

---

---

## **Ausencia de asociación entre la variante S447X del gen de la lipoproteína lipasa y lípidos plasmáticos. Estudio preliminar.**

*Mariana Zambrano Morales<sup>1</sup>, Erika Fernández Salgado<sup>2</sup>, Ligia Balzán Urdaneta<sup>2</sup>, Neila Labastidas<sup>3</sup>, José Aranguren-Méndez<sup>4</sup>, Lissette Connell<sup>2</sup>, Tania Molero Paredes<sup>1</sup>, Alicia Rojas<sup>5</sup> y Amelia Panunzio<sup>6</sup>.*

<sup>1</sup>Cátedra de Bioquímica Clínica, Escuela de Bioanálisis,

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Clínicas Dr. Américo Negrette, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia.

<sup>3</sup>Hospital General del Sur “Dr. Pedro Iturbe”.

<sup>4</sup>Cátedra de Genética, Facultad de Veterinaria,

<sup>5</sup>Instituto de Investigaciones Genéticas, Facultad de Medicina,

<sup>6</sup>Departamento de Salud Pública y Social, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

**Palabras clave:** lipoproteína lipasa, gen, polimorfismo S447X, lípidos plasmáticos.

**Resumen.** El aumento en los valores de los lípidos sanguíneos, constituye un importante factor de riesgo cardiovascular. La lipoproteína lipasa (LPL) juega un papel importante en el metabolismo lipoproteico. Factores metabólicos y genéticos pueden influir en la función de la LPL. La variante S447X de la LPL se ha asociado con cambios en el perfil lipídico en diferentes poblaciones. El objetivo de esta investigación fue analizar la relación entre la variante S447X del gen de la LPL y lípidos plasmáticos de individuos del Estado Zulia, Venezuela. Se estudiaron 75 individuos entre 20 y 60 años, 34 hombres y 41 mujeres. A cada individuo se le realizó una historia clínica con antecedentes familiares, características antropométricas, estado nutricional y pruebas bioquímicas. Para el estudio molecular, se extrajo el ADN genómico, se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) seguida de digestión enzimática para polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción utilizando la enzima Hinf I. Los individuos estudiados presentaron niveles normales de glicemia, triglicéridos, colesterol total, lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) y niveles ligeramente disminuidos de las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL). La distribución genotípica de la variante S447X del gen LPL fue 90,6% para el genotipo homocigoto 447SS y 9,4% para el genotipo heterocigoto 447SX; no se identificó el genotipo 447XX. La población se ajustó al equilibrio genético de Hardy Weinberg. No se encontró relación entre el polimorfismo S447X del gen LPL y los valores lipídicos plasmáticos.

## **Lack of association between the S447X variant of the lipoprotein lipase gene and plasma lipids. A preliminary study.**

*Invest Clin 2014; 55(2): 133 - 141*

**Key words:** lipoproteinlipase, gene, S447X polymorphism, plasma lipids.

**Abstract.** The increase in lipid plasma values is an important cardiovascular risk factor. Lipoprotein lipase (LPL) plays an important role in the lipoprotein metabolism and metabolic and genetic factors may influence its levels and functions. The S447X variant of the lipoprotein lipase gene is associated with changes in plasma lipids in different populations. The objective of this research was to analyze the S447X variant of the LPL gene and its relation with plasma lipids of individuals in Zulia state, Venezuela. With this purpose, we studied 75 individuals (34 men and 41 women) between 20 and 60 years of age. Each subject had a medical history which included family history, anthropometric characteristics, nutritional status evaluation and biochemical tests. Genomic DNA was extracted for the molecular study and the polymerase chain reaction was used, followed by enzyme digestion, for restriction fragments length polymorphisms using the Hinf I enzyme. The individuals studied had normal levels of blood glucose, triglycerides, total cholesterol and low density lipoproteins (LDL-C) and slightly decreased levels of high density lipoproteins (HDL-C). The genotypic distribution of the LPL gene S447X variant in the studied population was 90.6% for the homozygous genotype SS447 and 9.4% for the heterozygote SX447. The genotype 447XX was not identified. The population was found in Hardy Weinberg genetic equilibrium. No association between the S447X polymorphism of lipoprotein lipase gene and plasma lipids was observed.

