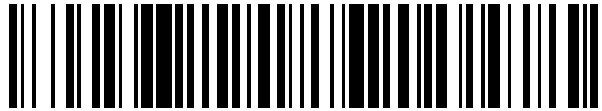


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 728 072**

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/6883** (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.10.2014 PCT/CA2014/051000**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.04.2015 WO15054792**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2014 E 14854407 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.02.2019 EP 3058106**

54 Título: **Marcadores genéticos para aumento de peso inducido por antipsicóticos y sus métodos de uso**

30 Prioridad:

**17.10.2013 US 201361892094 P**

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

**22.10.2019**

73 Titular/es:

**CENTRE FOR ADDICTION AND MENTAL HEALTH  
(100.0%)**

**33 Russell Street  
Toronto, ON M5S 2S1, CA**

72 Inventor/es:

**ZAI, CLEMENT C.;  
KENNEDY, JAMES L. y  
MUELLER, DANIEL J.**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 728 072 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 aumento de peso inducido por antipsicóticos y sus métodos de uso

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere al uso de marcadores genéticos. Más específicamente, la presente invención se refiere a marcadores genéticos en *GABRA2* que están asociados con el aumento de peso inducido por antipsicóticos y su uso.

10

## Antecedentes de la invención

El tratamiento de los síntomas de psicosis, por ejemplo, los síntomas de esquizofrenia (SCZ) con antipsicóticos se ha visto limitado por la poca eficacia y las reacciones adversas. Esto es especialmente cierto para los antipsicóticos de segunda generación, como la clozapina y la olanzapina, donde aproximadamente el 30% de los pacientes tratados experimentan un aumento de peso significativo. Los antipsicóticos se usan para tratar los síntomas psicóticos que se observan comúnmente en la esquizofrenia, el trastorno bipolar y la depresión psicótica. Se han utilizado cada vez más para controlar otros trastornos psiquiátricos, incluidos episodios maníacos bipolares y mixtos<sup>1</sup>, trastorno depresivo mayor<sup>2, 3</sup>, trastorno del espectro autista<sup>4, 5</sup>, trastorno de ansiedad generalizada, trastorno obsesivo-compulsivo, demencia<sup>6-8</sup>.

20

Aunque los mecanismos subyacentes de la respuesta antipsicótica y los efectos adversos siguen sin estar claros, los factores genéticos parecen desempeñar un papel destacado<sup>9-14</sup>.

25

Existe una evidencia creciente del papel del ácido gamma-aminobutírico (GABA) en la regulación de la ingesta de alimentos. El GABA se produce en muchas regiones del cerebro, incluidas las neuronas POMC (proopiomelanocortina) y del péptido relacionado con Agouti (AGRP) en el hipotálamo<sup>15, 16</sup>. La ablación mediada por la toxina diftérica de las neuronas AGRP secretoras de GABA indujo un fenotipo anoréxico en ratones (revisado en<sup>17</sup>). De manera similar, los ratones genéticamente deficientes en la liberación de GABA a partir de las neuronas AGRP fueron resistentes a la obesidad inducida por la ghrelina<sup>18</sup>. El mecanismo de esta resistencia podría ser a través de una disminución en la ingesta de alimentos y un aumento en el gasto de energía en estos ratones deficientes en GABA de AGRP<sup>18</sup>. Por el contrario, la administración de agonistas de GABA, que incluyen la benzodiazepina midazolam y L-838417, en el núcleo parabraquial en el tronco cerebral, aumentó la ingesta de alimentos<sup>19</sup>. Tanto los agonistas del receptor de GABA<sub>A</sub> como los de GABA<sub>B</sub> mejoraron la alimentación en roedores y otros modelos animales<sup>20-22</sup>. El gen *GABRA2*, en particular, fue uno de los principales hallazgos de un reciente metaanálisis de la obesidad en todo el genoma<sup>23</sup>, lo que lo convierte en un gen candidato atractivo para una investigación adicional sobre obesidad y fenotipos relacionados.

30

35

40

También hay evidencia acumulada de alteraciones en la neurotransmisión de GABA por varios fármacos antipsicóticos<sup>24-26</sup>. La clozapina y la olanzapina, en particular, pueden ejercer su actividad ansiolítica aumentando la neurotransmisión GABAérgica<sup>27</sup> a través de la acción alostérica de los esteroides neuroactivos, incluida la alopregnanolona en el receptor de GABA<sub>A</sub><sup>28</sup>. La adiposidad y el aumento de peso inducidos por la olanzapina se han correlacionado con mayores niveles de la enzima de síntesis de GABA, GAD65<sup>29</sup>.

45

El gen *GABRA2* (HGNC:4076), que se asigna a la región cromosómica 4p12, codifica el receptor de GABA<sub>A</sub>, la subunidad alfa 2. Si bien el gen *GABRA2* estaba implicado en la obesidad<sup>23</sup>, no se ha investigado en relación con el aumento de peso inducido por antipsicóticos.

50

Existe una necesidad en la técnica por marcadores genéticos novedosos. Además, existe una necesidad en la técnica por nuevos marcadores genéticos asociados con el aumento de peso inducido por antipsicóticos. Además, existe una necesidad en la técnica por marcadores de diagnóstico genético para el aumento de peso inducido por antipsicóticos que proporcione a los médicos y otros profesionales de la salud la oportunidad de generar decisiones informadas para prescribir medicamentos para el tratamiento de la psicosis. Además, existe una necesidad en la técnica de enfoques de medicina personalizados que reduzcan el riesgo de desarrollar aumento de peso inducido por antipsicóticos y enfermedades relacionadas tales como diabetes y enfermedades cardiovasculares.

55

Tiwari et al. (2010) Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry 34: 1484-1490 analiza que algunos polimorfismos en el gen del receptor de colecistoquinina B (CCKB) pueden desempeñar un papel en el aumento de peso inducido por antipsicóticos.

60

Chowdhury et al. (2013) Pharmacogenomics J. 13: 272-279 analiza que algunos polimorfismos en el gen del receptor de melanocortina 4 (MC4R) se asociaron con un aumento de peso inducido por antipsicóticos en pacientes con esquizofrenia.

## Sumario de la invención

65

La presente invención se refiere a marcadores genéticos. Más específicamente, la presente invención se refiere a marcadores genéticos en *GABRA2* que están asociados con el aumento de peso inducido por antipsicóticos y su uso.

Como una convención, todas las referencias a secuencias de nucleótidos en el presente documento se citan con respecto a la cadena positiva. Como entenderá un experto en la técnica, el gen *GABRA2* se transcribe a partir de la cadena negativa. Por lo tanto, se contempla completamente que la materia objeto de este documento puede practicarse tal como se explica en términos generales o se puede poner en práctica empleando/determinando/analizando el complemento de las secuencias de nucleótidos mencionadas en este documento.

Las siguientes secuencias de nucleótidos se examinaron en este estudio. Los sitios polimórficos se muestran subrayados en negrita:

- a) rs16859227 CCTTGGTTTTATACAAGCATGCAAAG[C/T]ATATAATAGAATCACATGGAAACAA (SEQ ID NO: 1),
- b) rs279858 ATTGTCATATTATGAGCTACTGATTTT[C/T]TTCCATTGTGAAAAAAGGTATCTG (SEQ ID NO: 2),
- c) rs1442060 GTAAAGTGCACATCAATGCCATATC[A/G]TATTCTGTAGATGGCATGTTATCAT (SEQ ID NO: 3),
- d) rs3849591 CTCATTTCTTGCTTCTAAGGTAGGG[G/T]TCATCAATTTATCTATCTCATGGGA (SEQ ID NO: 4),
- e) rs1442062 GAGAAGGTGAAATAGATTTAACTCAT[A/G]TATCAAATTAAGATTGCACCTTAAA (SEQ ID NO: 5),
- f) rs16859354 TACAATATCTCTTGACTCAATGAGCTTC[G/T]AATCTTAATAAGGTAACAAGAGAAA (SEQ ID NO: 6),
- g) rs11503014 AAGCTATGGAGATTACTTCCTGGACT[C/G]TGTGTAGGACTTGATGATTGAGAGA (SEQ ID NO: 7),
- h) rs6856130 TCTGTTCTGTTTTATCTGAGGCGATA[A/G]AATCCAAACGTGCAACTTGAACAAC (SEQ ID NO: 8), o
- i) rs1372472 ATAAACTCTGGTAATTCAAACCAA[A/T]ATTCCTCACTGAAAACCTATGCTTG (SEQ ID NO: 9).

Según la presente invención, se proporciona un método para predecir el cambio de peso de un sujeto en respuesta al tratamiento con un fármaco antipsicótico que comprende, determinar la presencia o ausencia de uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2* de un sujeto, en una muestra biológica que comprende ADN genómico obtenido del sujeto, en el que la presencia de dichos uno o más polimorfismos predice el cambio de peso del sujeto en respuesta al tratamiento con fármaco antipsicótico.

La presente invención proporciona un método para predecir el cambio de peso de un sujeto en respuesta al tratamiento con un fármaco antipsicótico que comprende, determinar la presencia o ausencia de uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2* del sujeto o su complemento, en una muestra biológica que comprende ADN genómico obtenido del sujeto, en el que la presencia de dichos uno o más polimorfismos predice la respuesta de peso del sujeto al tratamiento con fármaco antipsicótico, en el que el uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2* son relativos a:

- a) rs16859227 CCTTGGTTTTATACAAGCATGCAAAG[C/T]ATATAATAGAATCACATGGAAACAA (SEQ ID NO: 1) en donde la presencia de dos copias del alelo C se asocia con un porcentaje mayor de aumento de peso en los sujetos,
- b) rs279858 ATTGTCATATTATGAGCTACTGATTTT[C/T]TTCCATTGTGAAAAAAGGTATCTG (SEQ ID NO: 2) en donde la presencia de dos copias del alelo T se asocia con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos,
- c) rs1442062 GAGAAGGTGAAATAGATTTAACTCAT[A/G]TATCAAATTAAGATTGCACCTTAAA (SEQ ID NO: 5) en donde la presencia de dos copias del alelo G se asocia con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos,
- d) rs11503014 AAGCTATGGAGATTACTTCCTGGACT[C/G]TGTGTAGGACTTGATGATTGAGAGA (SEQ ID NO: 7) en donde la presencia de al menos una copia del alelo G se asocia con un porcentaje mayor de aumento de peso en los sujetos,
- e) rs6856130 TCTGTTCTGTTTTATCTGAGGCGATA[A/G]AATCCAAACGTGCAACTTGAACAAC (SEQ ID NO: 8) en donde la presencia de al menos una copia del alelo G está asociada con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos, o
- f) rs1372472 ATAAACTCTGGTAATTCAAACCAA[A/T]ATTCCTCACTGAAAACCTATGCTTG (SEQ ID NO: 9) en donde la presencia de dos copias del alelo A se asocia con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos.

