

Polimorfismo K121Q del Gen ENPP1 y Cardiopatía Isquémica en Pacientes con Diabetes Melitus

Milene Moehlecke¹, Caroline K. Kramer^{1,2}, Cristiane B. Leitão^{1,2}, Ana Luiza Krahe³, Ivaldir Balbosco⁴, Mirela Jobim de Azevedo^{1,2}, Jorge L. Gross^{1,2}, Luis Henrique Canani^{1,2}

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre¹, RS; Universidade Federal do Rio Grande do Sul², Porto Alegre, RS; Universidade Luterana do Brasil³, Canoas, RS; Hospital São Vicente de Paula⁴, Rio Grande, RS - Brasil

Resumen

Fundamento: El gen ecto-nucleótido pirofosfatasa/fosfodiesterasa 1 (ENPP1) es un gen candidato a la resistencia insulínica. La resistencia a la insulina es un componente importante del síndrome metabólico y ha sido involucrada en el desarrollo de enfermedad cardíaca isquémica (ECI).

Objetivo: Evaluar la asociación entre el polimorfismo K121Q del gen ENPP1 y la presencia de ECI en pacientes caucásicos con diabetes melitus (DM) tipo 2.

Métodos: Se realizó un estudio transversal en pacientes con DM tipo 2 (n=573; 50,6% hombres; edad 59,5±10,4 años). Se definió la ECI por la presencia de angina o infarto agudo de miocardio mediante el cuestionario cardiovascular de la Organización Mundial de la Salud y/o alteraciones compatibles en el ECG (código Minnesota) o centellograma miocárdico. El polimorfismo K121Q fue genotipificado mediante la técnica de PCR y digestión enzimática.

Resultados: La ECI estuvo presente en 209 (36,5%) pacientes. La frecuencia de los genotipos KK, KQ y QQ entre los pacientes con ECI fue del 60,8%, 34,4% y 4,8%, semejante a la distribución de los genotipos entre los pacientes sin ECI (64,0%, 32,7% y 3,3%, P = 0,574). No se observó diferencia en las características clínicas o de laboratorio entre los tres genotipos, ni en relación con la presencia de síndrome metabólico.

Conclusión: No se encontró ninguna asociación entre el polimorfismo K121A del gen ENPP1 y la presencia de ECI o características fenotípicas de resistencia insulínica. (Arq Bras Cardiol 2010; 94(2) : 159-163)

Palabras clave: Polimorfismo genético, isquemia miocárdica, diabetes melitus tipo 2, síndrome metabólico.

Introducción

La resistencia a la acción de la insulina es uno de los principales mecanismos involucrados en la patogénesis tanto de la diabetes melitus (DM) tipo 2 como del Síndrome Metabólico (SM)¹. Además, la resistencia a la acción de la insulina se asocia también a fenotipos implicados en la definición de SM, tales como obesidad central, hipertensión arterial, dislipidemia y tolerancia disminuida a la glucosa. El estado de resistencia a la acción de la insulina es más frecuente en individuos mayores, obesos y sedentarios, y su presencia es probablemente el resultado de la interacción entre el ambiente y factores genéticos.

La influencia genética en la acción de la insulina fue descrita en estudios de familias. Reinhard et al² evaluaron el impacto del diagnóstico de SM en el riesgo de enfermedades cardiovasculares en familias alemanas con gran carga genética

para enfermedad cardíaca isquémica (ECI). Los autores mostraron que el SM es un predictor independiente de morbilidad y mortalidad cardiovascular, especialmente en pacientes jóvenes con historia familiar de ECI precoz.

El gen ecto-nucleótido pirofosfatasa/fosfodiesterasa 1 (ENPP1) es prominente entre los posibles candidatos para el desarrollo de SM, pues su polimorfismo K121Q parece estar asociado a la acción de la insulina³⁻⁵. El ENPP1 codifica una glucoproteína de membrana de clase 2, que influye negativamente la sensibilidad a la acción de la insulina inhibiendo la señal del receptor de insulina tirosina quinasa. La variante 121Q (alelo de riesgo) se liga al receptor de insulina tirosina quinasa con mayor afinidad que su alelo salvaje 121K, resultando en menor autofosforilación del receptor. En un estudio multicéntrico, la variante 121Q se asoció con mayor riesgo de desarrollo precoz de DM tipo 2 e infarto agudo de miocardio, comparado con el alelo 121K⁶. En un metaanálisis reciente de 15.801 pacientes con DM tipo 2 y 26.241 individuos control, el alelo 121Q se asoció a un creciente riesgo de DM tipo 2, que fue modulado por el índice de masa corporal (IMC)⁷. No obstante, aún no ha sido plenamente analizado el rol preciso del polimorfismo K121Q en el desarrollo de complicaciones vasculares de

