

Artículo original

Polimorfismo genético de la lipoproteinlipasa e hipertrigliceridemia en pacientes con diabetes mellitus tipo 2

Lipoprotein lipase gene polymorphism and hypertriglyceridemia in patients with type 2 diabetes mellitus

M.A. Soland, B.R. Bouvet, S.M. Arriaga, A.M. Almará

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario-CONICET. Departamento de Bioquímica Clínica. Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Rosario. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Rosario, Santa Fe (Argentina)

Resumen

La hipertrigliceridemia es una alteración lipídica frecuente en la diabetes mellitus tipo 2. La lipoproteinlipasa cumple una función esencial en el catabolismo de los triglicéridos plasmáticos. Los polimorfismos *HindIII* y *S447X* en el gen de la lipoproteinlipasa se han asociado con dislipidemia en diferentes poblaciones. El objetivo era evaluar el posible efecto de estos polimorfismos sobre el perfil lipídico de la diabetes mellitus tipo 2. En cuanto a la metodología, se analizaron los lípidos plasmáticos y el control glucémico de 83 pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Los sujetos se consideraron normotriglicéridémicos ($n=32$) o hipertriglicéridémicos ($n=51$) según si sus valores en ayunas de triglicéridos (mg/dL) eran <150 o ≥ 150 , respectivamente. Los genotipos *HindIII* (alelos H^+ y H^-) y *S447X* (alelos S y X) se identificaron por reacción en cadena de la polimerasa y análisis de los polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción. Como resultados, el genotipo H^+/H^+ fue más frecuente en el grupo hipertriglicéridémico que en el normotriglicéridémico: 0,745 frente a 0,500, respectivamente ($p=0,023$). En la muestra total de pacientes, los homocigotos H^+/H^+ presentaron mayores niveles de triglicéridos que los portadores del alelo H^- : 220 ± 127 , frente a 165 ± 84 , respectivamente ($p=0,01$). Los portadores del haplotipo $H^+/S447$ ($n=54$) mostraron unos valores de triglicéridos de 220 ± 127 , superiores a los de los sujetos $H^-/X447$ ($n=9$), de 154 ± 95 , y a los de los $H^-/S447$ ($n=20$), de 169 ± 83 ($p=0,026$ y $p=0,036$, respectivamente). En conclusión, este estudio sugiere una

asociación entre variaciones genéticas en el locus de la lipoproteinlipasa y niveles de triglicéridos en la diabetes mellitus tipo 2.

Palabras clave: hipertrigliceridemia, lipoproteinlipasa, polimorfismo, diabetes mellitus tipo 2.

Abstract

Hypertriglyceridemia is a lipid disorder frequently found in type 2 diabetes mellitus. Lipoprotein lipase plays a central role in plasma triglyceride catabolism. Many polymorphic sites in the lipoprotein lipase gene, such as *HindIII* and *S447X*, have been associated with dyslipidemia in different populations. Our objective was to study the possible effect of these polymorphisms on plasma lipid levels in type 2 diabetes mellitus. Lipid and glycemic profiles of 83 patients with type 2 diabetes mellitus were analysed. These patients were classified according to their fasting triglyceride levels as normotriglyceridemics ($n=32$), with triglyceride values <150 mg/dl, or hypertriglyceridemics ($n=51$), with triglyceride values ≥ 150 mg/dl. The lipoprotein lipase *HindIII* and *S447X* genotypes were identified by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. Our results show that H^+/H^+ genotype of *HindIII* polymorphism was more frequent in the hypertriglyceridemic group compared to the normotriglyceridemic group: 0.745 vs. 0.500, respectively ($p=0.023$). In the total sample of patients, H^+/H^+ homocigotes ($n=54$) showed higher triglyceride levels compared to H^- allele carriers ($n=29$): 220 ± 127 mg/dl vs. 165 ± 84 mg/dl, respectively ($p=0.01$). Moreover, $H^+/S447$ haplotype carriers ($n=54$) showed higher triglyceride values: 220 ± 127 mg/dl compared to those found in $H^-/X447$ ($n=9$) and $H^-/S447$ ($n=20$) patients: 154 ± 95 mg/dl and 169 ± 83 mg/dl; $p=0.026$ and $p=0.036$, respectively. As conclusion, this study suggests an association between genetic variations in the lipoprotein lipase locus and plasma triglyceride levels in patients with type 2 diabetes mellitus.