*Recibido: 03-07-2013. Aceptado: 20-03-2014*

### **INTRODUCCIÓN**

Las alteraciones en los lípidos plasmáticos constituyen factores de riesgo modificables que conducen a la aparición de las enfermedades cardiovasculares (1, 2). Las enfermedades cardiovasculares representan un problema de salud pública a nivel mundial, causando 30% de todas las muertes en el mundo, reduciendo 10% los años de vida saludable (3). En Venezuela las enfermedades cardiovasculares ocupan el primer lugar de las 25 principales causas de muerte en ambos sexos, y entre individuos de 65 a 74 años representan el 30% de las muertes (4).

En los últimos años se ha estudiado la contribución de la variabilidad genética de los factores de riesgo cardiovasculares, enfocándose el análisis en el estudio de genes candidatos involucrados en las vías biológicas asociadas con el metabolismo de los lípidos y la hemostasia (1, 5, 6). Dentro de estos genes destacan, el gen de la Apo E, Apo B, y el gen de la lipoproteína lipasa (LPL) (1, 5-16).

La LPL es una enzima que participa en el metabolismo y transporte de las lipoproteínas, a través de la hidrólisis de los triglicéridos presentes en los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad

(C-VLDL), generando ácidos grasos libres y glicerol utilizado para el almacenamiento energético (1,8-16). La disminución de la actividad de la LPL influye en los niveles lipídicos, causando hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia generalmente acompañada de bajos niveles de C-HDL (9-13). El gen de la LPL está localizado en 8p22, tiene una longitud de aproximadamente 30 kilobases (Kb), contiene 10 exones y codifica una proteína de 475 aminoácidos, incluyendo un péptido señal de 27 aminoácidos (5-16).

Una variante del gen de la LPL ampliamente estudiada es el polimorfismo S447X, que se produce por la sustitución de citosina por 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, originando un incremento en la actividad de la enzima en los portadores de la variante S447X (17).

Soland y col. (7) reportaron menor frecuencia del alelo 447X en individuos hipertrigliceridémicos y en individuos que han sufrido infarto agudo de miocardio. Además, la variante 447X se asocia con mayor actividad post heparina de la LPL, niveles disminuidos de colesterol total y triglicéridos plasmáticos, así como valores aumentados del C-HDL (7). Este efecto protector se atribuye a su mayor afinidad por los receptores, que facilita la eliminación de las partículas remanentes del C-VLDL (7-16).

Por otro lado, Fernández y col. han reportado que la población Zuliana presenta alto riesgo para desarrollar diabetes y enfermedades cardiovasculares por presentar alteraciones metabólicas como hipertrigliceridemia y disminución del C-HDL (18).

En consideración de lo anteriormente expuesto se planteó como objetivo establecer la relación de la variante S447X del gen de la LPL y los lípidos plasmáticos.

## PACIENTES Y MÉTODOS

Se evaluaron 75 individuos no consanguíneos en edades comprendidas entre 20 y 60 años, nacidos en el Estado Zulia. Los criterios de exclusión fueron: el embarazo, la dislipidemia asociada a enfermedades del riñón, el hígado y la tiroides, diabetes mellitus y el tratamiento con corticoesteroides, estrógenos, retinoides y los bloqueadores  $\beta$ -adrenérgicos, enfermedad crónica, así como alguna medicación que alterara el metabolismo de la glucosa o de los lípidos. Todos los participantes en el estudio firmaron su consentimiento a participar luego de explicarles la naturaleza del mismo. El protocolo de esta investigación fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto de Investigaciones Clínica "Dr. Américo Nègrette", Maracaibo, Venezuela.