Correspondencia: Luis Henrique Canani •

Av Montenegro 216/703, Petrópolis, 90460-160, Porto Alegre, RS - Brasil
E-mail: luiscanani@yahoo.com

Artículo recibido el 29/07/08; revisado recibido el 02/09/08; aceptado el 11/09/08.

la DM tipo 2, especialmente en relación a la enfermedad cardiovascular aterosclerótica.

Así, el objetivo de este estudio fue analizar la asociación entre la variante 121Q del gen ENPP1 en pacientes blancos con DM tipo 2 y la presencia de ECI, SM y fenotipos relacionados.

Métodos

Pacientes

Se llevó a cabo un estudio transversal con una muestra compuesta por 573 pacientes blancos con DM tipo 2⁸ en seguimiento ambulatorio en el Servicio de Endocrinología del Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil. Estos pacientes son participantes de un estudio que se inició en 2002 y está siendo realizado en el estado de Rio Grande do Sul, con el objetivo de estudiar la DM y sus complicaciones crónicas. Además del Servicio de Endocrinología del Hospital de Clínicas de Porto Alegre, otros tres hospitales participaron del Proyecto: Grupo Hospitalario Nossa Senhora da Conceição, Hospital São Vicente de Paula y Hospital Universitario de Rio Grande.

Evaluación clínica

Los pacientes fueron sometidos a una evaluación estandarizada descrita previamente⁹, que incluía: edad, duración de la DM y medicamentos en uso en el momento. Para evaluar las complicaciones crónicas de la DM y los factores de riesgo cardiovascular, se realizaron el examen físico y los test de laboratorio. El peso y la altura se tomaron con los pacientes vestidos con ropa liviana y sin zapatos. El IMC fue calculado mediante la relación peso (kg)/altura² (m). El perímetro de cintura se midió a la altura de la cicatriz umbilical¹⁰. Se definió la hipertensión arterial como la presión de $\geq 140/90$ mmHg, o por el uso corriente de medicamentos antihipertensivos¹¹. Los pacientes que habían fumado regularmente en el año anterior, fueron considerados como fumadores activos.

La ECI fue diagnosticada en presencia de angina o posible infarto de miocardio de acuerdo el cuestionario cardiovascular de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y/o cambios electrocardiográficos compatibles (Código de Minnesota: patrones Q y QS [1.1-2, 1.3]; unión e infradesnivel del segmento S-T [J] [4.1-4]; ítems de la onda T [5.1-3], y bloqueo completo de rama izquierda [7.1])¹² y/o anomalías en la perfusión (fijas o variables) en el centellograma de miocardio en reposo o luego del uso de dipiridamol. Estas herramientas de diagnóstico para isquemia de miocardio en pacientes con DM tipo 2 fueron evaluadas previamente en un estudio prospectivo¹³.

El diagnóstico de vasculopatía periférica se basó en la presencia de claudicación intermitente (cuestionario cardiovascular de la OMS) o ausencia de pulso en los miembros inferiores durante el examen físico.

La retinopatía diabética (RD) fue evaluada por un oftalmólogo experimentado mediante fundoscopia directa bajo midriasis. La RD fue clasificada como ausente y no proliferativa (RDNP) (microaneurismas, exudados duros y

hemorragia) o RD proliferativa (RDP) (presencia de neovasos y/o tejido fibroso en cavidad vítrea). La nefropatía diabética (ND) fue definida por la tasa de excreción urinaria de albúmina (EUA) en ausencia de infección urinaria u otras anomalías del tracto urinario, en por lo menos dos mediciones aisladas, y se clasificó como microalbuminuria (EUA 20-199 $\mu\text{g}/\text{min}$) o macroalbuminuria (EUA ≥ 200 $\mu\text{g}/\text{min}$)¹⁴.

