799883 (Ala54Thr; G/A)

El gen FABP2 codifica la forma intestinal de la proteína de unión a ácidos grasos, una familia de proteínas que regula el transporte y metabolismo de los lípidos. La proteína FABP2 se encuentra en las células epiteliales del intestino delgado, en las que controla la absorción de grasas. *In vitro*, la forma Thr54 de la proteína muestra una afinidad de unión 2 veces mayor por los ácidos grasos de cadena larga (Baier et al., J Clin Invest 95: 1281-1287, 1995) y se ha demostrado que está asociado con una absorción de grasas potenciada en el intestino (Levy et al., J Biol Chem 276: 39679-39684, 2001). La variante Thr54 aumenta, por tanto, la absorción y/o procesamiento de los ácidos grasos de la dieta por el intestino y aumenta de ese modo la oxidación de las grasas. De acuerdo con el mapa genético de la obesidad más reciente, un total de 5 estudios mostraron indicios de asociación entre el gen FABP2 y obesidad; cuatro de ellos implicaron al polimorfismo Ala54Thr. La variante Ala54Thr se ha asociado con IMC y grasa corporal elevados (Hegele et al., Clin Endocrinol Metab 81: 4334-4337, 1996), grasa abdominal aumentada en varones japoneses (Yamada et al., Diabetologia 40: 706-710, 1997) y obesidad, así como niveles mayores de leptina entre las mujeres Albala et al., Obes Res 12: 340-345, 2004).

Múltiples estudios han demostrado que el polimorfismo Ala54Thr afecta a la respuesta frente a los cambios en las grasas de la dieta en raciones de prueba. Los ácidos grasos no esterificados (AGNE) fueron un 20 % más altos 7 horas después de una comida rica en grasa en sujetos homocigotos 54Thr/Thr en comparación con sujetos homocigotos 54Ala/Ala (Pratley et al., J Lipid Res 41: 2002-2008, 2000). Después de la ingestión de grasas, también se encontró que el alelo 54Thr estaba asociado con niveles aumentados de triacilglicéridos posprandiales (Agren et al., Arterioscler Thromb Vasc Biol 18: 1606-1610, 1998) y ácidos grasos de cadena de 14-18 carbonos (Agren et al., Am J Clin Nutr 73: 31-35, 2001). Los perfiles metabólicos posprandiales después de raciones de prueba enriquecidas con ácidos grasos trans en relación con una ración similar enriquecida con ácidos grasos cis mostró que los sujetos con al menos una copia del alelo Thr54 presentaban un incremento mayor en los niveles de glucosa posprandial y lipogénesis en

comparación con los homocigotos para el alelo Ala54 (Lefevre et al., *Metabolism* 54: 1652-1658, 2005). En un grupo de pacientes obesos no diabéticos analizados antes y 3 meses después de una modificación del estilo de vida, que consistía en dieta hipocalórica (1500 cal/día) y ejercicio aeróbico tres veces por semana, (de Luis DA et al., *Ann Nutr Metab* 50: 354-360, 2006) se demostró que los portadores del alelo 54Thr (en comparación con los homocigotos 54Ala/Ala) no conseguían una reducción significativa de la masa grasa, niveles de colesterol LDL, y niveles de leptina. Otros estudios han demostrado una asociación entre genotipo de FABP2 e ingesta de grasas en la dieta, con ingesta moderada de carbohidratos (Marin et al., *Am J Clin Nutr* 82: 196-200, 2005; Takakura et al., *Diabetes Research and Clinical Practice* 67: 36-42, 2005).

#### 10 Polimorfismo PPARG rs1801282 (C/G; Pro12Ala)

Los receptores activados por proliferador de peroxisoma (PPAR) son miembros de la subfamilia de factores de transcripción de receptores nucleares de hormonas. PPAR-gamma (PPARG) se expresa abundantemente en adipocitos y juega un papel clave en la formación de adipocitos, en el metabolismo de los lípidos y en el desarrollo de diabetes de tipo 2. Los ratones nuligénicos para PPARG no consiguieron desarrollar tejido adiposo normal y, cuando se les alimentaba con una dieta rica en grasas, presentaron una ganancia de peso disminuida y no desarrollaron resistencia a la insulina (Jones et al., *PNAS* 102: 6207-6212, 2005). La variante 12Ala está asociada con un descenso en la afinidad de unión del receptor con el elemento de respuesta a PPAR en sus genes diana, por tanto, con una reducción de su capacidad para regular la expresión de estos genes diana (Deeb et al., *Nat Genet* 20: 284-287, 1998). De acuerdo con el mapa genético de la obesidad de 2016 (Rankinen et al., *Obesity* 14: 529-644), un total de 30 estudios mostraron indicios de asociación entre el gen PPARG y obesidad y la mayoría de los hallazgos positivos implicaron al polimorfismo Pro12Ala polymorphism.

Un estudio transversal a gran escala, el Quebec Family Study (QFS) (Robitaille et al., *Clin Genet* 63: 109-116, 2003) demostró que los sujetos que portaban el alelo 12Pro respondían más a la cantidad de grasas en la dieta. Un estudio similar (Memisoglu et al., *Human Molecular Genetics* 12: 2923-2929, 2001) también demostró que los sujetos 12Pro/Pro que consumían grandes cantidades de grasas tenían mayor índice de masa corporal (IMC) que los que consumían bajas cantidades de grasas. Esta asociación entre ingesta de grasas en la dieta e IMC no se observó en los portadores de 12Ala, lo que sugería de nuevo que los sujetos 12Pro/\* son más sensibles a la cantidad de grasas en la dieta. Se encontraron indicios contundentes de diferencias genotípicas en respuesta a la intervención en la dieta a partir del Finnish Diabetes Prevention Study (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 fue mayor en los sujetos 2Ala/Ala (-8,3 kg) que en los sujetos Pro12Ala (-4,0 kg) y que en los sujetos 12Pro/ Pro (-3,4 kg). Un estudio en mujeres con sobrepeso y obesas no mostró diferencias en la pérdida de peso entre las portadoras de 12Pro/Pro y 12Ala/\* en respuesta a una dieta hipocalórica de 6 meses, pero la recuperación del peso durante el seguimiento (un año) fue mayor en las mujeres con el alelo Ala que en las mujeres homocigotas para el alelo 12Pro. En respuesta a esta intervención, los portadores de Ala presentaron mayor incremento de la sensibilidad a la insulina y a la oxidación de carbohidratos por el ayuno y mayor descenso de la oxidación de lípidos por el ayuno (Nicklas et al., *Diabetes* 50: 2172-2176, 2001).

Los sujetos 12Pro/Pro (el genotipo más frecuente) son más sensibles a la cantidad de grasas en la dieta, más resistentes a la pérdida de peso y tienen un riesgo mayor de diabetes. Los indicios de la interacción genes-dieta son contundentes para este gen. Los hallazgos de estudios de intervención en la dieta sugieren una mayor flexibilidad metabólica en el almacenamiento y movilización de las grasas en los portadores 12Ala, lo cual coincide con los estudios que muestran un IMC aumentado, una mayor pérdida de peso en respuesta a la intervención y una sensibilidad mayor a la insulina y un riesgo reducido de diabetes. Por tanto, los estudios coinciden al mostrar que el alelo 12Pro es el alelo de alto riesgo.

#### Polimorfismos ADRB2 rs1042713 (G/A; Arg16Gly) y ADRB2 rs1042714 (C/G; Gln27Glu)

El receptor beta 2 adrenérgico es la forma predominante del receptor que se expresa en los adipocitos, la cual juega un papel clave en la rotura de las grasas de los adipocitos para obtener energía en respuesta a las catecolaminas. Se han identificado varios polimorfismos de este gen que resultan en cambios de aminoácidos, siendo los polimorfismos Arg16Gly y Gln27Glu los más comunes en la raza blanca y los que se han investigado con más frecuencia en relación con la obesidad. Los dos polimorfismos están en desequilibrio de ligamiento fuerte (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 mostró el impacto funcional de los dos polimorfismos (Green et al., *Biochemistry* 33: 9414-9419, 1994). En comparación con sus alelos normales respectivos, el alelo 16Gly se asoció con regulación negativa potenciada de la expresión de ADRB2 en respuesta al tratamiento con agonista (isoproteranol) y 27Glu se asoció con cierto incremento (es decir, resistente a la regulación negativa) en la expresión de ADRB2. De manera interesante, la combinación de ambos alelos mutantes (16Gly y 27Glu) resultó en la regulación negativa potenciada de la producción de receptor. De acuerdo con el mapa genético de la obesidad reciente (Rankinen et al., *The human obesity gene map: The 2005 update. Obesity* 14: 529-644), un total de 20 estudios mostraron indicios de asociación entre el gen ADRB2 y obesidad, implicando la mayoría de los hallazgos a los polimorfismos Arg16Gly o Gln27Glu, y existe cierta indicación de que la asociación más fuerte es con el alelo 27Glu. Algunos estudios han demostrado diferencias en relación al sexo en el riesgo de 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 los indicios no favorece la realización de

interpretaciones genotípicas específicas del sexo en este panel.

Múltiples estudios muestran indicios de que se ha encontrado que el alelo 27Glu se asocia de forma positiva 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 los estudios enfocados al riesgo de obesidad y masa grasa elevada de los alelos 27Glu y 16Gly (Masuo et al., *Am J Hypertens*, 19:1084-91, 2006). Estudios longitudinales mostraron que la ganancia de peso desde la niñez hasta la edad adulta (Ellsworth et al. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26: 928-937, 2002) y la ganancia de peso durante la edad adulta (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 ha encontrado un riesgo aumentado de obesidad ((OR = 2,56) en mujeres 27Gln/Glu que tienen una alta ingesta de carbohidratos (CHO > 49 % de la ingesta energética total) mientras que no se observó ninguna asociación en mujeres 27Gln/Gln (Martinez et al., *J Nutr* 133: 2549-2554, 2003). En algunos casos, las interpretaciones alélicas para determinar el mejor polimorfismo y alelo para efectuar elecciones dietéticas vienen de estudios de la intervención opuesta (sobrealimentación) y de elección del alelo opuesto. Por ejemplo, los resultados de un estudio de sobrealimentación (un extra de 1000 kcal/día durante 100 días) realizado en parejas de gemelos idénticos varones mostró que los sujetos 27Gln/Gln ganaban más 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 sobrepeso en varones japoneses incluidos en un programa de pérdida de peso de 24 meses (dieta hipocalórica (1.600 kcal/día) y una hora diaria de ejercicio aeróbico) mostró una mayor frecuencia del alelo 16Gly en hombres resistentes a la pérdida de peso (definida como cambio del IMC de menos del 10 %; n=81) y en los que recuperaron peso corporal después de pérdida de peso inicial con éxito a los 6 meses ((Masuo et al., *Circulation* 111: 3429-3434, 2005). Las mujeres que fueron más activas durante su tiempo de ocio y eran portadoras del alelo 27Glu tuvieron mayor IMC en comparación con las no portadoras, lo que sugiere que estas mujeres pueden ser más resistentes a perder peso (Corbalan et al., *Clin Genet* 61: 305-307, 2002).

Polimorfismo ADRB3 rs4994 (C/T; Arg64Trp)

El receptor beta 3 adrenérgico (ADRB3) está implicado en la regulación de la lipólisis en el tejido adiposo blanco y se expresa principalmente en el tejido adiposo visceral, el depósito de grasa que está estrechamente relacionado con las complicaciones metabólicas relacionadas con la obesidad. Estudios *in vitro* de adipocitos aislados demostraron que la mutación resulta en un deterioro de la lipólisis en respuesta a un agonista específico en las células que portan el alelo 64 Arg (Umekawa et al., *Diabetes* 48: 117-120, 1999). Se encontró que un haplotipo específico formado por tres variantes en el gen ADRB3 que incluye la variante 64Arg está asociado con un IMC aumentado (n=208) y con un descenso de 10 veces de la sensibilidad (lipólisis inducida) de los adipocitos viscerales frente a un agonista selectivo del receptor 3 (Hoffstedt et al., *Diabetes* 48: 203-205, 1999). Las tres variantes están en desequilibrio de ligamiento, lo cual sugiere que la variante 64Arg está asociada con una función reducida del receptor. Un total de 29 estudios mostraron indicios de asociación entre el gen ADRB3 y obesidad. Un metaanálisis basado en 31 estudios con más de 9.000 sujetos mostró un IMC mayor (0,30 kg/m<sup>2</sup> mayor por término medio) en los portadores de la variante 64Arg en comparación con los sujetos homocigotos 64Trp/Trp subjects (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 mostró valores mayores del IMC en portadores de la variante 64Arg (0,26 kg/m<sup>2</sup> mayores por término medio) en comparación con no portadores (Kurokawa et al., *Obes Res* 9: 741-745, 2001).

Un estudio de casos y controles (158 obesos, 154 con peso normal) mostró un riesgo aumentado de obesidad (OR= 2,98) en los portadores de 64Arg (mayor IMC) solamente en sujetos sedentarios, pero no en sujetos físicamente activos en los que no se encontraron diferencias en el 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 combinando dieta hipocalórica y ejercicio mostró que las mujeres con la variante 64Arg perdieron menos peso (4,6 kg frente a 8,3 kg) y masa corporal (1,9 kg/m<sup>2</sup> frente a 3,4 kg/m<sup>2</sup>) que las mujeres 64Trp/Trp (Sakane et al., *Diabetes Care* 20: 1887-1890, 1997). Un estudio realizado en 76 mujeres perimenopáusicas que se sometieron a una intervención de 3 meses combinando ejercicio y dieta encontró que el 48 % de las mujeres con la variante 64Arg perdieron peso en comparación con el 69 % de las mujeres sin la variante (Shiwaku et al., *Int J Obes Relat Metab Disord* 27: 1028-1036, 2003). Estos dos estudios sugieren que la variante está asociada con la dificultad de perder peso a través de dieta y ejercicio. Un estudio (Phares et al., *Obes Res* 12: 807-815, 2004) realizado en 29 hombres mostró que los portadores de ADRB3 64Arg experimentaron mayor pérdida de masa grasa y masa del tronco después de 24 semanas de entrenamiento de ejercicio aeróbico supervisado en comparación con los no portadores. Estos resultados parecen demostrar una respuesta alélica al ejercicio opuesta, pero el nivel de ejercicio en el régimen de este estudio fue más vigoroso, a la resistencia al entrenamiento supervisado. La interpretación de las diferencias genotípicas en respuesta al ejercicio puede complicarse más en muchos estudios porque el estado obeso puede ser un factor de confusión que enmascara los efectos moderados del variante sobre el gasto energético (Tchernof et al., *Diabetes* 48:1425-1428, 1999).

Por tanto, 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 a uno o más (es decir, 2, 3 o 4) del locus FABP2, el locus PPARG, el locus ADRB3, y/o el locus ADRB2. 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 a acceder al 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) locus, el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) locus, y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).

5 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporciona un método para identificar un polimorfismo individual de genotipo metabólico 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) locus, el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) locus, y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).

10 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporciona un método para identificar un genotipo compuesto de genotipo metabólico de un sujeto que 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) locus, el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) locus, y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).

15 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporciona un método para identificar el genotipo metabólico de un sujeto que comprende la identificación del genotipo 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) locus, el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) locus, y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).

20 Se proporciona un método para identificar el genotipo metabólico de un sujeto que comprende la identificación del genotipo 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) locus, el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) locus, y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).

25 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporciona un método para identificar el genotipo metabólico de un sujeto que comprende la identificación del genotipo compuesto con respecto a cada uno de los alelos de genes metabólicos del locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T) locus, el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) locus, y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).

30 Un polimorfismo individual de genotipo metabólico y/o los resultados de un genotipo compuesto de genotipo metabólico de un sujeto pueden clasificarse de acuerdo con sus relaciones con el riesgo de gestión del peso, incluyendo lo que constituye un resultado "de menos respuesta" o "de más respuesta" a partir de intervenciones dietéticas y de ejercicio, 2) sus resultados asociados a la clínica o a biomarcadores relacionados con la salud, 3) sus relaciones con las elecciones de las intervenciones para la gestión del peso y 4) la prevalencia de cada genotipo. Las tablas 1 y 2 de más adelante definen los alelos de ciertos genes metabólicos y explican el riesgo aumentado de predisposición a ciertos parámetros/trastornos metabólicos.

35

**TABLA 1: Genes/polimorfismos metabólicos de estudio**

GEN	Locus/SNP	GENOTIPO	Frec. Pob.*
<b>FABP2</b>	FABP2 (+54) Ala54Thr Ala = G= alelo 1 Thr = A= alelo 2 rs1799883	1.2 o 2.2 G/A o A/A (54Ala/Thr o 54Thr/Thr)	48 %
		1.1 G/G (54 Ala/Ala)	52 %
<b>PPARG</b>	PPARG (+12) Pro12Ala Pro = C = alelo 1 Ala = G = alelo 2 rs1801282	1.1 C/C (12Pro/Pro)	81 %
		1.2 o 2.2; C/G o G/G (12Pro/Ala o 12Ala/Ala)	19 %
<b>ADRB2</b>	ADRB2 (+27) Gln27Glu Gln = C= alelo 1 Glu = G= alelo 2 rs1042714	1.2 o 2.2 C/G o G/G (27Gln/Glu o 27Glu/Glu)	63 %
		1.1 C/C (27Gln/Gln)	37 %
<b>ADRB2</b>	ADRB2 (+16) Arg16Gly Gly = G= alelo 1 Arg = A= alelo 2 rs1042713	1.1 o 1.2 G/G o G/A (16Gly/Gly o 16Gly/Arg)	86%
		2.2 A/A (16Arg/Arg)	14 %
<b>ADRB3</b>	ADRB3 (+64) Arg64Trp Trp = T= alelo 1 Arg = C= alelo 2 rs4994	1.2 o 2.2 T/C o C/C (64Trp/Arg o 64Arg/Arg)	16 %
		1.1 T/T (64Trp/Trp)	84 %

\* Frec. pob= Frecuencia poblacional, determinada para raza blanca usando la base de datos del Quebec Family Study (QFS)

TABLA 2: Mapa de predisposición de estudio basado en el genotipo metabólico

Genotipo	Enfermedad de riesgo	Biomarcador de riesgo**	Información procesable***
FABP2 (+54; rs1799883) 1.2 o 2.2	Obesidad Resistencia a la insulina Síndrome metabólico	IMC, grasa corporal, grasa abd., TG, insulina, Glc, TNF $\alpha$ , TMR	Los sujetos con este genotipo tienen una absorción potenciada de grasas de la dieta y un metabolismo más lento, lo cual resulta en una mayor predisposición a la ganancia de peso y a una capacidad reducida para perder peso. Los estudios clínicos indican que los sujetos con este genotipo mejorarán sus riesgos de triglicéridos, insulina y glucemia elevados reduciendo las grasas saturadas y las grasas trans e incrementando las grasas monoinsaturadas al tiempo que se moderan los carbohidratos en la dieta.
FABP2 (+54; rs1799883) 1.1	Negativo	No	Los sujetos con este genotipo tienen una absorción normal de grasas de la dieta. Los estudios clínicos han demostrado que estos sujetos responden a una dieta hipocalórica, baja en grasas con pérdida de peso; descenso de la grasa corporal y niveles menores de colesterol LDL.
PPARG (+12; rs1801282) 1.1	Obesidad Diabetes,	IMC, grasa abd., HDL	PPARG juega un papel clave en la formación de adipocitos y el metabolismo de las grasas. Los estudios clínicos indican que los sujetos con este genotipo tienen un alto riesgo de ganancia de peso y tienen menor respuesta al efecto de una dieta hipocalórica sobre la pérdida de peso. Los que tienen una grasa total y una ingesta de grasas poliinsaturadas altas 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 adipocitos y metabolismo de las grasas que incrementan su sensibilidad a los efectos de los cambios en la dieta. Estos sujetos tienen una pérdida de peso a lo largo del tiempo más fácil a partir de una dieta hipocalórica; sin embargo, están en riesgo de recuperarlo. Las mujeres tienen 5 veces más probabilidad que el genotipo alternativo de ser obesas si su ingesta habitual de carbohidratos excede del 49 %. Por lo tanto, la modulación de la ingesta de carbohidratos será beneficiosa para estos sujetos para prevenir su riesgo de obesidad. Tienen un IMC mayor como resultado de una ingesta alta de grasas saturadas y baja de monoinsaturadas. Por lo tanto, la calidad de las grasas de su dieta también es importante.
ADRB2 (+27; rs1042714) 1.2 o 2.2	Obesidad Diabetes	IMC, grasa abd., TG, insulina, Glc	Los sujetos con esta variante del gen son menos capaces de movilizar sus depósitos de grasas para la energía. Las mujeres con esta variante tienen 21/2 veces el riesgo de obesidad y de niveles elevados de insulina si su ingesta habitual de carbohidratos excede del 49 % de las calorías totales cuando se compara con los sujetos con el genotipo alternativo. Se ha demostrado que la modulación de la ingesta de carbohidratos reduce los niveles de insulina y será beneficiosa para estos sujetos para prevenir su riesgo de obesidad y triglicéridos elevados. Tanto los hombres como las mujeres con este genotipo son más resistentes al efecto de pérdida de peso de una dieta hipocalórica y ejercicio aeróbico.
ADRB2 (+27; rs1042714) 1.1	Negativo	No	Los sujetos con este genotipo tienen una rotura normal de las grasas para la energía. Consumir una alta ingesta de carbohidratos en la dieta no muestra ningún efecto específico sobre el peso corporal. Los hombres que se involucran en la actividad física regular tienen un riesgo de obesidad significativamente reducido. En su conjunto, los sujetos con este genotipo tienen probabilidad de responder con cambio de peso y mejoría de los resultados de salud a partir de los cambios en la dieta y el ejercicio físico.
ADRB2 (+16; rs1042713) 1.1 o 1.2	Obesidad	IMC, grasa corporal-hombres, grasa corporal-mujeres	Los sujetos con esta variante del gen son menos capaces de movilizar sus depósitos de grasas para la energía en respuesta al estrés fisiológico, tal como el ejercicio. Como resultado, movilizan menos grasa celular y pierden menos peso y grasa corporal de lo esperado en respuesta al ejercicio aeróbico. Además, tienen mayor riesgo de ganancia de peso de rebote.
ADRB2 (+16; rs1042713) 2.2	Negativo	No	Los sujetos con este genotipo movilizan las grasas de sus adipocitos para la energía de forma eficaz como resultado de una dieta hipocalórica y del ejercicio aeróbico para la pérdida de peso. Tienen mayor probabilidad de perder peso y grasa corporal y de mantenerse.