A cada sujeto en estudio se le realizó una historia clínica. Se determinaron las características antropométricas: peso (kg) y talla (cm). Se calculó el índice de masa corporal (IMC) empleando la fórmula de Quetelet ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

Se practicaron las pruebas bioquímicas con el cumplimiento del control de calidad pre-analítico, con 10 a 12 horas de ayuno. Se extrajo la muestra de sangre venosa y se centrifugó a 3000 rpm por 15 min para la obtención del suero. Se determinaron los niveles séricos de glicemia por el método de glucosa oxidasa; colesterol total, triglicéridos, C-HDL por métodos enzimáticos (Human), y la insulina por la técnica ELISA (DRG). Se calculó el C-LDL empleando la fórmula de Friedewald (19). Se calculó el modelo de determinación de la homeostasis (HOMA-IR) empleando la fórmula desarrollada por Matthews y col. (20, 21).

Para el análisis molecular se aisló el ADN genómico a partir de leucocitos de sangre periférica por la técnica combinada derivada del método fenol-sevag (22) e inorgánico (23). Se empleó la técnica de RCP

como se describe a continuación: a partir de 100 ng de ADN se adicionó 20  $\mu\text{L}$  de mezcla de reacción constituida por 2,5  $\mu\text{L}$  de Buffer Taq (10X), 1  $\mu\text{L}$  de cada iniciador (10 $\mu\text{M}$ ) 5'- TGACCCACTTGCCACCCGTGC - 3' y 5' GCAGCAGCCAGGGCTGGC - 3'(12), 0,5 $\mu\text{L}$  de desoxinucleótido (10 $\mu\text{M}$ ), 1,5  $\mu\text{L}$  de cloruro de magnesio (25mM), 0,5  $\mu\text{L}$  de Taq polimerasa (5 U/ $\mu\text{L}$ ) y 13  $\mu\text{L}$  de agua ultra pura. Estos cebadores delimitan el exón 9 del gen de la LPL que contiene el polimorfismo S447X, consistente en sustitución de una citosina por una guanina, que produce un codón de terminación prematuro. Se utilizó un termociclador Perkin Elmer modelo Gene Amp PCR system. La RCP se realizó con el siguiente programa: desnaturalización corta de 94°C por 30 seg, alineamiento de los iniciadores a 56°C, extensión de 72°C por 2 min en un total de 40 ciclos. El programa fue precedido por una desnaturalización prolongada a 94°C por 8 min y una extensión final de 72°C por 10 min. El tamaño del fragmento obtenido correspondió a 160 pares de base (pb).

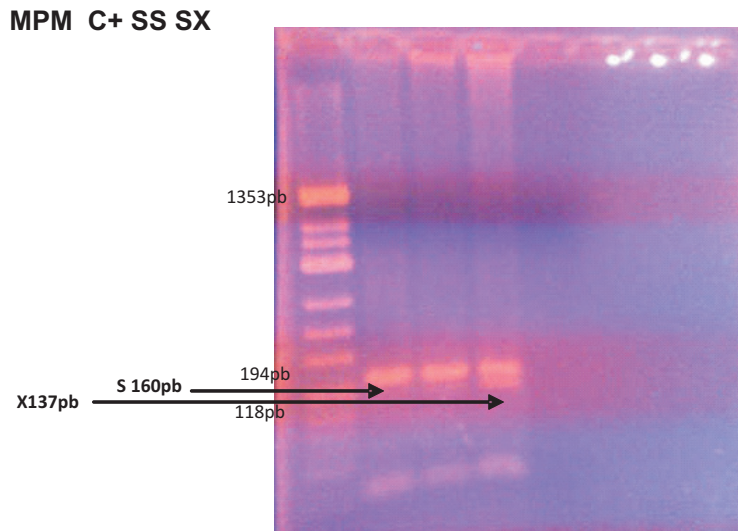
El producto amplificado se sometió a digestión enzimática con la enzima de res-

tricción Hinf I (7), separándose posteriormente por electroforesis horizontal en gel de agarosa al 2% en buffer Tris-EDTA-borato 1x. Se utilizó como marcador de peso molecular Phi174 digerido con Hae III. El gel se coloreó con una solución de 5mg/mL de bromuro de etidio y se visualizó en un transiluminador con luz ultravioleta (Hoefler-Mod. UVTM-25).