En las realizaciones adicionales de la invención se proporcionan en las reivindicaciones adjuntas.

En una realización adicional, se proporciona un método como se describió anteriormente, que comprende además al menos una etapa seleccionada del grupo que consiste en a) tratar al sujeto con una o más terapias basadas en los resultados obtenidos de dicha determinación de la presencia o ausencia de uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2* b) asesorar y/o aconsejar al sujeto con respecto a los resultados de determinar la presencia o ausencia de uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2*; c) transmitir, asesorar y/o transmitir los resultados a un médico, proveedor de servicios médicos u otro tercero; d) tratar al sujeto con uno o más tratamientos antipsicóticos particulares según los resultados; e) tratar al sujeto antes, al mismo tiempo o después del tratamiento antipsicótico con una o más terapias o compuestos terapéuticos para controlar el aumento de peso; f) controlar el peso del sujeto durante un período de tiempo; g) prescribir, recomendar o someter al paciente o sujeto a cambios de dieta o ejercicio; h) controlar al sujeto por el síndrome metabólico, i) controlar al sujeto por una enfermedad cardiovascular o síntomas de la misma o cualquier combinación de a-i).

El presente invento también proporciona un método como el descrito anteriormente, en el que el sujeto ha sido diagnosticado con esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo, es probable que desarrolle esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo, o exhibe uno o más síntomas de esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo. En una realización adicional, que no pretende ser limitante de ninguna manera, también se contempla que el sujeto aún no haya sido diagnosticado con esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo antes de que se realice el método descrito en este documento.

De acuerdo con una realización adicional, se proporciona un método como se describió anteriormente en el que el uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2* son relativos a:

a) rs16859227 CCTTGGTTTTATACAAGCATGCAAAG[C/T]ATATAATAGAATCACATGGAAACAA (SEQ ID NO: 1), o

b) rs279858 ATTGTCATATTATGAGCTACTGATTTT[T/C]TTCCATTGTGAAAAAAGGTATCTG (SEQ ID NO: 2),

en donde el sitio polimórfico está entre corchetes, subrayado y en negrita.

En una realización adicional, se proporciona un método como se describió anteriormente, en el que al menos uno de los polimorfismos se define mediante la SEQ ID NO: 1 o una variante o fragmento de la misma que comprende el sitio polimórfico. Como se indicó anteriormente, el método también puede ponerse en práctica determinando la presencia o ausencia del complemento de la secuencia de nucleótidos definida por la SEQ ID NO: 1, incluido el complemento del sitio polimórfico.

En una realización adicional, se proporciona un método como se describió anteriormente, en el que al menos uno de los polimorfismos se define por la SEQ ID NO: 2 o una variante o fragmento de la misma que comprende el sitio polimórfico. Como se indicó anteriormente, el método también puede ponerse en práctica determinando la presencia o ausencia del complemento de la secuencia de nucleótidos definida por la SEQ ID NO: 2, incluido el complemento del sitio polimórfico.

También se proporciona un método como se definió anteriormente, en el que la presencia del alelo C (genotipo C/C) del polimorfismo rs16859227 (SEQ ID NO: 1) está asociada con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos. También se proporciona un método como se definió anteriormente, en el que la presencia de dos copias del alelo T (genotipo T/T) del polimorfismo rs279858 (SEQ ID NO: 2) se asocia con un porcentaje de aumento de peso más alto en los sujetos.

También se proporciona un método como se describió anteriormente, en el que la muestra es una muestra de sangre.

Además, se proporciona un kit que comprende uno o más de los siguientes:

a) uno o más cebadores para amplificar una secuencia de nucleótidos que comprende el polimorfismo como se define en las SEQ ID NOs: 1-9, o una combinación de los mismos;

b) una o más sondas que hibridan con cualquiera de las SEQ ID NOs: 1-9, sobre una región de nucleótidos que comprende el sitio polimórfico, en donde dicha sonda hibrida con una variante particular de los polimorfismos mostrados en el sitio polimórfico. Sin querer estar limitado de ninguna manera, las sondas pueden marcarse con un grupo apropiado, por ejemplo, una etiqueta fluorescente, fluoróforo, etiqueta radioactiva o similar. Además, las una o más sondas pueden estar asociadas de forma covalente o físicamente con un soporte, por ejemplo, pero sin limitarse a un biochip, matriz, portaobjetos, placa de múltiples pocillos, perla o similar. En una realización, que no pretende ser limitante de ninguna manera, las sondas pueden comprender una matriz de ácidos nucleicos.

c) uno o más reactivos y/o productos que incluyen, pero no se limitan a, uno o más reguladores para realizar la PCR o hibridación de la sonda, o cualquier etapa en un proceso tal como sería conocido por una persona experta en la técnica, uno o más enzimas amplificadoras de ADN, o cualquier combinación de las mismas;

d) uno o más reactivos, componentes y productos para el genotipado de los polimorfismos como se describen en el presente documento, incluidos, entre otros, los utilizados en ensayos de exonucleasa, secuenciación de nucleótidos o cualquier combinación de los mismos;

e) uno o más reactivos, componentes o productos para realizar una reacción de secuenciación de ADN que determina la secuencia de una secuencia de nucleótidos que comprende una cualquiera de las SEQ ID NOs: 1-9 o una combinación de las mismas, y;

f) uno o más conjuntos de instrucciones para usar los componentes como se describe en este documento, practicando los métodos de la presente invención como se describe en este documento, interpretando los datos obtenidos al practicar los métodos de la presente invención o cualquier combinación de los mismos.

Este resumen de la invención no describe necesariamente todas las características de la invención.

#### Descripción detallada

5 La siguiente descripción es de una realización ilustrativa.

La presente invención proporciona marcadores genéticos que pueden usarse para predecir la susceptibilidad de un sujeto al cambio de peso en respuesta a la terapia con fármacos antipsicóticos. Como se describe con más detalle a continuación, se pueden usar polimorfismos específicos en el gen *GABRA2* para predecir el cambio de peso de un sujeto en respuesta a la terapia con medicamentos antipsicóticos. En una segunda realización, se pueden usar polimorfismos específicos en el gen *GABRA2* para ayudar a determinar un régimen de tratamiento para un sujeto diagnosticado con esquizofrenia o para un sujeto con probabilidad de desarrollar esquizofrenia. En una tercera realización, se pueden usar polimorfismos específicos en el gen *GABRA2* en el tratamiento de un sujeto esquizofrénico. En una cuarta realización, se proporciona un método para tratar a un sujeto con medicación antipsicótica, en el que el método comprende identificar uno o más polimorfismos específicos en el gen *GABRA2* como parte del régimen de tratamiento. Otras realizaciones también se proporcionan como se describe en el presente documento.

El estudio descrito en los ejemplos y como se menciona aquí y en todo el presente estudio investigó el efecto de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) a través del gen *GABRA2* sobre la respuesta de peso a la medicación antipsicótica en múltiples poblaciones esquizofrénicas distintas. Los sujetos incluyeron 160 pacientes de ascendencia europea con diagnóstico DSM-III-R/IV de esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo. Los resultados indican que el genotipo T/T del marcador rs279858 se asoció con un porcentaje de cambio de peso mayor que los genotipos portadores del alelo C (por ejemplo, los genotipos T/C o C/C). El marcador rs16859227 también se asoció significativamente con un mayor porcentaje de cambio de peso en una submuestra de sujetos con esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo que tomaban clozapina u olanzapina. Los resultados indican que el genotipo C/C del marcador rs16859227 se asoció con un mayor porcentaje de cambio de peso que los genotipos que portan el alelo T (por ejemplo, los genotipos T/T o T/C). Otros resultados interesantes también se proporcionan aquí, particularmente en las Tablas 1 y 2.

Según una realización de la presente invención, se proporciona un método para predecir el cambio de peso de un sujeto en respuesta al tratamiento con fármaco antipsicótico que comprende:

- a) obtener una muestra biológica que comprende ADN genómico del sujeto;
- b) determinar la presencia o ausencia de uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2* del sujeto, en donde la presencia de dichos uno o más polimorfismos es predictiva de la susceptibilidad del sujeto al cambio de peso en respuesta al tratamiento con medicamentos antipsicóticos.

En una realización adicional, que no pretende ser limitativa de ninguna manera, el método puede comprender una o más etapas adicionales, por ejemplo, pero sin limitarse a asesorar y/o aconsejar al sujeto con respecto a los resultados de la determinación de la presencia o ausencia de uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2*; transmitir, asesorar y/o transmitir los resultados a un médico, proveedor de servicios médicos u otro tercero; tratar al sujeto con uno o más tratamientos antipsicóticos en particular según los resultados; tratar al sujeto antes, simultáneamente con o después del tratamiento antipsicótico con una o más terapias para controlar el aumento de peso; controlar el peso del sujeto durante un período de tiempo, controlar al sujeto por un síndrome metabólico o el desarrollo de un síndrome metabólico que puede incluir la medición de los perfiles lipídicos en sangre, incluidos triglicéridos y triglicéridos, niveles de glucosa en sangre, índice de masa corporal (IMC) y obesidad central. Como la enfermedad cardiovascular puede ser consecuencia del síndrome metabólico, los médicos también pueden controlar el desarrollo de una enfermedad cardíaca. Los siguientes síntomas de enfermedad cardíaca pueden ser controlados, incluyendo presión arterial elevada, angina de pecho, insuficiencia cardíaca, dificultad para respirar, pulso rápido o irregular, tos y náuseas, o cualquier combinación de los anteriores. Con base en la prueba, si, por ejemplo, un sujeto con SCZ muestra el genotipo T/T para el marcador rs279858, se puede recomendar un control de peso más frecuente, así como la administración de un supresor del apetito o un fármaco hipoglucémico, por ejemplo, pero no limitado a una sulfonilurea, tiazolidindiona, inhibidor de la alfa glucosidasa o metformina, un plan de dieta, un régimen de ejercicio o sus combinaciones, además de medicamentos antipsicóticos. Además, a partir de los resultados proporcionados, los sujetos que muestran el genotipo T/T para el marcador rs279858 preferiblemente no se tratan con antipsicóticos de segunda generación (especialmente aquellos con mayor propensión al aumento de peso: por ejemplo, clozapina, olanzapina), sino que deben tratarse con antipsicóticos con menor propensión al aumento de peso<sup>30</sup> (incluida la flufenazina, aripiprazol, ziprasidona, haloperidol, loxapina, lurasidona, iloperidona, asenapina y molindona).