Keywords: hypertriglyceridemia, lipoprotein lipase, polymorphism, type 2 diabetes mellitus.

Fecha de recepción: 13 de marzo de 2008

Fecha de aceptación: 18 de mayo de 2008

Correspondencia:

A.M. Almará. Ituzaingo 1819. 2000 Rosario, Santa Fe (Argentina).
Correo electrónico: aalmar@fbioyf.unr.edu.ar

Lista de acrónimos citados en el texto:

c-HDL: colesterol HDL; c-LDL: colesterol LDL; CT: colesterol total; DM2: diabetes mellitus tipo 2; HDL: lipoproteínas de alta densidad; HTG: hipertriglicéridémicos; LDL: lipoproteínas de baja densidad; LPL: lipoproteinlipasa; NTG: normotriglicéridémicos; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; TG: triglicéridos; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.

Introducción

La hipertrigliceridemia es la alteración lipídica más frecuente en la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y puede atribuirse tanto al aumento de la síntesis de lipoproteínas ricas en triglicéridos (TG) como a una disminución en su catabolismo¹. La lipoproteinlipasa (LPL) desempeña un papel fundamental en este proceso, dado que su función principal es hidrolizar los TG de los quilomicrones y de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), iniciando así la cascada lipolítica de conversión de las VLDL en lipoproteínas de baja densidad (LDL)². El gen de la LPL humana se localiza en el cromosoma 8p22³, tiene una longitud aproximada de 30 kb y contiene 10 exones funcionales⁴. Hasta la fecha, se han identificado al menos 60 mutaciones que originan una enzima no funcional. La herencia de dos alelos defectuosos en el locus del gen de la LPL provoca un severo déficit de la actividad enzimática, que causa hiperquilomicronemia en ayunas⁵. Además de estas raras mutaciones, el gen de la LPL presenta varios sitios polimórficos, comunes en la población general; entre ellos, el polimorfismo *HindIII* y el *S447X* se han asociado con cambios en el perfil lipídico y aumento del riesgo cardiovascular⁶. El polimorfismo *HindIII* consiste en el reemplazo de una timina por una guanina en la posición 495 del intrón 8 del gen, lo cual anula el sitio de reconocimiento para la enzima de restricción *HindIII*⁷. Se ha postulado que el alelo más común del polimorfismo *HindIII*, H⁺ (que presenta el sitio de restricción), se asocia con una menor actividad de la LPL comparado con el raro alelo H⁻ (que carece del sitio de restricción). En la población general, el alelo H⁺ se ha asociado con hipertrigliceridemia⁸ o hipercolesterolemia⁹ y una mayor gravedad de la aterosclerosis¹⁰. Sin embargo, otros autores no han confirmado estos hallazgos¹¹. En la DM2 se observó una mayor frecuencia del alelo H⁺ en pacientes hipertrigliceridémicos (HTG) que en normotrigliceridémicos (NTG), asociándose el genotipo H⁺/H⁺ a hipertrigliceridemia y a una disminución del colesterol ligado a las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL)¹²⁻¹⁴ y con una mayor prevalencia de enfermedad coronaria con respecto a los genotipos¹⁵ H⁺/H⁻ y H⁻/H⁻. Dado que el polimorfismo *HindIII* está ubicado en una región intrónica y, en consecuencia, no afecta a la estructura de la LPL, el mismo podría encontrarse en desequilibrio de ligamiento con una mutación funcional presente en la región codificante o en las regiones de unión exón-intrón⁶. Entre los cambios comunes de secuencia que alteran la región codificante, cabe mencionar el polimorfismo *S447X*, que se produce por el reemplazo de

