
Polimorfismo Gly482Ser del gen coactivador-1 α del receptor activado de proliferación de los peroxisomas γ en individuos de la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. Estudio preliminar.

Mariana Zambrano¹, Erika Fernández², Maciel López¹, Anell Rangel¹, Pilar de Romero¹, Virginia Fernández², Luz Marina Morales², Emperatriz Molero-Conejo², Lissett Connell², Xiomara Raleigh² y José Aranguren-Mendez³

¹Cátedra de Bioquímica Clínica, Escuela de Bioanálisis,

²Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette”, Facultad de Medicina y

³Cátedra de Genética, Facultad de Veterinaria. Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Palabras clave: *PGC-1*, polimorfismo Gly482Ser, resistencia a la insulina.

Resumen. El objetivo de este estudio fue determinar la asociación entre el polimorfismo Gly482Ser del gen *PGC-1* con resistencia a la insulina y la diabetes mellitus tipo 2 en individuos de la ciudad de Maracaibo. Se estudiaron 64 individuos no diabético (36 sin resistencia a la insulina, 28 resistentes a la insulina) y 13 diabéticos tipo 2. Se realizó una historia clínica nutricional que incluyó la evaluación de parámetros antropométricos. Se midieron los niveles de glicemia e insulina basal, colesterol total, HDL-C y LDL-C. El polimorfismo Gly482Ser fue detectado empleando la reacción en cadena de la polimerasa y polimorfismo de restricción de fragmentos largos. Se encontró que las frecuencias alélicas para A y G resultaron 0,36 y 0,64 respectivamente. La población se encontró en equilibrio genético de Hardy Weinberg. Al asociar los genotipos del polimorfismo Gly482Ser con la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus tipo 2, no se encontró asociación estadística significativa (OR=1,320, p=0,74; OR=2, p=0,47 respectivamente). Sin embargo, los individuos diabéticos con genotipo AA presentaron valores de LDL-C más elevados (p<0,05) que los individuos con el genotipo GG y GA. Los diabéticos con el genotipo GA mostraron concentraciones significativamente elevadas de triglicéridos (>150 mg/dL) comparados con los del genotipo GG. De acuerdo a los resultados obtenidos, el polimorfismo Gly482Ser del gen *PGC-1* podría contribuir al riesgo cardiovascular en los individuos diabéticos tipo 2, mientras que

en los individuos resistentes a la insulina este polimorfismo no estuvo asociado a factores de riesgo cardiovascular.

Gly482Ser polymorphism of the coactivator-1 α of the activated receptor of peroxisome γ proliferation in individuals from Maracaibo, Venezuela.

Invest Clin 2009; 50(3): 285 - 294

Key words: *PGC-1*, polymorphism Gly482Ser, insulin resistance.

Abstract. The aim of this study was to determine the association of the Gly482Ser polymorphism of the *PGC-1* gene with insulin resistance and type 2 diabetes mellitus in subjects from the city of Maracaibo. The study was performed on 64 no-diabetic subjects (36 without insulin resistance and 28 with insulin resistance) and 13 with type 2 diabetes. A clinical and nutritional history was carried out and the evaluation of anthropometric parameters was included. Fasting serum glucose, fasting serum insulin, total cholesterol, HDL-C and LDL-C, were measured. The Gly482Ser polymorphism was detected by PCR-RFLP. It was found that the allelic frequencies for A and G were 0.36 and 0.64, respectively. The population was found in genetic equilibrium of Hardy Weinberg. The genotypes of the polymorphism Gly482Ser were not associated with insulin resistance and type 2 diabetes mellitus (OR=1.320, p=0.74; OR = 2, p=0.47 respectively). Nevertheless, the diabetic subjects with the genotype AA presented values of LDL-C higher (p<0.05) than the individuals with the genotypes GG and GA. The diabetics with the genotype GA showed significantly higher concentrations of triglycerides (>150 mg/dL) compared with the genotype GG. According to the results, the polymorphism Gly482Ser of the *PGC-1* gene would be able to contribute to the cardiovascular risk in type 2 diabetics, while in the insulin resistant individuals, this polymorphism was not associated with cardiovascular risk factors.