De este modo, en función del genotipo del paciente, un médico puede desear evitar la prescripción de antipsicóticos que causan un mayor o el nivel más alto de aumento de peso, entre ellos: olanzapina y clozapina. Se pueden prescribir medicamentos de riesgo moderado, como paliperidona, perfenazina, tioridazina, clorpromazina, risperidona y quetiapina, con un control más frecuente del síndrome metabólico y los índices de enfermedad cardíaca. Por último, un médico puede desear elegir un medicamento de menor riesgo para el aumento de peso inducido, estos

medicamentos incluyen: loxapina, iloperidona, asenapina, lurasidona, ziprasidona, aripiprazol, flufenazina y haloperidol.

Como se describió anteriormente, pero sin querer ser considerados limitantes, se pueden usar polimorfismos específicos en el gen *GABRA2* para ayudar a determinar un régimen de tratamiento para un sujeto diagnosticado con esquizofrenia (o trastorno esquizoafectivo) o con probabilidad de desarrollar esquizofrenia (o trastorno esquizoafectivo). Por ejemplo, pero no deseando ser considerado limitante de ninguna manera, la presente invención proporciona un método para determinar un régimen de tratamiento para un sujeto diagnosticado con esquizofrenia o que pueda desarrollar esquizofrenia que comprende,

a) obtener una muestra biológica que comprende ADN genómico del sujeto;

b) determinar la presencia o ausencia de uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2* del sujeto, en donde la presencia de dichos uno o más polimorfismos predice el cambio de peso del sujeto en respuesta al tratamiento con medicamentos antipsicóticos, en donde

la presencia de uno o más polimorfismos de *GABRA2* como se describe en este documento y/o la ausencia de uno o más polimorfismos de *GABRA2* como se describe en este documento, definen un régimen de tratamiento para el sujeto.

En una realización de este tipo, el método puede comprender además una etapa de tratamiento del sujeto como se describió anteriormente, a continuación o en cualquier lugar del presente documento.

Además, como se describió anteriormente, se pueden usar polimorfismos específicos en el gen *GABRA2* para tratar a un sujeto esquizofrénico o cómo tratar a un sujeto que puede estar predispuesto a la esquizofrenia. En tal realización, la presente invención proporciona un método para tratar a un sujeto esquizofrénico o un sujeto que puede estar predispuesto a esquizofrenia que comprende,

a) obtener una muestra biológica que comprende ADN genómico del sujeto;

b) determinar la presencia o ausencia de uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2* del sujeto, en donde la presencia de dichos uno o más polimorfismos predice el cambio de peso del sujeto en respuesta al tratamiento con medicamentos antipsicóticos, en donde

la presencia de uno o más polimorfismos de *GABRA2* como se describe en este documento y/o la ausencia de uno o más polimorfismos de *GABRA2* como se describe en este documento, define un régimen de tratamiento para el sujeto.

En una realización de este tipo, el método puede comprender además una etapa de tratamiento del sujeto como se describió anteriormente o en cualquier lugar del presente documento.

Por el término "uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2*" se entiende uno o más polimorfismos en las secuencias de nucleótidos como se define por:

a) rs16859227 CCTTGGTTTTATACAAGCATGCAAAG[C/T]ATATAATAGAATCACATGGAAACAA (SEQ ID NO: 1),

b) rs279858 ATTGTCATATTATGAGCTACTGATTTT[C/T]TTCCATTGTGAAAAAAGGTATCTG (SEQ ID NO: 2),

c) rs1442060 GTAAAGTGTACATCAATGCCATATC[A/G]TATTCTGTAGATGGCATGTTATCAT (SEQ ID NO: 3),

d) rs3849591 CTCATTTCTTGCTTCTAAGGTAGGG[G/T]TCATCAATTTATCTATCTCATGGGA (SEQ ID NO: 4),

e) rs1442062 GAGAAGGTGAAATAGATTTAACTCAT[A/G]TATCAAATTAAGATTGCACCTTAAA (SEQ ID NO: 5),

f) rs16859354 TACAATATCTCTTGACTCAATGAGCTTC[G/T]AATCTTAATAAGGTAACAAGAGAAA (SEQ ID NO: 6),

g) rs11503014 AAGCTATGGAGATTACTTCCTGGACT[C/G]TGTGTAGGACTTGATGATTGAGAGA (SEQ ID NO: 7),

h) rs6856130 TCTGTTCTGTTTTATCTGAGGCGATA[A/G]AATCCAAACGTGCAACTTGAACAAC (SEQ ID NO: 8), o

i) rs1372472 ATAAACTCTGGTAATTCAAACCAA[A/T]ATTCCTCACTGAAAATGCTTG (SEQ ID NO: 9)

en donde el sitio polimórfico en cada secuencia se muestra en corchetes, subrayado y en negrita, en relación con las secuencias de nucleótidos secuencia arriba y secuencia abajo de las mismas. En una realización particularmente preferida, uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2* comprenden rs16859227, rs279858 o ambos. Como se indicó anteriormente, la invención también puede ponerse en práctica determinando la presencia o ausencia del complemento de la secuencia de nucleótidos definida por las SEQ ID NOs indicadas anteriormente, incluido el complemento del sitio polimórfico.

La presente invención también contempla uno o más polimorfismos en una o más secuencias de nucleótidos en el gen *GABRA2* que comprende entre aproximadamente 90% y 100% de identidad de secuencia, por ejemplo, pero no limitado a 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, 99,9% o 100% de identidad de secuencia con las SEQ ID NOs: 1-9, preferiblemente las SEQ ID NOs: 1, 2 o ambas SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2, y en la que la secuencia también comprende el polimorfismo respectivo como se muestra arriba en corchetes subrayado y en negrita. Por ejemplo, pero no se considera limitante de ninguna manera, el primer nucleótido que se muestra en la SEQ ID NO: 1 es una "C". La presente invención pretende incluir una secuencia que es sustancialmente idéntica a la SEQ ID NO: 1, pero que comprende, por ejemplo, pero no se limita a, una "A", "G" o "T" en la posición número 1, ya que la secuencia de nucleótidos variante exhibe más del 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 1 y comprende el polimorfismo mostrado entre paréntesis, subrayado y en negrita. La invención también puede ponerse en práctica determinando la presencia o ausencia del complemento de la secuencia de nucleótidos definida por las SEQ ID NOs indicadas anteriormente, incluido el complemento del sitio polimórfico.

Para determinar si un ácido nucleico exhibe similitud o una identidad porcentual con las secuencias presentadas en este documento, se pueden usar algoritmos de alineación de oligonucleótidos, por ejemplo, pero no se limitan a BLAST (URL de GenBank: [www.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/), usando parámetros predeterminados: Programa: blastn; Base de datos: nr; Expectativa 10; filtro: predeterminado; Alineación: por pares; Códigos genéticos de consulta: Estándar (1)), BLAST2 (EMBL URL: <http://www.embl-heidelberg.de/Services/index.html> usando parámetros predeterminados: Matriz BLOSUM62; Filtro: predeterminado, ecofiltro: encendido, Expectativa: 10, corte: predeterminado; Cadena: ambas; Descripción: 50, Alineaciones: 50), o FASTA, búsqueda, utilizando parámetros predeterminados. Los algoritmos de alineación de polipéptidos también están disponibles, por ejemplo, sin limitación, secuencias de BLAST 2 ([www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/bl2seq/bl2.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/bl2seq/bl2.html), usando parámetros predeterminados, Programa: blastp; Matriz: BLOSUM62; Brecha abierta (11) y las penalizaciones por extensión de brechas (1); brecha x desconexión: 50; Expectativa 10; Tamaño de palabra: 3; filtro: predeterminado).

Una indicación alternativa de que dos secuencias de ácido nucleico son sustancialmente complementarias entre sí es que las dos secuencias se hibridan entre sí en condiciones moderadamente rigurosas, o preferiblemente rigurosas. La hibridación con secuencias unidas al filtro en condiciones moderadamente rigurosas se puede realizar, por ejemplo, en NaHPO<sub>4</sub> 0,5 M, dodecil sulfato de sodio al 7% (SDS), EDTA 1 mM a 65°C y lavado en 0,2 x SSC/SDS al 0,1% a 42°C durante al menos 1 hora (véase Ausubel, et al. (eds.), 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, Green Publishing Associates, Inc., y John Wiley & Sons, Inc., New York, en la página 2.10.3). Alternativamente, la hibridación con secuencias unidas a un filtro en condiciones rigurosas puede realizarse, por ejemplo, en NaHPO<sub>4</sub> 0,5 M, SDS al 7%, EDTA 1 mM a 65°C y lavado en 0,1 x SSC/SDS al 0,1% a 68°C durante al menos 1 hora. Las condiciones de hibridación pueden modificarse de acuerdo con los métodos conocidos, dependiendo de la secuencia de interés (véase Tijssen, 1993, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology -- Hybridization with Nucleic Acid Probes, Parte I, Capítulo 2 "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid probe assays", Elsevier, Nueva York). En general, pero no deseando ser limitantes, las condiciones rigurosas se seleccionan para que sean aproximadamente 5°C más bajas que el punto de fusión térmico para la secuencia específica a una fuerza iónica y pH definidos. La presente invención también contempla secuencias de nucleótidos que hibridan con una secuencia de nucleótidos que comprende o que consiste en las SEQ ID NOs: 1-9, preferiblemente las SEQ ID NOs: 1-2 en condiciones de hibridación rigurosas.