Se asignó el genotipo homocigoto S447S (160 pb/160 pb) cuando en ambos cromosomas no hubo corte con la enzima de restricción, genotipo X447X (137+23pb/137+23pb) cuando en ambos cromosomas se evidenció corte con la enzima, el genotipo S447X (160pb/137+23 pb) fue asignado cuando en un cromosoma se observó corte y en el otro ausencia de corte con la enzima utilizada (Fig. 1).

#### Análisis estadístico

Con base a las frecuencias genotípicas se estimaron las frecuencias alélicas, y se determinó el ajuste al equilibrio genético de Hardy Weinberg utilizando el estadístico Ji cuadrado. Para evaluar la relación entre el polimorfismo S447X del gen de la LPL y



MPM:  $\Phi$  174 digerido con Hae III. C+: control positivo del genotipo SS. SS: genotipo homocigoto para ausencia de corte. SX: genotipo heterocigoto.

Fig. 1. Imagen fotográfica del gel de agarosa al 2% del polimorfismo s447x del gen de la lipoproteína lipasa.

las características fenotípicas expresadas en promedios más o menos desviaciones estándar, se empleó el análisis de la varianza (ANOVA). Se calculó el estadístico Odds ratio (OR) para determinar la asociación de los genotipos del polimorfismo con el perfil lipídico. Todos los análisis fueron realizados utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System), versión 9,0 del SAS Institute, NC, USA. El valor de  $p < 0,05$  fue usado para determinar diferencias estadísticas significativas.

### RESULTADOS

Los resultados de las características antropométricas y pruebas bioquímicas se muestran en la Tabla I.

La distribución genotípica del polimorfismo S447X del gen de la LPL en los individuos estudiados fue 90,6% para el genotipo homocigoto S447S y 9,4% para el genotipo heterocigoto S447X; ningún individuo presentó el genotipo X447X. Las frecuencias de los alelos S447 y 447X fueron 0,95 y 0,05 respectivamente. La población se encontró en equilibrio genético de Hardy Weinberg ( $\chi^2$ : 0,18;  $p < 0,01$ ).

Al comparar los genotipos del polimorfismo S447X del gen de la LPL con las características antropométricas y bioquímicas de la población estudiada, no se encontraron diferencias significativas en los parámetros estudiados (Tabla II).

Al relacionar los genotipos del polimorfismo S447X del gen de la LPL con los valores sanguíneos de glucosa y el perfil lipídico, no se obtuvieron valores de OR significativos estadísticamente.

### DISCUSIÓN

Existen evidencias que demuestran la influencia de factores metabólicos y genéticos en los niveles y la función de la LPL. Las anomalías en la función de esta lipo-

**TABLA I**  
DISTRIBUCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS Y PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Características fenotípicas	Población total estudiada
Sexo M/F	34/41
Edad (años)	36,9 ± 11,11
Peso (kg)	85,30 ± 22,07
Talla (m)	1,64 ± 0,10
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	31,46 ± 7,03
Glicemia basal (mg/dL)	76,13 ± 9,86
Insulina (μU/mL)	13,81 ± 10,45
Homa-IR	2,69 ± 2,53
Triglicéridos	114,89 ± 67,30
Colesterol (mg/dL)	151,29 ± 32,55
C-HDL (mg/dL) M	33,42 ± 1,49
C-HDL (mg/dL) F	43,57 ± 1,39
C-LDL (mg/dL)	89,93 ± 23,69

Los valores se expresan en medias ± error estándar, M/F= masculino/femenino

proteína se asocia con condiciones clínicas que incluyen: resistencia a la insulina, obesidad, hiperlipidemia y enfermedad arterial coronaria (5).