una citosina por una guanina en la posición 1595 del exón 9 del gen. Este cambio convierte el codón que codifica para la serina 447 en un codón de terminación prematuro, produciéndose así una enzima truncada¹⁶ que muestra una expresión incrementada *in vitro*¹⁷. El polimorfismo *S447X* presenta dos alelos: *S447*, que contiene la serina 447 y es el más común en la población general, y *X447*, que presenta el codón de terminación prematuro y que se encontraría en desequilibrio de ligamiento con el alelo H⁻ del polimorfismo *HindIII*⁶. En comparación con controles sanos, se ha observado una menor frecuencia del alelo *X447* en individuos HTG¹⁸, así como también en individuos que han sufrido infarto agudo de miocardio¹⁹. Además, la mutación *X447* se asoció con una mayor actividad postheparina de la LPL y unos niveles disminuidos de colesterol total (CT) y TG plasmáticos, así como con unos valores aumentados de c-HDL²⁰. Por otra parte, tanto en la población no diabética como en la DM2, el haplotipo H⁻/*X447* se asoció con un perfil lipídico favorable y el haplotipo H⁺/*S447* con hipertrigliceridemia y disminución del c-HDL^{6,14}.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los polimorfismos *HindIII* y *S447X* de la LPL sobre el perfil lipídico de la DM2.

Materiales y métodos

Sujetos

En este estudio se incluyeron 83 individuos de origen hispánico con DM2 de más de diez años de evolución. Los pacientes se seleccionaron consecutivamente entre aquellos que concurren para el control de su diabetes al Laboratorio Central de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, con sede en el Hospital Provincial del Centenario de Rosario. El protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: tratamiento hipolipemiante, patologías tiroideas, enfermedad hepática, proteinuria de rango nefrótico e insuficiencia renal. No se dispuso de información concerniente a los datos antropométricos de los pacientes. Los sujetos se consideraron NTG o HTG según si las concentraciones de TG plasmáticos en ayunas (mg/dL) eran <150 o ≥150, respectivamente, de acuerdo con los criterios establecidos por el Panel de Expertos para la Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipercolesterolemia en Adultos (Adult Treatment Panel III)²¹.

Parámetros bioquímicos

Se extrajo sangre venosa tras un ayuno de 12 horas y se realizaron las siguientes determinaciones: glucemia, CT, c-HDL, c-LDL y TG séricos por métodos enzimáticos (Wiener lab) y hemoglobina glucosilada por cromatografía de intercambio iónico (Biosystems SA).

Identificación de los genotipos «HindIII» y «S447X»

Se obtuvo ADN genómico a partir de leucocitos de sangre periférica extraída con EDTA utilizando un reactivo comercial (Wizard® Genomic DNA Purification, Promega). La identificación de los genotipos del polimorfismo *HindIII* se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), seguida de análisis de los polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción²². Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 25 µL incubando 1 µg de ADN genómico; 0,4 mM de cada cebador: 5'-GATGCTACCTGGATAATCAAAG-3' (sentido) y 5'-CTTCAGCTAGACATTGCTAGTGT-3' (antisentido); 200 µM de cada deoxinucleótido y 1,25 U de ADN Taq polimerasa (Promega). Tras un ciclo de desnaturalización inicial de 5 minutos a 95 °C, se continuó con 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 1 minuto, hibridización a 57 °C por 1 minuto y extensión a 72 °C por 1 minuto. Por último, se realizó un ciclo de extensión final a 72 °C durante 10 minutos. Los productos de PCR, de 350 pb se visualizaron en geles de agarosa al 1,5% teñidos con bromuro de etidio. A continuación, 10 µL de cada producto de PCR se incubaron durante una noche a 37 °C con 10 U de la enzima de restricción *HindIII* (Promega) en un volumen final de 50 µL. Los fragmentos obtenidos tras la digestión enzimática se identificaron en geles de agarosa al 2%. La presencia del sitio de restricción *HindIII* (alelo H⁺) origina dos fragmentos de 140 pb y 210 pb, mientras que en ausencia de dicho sitio (alelo H⁻) se observa el producto de PCR original sin digerir. El polimorfismo *S447X*, en el exón 9 del gen, se identificó después de la introducción forzada en el producto de PCR, de un sitio de restricción para la enzima *HinfI*¹⁸. Se utilizaron los siguientes cebadores: 5'-CATCCATTTTCTTCCACAGGG-3' (sentido) y 5'-TAGCC-CAGAATGCTCACCAGACT-3' (antisentido). Para las reacciones de PCR se incubaron en un volumen final de 25 µL: 1 µg de ADN genómico; 0,4 µM de cada cebador; 200 µM de cada deoxinucleótido y 1,25 U de ADN Taq polimerasa (Promega). Tras un ciclo inicial de desnaturalización del ADN a 95 °C durante 5 minutos, se continuó con 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 1 minuto, hibridización a 57 °C por 1 minuto y extensión a