El SM fue definido, de acuerdo a los criterios del Programa Nacional de Educación sobre Colesterol - Panel de Tratamiento de Adultos III, como la presencia de dos o más de los siguientes factores además de DM: obesidad abdominal (circunferencia abdominal >102 cm en hombres y >88 cm en mujeres); altos niveles de triglicéridos en suero (≥ 150 mg/dl); bajo colesterol HDL (<40 mg/dl en hombres o <50 mg/dl en mujeres), y alta presión arterial ($\geq 130/85$ mmHg o consumo de medicamentos antihipertensivos)¹⁵.

Test de laboratorio

La EUA se midió utilizando la técnica de inmunoturbidimetría en muestra de orina estéril de 24h, sin utilización de inhibidores de la enzima convertidora o bloqueantes de los receptores de angiotensina. El nivel de glucosa en ayuno se determinó mediante el método de la glucosa oxidasa; la creatinina, mediante la reacción de Jaffe, y la HbA1c, por cromatografía líquida de alta performance (HPLC; Merck-Hitachi 9100; valores de referencia: 4-6%); los niveles de triglicéridos y colesterol fueron medidos usando el método enzimático, y el LDL se calculó mediante la ecuación de Friedewald. Para medir la insulina en suero se utilizó radioinmunoensayo (Elescsy R Systems 1010/2010/ modular analysis E170 - ROCHE) en una muestra de pacientes que no estaban usando insulina y que poseían creatinina en suero en un nivel $<1,3$ mg/dl. La resistencia a la insulina fue estimada mediante el Modelo de Evaluación de la Homeostasis {Índice *Homeostasis Model Assessment* = [insulina de ayuno (mU/ml) X ayuno de glucosa sanguínea (mmol/l)] / 22,5}, validado recientemente¹⁶.

Análisis molecular

Los individuos fueron genotipificados para polimorfismo ENPP1 K121Q, conforme lo descrito anteriormente¹⁷. Se aisló el DNA de los linfocitos usando procedimientos estándar¹⁸. Todas las RCPs fueron realizadas en un volumen final de 25 conteniendo 50 ng de DNA genómico, 20 mmol/l Tris-Cl, (pH 8.4), 50 mmol/l KCl, 1.5 mmol/l MgCl_2 , 0.2 mmol/l dNTPs, 1 unidad de TaqDNA polimerasa, y 1 $\mu\text{mol}/\text{l}$ de primer específicos para obtener exon 4 (frente: 5'-CTG TGT TCA CTT TGG ACA TGT TG-3' y reverso: 5'-GAC GTT GGA AGA TAC CAG GTT G-3'). Los productos RCP fueron digeridos por la enzima de restricción *Avall* y separados en gel de agarosa. El alelo que codifica la variante K apareció como un fragmento simple de 238 pares de base y el alelo que codifica la variante Q, como dos fragmentos de 148 y 90 pares de base cada uno.

Análisis estadístico

Para comparar las características de pacientes con o sin ECI se utilizaron el teste *t* de Student para muestras independientes o el test U de Mann-Whitney, según se

apropiara. Para comparar las características clínicas y de laboratorio de pacientes divididos de acuerdo a sus genotipos, se utilizaron los test chi-cuadrado y de análisis de varianza simple (One-Way ANOVA). El test de Tukey se utilizó para comparaciones *post hoc* múltiples. El Equilibrio de Hardy-Weinberg fue calculado utilizando frecuencia de alelos y el test chi-cuadrado. Las variables con una distribución no-normal fueron sometidas a la transformación logarítmica. Las variables continuas fueron descritas como promedio \pm desviación estándar, o mediana y mínimo-máximo, y las variables categóricas se expresaron como número de casos y porcentaje. Un valor de $P < 0.05$ (dos colas) fue considerado como significativo. Los análisis fueron realizados utilizando el programa Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales (SPSS, versión 14.0 para Windows).

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital de Clínicas de Porto Alegre, y todos los pacientes firmaron el Consentimiento Informado.

Resultados

Pacientes

La edad promedio de los 573 pacientes incluidos fue de $59,5 \pm 10,4$ años con un tiempo de duración de DM conocido de $11,7 \pm 9,2$ años e IMC de $28,9 \pm 5,2$ kg/m². Las mujeres constituían el 49,4% (n = 283) de la muestra. La ECI estaba presente en 209 (36,5%) pacientes. En la Tabla 1 se describen las características clínicas y de laboratorio de los pacientes, divididos de acuerdo a la presencia de ECI.