La población estudiada mostró valores elevados de IMC, indicativos de sobrepeso y obesidad tipo 1, y valores bajos de C-HDL tanto en hombres como en mujeres, sin que se encontrasen diferencias significativas entre los grupos genotípicos estudiados.

Múltiples estudios asocian variantes del gen de la LPL con concentraciones lipídicas plasmáticas y condiciones clínicas en diferentes poblaciones (1, 5,7-17, 24). La variante Ser447Ter (S447X) localizada en el exón 9 da como resultado una LPL madura truncada en dos de sus aminoácidos del extremo C-terminal, región donde ocurre la unión proteína-receptor, descrito como importante factor protector de enfermedad



**TABLA II**  
RELACIÓN DEL POLIMORFISMO S447X DEL GEN DE LA LIPOPROTEÍNA LIPASA CON LAS CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS Y BIOQUÍMICAS EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA

Características fenotípicas	Población estudiada con genotipo SS	Población estudiada con genotipo SX	Valor P
Edad (años)	36,82 ± 1.35	37,71 ± 4.22	ns
Peso (kg)	85,83 ± 2.68	80,20 ± 8,37	ns
Talla (m)	1,64 ± 0,01	1,58 ± 0,03	ns
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	31,49 ± 0,85	31,18 ± 2,67	ns
Glicemia basal (mg/dL)	76,1 ± 1,20	76,42 ± 3,75	ns
Insulina (μU/mL)	13,74 ± 1,27	14,42 ± 3,97	ns
Homa-IR	2,70 ± 0,30	2,64 ± 0,96	ns
Triglicéridos (mg/dL)	114,04 ± 8,21	123,14 ± 25,59	ns
Colesterol (mg/dL)	150,36 ± 3,95	160,28 ± 12,33	ns
C-HDL (mg/dL)	38,79 ± 1,23	39,28 ± 1,23	ns
C-LDL (mg/dL)	89,52 ± 2,88	93,85 ± 9,00	ns

ns: no significativo. Los valores se expresan en medias ± error estándar.

cardíaca coronaria, relacionado directamente con el incremento de su actividad enzimática (17).

Este estudio analizó la variante S447X del gen de la LPL y su relación con lípidos plasmáticos. Los resultados no demostraron asociación de la variante S447X con las concentraciones lipídicas plasmáticas que formaron parte del perfil lipídico analizado. Estos resultados coinciden con lo reportado en poblaciones Caucásicas y de Suramérica en los que se indica ausencia de correlación entre la presencia del polimorfismo S447X y las concentraciones lipídicas plasmáticas, tal como lo encontrado en la población Zuliana (9, 17). Los hallazgos obtenidos son contrarios a diversos estudios que relacionan la variable S447X con disminución de los lípidos plasmáticos, principalmente triglicéridos, confiriéndole a la presencia del polimorfismo, efecto protector en la aparición de enfermedades cardiovasculares (7, 12, 17, 24). Existe a nivel mundial, controversia entre estudios que soportan esta teoría y otros que se contraponen (5, 7-17,

24). Almeida y col. (9) reportaron esta asociación solo en el grupo de hombres analizados con enfermedad cardíaca prematura, mencionando que la reducción de los triglicéridos en hombres con el polimorfismo S447X está relacionada con la acción y el nivel de testosterona. El efecto protector en contra de las enfermedades cardíacas y los valores lipídicos no se observó en la población total analizada ni en el grupo específico de mujeres estudiadas, tanto en el grupo control como en el grupo con enfermedad cardíaca. Algunos hallazgos reportan que posiblemente el efecto protector anti-aterogénico del polimorfismo S447X pueda ser independiente de los niveles lipídicos plasmáticos (9).