En una realización preferida, la presencia de un alelo particular en el sitio polimórfico, por ejemplo, pero sin limitarse a lo proporcionado por las SEQ ID NOs: 1-2 se determina en relación con la secuencia de nucleótidos adyacente secuencia arriba y secuencia abajo del sitio polimórfico, por ejemplo, pero no limitado a, aproximadamente 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 nucleótidos secuencia arriba y/o aproximadamente 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 nucleótidos secuencia abajo del sitio polimórfico. Sin embargo, la presente invención también contempla que la presencia de un alelo particular puede determinarse en relación con la secuencia de nucleótidos que comprende aproximadamente 20, 25, 30, 50 o más nucleótidos secuencia arriba (o cualquier número entre ellos) y aproximadamente 20, 25, 30, 50 y/o más nucleótidos secuencia abajo (o cualquier número entre ellos) del sitio polimórfico proporcionado por las SEQ ID NOs: 1-9, más preferiblemente las SEQ ID NOs: 1-2, respectivamente. El término "y/o" se usa para indicar específicamente que el número de nucleótidos continuos secuencia arriba y secuencia abajo no necesita ser el mismo. Otros medios y métodos de comparación de secuencias de nucleótidos para determinar si un polimorfismo particular o grupo de polimorfismos está presente en un sujeto, tal como sería conocido por un experto en la técnica, pueden emplearse en la práctica de la presente invención.

Por el término "predicción del cambio de peso de un sujeto en respuesta" se entiende predecir si es probable que el sujeto aumente de peso con el tratamiento antipsicótico en general, o con un tratamiento antipsicótico particular, por ejemplo, pero no limitado a antipsicóticos que incluyen clozapina y olanzapina.

En una realización de la presente invención, pero sin querer ser limitante de ninguna manera, el método descrito en este documento puede emplearse para determinar el cambio de peso de un sujeto en respuesta a la medicación antipsicótica, en el que en el momento del cribado el sujeto parece sano. Esta información puede ser importante cuando se seleccionan sujetos con antecedentes familiares de esquizofrenia u otros trastornos con síntomas esquizofrénicos o psicóticos, aunque en el momento del cribado, el sujeto puede tener pocos o ningún síntoma de la

enfermedad. El conocimiento de cómo es probable que un sujeto responda a la medicación antipsicótica puede ser útil para desarrollar regímenes de tratamiento si, por ejemplo, el sujeto desarrolla más adelante esquizofrenia o síntomas psicóticos y requiere tratamiento.

5 En una realización de la presente invención, los sujetos de cualquier raza étnica, edad, género o afección médica pueden someterse a prueba o cribarse para predecir el cambio de peso del sujeto en respuesta al tratamiento con fármacos antipsicóticos. En este sentido, un sujeto sano o un sujeto que no tiene ningún síntoma de una enfermedad o condición médica puede analizarse para determinar el cambio de peso en respuesta a la medicación antipsicótica. De esta manera, si alguna vez se necesita un tratamiento, se puede seleccionar y/o administrar un régimen adecuado de medicamentos y/o tratamiento al sujeto. En una realización preferida, un sujeto diagnosticado con un trastorno con uno o más síntomas psicóticos, esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo se analiza para predecir el cambio de peso en respuesta a la terapia con medicamentos antipsicóticos, por ejemplo, pero no limitado al tratamiento con clozapina, olanzapina, risperidona, quetiapina, haloperidol, perfenazina, tioridazina, ziprasidona, aripiprazol, clorpromazina, amisulprida, flufenazina, molindona, loxapina, paliperidona, iloperidona, asenapina, lurasidona o una combinación de los mismos.

Como se describió anteriormente, pero sin querer ser limitante de ninguna manera, al sujeto se le diagnostica esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo. Sin embargo, el sujeto que se examina puede comprender un individuo con uno o más síntomas psicóticos, síntomas de esquizofrenia, síntomas de trastorno esquizoafectivo o una combinación de los mismos, por ejemplo, pero sin limitarse a lo descrito en el DSM-IV. Los síntomas psicóticos pueden comprender síntomas positivos tales como, pero no limitados a distorsiones o exageraciones del pensamiento inferencial (es decir, delirios), percepción (es decir, alucinaciones), lenguaje y comunicación (habla desorganizada) y control conductual (conducta muy desorganizada o catatónica) o cualquiera combinación de los mismos. Además, los síntomas positivos pueden comprender distintas dimensiones, por ejemplo, dimensiones psicóticas que incluyen, pero no se limitan a delirios y alucinaciones, y dimensiones de desorganización que incluyen, pero no se limitan a, lenguaje y comportamiento desorganizados. Como se describió anteriormente, también se contempla que los síntomas pueden comprender uno o más síntomas negativos, por ejemplo, pero no limitados a los síntomas que reflejan una disminución o pérdida de la función normal (incluyendo, entre otras, pérdida de la motivación, pérdida de interés en la vida social, pérdida de comunicación, o una combinación de los mismos). Además, el sujeto puede exhibir una combinación de síntomas positivos y negativos. En una realización de la invención, el sujeto que se ha probado ha sido diagnosticado o se sospecha que tiene esquizofrenia o un trastorno esquizoafectivo.

Se puede usar cualquier tejido humano o muestra que proporcione ADN genómico para genotipado de los polimorfismos de *GABRA2*, incluidos, entre otros, sangre, saliva, cabello, líquido espinal, biopsia cerebral, células cultivadas obtenidas del sujeto, heces, orina, muestras de autopsia o secciones congeladas tomadas con fines histológicos. En ciertos ejemplos, la sangre se obtiene de un sujeto para su análisis con respecto a los polimorfismos de *GABRA2*. Como ejemplo, pero sin querer limitarse de ninguna manera, la sangre venosa se obtiene de un sujeto mediante técnicas estándar de venopunción.

El ADN del sujeto puede analizarse para determinar la presencia o ausencia de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) mediante cualquier técnica adecuada conocida en la técnica. Las técnicas representativas que pueden emplearse incluyen, sin limitación, análisis de PCR, secuenciación, ensayo de fluorescencia con exonucleasa 5', hibridación de sondas o una combinación de las mismas.

Los polimorfismos pueden ser genotipificados utilizando técnicas convencionales. Por ejemplo, la PCR que usa cebadores que incorporan sondas fluorescentes es una técnica adecuada. Además, pero no deseando ser considerados limitantes, pueden usarse cebadores que tengan secuencias apropiadas secuencia arriba y secuencia abajo del sitio polimórfico para amplificar las regiones de nucleótidos que comprenden los polimorfismos.

El análisis del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) es útil para detectar diferencias entre los alelos del gen *GABRA2*. Como se describió anteriormente, existen diversos métodos en la técnica para la genotipado de secuencias de nucleótidos que incluyen, pero no se limitan a, ensayos de exonucleasa 5', secuenciación y similares. Todos estos métodos deben incluirse en el presente documento. Además, varios métodos de PCR en tiempo real que pueden usarse para detectar SNP, incluidos, por ejemplo, Taqman o ensayos basados en balizas moleculares (patentes de Estados Unidos Nos. 5.210.015; 5.487.972; y PCT WO 95/13399) son útiles para controlar la presencia o ausencia de un SNP. Aún se conocen otros métodos de detección de SNP en la técnica, que incluyen, sin limitación, secuenciación de ADN, secuenciación por hibridación, transferencia de puntos, análisis de hibridación de matriz de oligonucleótidos (chip de ADN).

Applied Biosystems, Inc (Foster City, CA) ha desarrollado varios aspectos de la tecnología de genotipado de SNP. En un protocolo bien usado, la amplificación por PCR de una región de SNP deseada se lleva a cabo utilizando cebadores de direccionamiento, que incluyen dos sondas fluorogénicas específicas de alelo, cada una de las cuales consta de un colorante informador fluorescente diferente y un inactivador fluorescente. Antes de la PCR, la proximidad del inactivador al fluoróforo provoca la transferencia de energía de resonancia de fluorescencia (FRET), lo que reduce la fluorescencia del colorante informador. Durante la PCR, la actividad de la nucleasa 5' de Taq digiere la sonda



específica de alelo unida a la región del SNP, liberando el tinte fluorescente del inactivador y permitiendo la generación de una señal de fluorescencia.

El método para obtener una muestra y analizar su ADN no es crítico para la presente invención y se puede usar cualquier método (por ejemplo, Ausubel, et al. (eds.), 1989, *Current Protocols in Molecular Biology*, Green Publishing Associates, Inc., y John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, en la página 2.10.3, o Maniatis et al., en *Molecular Cloning (A Laboratory Manual)*, Cold Spring Harbor Laboratory, 1982, página 387-389). Por ejemplo, lo que no debe considerarse limitativo de ninguna manera, el ADN puede extraerse utilizando un procedimiento no enzimático con alto contenido de sal. Alternativamente, el ADN puede analizarse *in situ* o presente en fluidos corporales y/o tejidos. También se pueden usar otros métodos de análisis de ADN que son conocidos por los expertos en la técnica.

Varias colaboraciones científicas han intentado identificar y/o clasificar los SNP para genomas de varias especies, incluyendo *Homo sapiens*, *Arabidopsis thaliana*, *Caenorhabditis elegans*, *Ficedula albicollis*, *Ficedula hypoleuca*, *Gallus gallus*, *Mus musculus*, *Pan trogloditas*, *Plasmodium falciparum* y *Rattus norvegicus*. Por ejemplo, el proyecto HapMap intenta determinar los patrones comunes de variación de la secuencia del ADN humano (haplotipos). Los genotipos de SNP, las tasas de recombinación y otros tipos de información pueden consultarse o descargarse del sitio web de HapMap ([www.hapmap.org](http://www.hapmap.org)). Los SNP se identifican normalmente por la ubicación dentro de una secuencia de nucleótidos, o por un número de identificación del SNP de referencia asignado a la base de datos (número de "rs"). Además de HapMap, los SNP pueden buscarse utilizando varios otros recursos. Por ejemplo, los números de rs individuales de los SNP que se sabe que se encuentran en una secuencia de interés se pueden obtener al realizar una búsqueda por Blast en la página web de bioinformática del genoma de UCSC ([www.genome.ucsc.edu](http://www.genome.ucsc.edu)). Por el contrario, la información de la secuencia y de la bibliografía científica asociada con un número de rs dado se puede obtener buscando el dbSNP de la opción de búsqueda de SNP de Entrez proporcionada por la página web del NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).