72 °C por 1 minuto. Luego se realizó un ciclo de extensión final durante 10 minutos a 72 °C. Los productos de PCR, de 137 pb, se visualizaron en geles de agarosa al 2% teñidos con bromuro de etidio. Seguidamente, 10 µL de cada producto de PCR se incubaron durante una noche a 37 °C con 10 U de la enzima de restricción *HinfI* (Amersham) en un volumen final de 50 µL. Los fragmentos obtenidos tras la digestión enzimática se resolvieron por electroforesis en geles de poliacrilamida al 12%, en condiciones no desnaturalizantes. La presencia del sitio *HinfI* (alelo X) origina dos fragmentos de 23 pb y 114 pb, mientras que en ausencia de dicho sitio (alelo S) se observa el producto de PCR original sin digerir.

Análisis estadístico

Los resultados de edad, glucemia y valores de lípidos se expresaron como promedio ± desviación estándar, y se compararon utilizando la prueba t de Student. Por tratarse de porcentajes, los valores de hemoglobina glucosilada se expresaron como mediana (rango) y se compararon mediante la prueba U de Mann-Whitney. Las variables cualitativas (sexo y frecuencias genotípicas) se expresaron como frecuencias absolutas y porcentajes. Las comparaciones de proporciones entre grupos se realizaron aplicando la prueba de ji al cuadrado. En todos los casos se consideró significativo un valor de p < 0,05.

Resultados

En la tabla 1 se observan los valores de edades, glucemia, hemoglobina glucosilada y el perfil lipídico de los sujetos diabéticos NTG (n= 32) y HTG (n= 51). No se observaron diferencias significativas entre ambos grupos en cuanto a edad, sexo, glucemia en ayunas y hemoglobina glucosilada. Por otra parte, el grupo HTG presentó mayores niveles de CT, c-LDL y TG que el grupo NTG, sin que se encontrasen diferencias significativas entre ambos grupos en los valores de c-HDL.

Con el propósito de analizar el efecto del polimorfismo *HindIII* sobre los niveles de TG plasmáticos, se compararon: 1) las frecuencias de homocigotos H⁺/H⁺ y de portadores del alelo H⁻ (genotipos H⁺/H⁻ y H⁻/H⁻) en los grupos NTG y HTG; y 2) los niveles de lípidos plasmáticos de los homocigotos H⁺/H⁺ y de los portadores del alelo H⁻, en la muestra total de pacientes estudiada. Como se observa en la tabla 2, la frecuencia del genotipo H⁺/H⁺ fue mayor en el grupo HTG que en el NTG (p= 0,023). En la muestra total de pacientes analizada, los in-

Tabla 1. Control glucémico y perfil lipídico de sujetos diabéticos normotrigliceridémicos e hipertrigliceridémicos

Parámetro	Sujetos		p
	NTG (n= 32)	HTG (n= 51)	
Edad (años)	56,8 ± 13,4	58,3 ± 12,8	ns
Sexo (M/F)	15/17	24/27	ns
Glucemia (mg/dL)	164 ± 44	181 ± 78	ns
Hemoglobina glucosilada (%)	8,2 (5,3-13,6)	8,8 (5,6-13,9)	ns
Colesterol total (mg/dL)	190 ± 33	235 ± 38	0,0000
c-HDL (mg/dL)	47 ± 8	46 ± 8	ns
c-LDL (mg/dL)	123 ± 27	140 ± 33	0,006
Triglicéridos (mg/dL)	102 ± 29	264 ± 106	0,0000

Los valores se expresan como promedio ± desviación estándar o mediana (rango). Los sujetos se consideraron normotrigliceridémicos (NTG) o hipertrigliceridémicos (HTG) según si sus niveles de triglicéridos en ayunas eran <150 mg/dL o ≥150 mg/dL, respectivamente.