Las diferencias y controversias en los estudios publicados puede deberse a factores relacionados con la compleja variabilidad genética de las poblaciones estudiadas, el número de pacientes analizados y los criterios de inclusión utilizados para la selección de la muestra (9, 17, 24).

Es relevante comparar las frecuencias obtenidas del polimorfismo S447X con las reportadas por otras poblaciones. Este análisis preliminar constituye el primer reporte de frecuencia de la variante S447X en la población venezolana. Las frecuencias obtenidas son similares a las reportadas en Caucásicos y Asiáticos por Sagoo y col. con 5,6 a 21,1% (1). Se ajustan también a otros reportes en Caucásicos, en los que la frecuencia de la variante se encuentra entre 9 y 10% (25-27). Las frecuencias son similares a las reportadas en Latinoamérica (7, 9, 28) y lo reportado en poblaciones Caucásicas de Europa, Australia y Norte América (24, 29-31) donde la frecuencia de homocigotos 447SS es la predominante en la población analizada. Estas concordancias entre las frecuencias de nuestra población y las reportadas en Latinoamérica obedecen a la contribución de ancestros americanos, europeos y africanos, tal como se reporta en diversos estudios (32).

Una limitación de este análisis es el número de individuos estudiados y la ausencia de homocigosidad para el genotipo 447X, lo que limita la interpretación de los resultados y no permite estudiar el efecto protector del alelo homocigoto; por lo tanto, se sugiere ampliar el número de individuos analizados y confirmar los hallazgos obtenidos en este estudio preliminar, para determinar si con un mayor grupo de individuos y el análisis de otros polimorfismos asociados a este gen, es posible encontrar el efecto protector del gen de la LPL reportado por otras poblaciones (28, 33, 34).

A pesar de que este estudio no arrojó relación significativa entre los genotipos del polimorfismo S447X del gen de la LPL y los valores lipídicos sanguíneos, los resultados obtenidos de este primer estudio realizado en Venezuela, suministran información sobre la frecuencia de esta variante, lo que le confiere relevancia y utilidad para los estudios de genética de poblaciones en La-

tinoamérica. Es importante la realización de estudios posteriores en el gen de la LPL, u otros genes cercanos a éste, que pudieran influir en la genética de las dislipidemias, y su relación con el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el apoyo del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ CC-0419-10)

#### REFERENCIAS

1. **Sagoo G, Tatt I, Salanti G, Butterworth A, Sarwar N, van Maarle M, Jukema J, Wiman B, Kastelein J, Bennet A, de Faire U, Danesh J, Higgins J.** Seven lipoprotein lipase gene polymorphisms, lipid fractions, and coronary disease. *Am J Epidemiol* 2008; 168:1233-1246.
2. **Lago F.** Dislipidemias. *Guías Clínicas* 2004; 4:1-8.
3. **Munguía-Miranda C, Sánchez-Barrera RG, Hernández-Saavedra D, Cruz-López M.** Prevalencia de dislipidemias en una población de sujetos en apariencia sanos y su relación con la resistencia a la insulina. *Salud Pública Mex* 2008; 50:375-382.
4. **Ruiz Fernández N, Espinoza M, Barrios E, Reigosa A.** Factores cardiometabólicos en una comunidad de Valencia, Venezuela. *Rev Salud Pública* 2009; 11:383-394.
5. **Ariza M, Sánchez-Chaparro M, Barón F, Hornos A, Calvo-Bonacho E, Rioja J, Valdivielso P, Gelpi J, González-Santos P.** Additive effects of APOE, APOA5 and LPL, variants combinations on triglyceride levels and hypertriglyceridemia: results of the ICARIA genetic sub-study. *BMC Medical Genetics* 2010; 11:66.
6. **Fernández V, Morales L, Molero E, Casanova A, Campos G, Raleigh X, Gómez M, Ryder E.** Niveles de apoproteínas B, AI, CIII como marcador de riesgo cardiovascular en adolescentes delgados y obesos. *Invest Clin* 2004; 45:29-42.