En una realización de la presente invención, que no pretende considerarse limitante, se proporciona un método para predecir el cambio de peso de un sujeto en respuesta al tratamiento con fármaco antipsicótico que comprende,

a) la obtención de una muestra biológica del sujeto;

b) determinar la presencia o ausencia de uno o más polimorfismos en la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, o una combinación de las mismas, en donde,

para pacientes de ascendencia europea tratados con clozapina u olanzapina, la presencia del genotipo C/C del polimorfismo rs16859227 (SEQ ID NO: 1) está asociado con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos, y;

la presencia del genotipo T/T del polimorfismo rs279858 (SEQ ID NO: 2) se asocia con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos,

La presente invención también contempla productos y kits para practicar los métodos de la presente invención. Por ejemplo, un kit puede comprender:

a) uno o más cebadores para amplificar una secuencia de nucleótidos que comprende el polimorfismo como se define en cualquiera de las SEQ ID NOs: 1-9, que incluye preferiblemente la SEQ ID NO: 1 o 2, o una combinación de las mismas;

b) una o más sondas que hibridan con cualquiera de las SEQ ID NOs: 1-9, incluyendo preferiblemente la SEQ ID NO: 1 o 2, o ambas, la SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 2 sobre una región de nucleótidos que comprende la sitio polimórfico, en donde dicha sonda se hibrida con una variante particular de los polimorfismos mostrados en el sitio polimórfico. Sin querer estar limitado de ninguna manera, las sondas pueden marcarse con un grupo apropiado, por ejemplo, una etiqueta fluorescente, fluoróforo, etiqueta radioactiva o similar. Además, las una o más sondas pueden estar asociadas de forma covalente o físicamente con un soporte, por ejemplo, pero sin limitarse a un biochip, matriz, portaobjetos, placa de múltiples pocillos, perla o similar. En una realización, que no pretende ser limitante de ninguna manera, las sondas pueden comprender una serie de ácidos nucleicos;

c) uno o más reactivos y/o productos que incluyen, pero no se limitan a, uno o más reguladores para realizar la hibridación por PCR o sonda, o cualquier etapa en un proceso tal como sería conocido por un experto en la técnica, una o más enzimas amplificadoras de ADN, o cualquier combinación de las mismas;

d) uno o más reactivos, componentes y productos para el genotipado de los polimorfismos como se describen en el presente documento, incluidos, entre otros, los utilizados en ensayos de exonucleasa, secuenciación de nucleótidos o cualquier combinación de los mismos;

e) uno o más reactivos, componentes o productos para realizar una reacción de secuenciación de ADN que determina la secuencia de una secuencia de nucleótidos que comprende cualquiera de las SEQ ID NOs: 1-9, que incluye preferiblemente la SEQ ID NO: 1 o 2, o tanto 1 como 2, o una combinación de las mismas,

f) un chip o matriz de genes que comprende una pluralidad de secuencias de nucleótidos que comprenden o que consisten en las SEQ ID NOs: 1-9, preferiblemente 1 y 2, que comprenden preferiblemente secuencias de nucleótidos solo dentro del gen *GABRA2*, y;

g) uno o más conjuntos de instrucciones para usar los componentes como se describe en este documento, practicando los métodos de la presente invención como se describe en este documento, interpretando los datos obtenidos de la práctica de los métodos de la presente invención o;

h) cualquier combinación de los mismos.

También se proporcionan por la presente invención componentes individuales del kit, por ejemplo, pero sin limitarse a cualquier producto, composición descrita en el kit o en cualquier otro lugar de la solicitud. En una realización representativa, la presente invención proporciona uno o más cebadores o sondas de ácido nucleico.

Los cebadores y las sondas de ácido nucleico pueden ser de cualquier longitud adecuada para uso en los métodos de la presente invención. Sin querer estar limitado de ninguna manera, generalmente se prefiere que los cebadores y las sondas estén entre aproximadamente 9 y aproximadamente 100 nucleótidos, por ejemplo, pero sin limitarse a aproximadamente 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 25, 27, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, aproximadamente 100 nucleótidos o cualquier cantidad entre ellos. La longitud de los cebadores y las sondas también se puede definir por un intervalo de dos de los valores proporcionados anteriormente o dos valores cualquiera entre ellos. Con respecto a las sondas, generalmente se prefiere que la sonda comprenda al menos uno, más preferiblemente 3 o más nucleótidos en cada lado del sitio polimórfico. También se contempla que uno o más de los cebadores o sondas de ácido nucleico pueden marcarse como se conoce en la técnica, por ejemplo, pero sin limitarse a, con un elemento o etiqueta radioactiva, fluoróforo, o similares.

La presente invención también proporciona una micromatriz, un chip genético o similar que comprende una o más secuencias de nucleótidos definidas por las SEQ ID NOs 1-9 o un fragmento de las mismas que comprende el sitio polimórfico. Preferiblemente, la micromatriz o el chip genético comprenden secuencias de nucleótidos definidas por las SEQ ID NOs: 1, 2 o tanto 1 como 2. La micromatriz también puede comprender el complemento de las secuencias de nucleótidos o un fragmento de las mismas que comprende el sitio polimórfico. Preferiblemente, las secuencias de nucleótidos son de una longitud tal como, pero sin limitarse a 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o más nucleótidos continuos para permitir una fuerte hibridación en condiciones de hibridación rigurosas. En una realización preferida, la micromatriz comprende o consiste en una o más secuencias de nucleótidos que comprenden sitios polimórficos del gen *GABRA2* como se describe en el presente documento. Sin embargo, la micromatriz puede comprender secuencias de nucleótidos adicionales para otros genes, por ejemplo, pero no se limita a los involucrados o implicados en el diagnóstico o desarrollo de esquizofrenia, trastorno esquizoafectivo o similares.

La presente invención se ilustrará adicionalmente en los siguientes ejemplos.

## Ejemplos

Criterios de diagnóstico clínico. En total, 160 participantes con síntomas psicóticos se incluyeron en este estudio. El diagnóstico de esquizofrenia (SCZ) se evaluó mediante las entrevistas de diagnóstico estructurado para los diagnósticos DSM-III-R y/o DSM-IV (SCID-I, <sup>1,32</sup>), excepto para la muestra A donde los diagnósticos se basaron en una entrevista que evaluó ambos diagnósticos DSM e ICD. Los criterios de inclusión para probandos adultos fueron los diagnósticos DSM-III-R/IV de SCZ o trastorno esquizoafectivo, con síntomas psicóticos. Se obtuvo un consentimiento informado por escrito después de que se proporcionó la descripción completa del estudio a cada participante, y el estudio fue aprobado por el Consejo de Ética de la Investigación. Todos los sujetos se reportaron así mismos como caucásicos europeos, y a 92 de ellos se les prescribió clozapina u olanzapina durante este período de estudio.

Sujetos: las variables clínicas y demográficas para la muestra total de pacientes europeos con SCZ (N = 160) se enumeran en la Tabla 1. La muestra A (N = 93) se recogió en la Charité University Medicine, Berlín, Alemania. Se incluyeron pacientes de 18 a 60 años diagnosticados con SCZ o trastorno esquizoafectivo según los criterios de DSM-IV y ICD-10. Este grupo de pacientes fue tratado con al menos uno de los siguientes medicamentos: clozapina, haloperidol, olanzapina, risperidona, flufenazina, aripiprazol, quetiapina, ziprasidona y/o amisulprida (más detalles se han descrito en otra parte; <sup>33</sup>). Los pacientes de la Muestra B (N = 56) fueron reclutados de la Universidad Case Western Reserve en Cleveland, Ohio o del Hospital Hillside en Glen Oaks, Nueva York. Estos pacientes recibieron clozapina por refractarios o intolerantes al tratamiento o a la terapia antipsicótica típica de acuerdo con los criterios descritos en otra parte<sup>34</sup>. Los niveles en suero de clozapina fueron controlados durante el curso del tratamiento para determinar el cumplimiento. La respuesta clínica se evaluó después de 6 semanas utilizando la Escala de Calificación Psiquiátrica Resumida (BPRS)<sup>35</sup>. La caracterización de la muestra se ha descrito en otra parte<sup>36</sup>. La muestra C (N = 11) consiste en pacientes hospitalizados que mostraron una respuesta por debajo del nivel óptimo al tratamiento anterior, definido principalmente por síntomas positivos persistentes y un bajo nivel de funcionamiento en los últimos dos años. Estos participantes fueron reclutados en cuatro hospitales psiquiátricos estatales (dos en Nueva York y dos en Carolina del Norte) y fueron asignados aleatoriamente a clozapina u olanzapina en un estudio doble ciego de 14

semanas. La descripción clínica detallada de los criterios de inclusión, los horarios de dosificación, los métodos de evaluación y los resultados principales que describen la eficacia antipsicótica se publicaron en otra parte<sup>37</sup>.

Genotipado. Se extrajo sangre venosa de los probandos en dos tubos de EDTA de 10 cc, y se extrajo ADN genómico de linfocitos de la sangre utilizando un método de alto contenido de sal<sup>38</sup>. Se seleccionaron polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) basados en la frecuencia mínima de alelos menores de 0,20 utilizando genotipos HapMap (Rel 28 Fase II + III, 10 de agosto, en el montaje B36 del NCBI, dbSNP b126; URL: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>). Los SNP específicos se incluyeron a la fuerza según estudios previos. Los SNP rs279828<sup>39-42</sup>, rs573400<sup>39, 42, 43</sup>, rs11503014<sup>43</sup>, rs279858 (Lys132Lys)<sup>40, 43-46</sup>, rs16859227<sup>43</sup> y rs1372472<sup>40</sup> han sido estudiados por su posible asociación con alcoholismo, dependencia a la nicotina y autismo. El marcador rs279871 se ha asociado con la actividad cerebral frontal medial en respuesta a la indicación de alcohol<sup>47</sup>. En general, los doce marcadores genotipados proporcionarían más del 99% de cobertura de las variaciones comunes dentro y 10 kb secuencia arriba y secuencia abajo del gen *GABRA2*. Se redujo el número de SNP analizados a nueve, porque los genotipos rs279858 estaban altamente correlacionados con los genotipos de los marcadores rs573400, rs279871 y rs279828 en nuestra muestra ( $r^2 > 0,80$ ).