Genotipo	Enfermedad de riesgo	Biomarcador de riesgo**	Información procesable***
ADRB3 (+64; rs4994) 1.2 o 2.2	Obesidad, DM	IMC, grasa abd., TMR	Los sujetos con este genotipo no rompen la grasa abdominal para la energía en respuesta a un estrés fisiológico, tal como el ejercicio. Como resultado, tienen un metabolismo energético más lento y no tienen tanta respuesta a los efectos beneficiosos del ejercicio aeróbico (pérdida de peso, pérdida de grasa abdominal).
ADRB3 (+64;rs4994) 1.1	Negativo	No	Los sujetos con este genotipo tienen una tasa metabólica y una rotura de la grasa corporal abdominal normales. Los estudios han demostrado que estos sujetos experimentan pérdida de peso involucrándose ante esta situación en ejercicio aeróbico moderado.
** IMC= Índice de masa corporal, TG= Triglicéridos, Grasa abd. = Grasa abdominal, Glc = Glucemia, TNF $\alpha$ = Factor de necrosis tumoral alfa (siglas en inglés), TMR = Tasa metabólica en reposo, HDL = Lipoproteína de alta densidad (siglas en inglés).			
*** Metabolismo, implicaciones de la nutrición y el ejercicio.			

- 5 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan métodos y kits para la medición de los niveles de lípidos en sangre en un sujeto para seleccionar o explorar sujetos para la intervención terapéutica o dietética o el cambio del estilo de vida adecuados. La divulgación proporciona las mediciones de HDL, LDL y/o triglicéridos del sujeto. Se considera que el sujeto tiene un perfil lipídico anormal o dislipemia cuando en la exploración presenta menor nivel de HDL, alrededor de 40 mg/dl o menos para los hombres, y 50 mg/dl o menos para las mujeres, o mayor nivel de LDL, alrededor de 100 mg/dl o por encima, o mayor nivel de triglicéridos, alrededor de 150 mg/dl o por encima, o cualquier combinación de los mismos.
- 10 De acuerdo con algunas realizaciones, menor nivel de HDL es 20-60 mg/dl o 50-59 mg/dl o 40-49 mg/dl o 30-39 mg/dl o <30 mg/dl; mayor nivel de HDL es 100->190 mg/dl o 100-129 mg/dl o 130-159 mg/dl o 160-190 mg/dl o >190 mg/dl; y mayor nivel de triglicéridos es 150- >500 mg/dl o 150-199 mg/dl o 200-500 mg/dl o >500 mg/dl.
- 15 De acuerdo con algunas realizaciones, puede explorarse en los sujetos para ensayos clínicos la respuesta a la estrategia de gestión del peso, o intervenciones terapéuticas, que comprenden identificar a los sujetos por su perfil alélico o genotipos compuestos de esta invención y predecir su respuesta a la terapia/dieta/estilo de vida recomendados o combinación de los mismos de la invención, con sus niveles predichos de HDL o LDL o triglicéridos.
- 20 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan métodos y kits para los sujetos explorados para la gestión del peso para ensayos clínicos, en los que un sujeto con peso bajo tiene un IMC <18,5; un sujeto con sobrepeso está en el intervalo de 25-29,9, un sujeto obeso bajo tiene un IMC <-39,9 y un IMC de >40,0 se considera extremadamente obeso. La identificación del genotipo metabólico en estos sujetos podría proporcionar a los profesionales sanitarios herramientas para debatir sobre las dificultades de un sujeto con un IMC de 25 para alcanzar un IMC de 22 con una dieta hipocalórica sola.
- 25 La tabla 3 proporciona la prevalencia étnica de ciertos genotipos metabólicos.

**TABLA 3:** Prevalencia del genotipo/patrones de riesgo por origen étnico

Resultado del gen/genotipo	Raza blanca (GFS)	Raza negra	Hispanos	Japoneses	Chinos	Coreanos
FABP2 rs1799883 1.2 o 2.2 f	48 %	35 %	59 %	58 %	54 %	55 %
FABP2 rs1799883 1.1	52 %	65 %	41 %	42 %	46 %	45 %
PPARG rs1801282 1.1 t	81 %	96 %	82 %	92 %	95 %	90 %
PPARG rs1801282 1.2 o 2.2	19 %	4 %	18 %	8 %	5 %	10 %
ADRB2 rs1042714 1.2 o 2.2 f	63 %	35 %	59 %	12-18 %	41-59 %	21 %
ADRB2 rs1042714 1.1	37 %	65 %	41 %	82-88 %	41-59 %	79 %
ADRB2 rs1042713 1.1 o 1.2	86 %	74-80 %	70-81 %	71-81 %	63-73 %	61 %
ADRB2 rs1042713 2.2	14 %	20-26 %	19-30 %	19-29 %	27-37 %	39 %
ADRB3 rs4994 1.2 o 2.2 f	16 %	19-27 %	20-35 %	33 %	24-32 %	28 %
ADRB3 rs4994 1.1	84 %	73-81 %	65-80 %	67 %	68-76 %	72 %
‡= Indica genotipo(s) de riesgo						

- Las combinaciones de estas variaciones genéticas afectan a 1) cómo responden los sujetos a macronutrientes específicos en su dieta y 2) sus diferentes tendencias en el metabolismo energético que influyen en último caso en su capacidad para mantener o perder peso a través del ejercicio. Una determinación del genotipo metabólico ayudaría a los sujetos sanos a identificar un riesgo genético de problemas de gestión del peso desfavorable que aún no se han manifestado. Conocer pronto los riesgos relacionados con los genes puede ayudar a tomar decisiones sanitarias personalizadas (nutrición, estilo de vida) para preservar la salud futura, así como proporcionar dirección sobre como priorizar mejor el enfoque de un sujeto en las elecciones sobre nutrición y estilo de vida para gestionar una pérdida de peso y composición corporal óptimos.
- La información aprendida a partir del genotipo metabólico de un sujeto puede usarse para predecir el riesgo genético de problemas de gestión de peso desfavorable de un sujeto. El genotipo del sujeto puede usarse para evaluar el riesgo y permitir la selección de un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiado. La identificación de un genotipo de estudio puede usarse para emparejar al sujeto con una alteración terapéutica o nutricional o del estilo de vida, o una combinación de cualquiera de dos o tres para trazar una estrategia para lograr y/o mantener la pérdida de peso. En general, el patrón alélico de uno o más genes metabólicos de un sujeto puede usarse para clasificar la capacidad de respuesta predicha del sujeto a los macronutrientes y la restricción de energía en la dieta, con o sin ejercicio, en un programa de mantenimiento de la pérdida de peso. Por consiguiente, puede seleccionarse un programa personalizado de gestión del peso para el sujeto basado en la respuesta predicha del sujeto. Por ejemplo, un programa de gestión del peso puede clasificar el genotipo metabólico de un sujeto en una de una serie de categorías nutricionales y en una de una serie de categorías de ejercicio basándose en la predisposición del sujeto a la capacidad de respuesta a ciertos macronutrientes y grado de ejercicio. Pueden seleccionarse la categoría nutricional, categoría de ejercicio o las combinaciones de las mismas para un sujeto basándose en los patrones genéticos del sujeto.
- De acuerdo con algunas realizaciones, se proporciona un método para seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiados para un sujeto que comprende: determinar el genotipo de un sujeto con respecto a cualquiera de los cuatro loci polimórficos seleccionados de entre el grupo que consiste en el locus FABP2 (rs1799883; G/A) el locus, PPARG (rs1801282; C/G) el locus ADRB3 (rs4994; C/T) locus, el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) locus, y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G), en las que el genotipo del sujeto con respecto a dichos loci proporciona información sobre la predisposición aumentada del sujeto a problemas de gestión del peso desfavorable y permite la selección de un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida que sean apropiados para predisposición del sujeto a problemas de gestión del peso desfavorable.
- De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un 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 responde a: una dieta de calorías restringidas, baja en grasas o baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.
- De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con 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 responde a: una dieta de calorías restringidas, baja en grasas; ejercicio regular; o ambos.
- De acuerdo con algunas realizaciones, 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 responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.
- De acuerdo con algunas realizaciones, 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 responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.
- De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado de uno 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 responde a una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos o baja en grasas. De acuerdo con algunas realizaciones, se predice además que el sujeto responde menos al ejercicio regular.
- De acuerdo con algunas realizaciones, 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 uno cualquiera de ADRB2 (rs1042713) 1.1 o 1.2 o uno de ADRB3 (rs4994) 1.2 o 2.2 responde a: una dieta de calorías restringidas, baja en grasas; De acuerdo con algunas realizaciones, se predice además que el sujeto responde menos al ejercicio regular.
- De acuerdo con algunas realizaciones, 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 responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; De acuerdo con algunas realizaciones, se predice además que el sujeto responde menos al ejercicio regular.

- De acuerdo con algunas realizaciones, 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 responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; De acuerdo con algunas realizaciones, se predice además que el sujeto responde menos al ejercicio regular.
- 5 De acuerdo con algunas realizaciones, el régimen terapéutico/dietético comprende la administración de un nutracéutico.
- 10 De acuerdo con algunas realizaciones, los métodos anteriores comprenden además clasificar al sujeto con respecto al beneficio probable a partir de un régimen terapéutico/dietético o cambio del estilo de vida.
- De acuerdo con algunas realizaciones, la dieta baja en grasas de los métodos descritos anteriormente proporciona no más de alrededor del 35 por ciento de las calorías totales a partir de las grasas.
- 15 De acuerdo con algunas realizaciones, la dieta baja en carbohidratos de los métodos descritos anteriormente proporciona menos de alrededor del 50 por ciento de las calorías totales a partir de los carbohidratos.
- De acuerdo con algunas realizaciones, la dieta de calorías restringidas de los métodos descritos anteriormente restringe las calorías totales a menos del 95 % del nivel de gestión de peso del sujeto.
- 20 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 a al menos tres del locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T) locus, el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) locus, y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).
- 25 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 a al menos cuatro del locus FABP2 (rs1799883; G/A), el locus PPARG (rs1801282; C/G), el locus ADRB3 (rs4994; C/T) locus, el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) locus, y/o el locus ADRB2 (rs1042714; C/G).
- 30 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan métodos para seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida apropiados para un sujeto que comprenden: a) determinar el genotipo de un sujeto con respecto a cualquiera de los cuatro loci polimórficos, seleccionados de entre: el locus FABP2 (rs1799883; G/A); el locus PPARG (rs1801282; C/G); el locus ADRB3 (rs4994; C/T) locus; el locus ADRB2 (rs1042713; A/G) locus; y el locus ADRB2 (rs1042714; C/G) y b) clasificar al sujeto en una categoría nutricional y/o una categoría de ejercicio para la cual se predice que el sujeto obtendrá un beneficio probable, en las que la categoría nutricional se selecciona de entre una dieta baja en grasas; una dieta baja en carbohidratos; una dieta rica en proteínas; y una dieta de calorías restringidas, y en las que la categoría de ejercicio se selecciona de entre: ejercicio ligero; ejercicio normal; y ejercicio vigoroso.
- 35 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporciona un método para seleccionar un régimen 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 de entre el 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 el ejercicio y (b) seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida que sean adecuados para la respuesta predicha del sujeto a la dieta y/o ejercicio.
- 40 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado de FABP2 (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) responde a: una dieta de calorías restringidas, baja en grasas o baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.
- 45 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado 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, 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) responde a: una dieta de calorías restringidas, baja en grasas; ejercicio regular; o ambos.
- 50 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado 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) responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.
- 55 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado 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) responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.
- 60 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado 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) responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.
- 65 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado 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) responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.

De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado 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) responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.

5 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado de (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) 2.1 (Arg/Trp o C/T) o 2.2 (Arg/Arg o C/C) responde a una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos o baja en grasas. De acuerdo con algunas realizaciones, se predice además que el sujeto responde menos al ejercicio regular.

15 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado 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 uno cualquiera de ADRB2 (rs1042713) 1.1 (Gly/Gly o G/G) o 1.2 (Gly/Arg o G/A) o uno de ADRB3 (rs4994) 2.1 (Arg/Trp o C/T) o 2.2 (Arg/Arg o C/C) responde a: una dieta de calorías restringidas, baja en grasas; De acuerdo con algunas realizaciones, se predice además que el sujeto responde menos al ejercicio regular.

20 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado 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) 2.1 (Arg/Trp o C/T) o 2.2 (Arg/Arg o C/C) responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; De acuerdo con algunas realizaciones, se predice además que el sujeto responde menos al ejercicio regular.

25 De acuerdo con algunas realizaciones, se predice que un sujeto con un genotipo combinado 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) 2.1 (Arg/Trp o C/T) o 2.2 (Arg/Arg o C/C) responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; De acuerdo con algunas realizaciones, se predice además que el sujeto responde menos al ejercicio regular.

30 De acuerdo con algunas realizaciones, se proporciona un método para predecir el riesgo genético de problemas de gestión del peso desfavorable un sujeto que comprende: detectar un patrón de polimorfismo genético que comprende al menos dos alelos seleccionados de entre 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.

40 En algunas realizaciones de la divulgación, se proporciona un método para predecir el riesgo genético de responder a la pérdida de peso con una dieta baja en grasas (p. ej., la dieta Ornish), determinando el genotipo de respuesta a grasas bajas que incluye FABP2 rs1799883 (A\*) y el genotipo PPARG rs1801282 (C/C).

45 En algunas realizaciones de la divulgación se proporciona un método para predecir el riesgo genético de responder a la pérdida de peso con una dieta baja en carbohidratos (p. ej., las dietas Atkins o LEARN), determinando el genotipo de respuesta a carbohidratos bajos que incluye los patrones genotípicos en sujetos con una cualquiera de cuatro combinaciones genéticas diferentes: FABP2 rs1799883 (A\*), PPARG rs1801282 (G\*); PPARG rs1801282 (G\*), ADRB2 rs1042714 (G\*); FABP2 (G/G), PPARG (G\*); y FABP2 (G/G), PPARG (C/C), ADRB2 (G\*). En algunas realizaciones de la divulgación, se proporciona un método para predecir el riesgo genético de responder a la pérdida de peso con una dieta equilibrada (p. ej., la dieta Zone) determinando el genotipo de respuesta a dieta equilibrada que incluye el patrón genotípico: FABP2 (G/G), PPARG (C/C), ADRB2 (C/C).

50 En algunas realizaciones de la divulgación, es predecible que los sujetos con un patrón genético que comprende uno de ADRB3 (rs4994) 2.1 (C/T; 64 Arg/Trp) o 2.2 (C/C; 64 Arg/Arg) y uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 (G/G; 16 Gly/Gly) o 1.2 (G/A; 16 Gly/Arg) responderán menos al ejercicio, necesitando de ese modo ejercicio vigoroso (intensivo). En algunas realizaciones de la divulgación, es predecible que los sujetos con un patrón genético de ADRB3 (rs4994) 2.1 (C/T; 64 Arg/Trp) o 2.2 (C/C; 64 Arg/Arg) y ADRB2 (rs1042713) 2.2 (A/A; 16 Arg/Arg) respondan menos al ejercicio, necesitando de ese modo ejercicio vigoroso (intensivo). Y se predice que los sujetos con un patrón genético que incluye ADRB3 (rs4994) 1.1 (T/T; 64 Trp/Trp) y uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 (G/G; 16 Gly/Gly) o 1.2 (G/A; 16 Gly/Arg) responderán menos al ejercicio, necesitando de ese modo ejercicio vigoroso (intensivo). Sin embargo, es predecible que los sujetos con patrón genético ADRB3 (rs4994) 1.1 (T/T; 64 Trp/Trp) y ADRB2 (rs1042713) 2.2 (A/A; 16 Arg/Arg) respondan al ejercicio normal (moderado).

60 De acuerdo con algunas realizaciones, el régimen terapéutico/dietético comprende administrar un nutraceutico. De acuerdo con algunas realizaciones, los métodos anteriores comprenden además clasificar al sujeto con respecto al beneficio probable a partir de un régimen terapéutico/dietético o cambio del estilo de vida.

65

De acuerdo con algunas realizaciones, la dieta baja en grasas de los métodos descritos anteriormente proporciona no más de alrededor del 35 por ciento de las calorías totales a partir de las grasas.

5 De acuerdo con algunas realizaciones, la dieta baja en carbohidratos de los métodos descritos anteriormente proporciona menos de alrededor del 50 por ciento de las calorías totales a partir de los carbohidratos.

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

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

20 De acuerdo con algunas realizaciones, el *kit* clasifica además al sujeto con respecto al beneficio probable a partir de un régimen terapéutico/dietético o cambio del estilo de vida.

25 De acuerdo con algunas realizaciones, el *kit* comprende además reactivos para genotipificar a un sujeto con respecto a 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 responde a: una dieta de calorías restringidas, baja en grasas o baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.

30 De acuerdo con algunas realizaciones, el *kit* comprende reactivos para genotipificar a un sujeto con respecto a 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 responde a: una dieta de calorías restringidas, baja en grasas; ejercicio regular; o ambos.

35 De acuerdo con algunas realizaciones, el *kit* comprende reactivos para genotipificar 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 responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.

40 De acuerdo con algunas realizaciones, el *kit* comprende reactivos para genotipificar a un sujeto con respecto a 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 responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos; ejercicio regular; o ambos.

45 De acuerdo con algunas realizaciones, el *kit* comprende reactivos para genotipificar a un sujeto con respecto a 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) 2.1 o 2.2 que se predice que responde a una dieta de calorías restringidas baja en grasas o baja en carbohidratos.

50 De acuerdo con algunas realizaciones, el *kit* comprende reactivos para genotipificar a un sujeto con respecto a 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 uno cualquiera de ADRB2 (rs1042713) 1.1 o 1.2 o uno de ADRB3 (rs4994) 2.1 o 2.2 que se predice que responde a: una dieta de calorías restringidas, baja en grasas.

55 De acuerdo con algunas realizaciones, el *kit* comprende reactivos para genotipificar a un sujeto con respecto a 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) 2.1 o 2.2 que se predice que responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos.

60 De acuerdo con algunas realizaciones, el *kit* comprende reactivos para genotipificar a un sujeto con respecto a 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) 2.1 o 2.2 que se predice que responde a: una dieta de calorías restringidas baja en carbohidratos.

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

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

5

#### Categorías nutricionales

Las categorías nutricionales se clasifican en general sobre la base de la cantidad de macronutrientes (es decir, grasas, carbohidratos, proteína) recomendadas para un sujeto basadas en el genotipo metabólico de ese sujeto. El objetivo principal de seleccionar un régimen terapéutico/dietético o recomendación de estilo de vida para un sujeto es emparejar un genotipo metabólico de un sujeto con la categoría nutricional a la cual es más probable que responda ese sujeto. Una categoría nutricional se expresa en general en cuanto a cantidades relativas de macronutrientes sugeridas para la dieta de un sujeto o en cuanto a restricciones de calorías (p. ej., restringiendo el número total de calorías que recibe un sujeto y/o restringiendo el número de calorías que recibe un sujeto a partir de un macronutriente particular). Por ejemplo, las categorías nutricionales pueden incluir, pero no se limitan a, 1) dietas bajas en grasas, bajas en carbohidratos; 2) dietas bajas en grasas, o 3) dietas bajas en carbohidratos. De forma alternativa, las categorías nutricionales pueden clasificarse sobre la base de la limitación de ciertos macronutrientes recomendada para un sujeto basada en el genotipo metabólico de ese sujeto. Por ejemplo, las categorías nutricionales pueden expresarse como 1) dietas equilibradas o de calorías restringidas; 2) dietas restrictivas para grasas, o 3) dietas restrictivas para carbohidratos. Los sujetos con un genotipo metabólico que es responsable de la restricción de grasas o de una dieta restrictiva para grasas tienden a absorber más grasa de la dieta en el organismo y tienen un metabolismo más lento. Tienen una mayor tendencia a la ganancia de peso. Estudios clínicos han mostrado que estos sujetos alcanzan con más facilidad un peso corporal sano con el tiempo reduciendo la grasa total de la dieta. Pueden perder peso con más éxito siguiendo una dieta reducida en grasas y/o reducida en calorías. Además, se benefician de la sustitución de las 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 organismo para metabolizar azúcares y grasas.

Los sujetos con un genotipo metabólico que es responsable de la restricción de carbohidratos o de una dieta baja en carbohidratos tienden a ser más sensibles a la ganancia de peso a partir de una ingesta excesiva de carbohidratos. Pueden perder peso con más éxito reduciendo los carbohidratos dentro de una dieta reducida en calorías. Los sujetos con este patrón genético son propensos a la obesidad y tienen dificultad con la regulación de la glucemia si su ingesta diaria de carbohidratos es alta, tal como cuando la ingesta diaria de carbohidratos excede, por ejemplo, alrededor del 49 % de las calorías totales. Se ha demostrado que la reducción de carbohidratos optimiza la regulación de la glucemia y reduce el riesgo de ganancia de peso posterior. Si tienen grasas saturadas altas o monoinsaturadas bajas en su dieta, el riesgo de ganancia de peso y glucemia elevada aumenta. Al tiempo que se limitan las calorías totales, estos sujetos pueden beneficiarse de restringir la ingesta total de carbohidratos y cambiar la composición de las grasas de su dieta a grasas monoinsaturadas (p. ej., una dieta baja en grasas saturadas y baja en carbohidratos).

