

Efecto de una dieta de patrón mediterráneo en la respuesta metabólica secundaria a la pérdida de peso; papel del polimorfismo de un único nucleótido (rs16147) del gen del neuropéptido Y

Effect of a Mediterranean-pattern diet on the metabolic response secondary to weight loss; role of the single nucleotide polymorphism (rs16147) of neuropeptide Y

OR 2941

Efecto de una dieta de patrón mediterráneo en la respuesta metabólica secundaria a la pérdida de peso; papel del polimorfismo de un único nucleótido (rs16147) del gen del neuropéptido Y

Effect of a Mediterranean-pattern diet on the metabolic response secondary to weight loss; role of the single nucleotide polymorphism (rs16147) of neuropeptide Y

David Primo, Olatz Izaola, Juan José López, Emilia Gómez, Ana Ortolá, Esther Delgado, Gonzalo Díaz y Daniel Antonio de Luis

Centro de Investigación de Endocrinología y Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid. Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Clínico Universitario. Valladolid

Recibido: 13/11/2019

Aceptado: 12/01/2020

Correspondencia: Daniel Antonio de Luis. Centro de Investigación de Endocrinología y Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid. C/ Los perales 16, Simancas, 47130 Valladolid
e-mail: dadluis@yahoo.es

RESUMEN

Introducción y objetivos: los estudios de intervención que evalúan el efecto del rs16147 sobre la respuesta metabólica y el cambio de peso después de una intervención dietética son escasos. En este trabajo evaluamos el papel de la variante genética rs16147 en los efectos metabólicos que produce una dieta hipocalórica de patrón mediterráneo y alto contenido en omega-9.

Material y métodos: se reclutó una muestra de 363 sujetos obesos. En la visita basal, los pacientes se asignaron aleatoriamente, durante 12 semanas, a recibir una de dos dietas: dieta M, de patrón mediterráneo, o dieta C, hipocalórica estándar. En todos ellos se determinaron, en el momento basal y a las 12 semanas, una serie de variables bioquímicas y antropométricas, realizándose el genotipado de la variante rs16147.

Resultados: en todos los sujetos y con ambas dietas mejoraron los parámetros de adiposidad, tensión arterial y leptina circulante. En los sujetos obesos con el alelo menor (A), los niveles de insulina (GG vs. GA + AA) ($-0,9 \pm 1,1$ UI/L vs. $-4,4 \pm 1,0$ UI/L; $p = 0,01$) y HOMA-IR ($-0,3 \pm 0,1$ unidades vs. $-1,2 \pm 0,3$ unidades; $p = 0,02$) disminuyeron significativamente con la dieta M. Los sujetos portadores del alelo menor tras la dieta C mostraron una disminución significativa de los niveles de insulina basal (GG vs. GA + AA) ($0,7 \pm 0,3$ UI/L vs. $-2,2 \pm 0,9$ UI/L; $p = 0,02$) y HOMA-IR ($-0,3 \pm 0,2$ unidades vs. $-0,7 \pm 0,1$ unidades; $p = 0,01$). Esta disminución de los niveles de insulina circulante y HOMA-IR en los pacientes con alelo A fue significativamente superior con la dieta M que con la dieta S.

Conclusiones: el alelo A de la variante rs16147 se relaciona con una mejor respuesta metabólica, en términos de resistencia a la insulina e insulina basal secundaria a la pérdida de peso, a dos dietas hipocalóricas, siendo superior el efecto obtenido con una dieta de patrón mediterráneo.

Palabras clave: rs16147. Gen NPY. SNP. Adipocitoquinas. Dieta mediterránea.

ABSTRACT

Background and aims: intervention studies that evaluate the effect of rs16147 on metabolic response and weight change after dietary intervention are scarce. We propose to evaluate the role of the

rs16147 genetic variant in the metabolic effects produced by a hypocaloric Mediterranean-pattern diet with high content of omega-9.

Material and methods: a sample of 363 obese subjects was recruited. At the baseline visit the patients were randomly assigned to one of two hypocaloric diets for 12 weeks (diet M, Mediterranean pattern; diet C, standard hypocaloric). All patients, at baseline and at 12 weeks, had biochemical and anthropometric variables measured, and genotyping performed for the rs16147 variant.

Results: in all subjects, and with both diets, the parameters of adiposity, blood pressure, and circulating leptin improved. In obese subjects with allele (A) insulin levels (GG vs. GA + AA) (-0.9 ± 1.1 IU/L vs. -4.4 ± 1.0 IU/L; $p = 0.01$) and HOMA-IR (-0.3 ± 0.1 units vs. -1.2 ± 0.3 units; $p = 0.02$) decreased significantly with diet M. Subjects carrying the minor allele showed a significant decrease in basal insulin levels (GG vs. GA + AA) (0.7 ± 0.3 IU/L vs. -2.2 ± 0.9 IU/L; $p = 0.02$) and HOMA-IR (-0.3 ± 0.2 units vs. -0.7 ± 0.1 units; $p = 0.01$) after diet C. This decrease in circulating insulin and HOMA-IR levels in patients with allele A was significantly higher with diet M than with diet C.

Conclusions: the A allele of the rs16147 variant produces a better metabolic response in terms of insulin resistance and basal insulin secondary to weight loss with two different hypocaloric diets in obese subjects, with improvement being higher with the Mediterranean diet.

Keywords: rs16147. NPY gene. SNPs. Adipokines. Mediterranean diet.

INTRODUCCIÓN

La obesidad se ha convertido en un problema de salud importante a nivel mundial con importantes comorbilidades asociadas, como diabetes mellitus de tipo 2, hipertensión, hiperlipemia y eventos

cardiovasculares. Los tratamientos de pérdida de peso dirigidos a reducir la ingesta de energía y los medicamentos han mostrado tener una eficacia relativa, en parte debido no solo a los condicionantes sociales y culturales que modulan la ingesta, sino también por los sistemas de control central que regulan el metabolismo y la homeostasis energética. Algunos estudios previos han mostrado un papel fundamental del neuropéptido Y (NPY) en el control de la ingesta y en la obesidad (1-2). En el núcleo arqueado del hipotálamo existen dos poblaciones neuronales principales, una de ellas aumenta el apetito, expresando el neuropéptido Y (NPY) y la proteína relacionada agouti, y el otro presenta neuronas anorexigénicas que producen pro-opiomelanocortina (POMC) (3).