Los pacientes con ECI tenían DM de más larga data y había mayor frecuencia de fumadores ($P = 0,010$) (Tabla 1). Las otras características clínicas, tales como edad, distribución de hombres y mujeres, presión arterial, IMC y circunferencia abdominal, no fueron diferentes. Respecto a los datos de laboratorio, el grupo con ECI presentó mayores niveles de creatinina en suero ($1,61 \pm 1,8$ vs $1,30 \pm 1,37$ mg/dl, $P = 0,024$) e índices más altos de EUA [15 (0,8-3162) vs $5,3$ (0,1-7680) $\mu\text{g}/\text{min}$, $P < 0,001$] que pacientes sin ECI. El SM apareció en el 96,1% (n = 323) de los pacientes sin ECI y en el 91,8% (n = 178) del grupo con ECI ($P = 0,118$).

La presencia de ECI fue más frecuente entre aquellos con cualquier grado de RD (RDNP/RDP) (44,2% vs 33,7%, $P=0,003$), ND (micro/macroalbuminuria) (47,4% vs 32,1%, $P < 0,001$) o enfermedad vascular periférica (52,5% vs 33,0%, $P < 0,001$) que entre aquellos sin estas complicaciones.

Polimorfismo K121Q y enfermedad cardiaca isquémica y síndrome metabólico

Los genotipos evaluados estaban en Equilibrio de Hardy-Weinberg ($P > 0,05$), y la frecuencia del alelo de riesgo (alelo Q) era de 20,5%. Las características clínicas y de laboratorio de los pacientes divididos de acuerdo a los diferentes genotipos no se diferenciaron entre los tres grupos (Tabla 2).

Cuando los pacientes fueron divididos de acuerdo a la presencia de ECI, la distribución de genotipos KK, KQ y QQ fue del 60,8%, 34,4% y 4,8%, no diferente de la distribución genotípica observada en el grupo sin ECI (64%, 32,7% y

Tabla 1 - Características clínicas y de laboratorio de pacientes con DM tipo 2 con y sin enfermedad cardiaca isquémica

	Enfermedad cardiaca isquémica		P
	No N = 364	Si N = 209	
Edad (años)	59,5 \pm 10	60,7 \pm 10	0,157
Duración de la diabetes (años)	10,9 \pm 8,5	14,4 \pm 9,4	<0,001
Hombres - n (%)	181 (49,7%)	109 (52,2%)	0,576
Fumadores actuales - n (%)	53 (14,9%)	48 (23,6%)	0,010
Hipertensión - n (%)	244 (63,5%)	140 (67%)	0,991
Presión arterial sistólica (mmHg)	143,1 \pm 23,7	142,3 \pm 24,3	0,710
Presión arterial diastólica (mmHg)	86,1 \pm 13,3	84,8 \pm 12,3	0,261
Glucemia de ayuno (mg/dl)	173,5 \pm 66,8	172,6 \pm 72,6	0,892
HbA1c (%)	6,36 \pm 1,83	6,40 \pm 1,81	0,833
Circunferencia abdominal (cm)			
Hombres	100,2 \pm 11,9	98,9 \pm 10,1	0,343
Mujeres	96,6 \pm 12,7	97,5 \pm 10,9	0,465
Índice de masa corporal (kg/m ²)	28,4 \pm 4,8	28,5 \pm 4,9	0,943
Creatinina (mg/dl)	1,30 \pm 1,37	1,61 \pm 1,8	0,024
Colesterol total (mg/dl)	209,1 \pm 45,9	212,6 \pm 47,6	0,489
Colesterol HDL (mg/dl)	44,1 \pm 11,3	42,7 \pm 12	0,169
Colesterol LDL (mg/dl)	130,5 \pm 40,6	134,7 \pm 48,5	0,420
Triglicéridos (mg/dl)*	155 (27-900)	167 (47-1265)	0,552
HOMA - IR*	5,18 (0,46-30,2)	4,6 (0,3-28,2)	0,301
Síndrome metabólico - n (%)	323 (96,1%)	178 (91,8%)	0,118
Albuminuria ($\mu\text{g}/\text{min}$)*	5,3 (0,1-7.680)	15 (0,8-3.162)	<0,001
Polimorfismos K121Q			
Genotipos KK	60,8%	64,0%	0,574
Genotipos KQ	34,4%	32,7%	
Genotipos QQ	4,8%	3,3%	

Datos mostrados como número (%), promedio \pm desviación estándar o *mediana (alcance). Homeostasis model assessment - modelo de evaluación hemostático.