Los sujetos con un genotipo metabólico que es responsable de un equilibrio entre grasas y carbohidratos no muestran una necesidad sistemática de una dieta baja en grasas o baja en carbohidratos. En estos sujetos los biomarcadores clave, tales como el peso corporal, la grasa corporal y el lipidograma responden bien a una dieta equilibrada en grasas y carbohidratos. Para los sujetos con este patrón genético que estén interesados en perder peso, se ha encontrado que una dieta restringida en calorías promueve la pérdida de peso y un descenso de la grasa corporal.

Una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que proporciona entre alrededor del 10 % y menos de alrededor del 40 % de las calorías totales a partir de las grasas. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 35 por ciento (p. ej., no más de alrededor del 19 %, 21 %, 23 %, 22 %, 24 %, 26 %, 28 %, 33 %, etc.) de las calorías totales a partir de las grasas. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 30 por ciento de las calorías totales a partir de las grasas. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 25 por ciento de las calorías totales a partir de las grasas. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 20 por ciento de las calorías totales a partir de las grasas. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 15 por ciento de las calorías totales a partir de las grasas. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 10 por ciento de las calorías totales a partir de las grasas.

De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que está entre alrededor de 10 gramos y alrededor de 60 gramos de grasa al día. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que está en menos de alrededor de 50 gramos (p. ej., menos de alrededor de 10, 25, 35, 45, etc.) gramos de grasa al día. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que está en menos de alrededor de 40 gramos de grasa al día. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que está en menos de alrededor de 30 gramos de grasa al día. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en grasas se refiere a una dieta que está en menos de alrededor de 20 gramos de grasa al día.

65

Las grasas contienen tanto ácidos grasos saturados como insaturados (monoinsaturados y poliinsaturados). De acuerdo con algunas realizaciones, reducir las grasas saturadas hasta menos del 10 por ciento de las calorías es una dieta baja en grasas saturadas. De acuerdo con algunas realizaciones, reducir las grasas saturadas hasta menos del 15 por ciento de las calorías es una dieta baja en grasas saturadas. De acuerdo con algunas realizaciones, reducir las grasas saturadas hasta menos del 20 por ciento de las calorías es una dieta baja en grasas saturadas.

Una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que proporciona entre alrededor del 15 % y menos de alrededor del 50 % de las calorías totales a partir de los carbohidratos. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos (CHO) se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 50 por ciento (p. ej., no más de alrededor del 15 %, 18 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, etc.) de las calorías totales a partir de los carbohidratos. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 45 por ciento de las calorías totales a partir de los carbohidratos. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 40 por ciento de las calorías totales a partir de los carbohidratos. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 35 por ciento de las calorías totales a partir de los carbohidratos. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 30 por ciento de las calorías totales a partir de los carbohidratos. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 25 por ciento de las calorías totales a partir de los carbohidratos. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos se refiere a una dieta que proporciona no más de alrededor del 18 % de las calorías totales a partir de los carbohidratos.

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 desde alrededor de 20 a alrededor de 250 gramos de carbohidratos al día. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos comprende no más de alrededor de 220 (p. ej., no más de alrededor de 40, 70, 90, 110, 130, 180, 210, etc.) gramos de carbohidratos al día. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos comprende no más de alrededor de 200 gramos de carbohidratos al día. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos comprende no más de alrededor de 180 gramos de carbohidratos al día. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos comprende no más de alrededor de 150 gramos de carbohidratos al día. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos comprende no más de alrededor de 130 gramos de carbohidratos al día. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos comprende no más de alrededor de 100 gramos de carbohidratos al día. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta baja en carbohidratos comprende no más de alrededor de 75 gramos de carbohidratos al día. En algunas realizaciones, los sujetos designados para una dieta hipocalórica se colocan en la dieta Atkins.

Una dieta de calorías restringidas o dieta equilibrada se refiere a una dieta que restringe las calorías totales consumidas hasta por debajo del nivel del mantenimiento del peso (NMP) de un sujeto, independientemente de cualquier preferencia por un macronutriente. Una dieta equilibrada o dieta de calorías restringidas busca reducir la ingesta calórica global de un sujeto, por ejemplo, reduciendo la ingesta calórica global de un sujeto hasta por debajo del NMP de ese sujeto sin un enfoque particular en restringir las calorías consumidas a partir de cualquier macronutriente particular. Por tanto, de acuerdo con algunas realizaciones, una dieta equilibrada puede expresarse como el porcentaje del NMP de un sujeto. Por ejemplo, una dieta equilibrada es una dieta que comprende una ingesta calórica total de entre alrededor del 50 % hasta alrededor del 100 % del NMP. De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta equilibrada es una dieta que comprende una ingesta calórica total de menos del 100 % (p. ej., menos de alrededor del 99 %, 97 %, 95 %, 90 %, 85 %, 80 %, 75 %, 70 %, 65 %, 60 %, 55 %) del NMP. Dentro de este marco, una dieta equilibrada logra un equilibrio saludable 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; baja en grasas saturadas y baja en carbohidratos. Por ejemplo, una dieta puede ser una dieta baja en grasas, restringida en calorías (en la que baja en grasa tiene el significado tal como se proporciona antes mencionado). Una dieta puede ser una dieta baja en carbohidratos, restringida en calorías (en la que baja en carbohidratos tiene el significado tal como se proporciona antes mencionado). Una dieta puede ser una dieta equilibrada, restringida en calorías (p. ej., pueden variar las porciones relativas de macronutrientes en las que las calorías totales consumidas están por debajo del NMP). De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta Low Carb (carb: 45 %, proteína: 20 %, y grasas: 35 %) comprende cualquiera de: la dieta Atkins, la dieta del impacto glucémico, la dieta South Beach, la dieta Sugar Busters, y/o la dieta Zone.

De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta Low Carb (carb: 65 %, proteína: 15 %, grasas: 20 %) comprende cualquiera de: la dieta de la Elección de vida (Ornish), la dieta Pritikin y/u otras dietas de salud cardiaca disponibles en el mercado.

De acuerdo con algunas realizaciones, una dieta equilibrada (carb: 55 %, proteína: 20 %, grasas: 25 %) comprende cualquiera de: la dieta para una vida mejor, la dieta mediterránea, la dieta Sonoma, la dieta volumétrica, la dieta Weight Watchers.

Otras dietas bajas en carbohidratos, bajas en grasas, dietas equilibradas y dietas de calorías restringidas son bien conocidas en la técnica, por lo que pueden recomendarse a un sujeto dependiendo del genotipo metabólico del sujeto y de la respuesta predicha a las dietas de calorías restringidas o de otros tipos.

## 5 CATEGORÍAS DE EJERCICIO

Las categorías de ejercicio se clasifican en general sobre la base de cuánto responde un sujeto al ejercicio dado su genotipo metabólico. Por ejemplo, un sujeto puede responder al ejercicio ligero, ejercicio moderado, ejercicio intenso, o ejercicio muy intenso.

10 Los sujetos con un genotipo metabólico que responde al ejercicio son capaces de romper de forma eficaz la grasa corporal en respuesta a la actividad física. Ellos tienden a responder al ejercicio con pérdida de peso significativa y es más probable que mantengan esa pérdida de peso. Los sujetos que se incluyen en esta categoría si responden el ejercicio ligero o moderado.

15 Los sujetos con un genotipo metabólico que responde menos al ejercicio son menos capaces de romper la grasa corporal para la energía en respuesta al ejercicio que aquellos con el patrón genético alternativo. Tienden a perder menos peso y grasa corporal de lo esperado con el ejercicio moderado. Estos sujetos necesitan más ejercicio para activar la rotura de la grasa corporal para la energía y la pérdida de peso. También han de mantener un programa de ejercicio sistemático para mantener el peso.

20 Actividad ligera se refiere en general a un sujeto que hace ejercicio (se involucra en una práctica activa o en deportes) 1-3 días por semana. Actividad moderada se refiere en general a un sujeto que hace ejercicio (se involucra en una práctica activa o en deportes) 3-5 días por semana. Actividad alta se refiere en general a un sujeto que hace ejercicio (se involucra en una práctica activa o en deportes) 6-7 días por semana. Actividad muy alta o extrema se refiere en general a un sujeto que hace ejercicio (se involucra en una práctica activa o en deportes) más de una vez al día por término medio (p. ej., dos veces al día). Ejercicio regular se refiere a la actividad que es al menos ejercicio ligero o al menos ejercicio moderado.

30 De forma más precisa, el nivel de actividad puede expresarse en cuanto a un porcentaje sobre el IMC. Por ejemplo, los multiplicadores de las fórmulas de Harris-Benedict o Katch-McArdle pueden usarse como una base para definir un nivel de actividad. Por consiguiente, ejercicio ligero se refiere a un nivel de actividad recomendado designado para incrementar el GETD de un sujeto hasta alrededor del 125 % de la TMR (es decir, alrededor de un 25 % de incremento) hasta menos de alrededor del 140 % (p. ej., alrededor del 128 %, 130 %, 133 %, 135 %, 137,5 %, etc.) de la TMR. Ejercicio moderado se refiere a un nivel de actividad recomendado designado para incrementar el GETD de un sujeto hasta alrededor del 140% de la TMR hasta menos de alrededor del 160 % (p. ej., alrededor del 142 %, 145 %, 150 %, 155 %, 158 %, etc.) de la TMR. Ejercicio intenso se refiere a un nivel de actividad recomendado designado para incrementar el GETD de un sujeto hasta alrededor del 160 % de la TMR hasta menos de alrededor del 180 % (p. ej., alrededor del 162 %, 165 %, 170 %, 172,5 %, 175 %, 178 %, etc.) de la TMR. Ejercicio muy intenso o extremo se refiere a un nivel de actividad recomendado designado para incrementar el GETD de un sujeto hasta alrededor del 180 % de la TMR hasta más de alrededor del 210 % (p. ej., alrededor del 182 %, 185 %, 190 %, 195 %, 200 %, etc.) de la TMR.

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

50 La ganancia o pérdida de peso dependen 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 ganancia de peso. Por el contrario, si las calorías consumidas son menores que el número de calorías gastadas, puede producirse pérdida de peso. El NMP de un sujeto se refiere a la ingesta calórica total que necesita consumir un sujeto para mantener el peso corporal actual. El NMP de un sujeto puede determinarse o calcularse usando cualquier método conocido en la técnica. El NMP suele expresarse como gasto energético total diario (GETD) o necesidades energéticas estimadas (NEE). Mientras que GETD y NEE tal como se usan en la técnica pueden tener distinciones técnicas que reflejan la manera en la que se calcula el nivel de mantenimiento de peso de un sujeto, estos términos pueden usarse de forma indistinta en su sentido general al tiempo que mantienen sus distinciones técnicas. El NMP puede calcularse usando cualquier método usado en la técnica (p. ej., GETD o NEE) para determinar el NMP de un sujeto.

65 Por término medio, para las mujeres de EE.UU., el NMP está entre 2000-2100 calorías al día. El promedio del NMP de los varones es mayor, a 2700-2900 calorías al día. Un método preferido para calcular el GETD es usando el cálculo de Harris-Benedict o la fórmula de Katch-McArdle, que son bien conocidos para los expertos habituales en la técnica. Brevemente, la fórmula de Harris-Benedict determina en primer lugar la tasa metabólica basal (TMB) del sujeto, que se

ajusta después para el nivel de actividad para dar un GETD de un sujeto. Por ejemplo, la TMB para las mujeres puede calcularse de acuerdo con la siguiente fórmula:  $TMB_m = 65,51 + (9,563 \times kg) + (1,850 \times cm) - (4,676 \times edad)$ . La TMB para los varones puede calcularse de acuerdo con la siguiente fórmula:  $TMB_h = 66,5 + (13,75 \times kg) + (5,003 \times cm) - (6,775 \times edad)$ . La TMB se ajusta después multiplicando la TMB por un multiplicador asignado a un nivel particular de actividad. La tabla siguiente proporciona ejemplos de dichos multiplicadores. El resultado es el GETD de un sujeto.

**TABLA 4:** Categorías de ejercicio

GETD		
	Mujeres	Varones
Ejercicio escaso o nulo	$TMB_m \times 1,2$	$TMB_h \times 1,2$
Ejercicio ligero	$TMB_m \times 1,375$	$TMB_h \times 1,375$
Ejercicio moderado	$TMB_m \times 1,55$	$TMB_h \times 1,55$
Ejercicio intenso	$TMB_m \times 1,725$	$TMB_h \times 1,725$
Ejercicio muy intenso	$TMB_m \times 1,9$	$TMB_h \times 1,9$

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

## CLASIFICACIÓN

En general, el genotipo metabólico de un sujeto se incluirá en una única categoría nutricional y una única categoría de ejercicio. Por tanto, de acuerdo con algunas realizaciones, un sujeto se clasificará en una categoría nutricional y una categoría de ejercicio basándose en su genotipo metabólico. Por ejemplo, un sujeto puede clasificarse en una de las siguientes seis categorías: 1) Con respuesta a la restricción de grasas y con respuesta al ejercicio; 2) Con respuesta a la restricción de grasas y con menor respuesta al ejercicio; 3) Con respuesta a la restricción de carbohidratos y con respuesta al ejercicio; 4) Con respuesta a la restricción de carbohidratos y con menor respuesta al ejercicio; 5) Equilibrio de grasas y carbohidratos y con respuesta al ejercicio; y 6) Equilibrio de grasas y carbohidratos y con menor respuesta al ejercicio.

1) Con respuesta a la restricción de carbohidratos y con respuesta al ejercicio: Los sujetos con este patrón genético absorben más grasa de la dieta en el organismo y tienen un metabolismo más lento. Tienen una mayor tendencia a la ganancia de peso. Estudios clínicos han mostrado que estos sujetos alcanzan con más facilidad un peso corporal sano con el tiempo reduciendo la grasa total de la dieta. Pueden perder peso con más éxito siguiendo una dieta reducida en grasas, reducida en calorías. Además, se benefician de la sustitución de las 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 organismo para metabolizar azúcares y grasas.

Los sujetos con este patrón genético son capaces de romper de forma eficaz 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. Dichos sujetos pueden beneficiarse de cualquier nivel de incremento de actividad tal como al menos ejercicio ligero o al menos ejercicio moderado.

2) Con respuesta a la restricción de grasas y con menor respuesta al ejercicio -Los sujetos con este patrón genético absorben más grasa de la dieta en el organismo y tienen un metabolismo más lento. Tienen una mayor tendencia a la ganancia de peso. Estudios clínicos han mostrado que estos sujetos alcanzan con más facilidad un peso corporal sano con el tiempo reduciendo la grasa total de la dieta. Pueden perder peso con más éxito siguiendo una dieta reducida en grasas, reducida en calorías. Además, se benefician de la sustitución de las 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 organismo para metabolizar azúcares y grasas.

Los sujetos con este patrón genético son menos capaces de romper la grasa corporal para la energía en respuesta al ejercicio que aquellos con el patrón genético alternativo. Tienden a perder menos peso y grasa corporal de lo esperado con el ejercicio moderado. Estos sujetos necesitan más ejercicio para activar la rotura de la grasa corporal para la energía y la pérdida de peso. También han de mantener un programa de ejercicio sistemático para mantener el peso.

3) Con respuesta a la restricción de carbohidratos y con respuesta al ejercicio - Los sujetos con este patrón genético son más sensibles a la ganancia de peso a partir de una ingesta excesiva de carbohidratos. Pueden perder peso con más éxito reduciendo los carbohidratos dentro de una dieta reducida en calorías. Los sujetos con este patrón genético son propensos a la obesidad y tienen dificultad con la regulación de la glucemia si su ingesta

diaria de carbohidratos excede el 49 % de las calorías totales. Se ha demostrado que la reducción de carbohidratos optimiza la regulación de la glucemia y reduce el riesgo de ganancia de peso posterior. Si tienen grasas saturadas altas o monoinsaturadas bajas en su dieta, el riesgo de ganancia de peso y glucemia elevada aumenta. Al tiempo que se limitan las calorías totales, estos sujetos pueden beneficiarse de restringir la ingesta total de carbohidratos y cambiar la composición de las grasas de su dieta a grasas monoinsaturadas.

5 Los sujetos con este patrón genético son capaces de romper de forma eficaz 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.

10 4) Con respuesta a la restricción de carbohidratos y con menor respuesta al ejercicio - Los sujetos con este patrón genético son más sensibles a la ganancia de peso a partir de una ingesta excesiva de carbohidratos. Pueden perder peso con más éxito reduciendo los carbohidratos dentro de una dieta reducida en calorías. Los sujetos con este patrón genético son propensos a la obesidad y tienen dificultad con la regulación de la glucemia si su ingesta diaria de carbohidratos excede el 49 % de las calorías totales. Se ha demostrado que la reducción de carbohidratos optimiza la regulación de la glucemia y reduce el riesgo de ganancia de peso posterior. Si tienen grasas saturadas altas o monoinsaturadas bajas en su dieta, el riesgo de ganancia de peso y glucemia elevada aumenta. Al tiempo que se limitan las calorías totales, estos sujetos pueden beneficiarse de restringir la ingesta total de carbohidratos y cambiar la composición de las grasas de su dieta a grasas monoinsaturadas.

15 Los sujetos con este patrón genético son menos capaces de romper la grasa corporal para la energía en respuesta al ejercicio que aquellos con el patrón genético alternativo. Tienden a perder menos peso y grasa corporal de lo esperado con el ejercicio moderado. Estos sujetos necesitan más ejercicio para activar la rotura de la grasa corporal para la energía y la pérdida de peso. También han de mantener un programa de ejercicio sistemático para mantener el peso.

20 5) Equilibrio de grasas carbohidratos y con respuesta al ejercicio - Los sujetos con este patrón genético no muestran una necesidad sistemática de una dieta baja en grasa o baja en carbohidratos. En estos sujetos los biomarcadores clave, tales como el peso corporal, la grasa corporal, y el lipidograma, responden bien a una dieta equilibrada en grasas y carbohidratos. Para los sujetos con este patrón genético que estén interesados en perder peso, se ha encontrado que una dieta restringida en calorías promueve la pérdida de peso y un descenso de la grasa corporal.

25 Los sujetos con este patrón genético son capaces de romper de forma eficaz 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.

30 6) Equilibrio de grasas y carbohidratos y con menor respuesta al ejercicio - Los sujetos con este patrón genético no muestran una necesidad sistemática de una dieta baja en grasa o baja en carbohidratos. En estos sujetos los biomarcadores clave, tales como el peso corporal, la grasa corporal, y el lipidograma, responden bien a una dieta equilibrada en grasas y carbohidratos. Para los sujetos con este patrón genético que estén interesados en perder peso, se ha encontrado que una dieta restringida en calorías promueve la pérdida de peso y un descenso de la grasa corporal.

35 Los sujetos con este patrón genético son menos capaces de romper la grasa corporal para la energía en respuesta al ejercicio que aquellos con el patrón genético alternativo. Tienden a perder menos peso y grasa corporal de lo esperado con el ejercicio moderado. Estos sujetos necesitan más ejercicio para activar la rotura de la grasa corporal para la energía y la pérdida de peso. También han de mantener un programa de ejercicio sistemático para mantener el peso.

40 Además de las recomendaciones nutricionales y de ejercicio, el régimen terapéutico/dietético personalizado también puede incluir recomendación de complementos dietéticos, complementos alimenticios, 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 (p. ej., Slimfast™ y similares) así como deportivas, de hierbas y otras bebidas reforzadas.

## 50 **KITS**

De acuerdo con algunas realizaciones, se proporcionan *kits* para detectar el genotipo metabólico de un sujeto, que comprende reactivos (oligonucleótidos, sales, enzimas, tampones, etc.) e instrucciones para usar el *kit*.

55 De acuerdo con algunas realizaciones, el *kit* comprende un medio de recogida de muestra, que incluye, pero no se limita a un hisopo para recoger saliva, un medio 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 de la muestra de ADN, y traducir la información a una recomendación terapéutica/dietética o de estilo de vida. Los patrones genotípicos pueden almacenarse, transmitirse y mostrarse por medio de redes informáticas e internet. Las recomendaciones terapéuticas/dietéticas o de estilo de vida incluyen, pero no se limitan a, las que se describen en la presente invención.

## 60 **DETECCIÓN DE ALELOS**

65 Los patrones alélicos, patrones polimórficos o patrones haplotípicos pueden identificarse detectando cualquiera de los alelos componentes usando cualquiera de una variedad 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 porción del alelo; o 3) determinar la movilidad electroforética del alelo o los fragmentos del mismo (p. ej., fragmentos generados mediante digestión con endonucleasas). 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 de entre el grupo que consiste en: la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la reacción en cadena de la ligasa (LCR), la amplificación por desplazamiento de hebra (SDA), clonación y variaciones de las anteriores (p. ej., RT-PCR y ampliación específica de alelo). Los oligonucleótidos necesarios para la amplificación pueden seleccionarse, por ejemplo, de entre los loci del gen metabólico, bien que flanquean el marcador de interés (como se necesita para la amplificación por PCR) o bien que se solapan directamente con el marcador (como en la hibridación con oligonucleótidos específicos de alelo (ASO, por sus siglas en inglés). En una realización particularmente preferida, la muestra se hibrida con un conjunto de cebadores, que hibridan en 5' y 3' en una secuencia codificadora o no codificadora en el alelo asociado a la enfermedad vascular, y se somete a amplificación por PCR.

Un alelo también puede detectarse indirectamente, p. ej., analizando el producto proteico codificado por el ADN. Por ejemplo, donde el marcador en cuestión resulta en la traducción de una proteína mutante, la proteína puede detectarse mediante cualquiera de una variedad de método de detección de proteínas. Algunos métodos incluyen pruebas de inmunodetección y bioquímicas, tales como el fraccionamiento por tamaño, en el que la proteína tiene un cambio en el peso molecular aparente bien a través de truncamiento, elongación, plegamiento alterado o bien de modificaciones postraduccionales.