En este sistema hipotalámico se han descrito polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en el propio gen *NPY*, siendo el más frecuente el rs16147 (G-399A) (4). Esta variante genética está situada en la región promotora del gen *NPY*, produciéndose una sustitución de G por A (G como alelo mayor y A como alelo menor). Se ha demostrado que este SNP está relacionado con los niveles séricos de NPY (5), siendo el responsable casi de la mitad de la variación observable en la expresión de este péptido (6). Incluso en algunos trabajos descriptivos se ha relacionado esta variante genética con diversos trastornos metabólicos (7,8).

Como hemos referido previamente, la intervención dietética es la principal herramienta terapéutica de la obesidad con el fin de generar una pérdida de peso saludable, sobre todo siguiendo el patrón de la dieta mediterránea (9). Los estudios de intervención que evalúan el efecto del rs16147 sobre la respuesta metabólica y el cambio del peso después de una intervención dietética son escasos. En el ensayo POUNDS LOST (10), la variante rs16147 del gen *NPY* modulaba el cambio en la adiposidad abdominal en respuesta a cuatro intervenciones hipocalóricas diferentes. En otro ensayo de intervención (11) se demostró que esta variante genética modifica la respuesta bioquímica que produce la ingesta de cáscara de *Plantago*

ovata durante 8 semanas. En otro trabajo posterior de intervención a corto plazo (12 semanas) con una dieta hipocalórica estándar (12) se observó que el SNP rs16147 había afectado a la variación de la circunferencia de la cintura, la resistencia a la insulina y los niveles de interleucina 6 tras la pérdida de peso. En otro estudio de 3 meses, dos dietas hipocalóricas con diferentes distribuciones de macronutrientes (bajas en carbohidratos frente a bajas en grasas) produjeron una pérdida de peso similar, con una reducción significativa de la resistencia a la insulina entre los sujetos con el alelo menor (13). Estos resultados fueron replicados en un ensayo de 9 meses con una restricción calórica superior a la de los estudios anteriores (1000 calorías al día) (14).

Teniendo en cuenta los antecedentes previos, nos proponemos evaluar el papel de la variante genética rs16147 en los efectos metabólicos que produce una dieta hipocalórica, en este caso de patrón mediterráneo y alto contenido en omega-9.

MATERIAL Y METODOS

En este estudio de investigación se han reclutado 363 pacientes obesos de raza caucásica mediante un método consecutivo no probabilístico de muestreo entre los sujetos enviados por los médicos de Atención Primaria a las consultas de la especializada de nuestra Área de Salud. Todo el trabajo se llevó a cabo de acuerdo con las directrices establecidas en la Declaración de Helsinki. Por otra parte, el comité local de ética aprobó todos los procedimientos y todos los sujetos firmaron un consentimiento informado.

A continuación se exponen los criterios de exclusión que se aplicaron en el estudio: realización de una dieta durante los 6 meses anteriores al estudio, presencia de enfermedades cardiovasculares o cerebrovasculares inestables, motivación insuficiente para seguir un tratamiento dietético y consumo habitual de cualquiera de los siguientes medicamentos: metformina, inhibidores de la dipeptidil-peptidasa de tipo IV, tiazolidinedionas, análogos de GLP-1, inhibidores

de sGLT2, insulina, glucocorticoides, bloqueadores de los receptores de angiotensina, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, medicamentos psicoactivos, estatinas y otros medicamentos lipídicos. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: presencia de obesidad determinada por un índice de masa corporal $> 30 \text{ kg/m}^2$ y una edad comprendida entre 18 y 70 años.

Se recogieron muestras de sangre venosa en tubos tratados con EDTA tras un período de ayuno de 10 horas. La glucosa basal, proteína C-reactiva (PCR), insulina, resistencia a la insulina (HOMA-IR), colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicéridos y adipocitoquinas séricas (leptina, adiponectina y resistina) se midieron al inicio del estudio y se repitieron después de 12 semanas. Los parámetros antropométricos (peso, talla, circunferencia de la cintura y masa grasa por bioimpedancia monofrecuencia) y la presión arterial también se midieron en ambos puntos de corte. Se evaluó el genotipo del polimorfismo del gen *NPY* (rs16147).

Intervención dietética

Los sujetos fueron asignados aleatoriamente a una de las dos dietas durante un período de 12 semanas (dieta M, hipocalórica con patrón Mediterráneo; dieta C, hipocalórica de control). Ambas dietas se diseñaron para proporcionar una restricción calórica aproximada de 500 cal/día sobre el gasto total de energía estimado individualmente, una de ellas con un patrón de dieta mediterránea (consumo de aceite de oliva de 60 ml al día, dos raciones de pescado azul a la semana, consumo de carnes no rojas, 3-5 raciones de fruta y verdura fresca diarias, 2 raciones de leguminosas a la semana) frente a una dieta de control (Tabla I). El programa de ejercicios consistía en realizar ejercicio aeróbico al menos 3 veces por semana (60 minutos cada vez). Los registros de la ingesta dietética diaria durante tres días, incluido un día de fin de semana, se evaluaron con un programa informático (Calculadora de dietas®, www.ienva.org), utilizando como referencia las tablas nacionales de composición de alimentos (15). Un

investigador verificó el cumplimiento de ambas dietas cada 7 días con una llamada telefónica.

Parámetros de adiposidad corporal y tensión arterial

El peso corporal y la circunferencia de la cintura se midieron por la mañana, antes del desayuno, al inicio y a las 12 semanas de seguimiento. El índice de masa corporal se calculó con la fórmula: peso corporal en kilogramos / altura² en metros. La circunferencia de la cintura se midió en el diámetro más estrecho, entre el apéndice xifoideo y la cresta ilíaca. La impedancia eléctrica monofrecuencia (50 KHz) se utilizó para medir la composición corporal con una precisión de 50 g (16) y en condiciones de ayuno de 10 horas, con abstención de toma de alcohol y actividad física durante esas horas previas. La presión arterial se midió tres veces, después de un descanso de 10 minutos, con un esfigmomanómetro de mercurio y se promediaron los valores (Omrom, LA, CA).