3,3%, $P = 0,574$) (Tabla 1). El Alelo Q apareció en el 22% (n = 81) de los pacientes con ECI y en el 19,6% (n = 131) de los pacientes sin ECI ($P = 0,328$). La prevalencia de SM de acuerdo a los genotipos KK, KQ y QQ fue del 96,3%, 95% y 88,2% ($P = 0,279$). Estos resultados no cambiaron cuando los pacientes fueron divididos asumiendo un modelo dominante (KQ/QQ vs KK).

Discusión

En esta muestra de pacientes blancos brasileiros con DM tipo 2, el alelo 121Q del gen ENPP1 no fue asociado a la presencia de ECI, ni a características asociadas a

Tabla 2 - Características clínicas y de laboratorio de pacientes de acuerdo con el genotipo

	Polimorfismo ENPP1 K121Q			P
	KK (N = 361)	KQ (N = 192)	QQ (N = 20)	
Edad (años)	61,4 ± 8,9	61,7 ± 8,3	61,1 ± 12,6	0,973
Duración de la diabetes (años)	11,7 ± 8,8	12,4 ± 8,8	10,7 ± 6,6	0,372
Hombres - n (%)	14 (49,5)	36 (50,8)	3 (33,3)	0,615
Fumadores actuales - n (%)	5 (18,9)	17 (24,6)	0 (0)	0,240
Hipertensión - n (%)	19 (69,7)	18 (73,8)	6 (66,7)	0,822
Presión arterial sistólica (mmHg)	143,3 ± 23,8	141,3 ± 22,4	145,3 ± 26,0	0,377
Presión arterial diastólica (mmHg)	85,9 ± 13,8	86,0 ± 12,4	86,4 ± 13,0	0,956
Glucemia de ayuno (mg/dl)	177 ± 70,1	168,2 ± 70,7	189,7 ± 88,4	0,114
HbA1c (%)	6,4 ± 1,8	6,4 ± 2,1	6,6 ± 1,9	0,740
Circunferencia abdominal (cm)				
Hombres	95,92 ± 8,52	100,63 ± 9,07	85,50 ± 4,95	0,032
Mujeres	95,92 ± 13,53	96,52 ± 12,96	99,50 ± 1,91	0,799
Índice de masa corporal (kg/m ²)	28,5 ± 4,9	28,7 ± 5,2	26,4 ± 4,06	0,451
Creatinina en suero (mg/dl)	1,5 ± 1,9	1,6 ± 1,6	2,1 ± 2,8	0,131
Colesterol total (mg/dl)	212 ± 48,7	209 ± 46,0	207 ± 54,8	0,665
Colesterol HDL (mg/dl)	44 ± 12,3	45 ± 12,0	46 ± 13,7	0,301
Colesterol LDL (mg/dl)	133 ± 46,2	130 ± 41,8	137 ± 45,0	0,739
Triglicéridos (mg/dl)*	155 (27-1.470)	144 (26-2.236)	155 (56-659)	0,216
HOMA-IR*	5,69 (0,27-61,98)	4,3 (0,37-31,91)	11,1 (1,14-82,73)	0,497
Albuminuria (µg/min)*	19,25 (0,8-5.104)	18,9 (1-3.055)	5,0 (1-232)	0,145

Datos mostrados como número (%), promedio ± desviación estándar o *mediana (mínimo-máximo). Homeostasis Model Assessment - modelo de evaluación hemostático.

la resistencia a la insulina, incluyendo IMC, obesidad abdominal, hipertensión arterial, un peor perfil lipídico, control glucémico o presencia de SM. La ausencia de una asociación de este polimorfismo a características de resistencia a la acción de la insulina merece algunos comentarios. Primeramente, esta asociación puede no existir, y las relaciones descritas en otros estudios son en verdad dudosas debido a un error de tipo 2. Si esta hipótesis es rechazada, la relevancia de una asociación positiva deberla ser discutida. Para detectar una diferencia significativa en la frecuencia del alelo Q en pacientes con (22%) y sin ECI (19,6%) ($\alpha = 0,05$ e $\beta = 80\%$), sería necesario evaluar alrededor de 4.500 pacientes. Aún cuando ello fuera significativamente diferente, su aplicabilidad sería cuestionada a causa de su pequeño efecto y dependería de otros polimorfismos o interacciones de genes. Una explicación más plausible es que la expresión del gen variante depende del grupo étnico que está siendo estudiado. En verdad, aún entre Europeos Caucásicos la expresión fenotípica de este polimorfismo varía. La relación entre el polimorfismo K121Q y la sensibilidad a la acción de la insulina fue demostrada en individuos Caucásicos¹⁹⁻²¹, pero no en todos los estudios^{20,22,23}. La ausencia del efecto del alelo de riesgo demostrado en algunos grupos puede ser el resultado de diferencias en la carga genética