Una directriz general para diseñar cebadores para la amplificación de secuencias genómicas cromosómicas humanas exclusivas es que poseen una temperatura de fusión de alrededor de 50 °C, en los que puede estimarse una temperatura de fusión aproximada usando la fórmula  $T_f = [2X(n.^{\circ} \text{ de A o T}) + 4X(n.^{\circ} \text{ de G o C})]$ .

Hay numerosos métodos disponibles 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 solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) son contribuyentes principales a la variación genética, comprendiendo hacia un 80 % de todos los polimorfismos conocidos, y se estima que su densidad en el genoma humano por término medio es de 1 por cada 1.000 pares de bases. Los SNP aparecen en su mayoría como bialélicos en solo dos formas diferentes (aunque teóricamente son posibles hasta cuatro formas diferentes de un SNP, correspondientes a las cuatro bases de nucleótido diferentes que aparecen en el ADN). Sin embargo, los SNP son mutacionalmente más estables que otros polimorfismos, lo que los hace adecuados para los estudios de asociación en los cuales el desequilibrio de ligamiento entre los marcadores y una variante desconocida se usa para cartografiar mutaciones causantes de enfermedad. Además, como los SNP tienen típicamente sólo dos alelos, pueden genotipificarse mediante un simple ensayo mas/menos en lugar de una medición de la longitud, que los hace más abiertos a la automatización.

Hay disponible una variedad de métodos para detectar la presencia de un alelo polimórfico de un solo nucleótido particular en un sujeto. Los avances en este campo han proporcionado una genotipificación a gran escala precisa, fácil y económica. Muy recientemente, por ejemplo, se han descrito algunas técnicas nuevas incluyendo hibridación dinámica específica de alelo (DASH, por sus siglas en inglés), electroforesis diagonal en gel en matrices de microplacas (MADGE, por sus siglas en inglés), pirosecuenciación, ligamiento específico de oligonucleótido, el sistema TaqMan, así como diversas tecnologías de "chip" de ADN tales como los chips de SNP de Affymetrix. Estos métodos requieren la amplificación de la región genética diana, típicamente mediante PCR. Otros métodos recién desarrollados adicionales, basados en la generación de pequeñas moléculas de señal mediante escisión invasiva seguida de espectrometría de masas o sondas candado inmovilizadas y amplificación en círculo rodante, podrían terminar eliminando la necesidad de PCR. Algunos de los métodos conocidos en la técnica para detectar polimorfismos de un solo nucleótido específicos se resumen a continuación. Se entiende que el método de la presente invención incluye todos los métodos disponibles.

Se han desarrollado algunos métodos para facilitar el análisis de polimorfismos de un solo nucleótido. En otra realización, los polimorfismos de una sola base pueden detectarse usando un nucleótido resistente a exonucleasa especializado, tal como se desvela, p. ej., en Mundy, C. R. (Patente de EE.UU. n.º 4.656.127). De acuerdo con el método, se permite una complementariedad del cebador con la secuencia alélica inmediatamente en 3' con respecto al sitio polimórfico para hibridar con una molécula diana obtenida a partir de un animal o ser humano particular. Si el sitio polimórfico sobre la molécula diana contiene un nucleótido que es complementario al nucleótido resistente a la exonucleasa particular derivado presente, entonces ese derivado se incorporará al extremo del cebador hibridado. Dicha incorporación hace al cebador resistente a exonucleasa, y permite de ese modo su detección. Dado que la identidad del derivado resistente a exonucleasa de la muestra se conoce, un hallazgo de que el cebador se ha hecho resistente a exonucleasa revela que el nucleótido presente en el sitio polimórfico de la molécula diana era complementario al del derivado de nucleótido usado en la reacción. Este método tiene la ventaja de que no requiere la determinación de grandes cantidades de datos de secuencias exógenas.

En otra realización se usa un método basado en una solución para determinar la identidad del nucleótido de un sitio polimórfico. Cohen, D. et al. (patente francesa 2.650.840; PCT solicitud n.º WO91/02087). Al igual que en el método de

Mundy de la patente de EE.UU. n.º 4.656.127, se emplea un cebador que es complementario a secuencias alélicas inmediatamente en 3' con respecto a un sitio polimórfico. El método determina la identidad del nucleótido de ese sitio usando derivados didesoxinucleótido marcados, los cuales, si son complementarios al nucleótido del sitio polimórfico se incorporarán al extremo del cebador.

5 Goelet, P et al describen un método alternativo, conocido análisis de bit genético o GBATM (publicación PCT n.º WO92/15712). El método de Goelet, P. et al. usa mezclas de terminadores marcados y un cebador que es complementario a la secuencia en 3' de un sitio polimórfico. El terminador marcado que se incorpora esta, por tanto, determinado por, y es complementario al nucleótido presente en el sitio polimórfico de la molécula diana que se está evaluando. Al contrario que el método de Cohen et al. (patente francesa 2.650.840; publicación PCT n.º WO91/02087), el método de Goelet, P. es preferentemente un ensayo de fase heterogénea, en el que el cebador o la molécula diana se inmoviliza sobre una fase sólida.

15 Recientemente, se han descrito varios procedimientos de incorporación guiados por cebador para ensayar los sitios polimórficos en el ADN (Komher, J. S. et al., Nucl. Acids. Res. 17:7779-7784 (1989); Sokolov, B. P., Nucl. Acids Res. 18:3671 (1990); Syvanen, A.-C., et al., Genomics 8:684-692 (1990); Kuppaswamy, M. N. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (EE.UU.) 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 del GBATM en que residen en la incorporación de desoxinucleótidos marcados para discriminar entre bases en un sitio polimórfico. En dicho formato, como la señal es proporcional al número de desoxinucleótidos incorporados, los polimorfismos que aparecen en sesiones del mismo nucleótido pueden resultar en señales que son proporcionales a la longitud de la sesión (Syvanen, A.-C., et al., Amer. J. Hum. Genet. 52:46-59 (1993)).

25 Para las mutaciones que producen la terminación prematura de la traducción de la proteína, la prueba de truncamiento de proteínas (PTT, por sus siglas en inglés) ofrece un abordaje diagnóstico eficaz (Roest, et. al., (1993) Hum. Mol. Genet. 2:1719-21; van der Luijt, et. al., (1994) Genomics 20:1-4). Para la PTT, El ARN se aísla inicialmente de tejido disponible y se somete a transcripción inversa, y el segmento de interés se amplifica mediante PCR. Los productos de la transcripción inversa-PCR se usan después como un molde para la 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 exclusivos incorporados dentro del cebador permiten la transcripción y traducción secuencial *in vitro* de los productos de PCR.

35 Tras la electroforesis en gel de dodecil sulfato sódico-poliacrilamida de los productos de traducción, la aparición de polipéptidos truncados señala la presencia de una mutación que causa la terminación prematura de la traducción. En una variación de esta técnica, el ADN (en contraposición al ARN) se usa como un molde para la PCR cuando la región diana de interés procede de un único exón.

40 Puede utilizarse cualquier tipo celular o tejido para obtener muestras de ácido nucleico para su uso en los diagnósticos descritos en el presente documento. En una realización preferida, la muestra de ADN se obtiene a partir de un fluido corporal, p. ej., sangre, obtenida mediante técnicas conocidas (p. ej., venopunción) o saliva. De forma alternativa, los análisis de ácido nucleico pueden realizarse sobre muestras secas (p. ej., pelo o piel). Cuando se usa ARN o proteína, las células o tejidos que pueden utilizarse han de expresar un gen metabólico de interés.

45 Los procedimientos diagnósticos también pueden realizarse *in situ* directamente en secciones de tejido (fijadas y/o congeladas) de tejido de paciente obtenido de biopsias o resecciones, de modo que no es necesaria ninguna purificación de ácido nucleico. Los reactivos de ácido nucleico pueden usarse como sondas y/o cebadores para dichos procedimientos *in situ* (véase, por ejemplo, Nuovo, G. J., 1992, PCR in situ hybridization: protocols and applications, Raven Press, NY).

50 Además de los métodos que se centran principalmente en la detección de una secuencia de ácido nucleico, también pueden evaluarse perfiles 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.

55 Un método de detección preferido es la hibridación específica de alelo usando sondas que se solapan con una región de al menos un alelo de un gen o haplotipo metabólico y que tiene alrededor de 5, 10, 20, 25, o 30 nucleótidos alrededor de la mutación o región polimórfica. En una realización particular de la invención, varias sondas capaces de hibridar de forma específica con otras variantes alélicas de genes metabólicos clave se unen a un soporte de fase sólida, p. ej., un "chip" (que puede soportar hasta alrededor de 250.000 nucleótidos). Los oligonucleótidos pueden unirse a un soporte sólido mediante una variedad de procesos, incluyendo la litografía. El análisis de detección de mutaciones usando estos chips que comprenden nucleótidos, también llamados "micromatrices de sondas de ADN" se describe p. ej., en Cronin et al. (1996) Human Mutation 7:244. En una realización, un chip comprende todas las variantes alélicas de al menos una región polimórfica de un gen. El soporte de fase sólida se pone después en contacto con un ácido nucleico de prueba y se detecta la hibridación con las sondas específicas. Por consiguiente, la identidad de numerosas variantes alélicas de uno o más genes puede identificarse en un sencillo experimento de hibridación.

65

- Estas técnicas también pueden comprender la etapa de amplificar el ácido nucleico antes del análisis. Las técnicas de amplificación son conocidas para los expertos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a 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 autosostenida (Guatelli, J. C. et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 87:1874-1878), sistema de amplificación transcripcional (Kwoh, D. Y. et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 86:1173-1177), y Q beta replicasa (Lizardi, P. M. et al., 1988, Bio/Technology 6:1197).
- Los productos de amplificación pueden ensayarse en una variedad de formas, que incluyen análisis del tamaño, digestión de restricción seguida de análisis del tamaño, detección de cebadores de oligonucleótidos marcados específicos en los productos de reacción, hibridación con 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 de forma simultánea. Por ejemplo, es bien conocida en la técnica la selección de cebadores de PCR para generar productos de PCR que no se solapan en cuanto al tamaño y que pueden analizarse de forma simultánea. De forma alternativa, es posible amplificar diferentes marcadores con cebadores que se marcan de forma diferencial y, por tanto, cada uno de ellos puede detectarse de forma diferencial. 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 la técnica para permitir análisis múltiples de una pluralidad de marcadores.
- En una realización meramente ilustrativa, el método incluye las etapas de (i) recoger una muestra de células de un paciente, (ii) aislar ácido nucleico (p. ej., 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 de forma específica en 5' y 3' con respecto a al menos un alelo de un gen o haplotipo metabólico en condiciones tales que se produzca la hibridación y amplificación del alelo y (iv) detectar el producto de la 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.
- En una realización preferida del ensayo de estudio, el alelo o haplotipo de un gen metabólico se identifica mediante alteraciones en los patrones de escisión de una enzima 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 la longitud de los fragmentos se determina mediante electroforesis en gel.
- En otra realización más, puede usarse cualquiera de una variedad de reacciones de secuenciación conocidas en la técnica para secuenciar el alelo directamente. Las reacciones de secuenciación de ejemplo incluyen las basadas en técnicas desarrolladas por Maxim y Gilbert ((1977) Proc. Natl Acad Sci EE.UU. 74:560) o Sanger (Sanger et al (1977) Proc. Nat. Acad. Sci EE.UU.74:5463). También se prevé que pueda utilizarse cualquiera de una variedad de procedimientos de secuenciación automatizada cuando se realizan los ensayos de estudio (véase, por ejemplo Biotechniques (1995) 19:448), que incluye secuenciación mediante espectrometría de masas (véase, por ejemplo la publicación PCT WO 94/16101; Cohen et al. (1996) Adv Chromatogr 36:127-162; y Griffin et al. (1993) Appl Biochem Biotechnol 38:147-159). Será evidente para un experto en la técnica que, para ciertas realizaciones, es necesario determinar la aparición de solo una, dos o tres de las bases de ácido nucleico en la reacción de secuenciación. Por ejemplo, p. ej., puede llevarse a cabo un rastreo de A o similar en el que sólo se detecta un ácido nucleico.
- En una realización adicional, pueden usarse agentes de protección de la escisión (tales como una nucleasa, hidroxilamina o tetróxido de osmio y con piperidina) para detectar bases desapareadas en heterodúplex de ARN/ARN, ARN/ADN o ADN/ADN (Myers, et al. (1985) Science 230:1242). En general, el método de "escisión de desapareamientos" de la técnica empieza proporcionando heterodúplex formados hibridando ARN o ADN (marcados) que contienen el alelo natural con la muestra. Los híbridos bicatenarios se tratan con un agente que escinde las regiones monocatenarias del híbrido tales como las que existirán debido a desapareamientos de bases entre las cadenas de control y de muestra. Por ejemplo, los híbridos de ARN/ADN pueden tratarse con ARNasa y los híbridos de ADN/ADN tratarse con nucleasa S1 para digerir enzimáticamente las regiones desapareadas. En otras realizaciones, tanto los híbridos de ADN/ADN como los de ARN/ADN pueden tratarse con hidroxilamina o tetróxido de osmio y con piperidina con el fin de digerir regiones desapareadas. Después de la digestión de las regiones desapareadas, el material resultante se separa por tamaño en geles de poliacrilamida desnaturalizantes para determinar el sitio de la mutación. Véase, por ejemplo, Cotton et al (1988) Proc. Natl Acad Sci EE.UU. 85:4397; y Saleeba et al (1992) Methods Enzymol. 217:286-295. En una realización preferida, el ADN o ARN de control puede marcarse para la detección.
- En otra realización más, la reacción de escisión de desapareamiento emplea una o más proteínas que reconocen pares de bases desapareadas en el ADN bicatenario (las llamadas "enzimas reparadoras de desapareamientos"). Por ejemplo, la enzima mutY de *E. coli* escinde la A de los desapareamientos G/A y la timidina ADN glicosilasa de la célula HeLa escinde la T en los desapareamientos G/T (Hsu et al. (1994) Carcinogenesis 15:1657-1662). De acuerdo con una realización de ejemplo, una sonda basada en un haplotipo de un locus de gen metabólico se hibrida con un ADNc u otro producto de ADN de una(s) célula(s) de prueba. El híbrido se trata con una enzima reparadora de desapareamientos y los productos de escisión, si los hay, pueden detectarse a partir de protocolos de electroforesis o similares. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 5.459.039.

En otras realizaciones, se usarán las alteraciones de la movilidad electroforética para identificar un alelo de un locus de gen metabólico. Por ejemplo, puede usarse el polimorfismo de conformación monocatenaria (SSCP, por sus siglas en inglés) para detectar diferencias en la movilidad electroforética entre los ácidos nucleicos mutante y natural (Orita et al. (1989) Proc Natl. Acad. Sci EE.UU. 86:2766, véase también Cotton (1993) Mutat Res 285:125-144; y Hayashi (1992) Genet Anal Tech Appl 9:73-79). Se desnaturalizan fragmentos de ADN monocatenario de los alelos de muestra y de control de un locus metabólico y se dejan renaturalizar. La estructura secundaria de los ácidos nucleicos monocatenarios varía de acuerdo con la secuencia, la alteración de la movilidad electroforética resultante permite la detección incluso de un único cambio de 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 cual, la estructura secundaria es más sensible a un cambio de secuencia. En una realización preferida, el método de estudio utiliza análisis de heterodúplex para separar moléculas de heterodúplex bicatenarias sobre la base de los cambios en la movilidad electroforética (Keen et al. (1991) Trends Genet 7:5).

En otra realización más, el movimiento de los alelos en geles de poliacrilamida que contienen un gradiente de desnaturalizante se ensaya usando electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante (DGGE, por sus siglas en inglés) (Myers et al. (1985) Nature 313:495). Cuando se usa DGGE como el método de análisis, el ADN se modificará para garantizar que no se desnaturaliza completamente, por ejemplo, añadiendo una pinza de GC de aproximadamente 40 pb de ADN rico en GC de alta temperatura de fusión mediante PCR. En una realización adicional, se usa un gradiente de temperatura en lugar de un gradiente de agente desnaturalizante para identificar diferencias en la movilidad del ADN de control y de la muestra (Rosenbaum y Reissner (1987) Biophys Chem 265:12753).

Los ejemplos de otras técnicas para detectar alelos incluyen, pero no se limitan a, hibridación selectiva de oligonucleótidos, amplificación selectiva o elongación selectiva de cebadores. Por ejemplo, pueden prepararse cebadores de oligonucleótidos en los que la mutación o diferencia de nucleótido conocida (p. ej., en las variantes alélicas) se coloca en posición central y después se hibrida con el ADN diana en condiciones que permiten la hibridación únicamente si se encuentra un apareamiento perfecto (Saiki et al. (1986) Nature 324:163); Saiki et al (1989) Proc. Natl Acad. Sci EE.UU. 86:6230). Dichas técnicas de hibridación de oligonucleótidos específicas de alelo pueden usarse para analizar una mutación o región polimórfica por reacción cuando se hibridan oligonucleótidos con ADN diana amplificado por PCR o una serie de mutaciones o regiones polimórficas diferentes cuando los oligonucleótidos se unen a la membrana de hibridación y se hibridan con ADN diana marcado.

De forma alternativa, la tecnología de ampliación específica que depende de la amplificación selectiva por PCR puede usarse en conjunto con la presente invención. Los oligonucleótidos usados como cebadores para la 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 en el que, en condiciones apropiadas, el desapareamiento puede evitar o reducir la elongación por polimerasa (Prossner (1993) Tibtech 1 1:238). Además, puede ser deseable introducir un sitio de restricción novedoso en la región de la mutación para crear una detección basada en la escisión (Gasparini et al (1992) Mol. Cell Probes 6:1). Se anticipa que en ciertas realizaciones la amplificación también puede realizarse usando ligasa Taq para la amplificación (Barany (1991) Proc. Natl. Acad. Sci EE.UU. 88:189). En dichos casos, el ligamiento se producirá solo si hay un apareamiento perfecto en el extremo 3' de la secuencia en 5', lo que hace posible detectar la presencia de una mutación conocida en un sitio específico buscando la presencia o ausencia de amplificación.

En otra realización, la identificación de la variante alélica se lleva a cabo usando un ensayo de ligamiento de oligonucleótidos (OLA, por sus siglas en inglés), tal como se describe, p. ej., en la patente de EE.UU. n.º 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 contiguas de una cadena individual de una diana. Uno de los oligonucleótidos se une a un marcador de separación, p. ej., biotinilado, y el otro se marca de forma detectable. Si la secuencia complementaria precisa se encuentra en una molécula diana, los oligonucleótidos hibridarán de modo que los extremos estén contiguos y crearán un sustrato de ligamiento. Después, el ligamiento permite 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 ácidos nucleicos que combina atributos de PCR y OLA (Nickerson, D. A. et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 87:8923-27). En este método, la PCR se usa para lograr la amplificación exponencial del ADN diana, que se detecta después 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 EE.UU. n.º 5.593.826 desvela un OLA usando un oligonucleótido que tiene un grupo 3' amino y un oligonucleótido 5' fosforilado para formar un conjugado que tiene un enlace fosforamido. En otra variación de OLA descrita en Tobe et al. ((1996) Nucleic Acids Res 24: 3728), el OLA combinado con PCR permite la tipificación de dos alelos en un único pocillo de microtitulación. Marcando cada uno de los cebadores específicos de alelo con un solo hapteno, es decir, digoxigenina y fluoresceína, puede detectarse cada reacción de OLA usando anticuerpos específicos de hapteno que se marcan con diferentes enzimas indicadoras, fosfatasa alcalina o peroxidasa de rábano picante. Este sistema permite la detección de los dos alelos usando un formato de alto rendimiento que conduce a la producción de dos colores diferentes.

En otro aspecto, la divulgación presenta *kits* para realizar los ensayos anteriormente descritos. De acuerdo con algunas realizaciones, los *kits* de la presente invención 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 una muestra de ácido nucleico. El *kit* también contiene una muestra de control, bien positivo o bien negativo o un patrón y/o

5 dispositivo algorítmico para evaluar los resultados y reactivos y componentes adicionales que incluyen: reactivos de amplificación de ADN, ADN polimerasa, reactivos de amplificación de ácidos nucleicos, enzimas de restricción, tampones, un dispositivo de muestreo de ácidos nucleicos, dispositivo de purificación de ADN, desoxinucleótidos, oligonucleótidos (p. ej., sondas y cebadores), etc.

10 Para su uso en un *kit*, los oligonucleótidos pueden ser cualquiera de una variedad de composiciones naturales y/o sintéticas tales como oligonucleótidos sintéticos, fragmentos de restricción, ADNc, ácidos péptido nucleicos (APN) sintéticos y similares. El *kit* y el método de ensayo también pueden emplear oligonucleótidos marcados para permitir la facilidad de la identificación en estos 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.

15 Tal como se describe 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 del alelo empleada. Por ejemplo, donde la técnica de detección del alelo es la amplificación por PCR, seguida por fraccionamiento por tamaño, la muestra de control puede comprender fragmentos de ADN del tamaño apropiado. Del mismo modo, donde la técnica de detección del alelo 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 que se va a analizar. Por ejemplo, los controles pueden ser una muestra de ADN genómico o una porción clonada de un gen metabólico. Preferentemente, sin embargo, la muestra de control es una muestra de ADN genómico altamente purificado donde la muestra que se va a analizar es ADN genómico.

20 Los oligonucleótidos presentes en dicho *kit* pueden usarse para la amplificación de la región de interés o para hibridación directa con oligonucleótidos específicos de alelo (ASO) de los marcadores en cuestión. Por tanto, los oligonucleótidos pueden, bien flanquear el marcador de interés (como se necesita para la amplificación por PCR) o bien solaparse directamente con el marcador (como en la hibridación con ASO).