Determinaciones de laboratorio

La insulina se determinó mediante radioinmunoanálisis (RIA Diagnostic Corporation, Los Angeles, CA, EUA) con una sensibilidad de 0,5 mUI/L (rango normal, 0,5-30 mUI/L) (17); los niveles de glucosa en plasma se midieron usando un método automatizado de glucosa-oxidasa (Glucose Analyser 2, Beckman Instruments, Fullerton, CA, EUA) y se calculó la resistencia a la insulina (HOMA-IR) usando estos valores (17) con la fórmula: $\text{insulina} \times \text{glucosa} / 22,5$. Las concentraciones séricas de colesterol total y triglicéridos se determinaron mediante un ensayo colorimétrico enzimático (Technicon Instruments, Ltd., New York, NY, EE. UU.). El colesterol HDL se determinó enzimáticamente en el sobrenadante después de la precipitación de otras lipoproteínas con dextrano sulfato-magnesio. El colesterol LDL se calculó utilizando la fórmula de Friedewald (colesterol LDL = colesterol total - HDL colesterol - triglicéridos / 5) (19).

Con respecto a las determinaciones de adipocitoquinas séricas, estas se realizaron mediante enzimoimmunoensayo (ELISA). Para la determinación de la leptina se utilizó el kit comercial Diagnostic Systems Laboratories, Inc., Texas, EUA, con un CV % del 3,5 % (20). Para determinar la resistina se utilizó el kit comercial Biovondor Laboratory, Inc., Brno, República Checa) con un CV % del 3,2 % (21); por último, para la adiponectina se usó el R&D Systems, Inc., Mineapolis, EUA (DRP300), con un CV % del 3,8 % (22). La PCR se determinó por inmunturbimetría (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania), con un CV % del 2,8 %.

Genotipado del polimorfismo del gen NPY

El ADN genómico se extrajo de sangre centrifugada mediante un kit comercial (Biorad, LA, CA, EUA). Los cebadores se diseñaron con el programa Sequenom Assay Design v.4 (SEQUENOM, Inc. San Diego, CA, EUA). El genotipado del polimorfismo rs16147 se realizó mediante el análisis en tiempo real de la reacción en cadena de la polimerasa. Esta reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se llevó a cabo con 20-25 ng de ADN genómico, 0,1-0,15 µl de cada uno de los oligonucleótidos de fondo para rs16147 (*primer forward*: 5'-ACGTTGGATGCACAAAGAGGATTCAGGTGC -3' and reverse 5'-ACGTTGGATGAGCCCAGACGATTCTTGTC -3' en un volumen final de 2 µl (Termociclador Lifetecnologies, LA, CA, EUA). El equilibrio de Hardy Weinberg se calculó con una prueba estadística (chi cuadrado). La variante del gen NPY estaba en equilibrio de Hardy Weinberg ($p = 0,48$).

Análisis estadístico

La comparación de las variables categóricas se evaluó mediante la prueba del chi cuadrado. Las variables numéricas con distribución normal se analizaron con una prueba t de Student de dos colas. Las variables no paramétricas se analizaron con la prueba de Wilcoxon. El análisis estadístico para evaluar la interacción entre el gen y la dieta

se realizó mediante un ANCOVA. El análisis estadístico se realizó para el AG y AA combinado como grupo y el genotipo GG como segundo grupo, con un modelo dominante. El tamaño de la muestra se calculó para detectar diferencias de más de 2 UI/L en la modificación de los niveles de insulina con una potencia del 90 % y una significación del 5 % ($n = 175$ en cada grupo de dieta). Un valor $p < 0,05$ se consideró significativo. La versión 15.0 del SPSS (IL, EUA) se ha utilizado para realizar el análisis estadístico.

RESULTADOS

Un total de trescientos sesenta y tres obesos fueron incluidos en el estudio. La edad media de la muestra fue de $48,2 \pm 8,9$ años y el IMC medio fue de $36,3 \pm 4,1$ kg/m², con un total de 102 varones (25,3 %) y 261 mujeres (74,7 %). Todos los pacientes obesos reclutados completaron las 12 semanas de intervención nutricional en ambas ramas (dieta M vs. dieta C). Un total de 85 pacientes (23,4 %) presentaban el genotipo GG (grupo con alelo mayor) y 278 (76,6 %) presentaban el genotipo GA (192 pacientes, 52,8 %) o AA (86 pacientes, 24,8 %) (grupo alelo menor). La distribución por sexos fue similar en ambos grupos, varones (25,8 % vs. 24,9 %) y mujeres (74,2 % vs. 75,1 %). La edad también fue similar en ambos genotipos (alelo mayor: $48,8 \pm 3,1$ años vs. alelo menor: $47,5 \pm 8,9$ years: ns).

Entre los 177 sujetos que recibieron la dieta M, 46 (26,0 %) tenían el genotipo GG (genotipo salvaje), 96 (54,2 %) el GA y 35 (19,8 %) el AA (genotipo mutante: GA + AA). La evaluación de la ingesta basal detectó los siguientes valores: calorías $1998,1 \pm 216,1$ cal/día, carbohidratos $198,9 \pm 12,3$ g/día (43,4 % de las calorías), grasas $62,0 \pm 9,3$ g/día (33,4 %) y proteínas $77,1 \pm 18,0$ g/día (23,2 %). Durante la intervención dietética, los sujetos alcanzaron las recomendaciones de la dieta M (Tabla I), con una actividad física similar en los dos genotipos ($72,7 \pm 19,3$ min/semana vs. $80,3 \pm 19,2$ min/semana: $p = 0,66$). En los 186 sujetos tratados con la dieta C, 39 (21,0 %) tenían el

genotipo GG (genotipo salvaje), 96 (51,6 %) el genotipo GA y 51 (27,4 %) el genotipo AA como genotipo mutante (GA + AA). La encuesta nutricional basal mostró una ingesta calórica de $1916,1 \pm 312,1$ cal/día, de carbohidratos de $202,9 \pm 23,9$ g/día (43,9 % de las calorías), de grasas de $80,1 \pm 18,3$ g/día (36,0 %) y de proteínas de $82,1 \pm 27,9$ g/día (20,1 %). Durante la intervención, estos sujetos alcanzaron las recomendaciones de la dieta C (Tabla I) con un ejercicio similar en ambos genotipos ($79,1 \pm 18,3$ min/semana vs. $80,1 \pm 12,3$ min/semana: $p = 0,56$).