Tabla 2. Frecuencias genotípicas del polimorfismo HindIII en sujetos diabéticos normotrigliceridémicos e hipertrigliceridémicos

Genotipos	NTG (n= 32) n (%)	HTG (n= 51) n (%)
H ⁺ /H ⁺	16 (50,0)	38 (74,5)*
Portadores del alelo H ⁻	16 (50,0)	13 (24,5)

Los sujetos se consideraron normotrigliceridémicos (NTG) o hipertrigliceridémicos (HTG) según si sus niveles de triglicéridos en ayunas eran <150 mg/dL o ≥150 mg/dL, respectivamente. Se consideraron portadores del alelo H⁻ los individuos H⁺/H⁻ y H⁻/H⁻.
*Significativamente superior con respecto al grupo NTG (p= 0,023).

individuos H⁺/H⁺ presentaron mayores niveles de TG plasmáticos que los portadores del alelo H⁻ (p= 0,01), sin que se observaran diferencias significativas entre ambos grupos en los valores de glucemia en ayunas, hemoglobina glucosilada, CT, c-HDL y c-LDL (tabla 3).

En la figura 1 se indican los valores de TG (mg/dL) según los haplotipos HindIII/S447X. Cabe aclarar que, de los cuatro haplotipos posibles, sólo fueron observados tres (H⁺/S447, H⁻/X447 y H⁻/S447), no identificándose ningún individuo con el haplotipo H⁺/X447. Los individuos portadores del haplotipo H⁺/S447 (n= 54) mostraron unos valores de TG de 220±127, significativamente superiores a los que presentaron los sujetos H⁻/X447 (n= 9), de 154±95, y los H⁻/S447 (n= 20), de 169±83 (p=

Tabla 3. Perfil lipídico y control glucémico de sujetos diabéticos clasificados de acuerdo con su genotipo HindIII

Parámetro	Genotipos		p
	H ⁺ /H ⁺ (n= 54)	Portadores del alelo H ⁻ (n= 29)	
Glucemia (mg/dL)	172 ± 60	175 ± 87	ns
Hemoglobina glucosilada (%)	8,7 (5,6-13,9)	8,4 (5,3-12,4)	ns
Colesterol total (mg/dL)	220 ± 47	212 ± 29	ns
c-HDL (mg/dL)	45 ± 8	47 ± 8	ns
c-LDL (mg/dL)	131 ± 40	132 ± 22	ns
Triglicéridos (mg/dL)	220 ± 127	164 ± 84	0,01

Se compararon los homocigotos H⁺/H⁺ con los portadores del alelo H⁻ (individuos H⁺/H⁻ y H⁻/H⁻). Los valores se expresan como promedio ± desviación estándar o mediana (rango).

0,026 y p= 0,036, respectivamente). Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas entre los tres haplotipos en los valores de glucemia en ayunas, hemoglobina glucosilada, CT, c-HDL o c-LDL.

Además, la frecuencia del haplotipo H⁻/X447 tendió a ser mayor en el grupo NTG que en el HTG: del 15,6 frente al 7,8%, respectivamente (p= 0,074).

Discusión

El presente estudio indica que los polimorfismos *HindIII* y *S447X* de la LPL contribuirían a la variación en los niveles de TG plasmáticos en la muestra de pacientes diabéticos analizada.