Análisis estadísticos. Los análisis estadísticos de variables demográficas, que incluían sexo, edad de reclutamiento y la duración del tratamiento, se realizaron a través de muestras utilizando las pruebas Exactas de Fisher, análisis de varianza o pruebas de Kruskal-Wallis (Tabla 1). En términos de análisis genético, la variable cuantitativa 'porcentaje de cambio de peso' se analizó utilizando ANCOVA, con sexo, duración del tratamiento y clozapina/o lanzapina (sí/no) incluidas como covariables. También se analizó la variable 'de porcentaje de cambio de peso' en un enfoque metaanalítico para tener en cuenta la heterogeneidad en los tres grupos de muestras de pacientes utilizando STATA versión 8 (por ejemplo,<sup>48</sup>). Los análisis se realizaron con los 160 pacientes con datos clínicos/de peso disponibles, y de manera secundaria con los 92 pacientes que recibieron clozapina u olanzapina, los dos antipsicóticos con la mayor propensión a un aumento de peso significativo. El enlace del desequilibrio y  $r^2$  entre los pares de marcadores según lo determinado por Haploview 4.1<sup>49</sup>. También se realizó análisis de haplotipos con covariables utilizando UNPHASED versión 3.1.5<sup>50</sup>. Además, se realizó un análisis de haplotipo adicional utilizando haplotipos reconstruidos para cada individuo con FASE<sup>51</sup>. Con base en la correlación genotípica entre los SNP probados, se determinó que el número efectivo de marcadores independientes era seis; por lo tanto, se ajustó el umbral de significación para pruebas múltiples en el presente estudio a 0,0085<sup>52</sup>.

#### Resultados:

La tabla 2 presenta los resultados de los análisis del porcentaje de cambio de peso en pacientes con SCZ medicados con antipsicóticos de ascendencia europea. Las distribuciones genotípicas no se desviaron significativamente del Equilibrio de Hardy-Weinberg.

El marcador rs279858 se asoció positivamente con el porcentaje de aumento de peso del ANCOVA ( $p < 0,05$ ). Más específicamente, el genotipo T/T se asoció con un mayor porcentaje de cambio de peso que los genotipos portadores del alelo C (ANCOVA  $p = 0,009$ ). A partir del enfoque meta-analítico, el marcador rs279858 (homocigotos T/T versus portadores del genotipo del alelo C) fue estadísticamente significativo ( $z = 3,80$ ;  $p = 1,4 \times 10^{-4}$ ). El marcador rs1442062 también fue significativo a partir del metaanálisis, ya que los portadores del alelo A se asociaron con menos aumento de peso que los homocigotos G/G ( $z = 5,55$ ;  $p = 2,86 \times 10^{-8}$ ).

Con respecto al análisis haplotípico, se encontró varios haplotipos significativos utilizando UNPHASED. La ventana de haplotipos de dos marcadores a través de rs16859227 y rs279858 fue significativa ( $p = 0,045$ ), con el haplotipo C-T asociado con un mayor porcentaje de cambio de peso ( $p = 0,015$ ; Valor Aditivo Estimado: 0,057 [intervalo de confianza del 95%: 0,011 a 0,103]). La ventana de haplotipos de dos marcadores a través de rs279858 y rs1442060 también fue significativa ( $p = 0,014$ ), con el haplotipo T-A asociado con un mayor porcentaje de cambio de peso ( $p = 0,014$ ; Valor Aditivo Estimado: 0,070 [intervalo de confianza del 95%: 0,014 a 0,126]) y el haplotipo C-G asociado con un menor porcentaje de cambio de peso ( $p = 0,012$ ; Valor Aditivo Estimado: -0,115 [intervalo de confianza del 95%: -0,206 a -0,0232]). A nivel individual, los pacientes con al menos una copia del haplotipo T-A (rs279858-rs1442060) parecieron experimentar un mayor porcentaje de aumento de peso ( $p = 0,008$ ;  $b = 2,47 \pm 0,92$ ), y los pacientes con al menos una copia del haplotipo C-G (rs279858-rs1442060) parecieron experimentar un porcentaje de aumento de peso menor ( $p = 0,017$ ;  $b = -2,92 \pm 1,21$ ).

Para los pacientes tratados con clozapina u olanzapina, los resultados con rs279858 fueron significativos (ANCOVA  $p = 0,011$ ); estos hallazgos fueron similares a aquellos de la muestra general. El metaanálisis de rs279858 a través de los tres sitios de reclutamiento produjo resultados estadísticamente significativos ( $z = 6,71$ ;  $p = 1,95 \times 10^{-11}$ ) que fueron más significativos que los de la muestra general. El marcador *GABRA2* rs16859227 también fue positivo a partir del metaanálisis ( $z = 9,36$ ;  $p = 7,97 \times 10^{-21}$ ), con los portadores del alelo T asociados con un aumento de peso menor que los portadores del genotipo C/C. De manera similar, los portadores del alelo A rs1442062 ganaron menos peso en promedio que los homocigotos G/G ( $z = 5,79$ ;  $p = 7,04 \times 10^{-9}$ ). Los portadores de al menos una copia del alelo G en rs11503014 ganaron más peso que los homocigotos C/C ( $z = 2,10$ ;  $p = 0,036$ ), los homocigotos A/A rs6856130 ganaron menos peso que los portadores de alelos G ( $z = 2,20$ ;  $p = 0,028$ ), y los portadores del alelo T rs1372472 ganaron menos peso que los portadores del genotipo A/A ( $z = 3,32$ ;  $p = 9,0 \times 10^{-4}$ ).

De todas las pruebas de marcador único, el marcador rs279858 pareció ser el más consistentemente asociado, con el genotipo T/T asociado con un mayor porcentaje de aumento de peso. La ventana de haplotipos de dos marcadores a través de rs16859227 y rs279858 fue significativa ( $p = 0,019$ ), con el haplotipo de C-T asociado con un mayor porcentaje de cambio de peso ( $p = 0,011$ ; Valor Aditivo Estimado: 0,076 [intervalo de confianza del 95%: 0,016 a 0,135]) y el haplotipo T-C asociado con un menor porcentaje de cambio de peso ( $p = 0,010$ ; Valor Aditivo Estimado: -0,089 [intervalo de confianza del 95%: -0,158 a -0,019]). La ventana de haplotipos de dos marcadores a través de rs279858 y rs1442060 fue nominalmente significativa ( $p = 0,034$ ), con el haplotipo T-A asociado con un mayor porcentaje de cambio de peso ( $p = 0,031$ ; Valor Aditivo Estimado: 0,075 [intervalo de confianza del 95%: 0,0057 a 0,145]). A nivel individual, los pacientes con al menos una copia del haplotipo C-T (rs16859227-rs279858) parecieron experimentar un mayor porcentaje de aumento de peso ( $p = 0,012$ ;  $b = 4,45 \pm 1,74$ ). Los pacientes con al menos una copia del haplotipo T-A (rs279858-rs1442060) parecieron experimentar un mayor porcentaje de aumento de peso ( $p = 0,005$ ;  $b = 3,75 \pm 1,70$ ).

Tabla 1. Información demográfica para la muestra de estudio de ascendencia europea.

Muestras	A (N = 93)	B (N = 56)	C (N = 11)	valor $p$
Hombres/mujeres <sup>d</sup>	56/37	35/21	11/0	0,037
Edad <sup>a</sup>	32,14 ± 11,98	33,37 ± 7,45	42,15 ± 4,83	0,044
Duración del estudio (semanas) <sup>a</sup>	5,10 ± 1,547	6,00 ± 0,00	10,55 ± 4,180	<0,001
Porcentaje de cambio de peso <sup>c</sup>	4,00 ± 4,680	3,88 ± 5,770	5,58 ± 6,644	0,605

<sup>c</sup> valor  $p$  de ANOVA,  
<sup>a</sup> valor  $p$  de las pruebas de Kruskal-Wallis,  
<sup>d</sup> valores  $p$  de las pruebas exactas de Fisher.

15

Tabla 2. Los hallazgos más significativos del análisis de los nueve polimorfismos de nucleótido único de *GABRA2* (SNP) en el aumento de peso inducido por antipsicóticos en pacientes con esquizofrenia de ascendencia europea.

SNP	Genotipos (genotipo o genotipos de prueba en negrita)	Porcentaje de cambio de peso	Desviación estándar	Genotipo $P$ (todos los antipsicóticos/ clozapina u olanzapina solamente)	$P$ (todos los antipsicóticos) Diferencia estandarizada de la media (intervalo de confianza) para genotipos portadores de alelos raros	$P$ (solo Clozapina/ Olanzapina) Diferencia estandarizada de la media (intervalo de confianza) para genotipos portadores de alelos raros
rs16859227	T/T	5,20	3,99	0,332/0,015	0,091 <sup>R</sup> -1,98 (-4,27, 0,32)	<0,001 -3,01 (-3,64, -2,38)
	T/C	2,98	4,66			
	C/C	4,91	5,72			
rs279858	T/T	5,59	5,76	<b>0,017/0,011</b>	<b>&lt;0,001<sup>R</sup></b> <b>2,18 (1,06, 3,31)</b>	<b>&lt;0,001</b> <b>1,85 (1,31, 2,39)</b>
	T/C	3,63	4,85			
	C/C	2,72	5,07			
rs1442060	A/A	4,25	5,76	0,236/0,516	0,939 <sup>R</sup> -0,091 (-2,42, 2,23)	0,743 <sup>R</sup> 0,33 (-1,65, 2,32)
	A/G	4,48	5,26			
	G/G	2,95	4,62			
rs3849591	T/T	5,11	5,62	0,893/0,629	0,645 <sup>R</sup> 0,47 (-1,52, 2,45)	0,530 <sup>R</sup> 0,65 (-1,38, 2,69)
	T/G	4,42	5,58			
	G/G	3,91	5,16			
rs1442062	A/A	5,60	5,87	0,578/0,630	<b>&lt;0,001</b> <b>-0,97 (-1,31, -0,63)</b>	<b>&lt;0,001</b> <b>-1,43 (-1,91, -0,95)</b>
	A/G	3,32	5,04			
	G/G	4,56	5,39			
rs16859354	T/T	4,00	4,73	0,980/0,663	0,817 0,040 (-0,30, 0,38)	0,899 0,0301 (-1,43, 0,50)
	T/G	4,00	5,69			
	G/G	5,16	4,99			
rs11503014	G/G	3,14	4,86	0,642/0,364	0,055 <sup>R</sup> 0,754 (-0,015, 1,52)	<b>0,036</b> <b>0,48 (0,031, 0,93)</b>
	G/C	4,67	6,00			
	C/C	3,68	4,46			
rs6856130	A/A	4,07	5,21	0,289/0,097	0,704 <sup>R</sup> -0,62 (-3,80, 2,56)	<b>0,028<sup>R</sup></b> <b>-1,28 (-2,43, -0,14)</b>
	A/G	4,49	5,27			
	G/G	2,42	5,55			
rs1372472	T/T	5,71	5,42	0,385/0,651	0,409 <sup>R</sup> -0,55 (-1,86, 0,76)	<0,001 <b>-0,77 (-1,23, -0,32)</b>
	T/A	3,53	4,77			
	A/A	4,32	5,69			

<sup>c</sup> valores *p* de ANCOVA del porcentaje de cambio de peso con el sexo, duración del tratamiento y clozapina/olanzapina (sí/no) como covariables,  
<sup>R</sup> modelo de efectos aleatorios utilizado.