de estas poblaciones, o puede deberse al hecho de que el polimorfismo está en desequilibrio con otras variantes genéticas no identificadas.

La asociación del alelo 121Q con el riesgo y el agravamiento de la ECI fue evaluada recientemente en un estudio caso-control que incluyó individuos de Italia y de los Estados Unidos⁶. En ese estudio, los autores no demostraron una asociación significativa entre el polimorfismo K121Q y la presencia de ECI en pacientes con DM tipo 2. No obstante, los eventos isquémicos aparecieron en edad más temprana en el grupo de pacientes con alelo Q, aún con análisis ajustado según sexo, IMC, tabaquismo, hipertensión y lugar de reclutamiento (P=0,04). El diseño transversal del presente estudio impide cualquier análisis sobre la influencia de este polimorfismo en el curso de la ECI.

Una posible limitación de este estudio es que se evaluó sólo un polimorfismo del gen. Ello permite excluir la idea de que este polimorfismo está ligado a la ECI, pero no el gen ENPP1 *per se*, ya que el polimorfismo K121Q es sólo uno entre los más estudiados. Otro aspecto podría estar relacionado al criterio adoptado para la ECI. Se diagnosticó ECI en un paciente cuando uno de los test evaluados (el cuestionario cardiovascular de la OMS, ECG en reposo, centellograma miocárdico) resultó positivo. No poseemos

informaciones detalladas sobre cuál test fue positivo en los 573 pacientes en este estudio transversal multicéntrico. No obstante, como todos los pacientes estudiados se sometieron al cuestionario cardiovascular de la OMS y al ECG en reposo, podemos afirmar que en el grupo de pacientes sin ECI, el 100% de estos test fueron negativos. Además, demostramos anteriormente¹³ que la presencia de ECI de acuerdo al cuestionario cardiovascular de la OMS confirió un riesgo relativo para eventos cardíacos de 2,13 (95%CI 1,11-4,07; P = 0,022), aún mejor que el riesgo verificado por el ECG en reposo o el centellograma miocárdico. Además, cuando el cuestionario cardiovascular de la OMS estaba asociado a un ECG normal, el valor predictivo negativo para eventos cardíacos fue del 82,1%. En esta situación, es probable que no sean necesarios test adicionales.

En conclusión, en esta muestra de pacientes brasileiros blancos con DM tipo 2, el polimorfismo K121Q del gen ENPP1 no estuvo asociado a la presencia de ECI ni a fenotipos relacionados a la resistencia a la insulina o SM.