Con respecto al polimorfismo *HindIII*, su efecto lo evidenciaría el hallazgo de: a) una frecuencia significativamente mayor del genotipo H⁺/H⁺ en el grupo HTG que en el grupo NTG (tabla 2), y b) unos niveles significativamente superiores de TG en los homocigotos H⁺/H⁺ que en los individuos portadores del alelo H⁻ (tabla 3). Estos resultados concuerdan con trabajos previos de otros autores realizados en diabéticos tipo 2 de diversos orígenes étnicos¹²⁻¹⁴. Sin embargo, dado que el polimorfismo *HindIII* está ubicado en una región intrónica, el mismo podría ser marcador de una mutación funcional con la cual se encuentre en desequilibrio de ligamiento, como el polimorfismo *S447X*⁶. Análogamente a lo observado por otros autores¹², en el presente trabajo sólo se identificaron tres

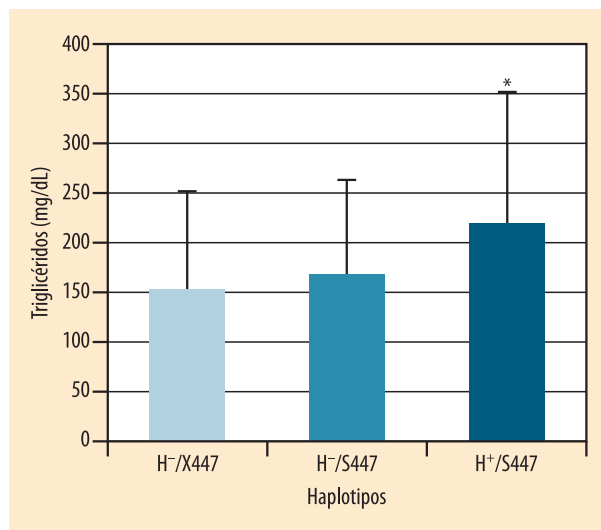


Figura 1. Efecto combinado de los genotipos HindIII y S447X sobre los niveles de triglicéridos plasmáticos en diabéticos tipo 2. Se compararon los valores de triglicéridos plasmáticos de los sujetos portadores de los haplotipos H⁻/X447, H⁻/S447 y H⁺/S447. El haplotipo H⁻/X447 incluye los genotipos H⁻H⁻/SX y H⁻H⁺/SX. El haplotipo H⁻/S447 incluye los genotipos H⁻H⁻/SS y H⁻H⁺/SS. El haplotipo H⁺/S447 incluye el genotipo H⁺H⁺/SS. * p < 0,05 con respecto a los haplotipos H⁻/X447 y H⁻/S447

de los cuatro haplotipos posibles: H⁺/S447, H⁻/S447 y H⁻/X447, lo que permitió distinguir entre los efectos individuales de los alelos H⁻ y X447 de los polimorfismos *HindIII* y *S447X*, respectivamente. En comparación con los portadores de los haplotipos H⁻/X447 y H⁻/S447, los sujetos H⁺/S447 mostraron niveles significativamente superiores de TG (figura 1). La reducción en los niveles de TG asociada con los haplotipos H⁻/X447 y H⁻/S447 fue de magnitud similar, lo que sugiere que los alelos H⁻ y X447 ejercen un efecto independiente sobre los niveles de TG plasmáticos. Este resultado concuerda con hallazgos previos de Razzaghi et al.¹² y apoya la hipótesis de un posible rol funcional para el sitio *HindIII* en el intrón 8, que contiene un importante elemento regulatorio de la actividad transcripcional del gen de la LPL²³.

Por otra parte, el efecto del polimorfismo *HindIII* y de los genotipos *HindIII* y *S447X* combinados sólo se ejerció sobre los TG, no encontrándose diferencias significativas entre los homocigotos H⁺/H⁺ y los portadores del alelo H⁻ o entre el haplotipo H⁺/S447 y los haplotipos H⁻/S447 y H⁻/X447 en los restantes parámetros lipídicos analizados. Particularmente, no se observó una disminución del c-HDL asociada al aumento de los TG plasmáticos, lo que sugiere que factores no genéticos, no consi-

derados en el presente estudio, podrían estar implicados en la regulación de los niveles de c-HDL en los pacientes estudiados²⁴⁻²⁵. Estos resultados corroboran hallazgos previos de Razzaghi et al. en sujetos de origen hispanico¹².