Los resultados proporcionados sugieren que se puede emplear una variedad de SNP de *GABRA2* como marcadores genéticos para el aumento de peso con antipsicótico.

- 5 La presente invención se ha descrito con respecto a una o más realizaciones. Sin embargo, será evidente para los expertos en la materia que se pueden realizar varias variaciones y modificaciones sin apartarse del alcance de la invención como se define en las reivindicaciones.

#### Referencias

- 10 1. Correll CU, Sheridan EM, DelBello MP. Antipsychotic and mood stabilizer efficacy and tolerability in pediatric and adult patients with bipolar I mania: a comparative analysis of acute, randomized, placebo-controlled trials. *Bipolar Disord* 2010; 12(2): 116-141.
- 15 2. Komossa K, Depping AM, Gaudchau A, Kissling W, Leucht S. Second-generation antipsychotics for major depressive disorder and dysthymia. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (12): CD008121.
3. Spielmans GI, Berman MI, Linardatos E, Rosenlicht NZ, Perry A, Tsai AC. Adjunctive atypical antipsychotic treatment for major depressive disorder: a meta-analysis of depression, quality of life, and safety outcomes. *PLoS Med* 2013; 20 10(3): e1001403.
4. Nurmi EL, Spilman SL, Whelan F, Scahill LL, Aman MG, McDougle CJ, et al. Moderation of antipsychotic-induced weight gain by energy balance gene variants in the RUPP autism network risperidone studies. *Transl Psychiatry* 2013; 3: e274.
- 25 5. Zuddas A, Zanni R, Usala T. Second generation antipsychotics (SGAs) for non-psychotic disorders in children and adolescents: a review of the randomized controlled studies. *Eur Neuropsychopharmacol* 2011; 21(8): 600-620.
6. Ballard C, Waite J. The effectiveness of atypical antipsychotics for the treatment of aggression and psychosis in Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;(1): CD003476.
- 30 7. Maher AR, Maglione M, Bagley S, Suttrop M, Hu JH, Ewing B, et al. Efficacy and comparative effectiveness of atypical antipsychotic medications for off-label uses in adults: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2011; 306(12): 1359-1369.
- 35 8. Maher AR, Theodore G. Summary of the comparative effectiveness review on off-label use of atypical antipsychotics. *J Manag Care Pharm* 2012; 18(5 Suppl B): S1-20.
9. Arranz MJ, de Leon J. Pharmacogenetics and pharmacogenomics of schizophrenia: a review of last decade of research. *Mol Psychiatry* 2007; 12(8): 707-747.
- 40 10. Muller DJ, Kennedy JL. Genetics of antipsychotic treatment emergent weight gain in schizophrenia. *Pharmacogenomics* 2006; 7(6): 863-887.
11. Strange PG. Antipsychotic drugs: importance of dopamine receptors for mechanisms of therapeutic actions and side effects. *Pharmacol Rev* 2001; 53(1): 119-133.
- 45 12. Vojvoda D, Grimmell K, Sernyak M, Mazure CM. Monozygotic twins concordant for response to clozapine. *Lancet* 1996; 347(8993): 61.
- 50 13. Gebhardt S, Theisen FM, Haberhausen M, Heinzel-Gutenbrunner M, Wehmeier PM, Krieg JC, et al. Body weight gain induced by atypical antipsychotics: an extension of the monozygotic twin and sib pair study. *J Clin Pharm Ther* 2010; 35(2): 207-211.
- 55 14. Lett TA, Wallace TJ, Chowdhury NI, Tiwari AK, Kennedy JL, Muller DJ. Pharmacogenetics of antipsychotic-induced weight gain: review and clinical implications. *Mol Psychiatry* 2011e.
15. Cone RD. Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nat Neurosci* 2005; 8(5): 571-578.
- 60 16. Hentges ST, Nishiyama M, Overstreet LS, Stenzel-Poore M, Williams JT, Low MJ. GABA release from proopiomelanocortin neurons. *J Neurosci* 2004; 24(7): 1578-1583.

17. Wu Q, Palmiter RD. GABAergic signaling by AgRP neurons prevents anorexia via a melanocortin-independent mechanism. *Eur J Pharmacol* 2011; 660(1): 21-27.
- 5 18. Tong Q, Ye CP, Jones JE, Elmquist JK, Lowell BB. Synaptic release of GABA by AgRP neurons is required for normal regulation of energy balance. *Nat Neurosci* 2008; 11(9): 998-1000.
19. Soderpalm AH, Berridge KC. Food intake after diazepam, morphine or muscimol: microinjections in the nucleus accumbens shell. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 66(2): 429-434.
- 10 20. Cooper SJ. Palatability-dependent appetite and benzodiazepines: new directions from the pharmacology of GABA(A) receptor subtypes. *Appetite* 2005; 44(2): 133-150.
21. Duke AN, Platt DM, Cook JM, Huang S, Yin W, Mattingly BA, et al. Enhanced sucrose pellet consumption induced by benzodiazepine-type drugs in squirrel monkeys: role of GABAA receptor subtypes. *Psychopharmacology (Berl)* 2006; 187(3): 321-330.
- 15 22. Ebenezer IS, Prabhaker M. The effects of intraperitoneal administration of the GABA(B) receptor agonist baclofen on food intake in C57BL/6 mice. *Eur J Pharmacol* 2007; 569(1-2): 90-93.
23. Willer CJ, Speliotes EK, Loos RJ, Li S, Lindgren CM, Heid IM, et al. Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat Genet* 2009; 41(1): 25-34.
- 20 24. Danovich L, Weinreb O, Youdim MB, Silver H. The involvement of GABA(A) receptor in the molecular mechanisms of combined selective serotonin reuptake inhibitor-antipsychotic treatment. *Int J Neuropsychopharmacol* 2011; 14(2): 143-155.
- 25 25. Drew KL, O'Connor WT, Kehr J, Ungerstedt U. Regional specific effects of clozapine and haloperidol on GABA and dopamine release in rat basal ganglia. *Eur J Pharmacol* 1990; 187(3): 385-397.
26. Vincent SL, Adamec E, Sorensen I, Benes FM. The effects of chronic haloperidol administration on GABA-immunoreactive axon terminals in rat medial prefrontal cortex. *Synapse* 1994; 17(1): 26-35.
- 30 27. Marx CE, VanDoren MJ, Duncan GE, Lieberman JA, Morrow AL. Olanzapine and clozapine increase the GABAergic neuroactive steroid allopregnanolone in rodents. *Neuropsychopharmacology* 2003; 28(1): 1-13.
- 35 28. Ugale RR, Hirani K, Morelli M, Chopde CT. Role of neuroactive steroid allopregnanolone in antipsychotic-like action of olanzapine in rodents. *Neuropsychopharmacology* 2004; 29(9): 1597-1609.
29. Weston-Green K, Huang XF, Deng C. Alterations to melanocortinergic, GABAergic and cannabinoid neurotransmission associated with olanzapine-induced weight gain. *PLoS One* 2012; 7(3): e33548.
- 40 30. De Hert M, Yu W, Detraux J, Sweers K, van Winkel R, Correll CU. Body weight and metabolic adverse effects of aripiprazole, iloperidone, lurasidone and paliperidone in the treatment of schizophrenia and bipolar disorder: a systematic review and exploratory meta-analysis. *CNS Drugs* 2012; 26(9): 733-759.
- 45 31. Association AP. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4th ed. (DSM-IV). American Psychiatric Association: Washington, DC, 1994.
32. First MB, Gibbon M, Spitzer RL, Williams JBW. Structured Clinical Interview for DSM-IV axis I disorders-Research Version (SCID-I/P, versión 2.0, febrero, versión final). American Psychiatric Press: Washington, DC., 1996.
- 50 33. Muller DJ, Zai CC, Sicard M, Remington E, Souza RP, Tiwari AK, et al. Systematic analysis of dopamine receptor genes (DRD1-DRD5) in antipsychotic-induced weight gain. *Pharmacogenomics J* 2010e.
34. Kane JM, Honigfeld G, Singer J, Meltzer H. Clozapine in treatment-resistant schizophrenics. *Psychopharmacol Bull* 1988; 24(1): 62-67.
- 55 35. Overall JE, Gorham DR. The brief psychiatric rating scale. *Psychological Reports* 1962; 10: 799-812.
36. Masellis M, Basile V, Meltzer HY, Lieberman JA, Sevy S, Macciardi FM, et al. Serotonin subtype 2 receptor genes and clinical response to clozapine in schizophrenia patients. *Neuropsychopharmacology* 1998; 19(2): 123-132.
- 60 37. Volavka J, Czobor P, Sheitman B, Lindenmayer JP, Citrome L, McEvoy JP, et al. Clozapine, olanzapine, risperidone, and haloperidol in the treatment of patients with chronic schizophrenia and schizoaffective disorder. *Am J Psychiatry* 2002; 159(2): 255-262.
- 65