Recibido: 04-06-2008. Aceptado: 09-10-2008.

INTRODUCCIÓN

La Resistencia a la insulina (RI) tiene una gran relevancia en la salud pública mundial, sólo en los Estados Unidos se estima que hay más de 60 millones de individuos con resistencia a la insulina (1), esto aunado al hecho de ser considerada un factor que precede y predice el desarrollo de trastornos comunes tales como la diabetes mellitus tipo 2, la hipertensión y la aterosclerosis (2, 3).

Existen evidencias que indican que la etiología de la RI viene dada por la existencia de factores ambientales y genéticos. Dentro de los factores ambientales, una de las causas más frecuentes podría ser la obesidad, especialmente la obesidad central y el sedentarismo. Se ha descrito que los factores genéticos tiene una alta heredabilidad a través de un patrón de carácter poligénico. De allí, que se han analizado genes candidatos y polimorfismos asociados a RI, en-

tre ellos el polimorfismo Gly482Ser del gen coactivador-1 α del receptor activado de proliferación de los peroxisomas γ (*PGC-1*) (4, 5). Este gen es un co-activador transcripcional involucrado en la regulación de muchos aspectos del metabolismo energético celular, entre ellos, la termogénesis adaptativa, la biogénesis mitocondrial, la beta oxidación de los ácidos grasos, la gluconeogénesis hepática, el metabolismo de la glucosa y de los lípidos así como la activación de los receptores activados de proliferación de los peroxisomas (*PPARs*) (5-8).

El gen *PGC-1* se encuentra localizado en la región cromosómica 4p15.1, tiene un tamaño de 67 Kb, contiene 13 exones y se expresa en tejidos como: hígado, corazón, riñón, músculo esquelético, tejido adiposo, páncreas y cerebro (9).

Numerosos estudios a nivel mundial han asociado el polimorfismo Gly482Ser del gen *PGC-1* con alteraciones de la oxidación de los ácidos grasos, obesidad, resistencia a la insulina, alto riesgo para diabetes mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares (4, 7, 10-15).

El objetivo de este estudio fue determinar la asociación entre el polimorfismo Gly482Ser del gen *PGC-1* con resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2 en individuos de la ciudad de Maracaibo.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se estudiaron 36 individuos no resistentes a la insulina y 28 resistentes a la insulina, no consanguíneos, con edades comprendidas entre los 22-60 años quienes debían cumplir con el requisito de haber nacido en la ciudad de Maracaibo, no presentar enfermedad diagnosticada, ni con medicación que alterara el metabolismo de la glucosa o de los lípidos. La presencia de resistencia a la insulina se determinó por HOMA-IR empleando la fórmula del modelo homeostático propuesto por Matthews y

col. (16). Tomando como valores de referencia $>2,34$ para hombres y $>2,17$ para las mujeres, valores calculados en base a los resultados de Fernández y col. (17). Además, se incluyeron 13 individuos con diagnóstico de diabetes tipo 2, tratados con dieta, hipoglicemiantes orales y/o metformina. 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 Negrette", Maracaibo, Venezuela.

A cada sujeto se le realizó una historia clínica, donde se obtuvo la información sobre sus hábitos tabáquico y alcohólico, historia de enfermedad crónica, medicación, antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo 2. Se midieron los parámetros antropométricos tales como peso (Kg), talla (cm), y circunferencia de cintura (cm) a la altura del ombligo. Se calculó el índice de masa corporal (IMC) empleando la fórmula de Quetelet (Kg/m^2).

La presión arterial (Korotkoff 5ta fase), se midió empleando un esfigmomanómetro de mercurio estándar, en el brazo derecho, en posición sentada, realizando 3 mediciones con un intervalo de 1 minuto, obteniendo un promedio de ellas.

A cada individuo, después de 10 a 12 horas de ayuno, se le extrajo la muestra de sangre venosa y se centrifugó a 3000 rpm por 15 minutos para obtener el suero. Se determinaron los niveles séricos de glicemia por el método de glucosa oxidasa; colesterol total, triglicéridos, colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) por métodos enzimáticos (Human), insulina por radioinmunoensayo usando un kit Coat-A-count Insulin (DPC). Se calculó LDL-C empleando la fórmula de Friedewald (18).