25 La información obtenida usando los ensayos y *kits* descritos en el presente documento (solos o en conjunto con la información de otro defecto genético o factor ambiental, que contribuye a la artrosis) es útil para determinar si un sujeto asintomático tiene o es probable que desarrolle la enfermedad o afección particular. Además, la información puede permitir un abordaje más personalizado para prevenir el comienzo o el avance de la enfermedad o afección. Por ejemplo, esta información puede posibilitar que un clínico prescriba de forma más eficaz una terapia que se dirigirá a la base molecular de la enfermedad o afección.

30 El *kit* puede incluir también, opcionalmente, medios de muestreo de ADN. Los medios de muestreo de ADN son bien conocidos para un experto en la técnica y pueden incluir, pero no limitarse a 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, solución de proteinasa y similares; reactivos de PCR, tales como tampones de reacción 10x buffers, polimerasa termoestable, dNTP y similares; y medios de detección de alelos tales como la enzima de restricción HinfI, oligonucleótidos específicos de alelo, cebadores de oligonucleótidos degenerados para PCR anidada a partir de sangre deshidratada.

35 Otra realización de la divulgación se dirige a *kits* para detectar una predisposición para la respuesta a ciertas dietas y/o niveles de actividad. Este *kit* puede contener uno o más oligonucleótidos, que incluyen oligonucleótidos 5' y 3' que hibridan en 5' y 3' con al menos un alelo de un locus o haplotipo de un gen metabólico. Los oligonucleótidos para la amplificación por PCR deben hibridar alejados entre 25 y 2500 pares de bases, preferentemente alejados entre alrededor de 100 y alrededor de 500 pares de bases, con el fin de producir un producto de PCR de tamaño conveniente para el análisis posterior.

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

Gen	SNP Cebador de PCR	Posición	Secuencia	Posición	Tamaño del producto de PCR
FABP2	FA_F1	5'	TGTTCTTGTCAAAAGGCAA	3'	311
	FA_R1	5'	TCTTACCCCTGAGTTCAGTTC CGTCTGC	3'	
ADRB2	A1_F1	5'	GCCCCTAGCACCCCGACAAG CTGAGTGT	3'	422
	A2_R1	5'	CCAGGCCCATGACCAGATC AGCACAG	3'	
ADRB3	A3_F2	5'	AAGCGTCGCTACTCCTCCC CCAAAGAGC	3'	569
	A3_R2	5'	GTCACACACAGCAGGTCCA CCGAGGTC	3'	
PPARG	PP_F1	5'	TGCCAGCCAAATCAAGCCC AGTCCTTT	3'	367
	PP_R1	5'	ACACAACCTGGAAGACAA ACTACAAGAGCAA	3'	
Gen	Cebador de SBE		Secuencia		
FABP2	SBE_FA_F1	5'	GAAGGAAATAAAATTCACA GTCAAAGAATCAAGC	3'	
	SBE_A1_F2	5'	AACGGCAGCGCCCTTTC TGGCACCCAAAT	3'	
ADRB2	SBEA2F1	5'	AGCCATGCGCCGGACCACG ACGTCACGCAG	3'	

Gen	Cebador de SBE	Secuencia	
<b>ADRB3</b>	rs4994 SBE_A3_F3	5' GGGAGGCAACCTGCTGGTC ATCGTGGCCATCGCC	3'
<b>PPARG</b>	rs1801282 SBE_PP_R1	5' GACAGTGATCAGTGAAGG	3'
AATCGCTTTCTG			
PCR= Reacción en cadena de la polimerasa			
SBE= Elongación de una sola base			

El diseño de oligonucleótidos adicionales para su uso en la amplificación y detección de alelos polimórficos de un gen metabólico mediante el método de la invención se facilita por la disponibilidad tanto de información actualizada de secuencia del cromosoma 4q28-q31 --que contiene el locus FABP2 humano, como de información actualizada del polimorfismo humano disponible para este locus. Los cebadores adecuados para la detección de un polimorfismo humano en genes metabólicos pueden diseñarse fácilmente usando esta información de secuencia y métodos convencionales conocidos en la técnica para el diseño y optimización de las secuencias de cebadores. El diseño óptimo de dichas secuencias de cebadores puede lograrse, por ejemplo, mediante el uso de programas de selección de cebadores tales como Primer 2.1, Primer 3 o GeneFisher (véase también, Nicklin M. H. J., Weith A. Duff G. W., "A Physical Map of the Region Encompassing the Human Interleukin-1a, interleukin-1 p, 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 [la fe de erratas publicada aparece en *Nucleic Acids Res.*, 15:868 (1987) y en la base de datos del Proyecto genoma (GDB, por sus siglas en inglés)).

En otro aspecto, la divulgación describe *kits* para realizar los ensayos anteriormente descritos. De acuerdo con algunas realizaciones, 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 una muestra de ácido nucleico. El *kit* también contiene una muestra de control, bien positivo o bien negativo o un patrón y/o dispositivo algorítmico para evaluar los resultados y reactivos y componentes adicionales que incluyen: reactivos de amplificación de ADN, ADN polimerasa, reactivos de amplificación de ácidos nucleicos, enzimas de restricción, tampones, un dispositivo de muestreo de ácidos nucleicos, dispositivo de purificación de ADN, desoxinucleótidos, oligonucleótidos (p. ej., sondas y cebadores), etc.

Para su uso en un *kit*, los oligonucleótidos pueden ser cualquiera de una variedad de composiciones naturales y/o sintéticas tales como oligonucleótidos sintéticos, fragmentos de restricción, ADNc, ácidos péptido nucleicos (APN) sintéticos y similares. El *kit* y el método de ensayo también pueden emplear oligonucleótidos marcados para permitir la facilidad de la identificación en estos 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.

Tal como se describe 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 del alelo empleada. Por ejemplo, donde la técnica de detección del alelo es la amplificación por PCR, seguida por fraccionamiento por tamaño, la muestra de control puede comprender fragmentos de ADN del tamaño apropiado. Del mismo modo, donde la técnica de detección del alelo 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 que se va a analizar. Por ejemplo, los controles pueden ser una muestra de ADN genómico o una porción clonada de un gen metabólico. Preferentemente, sin embargo, la muestra de control es una muestra de ADN genómico altamente purificado donde la muestra que se va a analizar es ADN genómico.

Los oligonucleótidos presentes en dicho *kit* pueden usarse para la amplificación de la región de interés o para hibridación directa con oligonucleótidos específicos de alelo (ASO) de los marcadores en cuestión. Por tanto, los oligonucleótidos pueden, bien flanquear el marcador de interés (como se necesita para la amplificación por PCR) o bien solaparse directamente con el marcador (como en la hibridación con ASO).

La información obtenida usando los ensayos y *kits* descritos en el presente documento (solos o en conjunto con la información de otro defecto genético o factor ambiental, que contribuye a la artrosis) es útil para determinar si un sujeto asintomático tiene o es probable que desarrolle la enfermedad o afección particular. Además, la información puede permitir un abordaje más personalizado para prevenir el comienzo o el avance de la enfermedad o afección. Por ejemplo, esta información puede posibilitar que un clínico prescriba de forma más eficaz una terapia que se dirigirá a la base molecular de la enfermedad o afección.

El *kit* puede incluir también, opcionalmente, medios de muestreo de ADN. Los medios de muestreo de ADN son bien conocidos para un experto en la técnica y pueden incluir, pero no limitarse a 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, solución 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 HinfI, oligonucleótidos específicos de alelo, cebadores de oligonucleótidos degenerados para PCR anidada a partir de sangre deshidratada.

## DEFINICIONES

A menos que se especifique de otro modo, todos los términos técnicos y científicos que se utilizan en el presente documento tienen el mismo significado que el normalmente entendido por un experto habitual en la técnica a la cual pertenece esta invención. Aunque pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los que se

describen en el presente documento en práctica o la prueba de la presente invención, los métodos y materiales adecuados se describen a continuación. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser limitantes. Otros aspectos y ventajas de la invención serán fácilmente evidentes a partir de las siguientes reivindicaciones.

5 Para los fines de promoción y comprensión de las realizaciones que se describen en el presente documento, se hará referencia a las realizaciones preferidas y se usará un lenguaje específico para describir las mismas. La terminología que se usa en el presente documento es con el fin de describir únicamente realizaciones particulares y no se pretende que limite el alcance de la presente invención.

10 Tal como se usa a lo largo de esta divulgación, las formas del singular "un", "una" y "el" o "la" incluyen referencia en plural a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. Por tanto, por ejemplo, una referencia a "una composición" incluye una pluralidad de dichas composiciones, así como una composición individual, 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 técnica, y así sucesivamente.

15 El término "alelo" se refiere a las diferentes variantes de secuencia que se encuentran en diferentes regiones polimórficas. Las variantes de secuencia pueden ser cambios de bases individuales o múltiples, que incluyen sin limitación inserciones, eliminaciones o sustituciones, o pueden ser un número variable de repeticiones de secuencia.

20 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 alelo individual en un sitio polimórfico, como para el alelo 1 de PPARG (rs1801282) De forma alternativa, un patrón alélico puede consistir en un estado, bien homocigoto o bien heterocigoto en un sitio polimórfico individual. Por ejemplo, el alelo 2.2 de PPARG (rs1801282) es un patrón alélico en el cual hay dos copias del segundo alelo y corresponde al estado homocigoto del alelo 2 PPARG (rs1801282). De forma alternativa, un patrón alélico puede consistir en la identidad de alelos en más de un sitio polimórfico.

30 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 empleada o el material que se va a analizar. Además, los controles pueden ser controles positivos o negativos. A modo de ejemplo, donde la técnica de detección del alelo es la amplificación por PCR, seguida por fraccionamiento por tamaño, la muestra de control puede comprender fragmentos de ADN de un tamaño apropiado. Del mismo modo, donde la técnica de detección del alelo implica la detección de una proteína mutada, la muestra de control puede comprender una muestra de proteína mutante. Sin embargo, se prefiere que la muestra de control comprenda el material que se va a analizar. Por ejemplo, los controles pueden ser una muestra de ADN genómico o una porción clonada de uno o más genes metabólicos. Sin embargo, cuando la muestra que se va a analizar es ADN genómico, la muestra de control es preferentemente una muestra de ADN genómico altamente purificado.

40 Las frases "alteración del gen" y "alteración dirigida" o cualquier frase similar se refieren a la interrupción específica del sitio de una secuencia de ADN nativo de modo que se evite la expresión de ese gen en la célula en comparación con la copia natural del gen. La interrupción puede estar causada por eliminaciones, inserciones o modificaciones del gen, o cualquier combinación de las mismas.

45 El término "haplotipo" tal como se usa en el presente documento pretende referirse a un conjunto de alelos que se heredan juntos como un grupo (están en desequilibrio de ligamiento) a niveles estadísticamente significativos ( $P_{corr} < 0.05$ ). Tal como se usa en el presente documento, la frase "haplotipo metabólico" se refiere a un haplotipo de loci de gen metabólico.

50 "Riesgo aumentado" se refiere a una frecuencia estadísticamente mayor de aparición de la enfermedad o afección en un sujeto que porta un 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.

55 El término "aislado" o "aislamiento" tal como se usa en el presente documento con respecto los 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 tal como se usa en el presente documento también se refiere a un ácido nucleico o péptido que está sustancialmente libre de material celular, material vírico o medio de cultivo cuando se produce mediante técnicas de ADN recombinante, o precursores químicos u otros agentes químicos cuando se sintetizan químicamente. Además, se pretende que un "ácido nucleico aislado" incluya fragmentos de ácido nucleico que no aparecen de forma natural como fragmentos y no se encontrarían en estado natural. El término "aislado" también se usan en el presente documento para referirse a polipéptidos que se han aislado a partir de otras proteínas celulares y se pretende que abarque tanto a polipéptidos purificados como recombinantes.

65 "Desequilibrio de ligamiento" se refiere a la herencia conjunta de dos alelos en frecuencias mayores a las que se esperaría a partir de las frecuencias de aparición separadas de cada alelo en una población de control dada. La frecuencia de aparición esperada 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 de forma conjunta a las frecuencias esperadas se dice que están en "desequilibrio de ligamiento". A menudo, la causa del desequilibrio de ligamiento no

está clara. Puede deberse a la selección para ciertas combinaciones alélicas o a la mezcla reciente de poblaciones genéticamente heterogéneas. Además, en el caso de marcadores que están unidos muy estrechamente con un gen de enfermedad, se espera una asociación de un alelo (o grupo de alelos ligados) con el gen de la enfermedad si la mutación de la enfermedad se produjo en el pasado reciente, de modo que no ha pasado suficiente tiempo para que se alcance el equilibrio a través de eventos 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 ligamiento con un segundo patrón alélico si todos los alelos que comprenden el primer patrón alélico están en desequilibrio de ligamiento con al menos uno de los alelos del segundo patrón alélico.

10 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 causado por una mutación puede corregirse o compensarse mediante ciertos agentes. Si un sujeto ha de 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 heterocigótico (para ese gen), se dice que la mutación es codominante.

20 Tal 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 debe entenderse que la expresión incluye, como equivalentes, análogos, bien de ARN, o bien de ADN producidos a partir de análogos de nucleótido (p. ej., ácidos peptidonucleicos) y cuando sea aplicable a la realización que se está describiendo, polinucleótidos mono (codificadores o no codificadores) y bicatenarios.

25 El término "polimorfismo" se refiere a la coexistencia de más de una forma de un gen o porción (p. ej., una variante alélica) de la misma. Una porción de un gen del cual existen al menos dos formas diferentes, es decir, dos secuencias de nucleótidos diferentes, se denomina como una "región polimórfica de un gen". Una secuencia génica 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 largo.

30 La expresión "propensión a la enfermedad" también "predisposición" o "susceptibilidad" a la enfermedad o cualquier frase similar, significa que se descubre de esta forma que ciertos alelos se asocian o son predictivos de la incidencia de un sujeto para desarrollar una enfermedad particular (p. ej., una enfermedad vascular). Los alelos están, por tanto, sobrerrepresentados en cuanto a frecuencia en los sujetos con enfermedad en comparación con los sujetos sanos. Por tanto, estos alelos pueden usarse para predecir enfermedad incluso en sujetos presintomáticos o antes de la enfermedad.

40 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "híbrida de forma específica" o "detecta forma específica" se refiere a la capacidad de una molécula de ácido nucleico para hibridar con al menos aproximadamente 6 nucleótidos consecutivos de una muestra de ácido nucleico.

45 "Secuencia reguladora de la transcripción" es una expresión genérica utilizada a lo largo de la memoria descriptiva para referirse a las secuencias de ADN, tal como señales de iniciación, potenciadores y promotores, que inducen o controlan la transcripción de las secuencias codificadoras de proteínas con las que están unidas de forma operativa.

50 El término "vector" se refiere a una molécula de ácido nucleico que es capaz de transportar otro ácido nucleico al que se ha unido. Un tipo de vector preferido es un episoma, es decir, un ácido nucleico capaz de replicación extracromosómica. Los vectores preferidos son aquellos capaces de replicación y/o expresión autónoma de los ácidos nucleicos a los que están unidos. Los vectores capaces de dirigir la expresión de genes a los que se están unidos operativamente se denominan en el presente documento como "vectores de expresión". En general, los vectores de expresión de utilidad en las técnicas de ADN recombinante suelen estar en forma de "plásmidos" lo cual se refiere en general a bucles de ADN bicatenario circular que, en su forma de vector no están unidos al cromosoma. En la presente memoria descriptiva, "plásmido" y "vector" se usan de manera indistinta, ya que el plásmido es la forma de vector usada más frecuentemente. Sin embargo, se pretende que la invención incluya dichas otras formas de vectores de expresión que desempeñan funciones equivalentes y que se dan a conocer en la técnica por el presente documento.

60 La expresión "alelo natural" se refiere a un alelo de un gen que, cuando está presente en dos copias en un sujeto resulta en un fenotipo natural. Puede haber varios alelos naturales diferentes de un gen específico, ya que ciertos cambios de nucleótido en un gen pueden no afectar al fenotipo de un sujeto que tiene dos copias del gen con los cambios de nucleótido.

65 Los siguientes ejemplos son ilustrativos, pero no limitantes, de los métodos y composiciones de la presente invención. Otras modificaciones y adaptaciones adecuadas de la variedad de condiciones y parámetros que normalmente se encuentran en terapia y que son obvias para los expertos en la técnica y están dentro del espíritu y alcance de las realizaciones.

**EJEMPLO 1**

Se ha desarrollado una prueba de gestión del peso a partir de una revisión exhaustiva de los estudios clínicos que identifican correlaciones entre genes y variaciones en el metabolismo relacionado con la gestión del peso; estableciendo criterios de aceptación para identificar qué variaciones genéticas afectan a las vías metabólicas en formas que son potencialmente modificables mediante cambios en la dieta y el estilo de vida; determinando qué genotipos se ha demostrado que aumentan el riesgo y que sugieren un riesgo que puede modificarse mediante la intervención en la dieta y/o el estilo de vida; y recopilando datos para apoyar la configuración de la prueba elegida, interpretaciones de los resultados de la prueba, intervenciones dietéticas/del estilo de vida y análisis de riesgo/beneficio.

Los criterios de selección del gen/polimorfismo necesitaron de datos de que: el polimorfismo tiene una asociación significativa con un fenotipo de gestión del peso (p. ej., peso, grasa corporal, índice de masa corporal) tal como se ve en los datos a partir de tres o más estudios independientes similares que mostraron la misma asociación genotípica; El gen tiene un papel biológicamente verosímil en la gestión del peso; el polimorfismo está asociado con un impacto funcional, bien en el nivel genético molecular o bien como se determina mediante mediciones de biomarcadores que se sabe que influyen sobre el peso y/o los resultados de salud y se ha demostrado que la respuesta a la intervención (p. ej., dieta o ejercicio) difiere según el genotipo, tal como se ve en los datos a partir de dos o más estudios similares independientes de genotipo de polimorfismo, que conducen a una categoría de recomendación específica.

**Justificación científica del panel de la prueba**

La justificación científica para esta prueba se basa en una amplia revisión de la bibliografía científica disponible a lo largo de abril de 2007. Los datos publicados se evaluaron frente a un conjunto de criterios de aceptación articulados de forma prospectiva. Estos datos se reunieron en la jerarquía de gen> polimorfismo> genotipo compuesto para definir y justificar las interpretaciones de los resultados de la prueba para el panel.

El proceso de evaluación incluyó:

1. Establecer genes candidatos identificando la implicación significativa en las vías metabólicas relacionadas con la homeostasis del peso.
2. Establecer criterios de aceptación para decidir qué variaciones genéticas afectan a las vías metabólicas en formas que son potencialmente modificables mediante cambios en los patrones de dieta y ejercicio; Estos incluyeron datos de que:
  - a) El polimorfismo tiene una asociación significativa con un fenotipo pertinente (peso, grasa corporal, o índice de masa corporal) tal como se demuestra mediante de tres o más estudios independientes similares que mostraron la misma asociación genotípica-fenotípica.
  - b) El gen tiene un papel biológicamente verosímil en la gestión del peso.
  - c) El polimorfismo está asociado con un impacto funcional, bien en el nivel del ADN o bien como se determina mediante mediciones de biomarcadores que se sabe que están asociados con vías fisiológicas que afectan a la homeostasis del peso.
  - d) La respuesta de los sujetos a intervenciones tales como la dieta o el ejercicio pueden estratificarse por genotipo. Dichos datos han de presentarse en al menos dos independientes.
3. Llevar a cabo una búsqueda exhaustiva de la bibliografía científica para evaluar el impacto de las variaciones genéticas sobre: a) mecanismos metabólicos; b) gestión de la obesidad/peso y asociaciones con resultados de salud y c) respuestas a la intervención medidas mediante el cambio de peso o adiposidad o cambios en biomarcadores.
4. Determinar qué genotipos se ha demostrado que predisponen a un sujeto a la ganancia de peso y que esa ganancia puede ser modificable mediante una estrategia dietética o de ejercicio particular.
5. recopilar datos para apoyar la configuración de la prueba elegida, interpretaciones de los resultados de la prueba, intervenciones dietéticas/del estilo de vida y análisis de riesgo/beneficio.

Los siguientes genes han cumplido los criterios señalados anteriormente. Se han seleccionado por su impacto sobre diversas vías que incluyen sobre el peso corporal y se han asociado con riesgo elevado de obesidad. También se han seleccionado porque pueden usarse para diferenciar respuesta frente a intervenciones de gestión del peso por genotipo. Son: proteína 2 de unión a ácidos grasos (FABP2); receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma (PPARG); receptor beta 2 adrenérgico (ADRB2); y receptor beta 3 adrenérgico (ADRB3).

### Justificación para los genotipos compuestos

Después de la identificación de los genes/polimorfismos que cumplen o exceden los criterios desarrollados de forma prospectiva para su inclusión en el panel de prueba, se analizaron combinaciones para determinar si los genotipos compuestos encontrados para los cinco polimorfismos podían repartirse en distintas categorías que pudieran apoyar interpretaciones específicas. Los resultados se dividieron en tres categorías basadas en los datos de respuesta a macronutrientes de la dieta (respuesta a la restricción de grasas, respuesta a la restricción de carbohidratos y respuesta al equilibrio de grasas y carbohidratos). También se dividieron en categorías separadas basadas en los datos de respuesta al ejercicio (respuesta al ejercicio y menor respuesta al ejercicio). La matriz de tres por dos (seis celdas) resultante de categorías o patrones genotípicos se muestra en la tabla 7.