En la tabla II podemos observar las modificaciones de los parámetros antropométricos y la tensión arterial tras 12 semanas de tratamiento con ambas dietas. No existieron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de estos parámetros en ambos genotipos (GG vs. GA + AA). La mejoría de todos estos parámetros fue similar en ambos genotipos en los pacientes que recibieron la dieta M; IMC (GG vs. GA + genotipos AA) ($-1,6 \pm 0,7$ kg/m² vs. $-1,5 \pm 0,8$ kg/m²: $p = 0,24$), peso ($-5,0 \pm 1,1$ kg vs. $-5,3 \pm 1,2$ kg: $p = 0,31$), masa grasa por impedanciometría ($-3,1 \pm 1,1$ kg vs. $-3,41 \pm 1,1$ kg: $p = 0,36$), circunferencia de la cintura ($-5,0 \pm 2,0$ cm vs. $-4,8 \pm 1,3$ kg: $p = 0,31$) y presión arterial sistólica ($-13,2 \pm 2,5$ mmHg vs. $-12,5 \pm 2,1$ mmHg: $p = 0,32$). Después de la dieta S, la disminución del IMC (GG vs. GA + genotipos AA) ($-1,7 \pm 1,0$ kg/m² vs. $-1,4 \pm 0,9$ kg/m²: $p = 0,39$), el peso ($-5,1 \pm 1,3$ kg vs. $-5,3 \pm 1,2$ kg: $p = 0,41$), la masa grasa ($-3,1 \pm 2,1$ kg vs. $-3,2 \pm 1,1$ kg: $p = 0,51$), la circunferencia de la cintura ($-5,5 \pm 1,9$ cm vs. $-4,5 \pm 2,0$ cm: $p = 0,41$) y la presión arterial sistólica ($-13,1 \pm 2,9$ mmHg vs. $-14,0 \pm 2,1$ mmHg: $p = 0,40$) fue también similar en ambos genotipos.

La tabla III muestra las modificaciones bioquímicas tras la intervención dietética durante 12 semanas. No existieron diferencias significativas en los parámetros bioquímicos entre ambos genotipos. Con la dieta de tipo M y en ambos genotipos disminuyeron los niveles de colesterol total y LDL-colesterol, pero sin alcanzar diferencias significativas. En los sujetos obesos con el alelo menor (A), los niveles

de insulina (GG vs. GA + AA) ($-0,9 \pm 1,1$ UI/L vs. $-4,4 \pm 1,0$ UI/L; $p = 0,01$) y HOMA-IR ($-0,3 \pm 0,1$ unidades vs. $-1,2 \pm 0,3$ unidades; $p = 0,02$) disminuyeron significativamente con la dieta M. Con la dieta de tipo S y en ambos genotipos también disminuyeron los niveles de colesterol y LDL-colesterol, pero sin alcanzar valores significativos. Los sujetos portadores del alelo menor mostraron una disminución significativa de los niveles de insulina basal (GG vs. GA + AA) ($0,7 \pm 0,3$ UI/L vs. $-2,2 \pm 0,9$ UI/L; $p = 0,02$) y HOMA-IR ($-0,3 \pm 0,2$ unidades vs. $-0,7 \pm 0,1$ unidades; $p = 0,01$). Después de ambas dietas, estos parámetros permanecieron sin cambios en los sujetos con el genotipo GG. La disminución de los niveles de insulina circulante (dieta M: $-4,4 \pm 1,0$ UI/L vs. dieta S: $-2,2 \pm 0,9$ UI/L; $p = 0,02$) y HOMA-IR (dieta M: $-1,2 \pm 0,3$ unidades vs. dieta S: $-0,7 \pm 0,1$ unidades; $p = 0,01$) en los pacientes con alelo A fue superior con la dieta M que con la dieta S. La tabla IV muestra los niveles de adipocitoquinas en el suero. Con la dieta de tipo M y en ambos genotipos, los niveles de leptina ($-36,1 \pm 6,1$ ng/ml vs. $-26,3 \pm 4,2$ ng/ml; $p = 0,25$) disminuyeron. Con la dieta S y en los pacientes con ambos genotipos, los niveles de leptina ($-25,5 \pm 4,1$ ng/ml vs. $-27,0 \pm 8,1$ ng/ml; $p = 0,23$) también disminuyeron significativamente. Los niveles de resistina y adiponectina no mostraron diferencias estadísticas tras la pérdida de peso con ambas dietas.

DISCUSIÓN

En el presente estudio de intervención nutricional observamos cómo la presencia del alelo A rs16147 del gen *NPY* mejora el descenso de la insulina basal y la resistencia a la insulina tras la pérdida de peso con una dieta hipocalórica con patrón mediterráneo y también con una dieta hipocalórica de control. Por otra parte, aunque la disminución de peso fue similar con ambas dietas y en ambos genotipos, la mejoría observada en los portadores del alelo A en la resistencia a la insulina y en los niveles de insulina fue superior con la dieta de patrón mediterráneo que con la dieta C.