38. Lahiri DK, Nurnberger JI, Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res* 1991; 19(19): 5444.
- 5 39. Edenberg HJ, Dick DM, Xuei X, Tian H, Almasy L, Bauer LO, et al. Variations in GABRA2, encoding the alpha 2 subunit of the GABA(A) receptor, are associated with alcohol dependence and with brain oscillations. *Am J Hum Genet* 2004; 74(4): 705-714.
- 10 40. Fehr C, Sander T, Tadic A, Lenzen KP, Anghelescu I, Klawe C, et al. Confirmation of association of the GABRA2 gene with alcohol dependence by subtype-specific analysis. *Psychiatr Genet* 2006; 16(1): 9-17.
- 15 41. Enoch MA. The role of GABA(A) receptors in the development of alcoholism. *Pharmacol Biochem Behav* 2008; 90(1): 95-104.
42. Haughey HM, Ray LA, Finan P, Villanueva R, Niculescu M, Hutchison KE. Human gamma-aminobutyric acid A receptor alpha2 gene moderates the acute effects of alcohol and brain mRNA expression. *Genes Brain Behav* 2008; 7(4): 447-454.
- 20 43. Agrawal A, Pergadia ML, Saccone SF, Hinrichs AL, Lessov-Schlaggar CN, Saccone NL, et al. Gamma-aminobutyric acid receptor genes and nicotine dependence: evidence for association from a case-control study. *Addiction* 2008; 103(6): 1027-1038.
44. Pierucci-Lagha A, Covault J, Feinn R, Nellissery M, Hernandez-Avila C, Oncken C, et al. GABRA2 alleles moderate the subjective effects of alcohol, which are attenuated by finasteride. *Neuropsychopharmacology* 2005; 30(6): 1193-1203.
- 25 45. Bauer LO, Covault J, Harel O, Das S, Gelernter J, Anton R, et al. Variation in GABRA2 predicts drinking behavior in project MATCH subjects. *Alcohol Clin Exp Res* 2007; 31(11): 1780-1787.
- 30 46. Ma DQ, Whitehead PL, Menold MM, Martin ER, Ashley-Koch AE, Mei H, et al. Identification of significant association and gene-gene interaction of GABA receptor subunit genes in autism. *Am J Hum Genet* 2005; 77(3): 377-388.
47. Kareken DA, Liang T, Wetherill L, Dziedzic M, Bragulat V, Cox C, et al. A polymorphism in GABRA2 is associated with the medial frontal response to alcohol cues in an fMRI study. *Alcohol Clin Exp Res* 2010; 34(12): 2169-2178.
- 35 48. Zai GC, Zai CC, Chowdhury NI, Tiwari AK, Souza RP, Lieberman JA, et al. The role of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene variants in antipsychotic response and antipsychotic-induced weight gain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2012; 39(1): 96-101.
49. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics* 2005; 21(2): 263-265.
- 40 50. Dudbridge F. Likelihood-based association analysis for nuclear families and unrelated subjects with missing genotype data. *Hum Hered* 2008; 66(2): 87-98.
- 45 51. Stephens M, Smith NJ, Donnelly P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am J Hum Genet* 2001; 68(4): 978-989.
52. Li J, Ji L. Adjusting multiple testing in multilocus analyses using the eigenvalues of a correlation matrix. *Heredity (Edinb)* 2005; 95(3): 221-227.
- 50 Listado de secuencias
- <110> Centre for Addiction and Mental Health
- 55 <120> Marcadores genéticos para aumento de peso inducido por antipsicóticos y sus métodos de uso
- <130> 08924607WO
- <140>
- <141>
- 60 <150> US 61/892.094
- <151> 2013-10-17
- <160> 9
- 65 <170> PatentIn versión 3.5

ES 2 728 072 T3

<210> 1  
 <211> 53  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

5

<400> 1

Cys Cys Thr Thr Gly Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Ala Cys Ala Ala  
 1 5 10 15

Gly Cys Ala Thr Gly Cys Ala Ala Ala Gly Cys Thr Ala Thr Ala Thr  
 20 25 30

Ala Ala Thr Ala Gly Ala Ala Thr Cys Ala Cys Ala Thr Gly Gly Ala  
 35 40 45

Ala Ala Cys Ala Ala  
 50

10

<210> 2  
 <211> 53  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

15

<400> 2

Ala Thr Thr Gly Thr Cys Ala Thr Ala Thr Thr Ala Thr Gly Ala Gly  
 1 5 10 15

Cys Thr Ala Cys Thr Gly Ala Thr Thr Thr Thr Cys Thr Thr Cys Cys  
 20 25 30

Cys Ala Thr Thr Gly Thr Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Thr  
 35 40 45

Ala Thr Cys Thr Gly  
 50

20

<210> 3  
 <211> 53  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

25

<400> 3



ES 2 728 072 T3

Gly Thr Ala Ala Ala Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Ala Thr Cys Ala  
 1 5 10 15

Ala Thr Gly Cys Cys Ala Thr Ala Thr Cys Ala Gly Thr Ala Thr Thr  
 20 25 30

Cys Thr Gly Thr Ala Gly Ala Thr Gly Gly Cys Ala Thr Gly Thr Thr  
 35 40 45

Ala Thr Cys Ala Thr  
 50

5 <210> 4  
 <211> 53  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

<400> 4

Cys Thr Cys Ala Thr Thr Thr Cys Cys Thr Thr Gly Cys Thr Thr Cys  
 1 5 10 15

Thr Ala Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly Gly Gly Thr Thr Cys Ala Thr  
 20 25 30

Cys Ala Ala Thr Thr Thr Ala Thr Cys Thr Ala Thr Cys Thr Cys Ala  
 35 40 45

Thr Gly Gly Gly Ala  
 50

10  
 15 <210> 5  
 <211> 53  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

<400> 5

Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly Thr Gly Ala Ala Ala Thr Ala Gly Ala  
 1 5 10 15

Thr Thr Thr Ala Ala Cys Thr Cys Ala Thr Ala Gly Thr Ala Thr Cys  
 20 25 30

20 Ala Ala Ala Thr Thr Ala Ala Gly Ala Thr Thr Gly Cys Ala Cys Cys  
 35 40 45

Thr Thr Ala Ala Ala  
 50

25 <210> 6  
 <211> 53  
 <212> PRT

ES 2 728 072 T3

<213> homo sapiens

<400> 6

Thr Ala Cys Ala Ala Thr Ala Thr Cys Thr Thr Gly Ala Cys Thr Cys  
1 5 10 15

Ala Ala Thr Gly Ala Gly Cys Thr Thr Cys Gly Thr Ala Ala Thr Cys  
20 25 30

Thr Thr Ala Ala Thr Ala Ala Gly Gly Thr Ala Ala Cys Ala Ala Gly  
35 40 45

Ala Gly Ala Ala Ala  
50

5

<210> 7

<211> 53

<212> PRT

10 <213> homo sapiens

<400> 7

Ala Ala Gly Cys Thr Ala Thr Gly Gly Ala Gly Ala Thr Thr Ala Cys  
1 5 10 15

Thr Thr Cys Cys Thr Gly Gly Ala Cys Thr Cys Gly Thr Gly Thr Gly  
20 25 30

Thr Ala Gly Gly Ala Cys Thr Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Thr Gly  
35 40 45

Ala Gly Ala Gly Ala  
50

15

<210> 8

<211> 53

<212> PRT

20 <213> homo sapiens

<400> 8

Thr Cys Thr Gly Thr Thr Cys Thr Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Cys  
1 5 10 15

Thr Gly Ala Gly Gly Cys Gly Ala Thr Ala Ala Gly Ala Ala Thr Cys  
20 25 30

Cys Ala Ala Ala Cys Gly Thr Gly Cys Ala Ala Cys Thr Thr Gly Ala  
35 40 45

Ala Cys Ala Ala Cys  
50

25

ES 2 728 072 T3

<210> 9  
<211> 53  
<212> PRT  
5 <213> homo sapiens

<400> 9

Ala Thr Ala Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Thr Ala Ala Thr  
1 5 10 15

Thr Cys Ala Ala Ala Cys Cys Ala Ala Ala Ala Thr Ala Thr Thr Thr  
20 25 30

Cys Cys Thr Cys Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala Ala Cys Thr Ala Thr  
35 40 45

Gly Cys Thr Thr Gly  
50

10

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un método para predecir el cambio de peso de un sujeto en respuesta al tratamiento con medicamentos antipsicóticos que comprende, determinar la presencia o ausencia de uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2* del sujeto o su complemento, en una muestra biológica que comprende ADN genómico obtenido del sujeto, en el que la presencia de dichos uno o más polimorfismos es predictivo de la respuesta de peso del sujeto al tratamiento con fármacos antipsicóticos, en el que los uno o más polimorfismos en el gen *GABRA2* son relativos a:
- 10 a) rs16859227 CCTTGGTTTTATACAAGCATGCAAAG[C/T]ATATAATAGAATCACATGGAAACAA (SEQ ID NO: 1) en donde la presencia de dos copias del alelo C se asocia con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos;
- b) rs279858 ATTGTCATATTATGAGCTACTGATTTT[C/T]TTCCCATTTGTGAAAAAAGGTATCTG (SEQ ID NO: 2) en donde la presencia de dos copias del alelo T se asocia con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos;
- 15 c) rs1442062 GAGAAGGTGAAATAGATTTAACTCAT[A/G]TATCAAATTAAGATTGCACCTTAAA (SEQ ID NO: 5) en donde la presencia de dos copias del alelo G se asocia con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos,
- d) rs11503014 AAGCTATGGAGATTACTTCTGGACT[C/G]TGTGTAGGACTTGATGATTGAGAGA (SEQ ID NO: 7) en donde la presencia de al menos una copia del alelo G se asocia con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos,
- 20 e) rs6856130 TCTGTTCTGTTTTATCTGAGGCGATA[A/G]AATCCAAACGTGCAACTTGAACAAC (SEQ ID NO: 8) en donde la presencia de al menos una copia del alelo G se asociada con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos, o
- f) rs1372472 ATAAACTCTGGTAATTCAAACCAA[A/T]ATTTCTCACTGAAAACATGCTTG (SEQ ID NO: 9) en donde la presencia de dos copias del alelo A se asocia con un mayor porcentaje de aumento de peso en los sujetos o su complemento, y en donde el sitio polimórfico está entre paréntesis, subrayado y en negrita.
- 25 2. El método de la reivindicación 1, en el que el sujeto ha sido diagnosticado con esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo, es probable que desarrolle esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo, o presenta uno o más síntomas de esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo.
- 30 3. El método de la reivindicación 1, en el que dicho sujeto muestra uno o más síntomas psicóticos o está en riesgo de mostrar uno o más síntomas psicóticos.
4. El método de la reivindicación 1, en el que los uno o más polimorfismos en *GABRA2* comprenden la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2 o ambas SEQ ID NO: 1 y 2, o su complemento.
- 35 5. El método de la reivindicación 4, en el que los uno o más polimorfismos comprenden además uno o más polimorfismos en las SEQ ID NOs 5 o 7-9, o su complemento.
- 40 6. El método de la reivindicación 1, en el que al menos uno de los polimorfismos está definido por la SEQ ID NO: 1 o 2, o una variante o fragmento de la misma que comprende el sitio polimórfico.
7. El método de la reivindicación 1, en el que la muestra es una muestra de sangre.