Cabe señalar, asimismo, que en el presente trabajo no se hallaron diferencias significativas en el grado de control glucémico entre los sujetos H⁺/H⁺ y los portadores del alelo H⁻, así como tampoco entre el haplotipo H⁺/S447 y los haplotipos H⁻/S447 y H⁻/X447, por lo que resulta poco probable que el aumento de los TG plasmáticos se haya debido a una mayor síntesis de VLDL, estimulada por los niveles elevados de glucosa en sangre²⁶.

En conclusión, nuestros resultados sugieren que los polimorfismos *HindIII* y *S447X* de la LPL ejercen un efecto significativo y posiblemente independiente sobre los niveles de TG plasmáticos en la muestra de pacientes diabéticos analizada. La hipertrigliceridemia constituye un factor de riesgo cardiovascular²¹ que contribuiría a acelerar el proceso aterosclerótico en la DM2.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, a la Universidad Nacional de Rosario, y a la estadística Stella Maris Pezzotto por su colaboración en el análisis estadístico de los resultados.

Los resultados del presente trabajo formaron parte de la tesis de licenciatura de la licenciada en Biotecnología Melisa A. Soland. ■

Declaración de potenciales conflictos de intereses

Las Dras. Melisa A. Soland, Beatriz R. Bouvet, Sandra M. Arriaga y Adriana M. Almará han contado con el apoyo financiero del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Universidad Nacional de Rosario (Argentina) para la elaboración de este trabajo.

Bibliografía

1. Vergès B. New insight into the pathophysiology of lipid abnormalities in type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2005;31:429-39.
2. Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res.* 1996;37:693-707.
3. Sparkes RS, Zollman S, Klisak I, Kirchgessner TG, Komaromy MC, Mohandas T, et al. Human genes involved in lipolysis of plasma