Tanto a los individuos con resistencia a la insulina y sin resistencia, se les realizó la curva de la tolerancia a la glucosa y se les

midieron los niveles de insulina a los tiempos 0, 30, 60, 90, 120 minutos para determinar si eran intolerantes a la glucosa. A los individuos diabéticos se les determinó glicemia pre y post-prandial, después de un desayuno que contenía 10,7 gramos de grasa, 12,1 gramos de proteína, 50 gramos de carbohidratos y 3,8 gramos de fibra dietética, además se les determinó hemoglobina glicosilada (HbA1C) por el método de inmunoadglutinación látex por DCA (Simens, Canadá) y microalbuminuria en la primera orina de la mañana. A todos los individuos se les realizó una hematología completa y se excluyeron los sujetos con alguna alteración hematológica o alguna infección aguda.

Análisis genético

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 (19) e inorgánico (20). Se empleó la técnica de RCP como se describe a continuación: a partir de 100 ng de ADN se adicionó 20 μ L de mezcla de reacción constituida por 2,5 μ L de Buffer Taq (10X), 1 μ L de cada iniciador (10 μ M) 5'- TAAAGATGTCTCCTCTGATT- 3' y 5' GGAGACACATTGAACAATGAATAGGATTG- 3', 0,5 μ L de desoxinucleótido (10 μ M), 1,5 μ L de Cloruro de magnesio (25mM), 0,5 μ L de Taq polimerasa (5 U/ μ L) y 13 μ L de agua ultra pura. 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 segundos, alineamiento de los iniciadores a 56°C, extensión de 72°C por 2 minutos en un total de 40 ciclos. El programa fue precedido por una desnaturalización prolongada a 94°C por 8 minutos y una extensión final de 72°C por 10 minutos. El tamaño del fragmento obtenido correspondió a 453 pares de base (pb).

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

tricción *HpaII*, separándose posteriormente por electroforesis horizontal en gel de agarosa al 2% en buffer Tris-EDTA-Borato 1x. Se utilizó como marcador de peso molecular ϕ 174 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 AA (453 pb/453 pb) cuando en ambos cromosomas no hubo corte con la enzima de restricción, genotipo GG (240+213pb/240+213pb) cuando en ambos cromosomas se evidenció corte con la enzima, el genotipo GA (240+213 pb/453 pb) fue asignado cuando en un cromosoma se observó corte y en el otro ausencia de corte con la enzima utilizada.

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. Se calculó el estadístico Odds ratio (OR) para determinar la asociación de los genotipos del polimorfismo con la resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2. Para evaluar la asociación entre el polimorfismo Gly482Ser, las características bioquímicas y la presión arterial se empleó el análisis de la varianza (ANOVA). 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

Las características clínicas y bioquímicas de los individuos estudiados se muestran en la Tabla I. En los individuos RI se observaron valores significativamente mayo-

TABLA I
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y BIOQUÍMICAS DE LOS INDIVIDUOS ESTUDIADOS

	No resistentes a la insulina (A)	Resistentes a la Insulina (B)	Diabéticos (C)	AB	AC	BC
Sexo M/F	12/24	15/13	8/5			
Edad	38,66 ± 10,91	35,00 ± 9,76	51,61 ± 8,15	*	**	**
IMC (Kg/m ²)	28,68 ± 4,35	34,06 ± 7,24	37,17 ± 22,11	*	*	
CC (cm)	95,84 ± 2,31	108,47 ± 2,62	106,90 ± 1,86	**	*	
Glicemia basal (mg/dL)	73,11 ± 4,30	77,71 ± 4,88	139,30 ± 7,1		**	**
Insulina basal μ UI/mL	7,84 ± 1,31	19,23 ± 1,49	15,16 ± 2,1	**		
HOMA-IR	1,41 ± 0,38	3,83 ± 0,43	4,84 ± 0,64	**	**	
Triglicéridos(mg/dL)	116,80 ± 13,43	103,28 ± 5,22	198,38 ± 22,35		*	*
Colesterol (mg/dL)	148,33 ± 5,48	150,14 ± 6,22	167,23 ± 9,13			
HDL-C (mg/dL)	40,77 ± 1,62	36,82 ± 1,84	30,53 ± 2,70		*	
LDL-C (mg/dL)	85,77 ± 3,92	92,03 ± 4,44	99,00 ± 6,52			
PAD (mmHg)	82,52 ± 1,87	84,92 ± 2,12	87,23 ± 3,11			
PAS (mmHg)	123,58 ± 2,46	120,21 ± 2,79	129,23 ± 4,10			