#### Respuesta a la dieta restringida en grasas

Esta categoría se compone de personas con los genotipos compuestos: FABP2 Ala54Thr y PPARG Pro12Ala. Aquellas con el genotipo PPARG 12Pro/Pro que también son portadoras del alelo FABP2 Thr54 también están en esta categoría. Estos sujetos demuestran dificultades en la gestión del peso sin restringir ingestas de grasa específicas. La variante FABP2 Thr54 tiene una afinidad dos veces mayor por los ácidos grasos de cadena larga (1) y absorción y/o procesamiento potenciado de los ácidos grasos de la dieta por el intestino (2). La variante Thr54 aumenta la absorción y/o procesamiento de los ácidos grasos de la dieta por el intestino. PPARG juega un papel clave en la formación de adipocitos (almacenamiento de grasas) y en el metabolismo de los lípidos (movilización de grasas). PPARG es un receptor situado en el núcleo de los adipocitos. Cuando se activa por las grasas de la dieta, el receptor PPARG se une a secuencias específicas de ADN que después "encienden" ciertos genes que promueven el almacenamiento de las grasas de la dieta en los adipocitos. En los seres humanos, la actividad PPARG potenciada está asociada con adiposidad aumentada. La variante Ala12 está asociada con una actividad PPARG reducida (43, 44). Las personas que son 12Pro/ Pro tienen probabilidad de responder más a la cantidad de grasas de la dieta de lo que lo hacen los portadores de 12Ala. Los portadores de la variante Ala12 tienen mayor flexibilidad metabólica en el almacenamiento y movilización de las grasas en respuesta a la intervención. Por tanto, los sujetos que son 12Pro/Pro son más eficaces en cuanto a la acumulación de grasas de la dieta. En comparación con los portadores de Ala12, los que tienen el genotipo 12Pro/Pro tienen unión potenciada de PPARG al ADN, la cual conduce a activación más eficaz del receptor y promueve el almacenamiento de grasas.

#### Respuesta a la restricción de carbohidratos

Esta categoría incluye a aquellas personas con cualquiera de las dos combinaciones genéticas diferentes: PPARG Pro12Ala y ADRB2 Gln27Glu. Las personas que tienen el genotipo PPARG 12Ala/\* (portadores de Ala) y/o portan el alelo ADRB2 Glu27 tienen dificultades en la gestión del peso a menos que restrinjan la ingesta de carbohidratos en la dieta. En dos estudios separados, cada uno centrado en solo uno de los dos genes/SNP, los investigadores encontraron una tendencia reducida a la ganancia de peso/obesidad en sujetos que portaban el alelo variante cuando su ingesta de carbohidratos se restringió al 50 % de las calorías totales en comparación con aquellas con los mismos genotipos cuya ingesta estuvo por encima del 50 % (30, 38). Esto sugiere que cada una de estas variaciones muestra diferencias en cuanto al riesgo de obesidad con restricción de carbohidratos. Además, uno de estos estudios demostró un riesgo reducido de resistencia a la insulina en sujetos que portaban el alelo variante cuando su ingesta 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 mejorías en la sensibilidad a la insulina en respuesta a una dieta hipocalórica (19) y a ejercicio de entrenamiento (45-47) que los no portadores. Estos resultados pueden explicarse mediante la actividad PPARG reducida asociada con la variante Ala12, que resulta en una estimulación menos eficaz de los genes diana de PPARG, causando menos adiposidad (capacidad reducida para almacenar grasas) y a su vez mayor sensibilidad a la insulina. Es apropiado recomendar una dieta restringida en carbohidratos a los portadores de los alelos Ala12 o Glu27 porque ser portador de cualquiera de ellos incrementa el riesgo de obesidad en una dieta alta en carbohidratos, y estos genotipos están asociados con mejorías en la sensibilidad a la insulina en conjunto con intervenciones dietéticas/de ejercicio.

Los resultados de los estudios de intervención que usan cambio de peso y sensibilidad a la insulina son contundentes para PPARG 12Ala/\* y para ADRB2 27Glu/\* (18, 30, 38, 45-47). Sin embargo, ningún estudio evaluó los efectos de ambos polimorfismos en una población. Por tanto, es más apropiado incluir los genotipos de estudio PPARG 12Ala/\* "y/o" ADRB2 27Glu/\* dentro de este patrón que requerir la combinación de ambos genotipos de SNP.

La única contradicción entre los 5 patrones genotípicos de SNP es cuando los sujetos portadores del alelo ADRB2 Glu27 también tienen la combinación de PPARG 12Pro/Pro y FABP2 54Thr/\*, lo cual los calificaría para el patrón de "respuesta a la restricción de grasas". La prueba asigna dichos sujetos al patrón de "Respuesta a la restricción de grasas", porque la preponderancia de los datos científicos para la interacción gen-dieta de los 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 encontrada para las interacciones gen-dieta de ADRB2 para las respuestas del organismo a la modulación de los carbohidratos (21, 30, 31).

65

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 mejoría en los factores de riesgo relacionados con el metabolismo de la glucosa (insulina, glucemia, triglicéridos) a través de la reducción de la ingesta de grasas saturadas (10, 11, 12). La investigación intervencionista que se centró en el tipo de grasas de la dieta también incluyó, en la mayoría de los casos, una cantidad moderada de carbohidratos en la dieta. Otra investigación que no se relaciona directamente con el genotipo FABP2 demuestra una mejoría en los niveles de insulina y el control de la glucemia mediante la modulación de la ingesta de carbohidratos (51-53). En lugar de centrarse en reducir las grasas en su dieta; los sujetos con el genotipo combinado PPARG 12/Ala/\* y FABP2 54Thr/\* se beneficiarían más probablemente de reducir su ingesta de carbohidratos.

Menor respuesta al ejercicio

Las personas que tienen un genotipo específico, bien en el gen ADRB3, o bien en el gen ADRB2 tienen una predisposición genética que tiende a hacerlas de menor respuesta al ejercicio como una estrategia para controlar el peso. Ambos polimorfismos juegan un papel clave en la movilización de las grasas desde el tejido adiposo (lipólisis) mediando la respuesta a las catecolaminas. La variante ADRB2 Gly16, (incluso cuando se combina con la variante Glu27 durante los estudios *in vitro*), está asociada con una respuesta menor al receptor adrenérgico (21). Estos dos polimorfismos están en estrecho desequilibrio de ligamiento. Por tanto, el análisis de la variante Gly16 también identifica a la mayoría de los sujetos que portan la variante Glu27, la cual se ha asociado con la misma predisposición. La variante ADRB3 Arg64 está asociada con función del receptor reducida y lipólisis reducida. Durante el ejercicio, los portadores de la variante tienen probabilidad de presentar una lipólisis reducida y, por tanto, una capacidad reducida para quemar las grasas, lo que resultaría en menor pérdida de peso en respuesta al ejercicio. Múltiples estudios de intervención han mostrado sistemáticamente que las personas con la variante Arg64 tienen mayor dificultad para perder peso en respuesta a la dieta/ejercicio que los no portadores. Los portadores de la variante Gly16 del gen ADRB2 tienen menor probabilidad de perder peso a través del ejercicio (23) o de una combinación de dieta y ejercicio (28) que los no portadores. Considerando que ambos receptores adrenérgicos influyen sobre la respuesta a las catecolaminas durante el ejercicio, y que tanto ADRB2 Gly16 como ADRB3 Arg64 tienen función de receptor reducida, los sujetos con cualquiera de estos polimorfismos deberían incluirse en el patrón compuesto de menor respuesta al ejercicio.

Los resultados se dividieron en tres categorías separadas basadas en los datos de respuesta a macronutrientes de la dieta, y en dos categorías separadas basadas en los datos de respuesta al ejercicio. La matriz de tres por dos resultante de categorías o patrones genotípicos se muestra a continuación (tabla 6).

**TABLA 6:** Patrones de riesgo de genotipos compuestos

Capacidad de respuesta al ejercicio		Respuesta a la restricción en la composición de la dieta		
	Genotipos compuestos‡	Dieta sana equilibrada (dieta genética por defecto)	Baja en grasas	Baja en carbohidratos (baja en CHO)
Con respuesta al ejercicio	Todos los genotipos que no están en las categorías de "Menor respuesta al ejercicio" a continuación (por defecto) 12 %	Todos los genotipos que no cumplen con grasas bajas O CHO bajos 2 %	FABP2 54Thr Y PPARG 12Pro.	PPARG 12Ala/* Y FABP2 54Thr/* O ADRB2 27Glu/* Y/O PPARG 12Ala/* 5 %
		Patrón n.º 1	Patrón n.º 2	Patrón n.º 3
Con menor respuesta al ejercicio	ADRB2 16Gly/* O ADRB3 64Arg/* 88 %	14 %	34 %	40 %
		Patrón n.º 4	Patrón n.º 5	Patrón n.º 6
Total	100 %	16 %	39 %	45 %

Nota: Los porcentajes en cada categoría de genotipo compuesto representan frecuencias esperadas de la población de raza blanca del Quebec Family Study (QFS).

‡ Designamos todos estos polimorfismos de este panel de acuerdo con el cambio de aminoácido de la proteína que resulta de un cambio de nucleótido en el ADN (p. ej., "54Thr" indica que la variación del nucleótido en el ADN resulta en una sustitución de un aminoácido treonina en la posición 54ª de la secuencia de aminoácidos de la proteína FABP2). Un asterisco indica que puede estar presente cualquier alelo (p. ej., "54Thr/\*" indica que el segundo alelo puede ser bien Ala o bien Thr).

- 5 Patrón genotípico compuesto n.º 1- Con respuesta a una dieta equilibrada de grasas y carbohidratos, con respuesta al ejercicio: 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 estudio que se sabe que responden con diferencias de peso a partir de dietas de calorías restringidas bajas en grasas o bajas en carbohidratos. De entre las variantes analizadas en este panel, estos sujetos no muestran ninguna tendencia genética sistemática hacia una respuesta alterada, aislada, bien a las grasas, o bien a los carbohidratos en su dieta. Muestran una respuesta de metabolismo energético normal al ejercicio regular para lograr sus objetivos de gestión de peso. Este genotipo compuesto está presente en el 2 % de la población de raza blanca.
- 10 Patrón genotípico compuesto n.º 2- Con respuesta a restricción de grasas, con respuesta al ejercicio: 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 bien 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 sus grasas de la dieta y tienden a almacenarla en los adipocitos, en lugar de movilizarla durante el metabolismo. Muestran una respuesta de metabolismo energético normal al ejercicio regular para lograr sus objetivos de gestión de peso. Este genotipo compuesto se espera en alrededor del 5% de la población de raza blanca.
- 15 Patrón genotípico compuesto n.º 3- Con respuesta a restricción de carbohidratos, con respuesta al ejercicio: 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 calificados anteriormente estarán en combinación ADRB2 rs1042713 (16 Arg/Arg) 2.2 (A/A) y ADRB3 rs4994 (64 Trp/Trp) 1.1 (T/T) para cumplir con el requisito de respuesta a la categoría de ejercicio. Estos sujetos tienden a ganar o retener peso a partir de la ingesta alta de carbohidratos en la dieta y muestran signos de metabolismo alterado de glucosa e insulina. Muestran una respuesta de metabolismo energético normal al ejercicio regular para lograr sus objetivos de gestión de peso. Este genotipo compuesto se espera en alrededor del 5 % de la población de raza blanca.
- 20 Patrón genotípico compuesto n.º 4- Con respuesta a una dieta equilibrada de grasas y carbohidratos, menor respuesta al ejercicio: Sujetos con un genotipo combinado de rs1799883 (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\*) 2.1 o 2.2 (C/T o C/C). Esta categoría incluye genotipos de estudio que se sabe que responden con diferencias de peso a partir de dietas de calorías restringidas bajas en grasas o bajas en carbohidratos. De entre las variantes analizadas en este panel, estos sujetos no muestran ninguna tendencia genética sistemática hacia una respuesta alterada, aislada, bien a las grasas, o bien a los carbohidratos en su dieta. Tienden a tener una respuesta de metabolismo energético alterada y a responder menos al ejercicio regular para lograr sus objetivos de gestión de peso. Este genotipo compuesto está presente en el 14% de la población de raza blanca.
- 30 Patrón genotípico compuesto n.º 5- Con respuesta a restricción de grasas, menor respuesta al ejercicio: 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 bien ADRB2 rs1042714 (27Gln/Gln) 1.1 (C/C), 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). Estos sujetos absorben más de sus grasas de la dieta y tienden a almacenarla en los adipocitos, en lugar de movilizarla durante el metabolismo. Tienden a tener una respuesta de metabolismo energético alterada y a responder menos al ejercicio regular para lograr sus objetivos de gestión de peso. Este genotipo compuesto se espera en alrededor del 34 % de la población de raza blanca.
- 40 Patrón genotípico compuesto n.º 6- Con respuesta a restricción de carbohidratos, menor respuesta al ejercicio: 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 calificados anteriormente habrán de 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 con el requisito de menor respuesta al ejercicio. Estos sujetos tienden a ganar o retener peso a partir de la ingesta alta de carbohidratos en la dieta y muestran signos de metabolismo alterado de glucosa e insulina. Tienden a tener una respuesta de metabolismo energético alterada y a responder menos al ejercicio regular para lograr sus objetivos de gestión de peso. Este genotipo compuesto se espera en alrededor del 40 % de la población de raza blanca.
- 50 Patrón genotípico compuesto n.º 6- Con respuesta a restricción de carbohidratos, menor respuesta al ejercicio: 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 calificados anteriormente habrán de 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 con el requisito de menor respuesta al ejercicio. Estos sujetos tienden a ganar o retener peso a partir de la ingesta alta de carbohidratos en la dieta y muestran signos de metabolismo alterado de glucosa e insulina. Tienden a tener una respuesta de metabolismo energético alterada y a responder menos al ejercicio regular para lograr sus objetivos de gestión de peso. Este genotipo compuesto se espera en alrededor del 40 % de la población de raza blanca.
- 55

TABLA 7: Genotipos compuestos de estudio y patrones de riesgo

N.º ID Genotipo	FABP2 A54T	PPARG P12A	ADRB3 R64W	ADRB2 R16G	ADRB2 O27E	Patrón genotípico compuesto
1	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G*	27Glu/* G/*	Patrón n.º 5
2	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 5
3	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Glu/* G/*	Patrón n.º 5
4	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 5
5	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Trp/Trp T/T	16Gly/* G*	27Glu/* G/*	Patrón n.º 5
6	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Trp/Trp T/T	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 5
7	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Glu/* G/*	Patrón n.º 2
8	54Thr/* † A/*	12Pro/Pro † C/C	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 2
9	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G*	27Glu/* †† G/*	Patrón n.º 6
10	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 6
11	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Glu/* †† G/*	Patrón n.º 6
12	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 6
13	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Trp/Trp T/T	16Gly/* † G*	27Glu/* †† G/*	Patrón n.º 6
14	54Thr/* †† A/*	12Ala/* †† G/*	64Trp/Trp T/T	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 6

N.º ID Genotipo	FABP2 A54T	PPARG P12A	ADRB3 R64W	ADRB2 R16G	ADRB2 Q27E	Patrón genotípico compuesto
15	54Thr/* ii A/*	12Ala/* ii G/*	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Glu/* ii G/*	Patrón n.º 3
16	54Thr/* ii A/*	12Ala/* ii G/*	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 3
17	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G*	27Glu/* ii G/*	Patrón n.º 6
18	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G*	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 4
19	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Glu/* ii G/*	Patrón n.º 6
20	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 4
21	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Trp/Trp T/T	16Gly/* † G*	27Glu/* ii G/*	Patrón n.º 6

22	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Trp/Trp T/T	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 4
23	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Glu/* ii G/*	Patrón n.º 3
24	54Ala/Ala G/G	12Pro/Pro C/C	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 1
25	54Ala/Ala G/G	12Ala/* ii G/*	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G/*	27Glu/* ii G/*	Patrón n.º 6
26	54Ala/Ala G/G	12Ala/* ii G/*	64Arg/* † C/*	16Gly/* † G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 6
27	54Ala/Ala G/G	12Ala/* ii G/*	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Glu/* ii G/*	Patrón n.º 6
28	54Ala/Ala G/G	12Ala/* ii G/*	64Arg/* † C/*	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 6
29	54Ala/Ala G/G	12Ala/* ii G/*	64Trp/Trp T/T	16Gly/* G/*	27Gln/* ii G/*	Patrón n.º 6
30	54Ala/Ala G/G	12Ala/* ii G/*	64Trp/Trp T/T	16Gly/* G/*	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 6
31	54Ala/Ala G/G	12Ala/* ii G/*	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Glu/* ii G/*	Patrón n.º 3
32	54Ala/Ala G/G	12Ala/* ii G/*	64Trp/Trp T/T	16Arg/Arg A/A	27Gln/Gln C/C	Patrón n.º 3



indica PPARG Y FABP2, es un genotipo compuesto que conduce a una categoría de "Con respuesta a restricción de grasas" para los objetivos de gestión del peso



indica un genotipo que conduce a una determinación "Con menor respuesta al ejercicio"



indica los genotipos compuestos PPARG, ADRB2, O PPARG + FABP2, que conducirán a una categoría "Con respuesta a la restricción de carbohidratos" para los objetivos de gestión del peso

**EJEMPLO 2. MÉTODO DE GENOTIPIFICACIÓN CLÍNICA**

5 Se extrajo ADN, bien a partir de hisopos bucales (PNT n.º 12, versión 1.3), o bien se adquirió de los Depósitos de células de Coriell. El ADN aislado se usó para amplificar por PCR regiones de secuencia circundantes a cinco SNP

(PNT n.º 29, versión 1.0). Los cuatro amplicones resultantes de cada muestra se trataron con exonucleasa I (Exo) y fosfatasa alcalina de gamba (SAP, por sus siglas en inglés) para eliminar el exceso de cebadores y nucleótidos (PNT n.º 29, versión 1.0). Los amplicones purificados se usaron en la reacción de elongación de una sola base (SBE, por sus siglas en inglés) con cebadores específicos a su SNP diana PNT n.º 30, versión 1.0). Tras completarse la SBE, volvió a añadirse SAP para eliminar los nucleótidos no incorporados PNT n.º 30, versión 1.0). Después se analizó el producto de la SBE en el Beckman Coulter CEQ8800 con un patrón de migración por tamaño conocido PNT n.º 15, versión 1.4 y PNT n.º 16, versión 1.3). Todos los genotipos, con la excepción de PPARG (rs1801282), se ensayaron sobre la cadena directa de ADN. PPARG (rs1801282) se ensayó sobre la cadena inversa de ADN y se presentará como la base complementaria en las señales del CEQ8800. Los genotipos resultantes se registraron y después se compararon con los genotipos generados mediante secuenciación del ADN en Agencourt Bioscience Corporation o con genotipos conocidos registrados en el NCBI. Formato individual: Los productos de PCR de estudio se amplificaron por separado y se sometieron a genotipificación mediante el cebador de SBE correspondiente. Formato en grupo: Los productos de PCR de estudio se amplificaron por separado y después se agruparon. El ADN agrupado se genotipifica para los cinco SNP en una única reacción utilizando una mezcla de cebadores de SBE. Formato múltiple: Los cuatro productos de PCR se generaron en una única reacción. Los múltiples productos de PCR se genotipificaron para los cinco SNP en una única reacción utilizando una mezcla de cebadores de SBE.

### Normalización

Como referencia interna para la genotipificación se corrió junto con las muestras un patrón de tamaño disponible comercialmente (Beckman Coulter parte n.º 608395).

### Precisión y especificidad

Con el fin de garantizar que se estuvieran fijando como objetivo y genotipificando los genes correctos, los productos de PCR se remitieron a un laboratorio independiente (Agencourt Bioscience Corporation) para su genotipificación y secuenciación. En Agencourt, la secuencia se comparó con la secuencia genómica que flanquea el SNP; después los genotipos de cada muestra se comunicaron a Interleukin Genetics. Después se comparó la concordancia de los resultados de Agencourt e Interleukin.

### Nombres y abreviaturas de SNP

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

### Resultados

#### Resultados de PCR

El ADN aislado se amplificó por PCR usando los conjuntos de cebadores que se enumeran en el Anexo B. ADRB2 (rs1042713) y ADRB2 (rs1042714) están alejados 33 nucleótidos y se amplificaron en un solo producto de PCR. Los productos de PCR se corrieron en geles de agarosa para verificar los tamaños de producto esperados. A1/A2= 422 pb, A3= 569 pb, FA= 311 pb, PP= 367 pb.

#### Resultados de la genotipificación

##### Migración de pico

Cada cebador de elongación de una sola base específico de SNP se diseñó a una longitud exclusiva para crear un pico(s) en una localización específica en relación con los patrones de tamaño conocido cuando se corren en el equipo CEQ8800 de electroforesis capilar. Las localizaciones de los picos pueden no coincidir exactamente con los tamaños de los cebadores debido a los efectos de la movilidad del colorante, la secuencia del cebador y el programa informático de análisis, pero migran de forma sistemática. Los cebadores de la elongación de una sola base se enumeran en el Anexo C junto con sus migraciones de pico esperadas.

##### Designación de las bases

La reacción de elongación de una sola base añade una base marcada con fluorescencia al extremo 3' del cebador específico del SNP. Este producto se lee mediante dos láseres dentro del CEQ8800. Los resultados se analizan mediante el programa informático del CEQ8800 y aparecen como picos de colores, representando cada color una base diferente. La presencia de un pico de un solo color en el locus especificado indica un homocigoto, mientras que dos picos de colores diferentes indican un heterocigoto. Dentro de las treinta y nueve muestras que se genotipificaron en la validación hay representantes de casi todos los genotipos homocigotos y 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 de solo 0,1 (tal como indica la base de datos dbSNP para el rs n.º 1801282). Sin embargo,

el genotipo homocigoto C se ha encontrado en otras muestras fuera del alcance de esta validación.