Referencias

- Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM, Haffner SM. NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. *Diabetes*. 2003; 52 (5):1210-4.
- Reinhard W, Holmer SR, Fischer M, Gloeckner C, Hubauer U, Baessler A, et al. Association of the metabolic syndrome with early coronary disease in families with frequent myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 2006; 97 (7): 964-7.
- Carter JS, Pugh JA, Monterrosa A. Non-insulin-dependent diabetes mellitus in minorities in the United States. *Ann Intern Med*. 1996; 125 (3): 221-32.
- Prudente S, Trischitta V. The pleiotropic effect of the ENPP1 (PC-1) gene on insulin resistance, obesity and type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91 (12): 4767-8.
- Molitch ME, De Fronzo RA, Franz MJ, Keane WF, Mogensen CE, Parving HH. Nephropathy in diabetes. *Diabetes Care*. 2004; 27 (Suppl 1): S79-83.
- Bacci S, Ludovico O, Prudente S, Zhang YY, Di Paola R, Mangiocotti D, et al. The K121Q polymorphism of the ENPP1/PC-1 gene is associated with insulin resistance/atherogenic phenotypes, including earlier onset of type 2 diabetes and myocardial infarction. *Diabetes*. 2005; 54 (10): 3021-5.
- McAteer JB, Prudente S, Bacci S, Lyon HN, Hirschorn JN, Trischitta V, et al. The ENPP1 K121Q polymorphism is associated with type 2 diabetes in European populations: evidence from an updated meta-analysis in 42,042 subjects. *Diabetes*. 2008; 57 (4): 1125-30.
- Harris MI, Hadden WC, Knowler WC, Bennett PH. International criteria for the diagnosis of diabetes and impaired glucose tolerance. *Diabetes Care*. 1985; 8 (6): 562-7.
- Picon PX, Gerchman F, Zelmanovitz T, Gross JL, Canani LH. Análise dos critérios de definição da síndrome metabólica em pacientes com diabetes melito tipo 2. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006; 50 (2): 264-70.
- Picon PX, Leitão CB, Gerchman F, Azevedo MJ, Silveiro SP, Gross JL, et al. Medida da cintura e razão cintura/quadril e identificação de situações de risco cardiovascular: estudo multicêntrico em pacientes com diabetes melito tipo 2. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2007; 51 (3): 443-9.
- Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: The JNC 7 Report. *JAMA*. 2003; 289 (19): 2560-72.
- The Coronary Drug Project. Design, methods, and baseline results. *Circulation*. 1973; 47 (3 Suppl): I1-50.

Agradecimientos

Agradecemos al Proyecto de Núcleos de Excelencia del Ministerio de Ciencia y Tecnología (PRONEX), Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq) y el Fondo de Incentivo a la Investigación (FIPE) del Hospital de Clínicas de Porto Alegre por el apoyo financiero.

Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Fuentes de Financiación

EL CNPq, FIPE - HCPA financió parcialmente el presente estudio.

Vinculación Académica

No hay vinculación de este estudio a programas de postgrado.

- Azevedo MJ, Neto AF, Caramori ML, Beck MO, Moreira JS, Ludwig R, et al. Value of diagnostic tools for myocardial ischemia used in routine clinical practice to predict cardiac events in patients with type 2 diabetes mellitus: a prospective study. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006; 50: 46-52.
- Gross JL, de Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care*. 2005; 28 (1): 164-76.
- Ardern CI, Katzmarzyk PT, Janssen I, Church TS, Blair SN. Revised adult treatment panel III. Guidelines and cardiovascular disease mortality in men attending a preventive medical clinic. *Circulation*. 2005; 112 (10): 1478-85.
- Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care*. 2000; 23 (1): 57-63.
- Canani LH, Ng DP, Smiles A, Rogus JJ, Warram JH, Krolewski AS. Polymorphism in ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 gene (ENPP1/PC-1) and early development of advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2002; 51 (4): 1188-93.
- Sambrook J, Mariatis T, Fritsch EF. *Molecular cloning: a manual laboratory*. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory; 1990.
- Pizzuti A, Frittitta L, Argiolas L, Baratta R, Goldfine ID, Bossali M, et al. A polymorphism (K121Q) of the human glycoprotein PC-1 gene coding region is strongly associated with insulin resistance. *Diabetes*. 1999; 48 (9): 1881-4.
- Gonzalez-Sanchez JL, Martinez-Larrad MT, Fernandez-Perez C, Kubaszek A, Laakso M, Serrano-Rios M. K121Q PC-1 gene polymorphism is not associated with insulin resistance in a Spanish population. *Obes Res*. 2003; 11 (5): 603-5.
- Bottcher Y, Körner A, Reinehr T, Enigk B, Kiess W, Stumvoll M, et al. ENPP1 variants and haplotypes predispose to early onset obesity and impaired glucose and insulin metabolism in german obese children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91 (12): 4948-52.
- Rasmussen SK, Urhammer SA, Pizzuti A, Echwald SM, Ekstrom CT, Hansen L, et al. The K121Q variant of the human PC-1 gene is not associated with insulin resistance or type 2 diabetes among Danish Caucasians. *Diabetes*. 2000; 49 (9): 1608-11.
- Morrison JA, Gruppo R, Glueck CJ, Stroop D, Fontaine RN, Wang P, et al. Population-specific alleles: the polymorphism (K121Q) of the human glycoprotein PC-1 gene is strongly associated with race but not with insulin resistance in black and white children. *Metabolism*. 2004; 53 (4): 465-8.