*p<0,05 ** p<0,001 los resultados se expresan en media \pm desviación estándar. CC: Circunferencia de cintura. PAD: Presión arterial diastólica. PAS: Presión arterial sistólica.

res de IMC, circunferencia de cintura, insulina basal y HOMA-IR comparados con los sujetos no resistentes a la insulina. Ninguno de los individuos RI y no resistentes a la insulina presentaron intolerancia a la glucosa. Tanto los individuos RI como los diabéticos tipo 2 eran obesos de acuerdo a la clasificación de la OMS (21). En los diabéticos tipo 2, se observaron valores significativamente mayores de IMC, circunferencia de cintura, glicemia basal, HOMA-IR, triglicéridos y valores significativamente menores de HDL-C, comparados con los individuos no resistentes a la insulina. Los diabéticos tipo 2 presentaron hiperglicemia e hipertrigliceridemia al momento del estudio. La HbA1C se encontró dentro de los valores establecidos por la Asociación Americana de Diabetes (<7%) (22), sólo en el 41,6%, y la microalbuminuria fue < 20 mg/L en el 66,6%. Los valores de HbA1C se asociaron positiva y significativamente

(p<0,04) con los niveles de triglicéridos. Los tres grupos estudiados tenían una media de edad significativamente (p<0,001) diferente, observándose resistencia a la insulina en el grupo con menor edad, en presencia de obesidad.

La distribución genotípica del polimorfismo Gly482Ser en la población total analizada fue 38,96% para el genotipo GG, 50,65% para GA y 10,39% para AA. Las frecuencias del alelo G y A fueron 0,64 y 0,36 respectivamente. La población se encontró en equilibrio genético de Hardy Weinberg (datos no mostrados).

De acuerdo al índice de riesgo (OR) no se observó asociación entre el polimorfismo Gly482Ser y el riesgo a desarrollar resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2 al realizar el modelo recesivo (AA vs GA+ GG) y el modelo dominante (GG vs GA + AA). (ver Tabla II y Tabla III respectivamente). En los sujetos RI y no resistentes a la insuli-

TABLA II
DISTRIBUCIÓN GENOTÍPICA DEL POLIMORFISMO Gly482Ser DEL GEN *PGC-1* EN LOS GRUPOS ANALIZADOS EMPLEANDO UN MODELO RECESIVO

Genotipo	No RI n= 36	RI n=28	Diabéticos tipo 2 n=13	OR	IC	P
AA	3 (8,33%)	3 (10,72%)	1 (15,38%)	1,32	(0,245-7,101) ¹	0,74 ¹
GA	17 (47,22%)	15 (53,57%)	7 (53,85%)	0	(0,295-13,6) ²	0,47 ²
GG	16 (44,45%)	10 (35,71%)	4 (30,77%)	2		

OR: odds ratio. IC: intervalo de confianza (95%) empleando el modelo recesivo (AA vs GA + GG).

RI: Resistencia a la insulina. ¹: Resistentes a la insulina vs No RI. ²: Diabéticos vs No RI.

TABLA III
DISTRIBUCIÓN GENOTÍPICA DEL POLIMORFISMO Gly482Ser DEL GEN *PGC-1* EN LOS GRUPOS ANALIZADOS EMPLEANDO UN MODELO DOMINANTE

Genotipo	No RI n= 36	RI n=28	Diabéticos tipo 2 n=13	OR	IC	P
AA	3 (8,33%)	3 (10,72%)	1 (15,38%)	0,694	(0,252-1,916) ¹	0,4813 ¹
GA	17 (47,22%)	15 (53,57%)	7 (53,85%)	0,556	(0,144-2,141) ²	0,393 ²
GG	16 (44,45%)	10 (35,71%)	4 (30,77%)			

OR: odds ratio. IC: intervalo de confianza (95%) empleando el modelo Dominante (GG vs GA + AA).