7. Soland MA, Bouvet BR, Arriaga S, Almará A. Polimorfismo genético de la lipoprotein lipasa e hipertrigliceridemia en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Av Diabetol* 2008; 24:231-236.
8. Baum L, Keung H, Wong K, Tomlinson B, Hudson T, Chen X, Cheung W. Associations of apolipoprotein E exon 4 and lipoprotein lipase S447X polymorphisms with acute ischemic stroke and myocardial infarction. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 274-281.
9. Almeida K, Strunz C, Maranhao R, Mansur A. The S447X polymorphism of lipoprotein lipase: effect on the incidence of premature coronary disease and on plasma lipids. *Arq Bras Cardiol* 2007; 88:267-273.
10. Huang AQ, Hu YH, Zhan SY, Xu B, Pang ZC, Cao WH, Lu J, Qin Y, Lee LM. Lipoprotein lipase gene S447X polymorphism modulates the relation between central obesity and serum lipids, a twin study. *Int J Obes* 2006; 30:1693-1701.
11. Jensen MK, Rimm EB, Rader D, Schmidt EB, Sorensen TI, Vogel U, Overvad K, Mukamal KJ. S447X variant of the lipoprotein lipase gene, lipids, and risk of coronary heart disease in 3 prospective cohort studies. *Am Heart J* 2009; 157:384-390.
12. Yang Y, Mu Y, Zhao Y, Liu X, Zhao L, Wang J, Xie Y. Genetic screening of the lipoprotein lipase gene for mutations in Chinese subjects with or without hypertriglyceridemia. *J Genet Genomics* 2007; 34:381-391.
13. Araujo M, Cendoroglo C, Gígek E, Chen E, Smith M. Association of lipase lipoprotein polymorphisms with high-density lipoprotein and triglycerides in elderly men. *Genet Mol Res* 2010; 9:86-89.
14. Salah A, Khan M, Esmail N, Habibullah S, Al Lahham Y. Genetic polymorphism of S447X lipoprotein lipase (LPL) and the susceptibility to hypertension. *J Crit Care* 2009; 24:11-14.
15. Guan YM, Gui YH, Luo FH, Shen SX, Yang Y. Lipoprotein lipase gene mutations and the risk of cardiovascular diseases in children with obesity. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2010; 12:161-164.
16. Fujiwara S, Kotani K, Sano Y, Matsuoka Y, Tsuzaki K, Domichi M, Kajii E, Sakane N. S447X polymorphism in the lipoprotein lipase gene and the adiponectin level in the general population: results from the Mima study. *J Atheroscler Thromb* 2009; 16:188-193.
17. Ağirbasli M, Sumerkan M, Eren F, Ağirbasli D. The S447X variant of lipoprotein lipase gene is inversely associated with severity of coronary artery disease. *Heart Vessels* 2011; 26:457-463.
18. Fernández V, Clavell E, Villasmil J, Calmón G, Raleigh X, Morales L, Campos G, Ryder E, Silva E. Niveles basales de insulina en una población del estado Zulia, Venezuela. *Invest Clin* 2006; 47:167-177.
19. Friedewald W, Levy R, Fredrickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18:499-502.
20. Matthews D, Hosker J, Rudenski A, Naylor B, Treacher D, Turner R. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28:412-419.
21. Garmendía M, Lera L, Sánchez H, Uauy R, Albala C. Valores normativos de resistencia a la insulina mediante HOMA-IR en adultos mayores de Santiago de Chile. *Rev Méd Chile* 2009; 137:1409-1416.
22. Ausubel F.N, Brenr R, Kingston R, Moore D, Seidman J, Smith J. Preparation of genomic DNA. Phenol extraction and concentration of DNA from aqueous solutions. *Shart protocols in molecular biology: A compendium of methods from current protocols in molecular biology*. Greene Publishing Associated and Willey-Interscience, New York; 1989, p 1-387.
23. Miller SA, Oykes DD, Polesky MF. A simple salty out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16:12-15.
24. Tang W, Apostol G, Schreiner P, Jacobs D, Boerwinkle E, Fornage M. Associations of lipoprotein lipase gene polymorphisms with longitudinal plasma lipid trends in