El gen *NPY* se encuentra localizado en el cromosoma 7p15.1 (23-24). Este SNP rs16147 se ha demostrado que altera la expresión del péptido NPY debido a la pérdida de un factor transcripcional (Sp1) por sustitución de G por A (25) o por la propia interacción del alelo G/A con otras regiones de ADN reguladoras, diferentes de Sp1 (26). Teniendo en cuenta las relaciones con la ingesta y el metabolismo del gen *NPY*, los potenciales efectos de un polimorfismo en este gen sobre los efectos de una modificación dietética son importantes. Por ejemplo, algunos autores han evaluado el efecto de introducir un determinado alimento en la dieta de los pacientes (11); de este modo, la suplementación de la dieta con 14 g al día de cáscara de *Plantago ovata* durante 8 semanas y la restricción de las grasas produjeron una mayor disminución del estado inflamatorio en los pacientes portadores del alelo A, determinado por los niveles de PCR. Las células inmunes poseen el receptor Y1 sobre el que actúa el NPY y, por ende, pueden modular esta respuesta inflamatoria. Este efecto beneficioso del alelo A ante el estado inflamatorio que presentan los pacientes obesos se ha descrito también en pacientes con hígado graso, demostrándose en un estudio transversal (27) que este alelo menor se asocia a un índice más bajo de inflamación hepática, con un menor porcentaje de esteatohepatitis e inflamación lobular en la biopsia hepática de los pacientes con la enfermedad del hígado graso no alcohólico.

En trabajos de intervención dietética con una dieta hipocalórica equilibrada (12) se ha demostrado que esta variante genética del gen *NPY* modula la reducción de los niveles de HOMA-IR, insulina, PCR e IL-6 tras perder peso. En este trabajo, el porcentaje de calorías proveniente de las grasas fue del 25 %, con 18 gramos de grasas monoinsaturadas. En otro estudio de 3 meses de intervención nutricional (13), dos dietas hipocalóricas con diferente distribución de macronutrientes (dieta baja en carbohidratos (36 % de grasas con 28 g de grasas monoinsaturadas) frente a dieta baja en grasas (27 % en grasas con 12 g de grasas monoinsaturadas)) produjeron una pérdida

de peso similar, con una reducción significativa de la resistencia a la insulina en los sujetos con el alelo A (13). Estos resultados fueron replicados por un ensayo de 9 meses con una restricción calórica que alcanzó las 1000 calorías al día (14). Una de las dietas presentaba un aporte del 39 % de las calorías en forma de grasas (27 g de grasas monoinsaturadas) y otra un 32 % (23 g de grasas saturadas).

En el presente estudio detectamos también una asociación de la variante rs16147 SNP con las modificaciones de los niveles de insulina y HOMA-IR después de ambas intervenciones dietéticas. Los portadores del alelo A tuvieron una mejor respuesta que los no portadores, con la misma pérdida de peso con ambas dietas. Pero el efecto dentro de los sujetos obesos portadores del alelo A fue superior con la dieta M, que presentaba un 34,4 % de sus calorías en forma de grasa, con un total de 38 g de grasas monoinsaturadas, casi el doble que en la dieta de control. Es necesario tener en cuenta que en algunos trabajos transversales previos ya se había descrito (28) una asociación de la variante rs16147 con diferentes factores de riesgo cardiovascular como, por ejemplo, un mayor riesgo de presentar síndrome metabólico, obesidad central e hiperglucemia en los sujetos obesos sin alelo A de una población caucásica (29-30). Quizás el alelo A produce una alteración de la síntesis, liberación y acción de la insulina en diferentes tejidos, y esta relación se ve modulada por la pérdida de peso y la ingesta de ciertos nutrientes, como pueden ser los ácidos grasos monoinsaturados.

En nuestro trabajo no hemos encontrado ninguna relación de este polimorfismo con las variables de adiposidad, ni en el momento previo a la intervención dietética, ni tras la intervención dietética. En un trabajo realizado en niños (30), los alelos menores de esta variante genética se asociaron a un mayor riesgo de obesidad. En una cohorte pediátrica (31) también se demostró una relación longitudinal entre rs16147 e IMC durante la infancia. Sin embargo, los resultados de los estudios de adultos son contradictorios y no concluyentes (32,33). Tal vez existen circuitos desconocidos mediante los cuales el NPY puede

influir en el tejido adiposo blanco a través de las terminaciones nerviosas situadas en este tejido (34), interactuando con las adipocitoquinas. Por ejemplo, la leptina forma un circuito de retroalimentación con el NPY e informa al cerebro de los niveles de grasa corporal (35), y se ha demostrado que la ingesta de grasas en la dieta puede regular la expresión del gen *NPY*, lo que respalda las interacciones entre la vía del NPY, los hábitos dietéticos y la adiposidad.

A pesar de los interesantes hallazgos de nuestro trabajo, este presenta algunas limitaciones. En primer lugar, no hemos podido determinar los niveles circulantes de NPY, lo cual nos hubiera permitido una explicación fisiopatológica más profunda de nuestros hallazgos. En segundo lugar, analizamos solo un SNP, por lo que otras variantes genéticas de baja frecuencia en este gen u otros genes próximos también podrían estar asociadas con los hallazgos encontrados y la fisiología del tejido adiposo. En tercer lugar, nuestros resultados pueden extrapolarse a una población caucásica adulta con obesidad; quizás otras etnias, los sujetos obesos con comorbilidad o los pacientes obesos en edad infantil tendrían otras asociaciones con esta variante genética. Finalmente, la valoración de la cumplimentación de la dieta se ha realizado con métodos indirectos como son las encuestas dietéticas, y por ello podemos infra o sobreestimar los efectos de la dieta y de la cantidad de grasas consumida.

En conclusión, el alelo A de la variante rs16147 produce una mejor respuesta metabólica en términos de resistencia a la insulina e insulina basal secundaria a la pérdida de peso con dos dietas hipocalóricas diferentes en pacientes obesos. Este efecto del alelo A fue superior en los sujetos que siguieron una dieta mediterránea rica en grasas monoinsaturadas.