RI: Resistencia a la insulina. ¹: Resistentes a la insulina vs No RI. ²: Diabéticos vs No RI.

na, no se encontraron asociaciones entre las características clínicas y bioquímicas y los genotipos del polimorfismo Gly482Ser (Tabla IV).

En los individuos diabéticos tipo 2, se observaron diferencias significativas entre los genotipos del polimorfismo Gly482Ser y los niveles del LDL-C y triglicéridos. Así, los individuos con el genotipo AA, presentaron valores de LDL-C significativamente más altos ($p < 0,05$) comparados con los individuos diabéticos con genotipos GG y GA. En relación a los triglicéridos, los individuos con el genotipo GA presentaron niveles significativamente ($p < 0,006$) elevados (> 150 mg/dL), comparados con los individuos con el genotipo GG y AA (Tabla IV). Después de ajustar por edad, edad y sexo, edad, sexo e IMC estos resultados no se modificaron. Similar tendencia fue observada en los grupos no resistentes a la insulina y resistente a la insulina (datos no mostrados).

DISCUSIÓN

La distribución genotípica del polimorfismo Gly482Ser en la población de la ciudad de Maracaibo, se caracterizó por presentar con mayor frecuencia el genotipo GA, seguido por el genotipo GG y por último el AA similar a lo reportado por Ambye y col. (13), difiriendo de lo reportado por Kunef y col. (7), donde el genotipo más frecuente fue el GG seguido del GA y por último el genotipo AA.

En el presente estudio no se encontró asociación estadística significativa entre el polimorfismo Gly482Ser con el riesgo para RI y diabetes tipo 2, similar a lo reportado por otros investigadores (13, 23-24, 26), quienes no encontraron asociación entre el polimorfismo Gly482Ser y resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2, contrario a lo observado en estudios llevados a cabo por Fanelli y col. (4), Kunef y col. (7),

Hara y col. (25), Ek y col. (27), Andersen y col. (11). El efecto variable del polimorfismo Gly 482 Ser en el riesgo a diabetes mellitus y parámetros bioquímicos relacionados, entre los resultados reportados en diferentes poblaciones y la nuestra, pueden explicarse por la presencia de otras variantes funcionales en desequilibrio de ligamiento con este polimorfismo. Otras posibles explicaciones de esta heterogeneidad es la compleja variabilidad genética de las poblaciones estudiadas, la interacción gen-gen y gen-ambiente (14, 28, 29), diferencias en las características de los sujetos estudiados, y el tamaño de la muestra (8).

En los individuos diabéticos tipo 2, con resistencia a la insulina severa, se encontraron diferencias significativas entre los genotipos del polimorfismo y los valores séricos de LDL-C y triglicéridos. Se ha demostrado que los individuos con resistencia a la insulina tienen reducida la expresión del gen *PGC-1* en tejido adiposo, comparado con individuos sensibles a la insulina (30), sugiriendo que el gen *PGC-1* juega un papel importante en la homeostasis de los lípidos. Además, en individuos con resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2, se incrementa la secreción hepática de las VLDL-C produciendo aumento de IDL-C y de las partículas de LDL-C. Por otra parte, en pacientes diabéticos las partículas de LDL son glicosiladas con mayor frecuencia originando su oxidación, elevando el potencial aterogénico de la dislipoproteinemia (31).

Por otra parte, los sujetos diabéticos tipo 2 presentaron niveles elevados de HbA1C que se asoció significativamente con los niveles de triglicéridos. De acuerdo a estos resultados, existe un efecto combinado de los factores genéticos y ambientales sobre los niveles de triglicéridos similar a lo reportado por Rizzo y col. (32).

La hipertrigliceridemia, bajos niveles plasmáticos de HDL-C e incremento de partículas de LDL son anomalías frecuen-

tes en individuos con resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2, asociadas con incremento en la mortalidad cardiovascular (33).