El programa informático del CEQ8800 ofrece la posibilidad de que el usuario especifique marcadores del SNP del locus. El usuario indica el tamaño de migración (en nucleótidos) basado en la migración esperada del cebador específico del SNP. Esto permite al ordenador identificar un SNP basándose en su migración con respecto a los marcadores normalizados que corren junto con la muestra. El ordenador también identificara la(s) base(s) dentro del SNP basándose en el(los) indicador(es) de colorante que detecta. Para esta validación, se permitió que el ordenador realizara la primera designación de cada SNP. Los datos fueron reanalizados después de forma independiente por dos técnicos para su confirmación. Las designaciones del ordenador y las dos independientes (manuales) estuvieron de acuerdo en todos los casos.

Después de realizar la genotipificación en el formato individual en las quince muestras de ADN de Coriell, los resultados se compararon con los genotipos conocidos y fueron concordantes en un 100 % (véase la tabla 8).

**TABLA 8: Resultados de la genotipificación para las muestras de Coriell:**

Dirección del cebador de SBE	directo		inverso		directo		directo		directo	
Gen	FABP2	FABP2	PPARG	PPARG	ADRB2	ADRB2	ADRB2	ADRB2	ADRB3	ADRB3
N.º rs	rs1799883	rs1799883	rs1801282	rs1801282	rs1042713	rs1042713	rs1042714	rs1042714	rs4994	rs4994
Abreviatura	FA	FA	PP	PP	A1	A1	A2	A2	A3	A3
ID muestra	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	AA	CC	GG	AA	AA	CC	CC	nd	TT
NA17103	GG	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 los genotipos obtenidos en Interleukin Genetics (ILI) usando el formato individual con ADN de los Depósitos de células de Coriell. El cebador de la elongación de una sola base de PPARG se aparea con la cadena inversa de ADN. Por lo tanto, las bases ILI PPARG (rs1801282) se enumeran como complementarias a la cadena directa. Genotipo nd= Genotipo no disponible en los Depósitos de células de Coriell.

**EJEMPLO 3. GENOTIPOS COMPUESTOS ANALIZADOS CON RESPECTO A LA ASOCIACIÓN GENÉTICA CON LA PÉRDIDA DE PESO**

Para determinar la influencia del genotipo con la pérdida de peso, se administraron diferentes dietas (Atkins, Ornish, LEARN y Zone) a los diferentes grupos de individuos. Los genotipos compuestos analizados con respecto a su asociación genética con la pérdida de peso se describen en la tabla 9. Las dietas analizadas se enumeran en la tabla 10. Los sujetos de estudio se clasificaron en dos grupos:

1. Grupo de asignación dietética de genotipo apropiado:
  - a. Todos los individuos con Grupo de carbohidratos bajos (GCB) con dieta Atkins y
  - b. Individuos con Grupo de grasas bajas (GGB) con dietas Ornish y LEARN.
2. Grupo de asignación dietética de genotipo inapropiado:
  - a. Individuos con GCB con dietas Ornish y LEARN y
  - b. Individuos con GGB con Atkins.

La pérdida de peso media y otros fenotipos relacionados con la obesidad se compararon después en los dos grupos y se determinó la significación estadística. Los hallazgos se comunican en las tablas 11-13 y los dibujos 1-12.

**TABLA 9:** Los siguientes genotipos compuestos se analizaron con respecto a la asociación genética con la pérdida de peso:

<b>Patrones genotípicos compuestos del panel de pruebas WM</b>			
<b>Categoría dietética</b>	<b>Genotipo FABP2 rs1799883</b>	<b>Genotipo PPARG rs1801282</b>	<b>Genotipo ADRB2 rs1042714</b>
Baja en grasas	A/*	C/C	-
Baja en carbohidratos;	A/*	G/*	-
	-	G/*	G/*
	G/G	G/*	-
	G/G	C/C	G/*
Dieta equilibrada	G/G	C/C	C/C

**TABLA 10:** Dietas analizadas con respecto a la asociación genética con la pérdida de peso.

<b>Ingesta media en la dieta a los 2 meses</b>				
<b>Dietas</b>	<b>ATKINS</b>	<b>ZONE</b>	<b>LEARN</b>	<b>Ornish</b>
<b>CHO (% energía)</b>	18	42	49	63
<b>Proteínas (% energía)</b>	28	24	20	17
<b>Grasas (% energía)</b>	55	35	30	21

#### **Patrón genotípico compuesto para la Dieta baja en grasas**

Esta categoría se compone de personas con los genotipos compuestos: FABP2 rs1799883 (A/\*) y PPARG rs1801282 (C/C).

#### **Patrón genotípico compuesto para la Dieta baja en carbohidratos**

Esta categoría incluye a aquellas personas con cualquiera de las cuatro combinaciones genéticas diferentes: FABP2 rs1799883 (A/\*), PPARG rs1801282 (G/\*); PPARG rs1801282 (G/\*), ADRB2 rs1042714 (G/\*); FABP2 (G/G), PPARG (G/\*); y FABP2 (G/G), PPARG (C/C), ADRB2 (G/\*).

#### **Patrón genotípico compuesto para la Dieta equilibrada**

Esta categoría incluye a aquellas personas con la combinación genética: FABP2 (G/G), PPARG (C/C), ADRB2 (C/C).

#### **Interacción genotipo-dieta**

Se realizó una asociación genética entre patrones genotípicos con respuesta y sin respuesta a la dieta (véanse los grupos 1 y 2 anteriores) y pérdida de peso. La ingesta media en la dieta después de 2 meses en porcentaje de energía se enumera en la tabla 10. Después se observó asociación estadísticamente significativa cuando se determinó la pérdida de peso con dieta baja en grasas (dietas Ornish +LEARN) comparando cualquiera de los genotipos de respuesta a carbohidratos bajos (CHO bajos) con el genotipo de respuesta a grasas bajas (Grasas bajas) (véase la tabla 11). También se observó asociación estadísticamente significativa cuando se determinó la pérdida de peso con dieta baja en grasas pero alta en carbohidratos (dieta Ornish) comparando cualquiera de los genotipos de respuesta a carbohidratos bajos (CHO bajos) con el genotipo de respuesta a grasas bajas (Grasas bajas) (véase la tabla 11).

La pérdida de peso observada con las dietas ZONE, LEARN y ORNISH al comparar los genotipos de respuesta a CHO bajos y a Grasas bajas también fue estadísticamente significativa (véase la tabla 12). Con la dieta Atkins no se observó ninguna relación significativa con la ganancia o pérdida de peso en relación con los genotipos. Sin embargo, con la dieta Ornish, el genotipo de carbohidratos bajos (véase la tabla 9) tuvo un 62,5 % de sujetos de estudio que experimentaron ganancia de peso de menos de 2,5 kg, mientras que los sujetos con genotipo de grasas bajas tuvieron un 83 % de pérdidas de peso de más de 2,5 kg. Los sujetos con genotipo de respuesta a Grasas bajas respondieron menos a las dietas Atkins y Zone, pero mejor a dietas bajas en grasa tales como Ornish y LEARN a los 6 y 12 meses (véase la tabla 13).

**TABLA 11**

<b>Pérdida de peso con dieta baja en carbohidratos (dieta Atkins)</b>							
<b>Patrón genotípico compuesto</b>	<b>Recuento</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>ET</b>	<b>LCI 100% de la media</b>	<b>LCS 100% de la media</b>	<b>Valor de p</b>
Genotipo de respuesta a CHO bajos	15	-5,01	3,3723	0,8707	-6,878	-3,142	0,4164
Genotipo de respuesta a grasas bajas	9	-3,967	2,1554	0,7185	-5,623	-2,31	
<b>Pérdida de peso con dieta baja en grasas (dietas Ornish + LEARN)</b>							
<b>Patrón genotípico compuesto</b>	<b>Recuento</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>ET</b>	<b>LCI 100% de la media</b>	<b>LCS 100% de la media</b>	<b>Valor de p</b>
<i>Genotipo de respuesta a CHO bajos</i>	30	-2,39833	2,1344	0,3897	-2,398	-2,398	0,0068
<i>Genotipo de respuesta a grasas bajas</i>	18	-4,62778	3,3262	0,784	-4,628	-4,628	
<b>Pérdida de peso con dieta baja en grasas (dieta Ornish)</b>							
<b>Patrón genotípico compuesto</b>	<b>Recuento</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>ET</b>	<b>LCI 100% de la media</b>	<b>LCS 100% de la media</b>	<b>Valor de p</b>
Genotipo de respuesta a CHO bajos	16	-2,13125	1,6938	0,4235	-2,131	-2,131	0,0328 12
Genotipo de respuesta a grasas bajas	6	-4,81667	3,9154	1,5985	-4,817	-4,817	
<b>Pérdida de peso con dietas moderadas en grasas (Zone + LEARN)</b>							
<b>Patrón genotípico compuesto</b>	<b>Recuento</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>ET</b>	<b>LCI 100% de la media</b>	<b>LCS 100% de la media</b>	<b>Valor de p</b>
Genotipo de respuesta a CHO bajos	30	-2,87667	2,6313	0,4804	-2,877	-2,877	0,223862
Genotipo de respuesta a grasas bajas	20	-3,8875	3,1357	0,7012	-3,888	-3,888	

**TABLA 12:**

<b>Pérdida de peso con dieta equilibrada (dieta Zone)</b>							
<b>Patrón genotípico compuesto</b>	<b>Recuento</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>ET</b>	<b>LCI 100% de la media</b>	<b>LCS 100% de la media</b>	<b>Valor de p</b>
Genotipo de respuesta a CHO bajos	16	-3,028	2,7492	0,6873	-3,028	-3,028	0,9298
Genotipo de respuesta a grasas bajas	8	-2,919	3,0048	1,0623	-2,919	-2,919	
<b>Pérdida de peso con dieta baja en grasa y baja en CHO (dieta LEARN)</b>							
<b>Patrón genotípico compuesto</b>	<b>Recuento</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>ET</b>	<b>LCI 100% de la media</b>	<b>LCS 100% de la media</b>	<b>Valor de p</b>
Genotipo de respuesta a CHO bajos	14	-2,704	2,5816	0,6899	-2,704	-2,704	0,0591
Genotipo de respuesta a grasas bajas	12	-4,533	3,1781	0,9174	-4,533	-4,533	
<b>Pérdida de peso con las dietas ZONE + LEARN + Ornish</b>							
<b>Patrón genotípico compuesto</b>	<b>Recuento</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>ET</b>	<b>LCI 100% de la media</b>	<b>LCS 100% de la media</b>	<b>Valor de p</b>
Genotipo de respuesta a CHO bajos	46	-2,617	2,3553	0,3473	-2,617	-2,617	0,0292
Genotipo de respuesta a grasas bajas	26	-4,102	3,2708	0,6415	-4,102	-4,102	

TABLA 13. Pérdida de peso media de los individuos: Grupos dietéticos

Patrón genotípico	Duración (meses)	Atkins			LEARN			Ornish			ZONE		
		N	Media	Error típico	N	Media	Error típico	N	Media	Error típico	N	Media	Error típico
Equilibrado	2	3	-5,15	1,0332	1	-3,05		1	-2,75		0		
	6	3	-6,1	1,4012	1	-1,4		1	-5,6		0		
	12	3	-3,483	2,0119	1	0,5		1	-1,6		0		
GCB	2	15	-5,01	0,8707	14	-2,704	0,6899	16	-2,131	0,4235	16	-3,028	0,6873
	6	15	-7,073	2,1215	14	-3,277	1,5747	16	-2,089	1,2381	16	-3,494	1,1501
	12	15	-6,204	2,7249	14	-2,831	1,7419	16	-0,885	1,747	16	-2,31	1,1729
GGB	2	9	-3,967	0,7185	12	-4,533	0,9174	6	-4,817	1,5985	8	-2,919	1,0623
	6	9	-4,272	2,2073	12	-6,264	2,0623	6	-6,588	2,8429	8	-2,181	2,5386
	12	9	-0,911	2,2318	12	-5,077	2,0844	6	-7,9	5,1062	8	-3,725	2,7557

**EJEMPLO 4.** Efectos del genotipo sobre la respuesta al ejercicio vigoroso (intensivo) y normal (moderado).

- La movilización de los depósitos de ácidos grasos (lipólisis) en los adipocitos después del ejercicio se activa principalmente por media de hormonas de la glándula adrenal llamadas catecolaminas que circulan en la sangre y se unen a receptores beta adrenérgicos en los adipocitos. Los receptores beta adrenérgicos mejor estudiados, llamados receptor 2 adrenérgico (ADRB2) y receptor 3-adrenérgico (ADRB3), tienen SNP funcionales que alteran la estructura de aminoácidos del receptor y comprometen de ese modo la cinética de unión entre la catecolamina y el receptor. Se necesitan niveles aumentados de catecolaminas para activar los receptores en individuos que tienen lo SNP.
- Los estudios *in vitro* indican que la variante 16Gly de ADRB2 se ha asociado con una capacidad de respuesta a receptor adrenérgico deprimida. Los resultados de estudios de intervención también sugieren que los portadores de la variante 16Gly de ADRB2 son resistentes a la pérdida de peso inducida por el ejercicio o una combinación de dieta y ejercicio.
- La variante 64Arg de ADRB3 está asociada con una función de receptor reducida y, por tanto, con una capacidad reducida para la lipólisis en los adipocitos. Esto significa que, durante el ejercicio, se espera que los portadores de la variante presenten una lipólisis reducida y, por tanto, una capacidad reducida para quemar las grasas, lo cual podría esperarse que diera como resultado una pérdida de peso reducida en respuesta al ejercicio. Este resultado se confirmó mediante múltiples estudios de intervención que han demostrado sistemáticamente que la variante Arg64 está asociada con resistencia a perder peso (los portadores de la variante perdieron menos peso que los no portadores) en respuesta a la dieta o el ejercicio.
- Los datos predicen que es uno de ADRB3 (rs4994) 2.1 (C/T; 64 Arg/Trp) o 2.2 (C/C; 64 Arg/Arg) y uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 (G/G; 16 Gly/Gly) o 1.2 (G/A; 16 Gly/Arg) es predictivo de ser de menor respuesta al ejercicio, necesitando de ese modo ejercicio vigoroso (intensivo). Se predice que los sujetos con patrón genético de ADRB3 (rs4994) 2.1 (C/T; 64 Arg/Trp) o 2.2 (C/C; 64 Arg/Arg) y ADRB2 (rs1042713) 2.2 (A/A; 16 Arg/Arg) responderán menos al ejercicio, necesitando de ese modo ejercicio vigoroso (intensivo). Y se predice que los sujetos con patrón genético que incluye ADRB3 (rs4994) 1.1 (T/T; 64 Trp/Trp) y uno de ADRB2 (rs1042713) 1.1 (G/G; 16 Gly/Gly) o 1.2 (G/A; 16 Gly/Arg) responderán menos al ejercicio, necesitando de ese modo ejercicio vigoroso (intensivo). Sin embargo, se predice que los sujetos con patrón genético ADRB3 (rs4994) 1.1 (T/T; 64 Trp/Trp) y ADRB2 (rs1042713) 2.2 (A/A; 16 Arg/Arg) responden al ejercicio normal (moderado).

**TABLA 14**

<b>ADRB2</b>	1.1 o 1.2 G/G o G/A (16Gly/Gly o 16Gly/Arg)	Con respuesta al ejercicio de alta intensidad	Los individuos con esta variante del gen son menos capaces de movilizar sus depósitos de grasas para la energía en respuesta a un estrés fisiológico, tal como el ejercicio. Como resultado, movilizan menos grasa celular y pierden menos peso y grasa corporal de lo esperado en respuesta al ejercicio aeróbico. Además, tienen mayor riesgo de ganancia de peso de rebote.
	2.2 A/A (16Arg/Arg)	Con respuesta al ejercicio de intensidad moderada	Los individuos con este genotipo movilizan las grasas de sus adipocitos para la energía de forma eficaz como resultado del ejercicio aeróbico para la pérdida de peso. Tienen mayor probabilidad de perder peso y grasa corporal y de mantenerse.
<b>ADRB3</b>	2.1 o 2.2 C/T o C/C (64Arg/Trp o 64Arg/Arg)	Con respuesta al ejercicio de alta intensidad	Los individuos con este genotipo no rompen la grasa abdominal para la energía en respuesta a un estrés fisiológico, tal como el ejercicio. Como resultado, tienen un metabolismo energético más lento y no tienen tanta respuesta a los efectos beneficiosos del ejercicio aeróbico (pérdida de peso, pérdida de grasa abdominal).
	1.1 T/T (64Trp/Trp)	Con respuesta al ejercicio de intensidad moderada	Los individuos con este genotipo tienen una tasa metabólica y una rotura de la grasa corporal abdominal normales. Los estudios han demostrado que estos individuos experimentan pérdida de peso involucrándose ante esta situación en ejercicio aeróbico moderado.

**35 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.

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.
- 5 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.
- 10 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.
- 15 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.
- 20 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.
- 25 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.
- 30 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.
- 35 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.
- 40 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.
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.
- 45 13. Jones JR, Barrick C, Kim K-A, Linder J, Blondeau B, et al. Deletion of PPAR $\gamma$  in adipose tissues of mice protects against high fat diet-induced obesity and insulin resistance. *PNAS* 102: 6207-6212, 2005.
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 $\gamma$ 2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 20: 284-287, 1998.
- 50 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
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.
- 55 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.
- 60 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-gamma2 gene with 3-year incidence of type 2 diabetes and body weight change in the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes* 51: 2581-2586, 2002.
- 65 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.

20. Meirhaeghe A, Helbecque N, Cottel D, Amouyel P. Impact of polymorphisms of the human p2-adrenoreceptor gene on obesity in a French population. *Intnl J Obesity* 24: 382-87, 2000.
- 5 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.
- 10 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.
- 15 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.
- 20 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.
- 25 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.
- 30 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.
- 35 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.
- 40 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.
- 45 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.
- 50 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.
- 55 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.
- 60 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.
- 65 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.
- 5 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.
- 10 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.
- 15 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.
- 20 42. Tchernof A, Starling RD, Walston JD, Shuldiner AR, et al. Obesity-related phenotypes and the  $\beta$ 3-adrenoreceptor gene variant in postmenopausal women. *Diabetes* 48:1425-1428, 1999.
- 25 43. Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, Pihlajamaki J, Mykkanen L, Kuusisto J, Laakso M, Fujimoto W, y Auwerx J. A Pro12Ala substitution in PPARgamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 20: 284-287, 1998.
- 30 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.
- 35 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.
- 40 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.
- 45 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.
- 50 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.
- 55 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.
- 60 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.
- 65 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.
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.
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.
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  $\alpha$  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.

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.
56. Kahara T, Hayakawa T, Nagai Y, Shimizu A, Takamura T. Gln27Glu polymorphism of the p2 adrenergic receptor gene in healthy Japanese men is associated with the change of fructosamine level caused by exercise. *Diabet Res Glin 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/obesity/trend/maps/index.htm>. Accessed 10/21/07.
59. National Center for Health Statistics, disponible en <http://www.cdc.gov/nchs/fastats/overwt.htm>. Accessed 10/21/07.
60. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000. *JAMA*, 288:1723-1727, 2002.
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*, 295:1549-155, 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.
63. Centers for Disease Control and Prevention disponible en <http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/obesity/consequenc-es.htm>. Accessed 10/21/07.
64. Centers for Disease Control and Prevention disponible en <http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/obesity/economicconsequences.htm>. Accessed 10/21/07.
65. Wolf AM, Colditz GA. Current estimates of the economic cost of obesity in the United States. *Obes Res* 6:97-106, 1998.
66. Finkelstein, EA, Fiebelkorn, IC, Wang, GNational medical spending attributable to overweight and obesity: How much, and who's paying? *Health Affairs* supl. 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.
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.
70. World Health Organization BMI Classification.
71. 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.
72. 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.
73. 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.

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para seleccionar un régimen dietético apropiado para la pérdida y/o mantenimiento del peso para un sujeto que comprende:

- 5
- a) 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
  - b) clasificar al sujeto basándose en la determinación de tres loci polimórficos en la etapa (a) en una categoría
- 10
- nutricional, en la que es predecible que el sujeto con un genotipo combinado de FABP2 rs1799883 1.1 G/G, PPARG rs1801282 1.1 C/C, y ADRB2 rs1042714 1.1 C/C responda a una dieta equilibrada.

2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 en el que la pérdida o mantenimiento del peso se produce durante un periodo de 2 a 12 meses.