Nutrición Hospitalaria

BIBLIOGRAFÍA

1. Aberle J, Flitsch J, Beck NA. Genetic variation may influence obesity only under conditions of diet: analysis of three candidate genes. *Mol Genet Metab* 2008;95:188-91. DOI: 10.1016/j.ymgme.2008.07.008
2. Kelishadi R, Gharipour M, Sadri GH. Cardiovascular disease risk factors, metabolic syndrome and obesity in an Iranian population. *East Mediterr Health J* 2008;14:1070-9.
3. Sitticharoon C, Chatree S, Churintaraphan M. Expressions of neuropeptide Y and Y1 receptor in subcutaneous and visceral fat tissues in normal weight and obese humans and their correlations with clinical parameters and peripheral metabolic factors. *Regul Pept* 2013;185:65-72. DOI: 10.1016/j.regpep.2013.06.015
4. Domschke K, Hohoff C, Jacob C. Chromosome 4q31-34 panic disorder risk locus: association of neuropeptide Y Y5 receptor variants. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008;147B:510-6. DOI: 10.1002/ajmg.b.30629
5. Sommer WH, Lidstrom J, Sun H. Human NPY promoter variation rs16147:T4C as a moderator of prefrontal NPY gene expression and negative affect. *Hum Mutat* 2010;31:E1594-E1608. DOI: 10.1002/humu.21299
6. Drevets WC, Savitz J, Trimble M. The subgenual anterior cingulate cortex in mood disorders. *CNS Spectr* 2008;13:663-81. DOI: 10.1017/S1092852900013754
7. Parizadeh SA, Jamialahmadi K, Rooki H. Lack of an association between a functional polymorphism in the neuropeptide Y gene promoter and the presence of coronary artery disease in an Iranian population. *Ann Nutr Metab* 2014;65:333-40. DOI: 10.1159/000367854
8. Parizadeh SA, Jamialahmadi K, Rooki H. Association of NPY gene rs16147 polymorphism with metabolic syndrome in patients with documented coronary artery disease. *Annals of Human*

- Biology 2015;42:179-84. DOI: 10.3109/03014460.2014.916750
9. Özata Uyar G, Beyaz Coşkun A, Gökalp G, Köksal E. Association of Mediterranean diet and anthropometric measures with quality of life in coronary artery disease patients. *Nutr Hosp* 2019;36(3):674-80.
 10. Lin X, Qi Q, Zheng Y, Huang T. Neuropeptide Y genotype, central obesity, and abdominal fat distribution: the POUNDS LOST trial. *Am J Clin Nutr* 2015;102:514-9. DOI: 10.3945/ajcn.115.107276
 11. Crescenti A, Solà R, Valls RM. Polymorphisms in LEP and NPY genes modify the response to soluble fibre *Plantago ovata* husk intake on cardiovascular risk biomarkers. *Genes Nutr* 2013;8:127-36. DOI: 10.1007/s12263-012-0303-9
 12. de Luis DA, Izaola O, de la Fuente B. Polymorphism of neuropeptide Y gene rs16147 modifies the response to a hypocaloric diet on cardiovascular risk biomarkers and adipokines. *J Hum Nutr Diet* 2017;30:159-65. DOI: 10.1111/jhn.12406
 13. de Luis DA, Izaola O, Primo D, Aller R Polymorphism rs16147 of the Neuropeptide Y Gene Modifies the Response of Cardiovascular Risk Biomarkers and Adipokines to Two Hypocaloric Diets. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2017;10:63-72. DOI: 10.1159/000478528
 14. de Luis DA, Izaola O, Primo D, Aller R. Different effects of high-protein/low-carbohydrate versus standard hypocaloric diet on insulin resistance and lipid profile: Role of rs16147 variant of neuropeptide Y. *Diabetes Res Clin Pract* 2019;156:107825. DOI: 10.1016/j.diabres.2019.107825
 15. Mataix J, Mañas M. Tablas de composición de alimentos españoles. Ed: University of Granada; 2003.
 16. Lukaski H, Johnson PE. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr* 1985;41:810-2. DOI: 10.1093/ajcn/41.4.810

17. Duart MJ, Arroyo CO, Moreno JL. Validation of an insulin model for the reactions in RIA. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:1161-7. DOI: 10.1515/cclm.2002.203
18. Mathews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-4. DOI: 10.1007/BF00280883
19. Friedewald WT, Levy RJ, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502. DOI: 10.1093/clinchem/18.6.499
20. Meier U, Gressner M. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, Ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clinical Chemistry* 2004;50:1511-25. DOI: 10.1373/clinchem.2004.032482
21. Pfutzner A, Langefeld M, Kunt T. Evaluation of human resistin assays with serum from patients with type 2 diabetes and different degrees of insulin resistance. *Clin Lab* 2003;49:571-6.
22. Suominen P. evaluation of an enzyme immunometric assay to measure serum adiponectin concentrations. *Clin Chem* 2004;50:219-21. DOI: 10.1373/clinchem.2003.025833
23. Zhang X, Qi Q, Liang J, Hu FB. Neuropeptide Y promoter polymorphism modifies effects of a weight-loss diet on 2-year changes of blood pressure: the preventing overweight using novel dietary strategies trial. *Hypertension* 2012;60:1169-75. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.197855
24. Kim NS, Oh SM, Ko MM. Association of the C-399T promoter polymorphism of neuropeptide Y with susceptibility to ischemic stroke. *Clin Biochem* 2009;42:1699-704. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2009.07.012

25. Zain SM, Mohamed Z, Jalaludin MY. Comprehensive evaluation of the neuropeptide-Y gene variants in the risk of obesity: a case-control study and meta-analysis. *Pharmacogenet Genomics* 2015;25:501-10. DOI: 10.1097/FPC.000000000000164
26. Dimitrijevic M, Stanojevic S, Mitic K. The anti-inflammatory effect of neuropeptide Y (NPY) in rats is dependent on dipeptidyl peptidase 4 (DP4) activity and age. *Peptides* 2008;29:2179-87. DOI: 10.1016/j.peptides.2008.08.017
27. Aller R, López-Gomez JJ, Izaola O, Primo D, de Luis D. Role of neuropeptide Y gene variant (rs161477) in liver histology in obese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Endocrinol Diabetes Nutr* 2019;66:217-22. DOI: 10.1016/j.endinu.2018.10.007
28. Shah SH, Freedman NJ, Zhang L, Crosslin DR, Stone DH, Haynes C, et al. Neuropeptide Y gene polymorphisms confer risk of early-onset atherosclerosis. *PLoS Genet* 2009;5:e1000318. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000318
29. de Luis DA, Izaola O, de la Fuente B, Primo D, Aller R. Association of Neuropeptide Y Gene rs16147 Polymorphism with Cardiovascular Risk Factors, Adipokines, and Metabolic Syndrome in Patients with Obesity. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2016;9:213-21. DOI: 10.1159/000452131
30. Olza J, Gil-Campos M, Leis R. Influence of variants in the NPY gene on obesity and metabolic syndrome features in Spanish children. *Peptides* 2013;45:22-7. DOI: 10.1016/j.peptides.2013.04.007
31. Hohmann S, Buchmann AF, Witt SH. Increasing association between a neuropeptide Y promoter polymorphism and body mass index during the course of development. *Pediatr Obes* 2012;7:453-60. DOI: 10.1111/j.2047-6310.2012.00069.x
32. Mutschler J, Abbruzzese E, Wiedemann K. Functional polymorphism in the neuropeptide Y gene promoter (rs16147) is