De acuerdo a los resultados obtenidos, se concluye que el polimorfismo Gly482Ser del gen *PGC-1* podría contribuir al riesgo cardiovascular en los individuos diabéticos tipo 2, mientras que en los individuos resistentes a la insulina, este polimorfismo no estuvo asociado a factores de riesgo cardiovascular.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) por el financiamiento de la presente investigación, Proyecto CC-0809-05.

REFERENCIAS

1. **American Heart Association, 2007.** Resistencia a la Insulina. Disponible en www.americanheart.org
2. **González E, Pascual C, Laclaustra J, Casanovas L.** Síndrome metabólico y diabetes mellitus. *Rev Esp Cardiol* 2005; 5:30-37.
3. **Sociedad Española de Diabetes.** Resistencia a la insulina y su implicación en múltiples factores de riesgo asociados a diabetes tipo 2. *Med Clín* 2002; 119:458-463.
4. **Fanelli M, Filippi E, Sentinelli F, Romeo S, Fallarino M, Buzzetti R, Leonetti F, Baroni MG.** The Gly482Ser missense mutation of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha (*PGC-1alpha*) gene associates with reduced insulin sensitivity in normal and glucose-intolerant obese subjects. *Dis Markers* 2005; 21:175-180.
5. **Rodríguez M.** Diferenciación adipocitaria y factores reguladores de la biogénesis mitocondrial efectos de los fármacos antirretroviral. España: Universidad de Barcelona; 2004.

6. Cruz M, García M, López E, Valladares A, Sánchez R, Wachter N, Aguilar Gaytán, Kumare J. Genes candidatos como posibles marcadores de susceptibilidad a diabetes tipo 2. *REB* 2005; 24:81-86.
7. Kunej T, Globocnik P, Dove P, Peterlin B, Petrovic D. A Gly482Ser polymorphism of the peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator -1 (PGC-1) gene is associated with type 2 diabetes in caucasians. *Folia Biol (Praha)* 2004; 50:157-158.
8. Vohl M, Houde A, Lebel S, Hould FS, Marceau P. Effects of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator - 1 Gly482Ser variant on features of the metabolic syndrome, *Mol Genet Metab.* 2005; 86: 600-606.
9. Nitz I, Ewert A, Klapper M, Dormy T. Analysis of PGC-1 alfa variant Gly482Ser and Thr612Met concerning their PPARs function. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 353:481-486.
10. Muller L, Bogardus C, Pedersen O, Baier L. A Gly482Ser missense mutation in the peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator-1 is associated with altered lipid oxidation and early insulin secretion in Pima Indians. *Diabetes* 2003; 52:895-898.
11. Andersen G, Hansen S, Gharani N, Frailing T, Owen K, Sampson M, Ellard S, Walkerd M, Hitman G, Hattersley A, McCarthy M, Pedersen O. A common Gly482Ser Polymorphism of PGC-1 is associated with type 2 diabetes mellitus in two European populations. *Diabetes* 2002; 51: A49-A50.
12. Lucia A, Gómez-Gallego F, Barroso I, Rabadán M, Bandrés F, San Juan A, Chicharro J, Ekelund U, Brage S, Earnest C, Warcham N, Franks P. PPARGC1A genotype (Gly482Ser) predicts exceptional endurance capacity in European men. *J Appl Physiol* 2005; 99: 344-348.
13. Ambye L, Rasmussen S, Fenger M, Jorgensen T, Borch-Johhsen K, Madsbad S, Urhammer S. Studies of the Gly482Ser polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α (PGC-1 α) gene in Danish subjects with the metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 2004; 67:175-179.
14. Barroso I, Luan J, Sandhu M, Franks P, Crowley V, Schafer A, O'Rahilly S, Warcham N. Meta-analysis of the Gly482Ser variant in PPARGC1A in type 2 diabetes and related phenotypes. *Diabetologia.* 2006; 49: 501-505.
15. Lai C, Tucker K, Parnell L, Adiconis X, Garcia-Bailo B, Griffith J, Meydani M, Ordovas J. PPARGC1A (PGC1A) Variation associated with DNA damage, diabetes and cardiovascular diseases: the Boston Puerto Rican Health Study. *Diabetes* 2008; 57: 809-816.
16. 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. *Diabetología* 1985; 28:412-419.
17. Fernández V, Clavell E, Villasmil J, Calmón G, Raleigh X, Morales LM, Campos G, Ryder E, Silva E. Niveles basales de insulina en una población del estado Zulia, Venezuela. *Invest Clín* 2006; 47:167-177.
18. 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.
19. Ausubel F, Brenner R, Kingston R, Moore D, Seidman J, Smith J. Preparation of genomic DNA. Phenol extraction and concentration of DNA from aqueous solutions. In: *Short protocols in molecular biology a Compendium of methods from current protocols in molecular biology.* Ed. Reene Publishing Associated and Willey-Interscience. 1989.
20. Miller A, Oykes D, Polesky H. A simple setting out procedure for extracting from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16:12-15.
21. **World Heart Organization Obesity:** preventing and managing the global epidemic of obesity. R word consultation of obesity. Geneva 3-5 june 1997.
22. **Standards of medical care for patients with diabetes mellitus diabetes care**