- lipoproteins: mapping of loci for lipoprotein lipase to 8p22 and hepatic lipase to 15q21. *Genomics*. 1987;1:138-44.
4. Deeb SS, Peng R. Structure of the human lipoprotein lipase gene. *Biochemistry*. 1989;28:4131-5.
 5. Gotoda T, Yamada N, Kawamura M, Kozaki K, Mori N, Ishibashi S, et al. Heterogenous mutations in the human lipoprotein lipase gene in patients with familial lipoprotein lipase deficiency. *J Clin Invest*. 1991;88:1856-64.
 6. Humphries SE, Nicaud V, Margalef J, Tiret L, Talmud PJ. Lipoprotein lipase gene variation is associated with a paternal history of premature coronary artery disease and fasting and postprandial plasma triglycerides. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18: 526-34.
 7. Heinzmann C, Ladias J, Antonarakis S, Kirchgessner T, Schotz M, Lusi AJ. RFLP for the human lipoprotein lipase (LPL) gene: HindIII. *Nucleic Acid Res*. 1987;15:6763.
 8. Ahn Yi, Kamboh MI, Hamman RF, Cole SA, Ferrell RE. Two DNA polymorphisms in the lipoprotein lipase gene and their associations with factors related with cardiovascular disease. *J Lipid Res*. 1993;34:421-8.
 9. Larson I, Hoffmann MM, Ordovas JM, Schaefer EJ, März W, Kreuzer J. The lipoprotein lipase Hind III polymorphism: association with total cholesterol and LDL-cholesterol, but not with HDL and triglycerides in 342 female. *Clin Chem*. 1999;45:963-8.
 10. Mattu RK, Needham EWA, Morgan R, Rees A, Haclshaw AK, Stocks J, et al. DNA variants at the LPL gene locus associate with angiographically defined severity of atherosclerosis and serum lipoprotein levels in a welsh population. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:1090-7.
 11. Hall S, Talmud PJ, Cook DG, Wicks PD, Rothwell MJ, Strazzullo P, et al. Frequency and allelic association of common variants in the lipoprotein lipase gene in different ethnic groups: the Wandsworth Heart and Stroke Study. *Genet Epidemiol*. 2000;18:203-16.
 12. Razzaghi H, Aston CE, Hamman RF, Kamboh MI. Genetic screening of the lipoprotein lipase gene for mutations associated with high triglyceride/low HDL-cholesterol levels. *Hum Genet*. 2000;107:257-67.
 13. Ma YQ, Thomas GN, Ng MC, Critchley JA, Chan JC, Tomlinson B. The lipoprotein lipase gene Hind III polymorphism is associated with lipid levels in early-onset type 2 diabetic patients. *Metabolism*. 2003;52:338-43.
 14. Radha V, Mohan V, Vidya R, Ashok AK, Deepa R, Mathias RA. Association of lipoprotein lipase HindIII and Ser447Ter polymorphisms with dyslipidemia in Asian Indians. *Am J Cardiol*. 2006;97:1337-42.
 15. Ukkola O, Savolainen MJ, Salmela PI, Von Dickhoff K, Kesaniemi YA. DNA polymorphisms at the lipoprotein lipase gene are associated with macroangiopathy in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 1995;115:99-105.
 16. Hata A, Robertson M, Emi M, Lalouel JM. Direct detection and automated sequencing of individual alleles after electrophoretic strand separation: identification of a common nonsense mutation in exon 9 of the human lipoprotein lipase gene. *Nucleic Acid Res*. 1990;18:5407-11.
 17. Zhang H, Henderson H, Gagne SE, Clee SM, Mino L, Liu G, et al. Common sequence variants of lipoprotein lipase: standardized studies of in vitro expression and catalytic function. *Biochem Biophys Acta*. 1996;1302:159-66.
 18. Stocks J, Thorn JA, Galton DJ. Lipoprotein lipase genotypes for a common premature termination codon mutation detected by PCR-mediated site-directed mutagenesis and restriction digestion. *J Lipid Res*. 1992;33:853-7.
 19. Yang Y, Ruiz-Narváez E, Niu T, Xu X, Campos H. Genetic variants of the lipoprotein lipase gene and myocardial infarction in the Central Valley of Costa Rica. *J Lipid Res*. 2004;45:2106-9.
 20. Groenemeijer BE, Hallman MD, Reymer PW, Gagné E, Kuivenhoven JA, Bruin T, et al. Genetic variant showing a positive interaction with beta-blocking agents with a beneficial influence on lipoprotein lipase activity, HDL cholesterol, and triglyceride levels on coronary artery disease patients. The Ser447-stop substitution in the lipoprotein lipase gene. REGRESS Study Group. *Circulation*. 1997;95:2628-35.
 21. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults: executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol (Adults Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-97.
 22. Shimo-Nakanishi Y, Urabe T, Hattori N, Watanabe Y, Nagao T, Yokochi Y, et al. Polymorphism of the lipoprotein lipase gene and risk of atherothrombotic cerebral infarction in the Japanese. *Stroke*. 2001;32:1481-6.
 23. Enerback S, Ohlsson BG, Samuelsson L, Bjursell G. Characterization of the human lipoprotein lipase (LPL) promoter: evidence of two cis-regulatory regions, LP-alpha and LP-beta, of importance for the differentiation-linked induction of the LPL gene during adipogenesis. *Mol Cell Biol*. 1992;12:4622-33.
 24. Sentí M, Elosua R, Tomás M, Sala J, Masiá R, Ordovas JM, et al. Physical activity modulates the combined effect of a common variant of the lipoprotein lipase gene and smoking on serum triglyceride levels and high-density lipoprotein cholesterol in men. *Hum Genet*. 2001;109:385-92.
 25. Javorský M, Gasperíková D, Ukropec J, Sedláková B, Riečanský I, Krizanová O, et al. Lipoprotein lipase HindIII polymorphism influences HDL-cholesterol levels in statin-treated patients with coronary artery disease. *Wien Klin Wochenschr*. 2007;119:476-82.
 26. Adiels M, Borén J, Caslake MJ, Stewart P, Soro A, Westerbacka J, et al. Overproduction of VLDL1 driven by hyperglycemia is a dominant feature of diabetic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:1697-703.