- associated with serum leptin levels and waist-hip ratio in women. *Ann Nutr Metab* 2013;62:271-6. DOI: 10.1159/000346799
33. Kirkland JL, Dobson DE. Preadipocyte function and aging: links between age-related changes in cell dynamics and altered fat tissue function. *J Am Geriatr Soc* 1997;45:959-67. DOI: 10.1111/j.1532-5415.1997.tb02967.x
34. Zhang W, Cline MA, Gilbert ER. Hypothalamus-adipose tissue crosstalk: neuropeptide Y and the regulation of energy metabolism. *Nutr Metab* 2014;11:27. DOI: 10.1186/1743-7075-11-27
35. Ruipan Z, Xiangzhi M, Li L. Differential expression and localization of neuropeptide Y peptide in pancreatic islet of diabetic and high fat fed rats. *Peptides* 2014;54:33-8. DOI: 10.1016/j.peptides.2014.01.003

Nutricion
Hospitalaria

Tabla I. Composición de ambas dietas

| | Dieta M (n = 177) | Dieta C (n = 186) |
|---------------------------|-------------------|-------------------|
| Energía (cal/día) | 1498 | 1475 |
| Carbohidratos (g/día) | 177,1 | 181,1 |
| Carbohidratos (%VCT) | 46,6 | 47,5 |
| Grasas (g/día) | 56,8 | 56,8 |
| Grasas (%VCT) | 34,4 | 34,1 |
| Grasas monoinsaturadas, % | 67,5 | 55,5 |
| Grasas polinsaturadas, % | 10,8 | 22,7 |
| Grasas saturadas % | 21,7 | 21,8 |
| Proteínas (g/día) | 70,7 | 74,3 |
| Proteínas (%VCT) | 19,2 | 19,9 |

VCT: valor calórico total.

Nutrición
Hospitalaria

Tabla II. Modificaciones de los parámetros antropométricos y la presión arterial tras ambas dietas (media \pm DE)

| Parámetro | rs16147 | | | | | | | | | |
|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---|
| | Dieta M (n = 177) | | | | p Tiempo Genotipo Genotipo x tiempo | Dieta C (n = 186) | | | | p Tiempo Genotipo Genotipo x tiempo |
| | GG (n = 46) | | GA + AA (n = 131) | | | GG (n = 39) | | GA + AA (n = 147) | | |
| Basal | 12 semanas | Basal | 12 semanas | Basal | 12 semanas | Basal | 12 semanas | | | |
| IMC | 36,4 \pm 4,5 | 34,8 \pm 3,6* | 36,5 \pm 5,0 | 34,9 \pm 4,3* | p = 0,01 P = 0,23 P = 0,02 | 36,4 \pm 5,0 | 34,7 \pm 4,1* | 36,4 \pm 4,1 | 35,0 \pm 3,0* | p = 0,02 p = 0,31 p = 0,03 |
| Peso (kg) | 95,4 \pm 4,0 | 90,4 \pm 4,1* | 96,3 \pm 10,1 | 91,0 \pm 9,11* | p = 0,02 P = 0,31 P = 0,03 | 95,6 \pm 3,2 | 90,5 \pm 3,1* | 95,8 \pm 3,1 | 93,5 \pm 2,1* | p = 0,01 p = 0,41 p = 0,02 |
| Masa grasa (kg) | 37,4 \pm 1,1 | 34,3 \pm 1,9* | 38,8 \pm 1,1 | 35,3 \pm 0,9* | p = 0,02 P = 0,25 P = 0,04 | 37,5 \pm 2,0 | 34,4 \pm 1,9* | 38,8 \pm 2,1 | 35,6 \pm 1,9* | p = 0,01 p = 0,31 p = 0,02 |
| CC (cm) | 113,1 \pm 8,1 | 108,1 \pm 2,3* | 113,2 \pm 6,1 | 108,4 \pm 5,0* | p = 0,01 P = 0,40 P = 0,03 | 113,7 \pm 9,0 | 108,1 \pm 5,1* | 113,3 \pm 8,0 | 109,6 \pm 4,4* | p = 0,02 p = 0,21 p = 0,03 |
| TAS (mmHg) | 137,3 \pm 3,1 | 124,1 \pm 4,0* | 141,3 \pm 12,1 | 127,8 \pm 8,0* | p = 0,01 P = 0,23 P = 0,02 | 137,3 \pm 6,0 | 124,2 \pm 4,1* | 138,2 \pm 7,1 | 123,8 \pm 7,0* | p = 0,02 p = 0,40 p = 0,03 |
| TAD (mmHg) | 82,3 \pm 5,0 | 82,1 \pm 4,2 | 81,9 \pm 6,1 | 79,6 \pm 5,1 | p = 0,43 P = 0,68 P = 0,61 | 83,8 \pm 3,1 | 78,6 \pm 4,1 | 84,8 \pm 3,0 | 81,3 \pm 5,2 | p = 0,54 p = 0,74 p = 0,59 |

IMC: índice de masa corporal; TAD: tensión arterial diastólica; TAS: tensión arterial sistólica; CC: circunferencia de la cintura; *Diferencias estadísticamente significativas. SIN diferencias estadísticamente significativas entre genotipos ni en los valores basales, ni tras las dietas.