- http://care.diabetesjournals.org/cgi/reprint/30/suppl_1/S4
23. **Stumvoll M, Fritsche A, t'Hart L, Machann C, Thamer O Tschriter T, Van Haefkens S, Jacob J, Dekker J, Maassen F, Schick R, Heine H, Haring T.** The Gly482ser variant in the peroxisome proliferator- activated receptor gamma coactivator-1 is not associated with diabetes- related traits in non diabetic German and Dutch population. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004; 112:253-257.
 24. **Lacquemant M, Chikri P, Boutin C, Samson P, Froguel P.** No association between the G482S polymorphism of the proliferator activated receptor- gamma coactivator-1 (PGC1) gene and type II diabetes in french Caucasians. *Diabetologia*.2002; 45:602-603.
 25. **Hara K, Tobe K, Okada T, Kadowaki H, Akanuma Y, Ito C, Kimura S, Kawaoki T.** A genetic variation in the PGC1 gene could confer insulin resistance and susceptibility to type II diabetes. *Diabetología* 2002; 45:740-743.
 26. **Nelson T, Fingerlin T, Moss L, Barmada M, Ferrell R, Norris J.** The peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha Gene (PGC-1) is not associated with Type 2 Diabetes Mellitus or body mass index among hispanic and non hispanic whites from colorado. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2007; 115:268-275.
 27. **Ek J, Andersen G, Urhammer S, Gaede P, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Pedersen O.** Mutation analysis of peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 (PGC-1) and relationships of identified amino acid polymorphisms to type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 2001; 44: 2220-2226.
 28. **Andrulionyte L, Zacharova J, Chiasson JI.** Common polymorphism of the PPAR-gamma2 (pro12ala) and PGC-1 alpha (Gly482Ser) genes are associated with the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes in the STOP-NIDDM trial. *Diabetologia* 2004; 47:2176-2184.
 29. **Lucia A, Gomez-Gallego F, Barroso I.** PPARGC1 genotype (Gly482Ser) predicts exceptional endurance capacity in European males. *J Appl Physiol* 2005; 99:344-348.
 30. **Hammarstedt A, Jansson P, Wesslau X, Smith Y.** Reduced expression of PGC-1 and insulin- signalling molecules in adipose tissue is associated with insulin resistance. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 301:578-583.
 31. **Sniderma A, Scantlebury T, Cianflone K.** Hypertriglyceridemic hyperapoB: the unappreciated atherogenic dyslipoproteinemia in type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2001; 135:447-459.
 32. **Rizzo M, Berneis K.** Low-density lipoprotein size and cardiovascular risk assessment. *J Med* 2006; 99:1-14.
 33. **Krayenbuehla P, Wieslib P, Schmidb C, Lehmannb R, Spinassb G.** Insulin sensitivity in type 2 diabetes is closely associated with LDL particle. *Swiss Med Wkly* 2008; 138:275-280.