- young adults: The coronary artery risk development in young adults (CARDIA) study. *Circ Cardiovasc Genet* 2010; 3:179-186.
25. **Hata A, Robertson M, Emi, M. Laloue 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 Acids Res* 1990; 18: 5407-5411.
  26. **Stocks J, Thorn JA, Galton DJ.** Lipoprotein lipase genotypes for a common termination codon mutation detected by PCR-mediated site-directed mutagenesis and restriction digestion. *J Lipid Res* 1992; 33:853-876.
  27. **Peacock RE, Harmsten A, Nilsson-Ehle P, Humphries SE.** Associations between lipoprotein lipase gene polymorphism and plasma correlation of lipids, lipoproteins and lipase activities in young myocardial infarction survivors and age-matched healthy individuals from Sweed. *Atherosclerosis* 1992; 97:171-185.
  28. **Muñoz-Barrios S, Guzmán-Guzmán IP, Muñoz-Valle JF, Salgado-Bernabé AB, Salgado-Goytia L, Parra-Rojas I.** Association of the Hind III and S447X polymorphisms in LPL gene with hypertension and type 2 diabetes in Mexican families. *Dis Markers* 2012; 33:313-320.
  29. **Wittrup HH, Tybjaerg-Hasen A, Nordestgaard BG.** Lipoprotein lipase mutations, plasma lipids and lipoproteins, and risk of ischemic heart disease a meta-analysis. *Circulation* 1999; 99: 2901-2907.
  30. **Bockxmeer FM, Liu Q, Mamotte C, Burke V, Taylor R.** Lipoprotein lipase D9N,N291S and S447X polymorphisms: their influence on premature coronary heart disease and plasma lipids. *Atherosclerosis* 2001; 157: 123-129.
  31. **Sing K, Balatyne C, Ferlic L, Brugada R, Cushman, I, Dunn JK.** Lipoprotein lipase gene mutations, plasma lipid levels, progression/regression of coronary atherosclerosis, response to therapy, and future clinical events. *Atherosclerosis* 1999; 144: 435-442.
  32. **Galanter JM, Fernandez-Lopez JC, Gignoux CR, Barnholtz-Sloan J, Fernandez-Rozadilla C, Via M, Hidalgo-Miranda A, Contreras AV, Figueroa LU, Raska P, Jimenez-Sanchez G, Zolezzi IS, Torres M, Ponte CR, Ruiz Y, Salas A, Nguyen E, Eng C, Borjas L, Zabala W, Barreto G, González FR, Ibarra A, Taboada P, Porras L, Moreno F, Bigham A, Gutierrez G, Brutsaert T, León-Velarde F, Moore LG, Vargas E, Cruz M, Escobedo J, Rodríguez-Santana J, Rodríguez-Cintrón W, Chapela R, Ford JG, Bustamante C, Seminara D, Shriver M, Ziv E, Burchard EG, Haile R, Parra E, Carracedo A; LACE Consortium.** Development of a panel of genome-wide ancestry informative markers to study admixture throughout the Americas. *PLoS Genet* 2012; 8:1-16.
  33. **Tanguturi PR, Pullareddy B, Rama Krishna BS, Murthy DK.** Lipoprotein lipase gene HindIII polymorphism and risk of myocardial infarction in South Indian population. *Indian Heart J* 2013; 65: 653-657.
  34. **Baik I, Lee S, Kim SH, Shin C.** A lipoprotein lipase gene polymorphism interacts with consumption of alcohol and unsaturated fat to modulate serum HDL-cholesterol concentrations. *J Nutr* 2013; 143:1618-1625.