Tabla III. Modificación de las variables bioquímicas tras ambas dietas (media \pm DE).

| Parámetros | rs16147 | | | | p Tiempo Genotipo Genotipo tiempo x | Dieta C (n = 186) | | | | p Tiempo Genotipo Genotipo tiempo x |
|--------------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|--|-------------------|-----------------|-------------------|------------------|--|
| | Dieta M (n = 177) | | | | | Dieta C (n = 186) | | | | |
| | GG (n = 46) | | GA + AA (n = 131) | | | GG (n = 39) | | GA + AA (n = 147) | | |
| | Basal | 12 semanas | Basal | 12 semanas | | Basal | 12 semanas | Basal | 12 semanas | |
| Glucosa (mg/dl) | 99,1 \pm 8,2 | 98,4 \pm 7,1 | 100,3 \pm 8,1 | 99,5 \pm 7,1 | p = 0,13 p = 0,19 p = 0,25 | 99,5 \pm 5,0 | 99,0 \pm 3,0 | 102,6 \pm 7,2 | 99,1 \pm 6,12 | p = 0,20 p = 0,41 p = 0,31 |
| Colesterol total (mg/dl) | 210,6 \pm 9,1 | 202,1 \pm 8,2* | 208,4 \pm 6,1 | 199,8 \pm 7,2 | p = 0,15 p = 0,37 p = 0,36 | 208,5 \pm 8,0 | 202,2 \pm 6,1 | 202,9 \pm 7,9 | 195,8 \pm 10,1 | p = 0,12 p = 0,24 p = 0,19 |
| LDL-colesterol (mg/dl) | 130,0 \pm 9,1 | 124,6 \pm 9,0* | 128,8 \pm 6,1 | 123,9 \pm 5,2 | p = 0,14 p = 0,34 p = 0,24 | 126,1 \pm 9,1 | 124,6 \pm 7,1 | 126,1 \pm 8,1 | 121,4 \pm 9,1 | p = 0,13 p = 0,26 p = 0,15 |
| HDL-colesterol (mg/dl) | 54,5 \pm 5,0 | 50,9 \pm 4,8 | 53,9 \pm 4,0 | 51,5 \pm 4,1 | p = 0,22 p = 0,51 p = 0,32 | 54,1 \pm 4,0 | 53,9 \pm 2,9 | 50,1 \pm 9,1 | 49,9 \pm 7,1 | p = 0,29 p = 0,48 p = 0,31 |
| Triglicéridos (mg/dl) | 130,3 \pm 18,1 | 131,1 \pm 16,2 | 122,2 \pm 18,2 | 120,1 \pm 10,1 | p = 0,51 p = 0,72 p = 0,42 | 132,1 \pm 10,1 | 130,1 \pm 8,2 | 133,1 \pm 10,1 | 127,4 \pm 7,1 | p = 0,60 p = 0,80 p = 0,31 |
| PCR (ng/dl) | 8,7 \pm 3,2 | 9,1 \pm 2,3 | 6,1 \pm 3,2 | 5,4 \pm 2,9 | p = 0,41 p = 0,57 p = 0,14 | 9,0 \pm 3,1 | 8,8 \pm 2,3 | 7,1 \pm 3,0 | 6,2 \pm 3,1 | p = 0,52 p = 0,63 p = 0,44 |
| Insulina (mUI/l) | 11,7 \pm 2,4 | 10,6 \pm 2,1 | 16,4 \pm 0,8 | 12,0 \pm 2,0* | p = 0,01 p = 0,31 p = 0,02 | 12,7 \pm 2,1 | 12,0 \pm 0,9 | 14,3 \pm 0,9 | 12,1 \pm 1,3* | p = 0,01 p = 0,21 p = 0,02 |
| HOMA-IR | 3,0 \pm 0,5 | 2,7 \pm 0,6 | 4,2 \pm 0,6 | 3,0 \pm 0,5* | p = 0,02 p = 0,29 p = 0,03 | 2,5 \pm 1,0 | 2,2 \pm 0,9 | 3,5 \pm 0,1 | 2,8 \pm 0,2* | p = 0,02 p = 0,23 p = 0,03 |

PCR: proteína C-reactiva; HOMA-IR: *homeostasis model assessment*; *Diferencias estadísticamente significativas en cada grupo. SIN diferencias estadísticamente significativas entre genotipos ni en los valores basales, ni tras las dietas.



Tabla IV. Modificaciones de los niveles de adipocinas séricas tras ambas dietas (media \pm DE)

| Parámetros | rs16147 | | | | p Tiempo Genotipo Genotipo x tiempo | Dieta C (n = 186) | | | | p Tiempo Genotipo Genotipo x tiempo |
|----------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|---|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|---|
| | Dieta M (n = 177) | | GA + AA (n = 131) | | | GG (n = 39) | | GA + AA (n = 147) | | |
| | GG (n = 46) | | GA + AA (n = 131) | | | GG (n = 39) | | GA + AA (n = 147) | | |
| | Basal | 12 semanas | Basal | 12 semanas | | Basal | 12 semanas | Basal | 12 semanas | |
| Resistina (ng/dl) | 6,8 \pm 1,1 | 6,5 \pm 1,9 | 6,7 \pm 1,0 | 6,2 \pm 1,3 | p = 0,51 p = 0,72 p = 0,23 | 6,8 \pm 1,1 | 6,4 \pm 0,8 | 6,3 \pm 1,0 | 6,1 \pm 0,8 | p = 0,51 p = 0,62 p = 0,14 |
| Adiponectina (ng/dl) | 8,4 \pm 4,1 | 8,8 \pm 3,2 | 10,7 \pm 4,0 | 11,9 \pm 3,3 | p = 0,13 p = 0,34 p = 0,17 | 9,5 \pm 3,0 | 8,1 \pm 3,2 | 11,0 \pm 2,1 | 14,2 \pm 3,1 | p = 0,11 p = 0,36 p = 0,22 |
| Leptina (ng/dl) | 75,8 \pm 12,3 | 41,3 \pm 7,5* | 52,2 \pm 8,0 | 26,0 \pm 6,1* | p = 0,02 p = 0,25 p = 0,03 | 65,8 \pm 8,1 | 40,3 \pm 5,1* | 71,1 \pm 6,1 | 53,9 \pm 6,0* | p = 0,01 p = 0,22 p = 0,02 |

* $p < 0,05$ en cada grupo de genotipo. SIN diferencias estadísticamente significativas entre genotipos ni en los valores basales, ni tras las dietas.