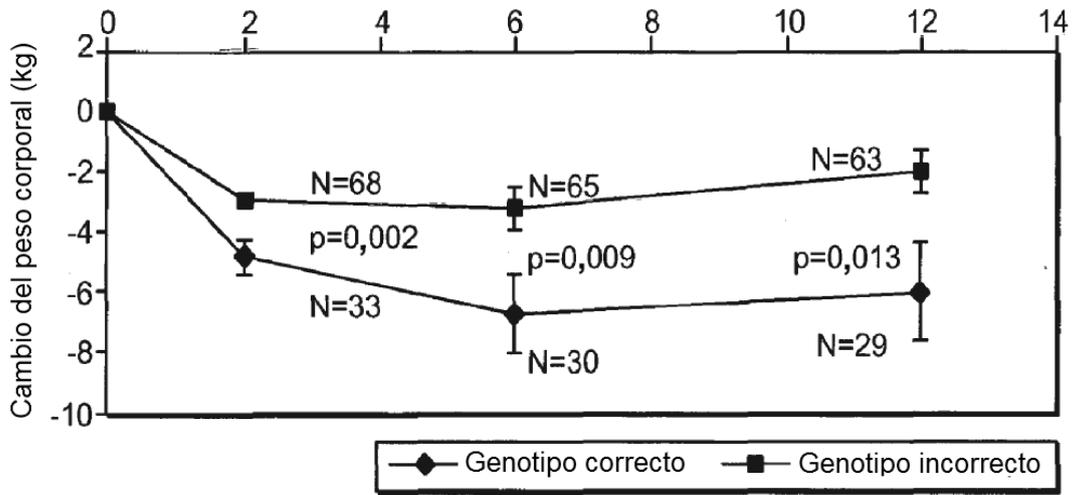


FIG. 1

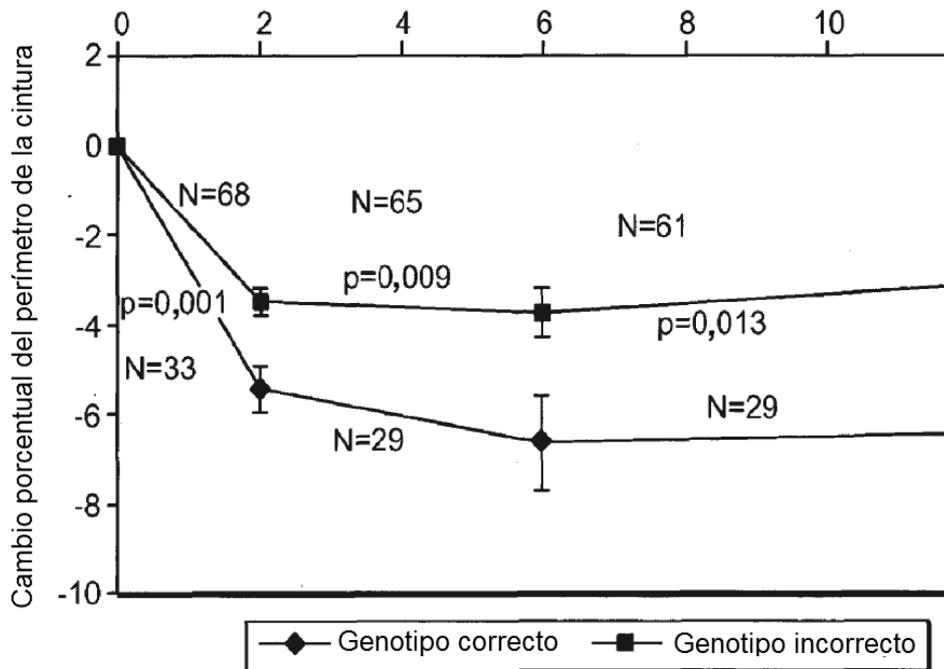


FIG. 2

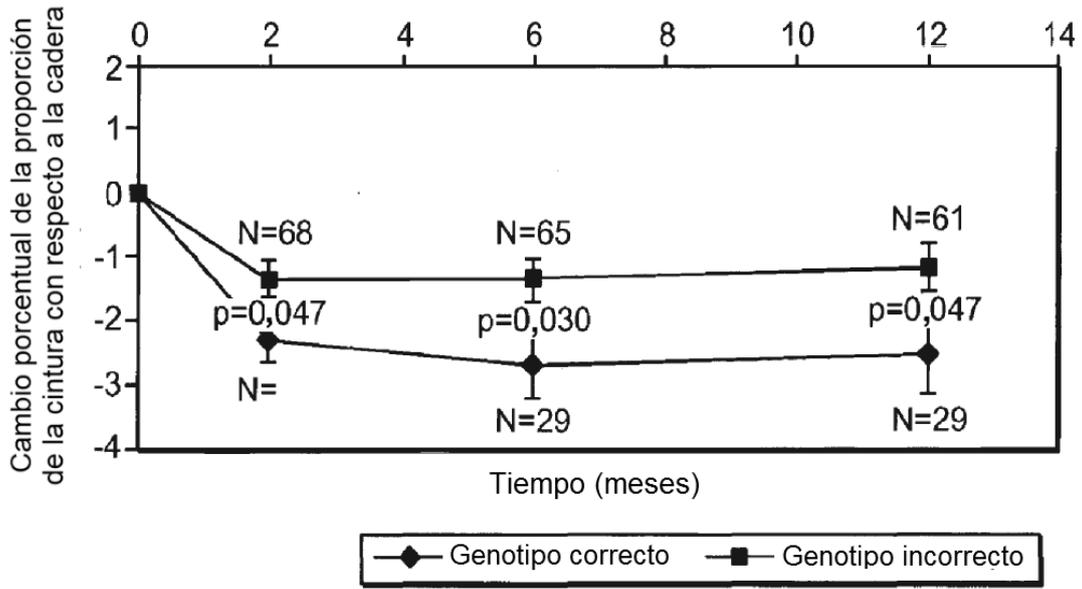


FIG. 3

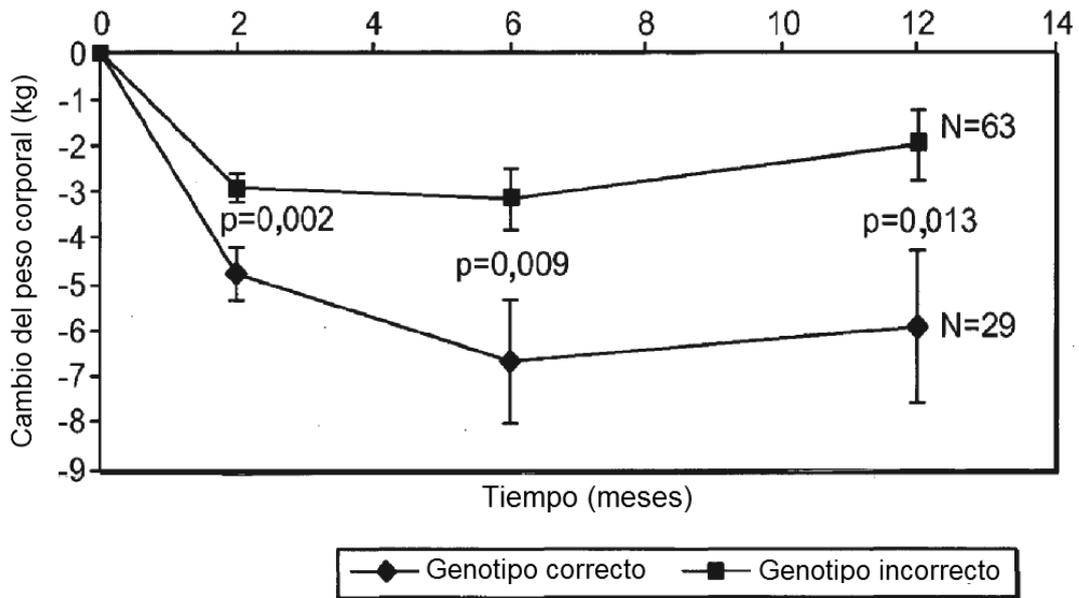


FIG. 4

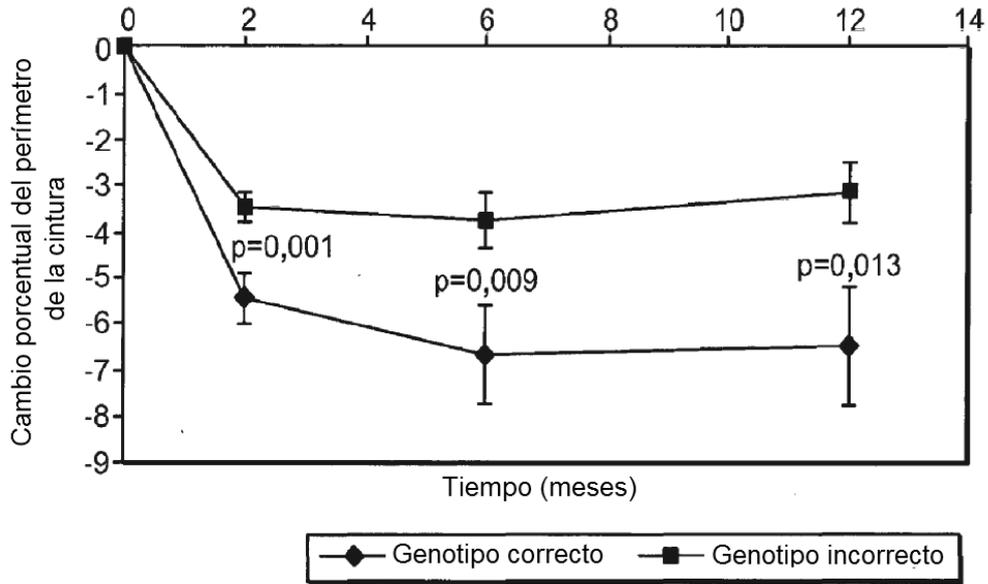


FIG. 5

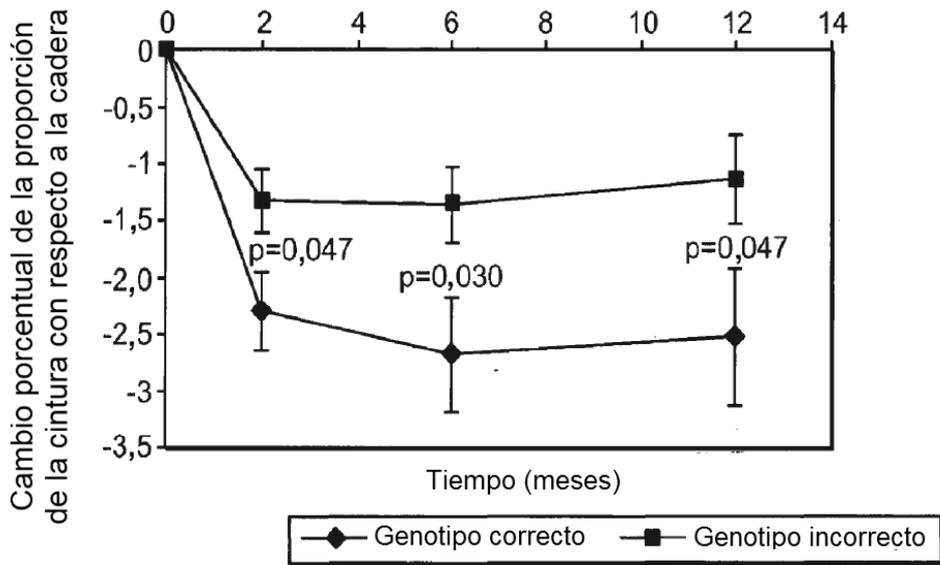


FIG. 6

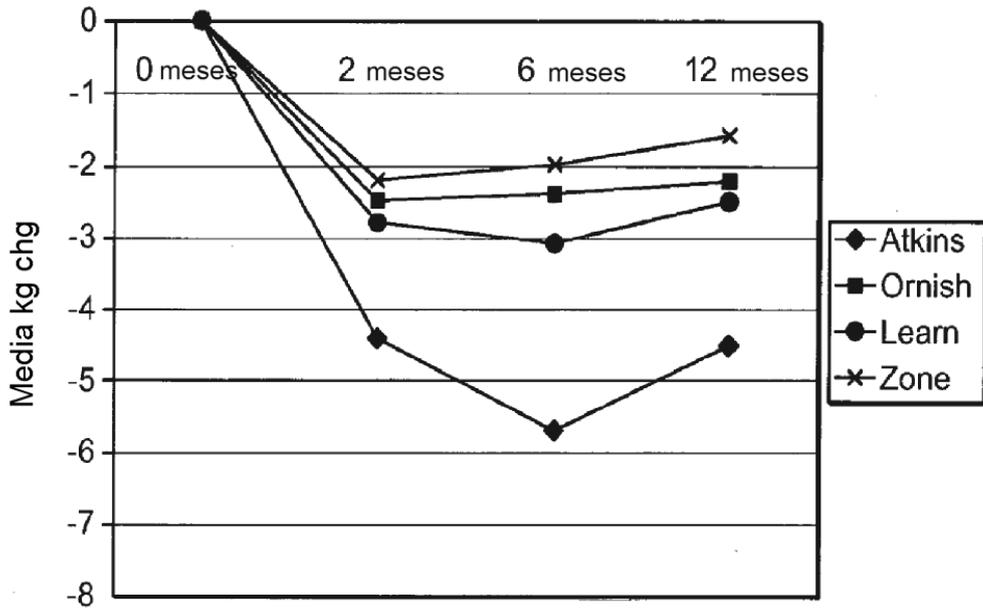


FIG. 7

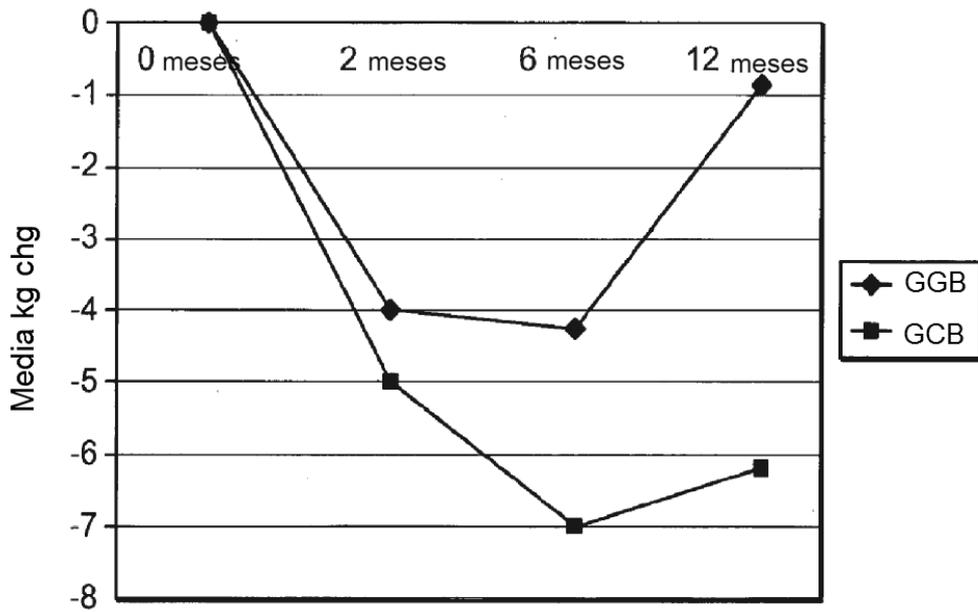


FIG. 8

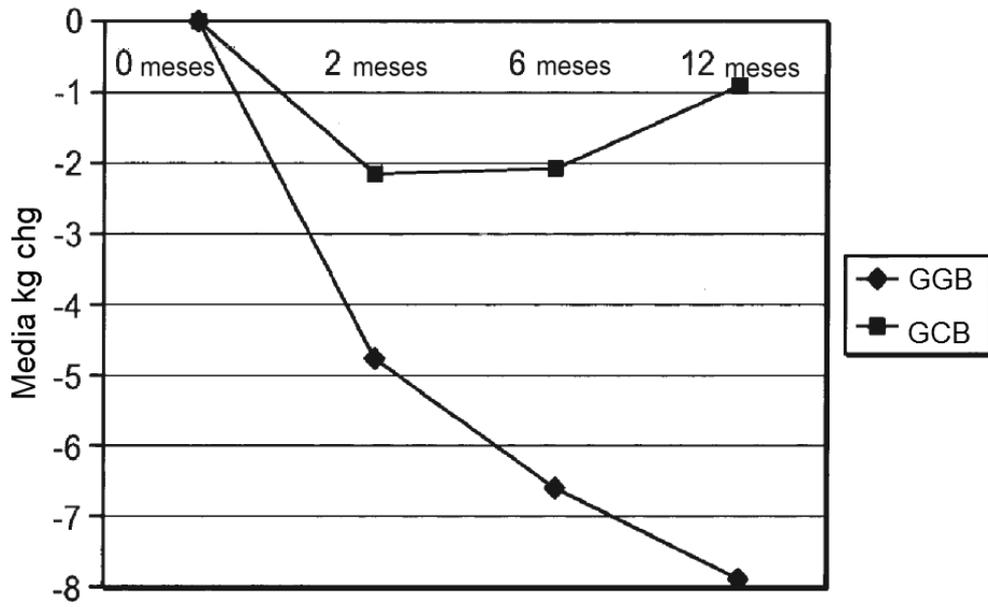


FIG. 9

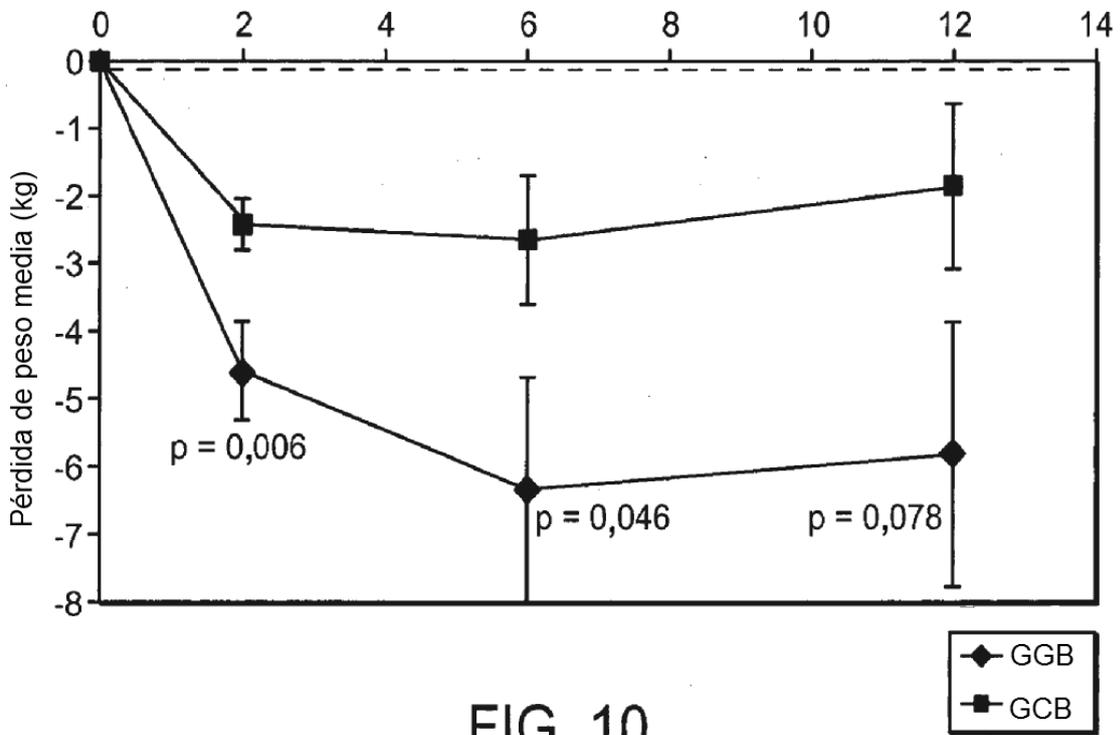


FIG. 10

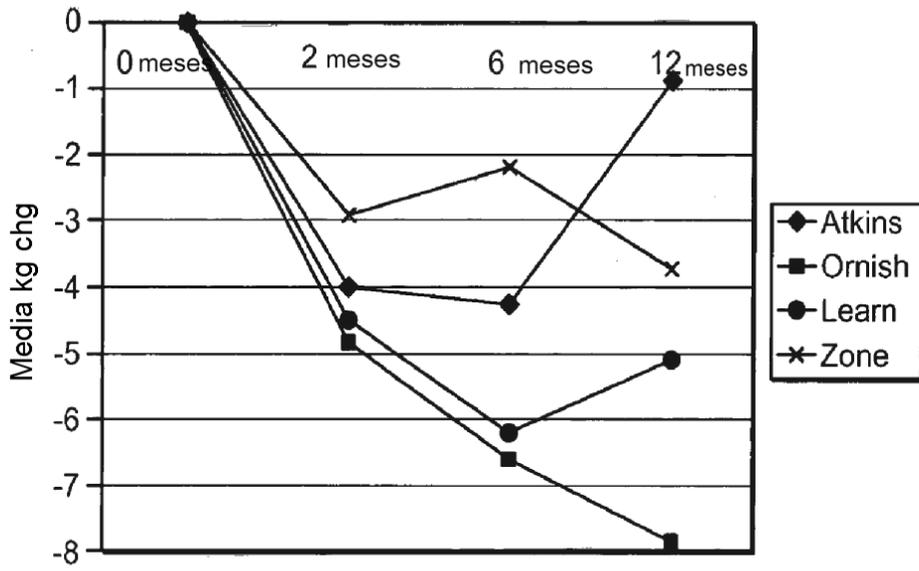


FIG. 11

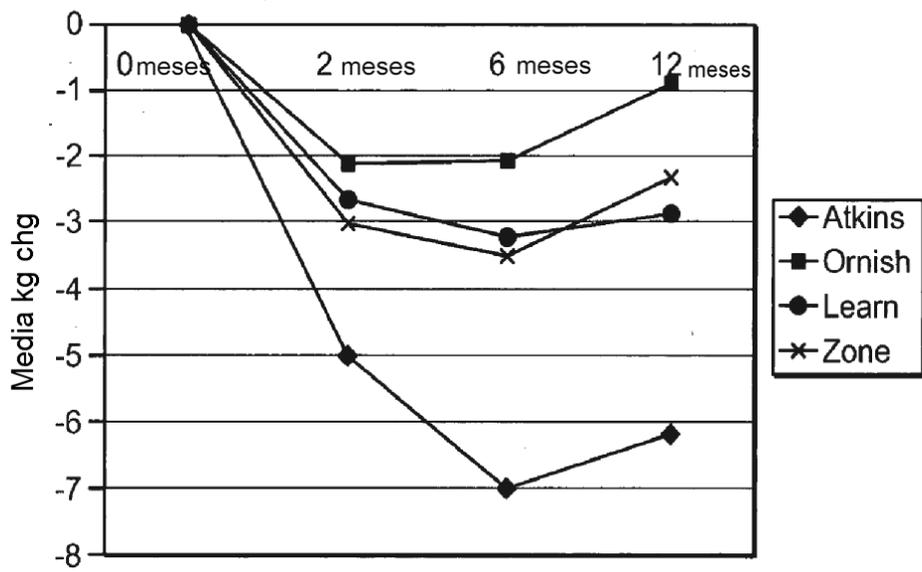


FIG. 12